

**UNESP – UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CAMPUS DE ARARAQUARA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

Aplicação da difração de raios X por policristais e do método de Rietveld de refinamento de estruturas cristalinas no estudo de polimorfos cristalinos de fármacos

SELMA GUTIERREZ ANTONIO

Tese de Doutorado
2010



Instituto de Química

Selma Gutierrez Antonio

Aplicação da difração de raios X por
policristais e do método de Rietveld de
refinamento de estruturas cristalinas no estudo
de polimorfos cristalinos de fármacos

Tese apresentada ao Instituto de
Química, Universidade Estadual
Paulista, como parte dos requisitos
para obtenção do título de Doutor
em Química

Orientador: Prof. Dr. Carlos de
Oliveira Paiva Santos

Araraquara
2010

SELMA GUTIERREZ ANTÔNIO

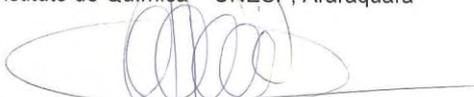
Tese apresentada ao Instituto de Química,
Universidade Estadual Paulista, como parte
dos requisitos para obtenção do título de
Doutor em Química.

Araraquara, 26 de fevereiro de 2010.

BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Carlos de Oliveira Paiva Santos (Orientador)
Instituto de Química – UNESP, Araraquara



Prof. Dr. Fernando Luis Fertonani
Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas – UNESP, São José do Rio Preto



Prof. Dr. Pedro Paulo Corbi
Instituto de Química – UNICAMP, Campinas



Prof. Dr. Flávio Machado de Souza Carvalho
Instituto de Geociências – USP, São Paulo



Dr. Nelson Ferreira Claro Júnior
Libbs Farmacêutica Ltda – LIBBS, Embu

Dedico este trabalho a Deus que está presente em nossa vida todos os momentos.
Aos meus pais que sempre me apoiaram. Aos meus queridos sobrinhos Guilherme e
Miguel.

A todos os meus amigos que me apoiaram em todos os momentos.

Agradecimentos

Agradeço aos 10 anos de convivência com o Prof. Carlos, com quem pude aprender muito.

Agradeço a todos os amigos que sempre estiveram prontos a ajudar.

Aos professores e funcionários do IQ de Araraquara com quem pude aprender bem mais do que química.

A Eveline, Rogério e Alexei que me ajudaram bastante nas análises no INMETRO.

Ao INMETRO por permitir a realização de algumas medidas.

Ao Flávio M. S. Carvalho e Gabriel L. B. Araujo pelas discussões.

Ao Fábio F. Ferreira pelo auxílio nas medidas no LNLS.

Ao Prof. Dr. Humberto G. Ferraz pelos ensinamentos.

Aos amigos de Laboratório: Neide, Manoel, Simone, Susi, Tiago, Tarek, Tião, Ricardo, Carmem, prof. Mário.

Aos amigos de sempre: Sayonara, Daniela, Márcio, Suheide, Gisele, João, Cuin, Inna, Lafon, Maristela, Barbie, Kelly, Adriana, Fernando, Renata Adati, Renata e Marco, Luciana, Luciano. Andrea e tantos outros...

A todos os amigos do LIEC-Araraquara.

Ao Mauricio pelo companheirismo.

À Capes pela bolsa.

“Só sabemos com exatidão quando sabemos pouco; à medida que vamos adquirindo conhecimentos, instala-se a dúvida”

Johann Wolfgang von Goethe
[1749-1832]

Resumo

A maioria dos fármacos é administrada na forma sólida (amorfo ou policristalino). As formas policristalinas são facilmente detectadas por difração de raios X. Estes fármacos podem cristalizar de diversas formas (polimorfo). Os polimorfos podem apresentar diferentes propriedades físico-químicas e assim apresentar alterações na biodisponibilidade. O polimorfismo decorre das condições empregadas na síntese e purificação da substância, dependendo do tipo de solvente utilizado e da temperatura da reação. Utilizando a difração de raios X e conhecendo a estrutura cristalina é possível a quantificação dos polimorfos nos fármacos através do Método de Rietveld. Neste trabalho, através da difração de raios X por pó, foram indexados os difratogramas de três compostos: a Atorvastatina Cálcica Forma I, o Mebendazol Forma A e um isômero da Tibolona (Isotibolona). Estas indexações permitiram a decomposição de seus respectivos padrões de difração e o posterior uso desses padrões decompostos na identificação dos compostos em matérias primas. Também foram estabelecidos os procedimentos adequados para obtenção dos dados de difração dos fármacos estudados nesse trabalho (ácido mefenâmico, atorvastatina, carbamazepina, mebendazol, tibolona), de forma a permitir a quantificação inequívoca dos seus polimorfos presentes em matérias primas. Um dos problemas mais importantes nessas análises está relacionado à resolução do equipamento que pode causar ambiguidade tanto nas intensidades quanto no alargamento dos picos. Difratogramas de raios X de fármacos apresentam (a) alta sobreposição de picos devido à grande cela unitária e baixa simetria, e (b) orientação preferencial devido aos cristalitos anisotrópicos. Assim, em alguns casos, como tibolona e carbamazepina, foi necessário usar a alta resolução para diminuir a sobreposição dos picos e permitir a correção adequada do alargamento anisotrópico dos picos devido à anisotropia do cristalito. Essa alta resolução também permite o refinamento adequado da cela unitária, sem que seja necessária uma estratégia específica de refinamento, já que os picos são bem definidos. Em outros casos, como atorvastatina, ácido mefenâmico e mebendazol, equipamentos convencionais são suficientes para a análise adequada dos pós. No caso da carbamazepina, apenas o uso de uma fenda Soller de menor divergência foi suficiente para se obter difratogramas que permitiram identificar e quantificar pequena fração da forma I na presença da forma III. Foi realizado um estudo térmico *in situ* para a carbamazepina forma III, onde se verificou que ela se transforma em forma I a 160°C, porém uma pequena quantidade de forma III permanece na amostra, mesmo após aquecimento a 160°C por 4 horas. Resultado semelhante foi observado após o aquecimento da forma III da carbamazepina a 190 graus por 30 minutos. Foram recomendados dois procedimentos para os refinamentos, um para o caso do método de Rietveld, em que todas as estruturas cristalinas são conhecidas, e o outro para o caso dos métodos de Pawley ou Le Bail, em que nem todas as estruturas cristalinas são conhecidas

Palavras-Chave: Polimorfismo em fármacos. Difração de raios X. Método de Rietveld.

Abstract

The majority of pharmaceuticals are prescribed in solid form (amorphous or polycrystalline). The polycrystalline forms are detected by rays X diffraction. These pharmaceuticals can crystallize in several forms (polymorphs), which present distinct physico-chemical properties and biodisponibility. The polymorphism occurs due to conditions used in the synthesis and purification of the substance, depending on the type of solvent used and the temperature reaction. Utilizing X-Ray powder diffraction and if the crystal structure are known, it is possible, using the Rietveld Method, to quantify the amount of each polymorph in the pharmaceutical. In this work, x-ray diffraction patterns of three compounds were indexed: Atorvastatin calcium form I, mebendazole form A and isotibolone (a tibolone isomer). These indexing allowed pattern decomposition which was used for its identification in raw materials of these drugs. The procedure for the suitable X-ray diffraction data collection was also established for the pharmaceuticals studied in this work (mefenamic acid, atorvastatin, carbamazepine, mebendazole, tibolone), in order to have an unequivocal quantification of their polymorphs in raw materials. One of the most important problem in pharmaceutical analysis is related to the equipment resolution, which can cause ambiguity in the peak intensities and broadening. X-ray diffraction patterns present (a) high peak overlap due to the large unit cell and low symmetry and (b) preferred orientation due to the anisotropic crystallites. Then, in some cases, like tibolone and carbamazepine, it was necessary to use high resolution equipments for decreasing the peak overlap and the suitable correction of the anisotropic peak broadening caused by the crystallite anisotropy. The high resolution also allows the unit cell refinement without a specific refinement strategy, since discrete peaks are observed. For other cases, like atorvastatin, mefenamic acid and mebendazole, laboratory equipments are good enough for the powder analysis. In the case of carbamazepine, just the use of a less divergent Soller slit was enough for obtain X-ray diffraction pattern that allow the identification and quantification of the a small fraction of the form I in the presence of form III. An *in situ* analysis were executed for the carbamazepine and was verified that a small amount of form III remains in the sample even after 4 hours at 160°C. The same result was observed after heating the form III at 190°C for 30 minutes. It was recommended two procedures of refinements. One used for the case when all crystal structures are know (Rietveld method) and the other for the case where at least one crystalline phase has unknown crystal structure and the Pawley method (or Le Bail method) needs to be used.

Keyword: Polymorphism in drugs. X-ray diffraction. Rietveld Method.

Lista de Figuras

- Figura 1. Gráfico de Temperatura vs Energia para (a) polimorfos monotrópicos e (b) polimorfos enantiotrópicos. 32
- Figura 2. (a) Molécula do Ácido Mefenâmico e (b) fórmula estrutural plana $C_{15}H_{15}NO_2$ 36
- Figura 3. (a) Difratoograma de raios X e análise térmica (DSC – $10^\circ/\text{min}$ em nitrogênio (30 mL/min)) da Forma I do ácido mefenâmico; (b) Difratoograma de raios X e DSC da Forma II do ácido mefenâmico descrita por Kato et al (2006)³⁴. 38
- Figura 4. Difratoograma do Ácido mefenâmico gerado pela estrutura descrita por McConnell & Company (1976)³⁶, condições de equipamento convencional $\lambda_{Cu} = 1,5406 \text{ \AA}$ 39
- Figura 5. (a) Molécula da Carbamazepina e (b) fórmula estrutural plana $C_{15}H_{12}N_2O$... 40
- Figura 6. Curvas de DSC dos polimorfos I e III da CBZ descritos por Ghita (2008)⁵⁴ sob aquecimento de $10^\circ\text{C min}^{-1}$ e atmosfera de nitrogênio. 42
- Figura 7. Difratoogramas de raios X para as Formas I,II, III e IV da CBZ gerados a partir de suas estruturas cristalinas^{43,45-47} encontradas no banco de dados CSD e condições de equipamento convencional $\lambda_{Cu} = 1,5406 \text{ \AA}$ 43
- Figura 8: (a) Molécula de Tibolona e (b) fórmula estrutural plana ($C_{21}H_{28}O_2$) 44
- Figura 9. Difratoogramas gerados das estruturas cristalinas dos polimorfos (a) triclinico P1 e (b) monoclinico P2₁ da Tibolona com condições de equipamento convencional $\lambda_{Cu} = 1,5406 \text{ \AA}$ 45
- Figura 10. (a) Molécula da Isotibolona e (b) fórmula estrutural plana ($C_{21}H_{28}O_2$). 46
- Figura 11. (a) Molécula de Mebendazol e (b) fórmula estrutural plana $C_{16}H_{13}N_3O_3$ 47
- Figura 12: Difratoogramas gerados das estruturas cristalinas das formas (a) C e (b) A do Mebendazol com condições de equipamento convencional $\lambda_{Cu} = 1,5406 \text{ \AA}$ 48
- Figura 13. (a) Molécula da Atorvastatina cálcica e (b) fórmula estrutural plana $C_{66}H_{68}CaF_2N_4O_{10}$ 49
- Figura 14. Difratoograma da Forma V da atorvastatina segundo a patente WO/2001/036384, medidas de equipamento convencional $\lambda_{Cu} = 1,5406 \text{ \AA}$ 50
- Figura 15. Gráfico característico de Rietveld, com o calculado (linha continua vermelha); observado (x em preto); radiação de fundo (linha continua verde); a

diferença entre o observado e o calculado (linha contínua azul) e os picos de Bragg (barra vertical magenta).....	52
Figura 16: Forma I, II e IV da atorvastatina cálcica, segundo a patente US5.969.156 medidas de equipamento convencional $\lambda_{Cu} = 1,5406 \text{ \AA}$	56
Figura 17. Forma III e V da atorvastatina cálcica, segundo as patentes US6.121.461 e WO/2001/036384, respectivamente, de equipamento convencional $\lambda_{Cu} = 1,5406 \text{ \AA}$	56
Figura 18: Difratomogramas dos polimorfos da atorvastatina cálcica apresentados no pedido de patente WO 2002/043732 A1, medidas de equipamento convencional $\lambda_{Cu} = 1,5406 \text{ \AA}$	58
Figura 19. Difratomogramas de alta resolução dos polimorfos (a) Forma VIII (b) Forma IX e (c) Forma X da atorvastatina cálcica apresentada no pedido de patente WO 2002/043732 A1.	60
Figura 20. (a) Cristalitos na forma agulhas com a direção dos planos (h00) na mesma direção do eixo da agulha; (b) cristalitos na forma de plaquetas com a direção dos planos (h00) paralelos ao superfície da amostra; Simulações da Tibolona (Forma triclinica) usando o programa TOPAS onde (c) simula a geometria Debye-Scherrer e (d) Bragg-Brentano.	62
Figura 21. Pico (200) do NaCl. O difratograma da figura (a) foi obtido com a amostra girada de 90° em torno do vetor deslocamento , com relação ao da figura (b).63	
Figura 22. Pico (002) do NaCl, obtido com o porta amostra girando.	64
Figura 23. Difratomogramas da reflexão (002) do princípio ativo forma I. (a) Como recebida no Laboratório, (b) moída e (c) moída e peneirada em MESH 200. .	64
Figura 24. Comprimento da amostra que é atingida pelo feixe de raios X (L)	66
Figura 25: Gráfico do comprimento irradiado (L) versus fendas de divergência.	67
Figura 26: Gráfico de CeO_2 com fenda de divergência $\frac{1}{2}$. (a) como medido e (b) normalizados para a mesma intensidade.	68
Figura 27: Gráfico de $Ce O_2$ com fenda de divergência $\frac{1}{4}$ (a) como medido e (b) normalizados para a mesma intensidade.	68
Figura 28. Normalização das medidas de fenda de divergência de $\frac{1}{4}^\circ$ e recepção 0.60 e 0,30 mm.....	69
Figura 29: Gráfico de CeO_2 com fenda de divergência $\frac{1}{6}^\circ$ (a) como medido e (b) normalizados para a mesma intensidade.	69

Figura 30. Pico (220) do CeO ₂ obtido com fenda soller de 2,5° e (a) fenda de divergência ½° e fenda de recepção nos valores descritos na figura, como medido e (b) normalizados para a mesma intensidade.....	70
Figura 31. Pico (220) do CeO ₂ obtido com fenda soller de 2,5° e (a) fenda de divergência ¼ ° e fenda de recepção nos valores descritos na figura, como medido e (b) normalizados para a mesma intensidade.....	71
Figura 32. Pico (220) do CeO ₂ obtido com fenda soller de 2,5° e (a) fenda de divergência 1/6° e fenda de recepção nos valores descritos na figura, como medido e (b) normalizados para a mesma intensidade.....	71
Figura 33. Curva de DSC da matéria-prima do Ácido Mefenâmico, aquecimento 10°C/min.	72
Figura 34. Gráfico de Rietveld da matéria-prima do ácido mefenâmico, medidas de equipamento convencional $\lambda_{Cu} = 1,5406 \text{ \AA}$ e fendas soller de 5°.....	73
Figura 35. Difratogramas da matéria-prima, placebo e comprimido, medidas de equipamento convencional $\lambda_{Cu} = 1,5406 \text{ \AA}$ e fendas soller de 5°.....	73
Figura 36. Curva de DSC do comprimido do Ácido Mefenâmico, aquecimento 10°C/min.	74
Figura 37. Gráfico de Rietveld do comprimido do ácido mefenâmico, medidas de equipamento convencional $\lambda_{Cu} = 1,5406 \text{ \AA}$ e fendas soller de 5°.....	74
Figura 38. Gráfico de Rietveld do ácido mefenâmico com dados do LNLS, $\lambda = 1.37709 \text{ \AA}$	74
Figura 39. Gráfico de Rietveld para o comprimido de ácido mefenâmico com dados do LNLS, $\lambda = 1.37709 \text{ \AA}$	75
Figura 40. Refinamento do padrão do NIST LaB ₆ SRM660A, de onde se pretendeu obter o alargamento instrumental para análises de tamanho de cristalito.	76
Figura 41. Gráfico de Rietveld do Ponstan® Referência Pfizer, medidas de equipamento convencional $\lambda_{Cu} = 1,5406 \text{ \AA}$ e fendas soller de 5°.....	79
Figura 42. Gráfico de Rietveld do Ácido Mefenâmico - Genérico EMS, medidas de equipamento convencional $\lambda_{Cu} = 1,5406 \text{ \AA}$ e fendas soller de 5°.....	79
Figura 43. Gráfico de Rietveld do Ácido Mefenâmico - Ponsdril® (similar) Legrand, medidas de equipamento convencional $\lambda_{Cu} = 1,5406 \text{ \AA}$ e fendas soller de 5°.	79
Figura 44. Gráfico de Rietveld do Ácido Mefenâmico - Pontin™ (similar) Hexal, medidas de equipamento convencional $\lambda_{Cu} = 1,5406 \text{ \AA}$ e fendas soller de 5°.	80

Figura 45. Gráfico de Rietveld do Ácido Mefenâmico Biossintética, medidas de equipamento convencional $\lambda_{Cu} = 1,5406 \text{ \AA}$ e fendas soller de 5°	80
Figura 46. Curva de DSC da matéria-prima da Carbamazepina, aquecimento a $10^\circ\text{C}/\text{min}$	81
Figura 47. Comparação entre a matéria-prima da CBZ e difratograma simulado da Forma IV (C2/c), medidas de equipamento convencional $\lambda_{Cu} = 1,5406 \text{ \AA}$ e fendas soller de 5°	82
Figura 48. Comparação entre a matéria-prima da CBZ e difratograma simulado da Forma I ($P\bar{1}$), medidas de equipamento convencional $\lambda_{Cu} = 1,5406 \text{ \AA}$ e fendas soller de 5°	82
Figura 49. Comparação entre a matéria-prima da CBZ e difratograma simulado de grupo espacial Pbcu, medidas de equipamento convencional $\lambda_{Cu} = 1,5406 \text{ \AA}$ e fendas soller de 5°	82
Figura 50. Comparação entre a matéria-prima da CBZ e difratograma simulado da Forma II ($R\bar{3}$), medidas de equipamento convencional $\lambda_{Cu} = 1,5406 \text{ \AA}$ e fendas soller de 5°	82
Figura 51. Comparação entre a matéria-prima da CBZ e difratograma simulado da Forma III (P21/c), medidas de equipamento convencional $\lambda_{Cu} = 1,5406 \text{ \AA}$ e fendas soller de 5°	83
Figura 52. Gráfico de Rietveld para a CBZ matéria-prima, ajustado com a Forma III (P21/c), medidas de equipamento convencional $\lambda_{Cu} = 1,5406 \text{ \AA}$ e fendas soller de 5°	83
Figura 53. Curva de DSC dos comprimidos de 200mg e 400mg da CBZ, aquecimento $10^\circ\text{C}/\text{min}$	83
Figura 54. Difratogramas: azul- placebo; verde – matéria-prima; magenta – comprimido CBZ 200mg, medidas de equipamento convencional $\lambda_{Cu} = 1,5406 \text{ \AA}$ e fendas soller de 5°	84
Figura 55. Gráfico de Rietveld para o comprimido de CBZ de 200 mg, ajuste da Forma III, medidas de equipamento convencional $\lambda_{Cu} = 1,5406 \text{ \AA}$ e fendas soller de 5°	84
Figura 56. Difratogramas: azul- placebo; verde – matéria-prima; magenta – comprimido CBZ 400mg, medidas de equipamento convencional $\lambda_{Cu} = 1,5406 \text{ \AA}$ e fendas soller de 5°	84

Figura 57. Gráfico de Rietveld para o comprimido de CBZ de 400 mg, ajuste com a forma III, medidas de equipamento convencional $\lambda_{Cu} = 1,5406 \text{ \AA}$ e fendas sollar de 5°	85
Figura 58. Gráfico de Rietveld da CBZ aquecida a 180°C por 30 minutos, ajuste da Forma III, medidas de equipamento convencional $\lambda_{Cu} = 1,5406 \text{ \AA}$ e fendas sollar de 5°	86
Figura 59. Gráfico de Rietveld da CBZ aquecida a 185°C por 30 minutos, ajuste das formas III e I, medidas de equipamento convencional $\lambda_{Cu} = 1,5406 \text{ \AA}$ e fendas sollar de 5°	86
Figura 60. Gráfico de Rietveld da CBZ aquecida a 190°C por 30 minutos, ajuste da forma I, medidas de equipamento convencional $\lambda_{Cu} = 1,5406 \text{ \AA}$ e fendas sollar de 5°	87
Figura 61. Curva de DSC para o aquecimento da CBZ 190°C por 30 min.....	87
Figura 62. Gráfico de Rietveld da CBZ, aquecida a 190° , ajuste da forma I medidas realizadas no LNLS, $\lambda=1,37757$	87
Figura 63. Ampliação do gráfico de Rietveld de posições equivalentes de 2θ da (a) medida do LNLS $\lambda=1,37757 \text{ \AA}$ e (b) medidas de equipamento convencional $\lambda_{Cu} = 1,5406 \text{ \AA}$ e fendas sollar de 5° . Ajuste apenas da Forma I.	88
Figura 64. Gráfico de Rietveld da CBZ, aquecida a 190° , (a) ajuste das formas I (P $\bar{1}$) e III (P21/c) medidas realizadas no LNLS, $\lambda=1,37757$. (b) sua ampliação de 12 a 17°	88
Figura 65: (a) Gráfico de Rietveld com medidas de equipamento convencional, $\lambda_{Cu} = 1,5406 \text{ \AA}$ e fendas Soller de $2,5^\circ$ (CBZ 190° 30 min) e (b) sua ampliação.	89
Figura 66. (a) Gráfico de Rietveld para CBZ aquecida 190°C 30 min com medidas de equipamento convencional, $\lambda_{Cu} = 1,5406 \text{ \AA}$ com fendas Soller $2,5$ e sua (b) ampliação.....	89
Figura 67. Gráfico de Rietveld da CBZ aquecida a 195°C por 30 minutos, ajuste das formas III e I, com medidas de equipamento convencional, $\lambda_{Cu} = 1,5406 \text{ \AA}$ e fendas sollar de 5°	90
Figura 68. Gráfico de Rietveld da CBZ aquecida a 200°C por 30 minutos, ajuste das formas III e I, com medidas de equipamento convencional, $\lambda_{Cu} = 1,5406 \text{ \AA}$ e fendas sollar de 5°	90

Figura 69. Fotografia do (a) porta amostra no início do aquecimento e (b) no final do aquecimento da CBZ.	91
Figura 70. Difratoograma da CBZ a 160 graus. (a) Logo após atingir a temperatura e (b) 6 minutos após atingir a temperatura de 160°C.	92
Figura 71. Difratoogramas da amostra de CBZ obtidos em temperaturas variando entre ambiente e 170°C.	92
Figura 72. Difratoogramas <i>in-situ</i> da forma III da carbamazepina a 160°C, após os tempos indicados. Região entre 9,5° e 11,6° (2 θ).	93
Figura 73. Difratoogramas <i>in-situ</i> da forma III da carbamazepina a 160°C, após os tempos indicados. Região entre 14,6° e 16,7° (2 θ).	94
Figura 74. Difratoograma da atorvastatina forma I, com medidas de equipamento convencional, $\lambda_{Cu} = 1,5406 \text{ \AA}$ e fendas soller de 5°.	95
Figura 75. Difratoograma da Forma I da atorvastatina com medidas do LNLS, $\lambda = 1,24018$	95
Figura 76. Gráfico de Pawley para a solução 1 da atorvastatina.	96
Figura 77. Cella unitária das soluções 9 e 10.	97
Figura 78. (a) Gráfico de Pawley para a solução 9 e (b) ampliação de 18,8° a 21,5° em 2 θ	97
Figura 79. (a) Gráfico de Pawley para a solução 10 e (b) ampliação de 18,8° a 21,5° em 2 θ	98
Figura 80. Gráfico de Pawley (a) da forma VIII da atorvastatina com dados de difração obtidos no LNLS $\lambda = 1,24018 \text{ \AA}$ e (b) para mistura de atorvastatina (50% Forma I):(50% forma VIII).	99
Figura 81. Gráfico de Rietveld para o Mebendazol (matéria-prima <i>IA</i>) considerando a forma A e C com medidas de equipamento convencional, $\lambda_{Cu} = 1,5406 \text{ \AA}$ e fendas soller de 5°.	100
Figura 82. Gráfico de Rietveld para o Mebendazol (matéria-prima <i>IC</i>) considerando a forma A e C com medidas de equipamento convencional, $\lambda_{Cu} = 1,5406 \text{ \AA}$ e fendas soller de 2,5°.	100
Figura 83. Gráfico de Rietveld para amostra de mebendazol (genérico EMS) com medidas de equipamento convencional, $\lambda_{Cu} = 1,5406 \text{ \AA}$ e fendas soller de 2,5°.	101

Figura 84. Gráfico de Rietvel para a amostra de referência Pantelmin® (Janssen-Cilag.) com medidas de equipamento convencional, $\lambda_{Cu} = 1,5406 \text{ \AA}$ e fendas soller de $2,5^\circ$	101
Figura 85. Gráfico de Rietveld de tibolona considerando os polimorfos triclinico e monoclinico, com medidas de equipamento convencional, $\lambda_{Cu} = 1,5406 \text{ \AA}$ e fendas soller de 5°	102
Figura 86. Gráfico de Rietveld de tibolona considerando os polimorfos triclinico e monoclinico e a contaminação isotibolona, com medidas de equipamento convencional, $\lambda_{Cu} = 1,5406 \text{ \AA}$ e fendas soller de 5°	102
Figura 87. Gráfico de Rietveld da tibolona adquirida em farmácia de manipulação com dados do Stoe ($\lambda_{Cu} = 1,5406 \text{ \AA}$) considerando os polimorfos triclinico e monoclinico. Em azul reflexões da forma monoclinica e em verde reflexões da forma triclinica isoladas de cada forma.	103
Figura 88. Gráfico de Rietveld da tibolona adquirida em farmácia de manipulação com dados do LNLS ($\lambda=1,24018\text{\AA}$) considerando os polimorfos triclinico e monoclinico.	103
Figura 89. Difratoograma de raios X do pó da amostra de tibolona triclinica, recristalizada de n-hexano. Na ampliação nota-se o efeito de granularidade nos picos em 14° , 15° e $17,5^\circ$ (2θ). Medidas de equipamento convencional, $\lambda_{Cu} = 1,5406 \text{ \AA}$	104
Figura 90. Gráfico de Rietveld para tibolona recristalizada de n-hexano, obtida com capilar de 0,7mm de diâmetro interno, no LNLS. $\lambda = 1.240728 \text{ \AA}$	105
Figura 91. Gráfico de Rietveld para a amostra recristalizada de n-hexano e micronizada, com medidas de equipamento convencional, $\lambda_{Cu} = 1,5406 \text{ \AA}$	106
Figura 92. (a) Gráfico de Rietveld para a amostra recristalizada de n-hexano e micronizada, com os dados do LNLS, $\lambda= 1,24018 \text{ \AA}$ (b) Ampliação entre $10,4^\circ$ e $11,85^\circ$ em 2θ da amostra de tibolona recristalizada em hexano e micronizada, considerando apenas a estrutura da tibolona.	106
Figura 93. (a) Gráfico de Rietveld supondo as duas formas da tibolona. (b) ampliação da base do difratograma, mostrando, em verde, o padrão calculado da forma monoclinica. (c) Ampliação entre $6,5$ e 14° (2θ) mostrando que o efeito da granularidade da amostra ainda está presente. Medidas de equipamento convencional, $\lambda_{Cu} = 1,5406 \text{ \AA}$	107

Figura 94. Gráfico de Rietveld considerando as duas formas da tibolona, para os dados do LNLS $\lambda = 1,24018\text{Å}$	108
Figura 95. (a) Gráfico de Rietveld considerando a isotibolona e a forma triclinica da tibolona. (b) Ampliação mostrando o ajuste dos picos da isotibolona em torno dos picos da tibolona. Medidas do LNLS $\lambda = 1,24018\text{Å}$	108
Figura 96. (a) Gráfico de Rietveld para tibolona recristalizada em acetona, considerando as formas monoclinica e triclinica. Medidas de equipamento convencional, $\lambda_{Cu} = 1,5406\text{Å}$	109
Figura 97. (a) Gráfico de Rietveld para tibolona recristalizada em acetona, considerando as formas monoclinica e triclinica. Medidas do LNLS $\lambda = 1,24018\text{Å}$	110
Figura 98. (a) Gráfico de Rietveld para tibolona recristalizada em tolueno, considerando a forma triclinica. (b) Ampliação. Medidas do LNLS $\lambda = 1,24018\text{Å}$	111
Figura 99. (a) Gráfico de Rietveld para tibolona recristalizada em tolueno, considerando a forma triclinica e a isotibolona. (b) Ampliação. Medidas do LNLS $\lambda = 1,24018\text{Å}$	111
Figura 100. Difratoograma do medicamento de referência lival.com medidas do LNLS $\lambda = 1,24018\text{Å}$	112
Figura 101. Comparação entre a amostra de lival e as formas monoclinica e triclinica da tibolona com os dados do LNLS $\lambda = 1,2320\text{Å}$	112
Figura 102. Gráfico de Rietveld Ajuste do polimorfo monoclinico na amostra do lival, com os dados do LNLS $\lambda = 1,2320\text{Å}$	113
Figura 103. Difratoograma da isotibolona e picos utilizados usados na indexação, dados do LNLS $\lambda = 1,24018\text{Å}$	114
Figura 104. Gráfico do refinamento de Pawley com resultados obtidos da indexação. (a) todo o padrão de difração medido. (b) ampliação mostrando a região entre 6 e 13,5°. (c) ampliação mostrando a região entre 13° e 18°. (d) ampliação mostrando a região 17,5° e 24° (e) ampliação mostrando a região entre 23 e 30°. (f) ampliação mostrando a região entre 29,5 e 35°. (g) ampliação mostrando a região entre 32,5 e 40°.....	116

Figura 105. Isotibolona P2 ₁ . (a) Estrutura cristalina e a cela unitária da solução-6 ($\beta = 103.57^\circ$) e (b) estrutura cristalina e a cela unitária da solução-0 ($\beta = 76.43^\circ$).	117
Figura 106. Gráfico de Rietveld da Isotibolona com dados do LNLS $\lambda=1,24018$	118
Figura 107. Gráfico de Rietveld da Isotibolona com os dados de alta resolução do Stoe $\lambda = 1,5406\text{Å}$	118
Figura 108. (a) Gráfico de Rietveld após o refinamento pelo método de Rietveld da amostra de comercial heartwell, considerando apenas a estrutura cristalina monoclinica da tibolona. (b) Ampliação onde se observa vários picos que não foram ajustados (setas) com a estrutura monoclinica, dados do LNLS $\lambda = 1,24018\text{Å}$	119
Figura 109. Gráfico de Rietveld considerando as formas monoclinica e triclinica da tibolona, dados do LNLS $\lambda = 1,24018\text{Å}$. Nota-se que os picos não identificados não pertencem á forma triclinica da tibolona.	120
Figura 110. (a) Gráfico de Rietveld considerando a forma monoclinica e a isotibolona; (b) ampliação de $10,2^\circ$ a $13,3^\circ$ em 2θ , e setas identificando as reflexões da isotibolona.	120
Figura 111. Dependência do erro na distância interplanar, σd , em função do ângulo de Bragg, para alguns erros na medida de 2θ , para radiação de cobre $K\alpha_1$ ($\lambda = 1,5406 \text{ Å}$).	123
Figura 112. (a) Difratoograma obtido no anodo rotatório Rigaku RINT2000, do LIEC-Araraquara. (b) Difratoograma obtido na linha XPD do LNLS, no modo de geometria de transmissão (capilar) em alta resolução ($\lambda = 1.3117 \text{ Å}$).	142
Figura 113. Representação da dependência dos erros na posição do pico em função do coeficiente de absorção linear μ (transparência) e deslocamento da amostra s , para um tubo de cobre	144
Figura 114. Dependência do erro na distância interplanar, σd , em função do ângulo de Bragg, para alguns erros na medida de 2θ , para radiação de cobre $K\alpha_1$ ($\lambda = 1,5406 \text{ Å}$).	146
Figura 115. (a) Padrão de difração para o caso de cristalito isotrópico e sem orientação preferencial. (b) Cristalito na forma de agulha com comprimento (40, 360, 40) nm respectivamente nas direções de a, b, c, Sem orientação preferencial (c) agulhas orientadas paralelas à superfície do porta-amostra.	146

Figura 116. Cristalito na forma de plaqueta, de dimensões (360, 40, 360)nm respectivamente nas direções de a, b, c. (a) Sem orientação preferencial e (b) com as placas se acomodando paralelamente á superfície do porta amostra.	147
Figura 117. Detalhes de regiões em Q ($2\pi/d$), onde a sobreposição dos picos é nítida, (a) e (b) são medidas do equipamento convencional Rigaku e (c) e (d) de alta resolução do LNLS.....	148
Figura 118. Gráficos de Rietveld de duas amostras de princípio ativo ácido mefenâmico. Nota-se na amostra MA00741107 uma alta orientação preferencial.	149
Figura 119. Difratoograma observado do ácido mefenâmico e as quatro fichas do ICDD-PDF.....	150
Figura 120. Comparações do difratograma observado do ácido mefenâmico com as fichas ICDD-PDF. Em cada ficha falta pelo menos um pico, destacados por elipses.	151
Figura 121. Refinamentos pelo método de Rietveld, com dados (a) do anodo rotatório e (b) da linha D10B-XPD do LNLS.....	152

Lista de Tabela

Tabela 1. Mercado Consumidor Farmacêutico Mundial.	26
Tabela 2. Propriedades físico-químicas que podem ser afetadas por diferentes estruturas cristalinas.	29
Tabela 3. Situação dos pedidos de patentes das formas polimórficas de alguns países.	33
Tabela 4. Interações medicamentosas entre alguns fármacos e o ácido mefenâmico. ...	37
Tabela 5. Estruturas cristalinas encontradas no banco de dados CSD para o ácido mefenâmico.	37
Tabela 6. Alguns medicamentos que apresentam interações medicamentosas com a CBZ.	40
Tabela 7. Polimorfos da Carbamazepina encontrados no banco de dados do CSD.	41
Tabela 8. Hábito e densidade dos polimorfos da CBZ segundo a literatura ⁴⁷	42
Tabela 9. Condições das medidas dos fármacos.	65
Tabela 10. Índices de qualidade de refinamento do ácido mefenâmico com método de Rietveld e estratégias descritas na página 49(τ é o tamanho médio de cristalito).	77
Tabela 11. Resultados de anisotropia para o ácido mefenâmico (matéria-prima e comprimido).	78
Tabela 12. Índices de qualidade do refinamento de Rietveld para amostras comerciais do ácido mefenâmico.	80
Tabela 13. Anisotropia calculada pelo MR para a matéria-prima, 200 mg e 400mg da CBZ.	85
Tabela 14. As 10 primeiras soluções encontradas pelo TOPAS para a atorvastatina Forma I.	96
Tabela 15. Resultados dos Refinamentos com método de Pawley para as 10 primeiras soluções.	96
Tabela 16. Resultados do refinamento da cela unitária das soluções 9 e 10.	97
Tabela 17. Os 10 primeiros resultados fornecidos pelo TOPAS para a Isotibolona. ...	115
Tabela 18. Alguns resultados obtidos com os dados do nosso laboratório e do Laboratório Nacional de Luz Síncrotron.	143
Tabela 19. Comparação de características experimentais entre os dois equipamentos usados.	148

Lista de abreviaturas e siglas

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária
CBZ – Carbamazepina
CEME – Central de Medicamentos
CIF – Crystallographic Information File
CSD – Cambridge Structural Database
DRXP – Difração de raios X por policristais
DSC – Differential Scanning Calorimetry
FWHM – Full Width Half Maximum
HMG-CoA – hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A*
INPI – Instituto Nacional da Propriedade Industrial
Interfarma - Associação da Indústria Farmacêutica de Pesquisa
IUPAC - International Union of Pure and Applied Chemistry
LDL – Low Density Lipoprotein
LNLS – Laboratório Nacional de Luz Síncrotron
LPD – Laboratório Paulista de Biologia
MR – Método de Rietveld
AINEs – anti-inflamatório não esteróides.
P&D – Pesquisa e Desenvolvimento
PA – Princípio Ativo
PNM – Política Nacional de Medicamentos
RENAME – Relação Nacional de Medicamentos Essenciais
RMB – Relação Nacional de Medicamentos Básicos,
RMN – Ressonância Magnética Nuclear
SUS – Sistema Único de Saúde
USP – United States Pharmacopoeia
MetLB – Método de Le Bail
MetP – Método de Pawley

* As siglas em inglês foram mantidas nesse trabalho por serem usadas reconhecidas internacionalmente.

Lista de Símbolo

$y_i(obs)$	Intensidade observada do i^o ponto do difratograma
$y_i(cal)$	Intensidade calculada do i^o ponto do difratograma
y_{bi}	Intensidade da radiação de fundo no i^o ponto do difratograma
ϕ_{rsi}	Função de rugosidade superficial
S	Fator de escala para o padrão de difração de uma fase no método de Rietveld
h	Índice de Miller (hkl)
J_h	Multiplicidade das reflexões h
L_p	Fator de correção de Lorentz e polarização
$ F_h $	Fator de estrutura da reflexão h
G_h	Função de descreve o perfil dos picos de difração
a_h	Função de correção de assimetria
P_h	Função de correção de orientação preferencial
V	Volume de uma cela unitária
Z	Número de fórmulas unitárias por cela unitária.
M	Deve ser observado dentro do contexto. Pode ser a massa da cela unitária ou a função minimização no método de mínimos-quadrados.

SUMÁRIO

1	Introdução	24
1.1	Indústria Farmacêutica no Brasil	24
1.2	A Política Nacional de Medicamentos.....	26
1.3	Porque estudar a estrutura cristalina dos fármacos	28
1.4	Fármacos no estado sólido	30
1.5	Difração de raios X e método de Rietveld	34
2	Motivação	34
3	Fármacos Estudados.....	36
3.1	Ácido Mefenâmico	36
3.2	Carbamazepina.....	39
3.3	Tibolona	43
3.4	Isotibolona	45
3.5	Mebendazol.....	46
3.6	Atorvastatina	48
4	Introdução Teórica	50
4.1	Método de Rietveld.....	50
4.2	Método de Le Bail	53
4.3	Método de Pawley	54
4.4	Método de Rietveld modificado por Scarlet e Madsen.....	54
4.5	Nomenclatura dos polimorfos.....	55
4.6	Patentes	55
4.7	Limitações de DRXP	61
4.7.1	Orientação preferencial.....	61
4.7.2	Distribuição de tamanho de cristalitos.....	62
5	Objetivos	64
6	Metodologia	65
7	Definição das condições instrumentais para o equipamento convencional	66
8	Experimental	71

8.1	Refinamentos	72
9	Resultados e Discussão	72
9.1	Ácido Mefenâmico	72
9.1.1	Análise de Matéria-Prima e do comprimido	72
9.1.2	Análise de Medicamentos comerciais	78
9.2	Carbamazepina.....	81
9.2.1	Análise de Matéria-Prima e do comprimido	81
9.2.2	Aquecimento.....	85
9.3	Atorvastatina	95
9.3.1	Indexação.....	95
9.3.2	Identificação de polimorfos sem estrutura cristalina.....	98
9.4	Mebendazol.....	99
9.5	Tibolona	101
9.5.1	Manipulação	102
9.5.2	Recristalizações	103
9.5.3	Medicamento de Referência	111
9.6	Isotibolona	113
9.6.1	Indexação.....	113
9.6.2	Alguns aspectos sobre a determinação da estrutura da Isotibolona	117
9.6.3	Análise Quantitativa de Fase	118
10	Conclusão.....	121
	Referências.....	125
	ANEXO 1 – Conceitos técnicos ANVISA	136
	ANEXO 2 – Excipientes dos comprimidos analisados.	138
	ANEXO 3 - Macro utilizada no programa TOPAS academic v 4.1 para correção de anisotropia.	139
	ANEXO 4 – Problemas que podem acontecer nos refinamentos.....	141
	APÊNDICE 1	154
	APÊNDICE 2	158

1 Introdução

1.1 Indústria Farmacêutica no Brasil

Um marco importante que antecede o início da produção de medicamento no país, pode-se dizer que foi a fundação, em 1903, em São Paulo do Instituto Pasteur. O instituto iniciou em caráter privado e filantrópico, com objetivos científicos e humanitários. Seu primeiro diretor-presidente foi Ignácio Wallace da Gama Cochrane, mas foi o segundo, Antonio Carini, quem deu impulso às pesquisas tanto no campo da bacteriologia, como da patologia animal que projetou e consolidou o Instituto e trouxe recursos externos, provenientes de comerciantes e industriais da época ¹. A partir de 1914, começaram as dificuldades econômicas devido a I Guerra Mundial e ao desenvolvimento de instituições estaduais que desempenhavam algumas das funções do instituto, como o Instituto Butantã. Por se tratar de um serviço voltado à saúde pública, o governo estadual interessou-se em dar continuidade às atividades anti-rábicas já desenvolvidas pelo Instituto Pasteur ¹. Assim, em 1916, passou a ser uma instituição pública, que perde seu caráter de centro de pesquisa para se dedicar, com exclusividade, ao serviço contra a raiva. Aproveitando-se da experiência adquirida no instituto, o Dr. Ulisses Paranhos (médico e importante pesquisador do Instituto) organizou a empresa Laboratório Paulista de Biologia (LPB), entrando no mercado de produtos farmacêuticos. O pequeno laboratório, - criado em 1912 - alguns anos antes do Instituto Pasteur pertencer ao governo estado de São Paulo, começou a fabricar produtos que o próprio instituto já produzia.

A criação do LPB ocorre concomitantemente ao processo de mudança que ocorre na indústria de produtos farmacêuticos e no mercado de medicamentos no país. Devido à 1ª Guerra Mundial, houve a transformação na forma de organização da produção farmacêutica que se caracteriza pela formação de grandes laboratórios nacionais, os quais passam a produzir medicamentos de origem estrangeira e a processar matérias-primas básicas importadas. Em parte as empresas nacionais e as companhias estrangeiras aproveitam o momento de dificuldades e de escassez relativa no mercado, devido à guerra, para produzir internamente medicamentos antes importados já prontos para o consumo.

O LPB não foi a única empresa de produção e comercialização de medicamentos que teve sua origem de pesquisadores que trabalhavam em uma instituição existem mais dois exemplos como esse, da mesma época: Dr. Vital deixou o Instituto Butantã para fundar o

laboratório (Instituto Vital Brasil) produzindo soros e também do Instituto Butantã o pesquisador Eduardo Vaz fundou o Instituto Pinheiros, que inicialmente produzia soros e vacinas e mais tarde iniciou a produção de medicamentos.

Mas a partir da década de 1920, observa-se a entrada de grandes empresas estrangeiras da indústria químico-farmacêutica no mercado brasileiro, em especial no estado de São Paulo. As empresas de produtos farmacêuticos passaram a investir no Brasil, estimuladas pela proteção à produção local oferecida pelas políticas governamentais (tarifas aduaneiras e outras) em relação à importação e pela disponibilidade local de matérias-primas. Dentre essas empresas estão a de origem francesa Rhodia, subsidiária das Usines Chimiques du Rhône-Poulenc, que entrou em 1919 e começou a produção químico-farmacêutica em 1921; a alemã Bayer, fabricante da aspirina, que entrou alguns anos antes da eclosão da Primeira Guerra Mundial; e os grandes laboratórios norte-americanos, Sydney-Ross Co, Merck & Co e Parke-Davis.

Assim, a Indústria Farmacêutica no Brasil se estruturou na década de 1930. Neste momento a produção era local e dependente de importação de insumos. Durante a segunda guerra mundial os países exportadores de insumos estavam envolvidos no conflito, neste período o Brasil intensificou sua produção de medicamentos². Mas depois da Segunda Guerra Mundial, iniciou um processo de desnacionalização e a indústria segue uma tendência que irá configurar a estrutura que se conhece hoje: forte presença das grandes empresas estrangeiras e numerosas pequenas empresas nacionais sem maior expressão no mercado estrangeiro^{1,3}.

Hoje o Brasil é 10º (Tabela 1) no ranking de consumo no mercado farmacêutico mundial, o que desperta o interesse de empresas transnacionais pelo domínio desse mercado⁴. Já o investimento em pesquisa e desenvolvimento (P&D) de novos medicamentos é praticamente irrelevante não tendo investimento nem de empresas nacionais nem de internacionais já que o foco do mercado são os medicamentos genéricos. Ver anexo 1.

No Brasil, a indústria farmacêutica tem um parque de laboratórios públicos, de abrangência nacional, voltado para a produção de medicamentos primordialmente destinados aos programas de saúde pública em assistência farmacêutica que produzem 75% dos medicamentos do Sistema Único de Saúde (SUS), esse fato faz com o Brasil seja destacado entre os países em desenvolvimento⁴.

Tabela 1. Mercado Consumidor Farmacêutico Mundial.

Principais Mercados Consumidores	US\$ Bilhões	% do total
EUA	\$ 287.5	41.7
Japão	\$ 60.9	8.8
França	\$ 40.9	5.9
Alemanha	\$ 38.4	5.6
Itália	\$ 23.9	3.5
UK	\$ 23.5	3.4
Espanha	\$ 20.3	2.9
Canadá	\$ 18.5	2.7
China	\$ 15.3	2.2
Brasil	\$ 13.4	1.6
Coréia do sul	\$ 10.3	1.5
Turquia	\$ 10.0	1.5
12 maiores	\$ 560.6	81.3

Fonte Interfarma*.

1.2 A Política Nacional de Medicamentos

A política de medicamentos essenciais no Brasil teve início, em 1964, com o estabelecimento da Relação Básica e Prioritária de Produtos Biológicos e Matérias para uso Farmacêutico Humano e Veterinário (Decreto n. 53.612/1964). Depois na década de 1970, são promulgadas, a Lei n. 5.991, de 17 de dezembro de 1973, regulamentada pelo Decreto n. 74.170, de 10 de junho de 1974, que dispõe sobre o controle sanitário do comércio de drogas, medicamentos, insumos farmacêuticos e correlatos, e também a Lei n. 6.360, de 23 de setembro de 1976, regulamentada pelo Decreto n. 79.094, de 5 de janeiro de 1977, que dispõe sobre a vigilância sanitária a que ficam sujeitos os medicamentos, as drogas, os insumos farmacêuticos e correlatos, cosméticos, saneamentos e outros produtos. Em 1971, a criação da Central de Medicamentos (CEME), por meio do Decreto n. 68.806, é considerada uma importante iniciativa do governo brasileiro em termos de planejamento, organização e aquisição de medicamentos, de forma centralizada para todo o país. À CEME competia a assistência farmacêutica pública e ao abastecimento de medicamentos essenciais à população.

Outra importante regulamentação do setor foi o estabelecimento, em 30 de julho de 1973, por meio do Decreto n. 72.552, do primeiro Plano Diretor de Medicamentos, que considerou a racionalização da área mediante o Sistema Oficial de Produção de

* Associação da Indústria Farmacêutica de Pesquisa Interfarma
<http://www.interfarma.org.br/indicadores.asp#>

Medicamentos. Em 1976, é homologada a Relação Nacional de Medicamentos Básicos (RMB) por meio da Portaria MPAS/GM514, de 18 de outubro de 1976. A RMB, aprovada pelo Conselho Diretor da CEME (Resolução n. 92 de 29 de setembro de 1976), era constituída de 300 substâncias, em 535 apresentações. A RMB, que foi posteriormente atualizada em 1977 (Portaria MPAS/ GM 817/77), passou a ser oficialmente denominada Relação Nacional de Medicamentos Essenciais (RENAME) pela Portaria Interministerial MPAS/MS/MEC 03, de 15 de dezembro de 1982. O Governo Federal desativou a CEME, através da Medida Provisória 1.576, do Decreto n. 2.283 e da PortariaGM 1.085. Suas competências, planos e programas foram sendo assumidos, aos poucos, por várias instâncias do Ministério da Saúde e também pelos estados e municípios.

O posicionamento do governo considerado o mais importante, foi a criação da Política Nacional de Medicamentos (PNM) em 12 de outubro de 1998, pela Portaria n. 3.916/MS que foi formulada com base nas diretrizes da Organização Mundial da Saúde e expressa as principais diretrizes para o setor com o propósito de garantir a necessária segurança, eficácia e qualidade desses produtos, a promoção do uso racional e o acesso da população àqueles considerados essenciais⁴.

Também em 1998 a portaria n.º. 3.916, como estratégia para o acesso a medicamentos, marcou o início da política de medicamentos genéricos, que são, em geral, mais baratos (de 30% a 50% ²) que os medicamentos inovadores devido em grande parte ao fato de não recaírem sobre o genérico os custos relativos ao desenvolvimento da nova molécula e dos estudos clínicos necessários⁵.

Nos anos 1980 foi tomada uma série de iniciativas, com o objetivo de desenvolver a produção nacional de fármacos. Porém, o que se verificou nos anos 1990 é que a pesquisa e o desenvolvimento de novos fármacos no Brasil continuaram incipientes.

A lentidão nessa área se deve ao “comodismo” das indústrias, que preferem atuar em fases menos complexas, como a produção de fármacos antigos, que já estão em domínio público.

Na década de 1990, o aumento de importações de medicamentos acabados foi de 1.304% e o de fármacos e intermediários de 204%. Com o advento da globalização, a queda das barreiras comerciais de diferentes produtos importados tornou-se inevitável.

Mas, por outro lado, existe neste contexto de abertura, um risco natural e proeminente: a facilidade e os custos reduzidos podem levar aquisição de produtos com qualidade duvidosa⁶.

A maior parte das importações de insumos farmacêuticos é originária de países onde estão localizados os laboratórios das grandes transnacionais do setor. Os principais fornecedores de insumos são Itália, Índia e Espanha. Países como China, Coreia do Sul e Israel ganharam importância como países exportadores de fármacos para o Brasil. Os laboratórios nacionais atuam geralmente com produtos similares e genéricos. A exportação de medicamentos acabados é incipiente por parte dos laboratórios nacionais, dadas às dificuldades de se obter algum poder de diferenciação internacional no setor.

Há, no entanto, potencial considerável para a exportação de genéricos. Assim como nas multinacionais, as importações dos laboratórios nacionais, principalmente de fármacos, aumentaram consideravelmente na década passada⁷.

A indústria farmacêutica é a indústria que mais valor agregado tem com os seus produtos, que chegam a valores maiores de US\$1000 por grama. Por isso a importância de investimentos nesta área.

Entretanto, a competitividade do medicamento depende de sua eficiência, que, por sua vez, depende, entre outros fatores, da matéria-prima usada no seu processamento.

A matéria-prima proveniente da Itália, Espanha e Índia apresentam eficiência superior àquelas aos provenientes da China e Coreia do Sul. Essa diferença pode ser resultado dos tipos de polimorfos dos princípios ativos (PA) presentes nos fármacos.

Assim, é necessário uma análise prévia da matéria-prima para se identificar e quantificar os compostos com ações benéficas, para que os medicamentos produzidos sejam de melhor qualidade, trazendo, com isso, um melhor retorno para saúde pública, principalmente dos mais carentes, que fazem uso de medicamentos genéricos e similares, e para a indústria farmacêutica.

1.3 Porque estudar a estrutura cristalina dos fármacos

As moléculas orgânicas, entre elas, os fármacos, podem existir em mais de uma estrutura cristalina (polimorfo). Polimorfismo é definido como a propriedade de uma substância de se cristalizar em mais de uma estrutura cristalina. Pseudo-polimorfismo se trata da oclusão de solventes na estrutura cristalina. Mas para indústria farmacêutica o termo polimorfismo é usado englobando tanto os polimorfos quanto os pseudo-polimorfos, e considerando até mesmo o material amorfo. O polimorfismo apresenta, portanto, diferenças em sua rede cristalina que podem apresentar diferentes propriedades. Além disso, os fármacos

recebem a aprovação de uma agência reguladora para um polimorfo, pois quando o medicamento é administrado por via oral sua taxa de dissolução foi estudada exatamente para o sólido cristalino do princípio ativo regulamentado⁸.

A diferença na periodicidade implica em diferença na energia de ligação, portanto, diferentes reatividades entre os vários arranjos tridimensionais das moléculas. Para moléculas conformacionalmente flexíveis, forças intramoleculares também podem contribuir para tais diferenças. Estatisticamente 85% dos princípios ativos (PA) apresentam polimorfismo⁹. Na Tabela 2 estão relacionadas às propriedades que podem ser afetadas as diferentes formas cristalinas.

Tabela 2. Propriedades físico-químicas que podem ser afetadas por diferentes estruturas cristalinas.

Empacotamento	Volume e densidade molar; Índice de refração; Condutividade elétrica e térmica; Higroscopicidade;
Propriedades termodinâmicas	Temperatura de sublimação e fusão; Energia interna (isto é energia estrutural); Entalpia; Capacidade Calorífica; Entropia; Energia livre, potencial químico Atividade termodinâmica Pressão de vapor Solubilidade
Propriedades Espectroscópicas	Transições eletrônicas (ultra-violeta) Transições Vibracionais (absorção do espectro do infravermelho e Raman) Transições Rotacionais (absorção do espectro do infravermelho e microondas) Transições nucleares (spin) (espectro de ressonância magnética nuclear).
Propriedades Cinéticas	Razão de dissolução; Variação nas reações de estado sólido Estabilidade
Propriedades de Superfície	Energia livre de superfície; Tensões interfaciais; Forma;
Propriedades Mecânicas	Dureza; Força tensão;

As diferenças nas propriedades físico-químicas são dependentes da estrutura do polimorfo, processamento e formulação. Durante o processamento pode ocorrer transformação de fase, por exemplo: secagem, compactação, moagem. Esta mudança de fase pode afetar a estabilidade do produto e em alguns casos a biodisponibilidade do fármaco.

Assim se torna altamente relevante o estudo das possíveis formas cristalinas dos fármacos (polimorfos). O conhecimento das estruturas cristalinas dos polimorfos reduz a possibilidade de surpresas no resultado, pois permite controlar o processamento de forma a se obter o resultado desejado. Ou seja, a compreensão entre a propriedade de estado sólido e a estrutura cristalina pode ser utilizada para a otimização operacional e para estratégia da formulação, diminuindo problemas posteriores.

1.4 Fármacos no estado sólido

A maior parte dos produtos farmacêuticos, tanto os princípios ativos quanto os excipientes é encontrado no estado sólido assim como suas administrações¹⁰. Assim, merecem atenção especial as formas farmacêuticas no estado sólido, cuja dissolução pode ser afetada significativamente pelas características inerentes ao próprio fármaco, bem como pela presença de excipientes que favoreçam ou dificultam essa dissolução, além das técnicas de fabricação empregada¹¹. Portanto, formas farmacêuticas sólidas de uso oral, de liberação imediata ou modificada, são aquelas que, potencialmente, podem apresentar problemas em relação à biodisponibilidade e à bioequivalência¹²⁻¹⁵. Ver Anexo 3.

A cristalização é amplamente utilizada para a produção de uma vasta gama de produtos químicos. A qualidade de um produto cristalino está relacionado principalmente com a distribuição do tamanho de cristalito, forma do cristal, pureza, estado de solvatação e polimorfismo¹⁶.

A existência de polimorfismo pode influenciar a biodisponibilidade, a estabilidade química e física do fármaco e ter implicações no desenvolvimento e estabilidade da forma farmacêutica, levando-se em consideração as alterações ocorridas nas características dos cristais¹⁷.

O polimorfismo decorre das condições empregadas na síntese e purificação da substância, dependendo, por exemplo, do tipo de solvente utilizado e da temperatura da reação. Dois polimorfos de um mesmo composto podem ser tão diferentes em estrutura cristalina e propriedades físicas como dois compostos distintos, sendo que essas diferenças

manifestam-se enquanto o fármaco está em estado sólido, ou seja, uma vez obtida em solução às diferentes formas não podem mais ser distinguidas. Portanto, podem ser esperadas diferenças na ação do fármaco, em termos farmacológicos e terapêuticos devido à presença de polimorfos em formas farmacêuticas sólidas, assim como em suspensões. Outro fator importante é que o polimorfo menos estável tende a se transformar no polimorfo mais estável (transição polimórfica), o que pode ocorrer em função do tempo e da temperatura de armazenamento, do tipo de processo de compressão utilizado e da redução do tamanho de partículas. Caso no momento da formulação não seja verificado qual será o polimorfo utilizado, pode-se obter um produto ineficaz devido ao comprometimento da dissolução do fármaco e, conseqüentemente, de sua biodisponibilidade.

Outros fatores ligados às propriedades físico-químicas do fármaco também devem ser considerados:

Tamanho das partículas: com a redução do tamanho das partículas do fármaco obtém-se maior área superficial do sólido em contato com o meio de dissolução, resultando em maior velocidade de dissolução, por isso tem efeito significativo na biodisponibilidade e/ou estabilidade.

Higroscopicidade: as formas anidras dos fármacos apresentam atividade termodinâmica maior em relação aos seus hidratos correspondentes e, conseqüentemente, maiores solubilidade e velocidade de dissolução em relação às formas hidratadas.

Solubilidade: somente o fármaco dissolvido nos líquidos do trato gastrointestinal pode ser absorvido, o que requer determinada hidrossolubilidade; entretanto, o fármaco deve apresentar também certa lipossolubilidade para atravessar as membranas biológicas que são de natureza lipoprotéica; os compostos relativamente insolúveis têm absorção incompleta ou irregular¹².

Polimorfos podem ser classificados como monotrópicos ou enantiotrópicos. No primeiro caso em um par de polimorfos, um é estável em toda faixa de temperatura até o ponto de fusão, no gráfico de energia livre vs temperatura não há temperatura de transição porque não há cruzamento entre as linhas dos polimorfos sendo um sistema irreversível. Figura 1(a), exemplo deste sistema é a metalozona e o palmitato de clorofenicol. No segundo caso, um polimorfo é estável, tendo menor energia livre e solubilidade numa certa faixa de temperatura e pressão enquanto outro é estável tendo menor energia livre e solubilidade em outra faixa de temperatura e pressão. Esse sistema pode ser reversível tendo uma temperatura de transição no cruzamento da curva de energia livre vs temperatura antes do ponto de fusão

Figura 1(b); exemplos que mostram este comportamento são a carbamazepina (Forma III e I), metoclopramida e tolbotamida ¹⁸⁻¹⁹.

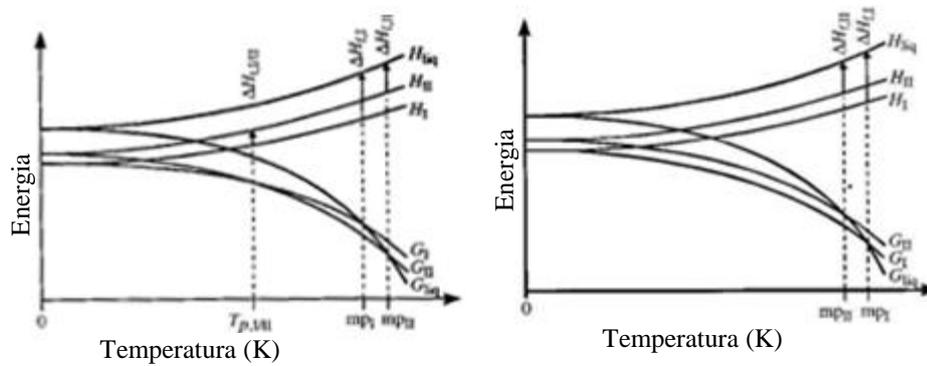


Figura 1. Gráfico de Temperatura vs Energia para (a) polimorfos monotrópicos e (b) polimorfos enantiotrópicos.
†

Assim o estudo dos fármacos no estado sólido e sua caracterização físico-química são importantes para: Segurança e liberação adequada do medicamento; Proteção da substância ativa; Mascaramento de sabor e odor; Permitir formulação de preparações líquidas de substâncias insolúveis nos fluidos biológicos; Controlar a liberação do ativo; Possibilitar a inserção da substância ativa em determinada via de administração.

No contexto mundial, o polimorfismo é fonte de bastante discussão, já que pode afetar diretamente tanto a saúde pública quanto a indústria farmacêutica, deste último o maior interesse é no que tange as patentes que seria o meio de manter exclusividade. Mas como se observa na Tabela 3, ainda falta, por parte das agências reguladoras, uma resolução sobre a política dos polimorfos.

† Fonte: Bernstein, J. in Polymorphism in Molecular Crystals p.34-35 (2002)

Tabela 3. Situação dos pedidos de patentes das formas polimórficas de alguns países.

País / Organização	Situação de pedidos de patentes sobre formas polimórficas
África do Sul	Sem menção específica na lei.***
Argentina	Sem menção específica na lei; com exemplo de patente concedida.*
China	Menção específica nas diretrizes de exame, condicionando aos requisitos de patenteabilidade; com exemplo de patentes concedidas.*
Comunidade Andina	Sem menção específica na lei.
Coréia	Sem menção específica na lei; com exemplo de patente concedida.*
EUA	Sem menção específica na lei; com exemplo de patente concedida.****
EPO (Com. Européia)	Sem menção específica na lei; com exemplo de patente concedida.****
Índia	Expressamente regulamentada em lei a questão das formas polimórficas, condicionando aos requisitos de patenteabilidade e particularmente ao aumento da eficácia.** com exemplo de patente concedida.*
Japão	Sem menção específica na lei; com exemplo de patente concedida.****
Rússia	Sem menção específica na lei; com exemplo de patente concedida.*

*Sem acesso ao quadro reivindicatório concedido

**Conforme o item 3(d) do *The Patentes (Amendment) Act*, 2005, Índia

***Andamento dos pedidos não disponíveis na base de dados

****quadros reivindicatórios analisados quanto à matéria concedida (produto, processo, composição e uso)

Fonte: INPI[‡]

No Brasil, segundo o Instituto Nacional de Propriedade Intelectual (INPI) simplesmente um novo polímero não é considerado atividade inventiva, que é fundamental para o patenteamento.

... A Lei não faculta ao INPI descartar pedido de patente por se tratar de polímero ou de segundo uso, pois não incluiu tais naturezas de solicitações na lista de exclusões, que é exaustiva e não exemplificativa. Na forma da Lei, a negativa deve decorrer do fato de não haver novidade e atividade inventiva...

... A atividade inventiva de uma forma polimórfica será aferida ao se constatar um efeito que solucione um problema do estado da técnica suficientemente diferenciador, como por exemplo: aumento na estabilidade, solubilidade aparente e processabilidade[‡].

Neste contexto é de grande importância a aplicação de várias técnicas como, análise térmica²⁰, RMN, Microscopia, difração de raios X¹¹, entre outras, tanto para o estudo de novos fármacos, os quais são moléculas orgânicas e, portanto, difíceis de serem obtidos na forma pura, quanto para o controle de matérias-primas para fabricação medicamentos.

[‡] http://www.inpi.gov.br/menu-esquerdo/patente/discussoes-tecnicas/polimorfismo/index_html#Metodologia

1.5 Difração de raios X e método de Rietveld

A difração de raios X assume muitas funções nas análises farmacêuticas. A difração de policristais é uma poderosa ferramenta no estudo de polimorfos: primeiramente porque permite alta precisão nos resultados de estrutura cristalina; permite também o estudo de sistemas com mais de uma fase e conseqüentemente de diferentes polimorfos, podendo assim ser identificado a contribuição de cada fase²².

Fármacos são tipicamente sólidos orgânicos que existem numa numerosa forma que caracterizam diferentes propriedades físicas e químicas. Podem ser isolados em diferentes formas cristalográficas da mesma substância química em diferentes polimorfos, solvatado, anidro e amorfo. Este fenômeno apresenta uma oportunidade para o cientista que está interessado em entender a estrutura e/ou propriedades relacionadas em sólidos orgânicos. Dessa maneira o polimorfismo e as suas implicações nas atividades dos fármacos, têm gerado um grande interesse na caracterização de sólidos farmacêuticos²³.

Assim a difração de raios X por policristais (DRXP) é uma técnica poderosa para análise quantitativa e qualitativa de misturas sólidas cristalinas²⁴. Para análise de fármacos, a DRXP tem se mostrado viável graças aos avanços tecnológicos que permitiram melhorar significativamente os dispositivos de geração de raios X (ânodo rotatório, luz Síncrotron), detecção de raios X (detectores de estado sólido, sensíveis à posição, múltiplos detectores) e resolução (luz síncrotron, monocromadores sagitais, espelhos de focalização e outros).

Tudo isso resultou em maior sofisticação na caracterização de fármacos, possibilitando obter uma maior quantidade de informações do padrão de difração do que se tinha até então²³. O Método de Rietveld de refinamento de estruturas cristalinas tem mostrado um grande potencial para a identificação e quantificação de compostos orgânicos, principalmente devido aos avanços, citados acima, de geração e detecção de raios X, e aos avanços dos recursos computacionais. Com o método de Rietveld é possível identificar, sem ambigüidade, os polimorfos e quantificar cada um. Entretanto, o método é limitado aos casos onde a estrutura cristalina é conhecida.

2 Motivação

Moléculas orgânicas freqüentemente se cristalizam em diferentes formas (polimorfos). Estes polimorfos apresentam estrutura química idênticas, mas com estruturas cristalinas

diferentes e propriedades físicas distintas como, por exemplo, a solubilidade, a razão de dissolução, a estabilidade ou biodisponibilidade. Conseqüentemente, é importante identificar e controlar a forma polimórfica e a pureza do polimorfo em todos os estágios de produção de um medicamento.

Como exemplo de polimorfos, podemos citar o paracetamol (acetaminofen), que é um importante analgésico e antipirético com seus 2 polimorfos mais conhecidos. O monoclinico ($P2_1/n$) é termodinamicamente estável à temperatura ambiente e é facilmente obtido como monocristal. O ortorrômbico ($Pcab$) é metaestável à temperatura ambiente, pois com o armazenamento prolongado (3-4 meses em temperatura ambiente, ou 1 hora a 90°C e pressão aproximadamente de 2,34 kPa) a estrutura passa para monoclinica²⁵. Porém, numa busca no banco de estruturas cristalinas, Cambridge Structural Database® (CSD), mais estruturas são encontradas do que as normalmente citadas na literatura: 1 estrutura triclinica, 12 monoclinicas e 7 ortorrômbicas.

Outro exemplo em que se pode aplicar a difração de raios X é a questão da análise da hidratação de um fármaco (que pode ser chamado de pseudo-polimorfo), pois também pode mudar suas propriedades físicas e sua estrutura cristalina. O naproxeno, um conhecido antiinflamatório, como demonstrado por Kim *et al.*²⁹ que estudaram a influência do fármaco monohidratado, dihidratado e anidro, concluíram que a forma monohidratada é mais estável que a dihidratada, já que a forma anidra só é observada após total desaparecimento da forma dihidratada.

Assim, tão importante quanto à síntese de novos fármacos é a caracterização de suas formas polimórficas, já que elas podem influenciar de forma significativa o funcionamento de um medicamento. Dessa forma, a necessidade de novas pesquisas para o esclarecimento destas formas se torna imprescindível. A técnica por difração de raios X vem de encontro a essas necessidades, pois é adequada para a análise destes fármacos (sólidos cristalinos) podendo, através dos métodos de Rietveld ou modificado de Scarlett-Madsen, identificar e quantificar os polimorfos matérias-primas e medicamentos.

Outra motivação para o desenvolvimento desse projeto está nas normas da agência reguladora brasileira (Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA), que deverá requerer como técnica para a caracterização de polimorfos a difração de raios X por policristais e monocristais e, como técnicas suplementares, métodos espectroscópicos e termogravimétricos. A difração de raios X por monocristais é usada para determinação de estruturas. A difração por policristais deve ser usada para caracterizar o material em busca de

polimorfos, como descrito acima. A ANVISA, para a liberação de um novo produto pela indústria farmacêutica, requer que os fármacos sejam caracterizados em cada etapa da produção para certificar que não houve alteração do princípio ativo durante o processamento. Também requer análises do produto após serem submetidos por certo tempo em ambientes com alta umidade. Em todas as etapas, a estrutura do PA não deve sofrer alterações estruturais. A difração de raios X pode ser a ferramenta indicada em todas essas etapas. Essas análises não vêm sendo realizadas adequadamente para comprovar a eficiência do produto, ou seja, os difratogramas são obtidos em laboratórios onde o técnico realiza a medida e entrega à indústria farmacêutica onde será analisada por um farmacêutico ou químico, sem o conhecimento adequado para realizar as análises dos difratogramas e verificar possíveis alterações.

A terceira motivação está relacionada com a contribuição que ela pode trazer para a melhoria da saúde pública, contribuindo com antigas políticas de vários governos do Brasil, de prestar atendimento às populações carentes.

3 Fármacos Estudados

3.1 Ácido Mefenâmico

Fármacos antiinflamatórios não esteróides (AINEs) desempenham papéis essenciais como antiinflamatório, analgésico e antipirético. Fenematos, como, por exemplo, o Ácido Mefenâmico, são os AINEs mais frequentemente usados clinicamente para a redução de inflamação e dor associada à artrite e para dores causadas pelo período menstrual³¹. Além disso, os efeitos potenciais dos AINEs sobre o sistema nervoso central, tais como a neuroproteção, tem instigado estudos clínicos para a prescrição na doença de Alzheimer³². A Figura 2 apresenta a molécula do ácido mefenâmico $C_{15}H_{15}NO_2$ ácido (2-(2,3-dimetilfenil)aminobenzóico).

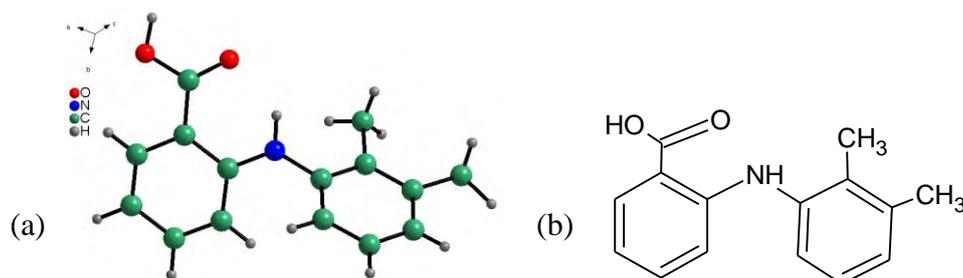


Figura 2. (a) Molécula do Ácido Mefenâmico e (b) fórmula estrutural plana $C_{15}H_{15}NO_2$.

Segundo a farmacopéia americana (USP) o ácido mefenâmico é um pó branco acinzentado, solúvel em água, pH 7,1. Solúvel em soluções alcalinas; moderada solubilidade em éter, clorofórmio; ligeiramente solúvel em etanol. Peso molecular de 241,29 g.mol⁻¹. Na Tabela 4 apresenta interações medicamentosas do ácido mefenâmico com outros fármacos. A patente de preparação é da Parke-Davis: BE 605302(1961); US 3138636 (1964).

É comercializado como genérico pelos laboratórios Genéricos, EMS, Legrand genéricos, Medley e biossintética. Similares Royton (Mefenen), Legrand (Posndril), Hexal (Pontin) e Delta (Pontrex). O medicamento de referência é o Ponstan® comercializado pela Pfizer.

Tabela 4. Interações medicamentosas entre alguns fármacos e o ácido mefenâmico.

Acenocumarol	Aumenta o efeito anticoagulante
Alendronato	Aumenta o risco de toxicidade gástrica
Anisindiona	Aumenta o efeito anticoagulante
ciclospirina	Monitor for nefrotoxicidade
Dicumarol	Aumenta o efeito anticoagulante
Metotrexato	Aumento do efeito e toxicidade metotrexato
Varfarina	Aumenta o efeito anticoagulante

O ácido mefenâmico é descrito na literatura como tendo duas formas polimórficas (Formas I e II)³³⁻³⁵. No CSD existe uma estrutura determinada, uma indexada e com solventes existem três, todas mostradas na Tabela 5.

Tabela 5. Estruturas cristalinas encontradas no banco de dados CSD para o ácido mefenâmico.

	XYANAC	XYANAC01*	NASBEP*	NASBIT*	NASBOZ*
Grupo espacial	Pī	Pī	Pī	P21/a	Pī
a (Å)	14.556	7.337	7.721	28.924(1)	7.761(2)
b (Å)	6.811	14.306(2)	15.687	8.134	17.456(5)
c (Å)	7.657	6.790	7.568	7.617	7.564(1)
α°	119.57	101.01	91.05	90	90.26
β°	103.93	114.64(2)	103.85	90,07	97.31
γ°	91.30	76.05(1)	83.95	90	97.78
Solvente	--	--	hidroxipropilamina	bis(2-hidroxietil)amina	tris(2-hidroxietil)amina

* Estruturas apenas indexadas.

Na ficha cristalográfica não há informação de qual forma polimórfica se refere à estrutura. Kato *et al* (2006)³⁴ descrevem as duas formas polimórficas com estudos de difração de raios X e de calorimetria exploratória diferencial (DSC) que estão mostrados na Figura 3.

A comparação dos difratogramas apresentados Figura 3 e a simulação de um difratograma baseado na estrutura cristalina descrita na base CSD (Figura 4) mostraram que essa estrutura cristalina conhecida é a forma I.

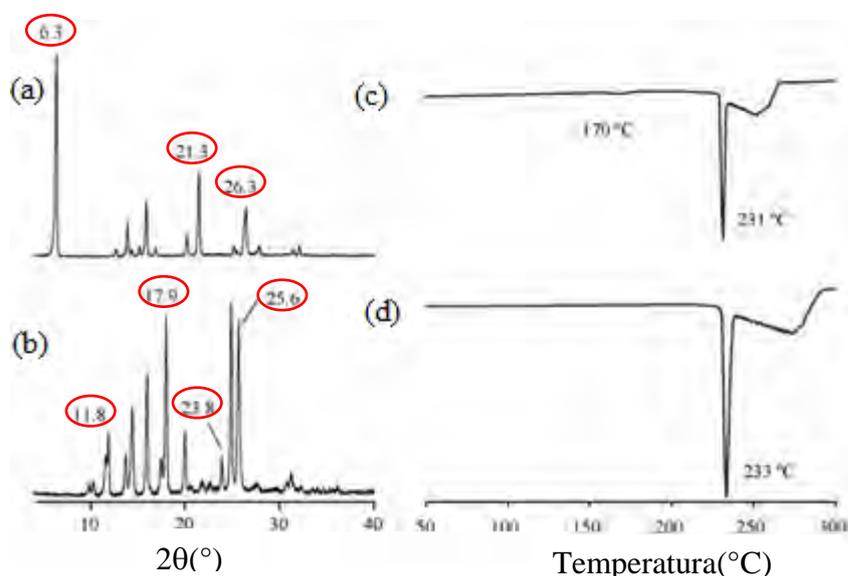


Figura 3. (a) Difratograma de raios X e análise térmica (DSC – 10°/min em nitrogênio (30 mL/min)) da Forma I do ácido mefenâmico; (b) Difratograma de raios X e DSC da Forma II do ácido mefenâmico descrita por Kato et al (2006) ³⁴.

A Figura 4 apresenta a simulação do difratograma realizado com os dados da estrutura cristalina descrita por McConnell & Company (1976)³⁶ (XYANAC) obtidos no CSD. As diferenças nas intensidades dos picos podem ser atribuídas a problemas de orientação preferencial. Pode-se observar a presença dos picos deixados em evidência no trabalho de Kato³⁸ et al (2006). As pequenas diferenças em 2θ podem ser relacionadas tanto com o deslocamento da amostra quanto a pequenas variações na cela unitária do fármaco ou outras aberrações experimentais (divergência axial, distribuição de tamanho de cristalito, transparência da amostra) (ver seção 4.7 e Anexo 4). Os picos de difração característicos da forma II não estão presentes no difratograma simulado ou apresentam grandes diferenças de intensidade, como no caso do pico em 25,6° (2θ) que na forma I tem intensidade relativa extremamente baixa (0,2) e na forma II refere-se ao terceiro pico mais intenso. Assim conclui-se que se trata da forma I.

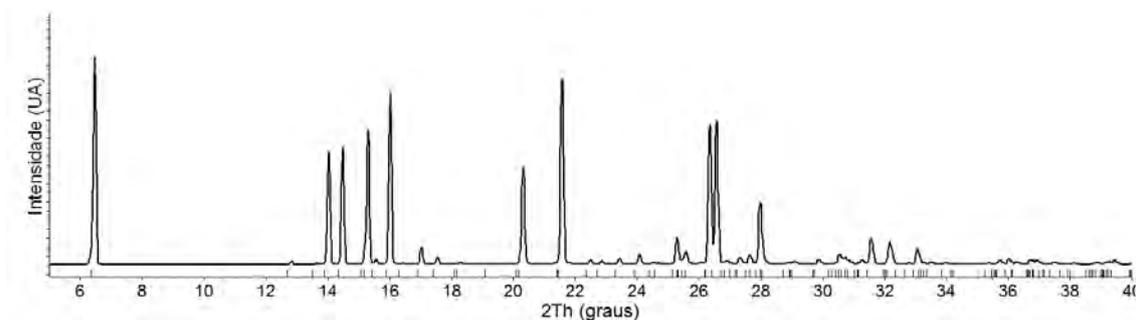


Figura 4. Difratograma do Ácido mefenâmico gerado pela estrutura descrita por McConnell & Company (1976)³⁶, condições de equipamento convencional $\lambda_{Cu} = 1,5406 \text{ \AA}$.

Muitos trabalhos na literatura mostram a caracterização das formas polimórficas do ácido mefenâmico por DSC^{31,33-34,37}. Que apresenta que a forma I identificada pelo pico de transição para a forma II, em torno de 170°C seguido do pico de fusão desta que acontece em $\sim 230^{\circ}\text{C}$ enquanto que o DSC da forma II apenas apresenta seu pico referente à fusão. Porém, se o pó apresenta pequena quantidade da forma I e condições rápidas, a análise poderá fornecer o mesmo resultado que o da forma II. Ou seja, DSC é uma ferramenta que permite a identificação das formas do ácido mefenâmico, mas é necessário estar atento as limitações da técnica.

A Forma I é a forma mais estável, podendo ser convertida na forma II por aquecimento a 160°C ³⁷, segundo Kato et al (2006)³⁴ essa transformação ocorre entre $142,5^{\circ}\text{C}$ - 150°C . Outra diferenciação entre estes polimorfos é relacionada à cor do pó cristalino enquanto a forma I é branca a forma II é verde³⁷.

As formas I e II apresentam diferentes solubilidades e estabilidades, segundo Kato 39T al (2006)³⁴. A razão de dissolução de ambas é maior em uma mistura de solvente (acetato de etila – etanol) menos polar. A forma II apresenta maior razão de dissolução e saturação de concentração que a forma I em misturas de solventes como etanol-água e etanol- acetato de etila, a forma II converte totalmente em forma I depois do equilíbrio com estes solventes³⁷.

3.2 Carbamazepina

Carbamazepina, segundo a farmacopéia Americana (USP), é um pó branco, ou quase branco, praticamente insolúvel em água e solúvel em álcool, acetona e propileno glicol.

A Carbamazepina teve a patente de sua síntese em 1960³⁸, é da classe terapêutica do sistema nervoso central, é um anticonvulsivante e analgésico, rotineiramente usado no tratamento de epilepsia³⁹, neuralgia trigeminal e transtornos psiquiátricos⁴⁰. Quando

administrado com outro anticonvulsivo, é possível prevenir um ataque epilético. Mas, efeitos colaterais graves são relacionados à pele, rim, cérebro e fígado⁴⁰.

A Figura 5 apresenta a molécula da carbamazepina ($C_{15}H_{12}N_2O$ – 5H-Dibenzo(b,f)azepina-5-carboxamida).

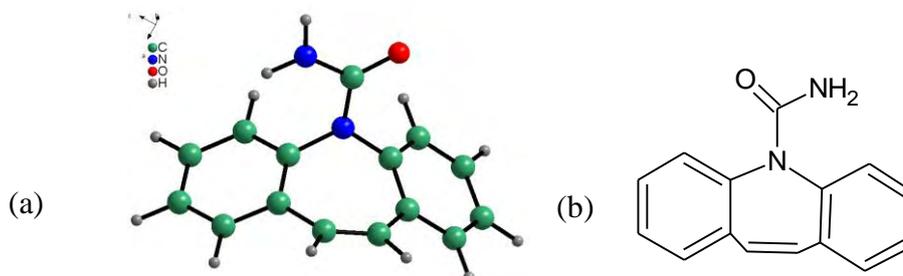


Figura 5. (a) Molécula da Carbamazepina e (b) fórmula estrutural plana $C_{15}H_{12}N_2O$.

No Brasil é comercializada pela Nortec Química e Novartis. O medicamento de referência é o Tegretol da Novartis. Como genérico é produzido pela União Química, Teuto, Sanval, Novartis, Neo Química, Medley, Genéricos Germed, Eurofarma, EMS, Cristália, CAZI, Biosintética. Como similar é produzido pela União Química (carbamazepina/uni carbamaz); Teuto (carmazin); Sanval (convulsan); Neo Química (Tegrex); Cristália (Tegretard); Cazi (Tegrezin); Abbott (Carbamazepina).

A Tabela abaixo apresenta algumas drogas (há mais de oitenta) que apresentam interações medicamentosas com a CBZ. Ou seja, o uso concomitante dessas drogas irá causar efeitos indesejados⁴¹.

Tabela 6. Alguns medicamentos que apresentam interações medicamentosas com a CBZ.

Alprazolam	Reduz o efeito do benzodiazepina
Atorvastatina	Diminui o efeito da estatina
Cimetidina	Aumenta o efeito da carbamazepina
Etinil Estradiol	Pode causar pequena diminuição do efeito contraceptivo
Fluconazol	Aumenta o efeito da carbamazepina
Fluoxetina	Aumenta o efeito carbamazepina
Isotretinoína	Diminui o efeito carbamazepina
Praziquantel	Notadamente diminui os níveis de praziquantel
Risperidona	Diminui o efeito da risperidona
Ritonavir	Aumenta o efeito da carbamazepina
Sertralina	Aumenta o efeito da carbamazepina
Simvastatina	Diminui o efeito da estatina
Warfarin	Diminui o efeito anti coagulante
Ziprasidona	Aumenta o efeito e toxicidade da ziprasidona

O polimorfismo da CBZ é amplamente estudado na literatura. Algumas referências designam a Carbamazepina como tendo 4 formas anidras, um dihidratado e alguns solvatos. Mas uma busca no banco de dados da CSD (Cambridge Structural Database) fornecido pelo Cambridge Crystallographic Data Centre, verifica-se que existem 5 formas anidras, 3 formas dihidratadas e 37 solvatos. A Tabela 7, sumariza os polimorfos encontrados no CSD. Não foram encontrados estudos sobre a forma anidra de grupo espacial Pbc_a além do artigo com a determinação de sua estrutura. A Tabela 8 apresenta as densidades e hábitos dos principais polimorfos da CBZ.

Tabela 7. Polimorfos da Carbamazepina encontrados no banco de dados do CSD.

CBZ	Forma	Grupo Espacial	a (Å)	b(Å)	c(Å)	α°	β°	γ°	Ref
Anidra	III α	P2 ₁	7,537(1)	11,156(2)	13,912(3)	90	92,86(2)	90	⁴²
	III	P2 ₁ /c	7,529(1)	11,148(2)	15,470(2)	90	116,17(1)	90	⁴³
	III	P2 ₁ /n	7,534(1)	11,150(2)	13,917(3)	90	92,94(4)	90	⁴⁴
	II	R $\bar{3}$	35,454(3)	35,454(3)	5,253(1)	90	90	120	⁴⁵
	I	P $\bar{1}$	5,171	20,574(2)	22,245(2)	84,12	88,01	85,19	⁴⁶
Acetona	IV γ	C2/c	26,609(4)	6,927(1)	13,957(2)	90	109,70	90	⁴⁷
		Pbc _a	9,088(2)	10,425(4)	25,005(7)	90	90	90	⁴⁸
		P $\bar{1}$	9,001(3)	7,441(2)	13,755(3)	119,48(1)	78,96(2)	101,61(2)	
dihidratada	Abam	28,659(9)	4,924(2)	19,748(5)	90	90	90	⁴⁹	
dihidratada	Cmca	19,630	4,843	28,805	90	90	90		
dihidratada	P2 ₁ /c	10,066(2)	28,719(5)	4,831(1)	90	103,45(1)	90	⁵⁰	
dihidratada	P2 ₁ /c	10,105	28,809(1)	4,838	90	103,87(1)	90	⁵¹	
Furfural	P2 ₁ /n	5,182	26,045(1)	20,573(1)	90	91,30	90	⁵²	
Ácido trifloroacético	P2 ₁ /n	15,014	5,287	20,249	90	101,74	90		
Acetamida	P2 ₁ /c	7,505	19,506(2)	11,781(1)	90	96,60	90	⁵³	

Outros solvatos da CBZ estão listados a seguir:

2,2,2-trifluoretano;	formamida;
ácido 2,6-piridinadicarboxílico;	ácido fórmico;
4,4'-bipiridina;	isonicotinamida;
ácido 4-aminobenzoico monohidratado;	ácido malônico;
ácido 4-aminobenzoico;	metilpirrolidona;
ácido 5-nitroisofalico e metanol;	N,N-dimetilformamida;
ácido acético;	nicotinamida;
ácido adamantane-1,3,5,7-tetracarboxílico;	nitrometano;
brometo de amônio;	pirazina-N,N'-dioxido;
cloreto de amônio;	quinoxalina-N,N'-dióxido;
aspirina;	sacarina;
ácido butanóico;	tereftalaldeido;
dimetilsulfoxida;	tetraidrofurano;
benzoquinona;	ácido trimesico;

Tabela 8. Hábito e densidade dos polimorfos da CBZ segundo a literatura⁴⁷.

Forma CBZ	Densidade (g.cm ⁻³)	Hábitos
I	1,343	agulha
II	1,235	-
III	1,343	prisma
IV	1,268	plaqueta

A Forma III é utilizada comercialmente porque apresenta maior estabilidade a temperatura ambiente e maior solubilidade e biodisponibilidade⁵⁴. A forma IV pode se formar, sob algumas condições, durante a formulação do medicamento. A forma IV apresenta menor solubilidade que a forma III, conseqüentemente a presença afetaria a biodisponibilidade, assim como a presença dos outros polimorfos da CBZ⁵⁵. A Forma III e a Forma I é um par enantiotropo, sendo transformação da forma III na forma I à ~185°C, a Forma II pode ser obtida por recristalização da forma III de uma solução supersaturada em etanol a 0°C, a forma IV de recristalização em metanol a 80°C⁵⁵⁻⁵⁶.

As Formas I e III podem ser distinguidas por DSC, como apresenta a Figura 6. A Forma I apresenta um evento endotérmico em 192°C referente a sua fusão; e a Forma III apresenta um evento endotérmico em 175,7°C referente a sua fusão, um evento exotérmico a 176,6°C referente a cristalização da forma I e por ultimo um evento endotérmico em 191,3°C referente a fusão da forma I.

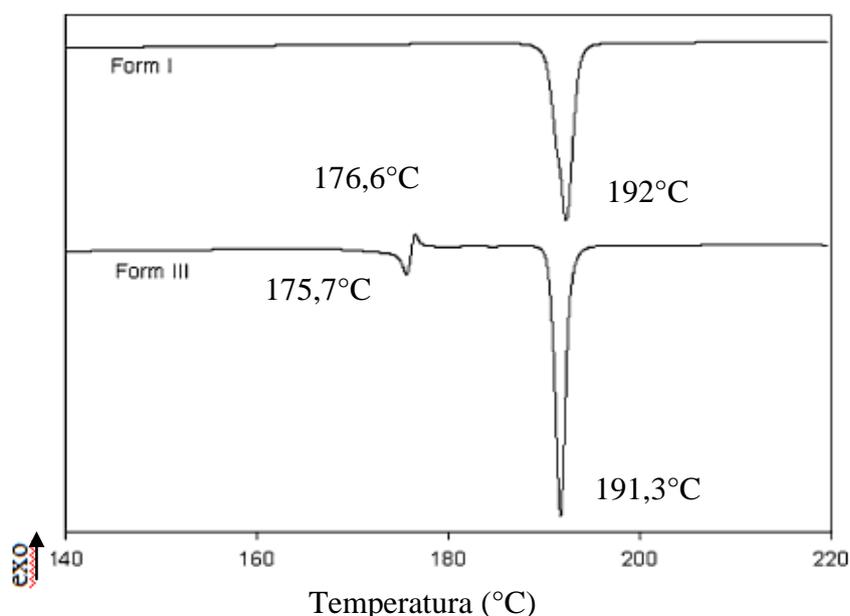


Figura 6. Curvas de DSC dos polimorfos I e III da CBZ descritos por Ghita (2008)⁵⁴ sob aquecimento de 10°C min⁻¹ e atmosfera de nitrogênio.

Para a caracterização inequívoca dos polimorfos da CBZ a difração de raios X é uma boa opção como se observa na Figura 7, que apresenta o difratograma característico de cada polimorfo e que aparentemente tem picos de fácil diferenciação entre eles. E para uma possível mistura de polimorfos é possível a utilização do M R e quantificá-los já que estes tem a estrutura cristalina conhecida.

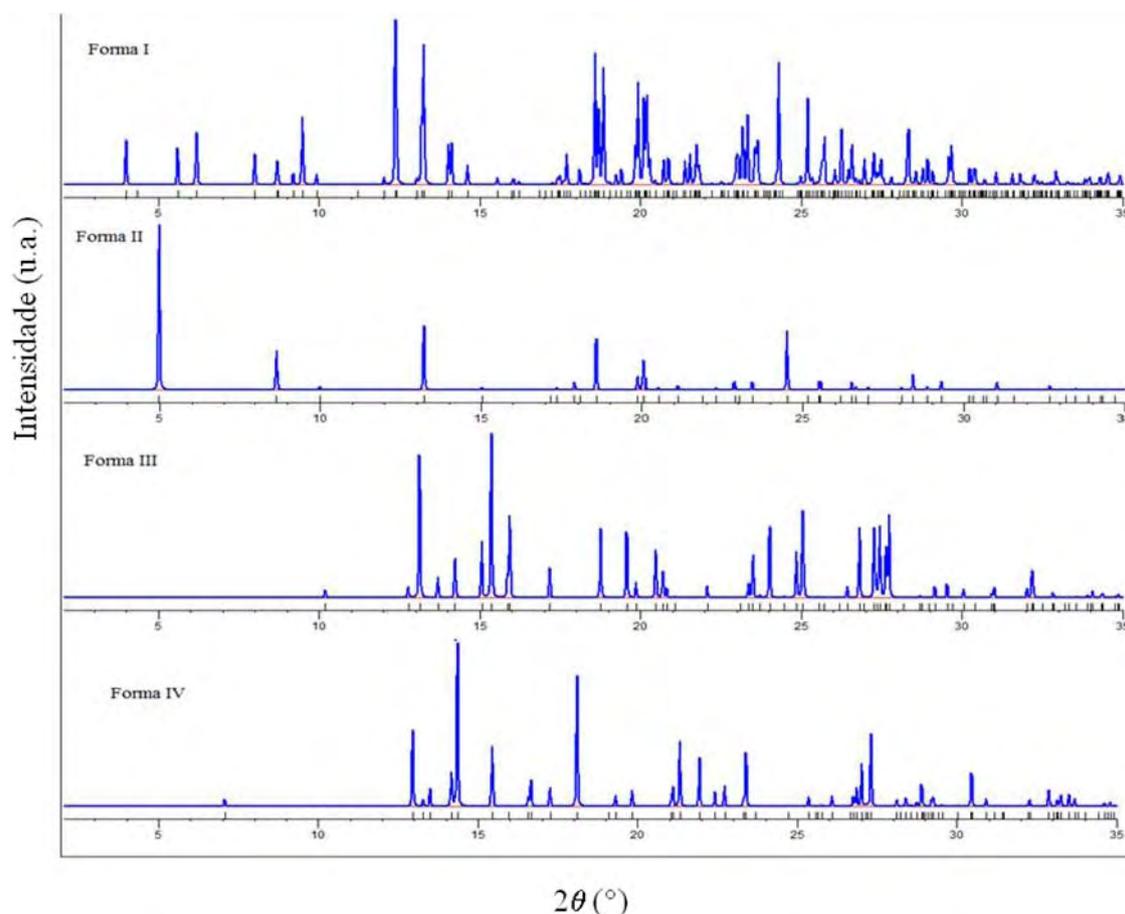


Figura 7. Difratogramas de raios X para as Formas I,II, III e IV da CBZ gerados a partir de suas estruturas cristalinas^{43,45-47} encontradas no banco de dados CSD e condições de equipamento convencional $\lambda_{Cu} = 1,5406 \text{ \AA}$.

3.3 Tibolona

A tibolona (IUPAC – (7 α ,17 β)-17-etinil-17-hidroxi-7-metilester-5(10)eno-3-ona) é um fármaco usado para reposição hormonal feminina após a menopausa e em 2001 verificou-se que ele também age na prevenção da osteoporose, e embora cause a diminuição do HDL (bom colesterol), não aumenta os riscos da mulher sofrer problemas nos vasos cardíacos⁵⁷⁻⁶¹. Também se verificou que ela pode prevenir câncer em mulheres pós-menopausa⁶²⁻⁶³. Depois

da administração oral ele é rapidamente convertido em três metabólitos. Dois são estrogênicos e o terceiro progestênicos⁶⁴.

Tem sua patente de preparação apresentada pela empresa Organon por Jonh e Vliet (1967) US 3340279⁶⁵ e outra patente também de posse da Organon do processo de obtenção melhorado por Winter e Harryvan (1969), US 3475465⁶⁶.

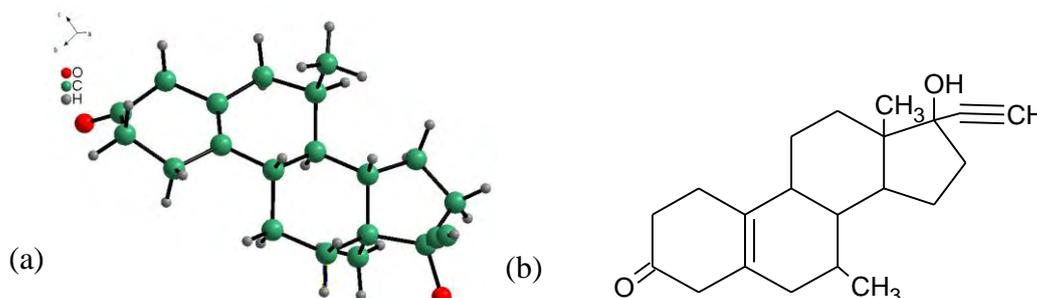


Figura 8: (a) Molécula de Tibolona e (b) fórmula estrutural plana ($C_{21}H_{28}O_2$).

A Figura 8 apresenta a molécula da tibolona, que na literatura também o comumente encontrada por $7\alpha MNa$ ⁶⁷. No Brasil comercializada pela indústria Libbs Farmoquímica Ltda, vendida como medicamento similar pelas indústrias Cifarma, Libbs, Organon, Biolab Sanus, Greenpharma, Farmoquimica e Neoquimica. O medicamento de referência para a dosagem de 1,25 mg é o Libiam® comercializado pela Libbs enquanto que o de 2,50, Livial® é comercializado pela Organon.

A tibolona apresenta dois polimorfos que são designados como polimorfo triclinico de grupo espacial $P1$ ⁶⁸ e o monoclinico de grupo espacial $P2_1$ ⁶⁹. Seus difratogramas gerados a partir de suas estruturas cristalinas estão mostrados na Figura 9. Neste caso a caracterização visual por difração de raios X é dificultada pela alta sobreposição dos picos dos dois polimorfos, porém adequadamente caracterizada levando-se em conta suas estruturas cristalinas, utilizando o MR.

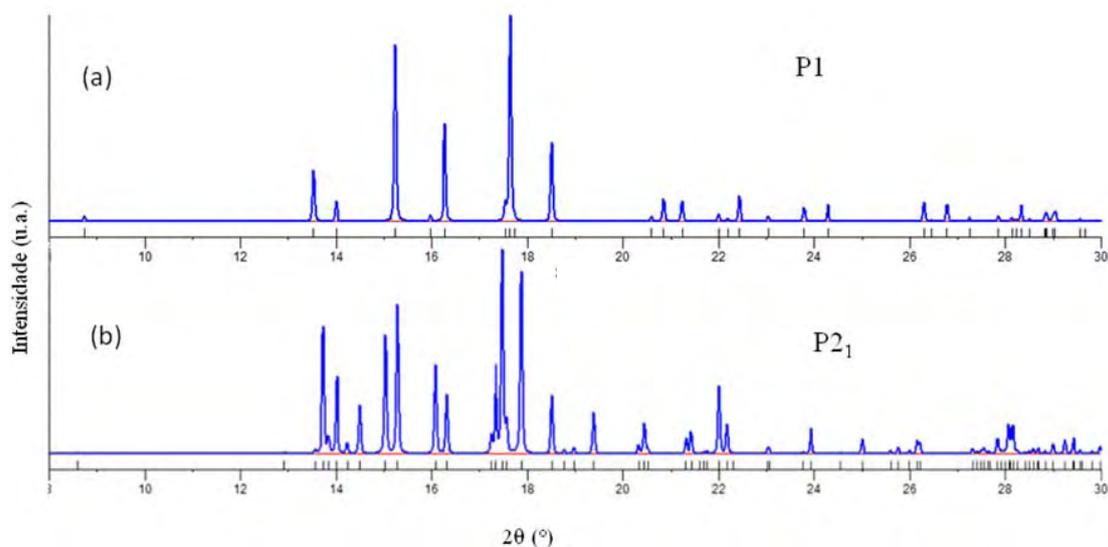


Figura 9. Difratogramas gerados das estruturas cristalinas dos polimorfos (a) triclinico P1 e (b) monoclinico P2₁ da Tibolona com condições de equipamento convencional $\lambda_{Cu} = 1,5406 \text{ \AA}$.

A obtenção da fase triclinica (P1) pode se realizada através de solventes apolares como, por exemplo, o hexano resultando na característica deste polimorfo que tem o hábito em forma de agulhas enquanto que a fase monoclinica pode ser obtida com solventes de media polaridade como a acetona e acetonitrila formando hábitos de plaquetas⁶⁷.

No organismo, a tibolona, se converte rapidamente em três metabólitos sendo o principal o 3 α -OH-tibolona (propriedade estrogênica) seguido do 3 β -OH-tibolona (propriedade estrogênica) e o isômero Δ^4 ⁷⁰ também chamado de isotibolona. A formação destes metabólitos é o que confere à tibolona sua atividade hormonal.

3.4 Isotibolona

A isotibolona é um metabólito importante da tibolona também encontrado na literatura como isômero Δ^4 e tem propriedades tanto progestênica como androgênica⁷⁰. Estudos têm verificado que esse isômero pode evitar o crescimento de células cancerígenas, quando metabolizado, em mulheres pós-menopausa^{62-63,71-72}. Porém, quando no medicamento, seu efeito pode ser o inverso e é, portanto, indesejado na matéria-prima.

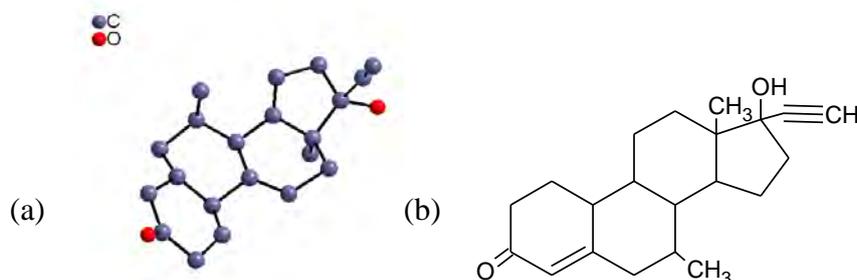


Figura 10. (a) Molécula da Isotibolona e (b) fórmula estrutural plana ($C_{21}H_{28}O_2$).

A isotibolona não tinha a estrutura cristalina determinada. Assim, o doutorando Gabriel Lima Barros de Araujo a sintetizou para que pudesse ser caracterizada. Ela foi indexada usando DRXP⁷³ para a sua identificação em misturas. Sua estrutura cristalina também foi determinada e usada na quantificação em matérias primas de tibolona.

3.5 Mebendazol

Mebendazol (IUPAC (5-benzoil-1H-benzimidazol-2-il)carbamato de metila) e um pó branco ligeiramente amarelado, insolúvel em água, soluções ácida, álcool, éter e clorofórmio, teve sua patente de preparação US 3657267 em 1972. É utilizado como anti-helmíntico (ativo para nematódeos e cestódeos), sendo eficiente para infestações de mais de um tipo de verme. A Figura 11 apresenta a molécula do Mebendazol⁷⁴⁻⁷⁵.

No Brasil é comercializada pela indústria Formil. É vendido como similar pelos laboratórios Belfar, Ducto, Sanval, Herald's, Hym, Pharmascience, Royton, Biofarma, Greenpharma, Geolab, Elofar, Osorio de Moraes, Ache, Neo química, Multilsb, Bunker, Nycomed pharma, Janssen-Cilang, Teuto, Profarb, União química, Globo, Cifarma, Lasa e Delta; como genérico pelos laboratórios Legrand genéricos, Lasa, Mariol, Cifarma, EMS, Prati.Donaduzzi, Medley, Abbot, Genericos Germed, Geolab, Biossintética, Biolab, Cimed, Teuto, Neo química e Cristalia; O medicamento de referência de 100mg é comercializado pela Ache (Necamin®), o de 20mg (solução) e de 500 mg pela Janssen-Cilang com nome de Pantelmin®. Os muitos laboratórios optam por produzir este medicamento primeiramente pela procura, principalmente porque no Brasil existem problemas de saneamento básico o que prolifera este tipo de doença em nas áreas afetadas e também porque é um medicamento de baixo custo.

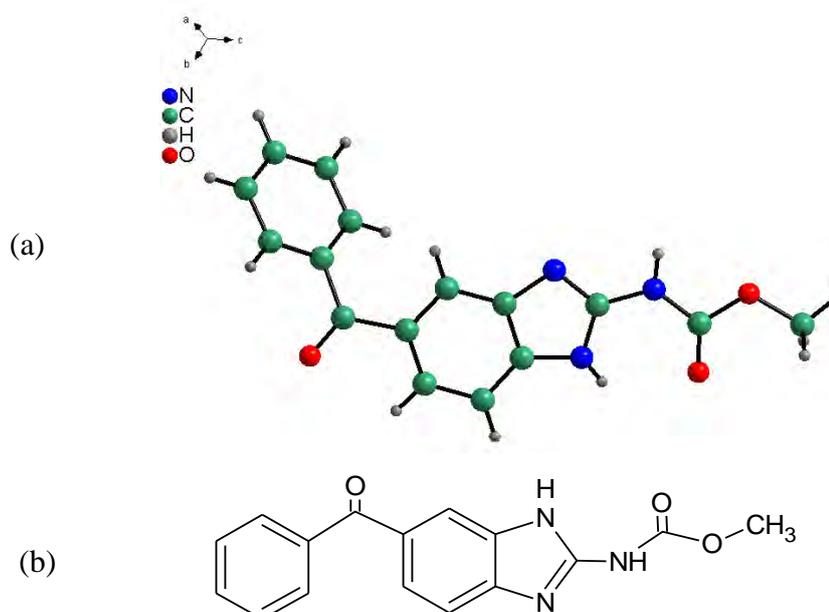


Figura 11. (a) Mólcula de Mebendazol e (b) fórmula estrutural plana $C_{16}H_{13}N_3O_3$.

O mebendazol é descrito como tendo três formas polimórficas forma A, forma B e forma C. Em meio fisiológico a solubilidade dos polimorfos é: Forma B > Forma C > Forma A. A forma C é a preferida por causa de seu aumento de solubilidade em água e tendo adequada biodisponibilidade. O medicamento não possui atividade anti-helmitica^{74,76} se a Forma A esta acima de 30%.

Estudos de estabilidade térmica⁷⁴ mostram que, sob aquecimento, os polimorfos C e B se transformam no polimorfo Forma A, em temperaturas acima de 170°C e 210°C, respectivamente e que os polimorfos B e C há alteração da estrutura cristalina e a fusão da forma A⁷⁴.

A Figura 12 apresenta os difratogramas gerados a partir das estruturas cristalinas, da Forma C e da Forma A^{77§}.

[§] Determinação realizada Furlan (2009), colaborador do grupo de pesquisa.

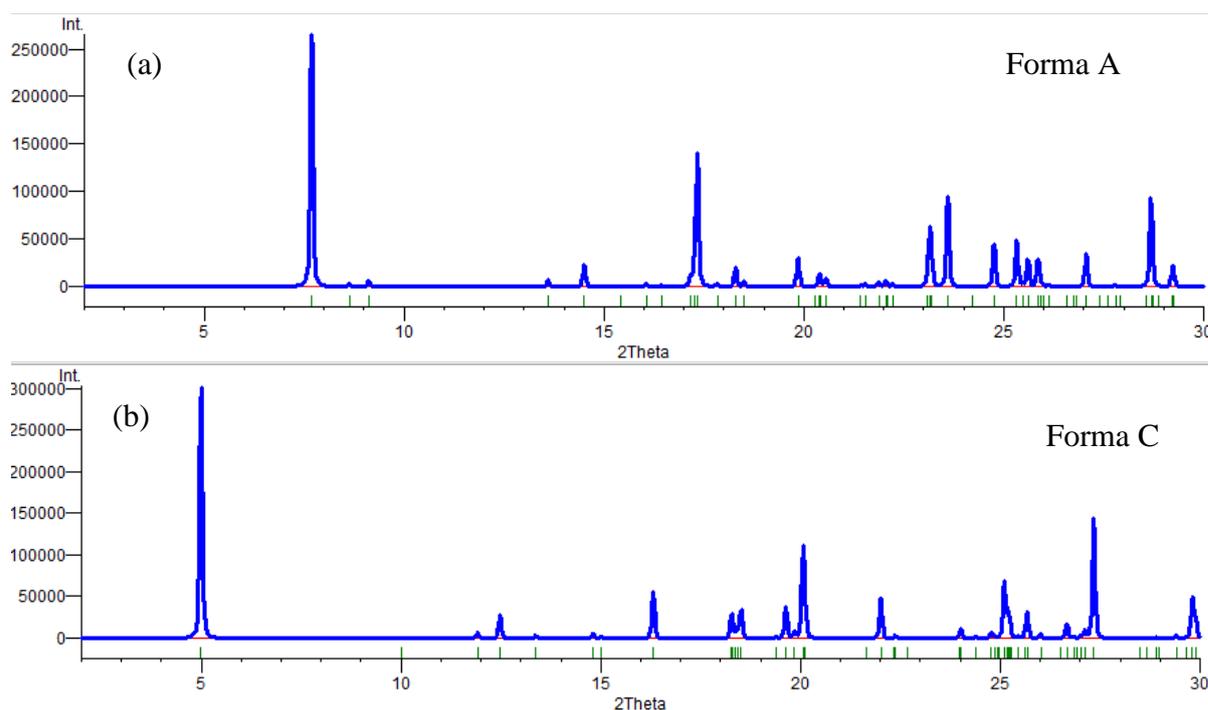


Figura 12: Difratogramas gerados das estruturas cristalinas das formas (a) C e (b) A do Mebendazol com condições de equipamento convencional $\lambda_{Cu} = 1,5406 \text{ \AA}$.

3.6 Atorvastatina

Atorvastatina faz parte da classe das estatinas. Estatinas são fármacos frequentemente prescritas para o combate ao colesterol (LDL - low density lipoprotein), são agentes hipolipemiantes que exercem os seus efeitos através da inibição da HMG-CoA redutase, enzima fundamental na síntese do colesterol, levando a uma redução do colesterol tecidual e um conseqüente aumento na expressão dos receptores de LDL. O alto nível de LDL no sangue está relacionado com a formação de lesões coronárias⁷⁸. Atorvastatina é indicada junto com uma dieta como tratamento de dislipidemia, especificamente hipercolesterolemia. Também tem sido usado no tratamento da hiperlipidemia⁷⁹.

Tem como forma molecular $C_{66}H_{68}CaF_2N_4O_{10}$ (Figura 13), nome IUPAC (3R,5R)-7-[2-(4-fluorofenil)-3-fenil-4-(fenilcarbamoil)-5-propano-2-ilpirrol-1-il]-3,5-dihidroxiheptanoato de cálcio. A patente do medicamento de referência Liptor® for descrita por Briggs (1999)⁸⁰ para o laboratório Pfizer, que apresenta a Forma I da atorvastatina cálcica, que é o medicamento mais utilizado para o controle do colesterol e o medicamento mais vendido do mundo.

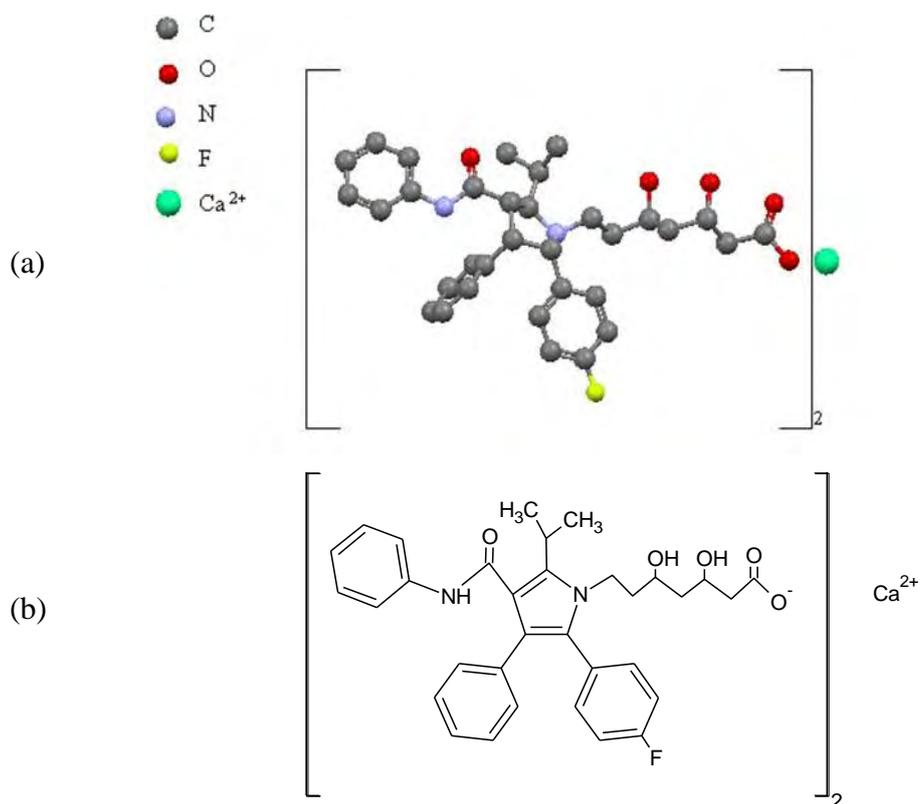


Figura 13. (a) Mólcula da Atorvastatina cálcica e (b) fórmula estrutural plana $C_{66}H_{68}CaF_2N_4O_{10}$.

A atorvastatina apresenta 12 formas cristalinas descritas pelas patentes: Briggs (1999)⁸⁰ Formas I, II e IV; McKenzie (2000)⁸¹ Forma III, Ayalon (2000)⁸² Forma V; Aronhime (2003 e 2008)⁸³⁻⁸⁴ VI a XII e XIV, XVI e XVII.

Nestes pedidos de patente as caracterizações foram feitas apenas com RMN ^{13}C no estado sólido e difração de raios X. Briggs é responsável pela patente mais valiosa porque é a utilizada pela Pfizer para o Liptor®. Segundo sua patente a Forma I contém três moléculas de água, tem partículas menores e mais uniformes que a fase amorfa assim como melhores características para filtração e secagem.

Ayalon (2000) descreve a forma V da atorvastatina, mostrando que esta tem maior solubilidade em água do que a Forma I (Figura 14).

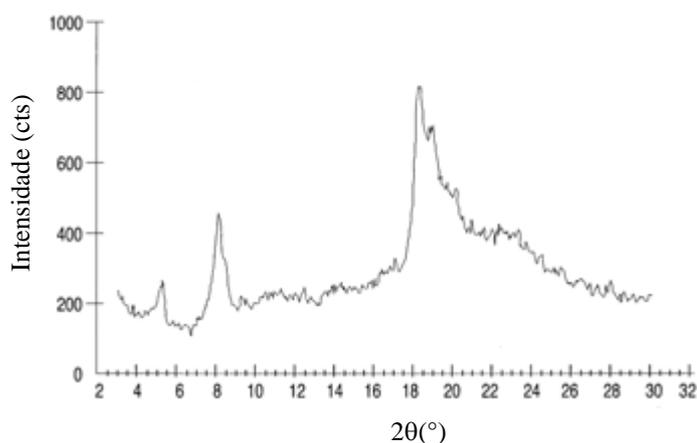


Figura 14. Difratograma da Forma V da atorvastatina segundo a patente WO/2001/036384, medidas de equipamento convencional $\lambda_{Cu} = 1,5406 \text{ \AA}$.

Apesar destas patentes apresentarem caracterização por difração de raios X, ainda não tiveram suas estruturas cristalinas determinadas, mas é apresentada a indexação das formas VIII, IX e X. Uma maior discussão complementa sobre estas patentes é apresentada na seção 4.6.

A indexação da forma I esta descrita, neste trabalho, na seção 9.3.1.

Bertolini (1997)⁸⁵, apresenta em seu trabalho uma comparação entre a atorvastatina (Liptor®) e a pravastatina (outra estatina utilizada para o controle do colesterol), que a atorvastatina apresenta melhor eficácia.

No Brasil a atorvastatina cálcica é comercializada pela Pfizer como Citalor® e Lipitor®.

4 Introdução Teórica

4.1 Método de Rietveld

O método de Rietveld realiza um ajuste do padrão de difração, refinando simultaneamente os parâmetros instrumentais (fendas, fator de polarização, radiação de fundo, comprimento de onda), estruturais (parâmetros de rede, posições atômicas, deslocamentos atômicos, ocupação atômica) e os relacionados com as características físicas da amostra analisada (tamanho de cristalito, microdeformação). O método permite refinar a estrutura cristalina, porém não resolve uma estrutura desconhecida. Assim deve-se ter um modelo estrutural (grupo espacial, cela unitária e posições atômicas, pode ser usado o arquivo CIF (crystallographic information file) para o início do refinamento. A função minimizada no

refinamento é o resíduo, M , resultado da comparação entre o difratograma experimental e um difratograma simulado baseado num modelo estrutural:

$$M = \sum_i w_i (y_i(\text{obs}) - y_i(\text{cal}))^2, \quad \text{onde } w_i = 1/y_i, \quad (1)$$

$y_i(\text{obs})$ e $y_i(\text{cal})$ são, respectivamente, as intensidades observada (experimentalmente) e calculada no i -ésimo passo do difratograma.

O valor da intensidade calculada em cada ponto é dado por:

$$y_{ci} = \phi_{rsi} \sum_{\phi} S_{\phi} \sum_{\mathbf{h}\phi} J_{\mathbf{h}\phi} L_{p_{\mathbf{h}\phi}} |F_{\mathbf{h}\phi}|^2 G_{\mathbf{h}\phi} a_{\mathbf{h}\phi} P_{\mathbf{h}\phi} + y_{bi} \quad (2)$$

onde \mathbf{h} são os índices de Miller da reflexão (hkl), ϕ_{rsi} é uma função para corrigir a rugosidade superficial que ocorre normalmente para materiais com alto coeficiente de absorção, S é o fator de escala, J_h é a multiplicidade da reflexão, L_{p_h} é a equação para corrigir pelos efeitos de Lorentz e de polarização, F_h é o fator de estrutura, G_h é a função que descreve o perfil de cada pico de Bragg, a_h é a função para corrigir a assimetria do pico, P_h é a função para corrigir as intensidades pelos efeitos de orientação preferencial e y_b é a função para corrigir a linha de base (radiação de fundo) do difratograma. A somatória em ϕ se dá para todas as fases cristalinas e a somatória em \mathbf{h} se dá para todas as reflexões que possuem um pico de difração \mathbf{h} contribuindo para o i^{o} ponto.

O modelo estrutural de partida deve estar suficientemente próximo do real para que a intensidade calculada seja suficientemente próxima da observada a fim de que o procedimento de mínimos quadrados possa convergir.

A Figura 15 é chamada de gráfico de Rietveld pela comunidade internacional de usuários do método e assim será chamado nessa Tese por fazer parte do jargão internacional. Esse gráfico consiste da sobreposição do padrão observado (mostrado por pontos) e o padrão calculado (mostrado por uma linha contínua), segmentos de linha verticais que mostram as posições dos picos de Bragg para cada fase, e mais abaixo está a diferença entre o difratograma observado e o calculado.

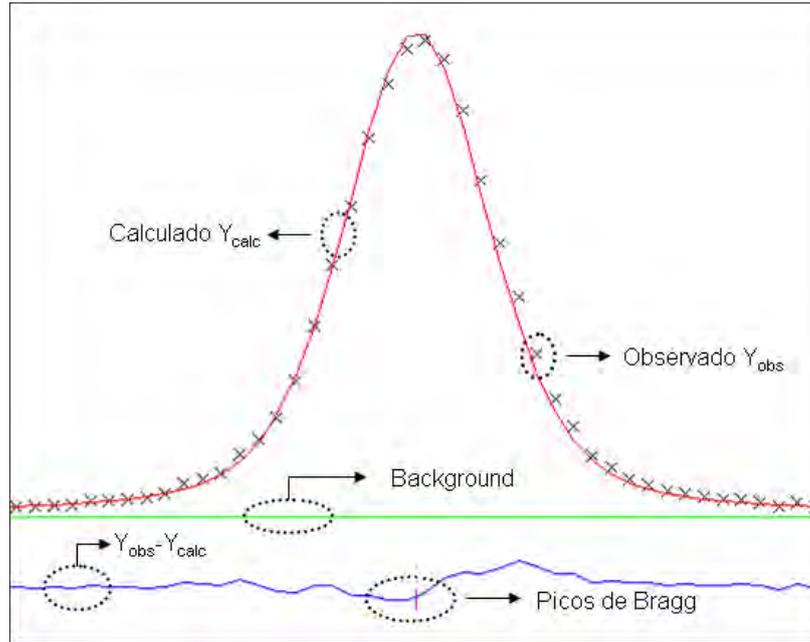


Figura 15. Gráfico característico de Rietveld, com o calculado (linha contínua vermelha); observado (x em preto); radiação de fundo (linha contínua verde); a diferença entre o observado e o calculado (linha contínua azul) e os picos de Bragg (barra vertical magenta).

Para a análise dos resultados obtidos com os refinamentos do método de Rietveld, não só a observação gráfica é utilizada, são também analisados os índices que descrevem a qualidade do refinamento, descritos a seguir.

$$R_{Bragg} \text{ ou } R_B = \frac{\sum_{\mathbf{h}} |I_{ho} - I_{hc}|}{\sum_{\mathbf{h}} I_{ho}} \quad (3)$$

$$R_{ponderadodeperfil} \text{ ou } R_{wp} = \frac{\sum_i w_i (y_{io} - y_{ic})^2}{\sum_i w_i (y_{io})^2} \quad (4)$$

onde $I_{\mathbf{h}}$ é a intensidade integrada da reflexão de Bragg de índice $\mathbf{h} = (hkl)$ ao final dos ciclos de refinamento. Os termos y_i se referem às intensidades dos pontos. Os índices o e c se referem às intensidades observadas e calculadas respectivamente. O peso w_i da equação 4 é dado pelo inverso da variância de cada respectiva observação ($= 1/y_i$). O numerador na equação 4 é a função minimização M .

Outro parâmetro a se levar em conta é a qualidade do ajuste, χ^2 :

$$GOF = \chi^2 = \left[\frac{M}{(N-P)} \right] = \frac{R_{wp}}{R_{exp}} = \sqrt{\frac{\sum_i w_i (y_o - y_c)^2}{M-P}} \quad (5)$$

sendo,

$$R_{exp} = \left[\frac{(N-P)}{\sum_i w_i (y_{io})^2} \right]^{\frac{1}{2}}, \quad (6)$$

N é o número de pontos medidos e P é o número de parâmetros refinados. χ^2 igual a 1,0 significa que o R_{wp} atingiu o valor estatisticamente esperado (R_{exp}) para aqueles dados.

A proporção em massa das fases cristalinas é determinada de acordo com a equação 7 ⁸⁶:

$$W_p = \frac{S_p (MV)_p}{\sum_{i=1}^N (SMV)_i} \quad (7)$$

onde p se refere à fase cuja quantidade se está determinando, i se refere a cada uma das N fases presentes, e SMV é o produto do fator de escala S , pela massa M da cela unitária em unidade atômica de massa e pelo volume V cela unitária da i -ésima fase.

4.2 Método de Le Bail

É usado para decomposição de padrão de difração e refinamento de cela unitária. Foi derivado do método de Rietveld, sendo que não requer parâmetros estruturais a não ser, claro, os da cela unitária. Ou seja, a intensidade é corrigida em cada ciclo, a partir de um valor inicial definido pelo usuário. As posições dos picos são definidas pelo grupo espacial e parâmetros da cela unitária.

No método de Rietveld a equação para calcular a intensidade em um ponto é dada pela equação 2.

E no método de Le Bail, a equação é:

$$y_{ci} = \phi_{rsi} S J_h "I_{ho}" G_{hi} a_{hi} P_h + y_{bi} \quad (8)$$

onde a intensidade passa a ser apenas ajustada durante os refinamentos de parâmetros de perfil e radiação de fundo. Ou seja, " I_{ho} " é dado escrito entre aspas porque ele não é realmente observado, mas sim avaliado a partir do valor calculado através da equação:

$$"I_{ho}" = \sum_j w_j J_h I_{hc} \frac{y_{jo}}{y_{jc}} \quad (9)$$

O valor inicial da intensidade calculada (I_{hc}) também não é realmente calculada, mas fornecida pelo usuário ou já definida pelo programa (normalmente o valor inicial é zero ou 1).

Por esse método, o número de parâmetros refinados é limitado pelos parâmetros de perfil, de radiação de fundo e de cela unitária. Ou seja, tanto faz se for um difratograma com 40 ou 400 picos que estiver sendo decomposto por esse método, pois o número de parâmetros refinados será o mesmo.

Um gráfico semelhante ao de Rietveld, porém resultante de um refinamento pelo método de Le Bail, será chamado de “gráfico de Le Bail”.

4.3 Método de Pawley

Assim como o método de Le Bail, o método de Pawley é usado para decomposição de padrão de difração e refinamento de cela unitária. Nesse caso as intensidades são parâmetros refináveis. O valor inicial para a intensidade de cada pico, com anteriormente, pode ser mesmo zero. O número de parâmetros refinados depende do número de picos e por isso, o refinamento pode ser mais demorado que no caso de Le Bail. O resultado é idêntico nos dois casos: Le Bail ou Pawley.

Um gráfico semelhante ao de Rietveld, porém resultante de um refinamento pelo método de Pawley, será chamado de “gráfico de Pawley”.

4.4 Método de Rietveld modificado por Scarlett e Madsen

A análise quantitativa pelo MR é realizada através da equação 7, quando a estrutura cristalina é conhecida. Entretanto, quando a estrutura cristalina não é conhecida, não temos informações nem da massa (M) e nem do volume (V) da cela unitária. Assim, essa equação não pode ser aplicada diretamente. Scarlett e Madsen (2006)⁸⁷ desenvolveram uma metodologia que permite encontrar um valor para ZMV quando a estrutura cristalina não é conhecida. Isso é realizado através de medidas de DRXP de uma amostra com um padrão interno de estrutura cristalina conhecida.

Uma dificuldade desse método é encontrar um padrão adequado para a determinação da constante de fase. O padrão deve ter coeficiente de absorção da mesma ordem de grandeza do

material analisado, para evitar problemas de microabsorção⁸⁸ e pelo menos uns 4 picos na região de 2 θ medida, para que se possa avaliar, e corrigir se necessário, efeitos de orientação preferencial.

4.5 Nomenclatura dos polimorfos

Polimorfos são designados com números romanos ou letras gregas e às vezes, na literatura, encontra-se o mesmo polimorfo ora com números romanos, arábicos e letras gregas e alguns poucos casos pelo grupo espacial. O problema é quando cada autor decide usar uma nomenclatura. Um exemplo é a carbamazepina que Murphy (2002)³⁹ descreveu suas principais formas como α β γ , enquanto Grzesiak (2003)⁴⁶, que determinou a estrutura cristalina do polimorfo I (ou α), utiliza números romanos.

As confusões encontradas na literatura não são poucas como a nomenclatura descrita por Suda (2008)⁸⁹ que também no caso da CBZ coloca a forma monoclinica-P como forma I (é a forma III); a triclinica como forma III (é a forma I) e coloca como a forma IV como sendo uma forma dihidratada (é monoclinica – C).

4.6 Patentes

Não há muito tempo a indústria farmacêutica iniciou a utilização de DRXP como meio de caracterização de fármacos sólidos, e também por falta de procura poucos especialistas da área de difração (químicos/físicos/engenheiros de materiais) se interessavam na área farmacêutica, por isso ainda hoje a demanda é maior do que pessoas trabalhando na área. Desta forma, uma gama de fármacos não tem a estrutura cristalina determinada ou indexada para analisar estes fármacos.

Optou-se por busca de patentes, que é a metodologia empregada pelas indústrias farmacêuticas, para estes fármacos. Mas infelizmente, outros obstáculos apareceram, patentes, infelizmente, algumas vezes não apresentam dados de boa qualidade. Abaixo exemplos encontrados nas patentes utilizadas para a caracterização da Atorvastatina.

Em todas as patentes pesquisadas das atorvastatinas mostradas neste trabalho apresentam apenas caracterizações por difração de raios X e RMN ¹³C do estado sólido. As Figuras de 16 e 17, mostram as Formas de I a V encontradas nas patentes US5.969.156⁸⁰, US6. 121.461⁸¹ WO/2001/036384. Nota-se que os dados tem uma qualidade média a ruim,

mas entre estes casos ainda pode-se observar diferenças visuais entre os difratogramas e com o auxílio das tabelas (posição (2θ) vs. Intensidade) incluídas nas patentes faz com a identificação seja trabalhosa porém possível de ser realizada.

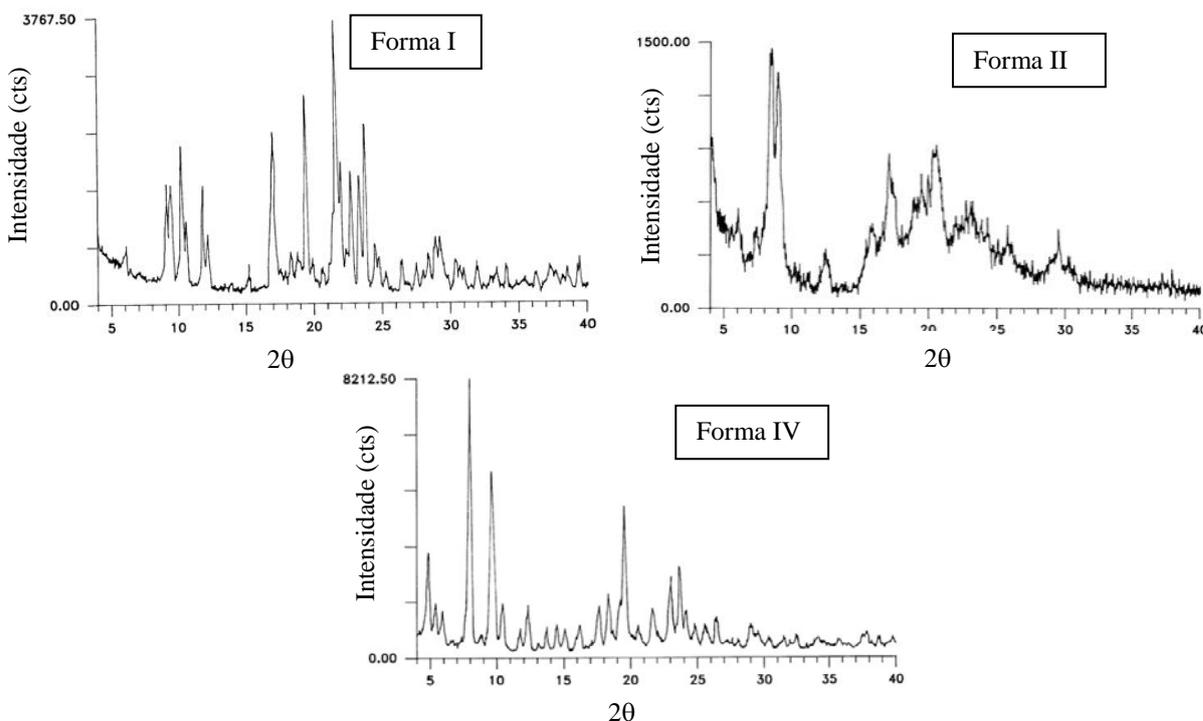


Figura 16: Forma I, II e IV da atorvastatina cálcica, segundo a patente US5.969.156 medidas de equipamento convencional $\lambda_{Cu} = 1,5406 \text{ \AA}$.

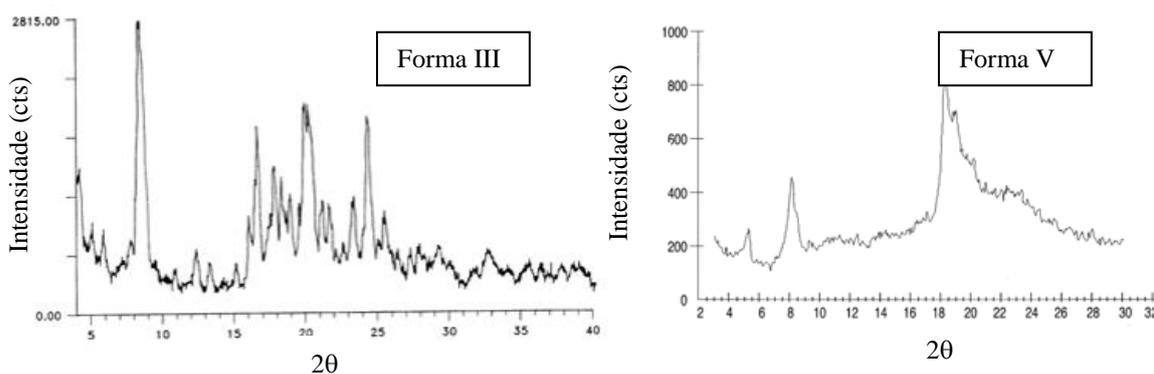
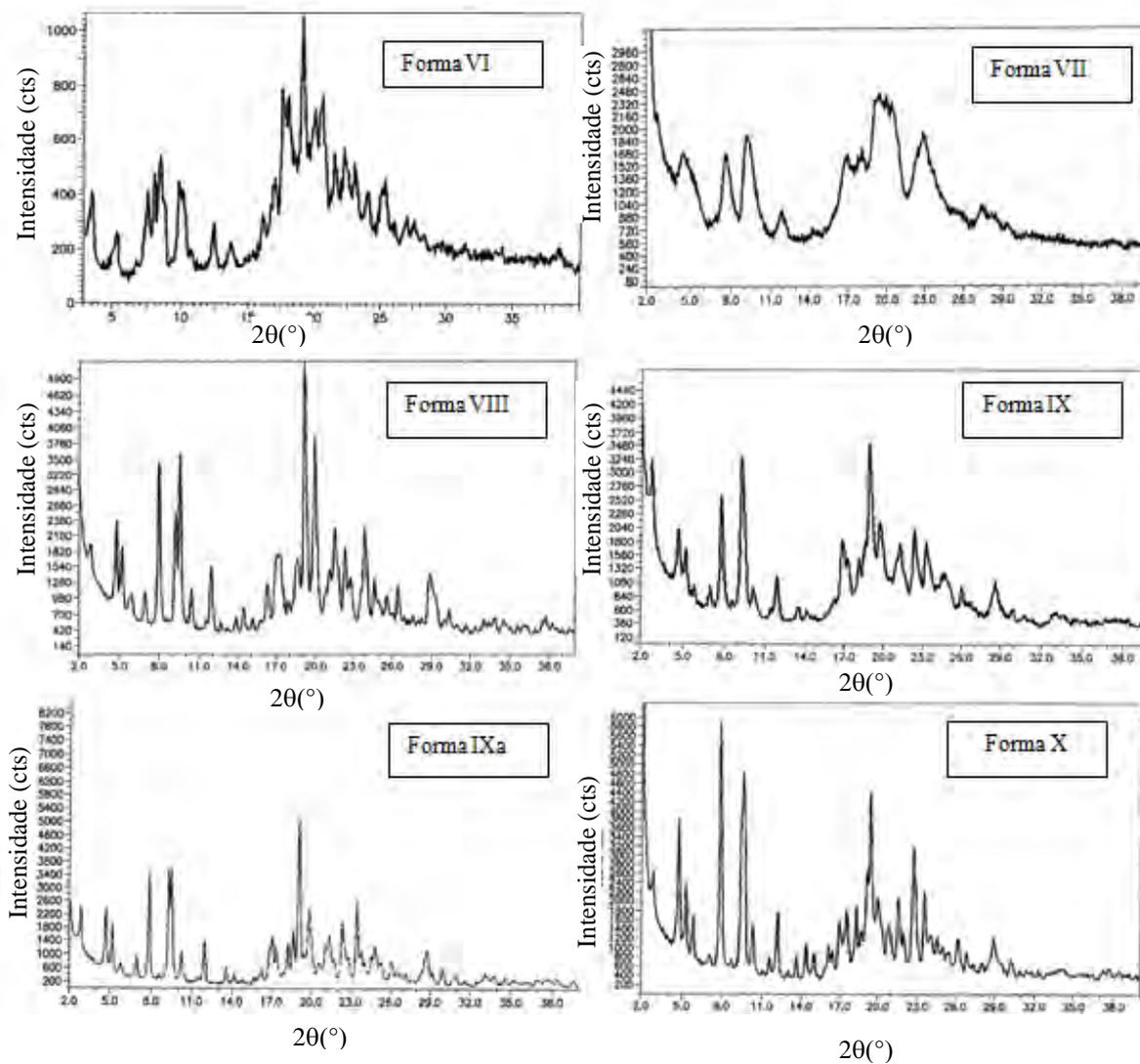


Figura 17. Forma III e V da atorvastatina cálcica, segundo as patentes US6.121.461 e WO/2001/036384, respectivamente, de equipamento convencional $\lambda_{Cu} = 1,5406 \text{ \AA}$.

Problema maior é encontrado em Aronhime et al que entrou com vários pedidos de patentes para vários polimorfos da atorvastatina cálcica (até repetidamente): no pedido internacional WO 2002/041834 A3 descreve a forma VII logo em seguida no WO 2002/043732 A1⁸³ descreve as formas VI, VII e de IX a XII. Em 2004 entra com o pedido

(WO 2004/043918 A2) das Formas de VI a XII e XIV, XVI e XVII e em 2008 consegue a patente nos Estados Unidos (US 7,342,120 B2)⁸⁴ das formas VI, VIII e de IX a XII. As Figuras abaixo apresentam os difratogramas destas formas.



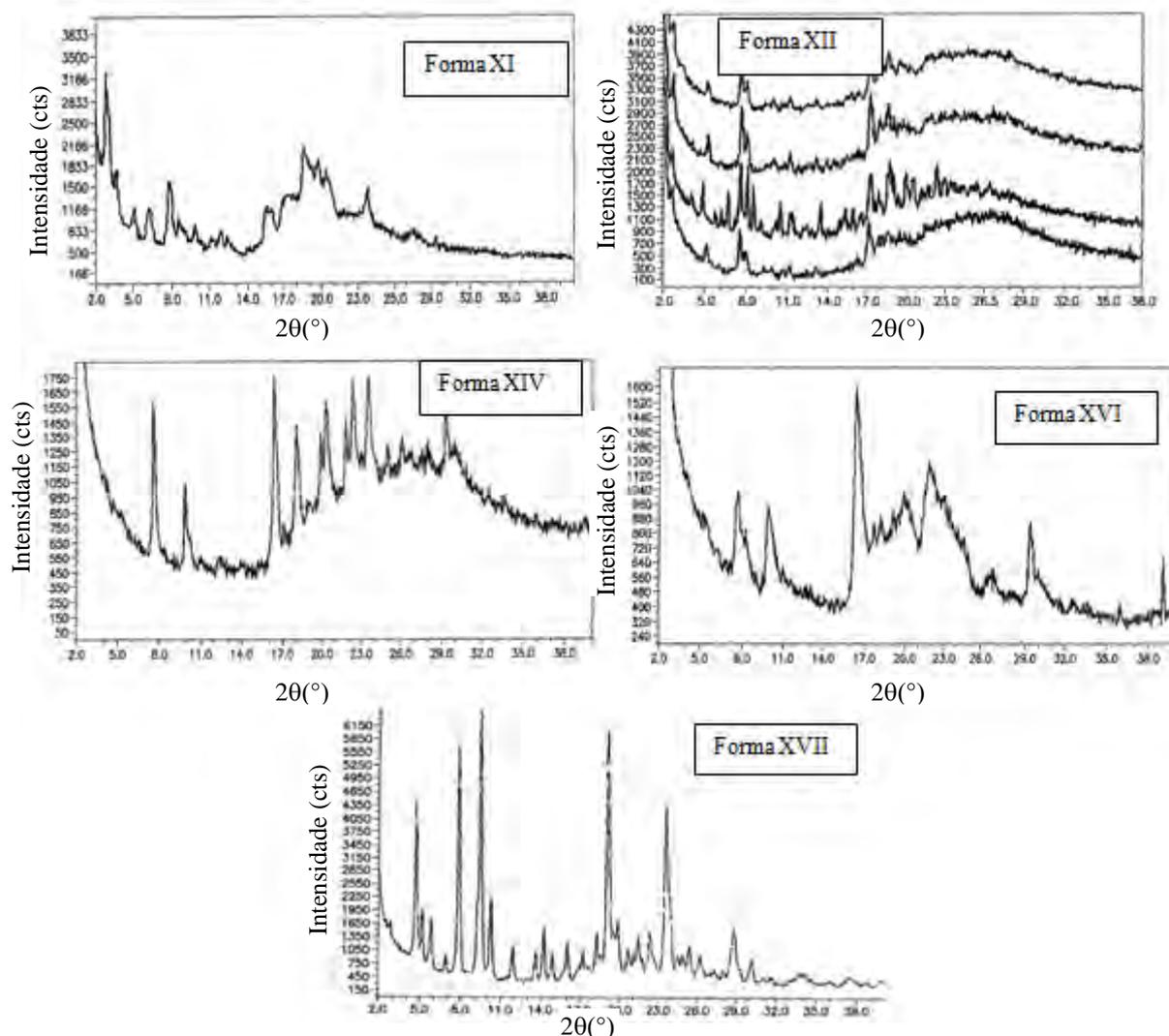


Figura 18: Difratomogramas dos polimorfos da atorvastatina cálcica apresentados no pedido de patente WO 2002/043732 A1, medidas de equipamento convencional $\lambda_{Cu} = 1,5406 \text{ \AA}$.

Note que a forma XII além de dados ruins apresenta vários difratogramas diferentes representando o mesmo polimorfo. As Formas de VIII – X e a XVII são similares tendo poucas diferenças que podem ser atribuídas o tamanho de cristalito, orientação preferencial e quantidade de material amorfo. Os dados também por serem de equipamento convencional apresentam alta sobreposição de pico o que pode dificultar a interpretação. Segundo a patente os picos que diferem a forma VIII das outras formas são os picos em $19,2^\circ$ e 20° em 2θ , porém estes picos também aparecem nos polimorfos citados acima cujas diferenças são explicadas pelos motivos acima, não necessariamente sendo novas estruturas cristalinas.

No pedido WO 2002/043732 A1, as formas VIII, IX e X também foram analisadas em alta resolução, o que seria uma ótima maneira de comprovação das diferenças entre elas,

porém não foram fornecidas todas as informações necessárias para uma boa avaliação como, por exemplo, o comprimento de onda utilizado. Mesmo assim, é apresentada a indexação destes polimorfos como sendo todos monoclinicos com os parâmetros de cela: Forma VIII: $a = 18,55 \text{ (Å)} - 18,7 \text{ (Å)}$ $b = 5,52 \text{ (Å)} - 5,53 \text{ (Å)}$ $c = 31,0 \text{ (Å)} - 31,2 \text{ (Å)}$ e $\beta = 97,5^\circ - 99,5^\circ$; Forma IX: $a = 18,75 \text{ (Å)} - 18,85 \text{ (Å)}$ $b = 5,525 \text{ (Å)} - 5,54 \text{ (Å)}$ $c = 30,9 \text{ (Å)} - 31,15 \text{ (Å)}$ $\beta = 96,5^\circ - 97,5^\circ$; e Forma X $a = 18,55 \text{ (Å)} - 18,65 \text{ (Å)}$ $b = 5,52 \text{ (Å)} - 5,53 \text{ (Å)}$ $c = 30,7 \text{ (Å)} - 30,85 \text{ (Å)}$ $\beta = 95,7^\circ - 96,7^\circ$. De qualquer forma a suspeita de se tratar do mesmo polimorfo continua, pois as indexações estão muito próximas e para confundir é colocada uma grande variação de valores. Veja no Anexo 4 os fatores que podem alterar de forma significativa os valores dos parâmetros da cela unitária.

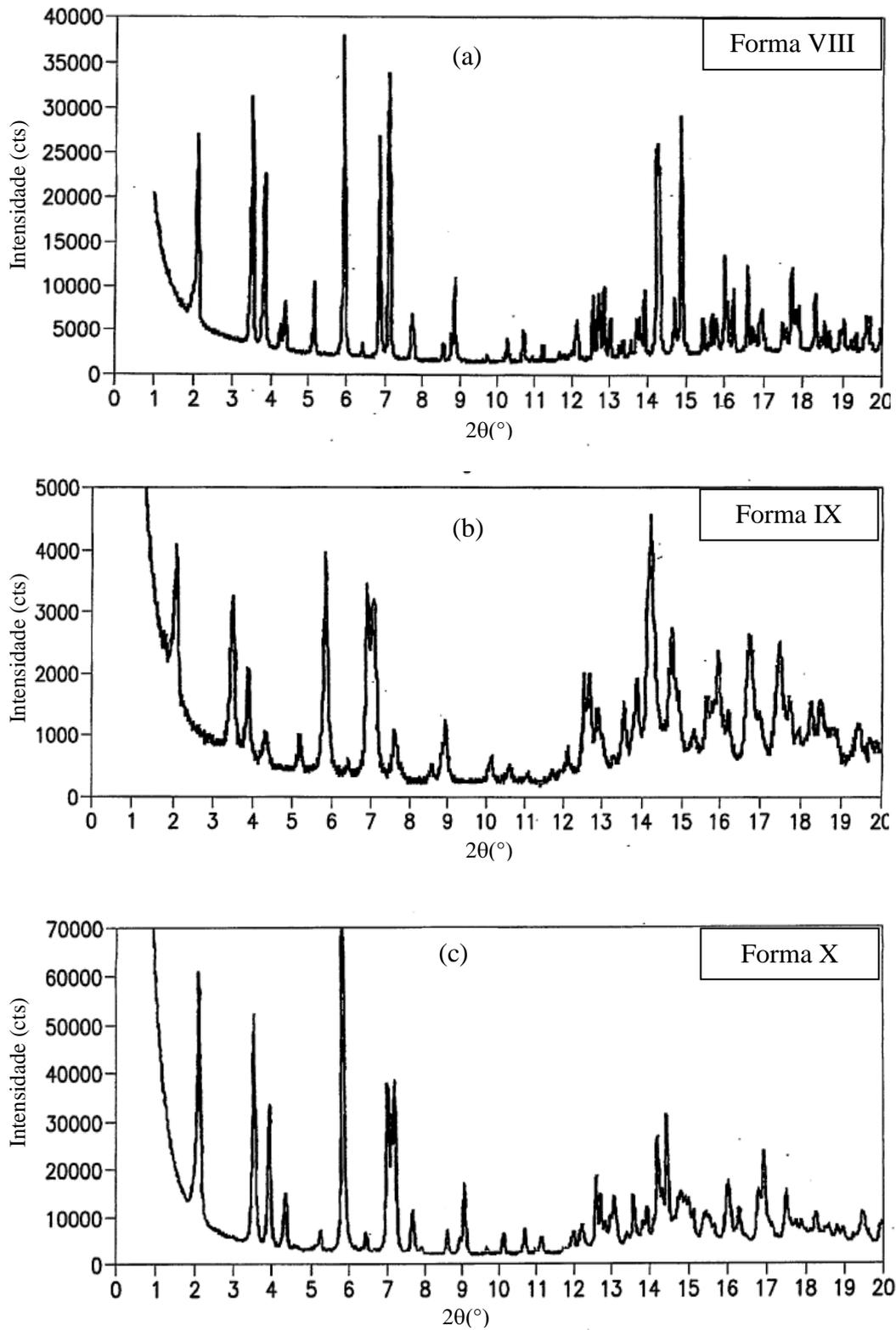


Figura 19. Difratoformas de alta resolução dos polimorfos (a) Forma VIII (b) Forma IX e (c) Forma X da atorvastatina cálcica apresentada no pedido de patente WO 2002/043732 A1.

4.7 Limitações de DRXP

4.7.1 Orientação preferencial

Inicialmente a teoria de difração de raios X assume que o espécime banhado, tem uma distribuição randômica, onde “infinitos” cristalitos estão em posição de reflexão. Uma vez que essa condição é satisfeita e os cristalitos são isotrópicos, o padrão de difração obtido pode ser considerado uma “impressão digital” do material. Entretanto, se os cristalitos são anisotrópicos, por exemplo, com forma de agulhas ou plaquetas, como normalmente ocorre com os fármacos, os cristalitos se orientam no porta-amostra de forma preferencial, ocorrendo, então, o efeito de orientação preferencial, o qual pode apresentar grandes distorções no padrão de difração, e levar a possíveis erros de interpretação⁹⁰⁻⁹¹. Para exemplificar a influência da orientação preferencial, foram simulados difratogramas da forma triclínica da tibolona, usando parâmetros fundamentais^{**}, o programa TOPAS Academic 4.1⁹² e considerando geometrias de Debye-Scherrer (capilar) e Bragg-Brentano (planar). A Figura 20 (a) apresenta o difratograma correspondente a cristalitos na forma de agulhas de dimensões 5000 x 50 x 50 nm nas direções perpendiculares aos planos (h00), (0k0) e (00l), e os planos (h00) estão orientados perpendicularmente ao eixo do capilar. Na Figura 20 (b) os cristalitos possuem forma de plaquetas de dimensões 50X5000X5000 nm nas direções perpendiculares aos planos (h00), (0k0) e (00l), e os planos (h00) estão orientados paralelos à superfície do porta-amostra. Enquanto na Figura 20(d) podem ser visualizados os picos referentes aos planos (h00), na Figura 20(c) os mesmos planos apresentam intensidades praticamente nulas.

^{**} Utilizou-se fendas de divergência de $\frac{1}{4}^\circ$, recepção de 0,3 mm e fendas soller de 5° . A anisotropia foi definida usando a macro (Anexo 3).

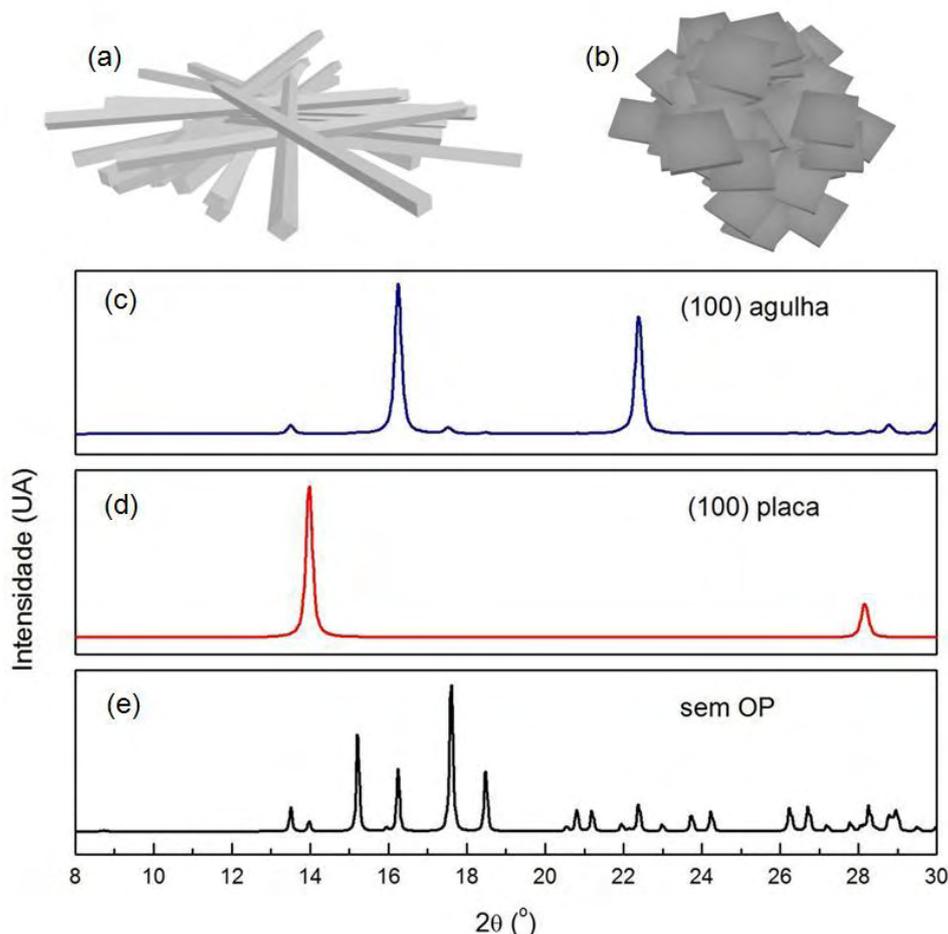


Figura 20. (a) Cristalitos na forma agulhas com a direção dos planos (h00) na mesma direção do eixo da agulha; (b) cristalitos na forma de plaquetas com a direção dos planos (h00) paralelos ao superfície da amostra; Simulações da Tibolona (Forma triclinica) usando o programa TOPAS onde (c) simula a geometria Debye-Scherrer e (d) Bragg-Brentano.

Uma forma de minimizar o efeito de orientação, então é a utilização de capilar, mas a maioria dos equipamentos convencionais não vem com esta alternativa de porta amostra.

4.7.2 Distribuição de tamanho de cristalitos

Matérias-primas homogêneas são requeridas para a produção de medicamentos de qualidade e a distribuição bimodal de tamanho de cristalitos (dois modos de distribuição de tamanho de cristalitos) é, portanto, indesejada. Para verificar essa característica dos pós de matérias-primas, duas metodologias são possíveis com a difração de raios X.

A primeira é através do refinamento pelo método de Rietveld, considerando cristalitos com valores médios diferentes. Porém, se as partículas de uma das distribuições são muito

grandes, irá ocorrer a falta de cristalitos aleatoriamente distribuídos para todos os planos cristalográficos (efeito granularidade), o que impede o uso do método de Rietveld.

A segunda maneira para identificar a distribuição bimodal é para os casos em que o método de Rietveld não pode ser aplicado, como citado acima, quando os cristalitos são muito grandes (acima de $10\mu\text{m}$). Nesses casos, a metodologia requer que se use as recomendações para coletas de dados adequados de difração. Por exemplo, é altamente recomendado manter a amostra girando durante a coleta, uma vez que aumenta a estatística das partículas⁹³. Assim, mesmo quando o efeito da granularidade da amostra está presente, pode-se obter dados de boa qualidade, ou seja, com intensidades relativas que representam uma distribuição aleatória de todos os planos cristalinos. Logo, procedendo dessa forma, o efeito causado pelos cristalitos grandes pode ser minimizado. No caso em questão, o que se quer é verificar se existe essa variação no tamanho de cristalito e, portanto, as medidas devem ser realizadas sem que a amostra esteja girando.

A Figura 21 apresenta o efeito da granularidade para uma amostra de NaCl, com grandes cristalitos, em duas posições, sendo que na Figura 21(b) ela está girada de 90° com relação ao vetor deslocamento.

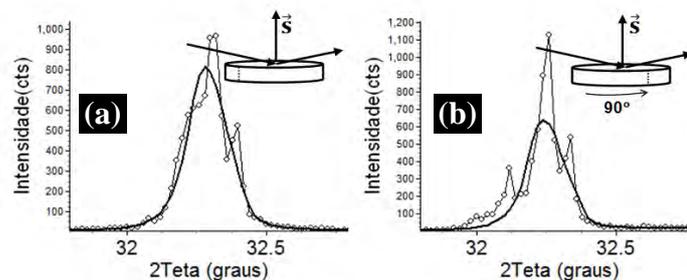


Figura 21. Pico (200) do NaCl. O difratograma da figura (a) foi obtido com a amostra girada de 90° em torno do vetor deslocamento, com relação ao da figura (b).

Nota-se, na Figura 21 (a) e (b), que aparecem picos, que podem levar o analista à interpretação de que uma segunda fase está presente. Esses efeitos, na verdade, deixam claro que a amostra apresenta cristalitos extremamente grandes para análise por difração de raios X.

A Figura 22 apresenta o mesmo pico de difração do mesmo espécime, obtido com a amostra girando. Pode-se notar que ele apresenta uma forma mais parecida com uma função de Voigt.

Esse efeito pode ser usado para verificar se uma determinada amostra possui partículas acima de $10\mu\text{m}$, se as medidas de difração forem realizadas com porta amostra sem girar.

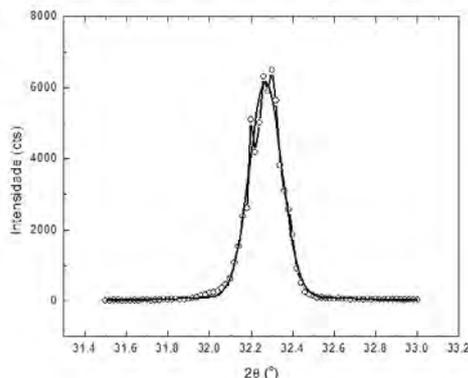


Figura 22. Pico (002) do NaCl, obtido com o porta amostra girando.

Para exemplificar, na Figura abaixo são mostrados exemplos de um fármaco, com problemas de granularidade com medidas de equipamento convencional.

A Figura 23 apresenta várias medidas da reflexão (002) do fármaco. A Figura 23 (a) é do pó da maneira que foi recebida no Laboratório. A Figura 23(b) foi moída em um almofariz de ágata e então medida. A Figura 23 (c) foi obtida após peneirar o pó moído, em uma peneira MESH 200.

Nota-se que a distribuição bimodal ocorre nos três casos. Porém, conforme o material vai sendo moído, o efeito de granularidade diminui. No pó peneirado (Figura 23(c)), ainda se observa um pequeno “ombro” no lado esquerdo, que é causado por cristalitos grandes.

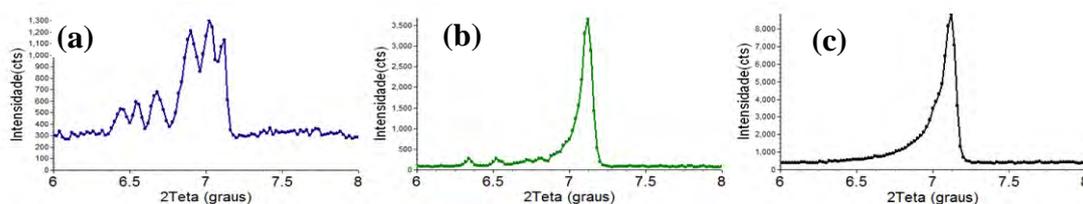


Figura 23. Difractogramas da reflexão (002) do princípio ativo forma I. (a) Como recebida no Laboratório, (b) moída e (c) moída e peneirada em MESH 200.

5 Objetivos

Estabelecer condições para medidas adequadas de difração de raios X para a identificação e quantificação de polimorfos cristalinos de compostos ativos de fármacos usados na indústria nacional.

Estabelecer uma metodologia básica para a quantificação de polimorfos, independente do fármaco estudado.

6 Metodologia

A caracterização estrutural das amostras foi realizada pelo método de Rietveld, a partir de dados de difração de raios X por policristais. Para o refinamento das estruturas e análise quantitativa de fases, foi usado o programa TOPAS Academic 4.1⁹².

Para a obtenção dos dados de DRX para as análises foram usados os difratômetros convencionais: de anodo rotatório Rigaku RINT2000, com monocromador curvo de grafite no feixe difratado, fenda de divergência e espalhamento de $\frac{1}{4}^\circ$, fenda de recepção de 0,3mm e fenda Soller de 5° e $2,5^\circ$ de divergência e o difratômetro Siemens/Bruker modelo D5000 (IGC-USP), na radiação $\text{CuK}\alpha$ ($\lambda=1.5418\text{\AA}$), operando com 40 KV e 40 μA de tensão e corrente do tubo, respectivamente e espelho focalizador (Gobel Mirror). O difratômetro de alta resolução equipamento Stoe STADI-P com radiação $\text{CuK}\alpha_1$ monocromatizada por cristal curvo de Ge(111), também foi usado. Algumas medidas foram realizadas nas linhas D10B-XPD e D12A-XRD1 do Laboratório Nacional de Luz Síncrotron (LNLS). As datas e condições experimentais estão apresentadas na Tabela 9. A primeira medida foi realizada com comprimento de onda de 1,3771 \AA . Das outras vezes o comprimento de onda variou em torno de 1,24 \AA (10 KeV). A razão para que se tenha usado menor comprimento de onda (maior energia) foi diminuir a absorção nas medidas com capilares e aumentar ligeiramente o número de informações na região medida - normalmente até 30° (2θ).

Tabela 9. Condições das medidas dos fármacos.

	Rigaku	LNLS		
		2007	2008	
CBZ		$\lambda=1,3771\text{\AA}$		Capilar 0,7mm
Ácido		$\lambda=1,3771\text{\AA}$		Capilar 0,7mm
Mefenâmico				
Atorvastatina		$\lambda=1,3771\text{\AA}$		Capilar 0,7mm
Forma I				
Atorvastatina	$\lambda=1,5406\text{\AA};1,5444\text{\AA}$	$\lambda=1,3771\text{\AA}$		Capilar 0,7mm
Forma VIII	$I_{\alpha_2}/I_{\alpha_1} = 0,5$			
CBZ 190	Geometria Bragg-		$\lambda=1,37757\text{\AA}$	Capilar 0,7mm
CBZ 195	Brentano		$\lambda=1,37757\text{\AA}$	Capilar 0,7mm
Mebendazol A	(reflexão)		$\lambda=1,37757\text{\AA}$	Capilar 1mm
Mebendazol C			$\lambda=1,37757\text{\AA}$	Capilar 1mm
isotibolona			$\lambda=1,24018\text{\AA}$	Capilar 0,7mm
tibolonas			$\lambda=1,24018\text{\AA}$	Capilar 0,7mm
Atorvastatina			$\lambda=1,240126\text{\AA}$	Capilar 0,7mm
Forma VI				

Para identificação dos polimorfos e localização das estruturas cristalinas, foram usados os bancos ICDD-PDF[®], Cambridge Structural Database[®], e as fontes de periódicos científicos.

7 Definição das condições instrumentais para o equipamento convencional

No estudo das formas polimórficas há a necessidade de termos disponíveis dados de difração da melhor qualidade possível. Para isso, o primeiro passo para a definição das condições experimentais foi encontrar o conjunto de fendas de divergência/espalhamento que melhor resultado para a melhor resposta intensidade/resolução do padrão de difração para os fármacos do difratômetro de tubo de Cu. Estas fendas ajustam tanto a intensidade quanto a resolução dos picos do difratograma⁹⁴. Antes da análise das fendas de recepção, deve-se analisar qual a fenda de divergência que deve ser usada. A escolha das fendas é feita com base na posição do primeiro pico do padrão de difração do composto a ser medido. Ou seja, a fenda deve permitir que todo o feixe de raios X esteja atingindo a amostra quando o primeiro pico começar a ser medido. A Figura 24 apresenta a extensão da amostra atingida pelo feixe de raios X no porta amostra. A Figura 25 apresenta a relação entre as fendas e a área banhada pelo feixe de raios X no porta amostra. Por exemplo, se a primeira reflexão ocorre em 10° (2θ) e a cavidade da amostra no porta amostra tem 20 mm de comprimento, então uma fenda de divergência maior que $\frac{1}{2}^\circ$ deve ser rejeitada. Se a cavidade for de 10 mm a fenda de divergência deve ser menor ou igual a $\frac{1}{4}^\circ$. Isso irá evitar que a intensidade relativa desse primeiro pico seja menor devido à menor quantidade de raios X que iria atingir a amostra.

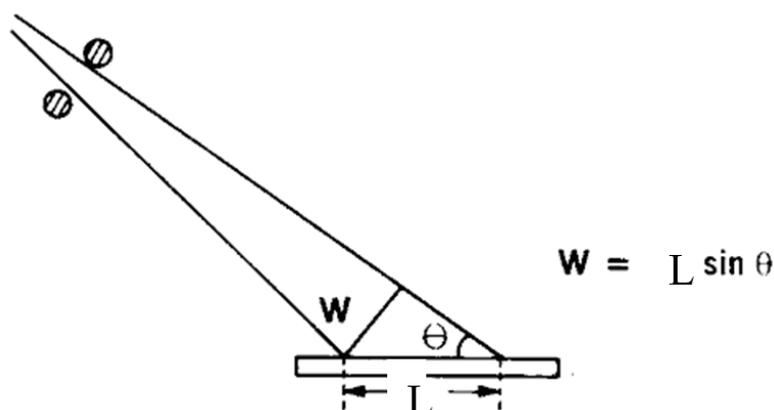


Figura 24. Comprimento da amostra que é atingida pelo feixe de raios X (L)

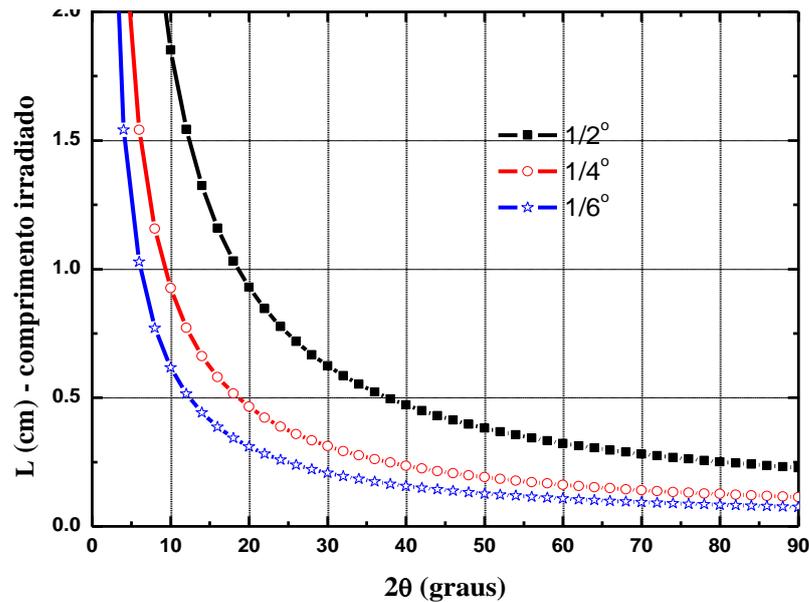


Figura 25: Gráfico do comprimento irradiado (L) versus fendas de divergência.

As fendas de recepção citadas a seguir são dadas em mm. Na análise, a determinação de largura total a meia altura foi considerada desnecessária devido à distinção da forma dos picos.

Fendas Soller 5°

Uma amostra padrão de CeO_2 a foi utilizada para o estudo da fendas, em porta amostra de 1 cm. A Figura 26 (a) apresenta o pico de difração (220) do óxido de cério obtido com a fenda de divergência $\frac{1}{2}^\circ$ e recepção 0,05, 0,15, 0,60, 0,30, como foram medidos e (b) normalizado para a mesma intensidade para facilitar a comparação da resolução. Pode-se observar que a fenda de recepção 0,60 fornece maior intensidade, seguida pelas fendas de 0,30, 0,15 e 0,05, como era de se esperar. As fendas de recepção 0,05 e 0,15 apresentam melhor resolução, com uma quase imperceptível vantagem para a fenda de 0,05, seguidas pela fenda de 0,30 e por último a fenda de 0,60. A escolha da fenda deve ser com base na melhor relação possível entre intensidade/resolução. Assim, embora as fendas de 0,05 e 0,15 apresentem resolução ligeiramente melhor que a de 0,30, elas causam uma queda significativa na intensidade que iria exigir um tempo significativamente maior para as medidas, o que é inviável para um equipamento multiusuário. Assim, para um experimento com fenda de divergência $\frac{1}{2}$, deve-se usar a fenda de recepção de 0,30 mm.

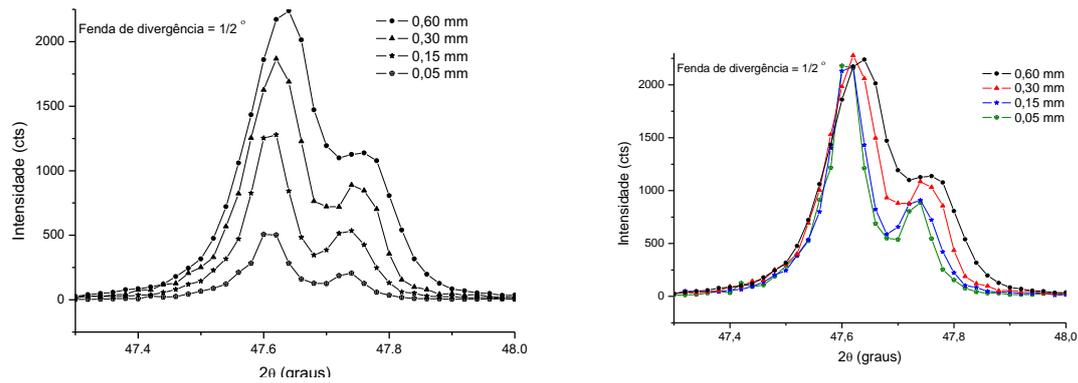


Figura 26: Gráfico de CeO_2 com fenda de divergência $\frac{1}{2}$. (a) como medido e (b) normalizados para a mesma intensidade.

Na Figura 27, é apresentado o gráfico com a fenda de divergência $\frac{1}{4}^\circ$ e fendas de recepção 0,05, 0,15, 0,30, 0,60. Pode-se observar que a intensidade é diretamente proporcional à largura da fenda de recepção, como esperado. Nota-se que a resolução varia inversamente proporcional à largura da fenda de recepção. Nota-se também que as fendas apresentam resolução ligeiramente diferentes, com pequena vantagem para as de 0,05 e 0,15. As fendas de 0,60 e 0,30 (Figura 28) apresentam resolução semelhante de forma que a que fornece maior intensidade (fenda de 0,60 mm) deve ser a melhor opção, para um experimento regular.

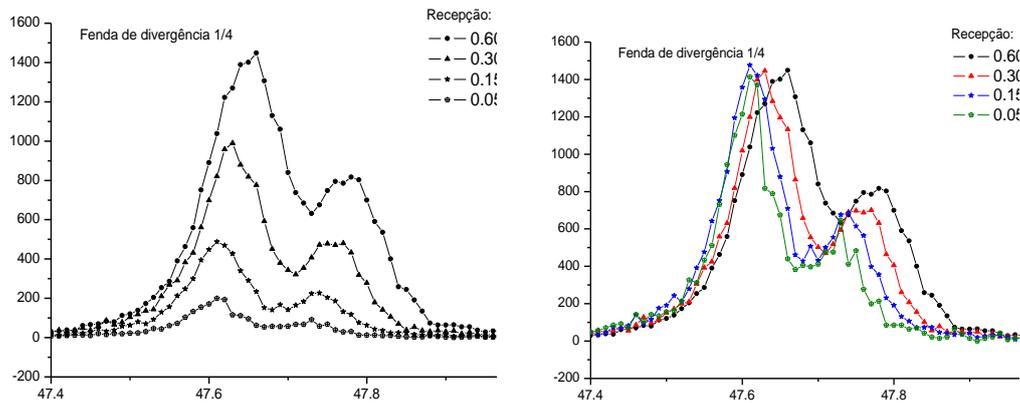


Figura 27: Gráfico de CeO_2 com fenda de divergência $\frac{1}{4}$ (a) como medido e (b) normalizados para a mesma intensidade.

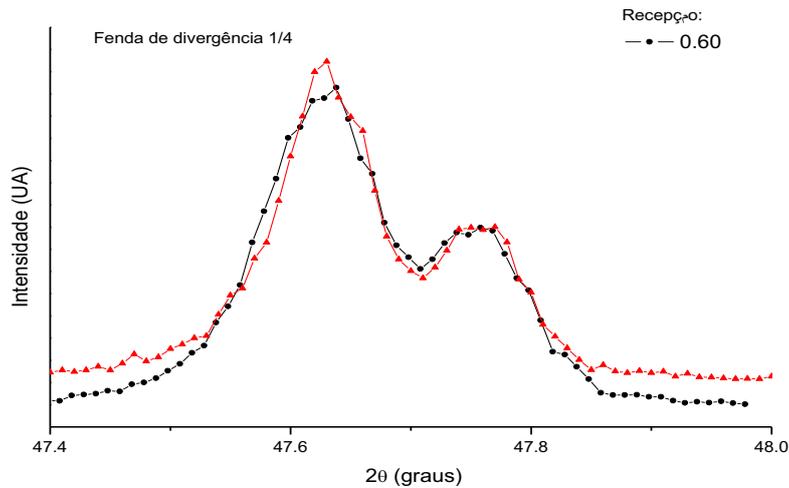


Figura 28. Normalização das medidas de fenda de divergência de $\frac{1}{4}^\circ$ e recepção 0,60 e 0,30 mm.

Na Figura 29, é apresentado o gráfico com a fenda de divergência de $\frac{1}{6}^\circ$ e recepção igual a 0,05, 0,15, 0,30, 0,60. Nota-se que todas as fendas produzem boa resolução, exceto a 0,05 mm que praticamente impediu que os fótons de raios X atingissem o detector. A fenda de 0,15 mm apresenta resolução pouco melhor que as outras, embora com menor intensidade. Assim como na fenda de divergência de $\frac{1}{4}^\circ$, a melhor opção aqui é a fenda de recepção 0,60, embora para experimentos regulares essa fenda não seja recomendada devido ao tempo que será necessário para uma coleta de dados de boa qualidade.

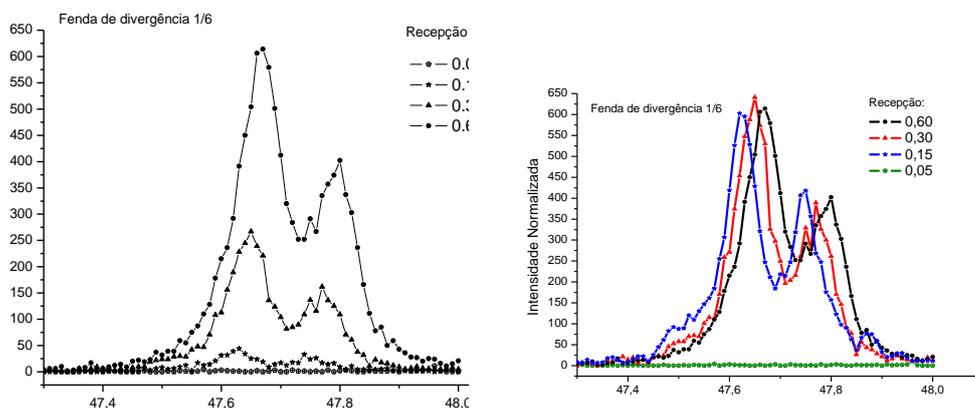


Figura 29: Gráfico de CeO_2 com fenda de divergência $\frac{1}{6}^\circ$ (a) como medido e (b) normalizados para a mesma intensidade.

Avaliando os parâmetros considerando a melhor resposta intensidade vs. resolução opta-se, então, por utilizar fendas de divergência de $\frac{1}{4}^\circ$ e de recepção 0,3 mm.

Fendas Soller 2,5°

Assim como anteriormente, utilizou-se o CeO_2 para a análise das fendas de divergência e recepção com a fenda soller de 2,5° de divergência. As Figuras 30-32 mostram o pico (220) do CeO_2 , com fendas de divergência variando de $\frac{1}{2}^\circ$ a $\frac{1}{6}^\circ$ e de recepção variando de 0,05mm a 0,60mm. Na Figura 30 (fenda de divergência $\frac{1}{2}^\circ$) nota-se que o melhor compromisso entre intensidade e resolução é a de fenda de recepção de 0,30 mm.

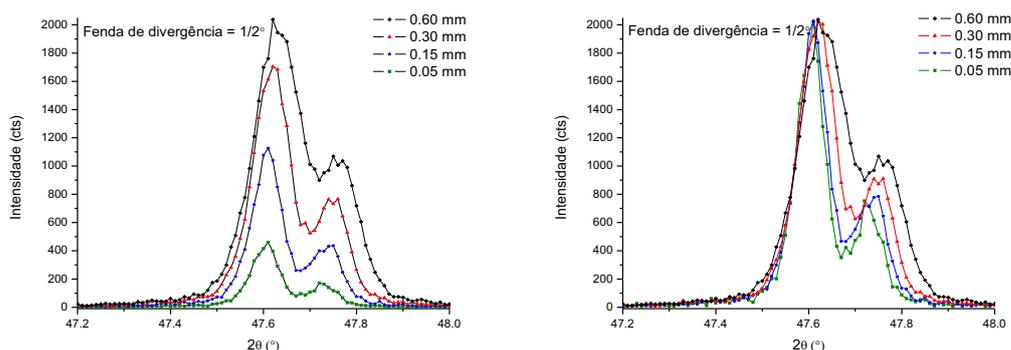


Figura 30. Pico (220) do CeO_2 obtido com fenda soller de 2,5° e (a) fenda de divergência $\frac{1}{2}^\circ$ e fenda de recepção nos valores descritos na figura, como medido e (b) normalizados para a mesma intensidade.

Na Figura 31 (fenda de divergência $\frac{1}{4}^\circ$) nota-se que o melhor compromisso entre intensidade e resolução é a de fenda de recepção de 0,30 mm. A intensidade diminuiu de $\frac{1}{3}$ com relação a fenda de recepção de 0,60 mm. Entretanto houve uma ligeira melhora na resolução. Assim, mesmo que o tempo de medida para a fenda de 0,30mm deva ser maior, a pequena melhora de resolução a torna a melhor opção para o caso dos fármacos.

Para a fenda de divergência de $\frac{1}{6}^\circ$ a intensidade caiu demasiadamente, tornando inviável para as medidas dos fármacos.

Assim, as melhores condições experimentais para a análise de fármacos são com fenda Soller 2,5° de divergência, fenda de divergência de $\frac{1}{4}^\circ$ e fenda de recepção de 0,30mm. O tamanho de passo não precisa ser menor do que $0,02^\circ$ (2θ), já que para o padrão, nestas condições, nove pontos serão medidos dentro da FWHM (Full Width, definindo adequadamente o perfil do pico).

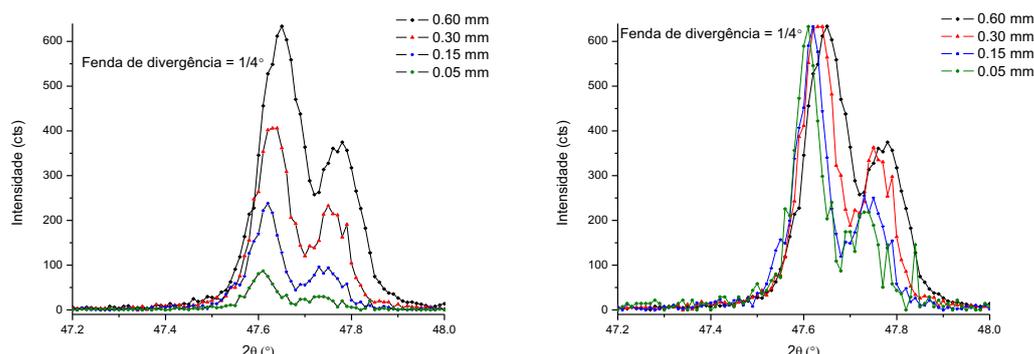


Figura 31. Pico (220) do CeO_2 obtido com fenda soller de $2,5^\circ$ e (a) fenda de divergência $1/4^\circ$ e fenda de recepção nos valores descritos na figura, como medido e (b) normalizados para a mesma intensidade.

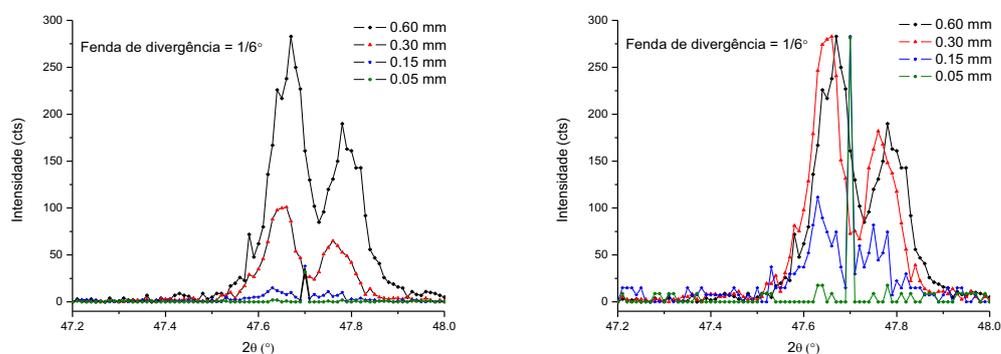


Figura 32. Pico (220) do CeO_2 obtido com fenda soller de $2,5^\circ$ e (a) fenda de divergência $1/6^\circ$ e fenda de recepção nos valores descritos na figura, como medido e (b) normalizados para a mesma intensidade.

8 Experimental

Os medicamentos comercializados foram adquiridos no comércio da cidade de Araraquara, assim como uma amostra de Tibolona adquirida de uma farmácia de manipulação.

A Tibolona e a Isotibolona fazem parte de um extenso trabalho realizado na tese de Gabriel Lima Barros de Araujo (2009)³⁰ onde alguns dos estudos por difração de raios X foram aqui realizados.

Os excipientes de comprimidos estudados, estão apresentados no Anexo 2.

As Curvas de DSC foram realizadas em porta amostra de alumínio lacrado, com atmosfera de N_2 50mL/min. e aquecimento de $10^\circ\text{C}/\text{min}$.

8.1 Refinamentos

No primeiro caso estudado, o ácido mefenâmico, será detalhada a estratégia para os refinamentos que serão usados nos demais casos.

9 Resultados e Discussão

9.1 Ácido Mefenâmico

Há duas formas polimórficas do ácido mefenâmico, sendo que apenas uma (forma I) tem a estrutura cristalina determinada. A análise por DSC Figura 33 indica que a matéria-prima analisada é a forma I, pois apresenta os eventos de cristalização da forma II em 189°C, seguido da fusão em 231°C, como descrito por Cesur (2008)³¹ e Kato (2006)³⁴.

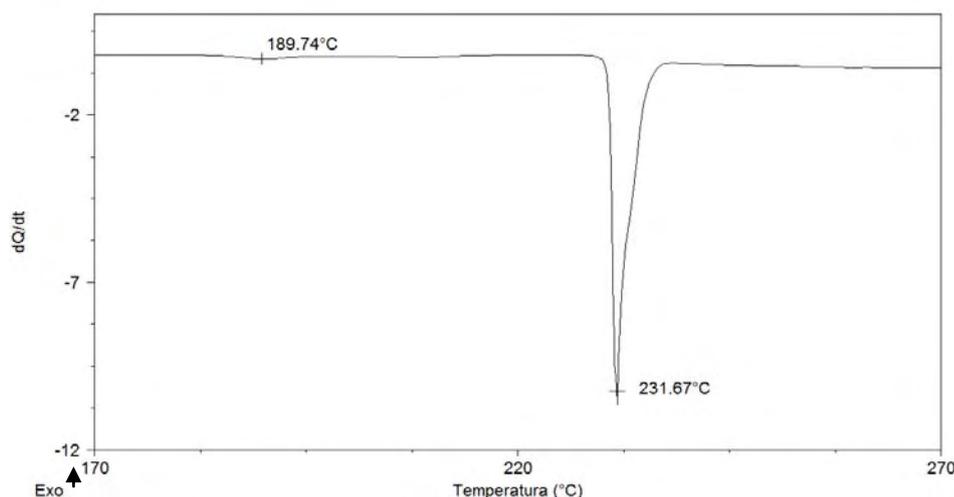


Figura 33. Curva de DSC da matéria-prima do Ácido Mefenâmico, aquecimento 10°C/min.

9.1.1 Análise de Matéria-Prima e do comprimido

Uma vez indicado por DSC o polimorfo na matéria-prima, foi realizada a análise por DRXP, que corroborou o resultado obtido por análise térmica, ou seja, é a forma I.

Com os dados de DRX obtidos no equipamento Rigaku RINT2000, foram realizados refinamentos pelo método de Rietveld, usando a estrutura cristalina descrita por McConnell (1976)³⁶ sendo o grupo espacial $P\bar{1}$, $a= 14,5560 \text{ \AA}$; $b= 6,8110 \text{ \AA}$; $c= 7,6570 \text{ \AA}$; $\alpha= 119,57^\circ$, $\beta=103,93^\circ$; $\gamma = 91,30^\circ$, $V= 631,8 \text{ \AA}^3$ e $Z=2$. Os resultados obtidos pelo método de Rietveld são $R_{wp} = 13,11\%$; $\chi^2 = 1,19$; $R_{Bragg} = 1,40\%$, e o gráfico de Rietveld está na Figura 34.

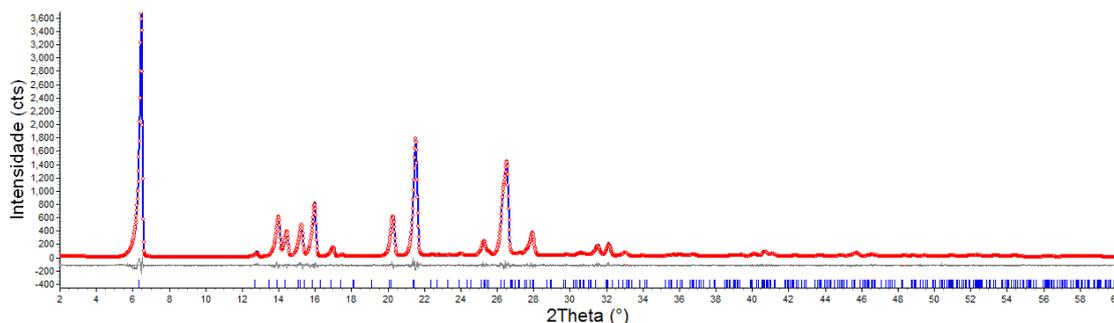


Figura 34. Gráfico de Rietveld da matéria-prima do ácido mefenâmico, medidas de equipamento convencional $\lambda_{Cu} = 1,5406 \text{ \AA}$ e fendas sollar de 5° .

O gráfico mostrado na Figura 35 apresenta a o difratograma do ácido mefenâmico, do excipiente e do comprimido genérico. Observa-se que no difratograma do comprimido o padrão de difração da matéria-prima se mantém inalterado, indicando que o polimorfo presente no comprimido é o mesmo da matéria-prima. Ou seja, não houve alteração de polimorfo durante o processo de fabricação. A alteração que pode ser observada no difratograma do comprimido é o aparecimento de uma banda, entre 20 e 25° (2θ) correspondente ao excipiente amorfo.

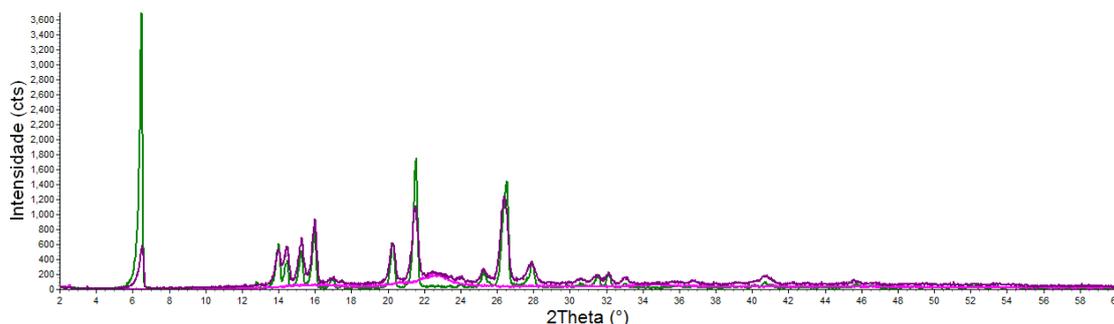


Figura 35. Difratogramas da matéria-prima, placebo e comprimido, medidas de equipamento convencional $\lambda_{Cu} = 1,5406 \text{ \AA}$ e fendas sollar de 5° .

Na Figura 36 é apresentado o DSC do comprimido do Ácido Mefenâmico, onde indica a presença da Forma I. Outros eventos são relacionados aos excipientes presentes no comprimido. Pequenas variações dos eventos em relação ao PA também estão relacionados com a presença dos excipientes na amostra.

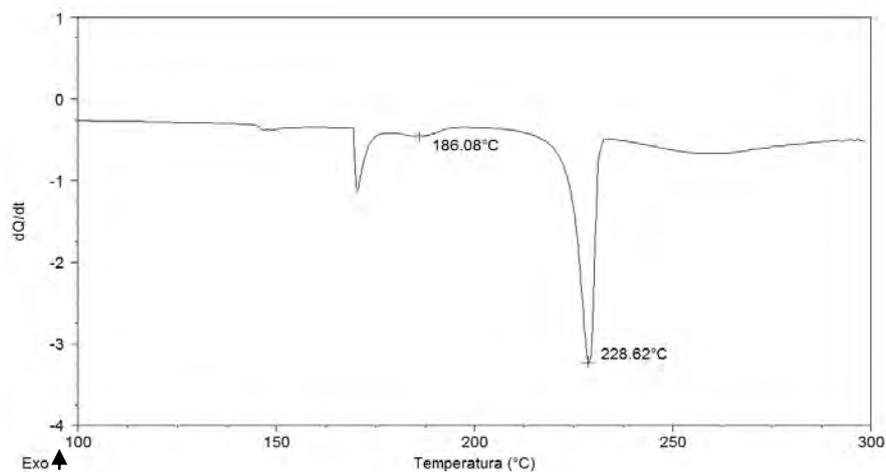


Figura 36. Curva de DSC do comprimido do Ácido Mefenâmico, aquecimento 10°C/min.

O Refinamento de Rietveld e o ajuste com os dados de difração de raios X do comprimido (Figura 37) confirma que o polimorfo I está presente. Os índices de $R_{wp} = 10,08\%$; $\chi^2 = 1,12$; $R_{Bragg} = 0,96\%$.

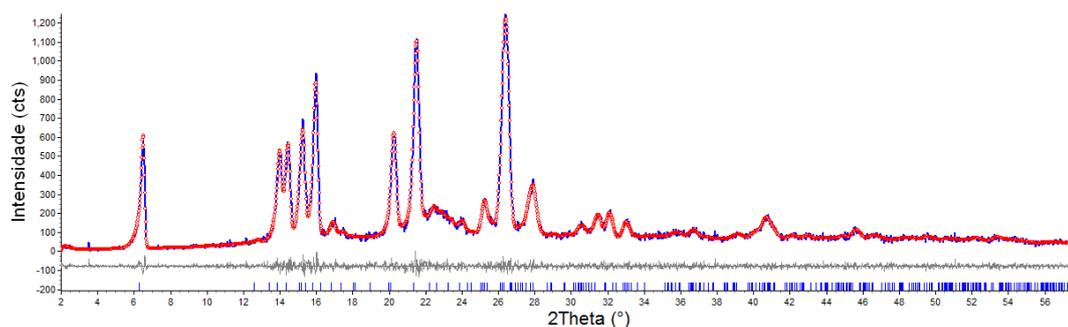


Figura 37. Gráfico de Rietveld do comprimido do ácido mefenâmico, medidas de equipamento convencional $\lambda_{Cu} = 1,5406 \text{ \AA}$ e fendas soller de 5° .

As análises também foram realizadas com dados obtidos na linha D10B-XPD do LNLS, confirmado os resultados obtidos com o Rigaku. A Figura 38 apresenta o gráfico de Rietveld para o caso da matéria-prima com os dados do LNLS. Os índices de refinamento foram $R_{wp} = 4,43\%$; $\chi^2 = 1,45$; $R_{Bragg} = 0,65\%$.

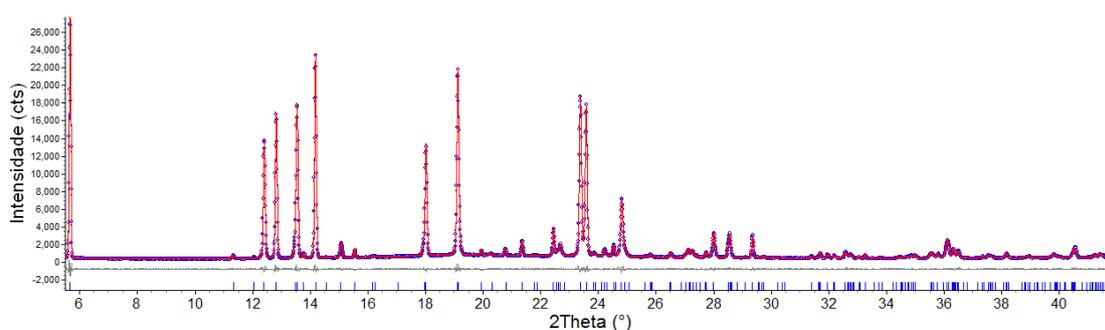


Figura 38. Gráfico de Rietveld do ácido mefenâmico com dados do LNLS, $\lambda = 1.37709 \text{ \AA}$.

A Figura 39, apresenta o refinamento de Rietveld para o comprimido do ácido mefenâmico, que resultou nos índices $R_{wp} = 4,97\%$; $\chi^2 = 2,68$; $R_{Bragg} = 0,41\%$.

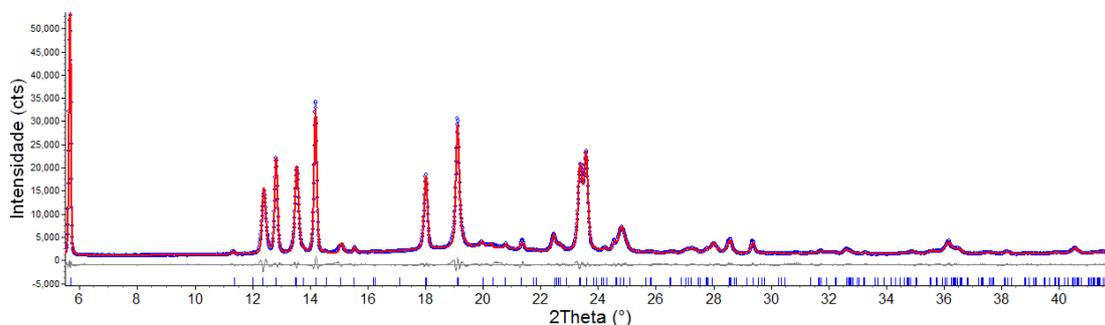


Figura 39. Gráfico de Rietveld para o comprimido de ácido mefenâmico com dados do LNLS, $\lambda = 1.37709 \text{ \AA}$.

Uma vez que a matéria-prima analisada é a mesma usada na fabricação do medicamento, pode-se verificar qual a alteração que o princípio ativo sofreu durante todas as etapas até o comprimido final. Já foi visto que a estrutura cristalina não passou por alterações.

A anisotropia de um material é descrito em função do alargamento dos picos de difração, mas estes alargamentos também são causados por fatores instrumentais que não devem ser desprezados. Para uma análise adequada de tamanho de cristalito, apenas o alargamento físico deve ser usado nos cálculos. Assim, deve-se medir uma amostra padrão, livre de alargamento físico^{††}, nas mesmas condições e do mesmo equipamento onde foi medida a amostra de interesse. Com isso, o alargamento instrumental poderá ser extraído do alargamento observado do fármaco, para se calcular o tamanho de cristalito.

Em todas as medidas, do ácido mefenâmico, mostrados anteriormente apenas os dados obtidos com o anodo rotatório Rigaku puderam ser usados, tendo em vista que as medidas do padrão do NIST LaB6 SRM660a, realizadas no LNLS, não ficaram adequadas para determinação do alargamento instrumental devido à problemas de coleta que não foram possíveis de se corrigir na época. A Figura 40 apresenta os perfis dos picos do LaB₆, com uma forma “achatada” não Voigtiana. Ou seja, não representativa de um alargamento instrumental típico.

^{††} O alargamento físico é aquele causado pelas dimensões de tamanho de cristalito e microdeformação. Uma amostra padrão não possui alargamento físico, de forma que apenas alargamento instrumental estará presente.

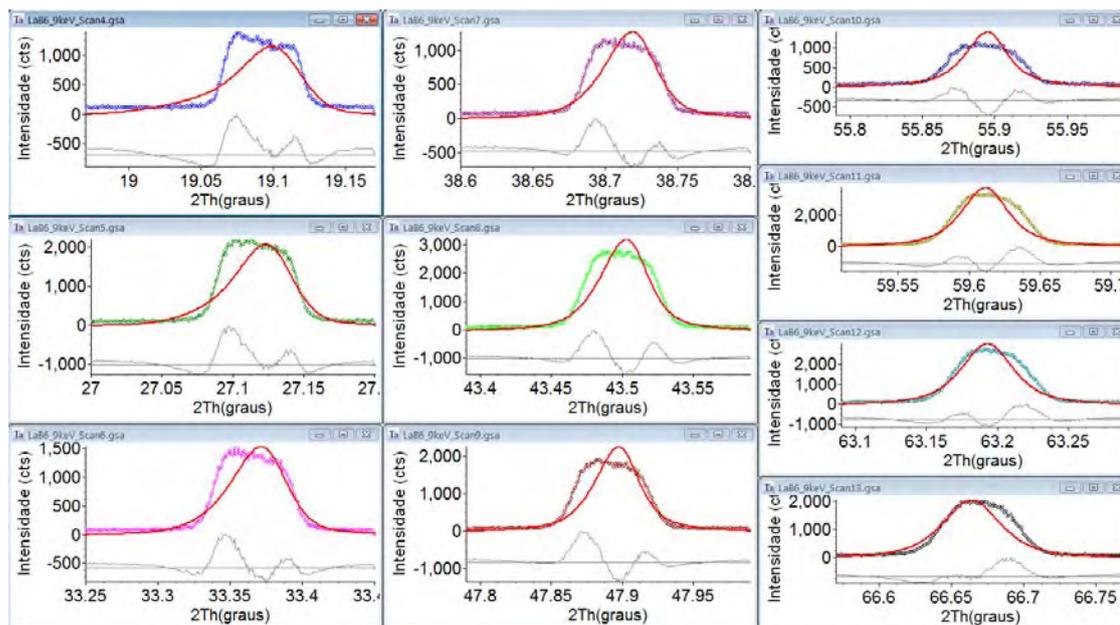


Figura 40. Refinamento do padrão do NIST LaB₆ SRM660A, de onde se pretendeu obter o alargamento instrumental para análises de tamanho de cristalito.

Outra forma de se obter o alargamento instrumental é através de parâmetros fundamentais (PF). Por esse procedimento, as larguras das fendas, entre outros parâmetros instrumentais, são utilizadas para se determinar o alargamento instrumental, e o tamanho de cristalito é refinado.

Para as análises de tamanho de cristalito com os dados do RIGAKU o método PF foi usado, como descrito acima. No ANEXO 1 esta a macro usada no ajuste anisotrópico.

Costuma-se usar algum método de ajuste de perfil de picos, como o método de Le Bail (MetLB) ou mesmo o método de Pawley (MetP), para se determinar tamanho de cristalito. Será mostrado, a seguir, que quando se conhece a estrutura cristalina, refinar simultaneamente tamanho de cristalito, cela unitária, anisotropia e orientação preferencial, pelo menos no caso do ácido mefenâmico, se obtém bons resultados.

Entretanto, se o MetLB ou MetP forem usados, a cela unitária não deve ser refinada inicialmente, pois levará a resultados inadequados. Isso acontece porque as intensidades dos picos são inicialmente zero nesses casos e, ao ajustá-las, junto com a cela unitária, os parâmetros da cela irão variar aleatoriamente na tentativa de encontrar a melhor posição para satisfazer o método de mínimos-quadrados⁹⁵. Assim, orientação preferencial, alargamento dos picos, cela unitária, anisotropia, deslocamento da amostra irão convergir para valores inadequados.

A matéria-prima do ácido mefenâmico, com dados do anodo rotatório Rigaku, foi usada para demonstrar os problemas que podem ocorrer conforme a estratégia de refinamento.

As estratégias de refinamento foram:

1. Método de Rietveld: foram refinados, desde o início, fator de escala, cela unitária, tamanho de cristalito, orientação preferencial, anisotropia, radiação de fundo e deslocamento da amostra.
2. Le Bail: da mesma forma que o método de Rietveld (inadequado).
3. Refinando inicialmente radiação de fundo e deslocamento da amostra. Depois foram incluídos no refinamento os parâmetros de tamanho de cristalito, anisotropia, e finalmente foram incluídos os parâmetros da cela unitária.

Abaixo estão os resultados (Tabela 10) dos refinamentos utilizando as estratégias 1,2 e 3, onde a estratégia 2 levou a valores divergentes da cela unitária. No caso da utilização do método de Rietveld essa divergência não ocorre porque é levada em consideração a estrutura cristalina, e tomando os devidos cuidados o método de Le Bail também converge a valores próximos aos obtidos pelo método de Rietveld.

Tabela 10. Índices de qualidade de refinamento do ácido mefenâmico com método de Rietveld e estratégias descritas na página 50(τ é o tamanho médio de cristalito).

	1-Rietveld	2-Le Bail*	3-Le Bail
Rwp (%)	9.268	10.714	7.881
χ^2	2.381	2.73	2.16
a(Å)	14.571(2)	14.458(1)	14.586(3)
b(Å)	6.8132(7)	6.8228(7)	6.814(1)
c(Å)	7.6612(8)	7.6725(9)	7.670(1)
α°	119.654(8)	119.579(8)	119.65(1)
β°	103.987(7)	103.838(7)	104.03(1)
λ°	91.225(10)	91.206(9)	91.16(2)
τ (nm)	125(4)	104(2)	169(8)

* Método de Le Bail realizado de forma equivocada que levaram a divergência dos resultados mesmo que com bons índices de qualidade.

Assim, caso seja necessário utilizar métodos de ajuste de perfil é necessário o cuidado para não chegar a resultados errados mesmo que pareçam adequados. Para isso deve-se tomar o cuidado de refinar os parâmetros de forma ordenada e passo-a-passo e assim chegar a resultados confiáveis.

Com o ajuste adequado pode-se passar para a análise dos resultados obtidos pelo cálculo de tamanho de cristalito, calculados tanto para a matéria-prima quanto para o comprimido do ácido mefenâmico:

Tabela 11. Resultados de anisotropia para o ácido mefenâmico (matéria-prima e comprimido).

	h00	0k0	00l
Matéria-prima	116,0(4,3) nm	38,1(3,9) nm	35,4(3,7) nm
Comprimido	50,3(4,3) nm	28,4 (0,9) nm	27,6 (1,7) nm

Os valores apresentados são fornecidos em nanômetros, sendo assim com este método o ácido mefenâmico, da matéria-prima, apresenta pouca variação de tamanho de cristalito nos planos cristalinos, apenas no plano h00 existe uma maior diferença. O mesmo ocorre para o comprimido, com distribuição do tamanho de cristalito com pouca variação, mas com maior diferença para o plano h00. Sendo assim, no caso do ácido mefenâmico, tanto para a matéria-prima quanto para o comprimido houve pouca variação de tamanho de cristalito, podendo inferir que os materiais mantêm uma distribuição de tamanho de cristalito uniforme.

9.1.2 Análise de Medicamentos comerciais

Uma vez estabelecidos os critérios para análise, foram adquiridos alguns medicamentos comerciais do ácido mefenâmico, incluindo similar (Ponsdril® e Pontin™), genérico (EMS, Biossintética) e o medicamento de referência Ponstan® (Pfizer). Todos os comprimidos adquiridos são de 500 mg.

Como no caso do genérico, apresentado anteriormente, todos os comprimidos adquiridos também apresentaram a forma I do ácido mefenâmico, sem nenhuma alteração de sua estrutura cristalina e parte amorfa relacionada com os excipientes utilizados.

As Figura 41 a Figura 45 mostram os gráficos final de Rietveld para cada amostra.

Ponstan® Pfizer Lote 90430032.

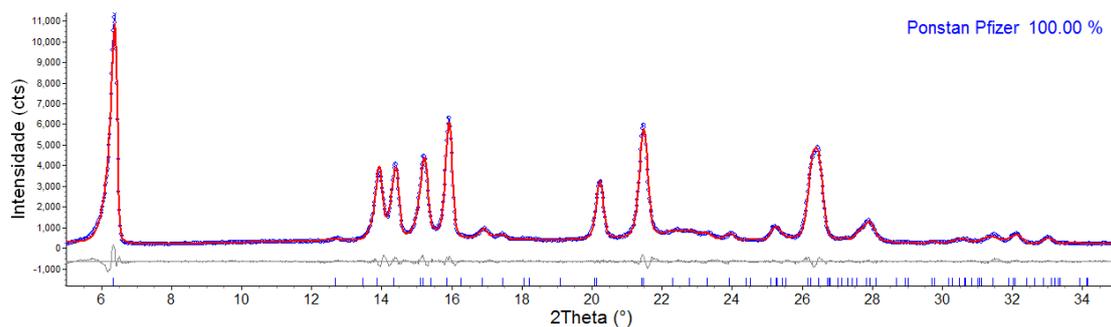


Figura 41. Gráfico de Rietveld do Ponstan® Referência Pfizer, medidas de equipamento convencional $\lambda_{Cu} = 1,5406 \text{ \AA}$ e fendas soller de 5° .

Ácido Mefenâmico EMS Lote 224580

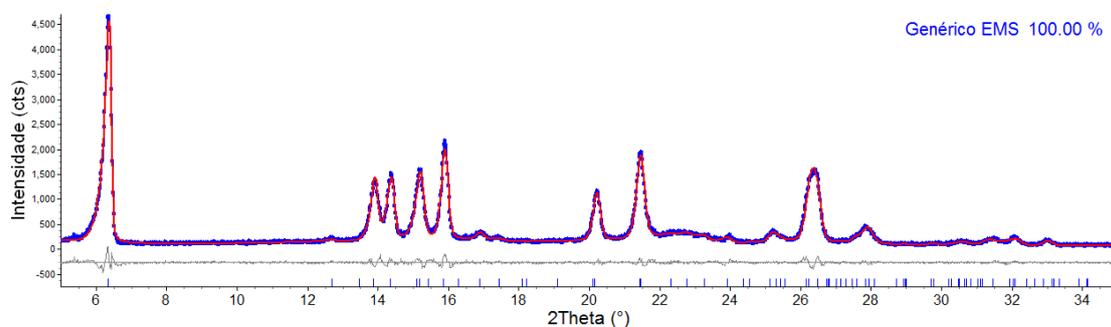


Figura 42. Gráfico de Rietveld do Ácido Mefenâmico - Genérico EMS, medidas de equipamento convencional $\lambda_{Cu} = 1,5406 \text{ \AA}$ e fendas soller de 5° .

Ponsdril® (similar) Legrand Lote 182199

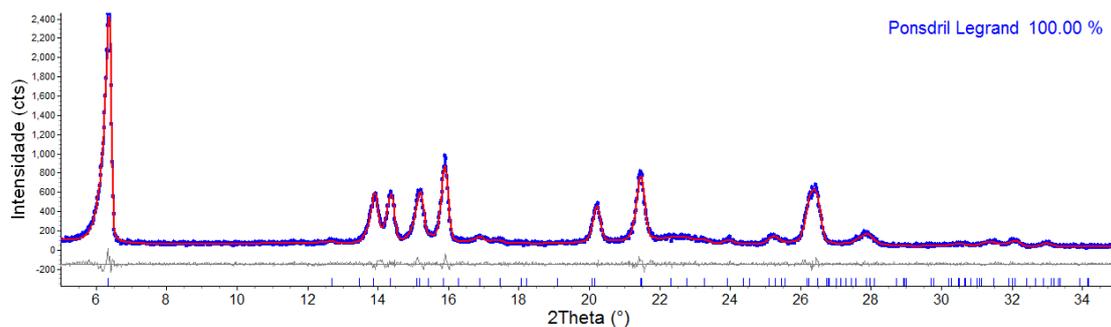


Figura 43. Gráfico de Rietveld do Ácido Mefenâmico - Ponsdril® (similar) Legrand, medidas de equipamento convencional $\lambda_{Cu} = 1,5406 \text{ \AA}$ e fendas soller de 5° .

Pontin™ (similar) Hexal Lote AE8906

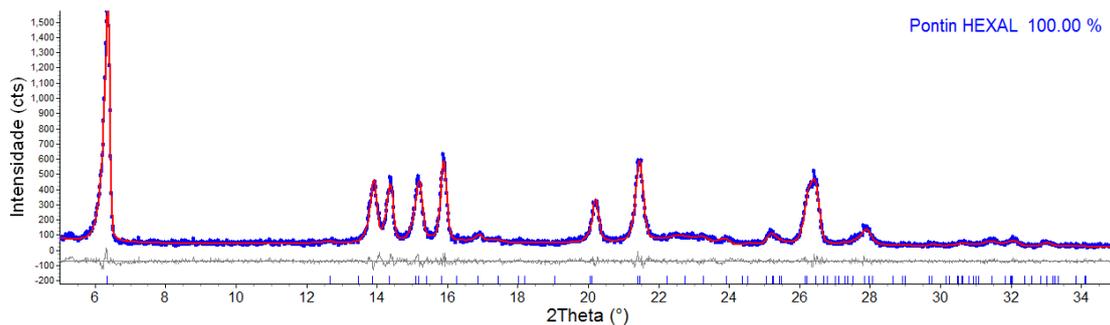


Figura 44. Gráfico de Rietveld do Ácido Mefenâmico - Pontin™ (similar) Hexal, medidas de equipamento convencional $\lambda_{Cu} = 1,5406 \text{ \AA}$ e fendas soller de 5° .

Ácido Mefenâmico Biossintética (Achē) Lote 0901290

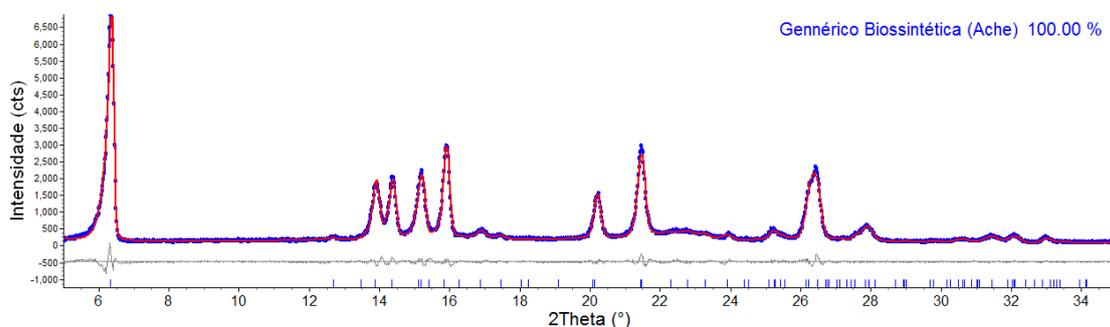


Figura 45. Gráfico de Rietveld do Ácido Mefenâmico Biossintética, medidas de equipamento convencional $\lambda_{Cu} = 1,5406 \text{ \AA}$ e fendas soller de 5° .

Os índices de qualidade dos refinamentos estão sumarizados na Tabela 12, caracterizando o ajuste adequado do polimorfo, Forma I do Ácido Mefenâmico em todos os casos.

Tabela 12. Índices de qualidade do refinamento de Rietveld para amostras comerciais do ácido mefenâmico.

	Rwp (%)	χ^2	R _{Bragg} (%)	h00(nm)	0k0(nm)	00l(nm)
Ponstan® Pfizer	6,36	1,92	0,58	35,42	30,08	28,60
Genérico EMS	8,04	1,48	0,95	33,71	32,23	26,26
Ponsdril® Legrand	9,38	1,16	1,38	34,59	32,46	24,33
Pontin™ Hexal	11,62	1,18	1,76	39,54	34,08	29,67
Genérico Biossintética	7,68	1,63	1,01	34,86	33,00	28,98

Os resultados mostram que para o caso do ácido mefenâmico, e para os medicamentos adquiridos, existe a utilização do polimorfo I e que não houve alteração na estrutura do PA durante a fabricação do medicamento e estocagens desde a saída da fábrica. O método de Rietveld é adequado e de certa maneira pode ser usado sem maiores problemas para a análise

dos comprimidos de Ácido Mefenâmico, já que todos excipientes são amorfos e tem seu ajuste na radiação de fundo, não interferindo na análise do PA.

9.2 Carbamazepina

9.2.1 Análise de Matéria-Prima e do comprimido

A primeira etapa da análise da CBZ foi encontrar o polimorfo utilizado na matéria-prima (PA), e se houve transição polimórfica, após o processamento no comprimido.

Primeiramente realizou-se o DSC, para obter alguma indicação sobre o polimorfo presente. A Figura 46 apresenta o DSC da matéria-prima da carbamazepina que apresenta os eventos relacionados com a Forma III da Carbamazepina: Fusão da Forma III, cristalização da Forma I e Fusão da Forma I (175,19°C, 178,05°C e 191,83°C respectivamente), abaixo de 150°C não houve evento.

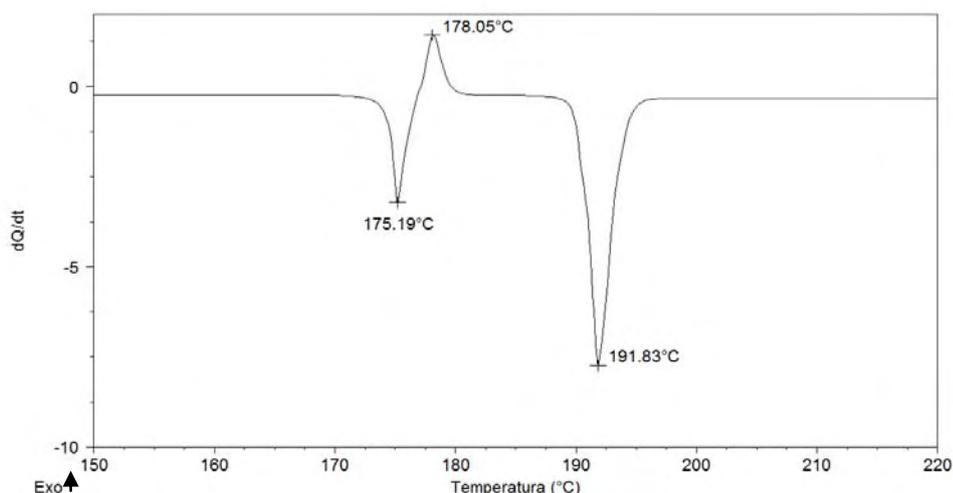


Figura 46. Curva de DSC da matéria-prima da Carbamazepina, aquecimento a 10°C/min.

Para confirmar o PA da CBZ, as Figuras de 47- 51 mostram simulações do difratograma observado da matéria-prima com as estruturas conhecidas da CBZ. Fica nítido que apenas a estrutura monoclinica P21/c (Figura 51) se adéqua ao perfil do difratograma.

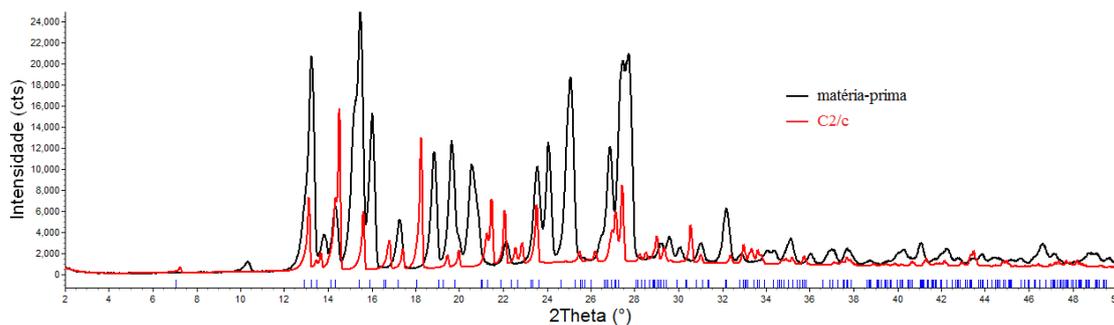


Figura 47. Comparação entre a matéria-prima da CBZ e difratograma simulado da Forma IV (C2/c), medidas de equipamento convencional $\lambda_{Cu} = 1,5406 \text{ \AA}$ e fendas soller de 5° .

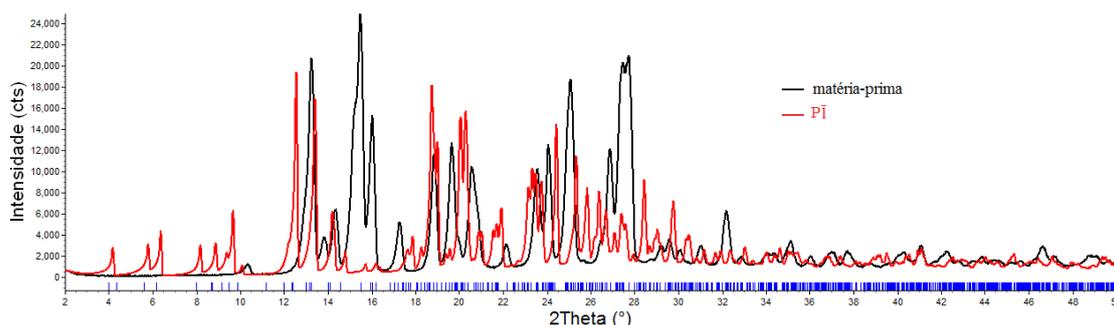


Figura 48. Comparação entre a matéria-prima da CBZ e difratograma simulado da Forma I (P1), medidas de equipamento convencional $\lambda_{Cu} = 1,5406 \text{ \AA}$ e fendas soller de 5° .

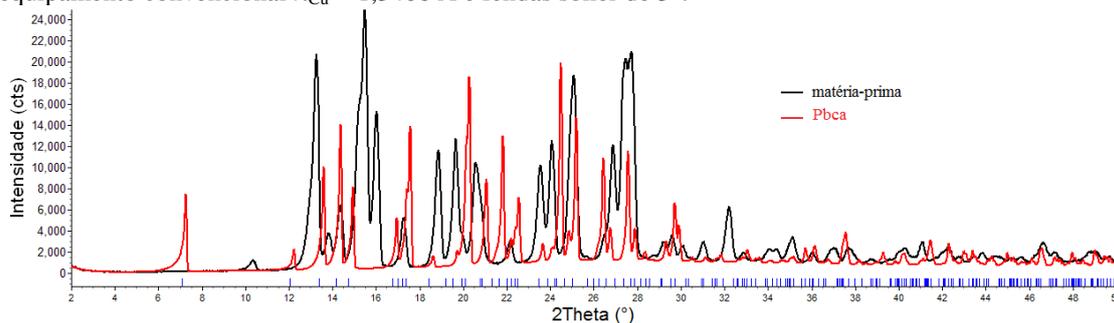


Figura 49. Comparação entre a matéria-prima da CBZ e difratograma simulado de grupo espacial Pbcu, medidas de equipamento convencional $\lambda_{Cu} = 1,5406 \text{ \AA}$ e fendas soller de 5° .

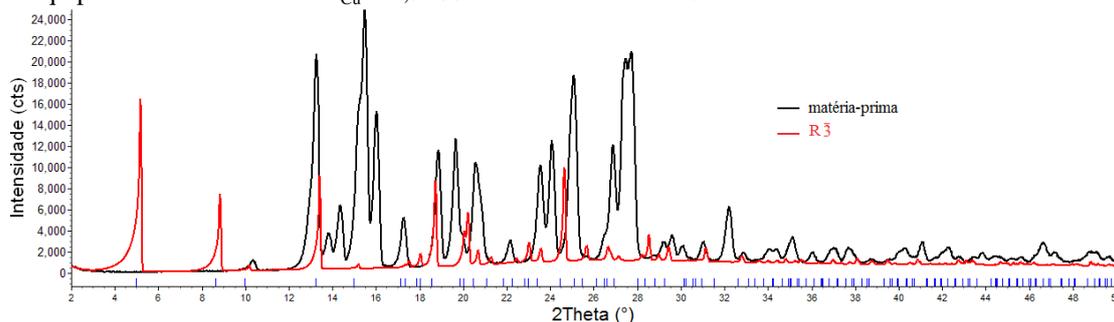


Figura 50. Comparação entre a matéria-prima da CBZ e difratograma simulado da Forma II (R3), medidas de equipamento convencional $\lambda_{Cu} = 1,5406 \text{ \AA}$ e fendas soller de 5° .

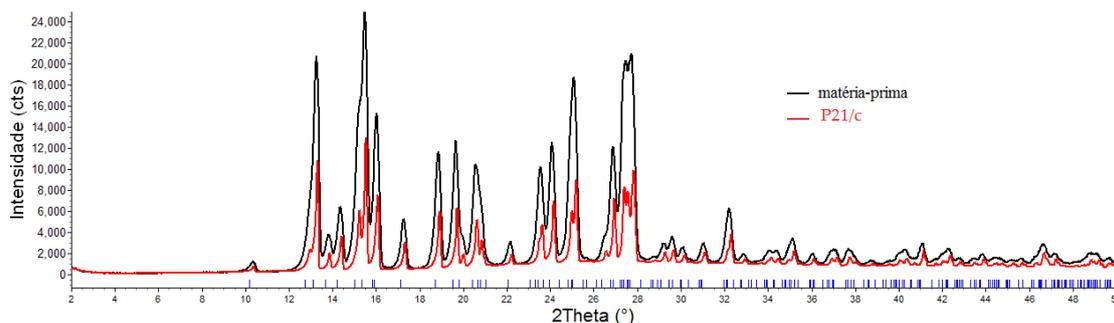


Figura 51. Comparação entre a matéria-prima da CBZ e difratograma simulado da Forma III (P21/c), medidas de equipamento convencional $\lambda_{Cu} = 1,5406 \text{ \AA}$ e fendas soller de 5° .

A Figura 52 apresenta o gráfico de Rietveld que confirma o polimorfo monoclinico (Forma III). Não só graficamente comprova-se o ajuste, mas também com os índices de qualidade que resultaram: $R_{wp} = 4,11\%$; $\chi^2 = 2,22$; $R_{Bragg} = 0,23\%$ e a cela unitária: $a = 7,547(2)\text{\AA}$; $b = 11,170(3)\text{\AA}$; $c = 15,510(4)\text{\AA}$ e $\beta = 116,204(3)^\circ$.

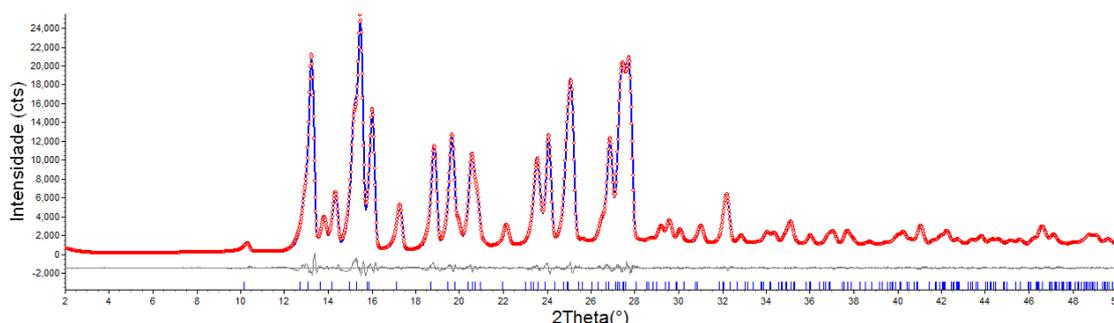


Figura 52. Gráfico de Rietveld para a CBZ matéria-prima, ajustado com a Forma III (P21/c), medidas de equipamento convencional $\lambda_{Cu} = 1,5406 \text{ \AA}$ e fendas soller de 5° .

No caso da CBZ dois comprimidos foram analisados de 200 mg e 400 mg. O DSC dos dois comprimidos está apresentado na Figura 53, os eventos característicos da forma III estão presentes. Outros eventos e a variação de temperatura dos eventos são devido aos excipientes presentes nos comprimidos e abaixo de 100°C não apresentou evento.

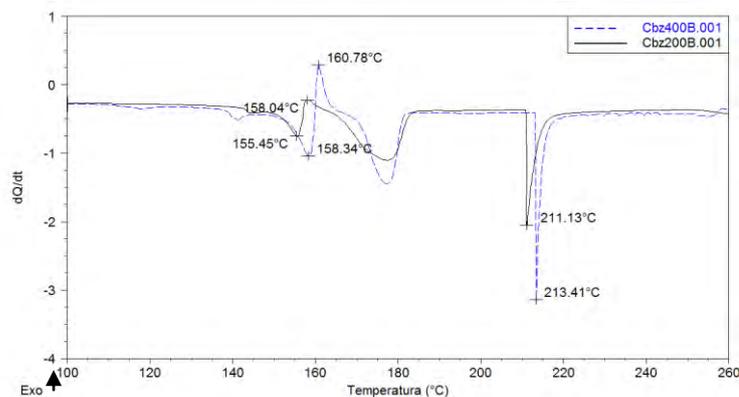


Figura 53. Curva de DSC dos comprimidos de 200mg e 400mg da CBZ, aquecimento $10^\circ\text{C}/\text{min}$.

Para a análise do comprimido, primeiramente, foram comparados a matéria-prima, placebo e o comprimido de 200mg. A Figura 54 apresenta esta comparação. Observa-se que os picos do comprimido é a somatória da matéria-prima (forma III) com o placebo.

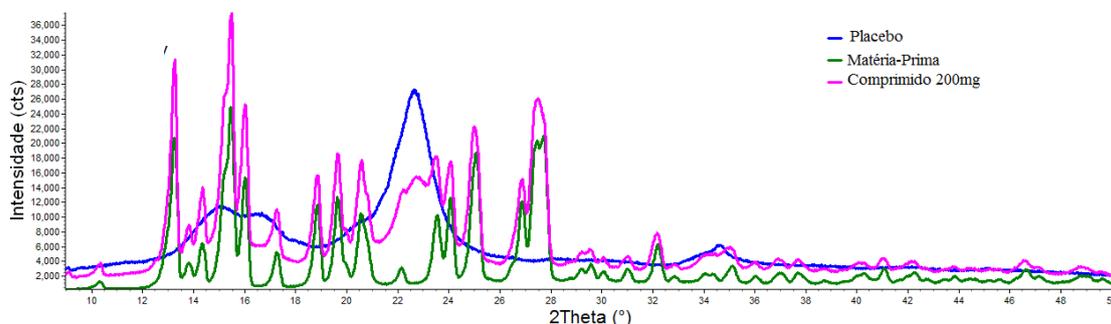


Figura 54. Difratogramas: azul- placebo; verde – matéria-prima; magenta – comprimido CBZ 200mg, medidas de equipamento convencional $\lambda_{Cu} = 1,5406 \text{ \AA}$ e fendas soller de 5° .

Quando se aplica o método de Rietveld se observa o ajuste na Figura 55; os índices do refinamento são: $R_{wp} = 3,00\%$; $\chi^2 = 2,56$; $R_{Bragg} = 0,23\%$. No difratograma, observa-se o alargamento semi-cristalino resultante do placebo. Cella unitária $a=7,558(1)\text{\AA}$; $b=11,185(1)\text{\AA}$; $c=15,529(2)\text{\AA}$ e $\beta = 116,233(6)^\circ$.

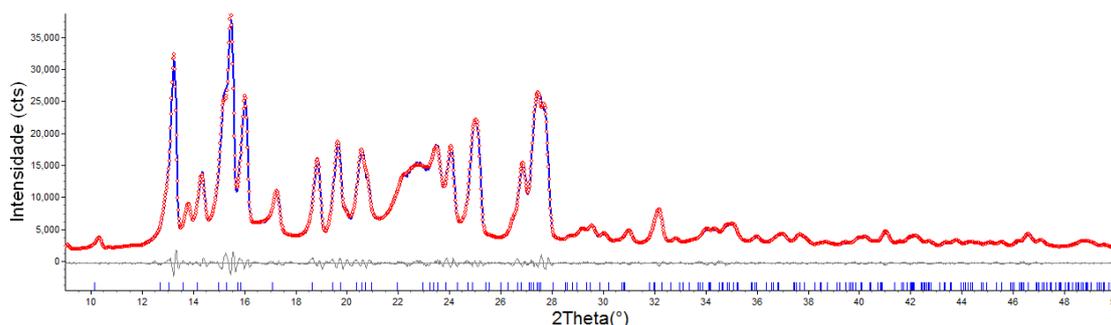


Figura 55. Gráfico de Rietveld para o comprimido de CBZ de 200 mg, ajuste da Forma III, medidas de equipamento convencional $\lambda_{Cu} = 1,5406 \text{ \AA}$ e fendas soller de 5° .

O mesmo resultado foi possível, também, para o comprimido de 400 mg, como pode-se observar nas figuras abaixo.

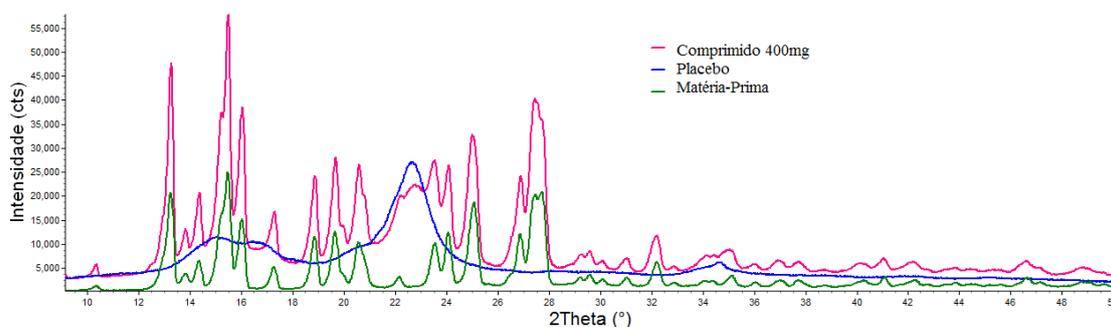


Figura 56. Difratogramas: azul- placebo; verde – matéria-prima; magenta – comprimido CBZ 400mg, medidas de equipamento convencional $\lambda_{Cu} = 1,5406 \text{ \AA}$ e fendas soller de 5° .

Os resultados para o comprimido CBZ 400 mg foram $R_{wp} = 2,41\%$; $\chi^2 = 2,53$; $R_{Bragg} = 0,19\%$ e a cela unitária: $a = 7,5542(8)\text{\AA}$; $b = 11,1760(7)\text{\AA}$; $c = 15,518(1)\text{\AA}$ e $\beta = 116,220(5)^\circ$.

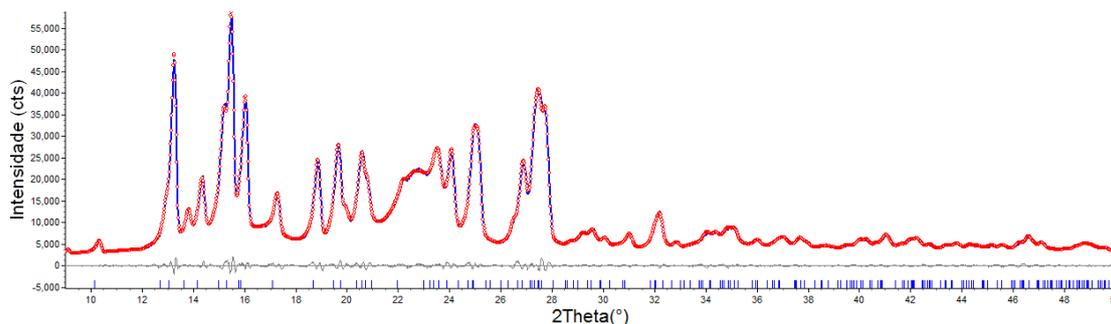


Figura 57. Gráfico de Rietveld para o comprimido de CBZ de 400 mg, ajuste com a forma III, medidas de equipamento convencional $\lambda_{Cu} = 1,5406 \text{\AA}$ e fendas soller de 5° .

Na

Tabela 13 esta os resultados dos cálculos de anisotropia para os casos da matéria-prima e comprimidos de 200mg e 400mg. Os resultados são bastante variados pela inclusão de excipientes nos comprimidos.

Tabela 13. Anisotropia calculada pelo MR para a matéria-prima, 200 mg e 400mg da CBZ.

	h00 (nm)	0k0 (nm)	00l(nm)
Matéria-prima	39,73	41,81	104,71
200 mg	49,88	47,31	60,095
400mg	61,22	59,36	∞

9.2.2 Aquecimento

Com o objetivo de obter a Forma I da CBZ, realizou-se uma série de tratamentos térmicos para a transformação da forma III para forma I. Os aquecimentos foram realizados com rampa de aquecimento de 10°C por minuto. Foram realizados cinco aquecimentos a: 180°C , 185°C , 190°C , 195°C e 200°C por 30 minutos.

9.2.2.1 Aquecimento 180°C

Primeiramente, a CBZ foi colocada no forno a 180°C por 30 minutos (Figura 58), não houve transformação para forma I, apenas a forma III é observada. Os índices de qualidade de refinamento foram $R_{wp} = 25,93\%$; $\chi^2 = 1,11$.

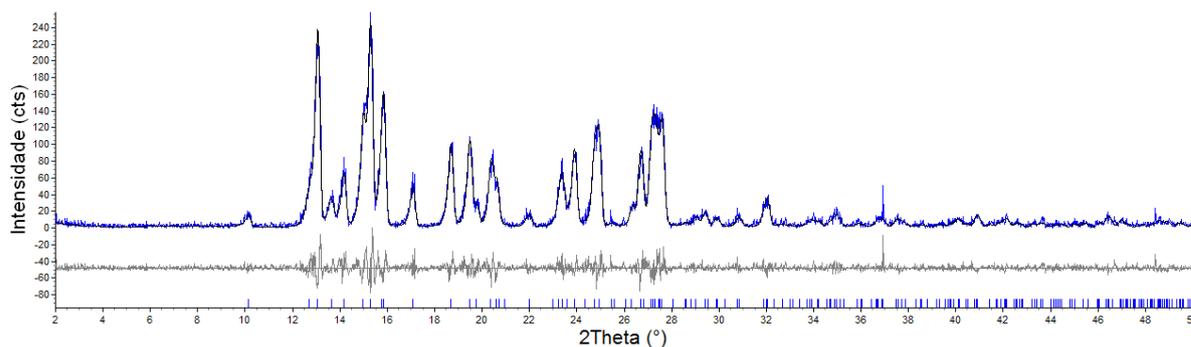


Figura 58. Gráfico de Rietveld da CBZ aquecida a 180 °C por 30 minutos, ajuste da Forma III, medidas de equipamento convencional $\lambda_{Cu} = 1,5406 \text{ \AA}$ e fendas soller de 5°.

9.2.2.2 Aquecimento 185°C

A Figura 59 apresenta a CBZ tratada a 185°C por 30 minutos, não houve transformação total para forma I e sim uma mistura de Forma I e III. Os índices de qualidade de refinamento foram $R_{wp} = 26,957$; $\chi^2 = 1,207$

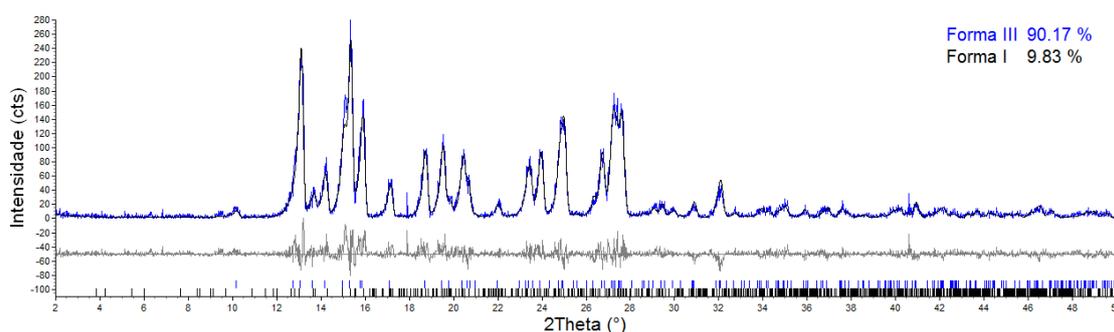


Figura 59. Gráfico de Rietveld da CBZ aquecida a 185 °C por 30 minutos, ajuste das formas III e I, medidas de equipamento convencional $\lambda_{Cu} = 1,5406 \text{ \AA}$ e fendas soller de 5°.

9.2.2.3 Aquecimento a 190°C

No aquecimento a 190 °C por 30 minutos foi possível verificar que, aparentemente, houve a transformação para forma I. Os resultados obtidos pelo método de rietveld são $R_{wp} = 8,18\%$; $\chi^2 = 1,73$; $R_{Bragg} = 1,69\%$.

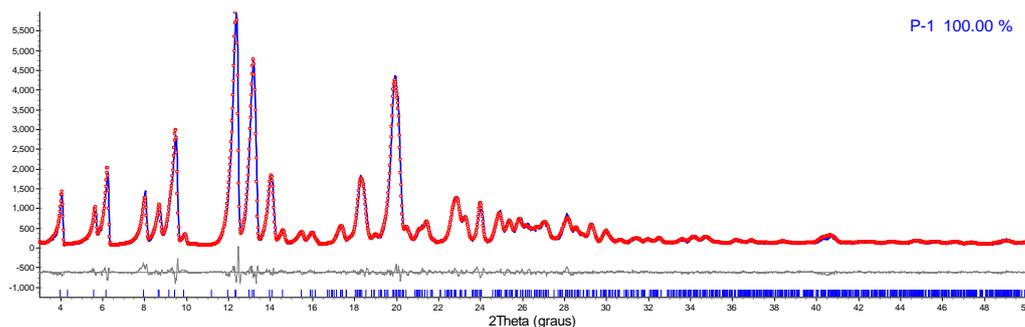


Figura 60. Gráfico de Rietveld da CBZ aquecida a 190 °C por 30 minutos, ajuste da forma I, medidas de equipamento convencional $\lambda_{Cu} = 1,5406 \text{ \AA}$ e fendas soller de 5°.

Assim como o DRXP o DSC (Figura 61) para este aquecimento apresenta a presença apenas da forma I com seu ponto de fusão característico (191°C) e nenhum evento anterior a este que caracterizasse a presença da Forma III.

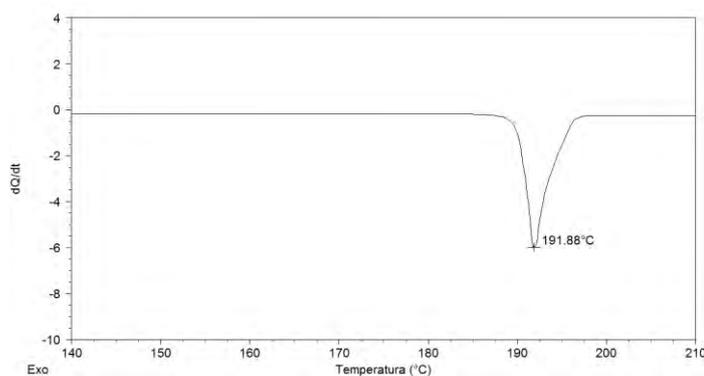


Figura 61. Curva de DSC para o aquecimento da CBZ 190°C por 30 min.

Medidas realizadas no LNLS foram obtidas também para a amostra CBZ 190 (Figura 62), onde se percebe que o ajuste não está adequado.

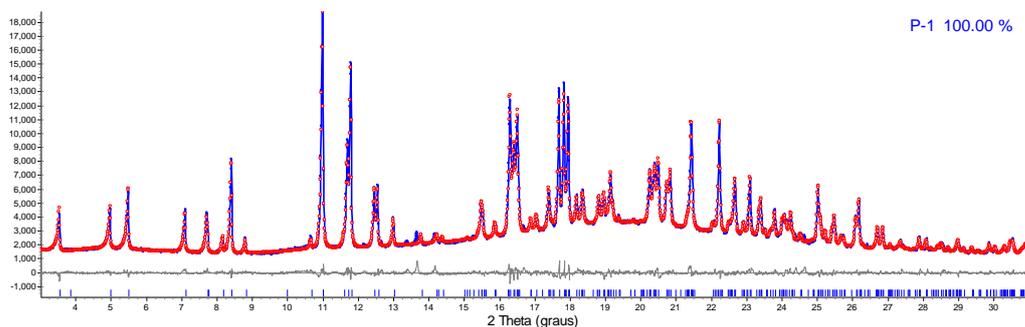


Figura 62. Gráfico de Rietveld da CBZ, aquecida a 190°, ajuste da forma I medidas realizadas no LNLS, $\lambda=1,37757$.

Com a ampliação (Figura 63 (a)) observa-se alguns picos não ajustados, enquanto que em (b) a ampliação do difratograma correspondente do equipamento convencional não aparece estes picos não ajustados. Conclui-se que a resolução do equipamento e a alta

sobreposição de picos do convencional não foi suficiente para constatar pequenas proporções do outro polimorfo (Forma III) presente no padrão de difração.

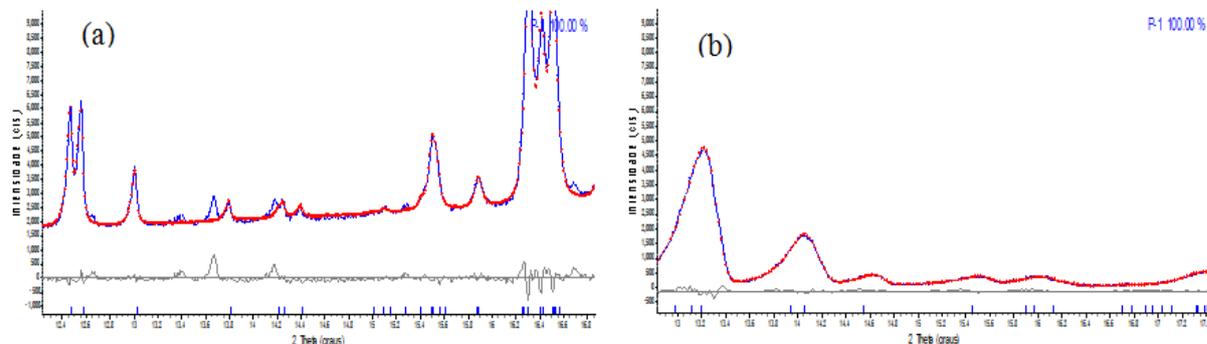


Figura 63. Ampliação do gráfico de Rietveld de posições equivalentes de 2θ da (a) medida do LNLs $\lambda=1,37757\text{\AA}$ e (b) medidas de equipamento convencional $\lambda_{\text{Cu}} = 1,5406\text{\AA}$ e fendas soller de 5° . Ajuste apenas da Forma I.

Com a inclusão da Forma III no refinamento de Rietveld observa-se o ajuste adequado que resultou em $\sim 95\%$ da Forma I e $\sim 5\%$ da Forma III, os índices foram $R_{\text{wp}} = 2.902$; $\chi^2 = 1,59$; R_{Bragg} (Form I) = $0,61\%$ e R_{Bragg} (Form III) = $0,32\%$.

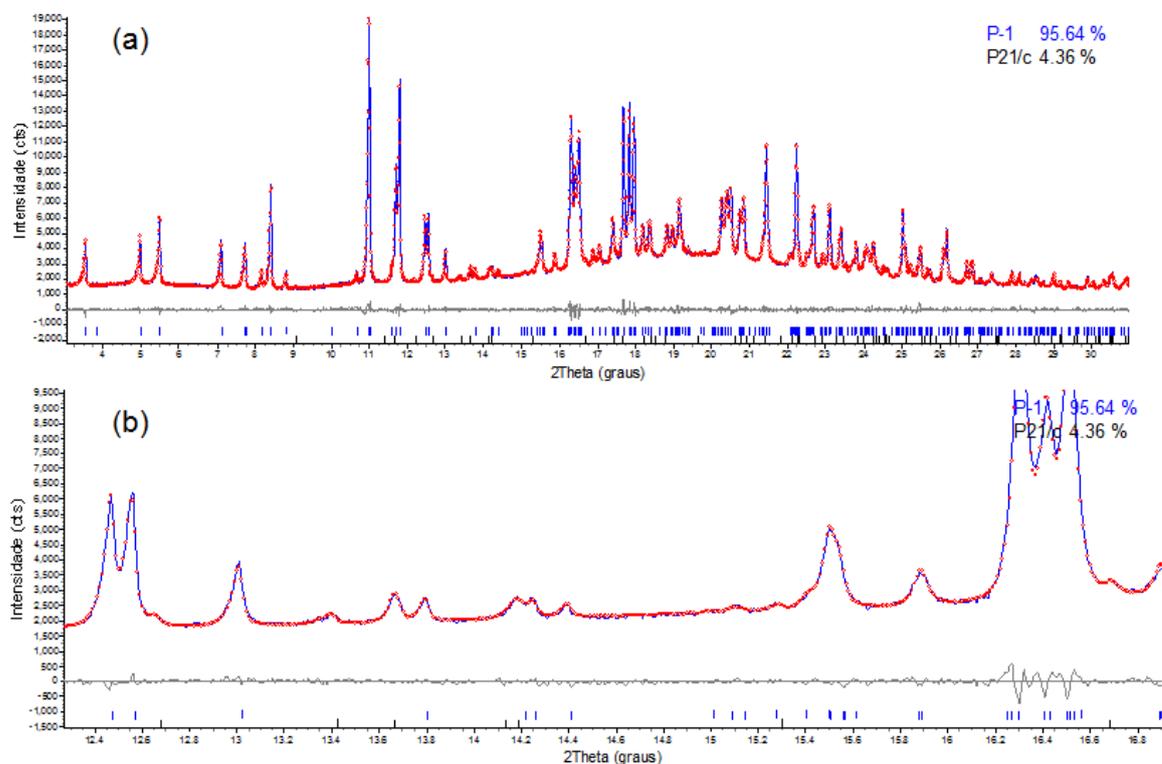


Figura 64. Gráfico de Rietveld da CBZ, aquecida a 190° , (a) ajuste das formas I (P1) e III (P21/c) medidas realizadas no LNLs, $\lambda=1,37757$. (b) sua ampliação de 12 a 17° .

Para melhorar a resolução do equipamento convencional foi possível trocar as fendas Soller de 5° por de $2,5^\circ$ e fez-se as medidas da CBZ aquecida a 190°C por 30 min, mostrada

na Figura 65(a), pode-se observar que não há ajuste salientado na ampliação Figura 65(b), como na Figura 63 (b) (fendas de 5°).

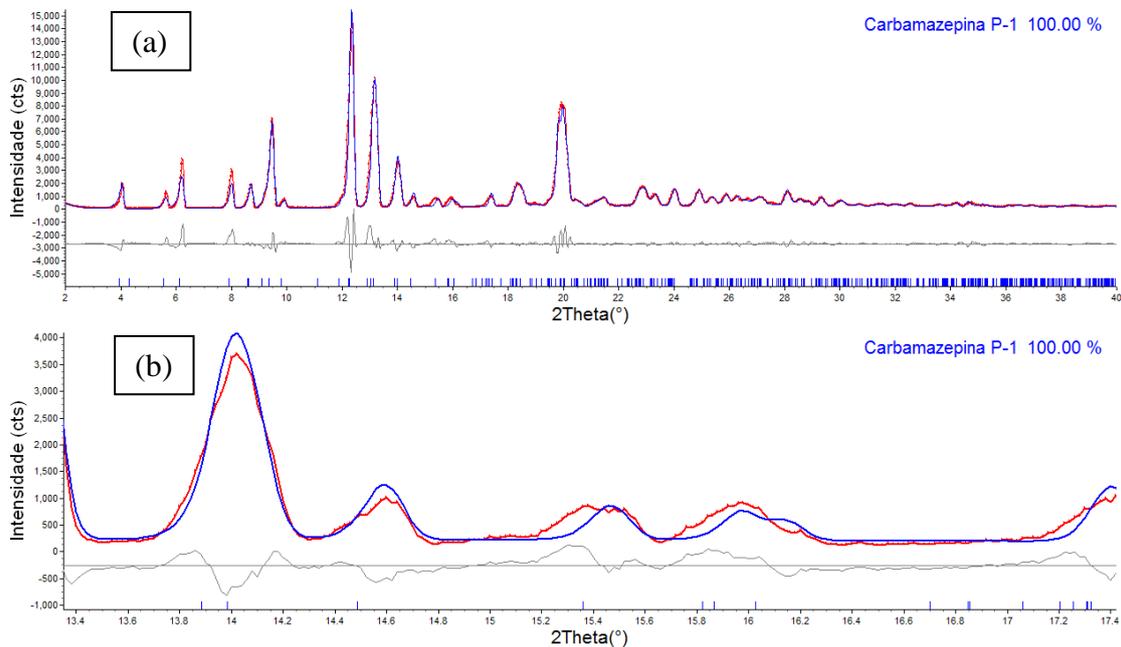


Figura 65: (a) Gráfico de Rietveld com medidas de equipamento convencional, $\lambda_{Cu} = 1,5406 \text{ \AA}$ e fendas Soller de $2,5^\circ$ (CBZ 190° 30 min) e (b) sua ampliação.

Tendo medidas de maior resolução é possível inferir a necessidade de mais uma fase, no caso o polimorfo Forma III da CBZ, o método de Rietveld para este caso resultou nos índices $R_{wp} = 13.61\%$; $\chi^2 = 3,80$; $R_{Bragg}(\bar{P}) = 5,14$ e $R_{Bragg}(P21/n) = 6,09$.

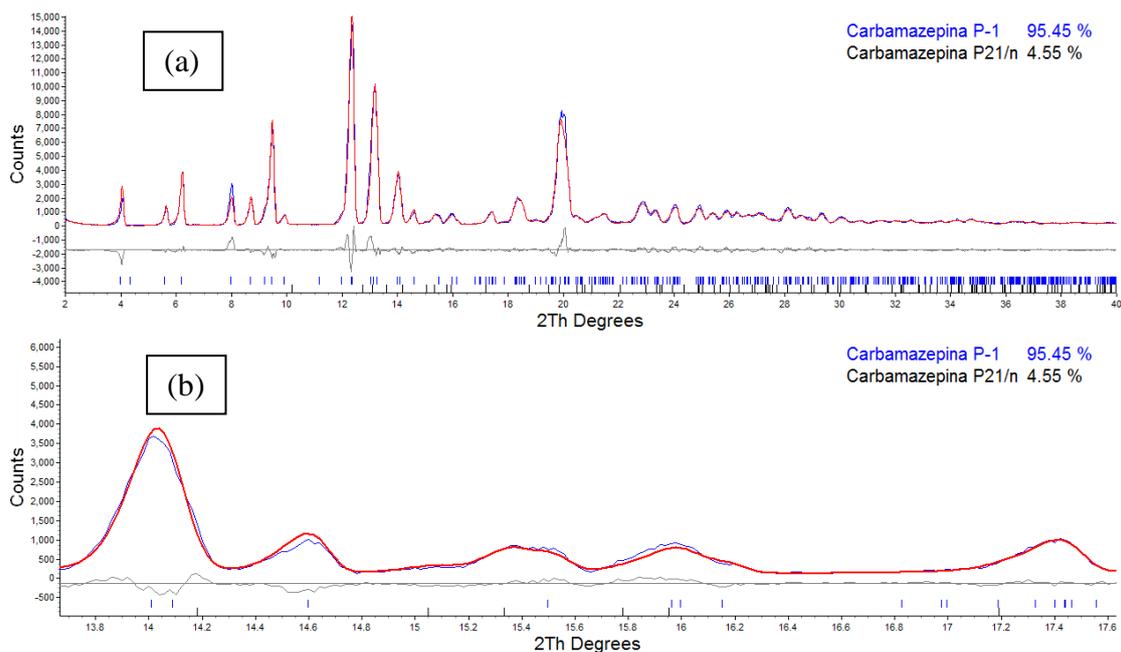


Figura 66. (a) Gráfico de Rietveld para CBZ aquecida 190°C 30 min com medidas de equipamento convencional, $\lambda_{Cu} = 1,5406 \text{ \AA}$ com fendas Soller $2,5$ e sua (b) ampliação.

9.2.2.4 Aquecimento 195° C por 30 minutos

O aquecimento a 195° C resultou em uma mistura da Forma III e Forma I, esta medida também foi realizada com fendas Soller de 2,5°. O refinamento de Rietveld (Figura 67) resultou nos índices $R_{wp} = 13.04\%$, $\chi^2 = 4.27$, $R_{Bragg} = 0.86\%$ (Forma III) e $R_{Bragg} = 2.70\%$ (Forma I).

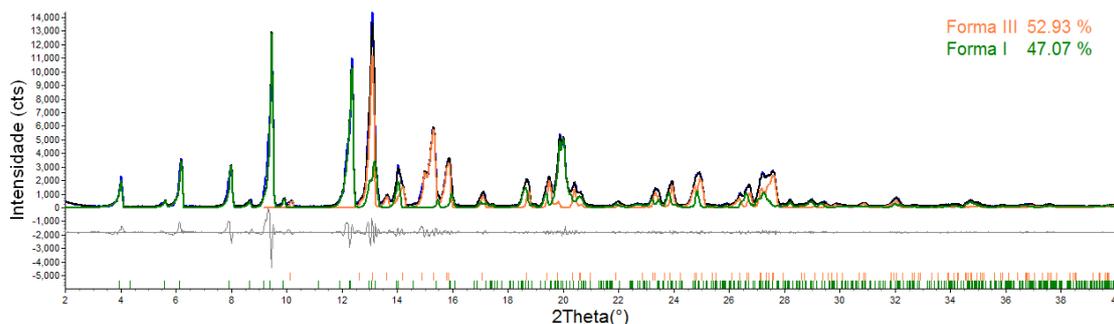


Figura 67. Gráfico de Rietveld da CBZ aquecida a 195 °C por 30 minutos, ajuste das formas III e I, com medidas de equipamento convencional, $\lambda_{Cu} = 1,5406 \text{ \AA}$ e fendas soller de 5°.

9.2.2.5 Aquecimento 200 °C por 30 minutos

As medidas para o aquecimento a 200° C foram realizadas com fendas Soller de 5° e resultou em uma mistura da Forma III e Forma I. Na Figura 68 apresenta o gráfico de Rietveld que resultou nos índices: $R_{wp} = 15,12\%$; $\chi^2 = 1,567$; $R_{Bragg} = 2,46\%$ (Forma III) e $R_{Bragg} = 8,38\%$ (Forma I).

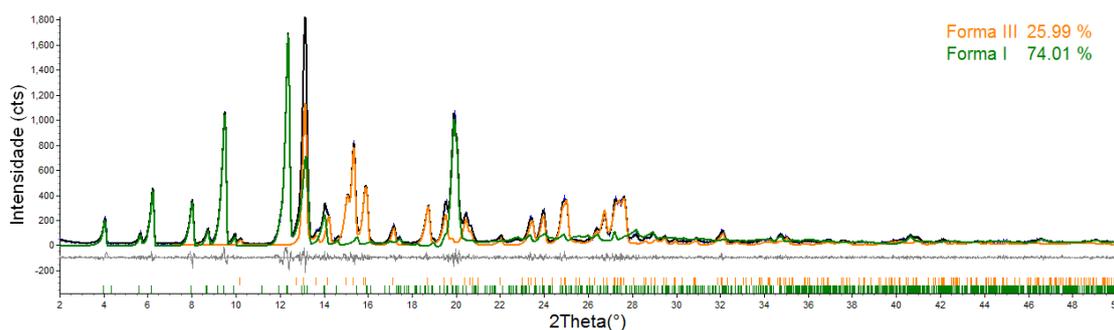


Figura 68. Gráfico de Rietveld da CBZ aquecida a 200 °C por 30 minutos, ajuste das formas III e I, com medidas de equipamento convencional, $\lambda_{Cu} = 1,5406 \text{ \AA}$ e fendas soller de 5°.

A alteração de transformação polimórfica, encontrada nas diversas temperaturas em que foram analisadas, pode ser explicada devido ao forno utilizado que é normalmente utilizado para calcinação de materiais cerâmicos que chega a 1200°C. Então na temperatura

utilizada nestes aquecimentos o forno possivelmente não apresentava estabilidade. E devido a isso na temperatura de 190°C não houve transformação completa da Forma III para a Forma I.

9.2.2.6 Aquecimento *in situ*.

Com uma câmera de aquecimento no LNLS (na linha D10B-XPB), foi possível, análises *in-situ* com a CBZ (Forma III), para identificar a temperatura de início de transformação de fase, com rampa de 10°C/min e plataformas de 18 minutos para se realizar 3 medidas nas temperaturas indicadas, foram medidas em dois intervalos em 2θ de 9,5° a 11,5° e outro de 14,6° a 16,7°. As figuras abaixo mostram o porta amostra (a) no início e no (b) final do aquecimento.

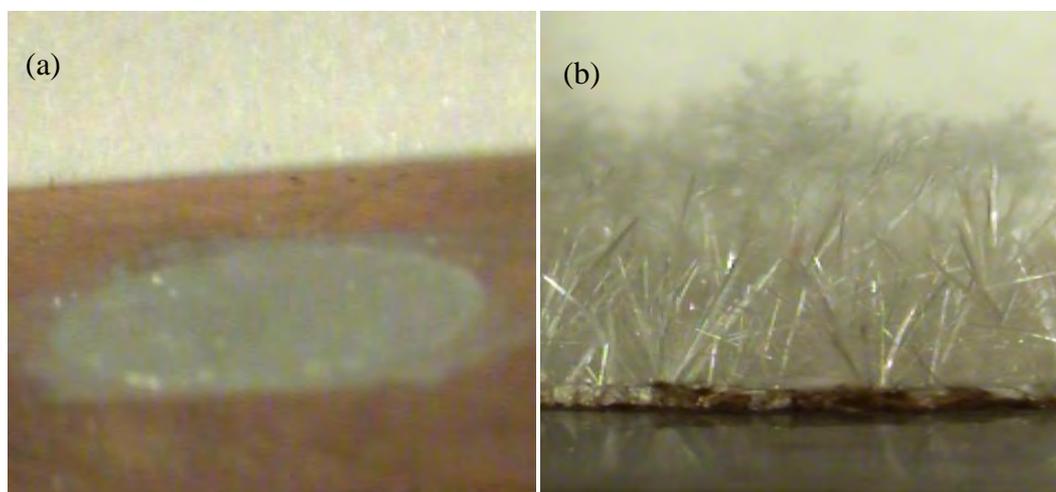


Figura 69. Fotografia do (a) porta amostra no início do aquecimento e (b) no final do aquecimento da CBZ.

O deslocamento dos picos nos gráficos (Figuras 71 e 72) é resultado tanto do aquecimento da amostra e conseqüente dilatação, quanto do deslocamento da amostra causado pela dilatação da mesma.

A Figura 70, apresenta o início do aquecimento e em (b) aparece às primeiras alterações do difratograma.

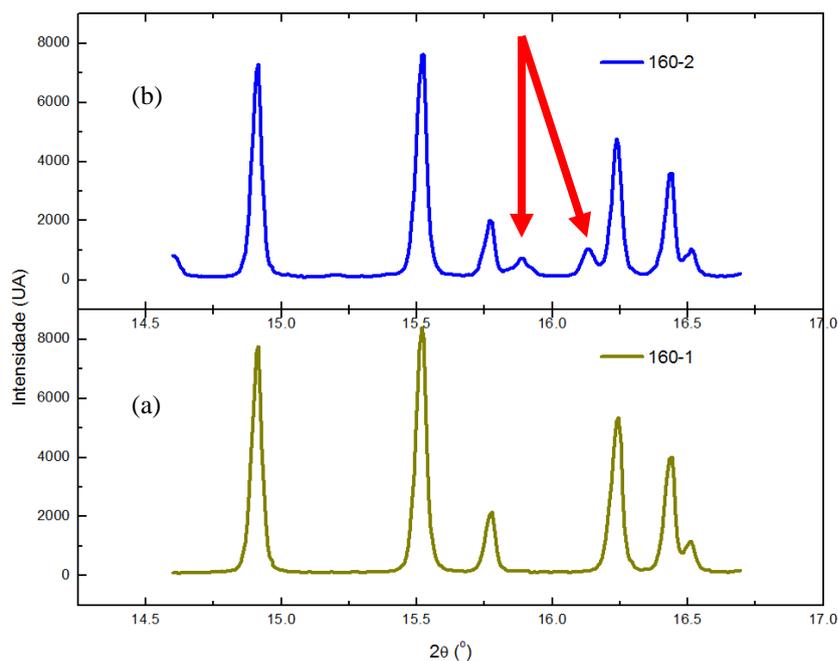


Figura 70. Difratoograma da CBZ a 160 graus. (a) Logo após atingir a temperatura e (b) 6 minutos após atingir a temperatura de 160°C, as setas indicam o inicio do surgimento dos picos da forma I.

Na Figura 71 estão todos os intervalos e medidas realizadas.

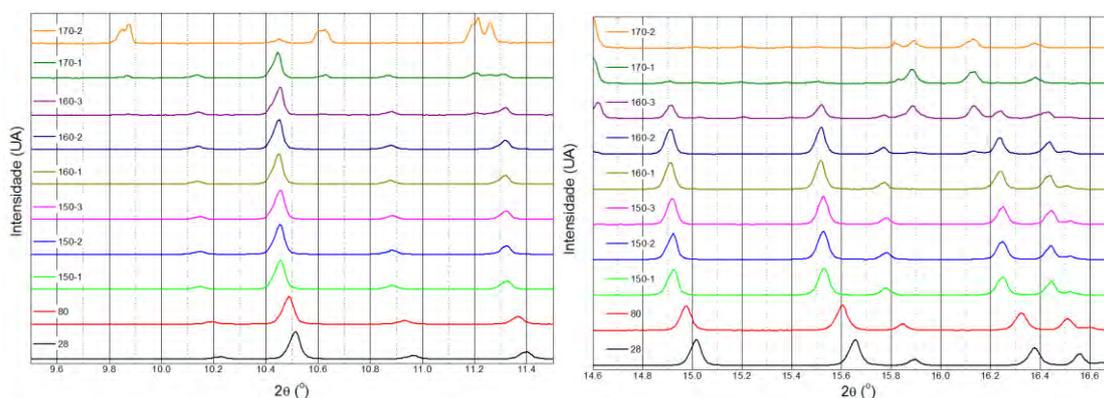


Figura 71. Difratoogramas da amostra de CBZ obtidos em temperaturas variando entre ambiente e 170°C.

Após verificar que a forma III inicia a transformação de fase a 160 $^\circ$ C, ela foi mantida fixa a essa temperatura, após ser aquecida com taxa de 10 $^\circ$ /min. Foram realizadas medidas a cada 5 minutos. Os resultados podem ser vistos nas Figuras 71-72. Observa-se que aos 5 minutos a transformação de fase já havia iniciado. Entretanto, após 405 minutos, ainda havia resquícios da forma III.

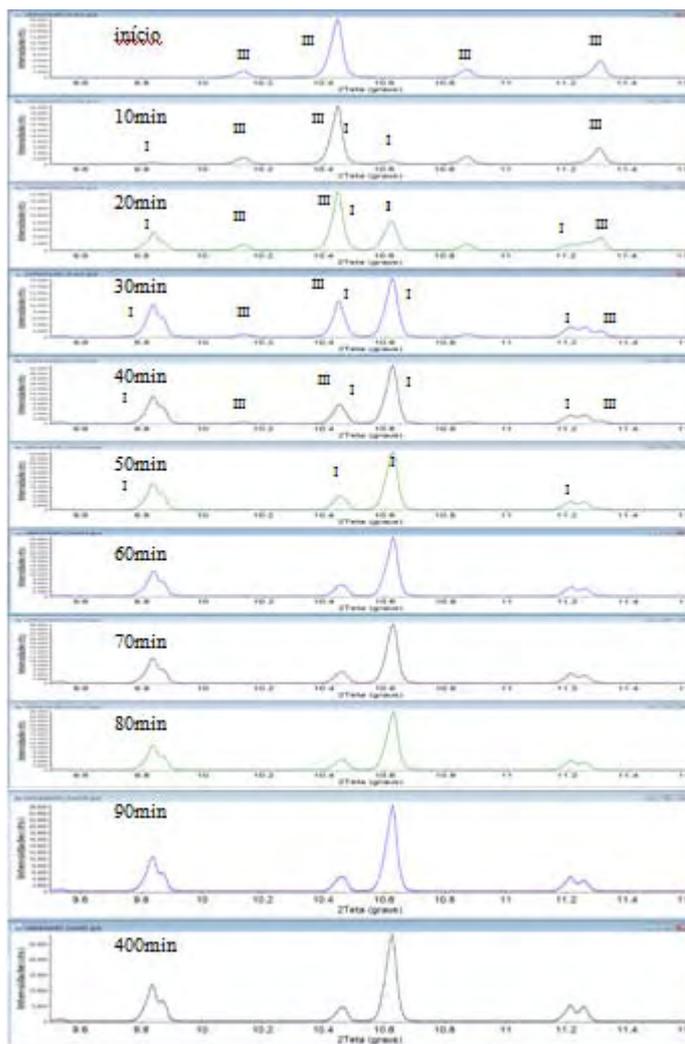


Figura 72. Difratomogramas *in-situ* da forma III da carbamazepina a 160°C, após os tempos indicados. Região entre 9,5° e 11,6° (2 θ).

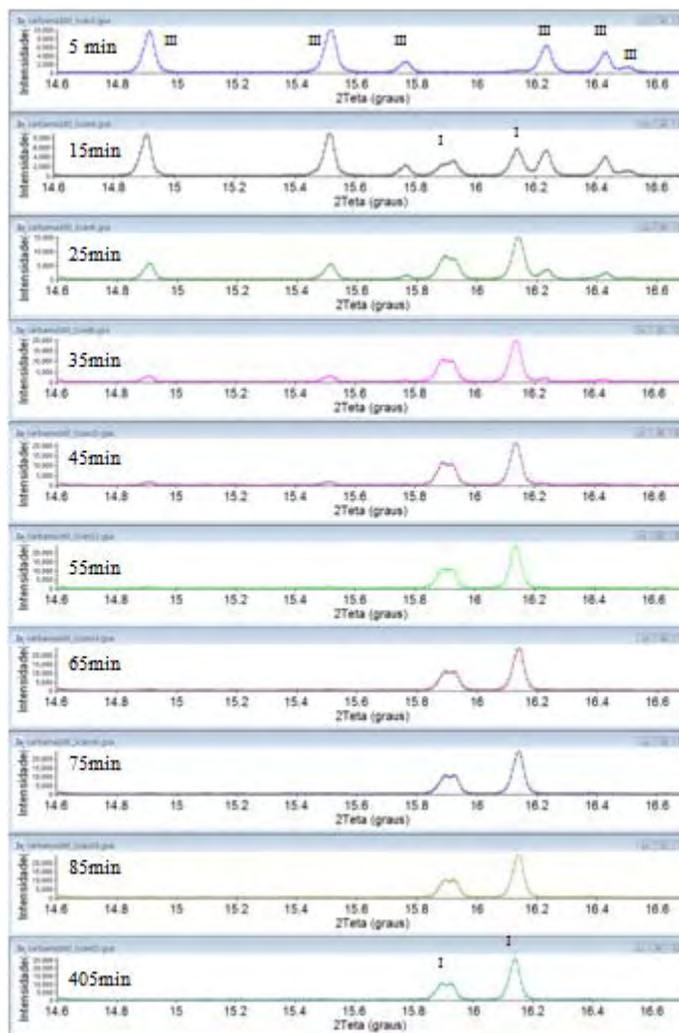


Figura 73. Difratomogramas in-situ da forma III da carbamazepina a 160°C, após os tempos indicados. Região entre 14,6° e 16,7° (2θ).

A forma III foi observada em todos os tratamentos térmicos que realizamos para a obtenção da forma I, o que nos leva a crer que ela sempre estará presente, em pequenas quantidades, quando a forma I for preparada aquecendo a forma III.

A análise de DRXP é adequada para análise da CBZ no PA e no comprimido mostrando que não houve alteração de polimorfos durante a produção do medicamento. Mas para análise da CBZ com tratamento térmico é necessário maior resolução para verificar pequenas quantidades de Forma III na Forma I.

9.3 Atorvastatina

A atorvastatina Forma I é mostrada na Figura 74, cuja comprovação foi realizada através da comparação com os dados fornecidos na patente US 5,969,156.

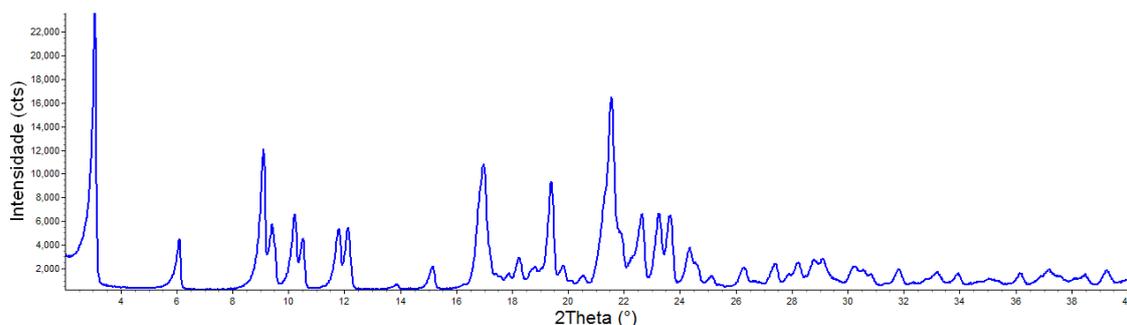


Figura 74. Difratograma da atorvastatina forma I, com medidas de equipamento convencional, $\lambda_{Cu} = 1,5406 \text{ \AA}$ e fendas sollar de 5° .

9.3.1 Indexação

Como a Atorvastatina Forma I não tem a estrutura cristalina determinada, optou-se pela indexação e então usar o padrão decomposto para sua identificação em misturas e comprimidos. Para a indexação foi necessário dados de melhor qualidade, utilizando medidas do LNLS com $\lambda = \Delta 2\theta$ de 2° a 47° . A Figura 75 é o difratograma da medida. Assim, com dados com menos sobreposição foi possível a indexação, como é mostrado a seguir.

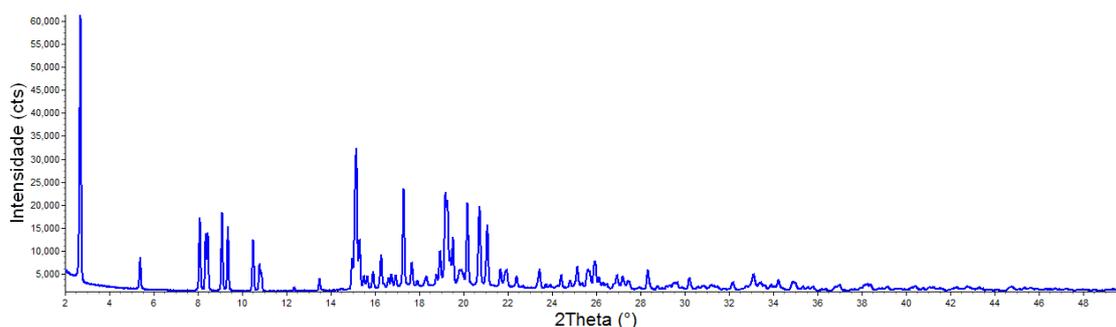


Figura 75. Difratograma da Forma I da atorvastatina com medidas do LNLS, $\lambda=1,24018$.

As etapas da indexação foram realizadas com o TOPAS⁹². Primeiramente foram identificados os picos de difração. Esses picos tiveram suas posições, perfil e intensidades ajustadas para se obter as posições com a melhor precisão possível. Para o ajuste do perfil foi usada a função de Thompson-Cox-Hastings modificada⁹⁶. Com as posições e intensidades dos picos obtidas desse ajuste, foi realizada a indexação usando o procedimento chamado por Coelho (2003)⁹⁷ de “método iterativo”. As 10 primeiras soluções são mostradas na Tabela 14.

Tabela 14. As 10 primeiras soluções encontradas pelo TOPAS para a atorvastatina Forma I.

sol.	Sg	Vol	Gof	Zero	a (Å)	b (Å)	c (Å)	α (°)	β (°)	γ (°)
1)	P $\bar{1}$	1753.179	42.20	0.0000	6.2742	9.5352	29.9018	78.792	87.714	90.405
2)	P $\bar{1}$	1753.212	41.98	0.0000	6.2744	9.5345	33.1072	62.376	91.949	89.604
3)	P $\bar{1}$	1753.147	41.97	0.0000	6.2739	9.5355	29.5667	97.235	87.564	90.402
4)	P $\bar{1}$	1753.112	41.72	0.0000	6.2740	9.5352	29.5665	82.764	87.561	89.593
5)	P $\bar{1}$	1753.179	41.69	0.0002	6.2742	9.5352	29.9018	78.792	87.714	90.405
6)	P $\bar{1}$	1753.147	41.59	0.0002	6.2739	9.5355	29.5667	97.235	87.564	90.402
7)	P $\bar{1}$	1753.112	41.48	0.0001	6.2740	9.5352	29.5665	82.764	87.561	89.593
8)	P $\bar{1}$	2604.113	38.51	0.0000	10.6581	10.5672	37.8678	62.797	128.802	127.913
9)	P $\bar{1}$	1523.567	37.73	0.0000	5.4525	9.8849	30.2637	76.849	99.124	105.305
10)	P $\bar{1}$	1523.369	37.70	0.0000	5.4517	9.8857	29.6178	95.814	94.244	105.287

Apesar das primeiras soluções apresentarem índices (Gof) mais baixos, elas são inadequadas, como pode se observar na Figura 76 que apresenta vários picos não ajustados.

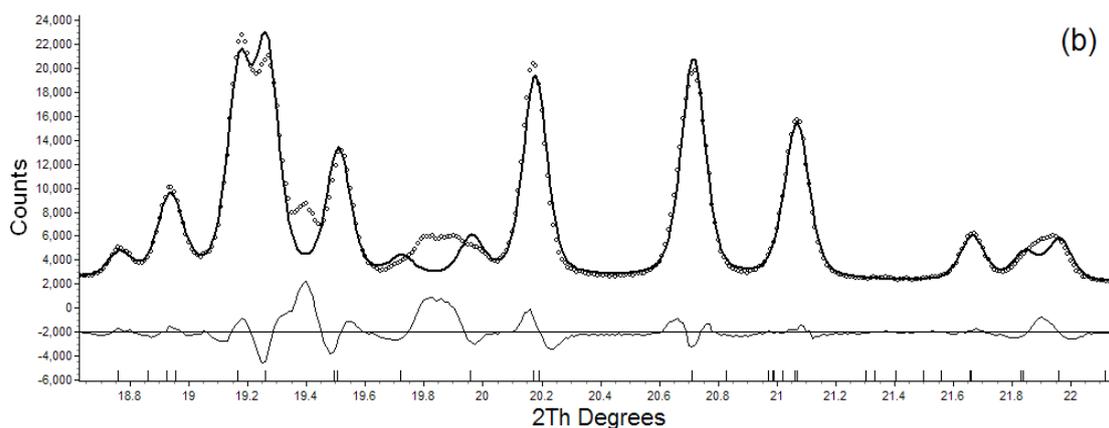


Figura 76. Gráfico de Pawley para a solução 1 da atorvastatina.

Foram realizados ajustes dessas dez primeiras soluções e os índices de qualidade estão listados na Tabela 15.

Tabela 15. Resultados dos Refinamentos com método de Pawley para as 10 primeiras soluções.

Sol #	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Rwp (%)	7.240	7.249	7.312	7.321	7.318	7.320	7.318	5.927	2.541	2.550
χ^2	4.361	4.340	4.377	4.383	4.381	4.383	4.381	3.768	1.511	1.516

As soluções 9 e 10 apresentaram o menor valor para os índices χ^2 e Rwp, e foram escolhidas como as melhores soluções para a atorvastatina forma I. As duas soluções

representam a mesma rede cristalina com diferentes parâmetros, como mostrado na Figura 77.

A matriz T transforma a cela unitária da solução 9 para a cela unitária da solução 10:

$$T = \begin{pmatrix} 1 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & 0 \\ 0 & -1 & 1 \end{pmatrix}$$

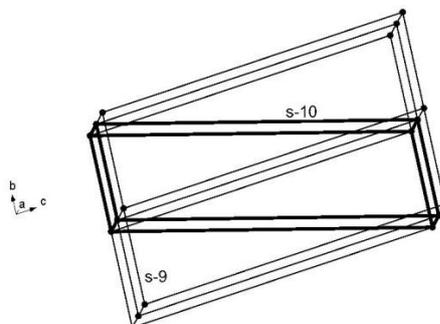


Figura 77. Cela unitária das soluções 9 e 10.

As Figuras 78 e 79 apresentam o ajuste pelo método de Pawley para as soluções 9 e 10. Vê-se que todos os picos foram ajustados. Os resultados dos refinamentos estão na Tabela 16. A lista de picos, com 2θ observado e calculado, distâncias interplanares observada e calculada, índices de Miller e Intensidade relativa (I100) estão no Apêndice 1.

Tabela 16. Resultados do refinamento da cela unitária das soluções 9 e 10.

Sol #	a (Å)	b (Å)	c (Å)	α (°)	β (°)	γ (°)
9	5,4551(3)	9,8886(5)	30,310(1)	76,797(3)	99,198(5)	105,331(5)
10	5,4549(3)	9,8890(5)	29,656(1)	95,739(3)	94,295(5)	105,344(5)

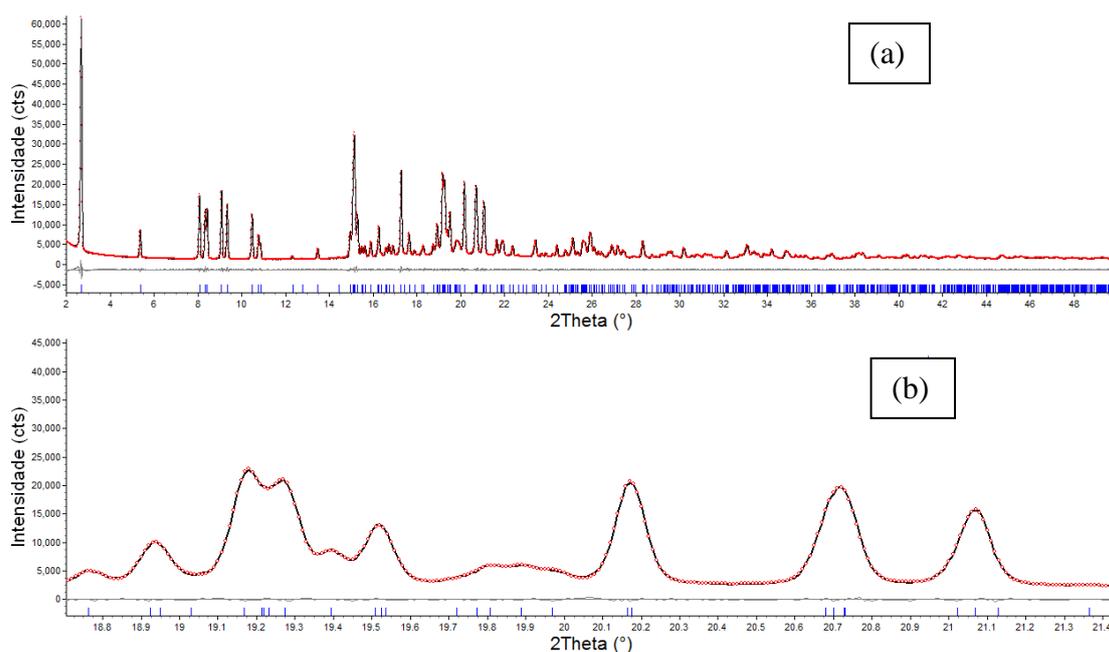


Figura 78. (a) Gráfico de Pawley para a solução 9 e (b) ampliação de 18,8° a 21,5° em 2θ .

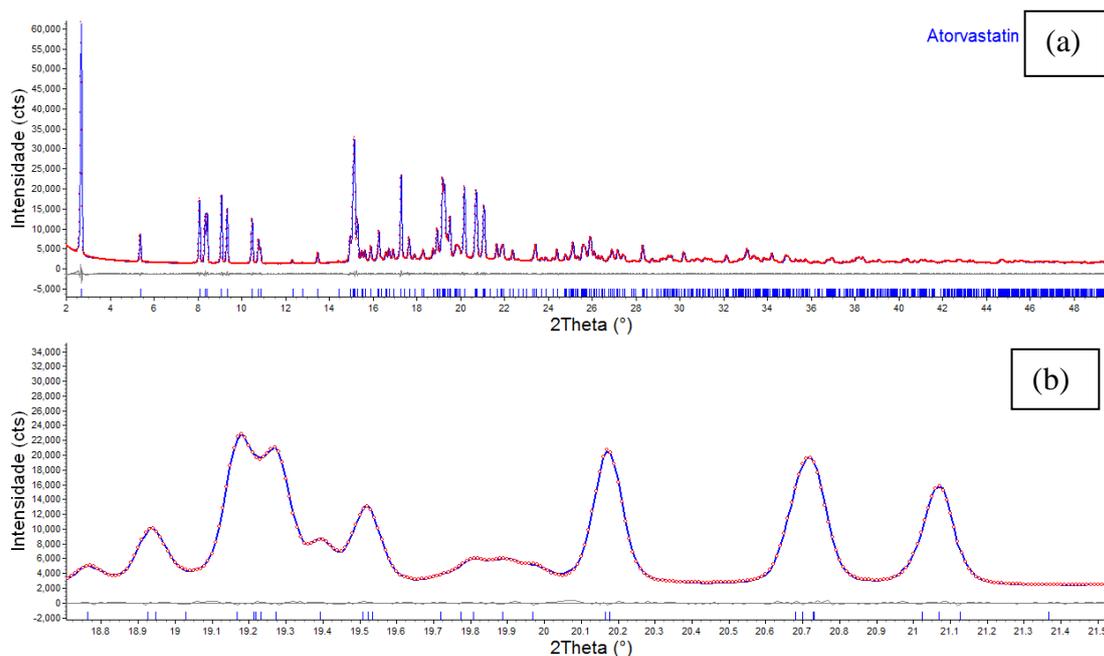


Figura 79. (a) Gráfico de Pawley para a solução 10 e (b) ampliação de 18,8° a 21,5° em 2θ .

9.3.2 Identificação de polimorfos sem estrutura cristalina.

Até esta parte no trabalho foi mostrado a quantificação dos polimorfos usando o método de Rietveld. Para o caso da atorvastatina o MR não pode ser aplicado. Para mostrar como a identificação pode ser aplicada mesmo quando a estrutura cristalina é apenas parcialmente conhecida (apenas indexada), foi preparada uma mistura com 50% em massa de cada forma (I e VIII). Essa amostra foi medida por DRXP no anodo rotatório.

Os difratogramas das Formas I e VIII, obtidos no LNLS, foram decompostos e usados para identificá-los na mistura preparada.

O uso do método de Le Bail ou do método de Pawley é indicado para a decomposição nestes casos, já que se dispõe do grupo espacial e dos parâmetros da cela unitária. Na Figura 80a está o refinamento pelo método de Pawley em que foi realizada a decomposição do padrão de difração da forma VIII obtido no LNLS. Os picos obtidos nessa decomposição, juntamente com os picos obtidos na decomposição da forma I, foram usados no ajuste do difratograma da mistura. O programa Topas Academic permite usar os padrões decompostos para sobrepor a um difratograma observado, sendo necessário apenas corrigir o fator de escala e, se necessário, a orientação preferencial, largura e anisotropia dos picos. Nota-se, na figura 80b, que o ajuste fica excelente, comprovando que o método pode ser usado satisfatoriamente em casos semelhantes. Ou seja, em casos onde se conhece a cela unitária, grupo espacial e se dispõe dos valores de intensidade, mesmo que sejam as intensidades relativas fornecidas no

banco ICDD-PDF. Os índices da qualidade no refinamento da mistura são $R_{wp} = 3,32$ e $\chi^2 = 1,98$. As diferenças nas posições dos picos entre o difratograma da forma VIII e na mistura é porque o comprimento de onda para o caso do LNLS foi $\lambda = 1,3771\text{\AA}$ e para o anodo rotatório foi $1,5406\text{\AA}$.

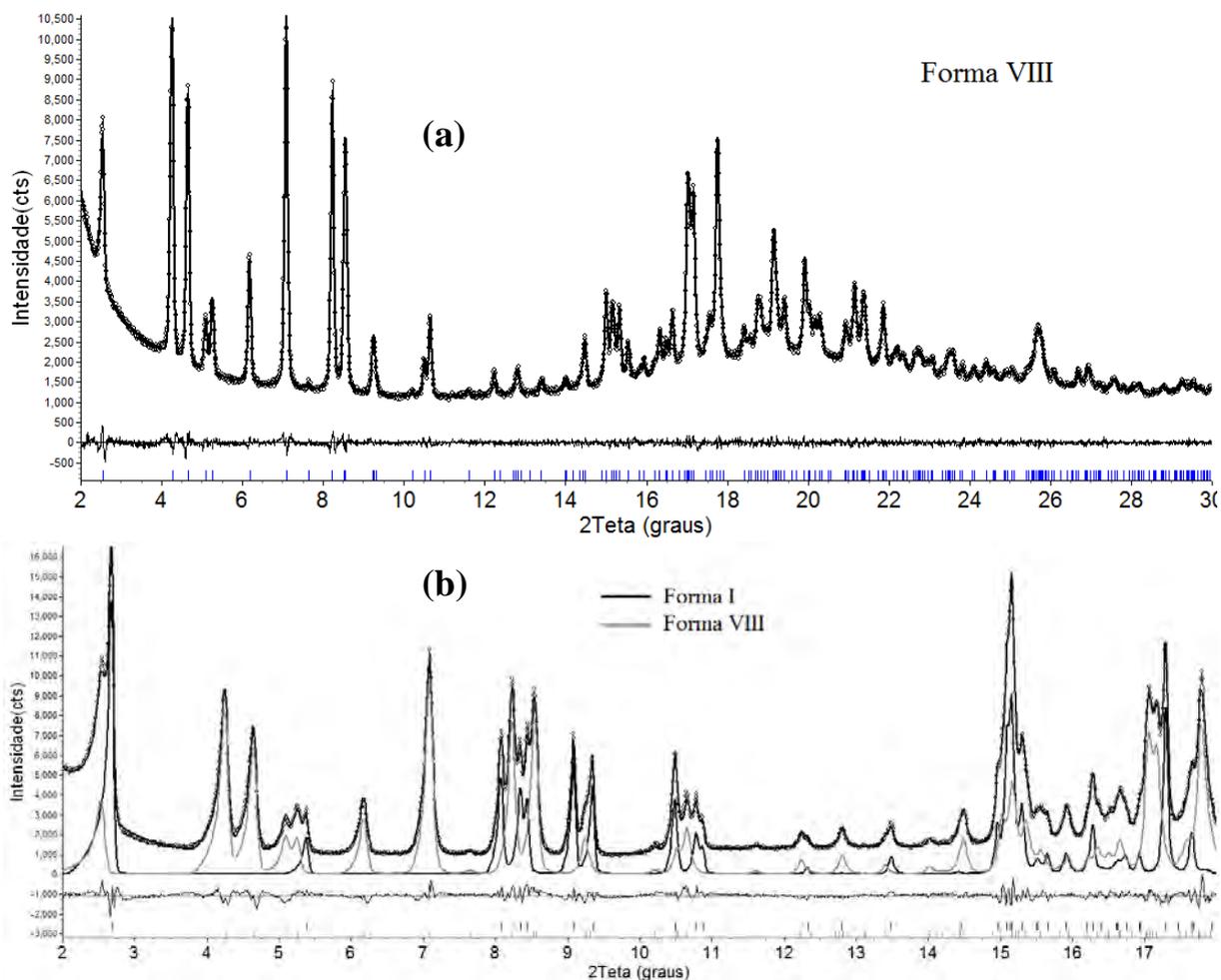


Figura 80. Gráfico de Pawley (a) da forma VIII da atorvastatina com dados de difração obtidos no LNLS $\lambda=1,24018\text{\AA}$ e (b) para mistura de atorvastatina (50% Forma I):(50% forma VIII).

9.4 Mebendazol

O mebendazol tem a estrutura de duas de suas formas cristalinas determinadas, Forma A e C.

Duas amostras de PA foram analisadas. Na amostra *IA* acreditava-se existir apenas a forma A, assim como na amostra *IC* acreditava-se existir apenas a forma C do mebendazol.

A Figura 81 apresenta o resultado obtido para a amostra *IA*, com dados de DRXP de cobre (Rigaku) onde foi encontrada uma pequena quantidade ($\sim 2\%$) de Forma C.

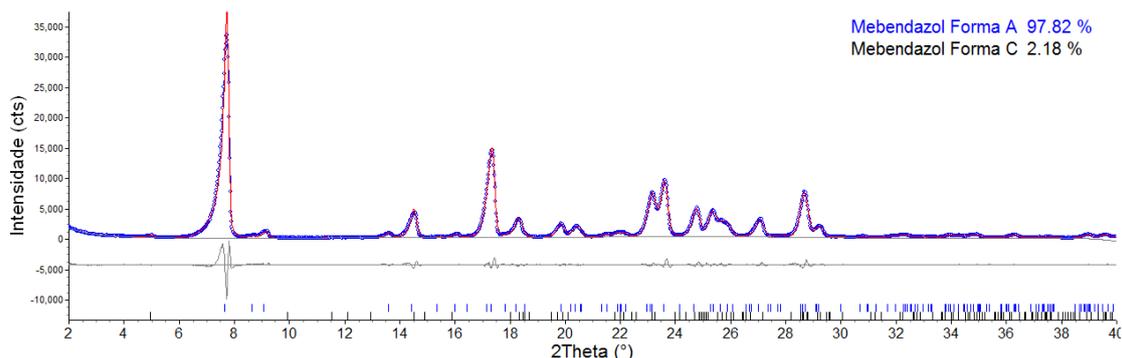


Figura 81. Gráfico de Rietveld para o Mebendazol (matéria-prima *1A*) considerando a forma A e C com medidas de equipamento convencional, $\lambda_{Cu} = 1,5406 \text{ \AA}$ e fendas soller de 5° .

A Figura 82 apresenta o resultado obtido para a amostra *1C*, com uma pequena quantidade ($\sim 4\%$) de Forma A.

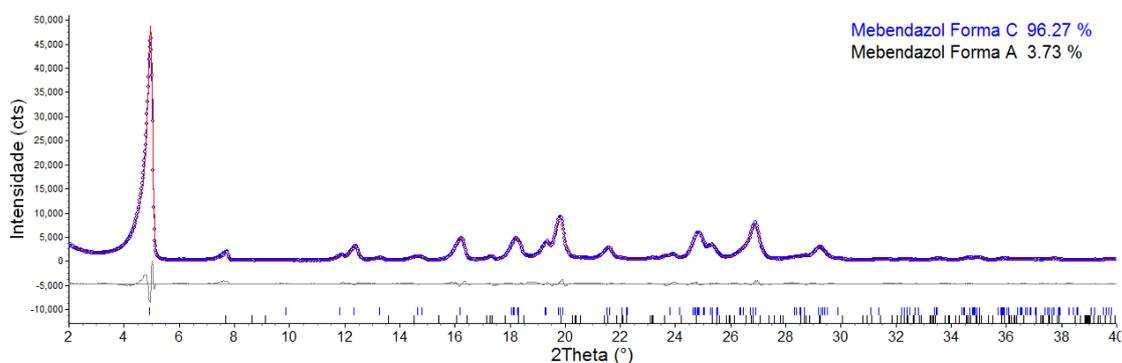


Figura 82. Gráfico de Rietveld para o Mebendazol (matéria-prima *1C*) considerando a forma A e C com medidas de equipamento convencional, $\lambda_{Cu} = 1,5406 \text{ \AA}$ e fendas soller de $2,5^\circ$.

Análises realizadas em comprimidos comercializados também foram realizadas e são mostradas a seguir. São duas amostras sendo um genérico da EMS comprimido de 100 mg e o comprimido de referência, Pantelmin® de 500 mg, produzido pela Janssen-Cilag.

Genérico EMS Lote 254332

A forma encontrada no medicamento da EMS infelizmente é a Forma A, polimorfo não desejado para o mebendazol⁹⁸. A Figura 83 apresenta o gráfico de Rietveld com os picos da Forma A e outros relacionados aos excipientes utilizados e cristalinos (talco e manitol).

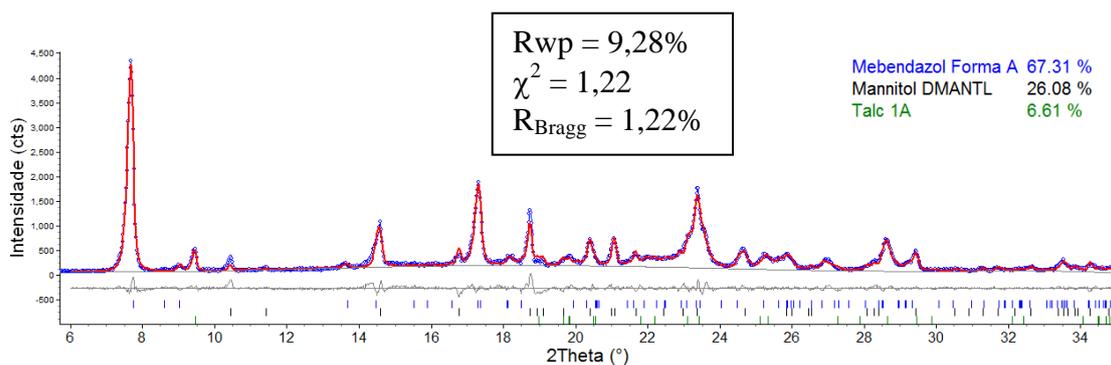


Figura 83. Gráfico de Rietveld para amostra de mebendazol (genérico EMS) com medidas de equipamento convencional, $\lambda_{Cu} = 1,5406 \text{ \AA}$ e fendas soller de $2,5^\circ$.

Pantelmin® Lote MFLO42

O gráfico de Rietveld (Figura 84) apresenta que uma pequena porcentagem da Forma A (~2%) está presente na amostra, Não há duvida da sua presença já que o pico em $7,6^\circ$ (em destaque no gráfico) é característico apenas da Forma A.

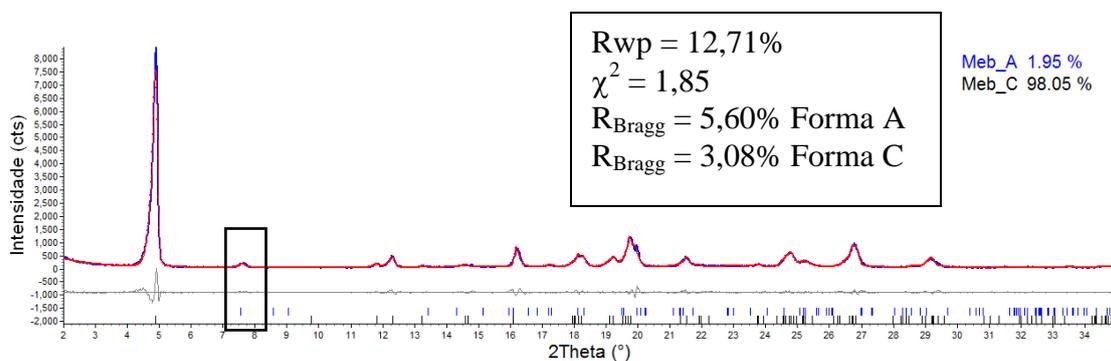


Figura 84. Gráfico de Rietveld para a amostra de referência Pantelmin® (Janssen-Cilag.) com medidas de equipamento convencional, $\lambda_{Cu} = 1,5406 \text{ \AA}$ e fendas soller de $2,5^\circ$.

9.5 Tibolona

A Tibolona apresenta dois polimorfos, o triclinico e o monoclinico. Análises para caracterização por DRXP foram realizadas para sua quantificação em uma amostra de PA adquirida de uma farmácia de manipulação, recristalizações e uma amostra de comprimido. As recristalizações, como já foi dito, fazem parte da tese de Araujo (2009)³⁰, o isômero (isotibolona), discutido na próxima seção, foi encontrado no andamento do trabalho e também não é desejada na matéria prima para manufatura do medicamento.

9.5.1 Manipulação

O princípio ativo tibolona, comprado na farmácia de manipulação, com dados do Rigaku é mostrado na Figura 85, que apresenta o gráfico de Rietveld onde foram considerados os polimorfos triclinico e monoclinico da tibolona.

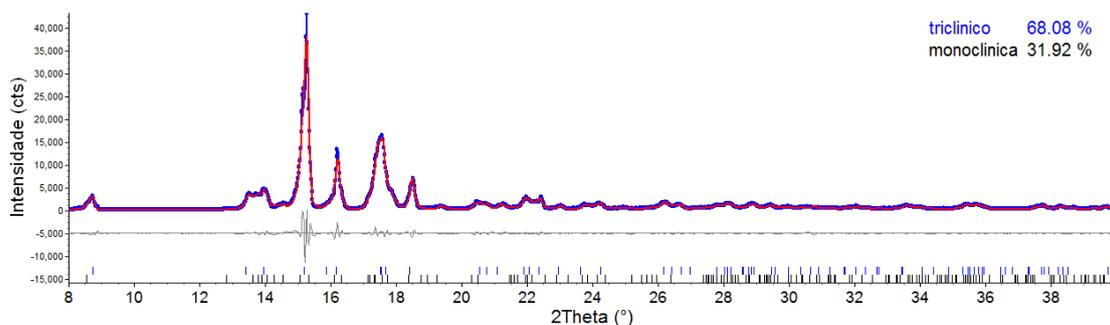


Figura 85. Gráfico de Rietveld de tibolona considerando os polimorfos triclinico e monoclinico, com medidas de equipamento convencional, $\lambda_{Cu} = 1,5406 \text{ \AA}$ e fendas soller de 5° .

Com estes dados e a alta sobreposição de picos a identificação de impurezas é dificultada, como por exemplo, se houvesse a isotibolona, Figura 86 (isomorfo da tibolona discutido na próxima seção). Não é possível a identificação dos picos referentes a cada estrutura cristalina devido à qualidade dos dados.

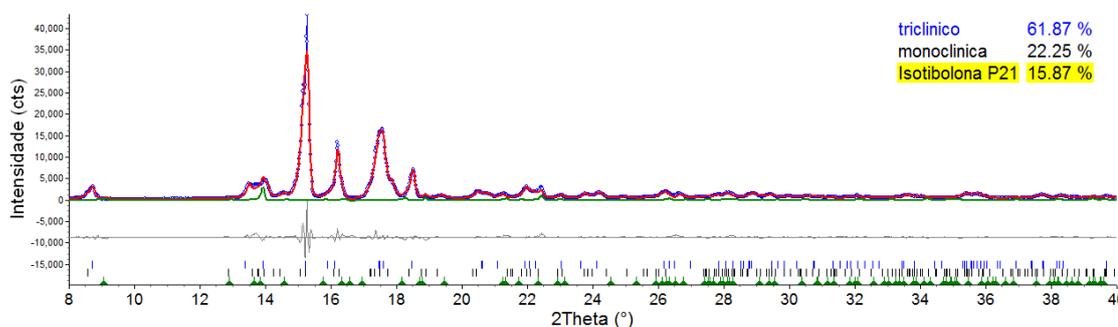


Figura 86. Gráfico de Rietveld de tibolona considerando os polimorfos triclinico e monoclinico e a contaminação isotibolona (realce), com medidas de equipamento convencional, $\lambda_{Cu} = 1,5406 \text{ \AA}$ e fendas soller de 5° .

A fim de obter melhores dados para a análise, utilizou-se o equipamento de alta resolução (Stoe), Figura 87. Observa-se que a picos estão melhores definidos. Pode-se, por exemplo, identificar picos isolados da forma monoclinica (120) em $14,46^\circ$ (2θ) e (1 -2 -1) $17,86^\circ$ (2θ) e da forma triclinica (1 1 -1) $20,77^\circ$ (2θ) e (10-2) $24,21^\circ$ (2θ) e não existe indicações da isotibolona. Os índices de qualidade do refinamento ficaram: $R_{wp} = 3,17\%$; $\chi^2 = 2,14$; $R_{Bragg} = 0,40\%$ (Triclinica) e $R_{Bragg} = 0,67\%$ (Monoclinica).

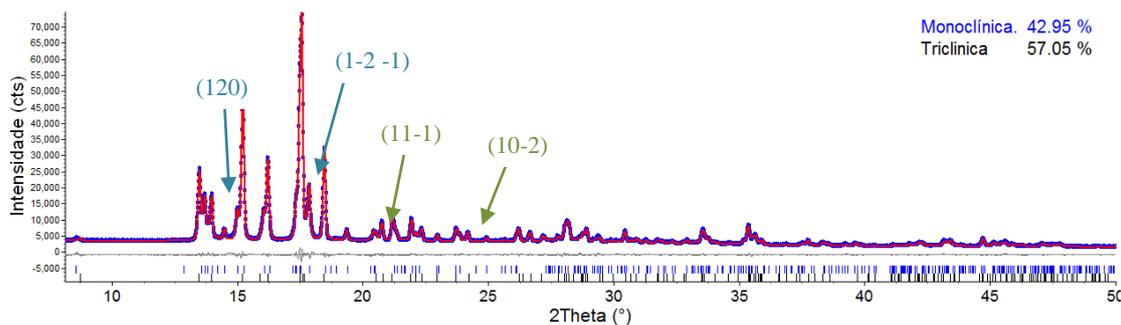


Figura 87. Gráfico de Rietveld da tibolona adquirida em farmácia de manipulação com dados do Stoe ($\lambda_{Cu} = 1,5406 \text{ \AA}$) considerando os polimorfos triclínico e monoclínico. Em azul reflexões da forma monoclínica e em verde reflexões da forma triclínica isoladas de cada forma.

Esta amostra também foi medida no LNLS, a Figura 88 apresenta o gráfico de Rietveld que resultou na quantificação de $\sim 35\%$ do polimorfo Monoclínico e de $\sim 65\%$ do Triclínico, os índices ficaram $R_{wp} = 12.82\%$; $\chi^2 = 1.94$; $R_{Bragg} = 1,41\%$ (Triclínica) e $R_{Bragg} = 4,20\%$ (Monoclínica).

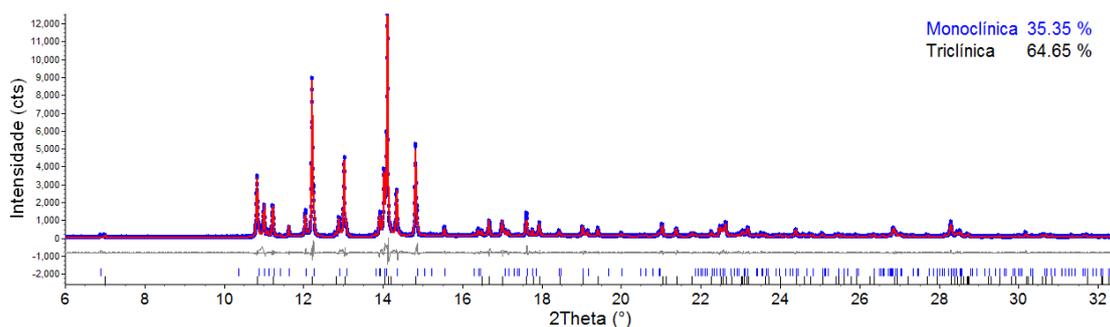


Figura 88. Gráfico de Rietveld da tibolona adquirida em farmácia de manipulação com dados do LNLS ($\lambda = 1,24018 \text{ \AA}$) considerando os polimorfos triclínico e monoclínico.

Nesses casos, mesmo o método de Rietveld não é adequado para identificar/quantificar as fases, se dados de um equipamento convencional (fendas Soller de $2,5^\circ$ de divergência, fenda de divergência de $1/4^\circ$ e recepção de 0,3mm) são usados. Vê-se que um ajuste muito bom se obtém com dados convencionais, supondo a isotibolona ou não.

9.5.2 Recristalizações

n-hexano

A isotibolona também foi encontrada em uma amostra de tibolona recristalizada de n-hexano e foi identificado o polimorfo Triclínico (P1).

A amostra apenas recristalizada apresentou cristaltos muito grandes, conforme é indicado pelos dados de DRX obtidos em difratômetro convencional (Bruker) (Figura 89). Nota-se, na ampliação, que os picos em 14° , 15° e $17,5^\circ$ (2θ) não apresentam um perfil bem definido e, como foi mostrado na seção 4.7, o perfil desses picos são típicos de materiais com grandes cristaltos e que, por isso, não apresentam a aleatoriedade na distribuição de todos os planos cristalinos. Isso faz com que surjam reflexões satélites devido ao posicionamento de cristaltos em posições distantes do centro do goniômetro.

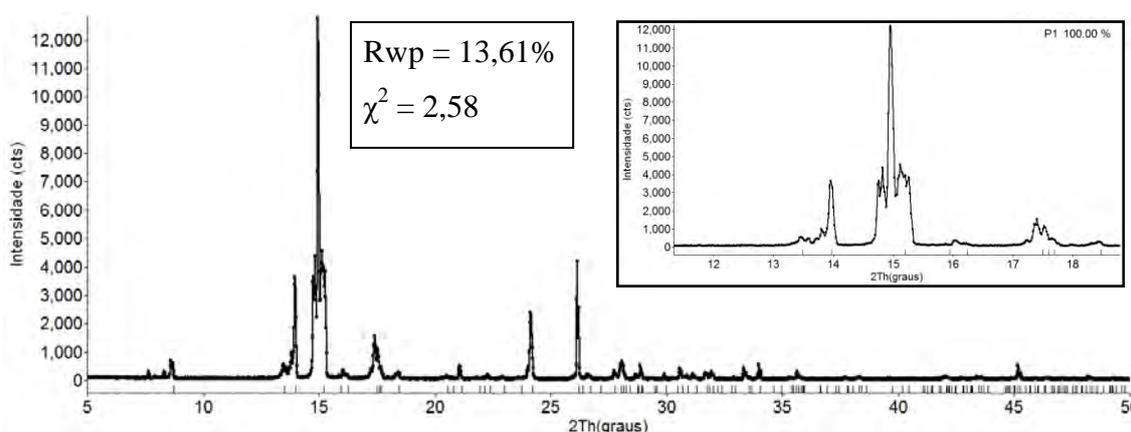


Figura 89. Difratoograma de raios X do pó da amostra de tibolona triclinica, recristalizada de n-hexano. Na ampliação nota-se o efeito de granularidade nos picos em 14° , 15° e $17,5^\circ$ (2θ). Medidas de equipamento convencional, $\lambda_{Cu} = 1,5406 \text{ \AA}$

Entretanto, os dados de difração obtidos em capilar de 0,7mm de diâmetro interno mostram um difratograma sem problemas de granularidade. Essa diferença é justificada pela amostragem. Enquanto que com um equipamento convencional a análise representa toda a amostra, no caso do LNLS, devido à dificuldade de inserir, no capilar, as maiores partículas de pó, as análises são representativas apenas de uma parcela com menores cristaltos. Assim, o que se observa com dados do LNLS (capilar) é um difratograma sem os problemas de granularidade. Na Figura 90, está o gráfico de Rietveld realizado com esses dados de alta resolução. Os índices do refinamento são: $R_{wp} = 8,69\%$, $\chi^2 = 1,46$ e $R_{Bragg} = 1,74\%$.

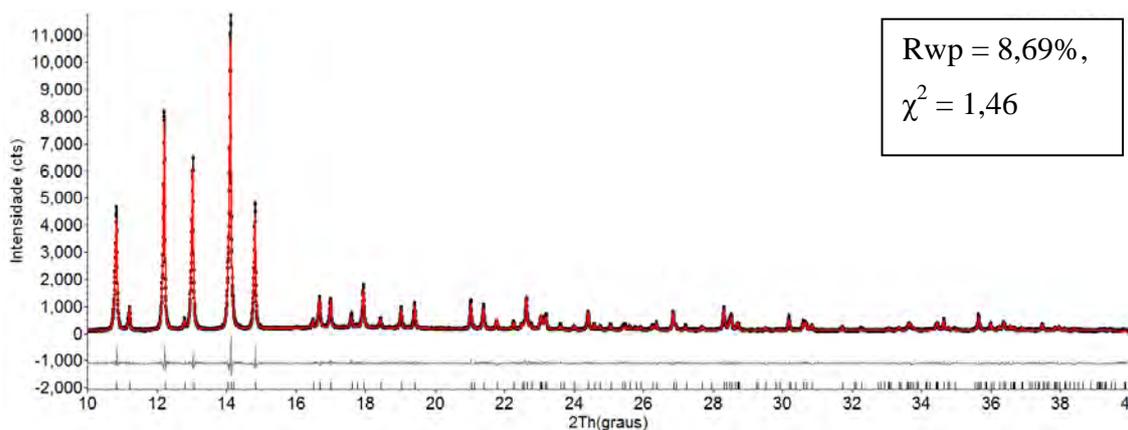


Figura 90. Gráfico de Rietveld para tibolona recristalizada de n-hexano, obtida com capilar de 0,7mm de diâmetro interno, no LNLS. $\lambda = 1.240728 \text{ \AA}$.

Dessa forma, como um dos objetivos do trabalho é definir os procedimentos para medidas de difração de raios X usando equipamentos convencionais, e a alta resolução da luz Síncrotron estaria sendo usada como padrão, conclui-se que medidas com capilar só podem ser usadas quando o pó não apresenta esses efeitos indesejados. Assim, medidas no LNLS, quando esse efeito de granularidade está presente na amostra, devem ser realizadas com amostra plana, na geometria Bragg-Brentano.

De qualquer forma, matérias-primas com problemas de granularidade, são indesejadas na indústria farmacêutica. Assim, medidas em equipamentos convencionais podem ser usadas para uma análise qualitativa do pó, para verificar se a necessidade de um tratamento para diminuir o tamanho das partículas e homogeneizar o pó.

Para a homogeneização desta amostra recristalizada de n-hexano, foi realizada a micronização³⁰. Após esse tratamento, foram realizadas novas medidas, tanto com difratômetro convencional (amostra plana) quanto no LNLS (capilar). Neste caso, como na amostra não micronizada, o polimorfo identificado da tibolona foi o triclinico (P1).

Os gráficos de Rietveld estão nas Figuras 91 e 92 respectivamente, considerando apenas a forma triclinica da tibolona. Os índices de qualidade do refinamento foram $R_{wp}=13,61\%$; $\chi^2 = 2,58$; $R_{Bragg} = 2,39\%$ para os dados de DRX de equipamento convencional e $R_{wp}=12,34\%$; $\chi^2 = 1,67$; $R_{Bragg} = 1,55\%$ para os dados do LNLS.

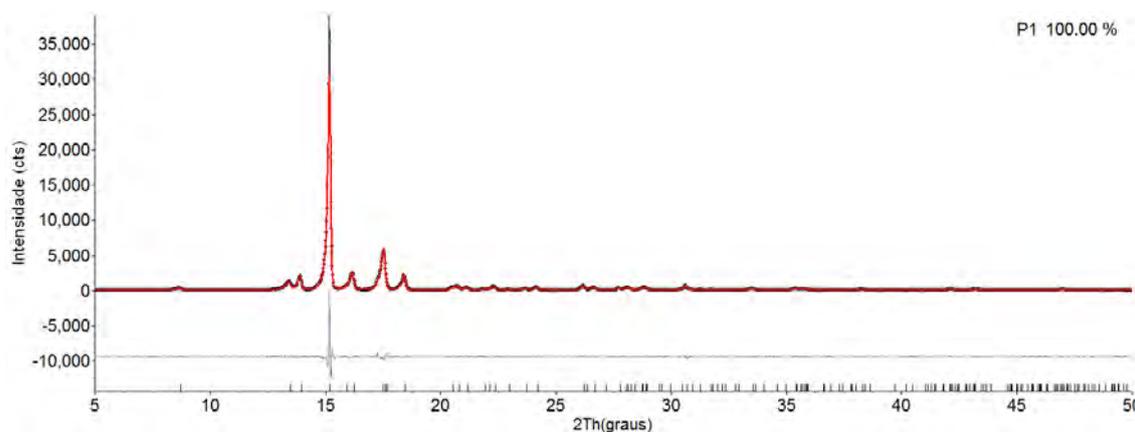


Figura 91. Gráfico de Rietveld para a amostra recristalizada de n-hexano e micronizada, com medidas de equipamento convencional, $\lambda_{Cu} = 1,5406 \text{ \AA}$

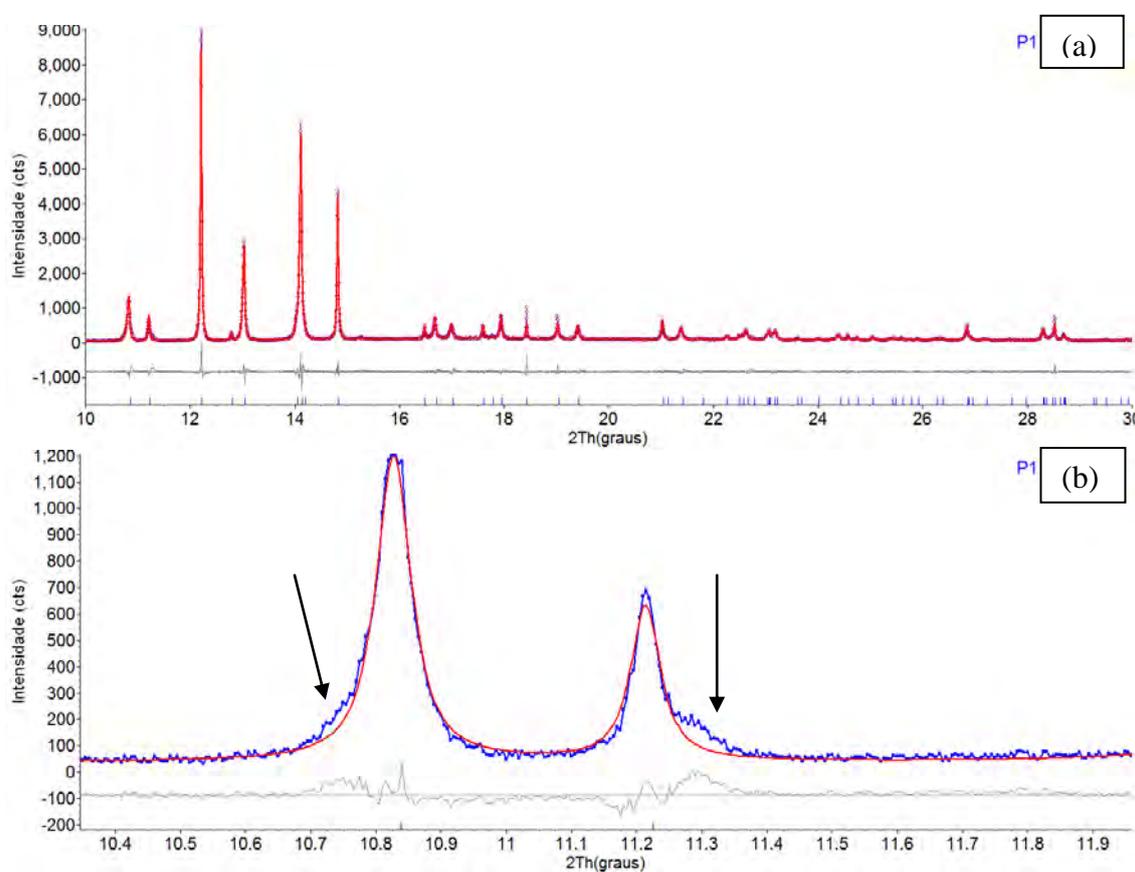


Figura 92. (a) Gráfico de Rietveld para a amostra recristalizada de n-hexano e micronizada, com os dados do LNLS, $\lambda = 1,24018 \text{ \AA}$ (b) Ampliação entre $10,4^\circ$ e $11,85^\circ$ em 2θ da amostra de tibolona recristalizada em hexano e micronizada, considerando apenas a estrutura da tibolona.

Com os dados do LNLS notou-se uma pequena assimetria à esquerda do pico (010) ($\sim 10,82^\circ$) e à direita do pico (100) ($\sim 11,21^\circ$) (indicados com setas na b), que indicavam a presença de mais algum composto cristalino na amostra.

Para a identificação foram realizados refinamentos considerando também a forma monoclinica da tibolona.

A Figura 93 (a) apresenta o gráfico de Rietveld considerando as duas formas e com os dados do Bruker. Foi encontrado 0,21% da forma monoclinica, o que é uma quantidade fisicamente impossível de determinar tendo em vista a alta sobreposição de picos. Na Figura 93 (b) está uma ampliação da linha de base mostrando o padrão da forma monoclinica. Note que o padrão calculado apresenta picos de tão baixa intensidade que ele é ajustado na flutuação da intensidade dos pontos observados (ruído do difratograma). Assim, isso significa que a forma monoclinica não é observada. Na Figura 93 (c) nota-se que os picos em torno de $8,5^\circ$ e $13,5^\circ$ (2θ) apresentam o efeito devido à granularidade da amostra. Assim, o que pareciam ser picos da fase monoclinica (indicado com setas na figura) são, na verdade, picos satélites causados por cristalitas longe do centro do goniômetro. Em $12,73^\circ$ (2θ) também aparece outro pico satélite causado pela granularidade da amostra.

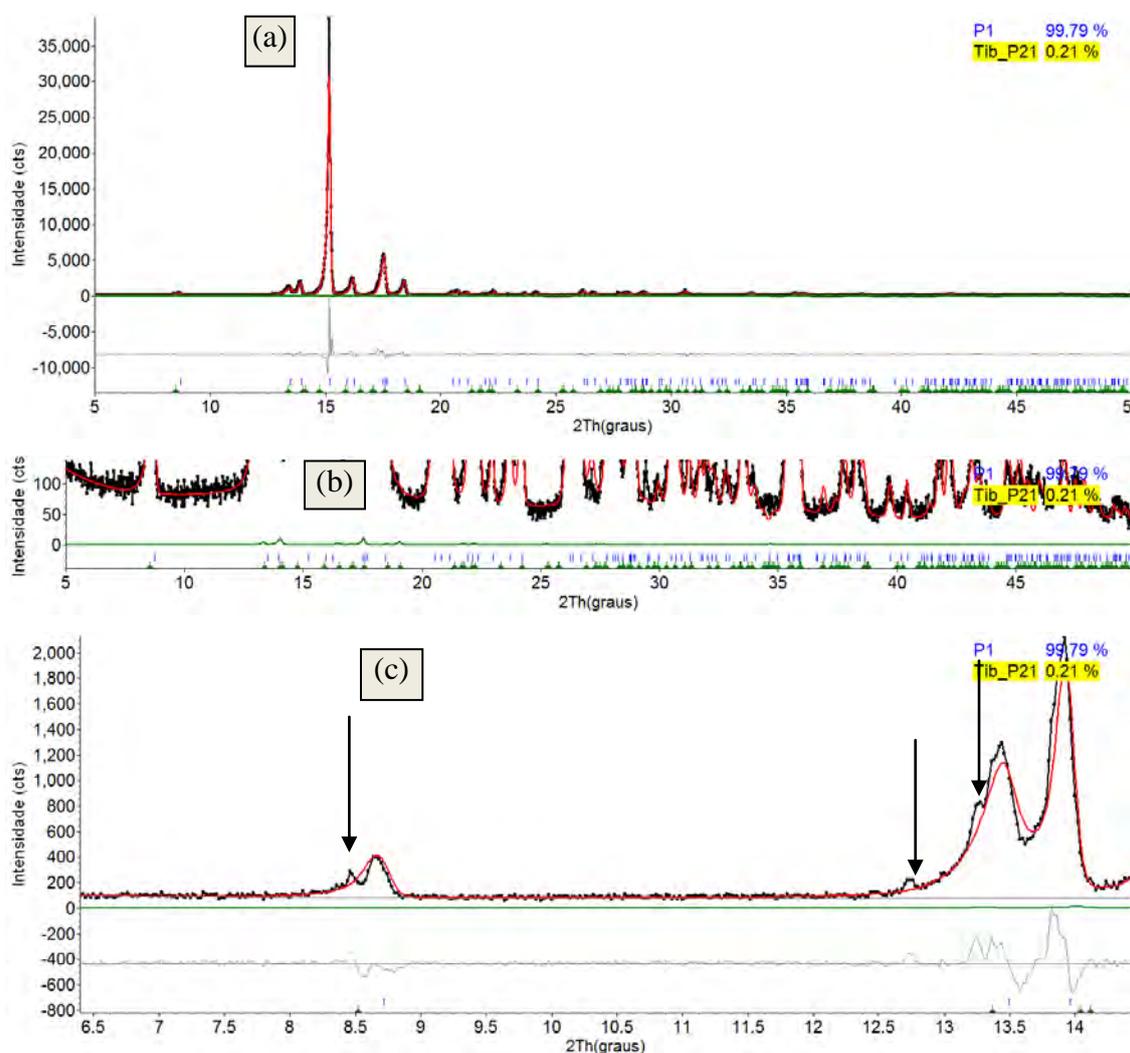


Figura 93. (a) Gráfico de Rietveld supondo as duas formas da tibolona. (b) ampliação da base do difratograma, mostrando, em verde, o padrão calculado da forma monoclinica (realce) (c) Ampliação entre $6,5$ e 14° (2θ) mostrando que o efeito da granularidade da amostra ainda está presente. Medidas de equipamento convencional, $\lambda_{Cu} = 1,5406 \text{ \AA}$

O gráfico de Rietveld com os dados do LNLS está na Figura 94. Não foi observada a forma monoclinica.

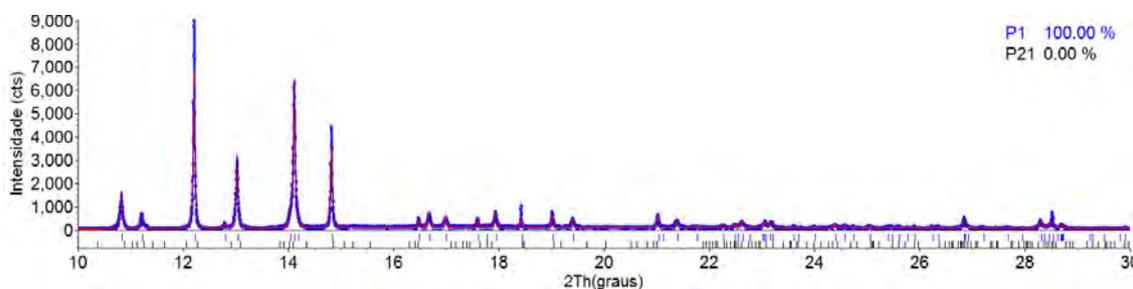


Figura 94. Gráfico de Rietveld considerando as duas formas da tibolona, para os dados do LNLS $\lambda = 1,24018\text{\AA}$.

Por fim, a isotibolona foi incluída nos refinamentos, junto com a forma triclinica. Foi determinado 93,9(5)% da tibolona triclinica e 6,1(5)% de isotibolona nessa amostra. Os índices de qualidade do refinamento foram $R_{wp}=11,43\%$; $\chi^2 = 1,55$; $R_{Bragg}(\text{Tibolona}) = 1,18\%$ $R_{Bragg}(\text{Isotibolona}) = 2,19\%$ (Figura 95).

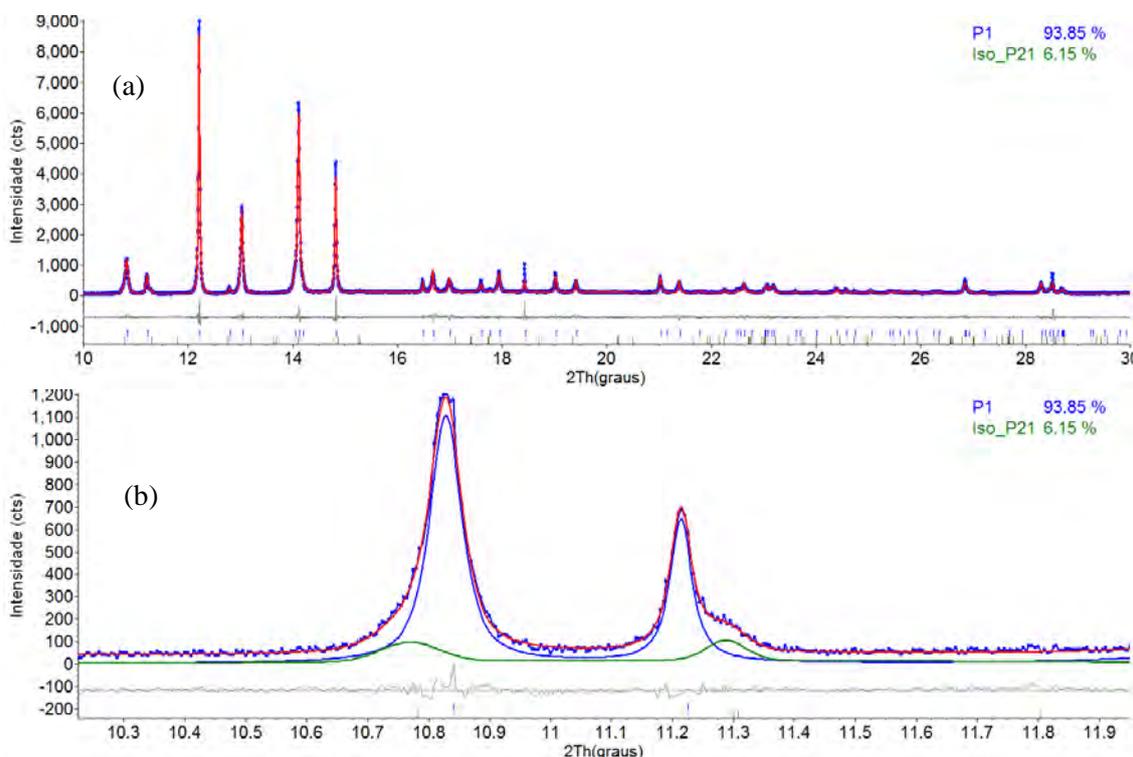


Figura 95. (a) Gráfico de Rietveld considerando a isotibolona e a forma triclinica da tibolona. (b) Ampliação mostrando o ajuste dos picos da isotibolona em torno dos picos da tibolona. Medidas do LNLS $\lambda = 1,24018\text{\AA}$.

Assim, com a estrutura cristalina determinada foi possível verificar que a micronização causou a formação da isotibolona em uma amostra da forma triclinica.

Recristalização de Acetona

A Figura 96(a) apresenta o refinamento pelo método de Rietveld, para a amostra recristalizada em acetona, onde foi considerada como sendo o polimorfo monoclinico da Tibolona, pois como apresenta a ampliação (Figura 96(b)) a forma triclinica (4(1)%) é altamente sobreposta a forma monoclinica (96(1)%). Foram obtidos os parâmetros de cela unitária: $a = 6,5333(8)$; $b = 41,220(4)$; $c = 6,6714(7)$ e $\beta = 101,540(5)$ e os índices de qualidade do refinamento: $R_{wp} = 6,81$ $\chi^2 = 7,83$ e $R_{Bragg} = 2,43$ (monoclinica); $R_{Bragg} = 2,71$ (triclinica). O tamanho médio de cristalito para fase Monoclinica ficou 442(42) nm e para a fase Triclinica 147(38) nm.

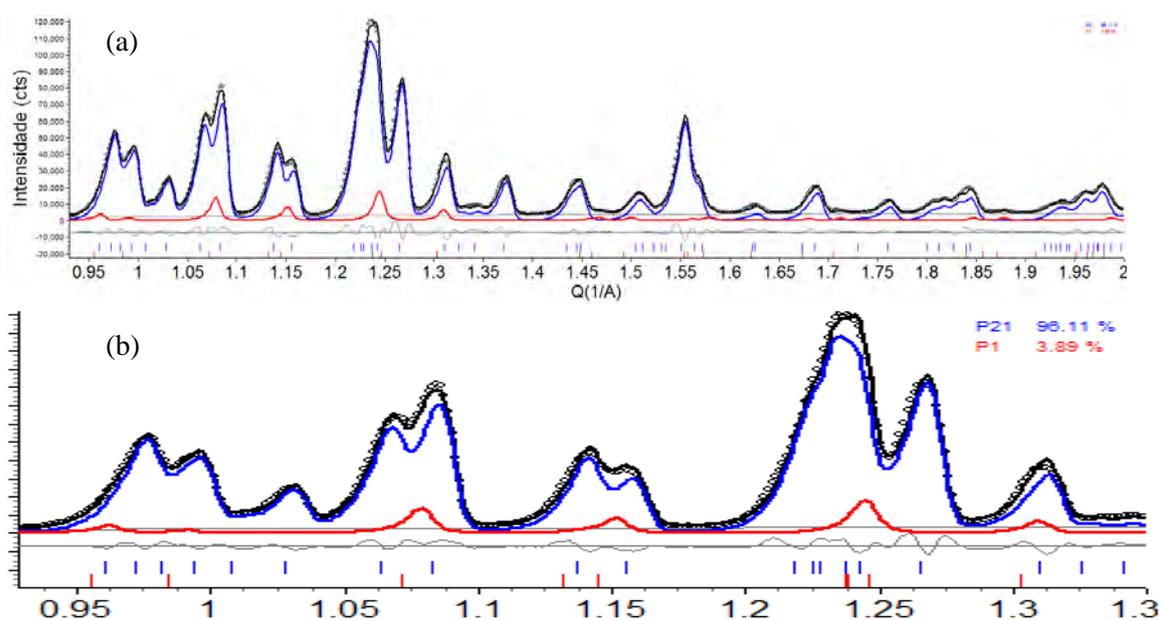


Figura 96. (a) Gráfico de Rietveld para tibolona recristalizada em acetona, considerando as formas monoclinica e triclinica. Medidas de equipamento convencional, $\lambda_{Cu} = 1,5406 \text{ \AA}$

A Figura 97 apresenta a Tibolona recristalizada de acetona com dados do LNLS, ao contrário do que acontece com a medida convencional, com esta pode-se observar claramente (Figura 97 (b)) picos referentes as formas monoclinica e triclinica da Tibolona. O refinamento de Rietveld resultou em: $R_{wp} = 11,61$; $\chi^2 = 1,26$ $R_{Bragg} = 2,70$ (Forma monoclinica = 93,5(1,2)%) $R_{Bragg} = 2,57$ (Forma triclinica= 6,5 (1,2)%).

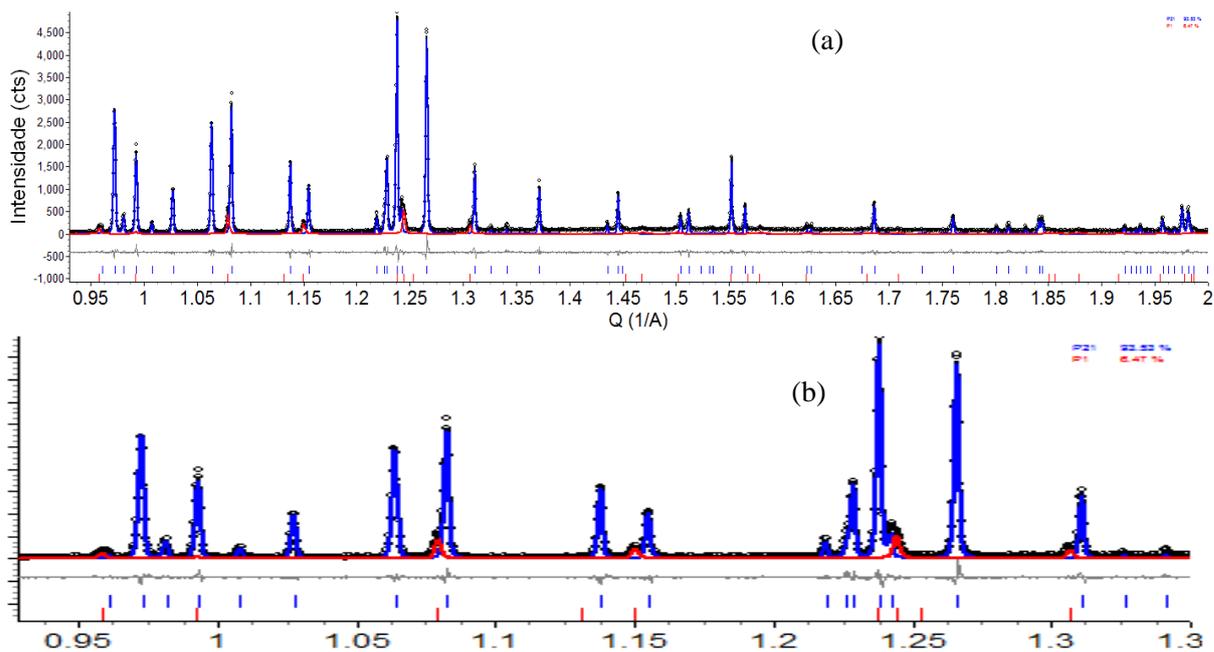
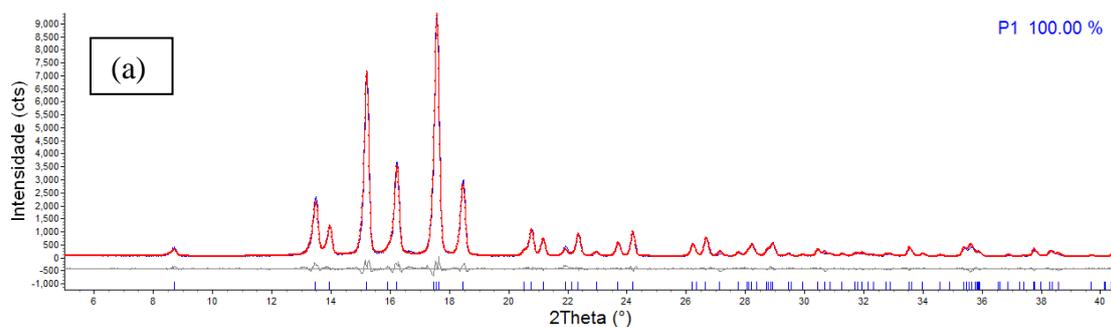


Figura 97. (a) Gráfico de Roetveld para tibolona recristalizada em acetona, considerando as formas monoclinica e triclínica. Medidas do LNLS $\lambda = 1,24018\text{\AA}$

Recristalização de Tolueno

A Tibolona também foi recristalizada em tolueno, a princípio considerou-se apenas o polimorfo triclinico como apresenta a Figura 98 (a) que levou aos índices de qualidade de $R_{wp} = 11,28$; $\chi^2 = 1,84$ e $R_{Bragg} = 2,96$.

Na ampliação (Figura 98(b)), nota-se que alguns picos têm alargamentos assimétricos não bem ajustados. Procurou-se verificar, então se seriam devido a pequena porcentagens do polimorfo monoclinico. Entretanto, nestas posições não existem reflexões do polimorfo monoclinico.



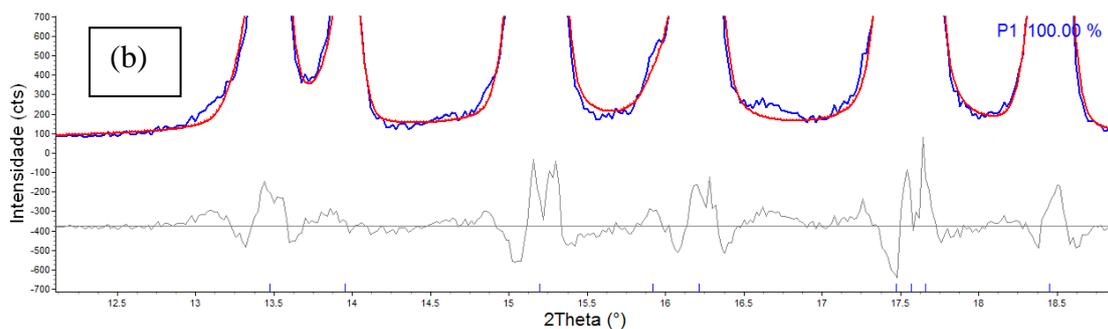


Figura 98. (a) Gráfico de Roetveld para tibolona recristalizada em tolueno, considerando a forma triclínica. (b) Ampliação. Medidas do LNLS $\lambda= 1,24018\text{\AA}$

A outra possibilidade seria a existência de pequena porcentagem de isotibolona. O refinamento pelo método de Rietveld confirma isso, como visto na Figura 99 (a) e na sua ampliação em (b), os índices de qualidade do refinamento foram $R_{wp} = 10,85$; $\chi^2 = 1,77$; R_{Bragg} (Triclínico) = 2,87% e R_{Bragg} (isotibolona) = 4,47%.

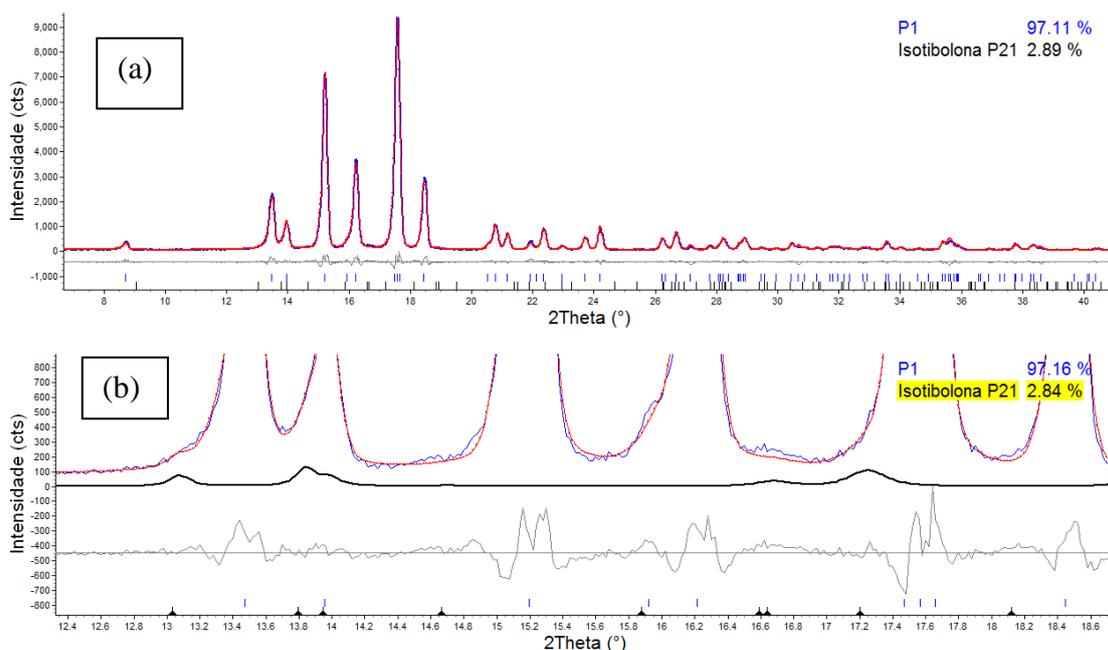


Figura 99. (a) Gráfico de Roetveld para tibolona recristalizada em tolueno, considerando a forma triclínica e a isotibolona. (b) Ampliação. Medidas do LNLS $\lambda= 1,24018\text{\AA}$

9.5.3 Medicamento de Referência

Análises da Tibolona não são triviais, como visto anteriormente os dois polimorfos tem uma alta sobreposição de picos necessitam de dados de alta resolução para a correta caracterização.

A análise do comprimido é ainda mais complicada, pois a tibolona está em pequena quantidade em consideração aos excipientes, que são amorfos e cristalinos. A Figura 100 apresenta o difratograma do medicamento de referência livial®, do laboratório Pfizer, com dados do LNLS.

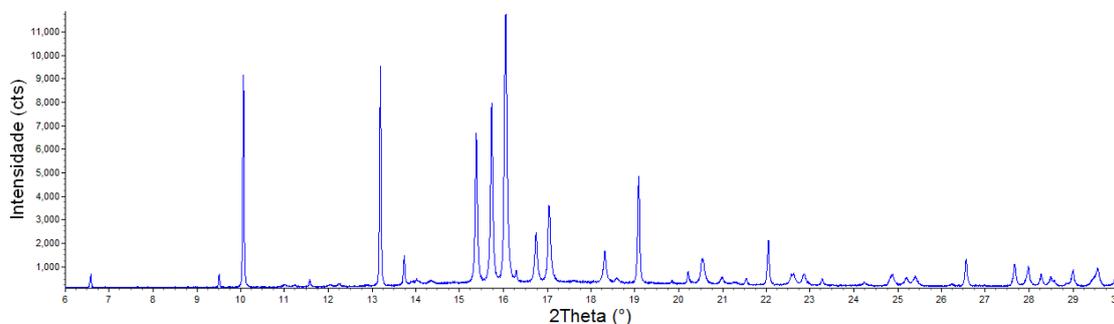


Figura 100. Difratograma do medicamento de referência livial.com com medidas do LNLS $\lambda= 1,24018\text{\AA}$

Simulações foram realizadas considerando os polimorfos (monoclínico e triclínico) com os dados mostrados anteriormente. O resultado pode ser observado na Figura 101 (a) e sua ampliação em (b). Nota-se que as reflexões dos polimorfos encontram-se coincidentes em picos de baixa intensidade enquanto que os picos do excipiente são consideravelmente mais intensos.

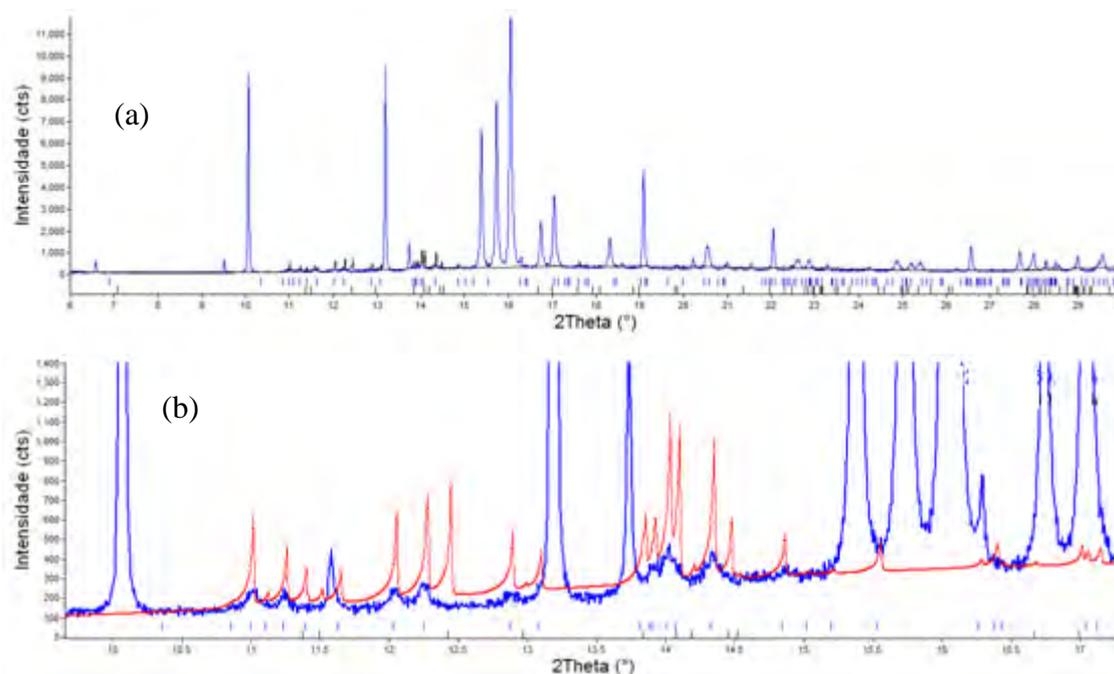


Figura 101. Comparação entre a amostra de livial e as formas monoclínica e triclínica da tibolona com os dados do LNLS $\lambda= 1,2320\text{\AA}$.

Optou-se em restringir a área de análise entre $10,6^\circ$ e 15° em 2θ e excluindo os picos de maior intensidade que não sobrepujam à reflexões dos polimorfos da tibolona. Ajustes desta área foram analisados considerando o polimorfo monoclinico, o triclinico e a isotibolona. Como apresenta a Figura 102, o polimorfo que ajustou foi o monoclinico, este é um indicativo que este polimorfo esta presente neste comprimido.

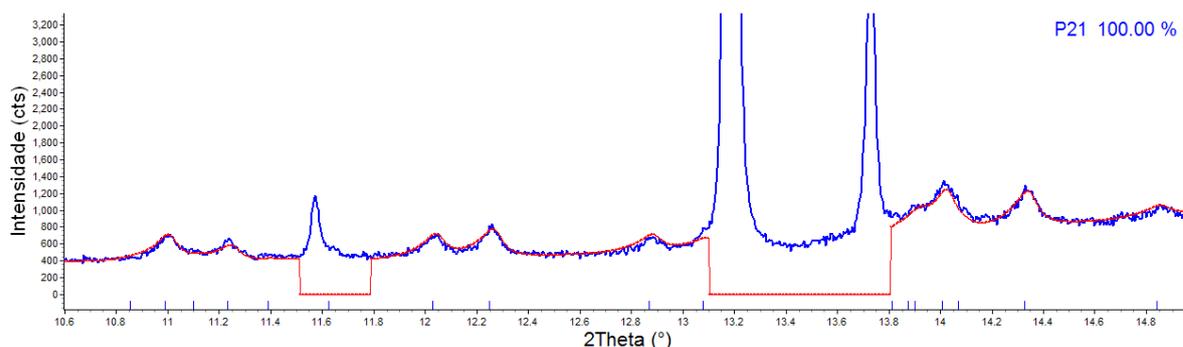


Figura 102. Gráfico de Rietveld Ajuste do polimorfo monoclinico na amostra do livial, com os dados do LNLS $\lambda= 1,2320 \text{ \AA}$.

9.6 Isotibolona

A estrutura cristalina foi determinada para o desenvolvimento deste trabalho. O procedimento não será discutido aqui, pois, como já foi dito anteriormente, não faz parte dos objetivos. A indexação, que é a primeira etapa para o procedimento para a determinação de estrutura será considerada porque o padrão decomposto pode ser usado para identificação desse composto em matérias-primas, como foi visto na seção 9.3.2.

9.6.1 Indexação

Na indexação da isotibolona foram utilizadas as medidas realizadas na linha D12A-XRD1 do LNLS, com geometria Debye-Sherrer em capilar de 0,7 mm de diâmetro (borosilicato), $\Delta 2\theta$ foi de $0,005^\circ$ de 2° à $39,7^\circ$. Para o refinamento foram usados os dados obtidos à temperatura ambiente em um equipamento Stoe. A Figura 103, apresenta o difratograma obtido com os dados do síncrotron e as posições dos 95 picos utilizados na indexação realizada pelo método interativo, implementado Topas-Academic v4.1, com correção de $2\theta_0$.

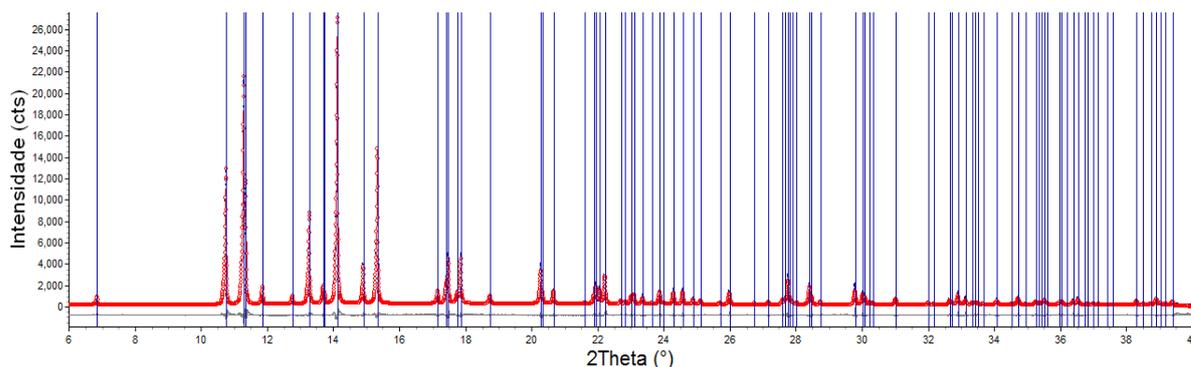


Figura 103. Difratograma da isotibolona e picos utilizados usados na indexação, dados do LNLS $\lambda=1,24018\text{\AA}$.

Os 10 primeiros resultados obtidos na indexação estão mostrados na Tabela 17. Nota-se que todas as 10 soluções são iguais. A diferença, quando comparada com a primeira solução, é a troca do eixo **a** pelo eixo **c** em algumas soluções e o ângulo β' , das outras soluções, ser igual a $180^\circ - \beta$. Ou seja, a diferença é apenas de origem da cela. Portanto, qualquer uma pode ser usada para o refinamento e decomposição do padrão pelos métodos de Pawley ou Le Bail, que o resultado deverá ser o mesmo. Assim, foi usada a primeira solução ($a = 6,8066 \text{\AA}$, $b = 20,7350 \text{\AA}$, $c = 6,4489 \text{\AA}$, $\beta = 76,428^\circ$, $V = 884,75 \text{\AA}^3$) para a decomposição do padrão. Entretanto, para a determinação da estrutura cristalina, por escolha do autor^{††} do programa (resumo ACA2009 – P-T065, foi usado a cela unitária da solução (7)). A matriz transformação **T** da cela unitária da solução (7) para a da solução (1) é:

$$\mathbf{T} = \begin{pmatrix} \bar{1} & 0 & 0 \\ 0 & \bar{1} & 0 \\ 0 & 0 & 1 \end{pmatrix}$$

Sendo a cela a solução (1) dada pelo vetor **A'** e a da solução (7) dada pelo vetor **A**, a transformação é dada por $\mathbf{A}' = \mathbf{TA}$, e a transformação das posições atômicas (vetor **X'** e **X** respectivamente para os átomos na cela da solução (1) e (7) é dada por $\mathbf{X}' = (\mathbf{T}^t)^{-1} \mathbf{X}$.

^{††} Ariel Gomes. Department of Physics. University of Guelph, Guelph, Ontario, Canada.

Tabela 17. Os 10 primeiros resultados fornecidos pelo TOPAS para a Isotibolona.

Sol	Grupo Espacial	Volume	Gof	a(Å)	b(Å)	c(Å)	$\alpha(^{\circ})$	$\beta(^{\circ})$	$\gamma(^{\circ})$
1)	P21	884.749	176.93	6.8066	20.7350	6.4489	90.000	76.428	90.000
2)	P21	884.749	173.48	6.4489	20.7354	6.8065	90.000	76.427	90.000
3)	P21	884.734	171.38	6.4488	20.7346	6.8068	90.000	76.428	90.000
4)	P21	884.757	170.41	6.4487	20.7350	6.8068	90.000	76.429	90.000
5)	P21	884.724	168.64	6.8068	20.7343	6.4487	90.000	103.571	90.000
6)	P21	884.699	167.77	6.8065	20.7339	6.4489	90.000	76.428	90.000
7)	P21	884.737	167.73	6.8063	20.7356	6.4490	90.000	76.427	90.000
8)	P21	884.722	167.58	6.8062	20.7354	6.4490	90.000	103.574	90.000
9)	P2	884.749	167.49	6.8066	20.7350	6.4489	90.000	76.428	90.000
10)	P21	884.706	165.77	6.8064	20.7339	6.4490	90.000	76.430	90.000

Para o refinamento pelo método de Pawley a radiação de fundo foi ajustada usando o polinômio de Chebyshev⁹⁹ com 16 parâmetros. O perfil do pico foi ajustado por uma aproximação do modelo de Double-Voigt¹⁰⁰ implementado no programa TOPAS Academic v4.1, com anisotropia corrigida para planos independentes (h00), (0k0), (00l), (hk0), (h0l), (0kl) e (hkl)^{§§}. A assimetria foi corrigida pelo modelo de Cheary e Coelho¹⁰¹⁻¹⁰².

Após o refinamento da cela unitária com o método de Pawley, os parâmetros ficaram $a = 6,8066(2) \text{ \AA}$, $b = 20,7351(5) \text{ \AA}$, $c = 6,4490(2) \text{ \AA}$, $\beta = 76,430(1) ^{\circ}$, $V = 884,77(4) \text{ \AA}^3$. Os índices de qualidade para o refinamento foram: $R_{wp} = 5,992 \%$, $\chi^2 = 1,389$, estatística de $d^{103-105}$ de Durbin-Watson (d -DW) = 1,228, $R_{Bragg} = 0,290 \%$. A lista de picos, com 2θ observado e calculado, distâncias interplanares observada e calculada, índices de Miller e Intensidade relativa (I100) estão no Apêndice 2.

Na Figura 104 estão os difratogramas observado, ajustado e a diferença entre o observado e ajustado, obtidos após os refinamentos pelo método de Pawley e ampliações de várias regiões mostrando que todos os picos presentes no difratograma foram devidamente ajustados. Isso indica que a amostra de isotibolona estudada está pura já que não apresenta qualquer evidencia de fase secundária.

§§ Modelo desenvolvido no LabCACC e implementado no programa TOPAS Academic por C.O.Paiva-Santos. Esse modelo ainda está incompleto e não funciona adequadamente para estruturas triclinicas. Anexo 3.

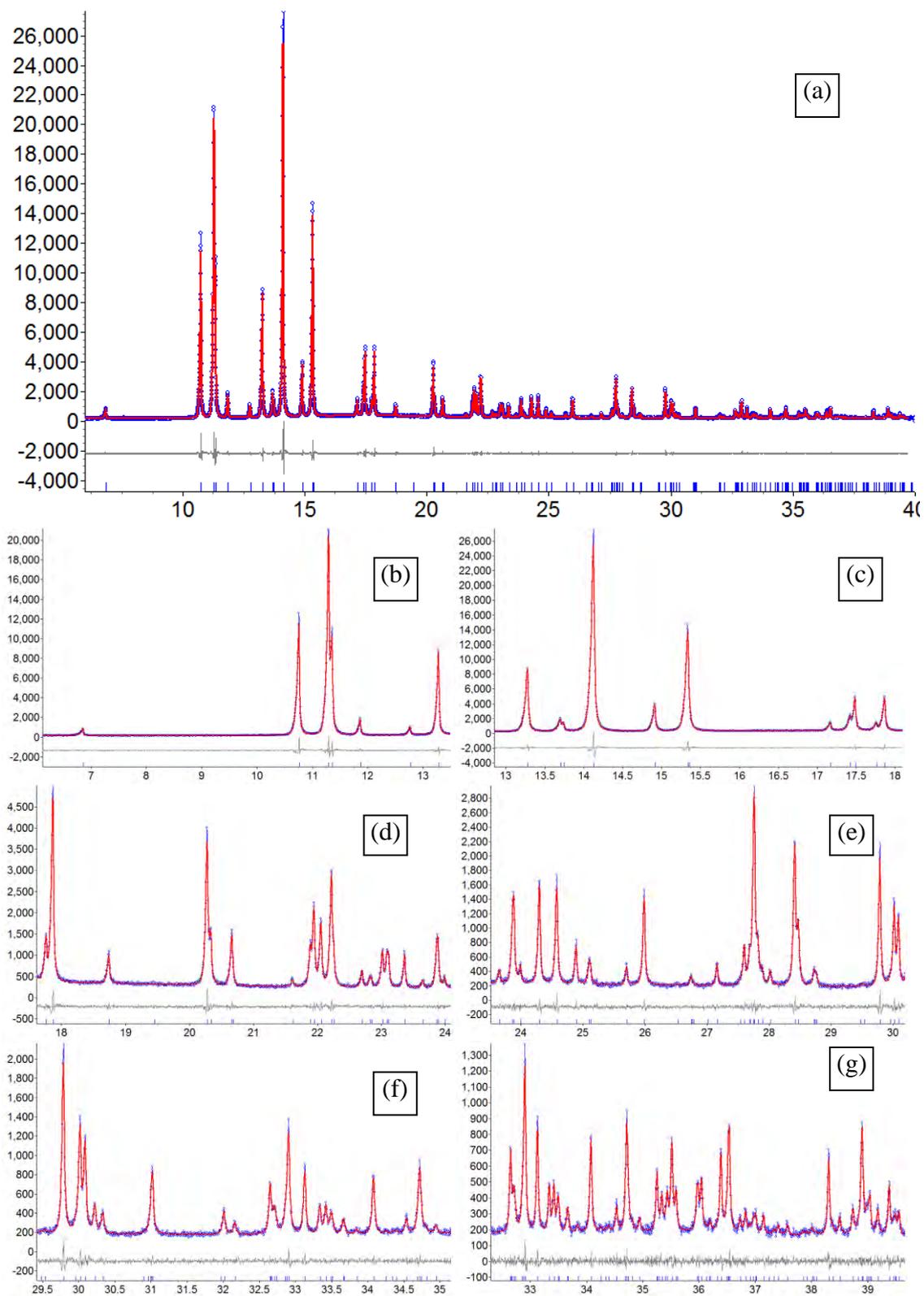


Figura 104. Gráfico do refinamento de Pawley com resultados obtidos da indexação. (a) todo o padrão de difração medido. (b) ampliação mostrando a região entre 6 e 13,5°. (c) ampliação mostrando a região entre 13° e 18°. (d) ampliação mostrando a região 17,5° e 24° (e) ampliação mostrando a região entre 23 e 30°. (f) ampliação mostrando a região entre 29,5 e 35°. (g) ampliação mostrando a região entre 32,5 e 40°.

9.6.2 Alguns aspectos sobre a determinação da estrutura da Isotibolona

A determinação da estrutura cristalina foi realizada pelo Dr. Ariel Gomes, da Universidade de Delphi, Canadá, com o qual o LabCACC mantém colaboração há vários anos. Os dados do LNLS foram usados. Essa foi a primeira estrutura cristalina determinada pelo Dr. Ariel usando o programa desenvolvido por ele mesmo para determinação de estruturas cristalinas usando método de espaço direto e dados de difração por policristais¹⁰⁶. A determinação da estrutura partiu dos resultados da indexação apresentados acima. Os átomos de hidrogênio foram incluídos após a determinação da estrutura.

A Figura 105 apresenta a estrutura cristalina nas celas unitárias em que $\beta = \sim 103^\circ$ e $\sim 76^\circ$. Após o refinamento com a cela unitária da solução-0, os parâmetros ficaram $a = 6.8065(2)\text{Å}$, $b = 20.7348(7)\text{Å}$, $c = 6.4489(2)\text{Å}$, $\beta = 76,429(1)^\circ$, $V = 884,74(5)\text{Å}^3$, e os índices $R_{wp} = 9,185\%$, $R_{wp}' = 13,337\%$, $d\text{-DW} = 0,664$, $\chi^2 = 2,108$, $R_{\text{Bragg}} = 1,97$. O gráfico de Rietveld está na Figura 106. Como era de se esperar, os valores dos índices no refinamento da estrutura pelo método de Rietveld são ligeiramente maiores que os obtidos no refinamento pelo método de Pawley, uma vez que no refinamento pelo método de Rietveld está se considerando a estrutura cristalina e pequenos efeitos de orientação preferencial, mesmo após a correção, podem ser responsáveis por essa diferença.

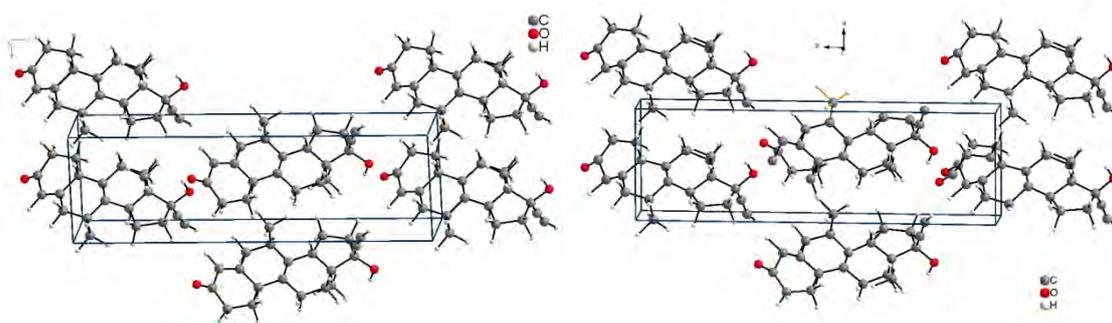


Figura 105. Isotibolona P21. (a) Estrutura cristalina e a cela unitária da solução-6 ($\beta = 103.57^\circ$) e (b) estrutura cristalina e a cela unitária da solução-0 ($\beta = 76.43^\circ$).

A estrutura cristalina também foi refinada com os dados obtidos no equipamento da Stoe. Os índices foram: $R_{wp} = 4,606\%$, $R_{wp}' = 9,956\%$, $d\text{-DW} = 0,294$ e $\chi^2 = 2,585$ e $R_{\text{Bragg}} = 1,12\%$. A Figura 107 apresenta o gráfico de Rietveld desse refinamento. Pode-se observar com o auxílio da ampliação o ajuste de todo padrão de difração. Os resultados dos índices de qualidade do refinamento foram: $R_{wp} = 3,765\%$, $R_{\text{Bragg}} = 0,974\%$ e $\chi^2 = 2,113$.

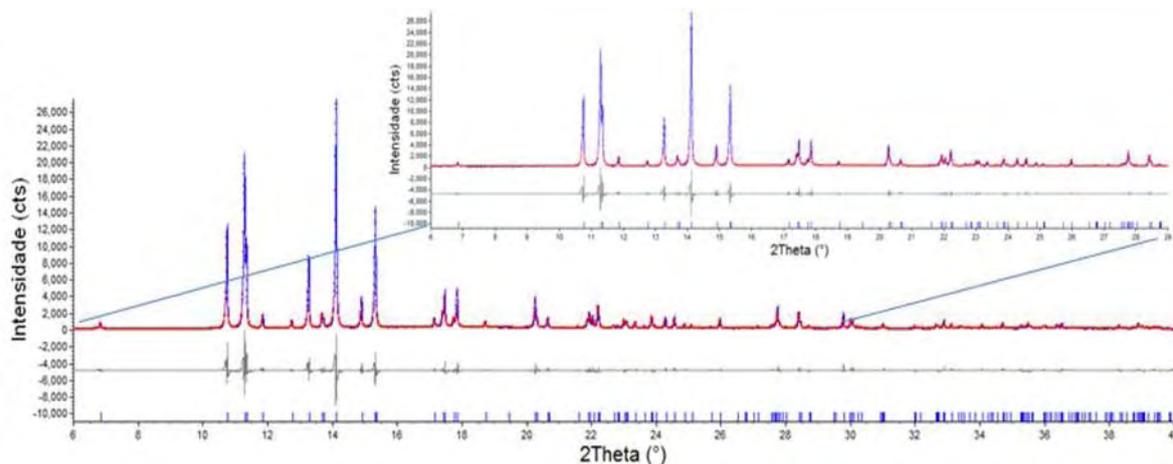


Figura 106. Gráfico de Rietveld da Isotibolona com dados do LNL $\lambda=1,24018$.

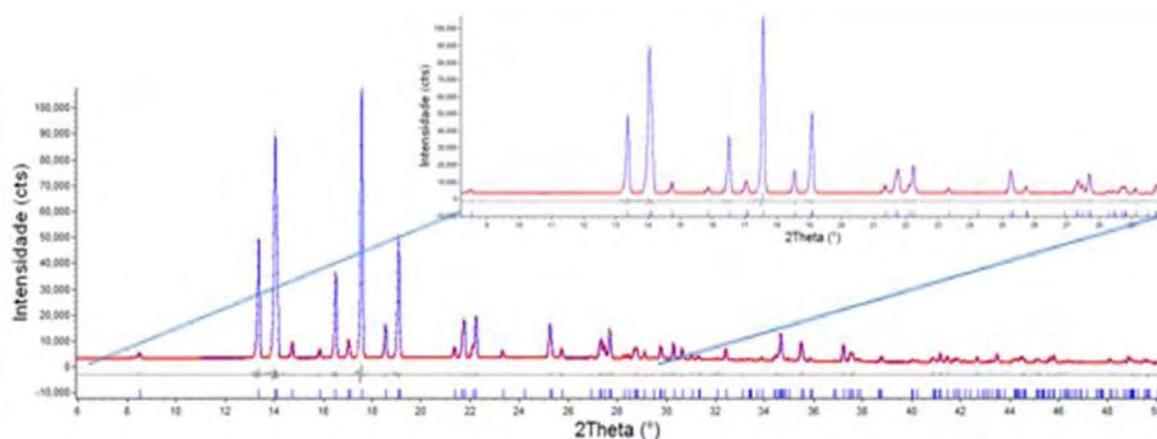


Figura 107. Gráfico de Rietveld da Isotibolona com os dados de alta resolução do Stoe $\lambda = 1,5406\text{\AA}$.

9.6.3 Análise Quantitativa de Fase

A seguir será mostrada a identificação da isotibolona em uma matéria-prima de tibolona e determinar a sua proporção em massa. Na Figura 108 está o refinamento de Rietveld, considerando a forma monoclinica da tibolona. O refinamento foi realizado com dados obtidos na linha D12A-XRD1 do LNL, $\lambda = 1,24018\text{\AA}$. Nota-se que existem picos que não correspondem a essa forma cristalina. Na Figura 108(b), uma ampliação do gráfico de Rietveld entre 10 e 21° (2 θ), pode-se observar várias reflexões que não foram ajustadas com a estrutura cristalina monoclinica da tibolona.

Foram realizados refinamentos considerando as duas formas cristalinas conhecidas da tibolona (monoclinica e triclinica) e se observou que os picos não identificados na Figura 108 também não são ajustados pela estrutura cristalina triclinica P1 (Figura 109).

De fato, esses picos foram gerados pela isotibolona. Sua estrutura cristalina foi incluída nos refinamentos e se observou que todos os picos foram ajustados (Figura 110).

Assim, foi possível determinar a proporção de 89,6(1,8)% de Tibolona e 10,4(1,8)% de isotibolona. $R_{wp} = 7,15\%$, $\chi^2 = 1,61$, $R_{Bragg} = 1,79\%$ (tibolona) e 2,51% (isotibolona). Na Figura 110b, uma ampliação do gráfico de Rietveld entre 10 e 21° (2θ), pode-se observar várias reflexões que não foram ajustadas com a estrutura cristalina monoclinica da tibolona, e que foram identificadas, posteriormente, como sendo da isotibolona.

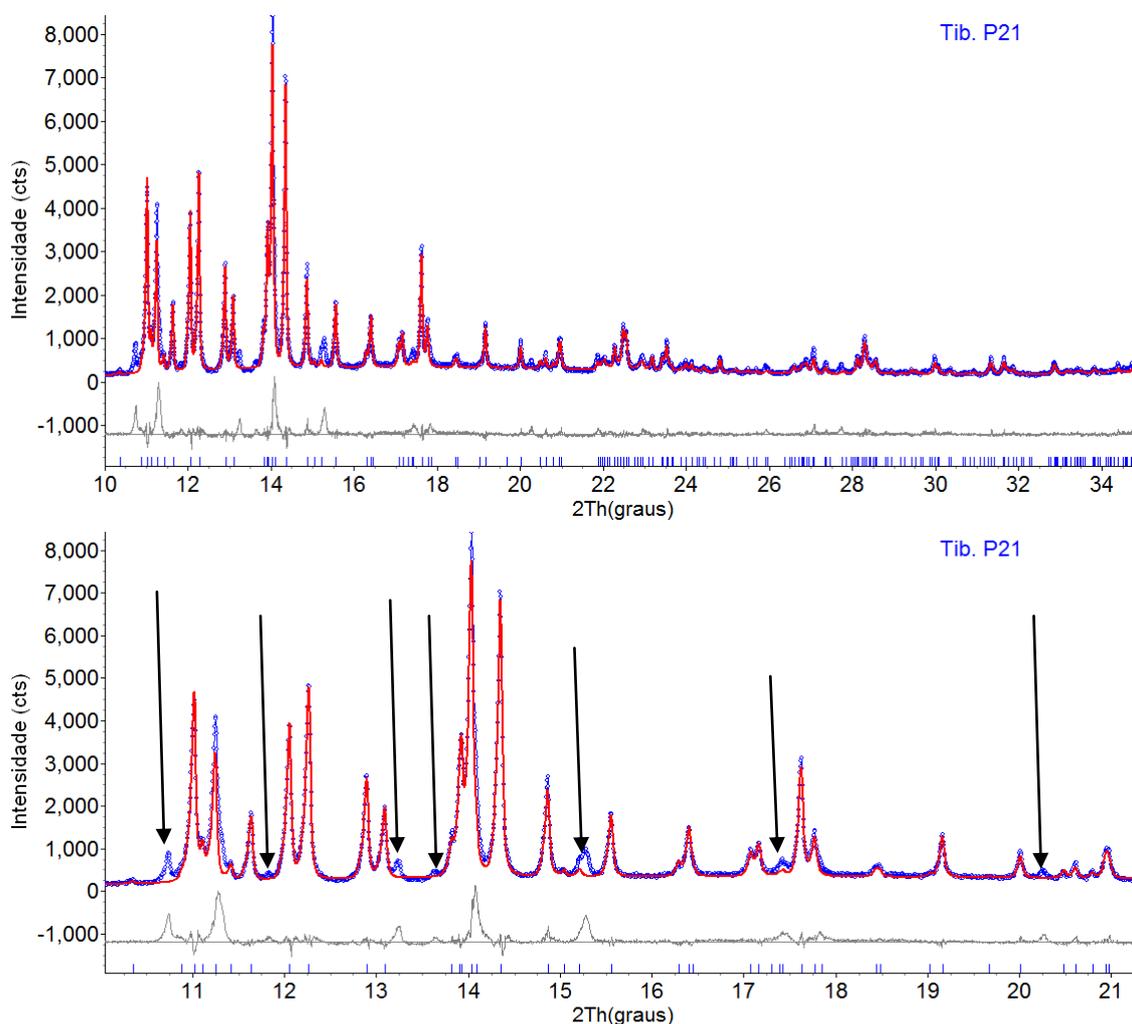


Figura 108. (a) Gráfico de Rietveld após o refinamento pelo método de Rietveld da amostra de comercial heartwell, considerando apenas a estrutura cristalina monoclinica da tibolona. (b) Ampliação onde se observa vários picos que não foram ajustados (setas) com a estrutura monoclinica, dados do LNLS $\lambda = 1,24018\text{\AA}$.

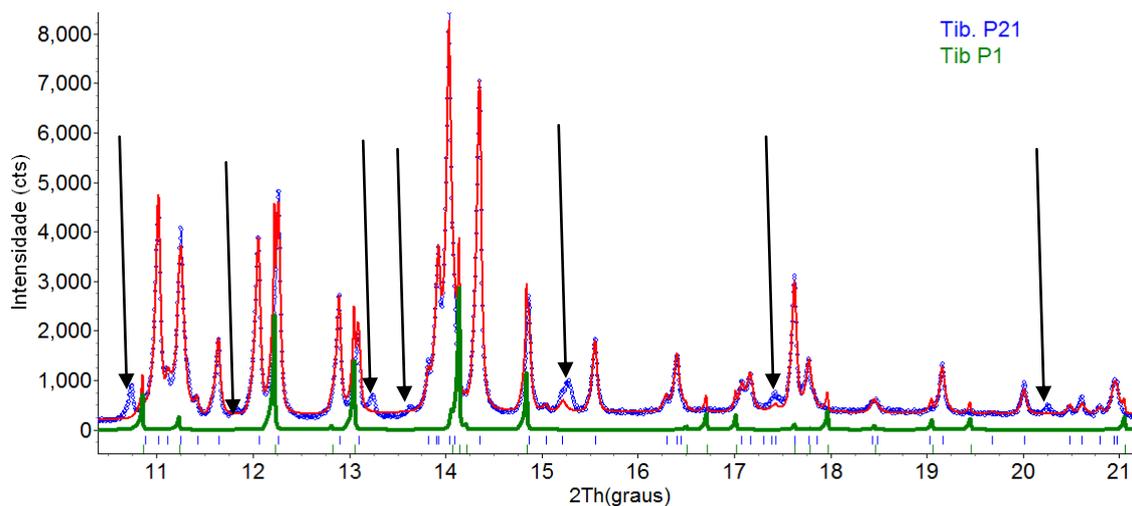


Figura 109. Gráfico de Rietveld considerando as formas monoclinica e triclínica da tibolona, dados do LNLS $\lambda = 1,24018\text{\AA}$. Nota-se que os picos não identificados não pertencem á forma triclínica da tibolona.

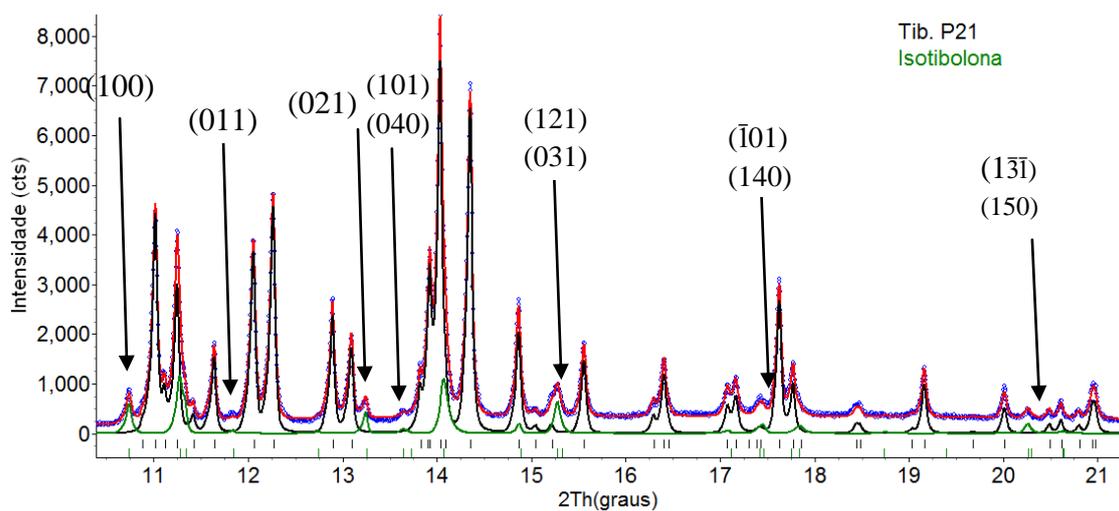
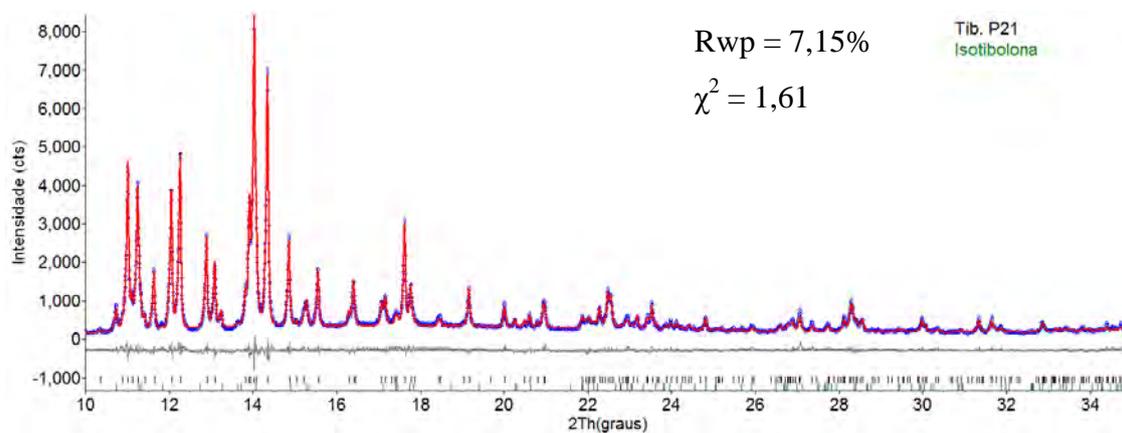


Figura 110. (a) Gráfico de Rietveld considerando a forma monoclinica e a isotibolona; (b) ampliação de $10,2^\circ$ a $13,3^\circ$ em 2θ , e setas identificando as reflexões da isotibolona.

De acordo com Araujo (2009)³⁰, a forma triclínica é a menos estável e, portanto, mais favorável à transformação para outras formas.

O conhecimento da estrutura cristalina da isotibolona permitiu identificar e determinar a proporção em massa desse composto em matérias-primas de tibolona. Foi possível também verificar que a micronização causou a formação da isotibolona em uma amostra da forma triclínica.

Medidas em equipamentos convencionais permitem analisar amostras com cristalitos muito grandes e inadequados para uso em formulações. Medidas com amostras em capilares não são representativas de toda a amostra, pois, devido às dificuldades de inserção no capilar, as maiores partículas ficam de fora e não são analisadas.

Análises de amostras homogêneas podem ser realizadas com capilares e esse modo é recomendado quando se deseja evitar a orientação preferencial.

Para determinação de estruturas, o uso de capilar é recomendado porque a orientação é minimizada.

10 Conclusão

A DRXP é uma ótima ferramenta para a caracterização de polimorfos tanto em matérias-primas quanto em comprimidos, quando a quantidade de PA é suficiente para a limitação da técnica. O método de Rietveld enriquece os resultados pela técnica quando os fármacos têm estrutura cristalina conhecida, mas quando não, é possível identificar misturas de polimorfos inequivocamente utilizando a decomposição do padrão adequadamente.

Em primeiro lugar, deve-se conhecer o equipamento em que serão realizadas as medidas. Ou seja, para cada condição experimental, deve-se ter sido realizada uma medida com um padrão para se obter o alargamento instrumental. Recomenda-se o SRM660a LaB6 NIST. Após as medidas, deve-se determinar o alargamento instrumental usando esses dados. A FWHM será definida através dos parâmetros da função que descreve o perfil dos picos. A função de Thompson-Cox-Hastings modificada, implementado no programa TOPAS Academic v4.1 e GSAS são recomendadas.

Conhecendo-se a FWHM, o tamanho de passo deve ser definido de forma que entre 5 e 10 pontos estejam presentes no menor valor de FWHM do padrão. Como nenhum outro difratograma irá apresentar um alargamento menor que o do padrão, isso irá garantir que todos os picos serão adequadamente definidos.

Se o fármaco apresentar cristalitas pequenos, que causam maior alargamento dos picos, o tamanho do passo pode ser maior. Assim, o tamanho máximo de $\Delta 2\theta$ para cada medida deve ser definido a partir de uma medida prévia. Ou seja, a partir de uma medida rápida.

A pré análise também permitirá definir o tempo adequado para medida de cada ponto do difratograma. Para isso, deve escolher o tempo que permita definir picos de baixa intensidade, pois eles podem ter sido causados por alguma outra forma cristalina presente em pequena quantidade.

Considerando que a sobreposição de picos é sempre alta no caso de fármacos, recomenda-se o roteiro a seguir para os refinamentos pelo método de Rietveld e para o caso de método de Pawley ou Le Bail, quando a estrutura cristalina ainda não foi determinada.

Considerando, por exemplo, em uma região em torno de 25 graus, onde existe a sobreposição de 6 picos com altos valores de $(h k l)$. Quando se refina os parâmetros de cela unitária, eles irão variar de forma a minimizar a “soma do quadrado da diferença entre as intensidades observadas e calculadas” naquela região (função minimização do método de mínimos-quadrados).

Sabe-se que quanto menor o valor de 2θ , maior o erro introduzido. Assim, os valores dos parâmetros de cela unitária baseado nos picos de menor ordem, com menor sobreposição e a mais baixo ângulo, podem variar muito, sem que as suas posições variem de forma significativa. Como os picos a alto ângulo estão sobrepostos, pequenas variações na sua posição causam grandes variações nas distâncias interplanares d (e nos parâmetros da cela unitária). Como a definição correta de suas posições não é possível, grandes variações nas dimensões da cela unitária podem ocorrer. Veja na Figura abaixo, extraída do Anexo 4, como é a dependência do erro na distância interplanar em função do ângulo (2θ) de Bragg observado. Deve-se considerar ainda que a anisotropia no alargamento dos picos, causada pela anisotropia na forma dos cristalitas, é mais uma fonte de problemas para a definição das posições de picos quando ocorre sobreposição e a estrutura cristalina não é considerada nos refinamentos.

Assim, nos refinamentos de cela unitária onde as intensidades não são definidas pela estrutura cristalina, como são os métodos de Pawley e o de Le Bail, as dimensões da cela unitária podem variar muito, pois o valor de intensidade pode variar muito para qualquer posição dos picos. Quando a estrutura cristalina é conhecida (método de Rietveld) as intensidades são definidas por ela ($I \propto |F_{hkl}|^2$) e os parâmetros da cela unitária terão um

menor liberdade para variar já que devem satisfazer o método de mínimos-quadrados. Detalhes sobre esses problemas estão detalhadamente descritos no Anexo 4.

Com base nisso, foram definidas algumas recomendações gerais para o refinamento com dados de difração de raios X por policristais de fármacos.

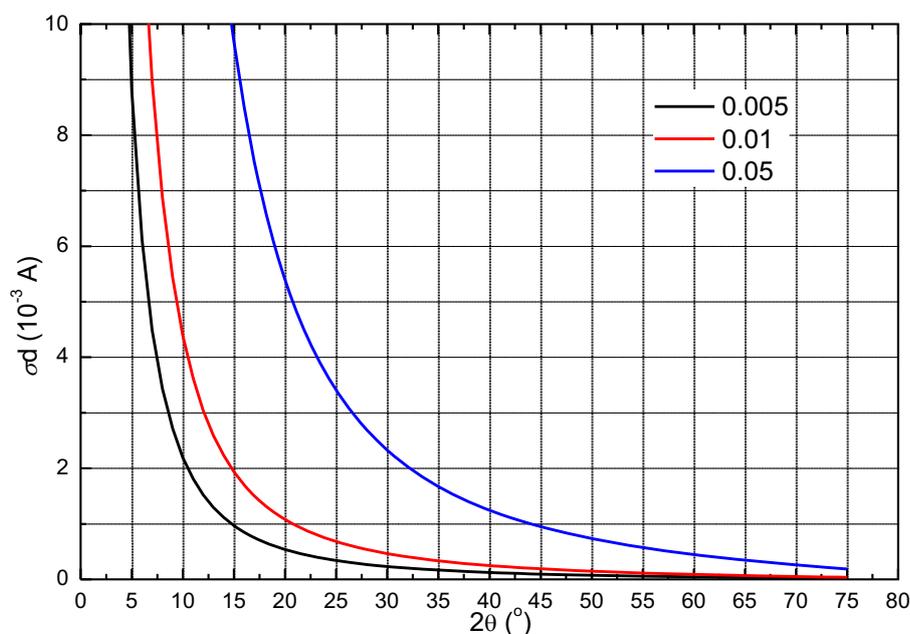


Figura 111. Dependência do erro na distância interplanar, σd , em função do ângulo de Bragg, para alguns erros na medida de 2θ , para radiação de cobre $K\alpha_1$ ($\lambda = 1,5406 \text{ \AA}$).

Caso de método de Rietveld

- (1) Ajustar o fator de escala e a radiação de fundo e deslocamento da amostra.
- (2) (1) + Verificar se existe orientação preferencial. Corrigi-la se observada.
- (3) (2) + refinamento de parâmetros isotrópicos da FWHM. A assimetria deve ser mantida fixa assim como foi obtida para o padrão.

Entretanto, o padrão LaB6 tem seu primeiro pico aparecendo entre 25 e 26° (2θ) para a radiação de cobre, o que não permite uma definição adequada da assimetria causada pela divergência axial abaixo desse ângulo. Os primeiros picos dos fármacos normalmente aparecem entre 2 e 10°. Assim, embora a assimetria esteja sendo mantida fixa, deve-se ter em mente que ela deverá ser corrigida em algum momento. O ideal seria encontrar um padrão que possua picos a baixo ângulo, para definir adequadamente o alargamento instrumental,

incluindo a assimetria causada pela divergência axial. Na ausência de um padrão adequado, pode-se usar parâmetros fundamentais com grande vantagem. Infelizmente, os programas que fazem uso desse procedimento não são distribuídos gratuitamente para uso acadêmico. Esse procedimento não é adequado para o caso em que dados de difração são obtidos com luz Síncrotron.

- (4) (3) + refinamento dos parâmetros de cela unitária.
- (5) (4) + anisotropia e assimetria.
- (6) (5) + posições atômicas mantendo vínculo de distâncias e ângulos interatômicos.
- (7) Liberar os vínculos de (6). Se o resultado for insatisfatório, encerre o refinamento em (6).

Para o refinamento inicial pelo método de Pawley ou de Le Bail.

- (1) Ajustar a radiação de fundo. Com isso o padrão de difração “calculado” já deve estar próximo do observado.
- (2) (1) + e deslocamento da amostra
- (3) (2) + refinamento de parâmetros isotrópicos da FWHM.
- (4) (3) + refinamento dos parâmetros de cela unitária.
- (5) (4) + anisotropia e assimetria.

Para o refinamento pelo método de Pawley usando um padrão de difração previamente decomposto.

- (1) Ajustar o fator de escala e a radiação de fundo e deslocamento da amostra.
- (2) (1) + Verificar se existe orientação preferencial. Corrigí-la se observada.
- (3) (2) + refinamento de parâmetros isotrópicos da FWHM.
- (4) (5) + refinamento dos parâmetros de cela unitária.
- (5) (6) + anisotropia e assimetria.

Embora esse roteiro tenha sido recomendado, ele serve apenas como uma indicação para início dos refinamentos, cada caso deve ser considerado individualmente, ver anexo 4.

Referências

- 1 TEIXEIRA, L. A.; SANDOVAL, M. R. C.; TAKAOKA, N. Y. Instituto Pasteur de São Paulo: cem anos de combate à raiva. **História, Ciências, Saúde-Manguinhos**, v. 11, p. 751-766, 2004.
- 2 FEDERAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA FARMACÊUTICA. **A indústria farmacêutica no Brasil**. São Paulo, 2007.
- 3 RIBEIRO, M. A. R. Lições para a história das ciências no Brasil: Instituto Pasteur de São Paulo. **História, Ciências, Saúde-Manguinhos**, v. 3, n. p. 467-484, 1996.
- 4 OLIVEIRA, E. A. D.; LABRA, M. E.; BERMUDEZ, J. A produção pública de medicamentos no Brasil: uma visão geral. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 22, n. 11 p. 2379-2389, 2006.
- 5 DIAS, C. R. C.; ROMANO-LIEBER, N. S. Processo da implantação da política de medicamentos genéricos no Brasil. **Caderno de Saúde Pública**, v. 22, n. 8, p. 1661-1669, 2006.
- 6 SANTIN, M. R.; CAVALCANTI, O. A. Qualificação de fornecedores na indústria farmacêutica. **Infarma**, v. 16, n. 11-12, p. 45-49, 2004.
- 7 PRÓGENÉRICOS. **Mercado**. Disponível em: <<http://www.progenericos.org.br/mercado.shtml>>. Acesso em: 21 jan. 2010.
- 8 SKORDA, D.; KONTOYANNIS, C. G. Identification and quantitative determination of atorvastatin calcium polymorph in tablets using FT-Raman spectroscopy. **Talanta**, v. 74, n. 4, p. 1066-1070, 2008.
- 9 KARPINSKI, P. H. Polymorphism of active pharmaceutical ingredients. **Chemical Engineering & Technology**, v. 29, n. 2, p. 233-237, 2006.
- 10 CUI, Y. A material science perspective of pharmaceutical solids. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 339, n. 1-2, p. 3-18, 2007.
- 11 GIBALDI, M. **Biopharmaceutics and clinical pharmacokinetics**. 4. ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1991. v. 49.

12 STORPIRTIS, S.; MARCOLONGO, R.; GASPAROTTO, F. S.; VILANOVA, C. M. A equivalência farmacêutica no contexto da intercambialidade entre medicamentos genéricos e de referência: bases técnicas e científicas. **Infarma**, v. 16, n. 9-10, p. 51-56, 2004.

13 BANAKAR, U. V. **Pharmaceutical dissolution testing**. New York: Marcel Dekker, 1992. v. 49.

14 ARANCÍBIA, A. Calidad biofarmacéutica. Estudios *in vitro* y *in vivo*. **Acta Farmaceutica Bonaerense**, v. 10, n. 2, p. 123-133, 1991.

15 ABDU, H. M. **Dissolution, bioavailability & bioequivalence**. Easton: Mack Publishing, 1989.

16 QU, H.; LOUHI-KULTANEN, M.; KALLAS, J. Additive effects on the solvent-mediated anhydrate/hydrate phase transformation in a mixed solvent. **Crystal Growth & Design**, v. 7, n. 4, p. 724-729, 2007.

17 ARANCIBIA, A.; PEZOA, R. **Biodisponibilidad de medicamentos**. Santiago: Universitaria, 1992. v. 1.

18 RODRÍGUEZ-SPONG, B.; PRICE, C. P.; JAYASANKAR, A.; MATZGER, A. J.; RODRÍGUEZ-HORNEDO, N. General principles of pharmaceutical solid polymorphism: a supramolecular perspective. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 56, n. 3, p. 241-274, 2004.

19 BRITAIN, H. G. **Polymorphism in pharmaceutical solids**. New York: Informa Healthcare, 1999.

20 KISHI, A.; TORAYA, H. Simultaneous measurements of X-ray diffraction (XRD) and differential scanning calorimetry (DSC) data under controlled humidity condition: instrumentation and application to studies on hydration, dehydration, and rehydration processes of pharmaceutical compounds. **Powder Diffraction**, v. 19, n. 1, p. 31-35, 2004.

21 ASHRAF-KHORASSANI, M.; TAYLOR, L. T.; KOETH, L. M.; ROUSH, J. A. Quantitative analysis of amoxicillin, clavulanic acid, and ticarcillin in multi-wells by liquid chromatography/electrospray ionization mass spectrometry as a strategy for quality control. **Chromatographia**, v. 62, n. 9-10, p. 459-463, 2005.

22 BOTEZ, C. E.; STEPHENS, P. W.; NUNES, C.; SURYANARAYANAN, R. Crystal structure of anhydrous delta-d-mannitol. **Powder Diffraction**, v. 18, n. 3, p. 214-218, 2003.

23 STEPHENSON, G. A. Applications of X-Ray powder diffraction in the pharmaceutical industry. **The Rigaku Journal**, v. 22, n. 1, p. 2-15, 2005.

24 IYENGAR, S. S.; PHADNIS, N. V.; SURYANARAYANAN, R. Quantitative analyses of complex pharmaceutical mixtures by the Rietveld method. **Powder Diffraction**, v. 16, n. 1, p. 20-24, 2001.

25 MIKHAILENKO, M. A. Growth of large single crystals of the orthorhombic paracetamol. **Journal of Crystal Growth**, v. 265, n. 3-4, p. 616-618, 2004.

26 CARVALHO, P. D.; CALAFATTI, S. A.; MARASSI, M.; SILVA, D. M.; CONTESINI, F. J.; BIZACO, R.; MACEDO, G. A. Potential of enantioselective biocatalysis by microbial lipases. **Quimica Nova**, v. 28, n. 4, p. 614-621, 2005.

27 VILLANUEVA, M.; HECKENBERGER, R.; STROBACH, H.; PALMER, M.; SCHROR, K. Equipotent inhibition by R(-), S(+) and racemic ibuprofen of human polymorphonuclear cell function *in vitro*. **British Journal of Clinical Pharmacology**, v. 35, n. p. 235-242, 1993.

28 DUDOGNON, E.; DANÈDE, F.; DESCAMPS, M.; CORREIA, N. T. Evidence for a new crystalline phase of racemic ibuprofen. **Pharmaceutical Research**, v. 25, n. 12, p. 2853-2858, 2008.

29 KIM, Y-S.; PASKOW, H. C.; ROUSSEAU, R. W. Propagation of solid-state transformations by dehydration and stabilization of pseudopolymorphic crystals of sodium naproxen. **Crystal Growth & Design**, v. 5, n. 4, p. 1623-1632, 2005.

30 ARAUJO, G. L. B. **Caracterização no estado sólido dos polimorfos de tibolona**. 2009. 202 f. Tese (Doutorado em Farmácia) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

31 CESUR, S.; GOKBEL, S. Crystallization of mefenamic acid and polymorphs. **Crystal Research and Technology**, v. 43, n. 7, p. 720-728, 2008.

32 ZHANG, M.; SHI, W-J.; FEI, X-W.; LIU, Y-R.; ZENG, X-M.; MEI, Y-A. Mefenamic acid bi-directionally modulates the transient outward K⁺ current in rat cerebellar granule cells. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 226, n. 3, p. 225-235, 2008.

33 PANCHAGNULA, R.; SUNDARAMURTHY, P.; PILLAI, O.; AGRAWAL, S.; RAJ, Y. A. Solid-state characterization of mefenamic acid. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 93, n. 4, p. 1019-1029, 2004.

34 KATO, F.; OTSUKA, M.; MATSUDA, Y. Kinetic study of the transformation of mefenamic acid polymorphs in various solvents and under high humidity conditions. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 321, n. 1-2, p. 18-26, 2006.

35 LEE, E. H.; BYRN, S. R.; CARVAJAL, M. T. Additive-induced metastable single crystal of mefenamic acid. **Pharmaceutical Research**, v. 23, n. 10, p. 2375-2380, 2006.

36 McCONNELL, J. F.; COMPANY, F. Z. N-(2,3-xyllyl) anthranilic acid C₁₅H₁₅NO₂ mefenamic acid. **Crystal Structure Communications**, v. 5, p. 861-864, 1976.

37 ROMERO, S.; ESCALERA, B.; BUSTAMANTE, P. Solubility behavior of polymorphs I and II of mefenamic acid in solvent mixtures. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 178, n. 2, p. 193-202, 1999.

38 GEIGY CHEMICAL CORPORATION (CH) W. Shindler. **New N-Heterocyclic Compounds**. US 2,948,718, 20 Dec. 1957, 09 Ago. 1960.

39 MURPHY, D.; RODRÍGUEZ-CINTRÓN, F.; LANGEVIN, B.; KELLY, R. C.; RODRÍGUEZ-HORNEDO, N. Solution-mediated phase transformation of anhydrous to dihydrate carbamazepine and the effect of lattice disorder. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 246, n. 1-2, p. 121-134, 2002.

40 MARTIN, J. M. P.; FREIRE, P. F.; LABRADOR, V.; HAZEN, M. Carbamazepine induces mitotic arrest in mammalian Vero cells. **Mutation Research-Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, v. 637, n. 1-2, p. 124-133, 2008.

41 WISHART, D. S.; KNOX, C.; GUO, A. C.; CHENG, D.; SHRIVASTAVA, S.; TZUR, D.; GAUTAM, B.; HASSANALI, M. DrugBank: a knowledgebase for drugs, drug actions and drug targets. **Nucleic Acids Research**, v. 36, n. 1, p. D901-D906, 2008. Suppl.

42 HIMES, V. L.; MIGHELL, A. D.; DE CAMP, W. H. Structure of carbamazepine: 5H-dibenz[b,f]azepine-5-carboxamide. **Acta Crystallographica Section B**, v. 37, n. 12, p. 2242-2245, 1981.

43 REBOUL, J. P.; CRISTAU, B.; SOYFER, J. C.; ASTIER, J. P. 5H-Dibenz[b,f]azepinecarboxamide-5 (carbamazepine). **Acta Crystallographica Section B**, v. 37, n. 10, p. 1844-1848, 1981.

- 44 LISGARTEN, J. N.; PALMER, R. A.; SALDANHA, J. W. Crystal and molecular-structure of 5-carbamyl-5h-dibenzo[B, F] azepine. **Journal of Crystallographic and Spectroscopic Research**, v. 19, n. 4, p. 641-649, 1989.
- 45 STRACHAN, C. J.; PRATIWI, D.; GORDON, K. C.; RADES, T. Quantitative analysis of polymorphic mixtures of carbamazepine by Raman spectroscopy and principal components analysis. **Journal of Raman Spectroscopy**, v. 35, n. 5, p. 347-352, 2004.
- 46 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, 2003.
- 47 LANG, M.; KAMPF, J. W.; MATZGER, A. J. Form IV of carbamazepine. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 91, n. 4, p. 1186-1190, 2002.
- 48 FLORENCE, A. J.; LEECH, C. K.; SHANKLAND, N.; SHANKLAND, K.; JOHNSTON, A. Control and prediction of packing motifs: a rare occurrence of carbamazepine in a catemeric configuration. **CrystEngComm**, v. 8, n. 10, p. 746-747, 2006.
- 49 RECK, G.; DIETZ, G. The order-disorder structure of carbamazepine dihydrate - 5 h-dibenz b, f azepine-5-carboxamide dihydrate, $C_{15}H_{12}N_2O \cdot 2H_2O$. **Crystal Research and Technology**, v. 21, n. 11, p. 1463-1468, 1986.
- 50 HARRIS, R. K.; GHI, P. Y.; PUSCHMANN, H.; APPERLEY, D. C.; GRIESSER, U. J.; HAMMOND, R. B.; MA, C.; ROBERTS, K. J.; PEARCE, G. J.; YATES, J. R.; PICKARD, C. J. Structural studies of the polymorphs of carbamazepine, its dihydrate, and two solvates. **Organic Process Research & Development**, v. 9, n. 6, p. 902-910, 2005.
- 51 GELBRICH, T.; HURSTHOUSE, M. B. Systematic investigation of the relationships between 25 crystal structures containing the carbamazepine molecule or a close analogue: a case study of the XPac method. **CrystEngComm**, v. 8, n. 6, p. 449-461, 2006.
- 52 JOHNSTON, A.; FLORENCE, A. J.; KENNEDY, A. R. Carbamazepine furfural hemisolvate. **Acta Crystallographica Section E**, v. 61, n. 6, p. o1777-o1779, 2005.
- 53 JOHNSTON, A.; JOHNSTON, B. F.; KENNEDY, A. R.; FLORENCE, A. J. Targeted crystallisation of novel carbamazepine solvates based on a retrospective Random Forest classification. **CrystEngComm**, v. 10, n. 1, p. 23-25, 2008.

54 GHITA, O. R.; BEARD, M. A.; McCABE, J.; BOTTOM, R.; RICHMOND, J.; EVANS, K. E. A study into first and second order thermal transitions of materials using Spectral-DSC. **Journal of Materials Science**, v. 43, n. 14, p. 4988-4995, 2008.

55 KIPOUROS, K.; KACHRIMANIS, K.; NIKOLAKAKIS, I.; MALAMATARIS, S. Quantitative analysis of less soluble form IV in commercial carbamazepine (form III) by diffuse reflectance fourier transform spectroscopy (DRIFTS) and lazy learning algorithm. **Analytica Chimica Acta**, v. 550, n. 1-2, p. 191-198, 2005.

56 GETSOIAN, A.; LODAYA, R. M.; BLACKBURN, A. C. One-solvent polymorph screen of carbamazepine. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 348, n. 1-2, p. 3-9, 2008.

57 CLARKSON, T. B.; ANTHONY, M. S.; WAGNER, J. D. A comparison of tibolone and conjugated equine estrogens effects on coronary artery atherosclerosis and bone density of postmenopausal monkeys. **Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 86, n. 11, p. 5396-5404, 2001.

58 GALLAGHER, J. C.; BAYLINK, D. J.; FREEMAN, R.; McCLUNG, M. Prevention of bone loss with tibolone in postmenopausal women: results of two randomized, double-blind, placebo-controlled, dose-finding studies. **Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 86, n. 10, p. 4717-4726, 2001.

59 HUANG, J. S.; WILKIE, S. J.; SULLIVAN, M. P.; GRINSPOON, S. Reduced bone density in androgen-deficient women with acquired immune deficiency syndrome wasting. **Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 86, n. 8, p. 3533-3539, 2001.

60 SOMEKAWA, Y.; CHIGUCHI, M.; ISHIBASHI, T.; WAKANA, K.; ASO, T. Efficacy of ipriflavone in preventing adverse effects of leuprolide. **Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 86, n. 7, p. 3202-3206, 2001.

61 WOODS, D.; ONAMBELE, G.; WOLEDGE, R.; SKELTON, D.; BRUCE, S.; HUMPHRIES, S. E.; MONTGOMERY, H. Angiotensin-I converting enzyme genotype-dependent benefit from hormone replacement therapy in isometric muscle strength and bone mineral density. **Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 86, n. 5, p. 2200-2204, 2001.

62 BLOK, L. J.; DE RUITER, P. E.; KUHNE, E. C. M.; HANEKAMP, E. E.; GROOTEGOED, J. A.; SMID-KOOPMAN, E.; GIELEN, S. C. J. P.; DE GOOYER, M. E.; KLOOSTERBOER, H. J.; BURGER, C. W. Progestagenic effects of tibolone on human endometrial cancer cells. **Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 88, n. 5, p. 2327-2334, 2003.

63 HANIFI-MOGHADDAM, P.; GIELEN, S. C. J. P.; KLOOSTERBOER, H. J.; DE GOOYER, M. E.; SIJBERS, A. M.; VAN GOOL, A. J.; SMID, M.; MOORHOUSE, M.; VAN WIJK, F. H.; BURGER, C. W.; BLOK, L. J. Molecular portrait of the progestagenic and estrogenic actions of tibolone: behavior of cellular networks in response to tibolone. **Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 90, n. 2, p. 973-983, 2005.

64 HAMMAR, M. L.; VAN DE WEIJER, P.; FRANKE, H. R.; PORNEL, B.; VON MAUW, E. M. J.; NIJLAND, E. A. Tibolone and low-dose continuous combined hormone treatment: vaginal bleeding pattern, efficacy and tolerability. **Bjog-an International Journal of Obstetrics and Gynaecology**, v. 114, n. 12, p. 1522-1529, 2007.

65 ORGANON (U S). H. P. D. Jongh; N. P. Vliet. **7alpha-methyl-steroids of the oestrane series**. US 3340279, 16 June 1964, 09 May 1967.

66 ORGANON (U S). M. S. Winter; E. A. Harryvan. **Process for the preparation of delta**5-3-keto-19-nor-steroids**. US 3475465, 24 June 1966, 28 Oct. 1969.

67 BOERRIGTER, S. X. M.; VAN DEN HOOGENHOF, C. J. M.; MEEKES, H.; VERWER, P.; BENNEMA, P. Pseudomorphic crystal growth of the model steroid methyl analogue of norethindrone. **Journal of Physical Chemistry B**, v. 106, n. 51, p. 13224-13230, 2002.

68 SCHOUTEN, A.; KANTERS, A. J. Structure of the triclinic modification of 17 β - hydroxy-19-nor-7 α -methyl-17 α -pregn-5(10)-en-20-yn-3-one (ORG OD14). **Acta Crystallographica Section C**, v. 47, n. 8, p. 1754-1756, 1991.

69 DECLERCQ, J. P.; VANMEERSSCHE, M.; ZEELEN, F. J. Conformational-analysis of 3-oxo 5(10)-unsaturated steroids - single-crystal x-ray structure-analysis of 17-hydroxy-7-alpha-methyl-19-nor-17-alpha-pregn-5(10)-en-20-yn-3-one (org od 14). **Recueil Des Travaux Chimiques Des Pays-Bas-Journal of the Royal Netherlands Chemical Society**, v. 103, n. 5, p. 145-147, 1984.

70 ESCANDE, A.; SERVANT, N.; RABENOELINA, F.; AUZOU, G.; KLOOSTERBOER, H.; CAVAILLÈS, V.; BALAGUER, P.; MAUDELONDE, T. Regulation of activities of steroid hormone receptors by tibolone and its primary metabolites. **The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, v. 116, n. 1-2, p. 8-14, 2009.

71 ARCHER, D. F.; HENDRIX, S.; GALLAGHER, J. C.; RYMER, J.; SKOUBY, S.; FERENCZY, A.; DEN HOLLANDER, W.; STATHOPOULOS, V.; HELMOND, F. A. Endometrial effects of tibolone. **Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 92, n. 3, p. 911-918, 2007.

72 DUBEY, R. K.; GILLESPIE, D. G.; GROGLI, M.; KLOOSTERBOER, H. J.; IMTHURN, B. Tibolone and its metabolites induce antimutagenesis in human coronary artery smooth muscle cells: role of estrogen, progesterone, and androgen receptors. **Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 89, n. 2, p. 852-859, 2004.

73 ANTONIO, S. G.; FERREIRA, F. F.; ARAUJO, G. L. B.; MATOS, J. D.; PAIVA-SANTOS, C. O. X-ray diffraction data of tibolone delta(4) isomer (isotibolone). **Powder Diffraction**, v. 24, n. 4, p. 337-342, 2009.

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

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

76 SWANEPOEL, E.; LIEBENBERG, W.; DE VILLIERS, M. M. Quality evaluation of generic drugs by dissolution test: changing the USP dissolution medium to distinguish between active and non-active mebendazole polymorphs. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 55, n. 3, p. 345-349, 2003.

77 FERREIRA, F. F.; ANTONIO, S. G.; ROSA, P. C. P.; PAIVA-SANTOS, C. O. Crystal structure determination of mebendazole form A using high-resolution synchrotron X-ray powder diffraction data. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, 2009. In press.

78 VAQUERO, M.; CABALLERO, R.; GÓMEZ, R.; NÚÑEZ, L.; TAMARGO, J.; DELPÓN, E. Effects of atorvastatin and simvastatin on atrial plateau currents. **Journal of Molecular and Cellular Cardiology**, v. 42, n. 5, p. 931-945, 2007.

79 ROSSI, S. **Australian medicines handbook**. 7th ed. Adelaide: Australian Medicines Handbook, 2006.

80 WARNER LAMBERT CO (U S). C. A. Briggs; R. A. Jennings; R. Wade; K. Harasawa; S. Ichikawa; K. Minohara; S. Nakagawa. **Crystalline [R- (R*,R*)]-2-(4-Dfluorophenyl)- β , δ -dihydroxy-5-(1-methylethyl)-3-phenyl-4-[(phenylamino)carbonyl]-1H-pyrrole-1-heptanoic acid hemi calcium salt (atorvastatin)**. US 5969156, 29 Sept. 1997, 19 Oct. 1999.

81 WARNER LAMBERT CO (U S). A. T. Mckenzie. **Form III crystalline [R-(R*,R*)]-2-(4-fluorophenyl)- β , δ -dihydroxy-5-(1-methylethyl)-3-phenyl-4-[(phenylamino) carbonyl]-1H-pyrrole-1-heptanoic acid calcium salt (2:1)**. US 6121461, 26 July 1999, 19 Sept. 2000.

82 TEVA PHARMACEUTICAL (IL). A. Ayalon; M. Levinger ; S. Roytblat; V. Niddam; R. Lifshitz; J. Aronhime. **Polymorphic form of atorvastatin calcium**. WO01/36384, 17 Nov. 1999, 25 May 2001.

83 TEVA PHARMACEUTICAL (IL) J. Aronhime; R. Lidor-Hadas; V. Niddam-Hildesheim; R. Lifshitz-Liron; E. Kovalevski-Ishai; G. Samburski. **Novel crystal forms of atorvastatin hemi-calcium and processes for their preparation as well as novel processes for preparing other forms**. EP1363621, 29 Nov. 2001, 28 Dec. 2005.

84 TEVA PHARMACEUTICAL (IL) J. Aronhime, R. Lidor-Hadas; V. Niddam; R. Lifshitz; S. Wizek. **Crystal forms of atorvastatin hemi-calcium and processes for their preparation as well as novel processes for preparing other forms**. US 7342120, 24 Oct. 2005, 11 Mar. 2008.

85 BERTOLINI, S.; BITTOLO BON, G.; CAMPBELL, L. M.; FARNIER, M.; LANGAN, J.; MAHLA, G.; PAUCIULLO, P.; SIRTORI, C.; EGROS, F.; FAYYAD, R.; NAWROCKI, J. W. Efficacy and safety of atorvastatin compared to pravastatin in patients with hypercholesterolemia. **Atherosclerosis**, v. 130, n. 1-2, p. 191-197, 1997.

86 HILL, R. J.; HOWARD, C. J. Quantitative phase-analysis from neutron powder diffraction data using the rietveld method. **Journal of Applied Crystallography**, v. 20, p. 467-474, 1987.

87 SCARLETT, N. V. Y.; MADSEN, I. C. Quantification of phases with partial or no known crystal structures. **Powder Diffraction**, v. 21, n. 4, p. 278-284, 2006.

88 TAYLOR, J. C.; MATULIS, C. E. Absorption contrast effects in the quantitative XRD analysis of powders by full multiphase profile refinement. **Journal of Applied Crystallography**, v. 24, n. 1, p. 14-17, 1991.

89 SUDA, M.; TAKAYAMA, K.; OTSUKA, M. An accurate quantitative analysis of polymorphic content by chemometric x-ray powder diffraction. **Analytical Sciences**, v. 24, n. 4, p. 451-457, 2008.

90 BERNSTEIN, J. **Polymorphism in molecular crystals**. Oxford: Clarendon Press, 2002.

- 91 PECHARSKY, V. K.; ZAVALIJ, P. Y. **Fundamentals of powder diffraction and structural characterization of materials**. 2nd ed. New York: Springer, 2005.
- 92 COELHO, A. **Topas Academic software**: version 4.1. Brisbane, 2007.
- 93 McCUSKER, L. B.; VON DREELE, R. B.; COX, D. E.; LOUËR, D.; SCARDI, P. Rietveld refinement guidelines. **Journal of Applied Crystallography**, v. 32, n. 1, p. 36-50, 1999.
- 94 JENKINS, R.; SNYDER, R. L. **Introduction to x-ray powder diffractometry**. New York: John Wiley & Sons, 1996. v. 138.
- 95 MALMROS, G.; THOMAS, J. O. Least-squares structure refinement based on profile analysis of powder film intensity data measured on an automatic microdensitometer. **Journal of Applied Crystallography**, v. 10, n. 1, p. 7-11, 1977.
- 96 THOMPSON, P.; COX, D. E.; HASTINGS, J. B. Rietveld refinement of debye-scherrer synchrotron x-ray data from Al₂O₃. **Journal of Applied Crystallography**, v. 20, p. 79-83, 1987.
- 97 COELHO, A. Indexing of powder diffraction patterns by iterative use of singular value decomposition. **Journal of Applied Crystallography**, v. 36, n. 1, p. 86-95, 2003.
- 98 SWANEPOEL, E.; LIEBENBERG, W. ; DEVARAKONDA, B.; VILLIERS, M. M. D. Developing a discriminating dissolution test for three mebendazole polymorphs based on solubility differences. **Pharmazie**, v. 58, n. 2, p. 117-121, 2003.
- 99 CHEBYSHEV, P. L. Théorie des mécanismes connus sous le nom de parallélogrammes. **Mémoires des Savants Étrangers Présentés à l'Académie de Saint-Pétersbourg**, v. 7, p. 539-586, 1854.
- 100 BALZAR, D. X-ray-diffraction line broadening - modeling and applications to high-Tc superconductors. **Journal of Research of the National Institute of Standards and Technology**, v. 98, n. 3, p. 321-353, 1993.
- 101 CHEARY, R. W.; COELHO, A. Axial divergence in a conventional x-ray powder diffractometer. i. theoretical foundations. **Journal of Applied Crystallography**, v. 31, n. 6, p. 851-861, 1998.

102 CHEARY, R. W.; COELHO, A. Axial divergence in a conventional x-ray powder diffractometer. ii. realization and evaluation in a fundamental-parameter profile fitting procedure. **Journal of Applied Crystallography**, v. 31, n. 6, p. 862-868, 1998.

103 PAIVA-SANTOS, C. O. **Estudos de cerâmicas piezoelétricas pelo método de rietveld com dados de difração de raios X**. 1990. 153 f. Tese (Doutorado em Física) - Instituto de Física, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1990.

104 DURBIN, J.; WATSON, G. S. Testing for serial correlation in least squares regression.1. **Biometrika**, v. 37, n. 3-4, p. 409-428, 1950.

105 DURBIN, J.; WATSON, G. S. Testing for serial correlation in least squares regression. 2. **Biometrika**, v. 38, n. 1-2, p. 159-178, 1951.

106 GOMEZ, A.; ANTONIO, S. G.; FERREIRA, F. F.; PAIVA-SANTOS, C. D. O.; KYCIA, S. Crystal structure of isotibolone, a major degradation product of tibolone. In: ANNUAL MEETING OF AMERICAN CRYSTALLOGRAPHIC ASSOCIATION, 15th 2009, Toronto. **Proceedings...** Buffalo: ACA, 2009.

ANEXO 1 – Conceitos técnicos ANVISA

Medicamento Genérico

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;

Medicamento Similar

Medicamento 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;

Medicamento de Referência

Medicamento inovador registrado no órgão federal responsável pela vigilância sanitária e comercializado no País, cuja eficácia, segurança e qualidade foram comprovadas cientificamente junto ao órgão federal competente, por ocasião do registro;

Equivalência Farmacêutica

Segundo a legislação brasileira, o medicamento genérico deve ser equivalente farmacêutico ao seu respectivo medicamento de referência, ou seja, deve conter o mesmo fármaco, na mesma dosagem e forma farmacêutica. O teste de equivalência farmacêutica é realizado "in vitro" (não envolve seres humanos), por laboratórios de controle de qualidade habilitados pela ANVISA. Os testes realizados são: Teor de Princípio ativo; Características físicas da formulação; Perfil de dissolução em meio aquoso.

Biodisponibilidade

^{***} Equivalente terapêutico de um medicamento de referência, comprovados, essencialmente, os mesmos efeitos de eficácia e segurança (ANVISA)

A biodisponibilidade relaciona-se à quantidade absorvida e à velocidade do processo de absorção do fármaco liberado a forma farmacêutica administrada. Quando dois medicamentos apresentam a mesma biodisponibilidade no organismo, sua eficácia clínica é considerada comparável.

Bioequivalência

O teste de bioequivalência consiste na demonstração de que o medicamento genérico e seu respectivo medicamento de referência (aquele para o qual foi efetuada pesquisa clínica para comprovar sua eficácia e segurança antes do registro) apresentam a mesma biodisponibilidade no organismo. A bioequivalência, na grande maioria dos casos, assegura que o medicamento genérico é equivalente terapêutico do medicamento de referência, ou seja, que apresenta a mesma eficácia clínica e a mesma segurança em relação ao mesmo.

Para realizar esse teste são administrados em pessoas sadias, em momentos distintos, uma dose do medicamento genérico e na outra ocasião, uma dose do medicamento de referência. Após cada administração destes medicamentos são recolhidas amostras sanguíneas, que após análises serão transformados em gráficos que mostram a liberação, absorção, distribuição, metabolização e eliminação destes medicamentos. Após esse processo, as informações são cruzadas e devem ter uma relação equivalente

ANEXO 2 – Excipientes dos comprimidos analisados.**CBZ:**

Para o comprimido foram utilizados os excipientes: amido de milho; celulose microcristalina avicel pH; dióxido de silício coloidal; estearato de magnésio; glicolato de amido sódico; polividona 30.

Ácido mefenâmico:

Os excipientes usados num comprimido do ácido mefenâmico são: amido de milho; celulose pH 102; dióxido de silício coloidal; estearato de magnésio; lauril sulfato de sódio; polividona 30; vanilina.

EMS - Amido, celulose microcristalina, estearato de magnésio, laurilsulfato de sódio, povidona, dióxido de silício.

Legrand - Amido, celulose microcristalina, estearato de magnésio, laurilsulfato de sódio, povidona, dióxido de silício.

Pfizer - Amido de milho , celulose microcristalina, estearato de magnésio, laurilsulfato de sódio, povidona 30, vanilina, corante amarelo FDC n°5 de alumínio laca, dióxido de silício coloidal.

Hexal - Amido de milho, celulose microcristalina, estearato de magnésio, laurilsulfato de sódio, povidona, dióxido de silício coloidal.

Ache - Amido, celulose microcristalina, estearato de magnésio, povidona, vanilina, croscarmelose sódica, amarelo de quinolina ,dióxido de silício

Mebendazol:

Janssen-Cilang - amido de milho, amido glicolato de sódio, aroma de morango, celulose microcristalina, dióxido de silício coloidal, estearato de magnésio, lactose, metilcelulose e sacarina sódica.

EMS - amido, talco, croscarmelose sódica, celulose microcristalina, manitol, estearato de magnésio, essência de laranja.

ANEXO 3 - Macro utilizada no programa TOPAS academic v 4.1 para correção de anisotropia.

```

prm lor2_h00 200 min .3
prm lor2_0k0 200 min .3
prm lor2_00l 200 min .3
prm lor2_hk0 200 min .3
prm lor2_h0l 200 min .3
prm lor2_0kl 200 min .3
prm lor2_hkl 200 min .3
prm gauss2_h00 200 min .3
prm gauss2_0k0 200 min .3
prm gauss2_00l 200 min .2
prm gauss2_hk0 200 min .3
prm gauss2_h0l 200 min .3
prm gauss2_0kl 200 min .2
prm gauss2_hkl 200 min .2
prm = 1 / IB_from_CS(gauss2_h00, lor2_h00); : 50 'LVol H00
prm = 0.89 / Voigt_FWHM_from_CS(gauss2_h00, lor2_h00); : 50 'L_FWHM_H00
prm = 1 / IB_from_CS(gauss2_0k0, lor2_0k0); : 50 'LVol 0K0
prm = 0.89 / Voigt_FWHM_from_CS(gauss2_0k0, lor2_0k0); : 50 'L_FWHM_0K0
prm = 1 / IB_from_CS(gauss2_00l, lor2_00l); : 50 'LVol H00
prm = 0.89 / Voigt_FWHM_from_CS(gauss2_00l, lor2_00l); : 50 'L_FWHM_00L
prm = 1 / IB_from_CS(gauss2_hk0, lor2_hk0); : 50 'LVol HK0
prm = 0.89 / Voigt_FWHM_from_CS(gauss2_hk0, lor2_hk0); : 50 'L_FWHM_HK0
prm = 1 / IB_from_CS(gauss2_h0l, lor2_h0l); : 50 'LVol H0L
prm = 0.89 / Voigt_FWHM_from_CS(gauss2_h0l, lor2_h0l); : 50 'L_FWHM_H0L
prm = 1 / IB_from_CS(gauss2_0kl, lor2_0kl); : 50 'LVol 0KL
prm = 0.89 / Voigt_FWHM_from_CS(gauss2_0kl, lor2_0kl); : 50 'L_FWHM_0KL
prm = 1 / IB_from_CS(gauss2_hkl, lor2_hkl); : 50 'This is LVol HKL
prm = 0.89 / Voigt_FWHM_from_CS(gauss2_hkl, lor2_hkl); : 50 'This is LVol_FWHM
lor_fwhm =
(0.1 Rad Lam / Cos(Th)) /
IF And(H == 0, L == 0) THEN
lor2_0k0
ELSE IF And(K == 0, L == 0) THEN
lor2_h00
ELSE IF And(H == 0, K == 0) THEN
lor2_00l
ELSE IF And(H == 0) THEN
lor2_0kl
ELSE IF And(K == 0) THEN
lor2_h0l
ELSE IF And(L == 0) THEN
lor2_hk0
ELSE
lor2_hkl
ENDIF
ENDIF

```

```
ENDIF
ENDIF
ENDIF
ENDIF ;
gauss_fwhm =
(0.1 Rad Lam / Cos(Th)) /
IF And(H == 0, L == 0) THEN
gauss2_0k0
ELSE IF And(K == 0, L == 0) THEN
gauss2_h00
ELSE IF And(H == 0, K == 0) THEN
gauss2_00l
ELSE IF And(H == 0) THEN
gauss2_0kl
ELSE IF And(K == 0) THEN
gauss2_h0l
ELSE IF And(L == 0) THEN
gauss2_hk0
ELSE
gauss2_hkl
ENDIF
ENDIF
ENDIF
ENDIF
ENDIF
ENDIF;
```

ANEXO 4 – Problemas que podem acontecer nos refinamentos.

Esse texto foi inicialmente escrito para um curso à distância ministrado no Instituto de Química. Tendo em vista que foi considerado suficientemente didático, foi decidido que o seu conteúdo não fosse incluído no texto da tese, mas como anexo, de forma que possa ser separado e distribuído livremente na Internet e nos cursos do IQ e do LabCACC.

O objetivo foi determinar as condições que as medidas devem ser realizadas em nosso equipamento, a fim de fornecer os mesmos resultados que se obtêm com os dados de alta resolução obtidos nas linhas D10B-XPD do Laboratório Nacional de Luz Síncrotron.

Esse princípio ativo possui dois polimorfos¹⁰⁷⁻¹⁰⁸, sendo um com estrutura cristalina conhecida, e um isômero¹⁰⁹, também com estrutura cristalina conhecida. Possui também alguns pseudo-polimorfos¹⁰⁸, que são compostos com moléculas do solvente que foram incorporadas á estrutura cristalina durante a recristalização, por exemplo.

Em todos os casos foi identificado apenas o polimorfo com estrutura cristalina descrita por J.F.McConnell e F.Z.Company em 1976¹⁰⁷.

Esse caso serviu para dar uma idéia das diferenças reais nas análises com dados obtidos com o anodo rotatório de cobre ($\lambda=1.5418\text{\AA}$) Rigaku RINT2000 (RIG) com raio do difratômetro de 185 mm, fenda de divergência de $0,25^\circ$, recepção de 0,3mm e fenda Soller de 5° de divergência, e com os dados obtidos na linha D10B-XPD do Laboratório nacional de Luz Síncrotron, em Campinas-SP, no modo de alta resolução usando capilares.

Abaixo (Figura 112) estão os difratogramas obtidos nos dois laboratórios.

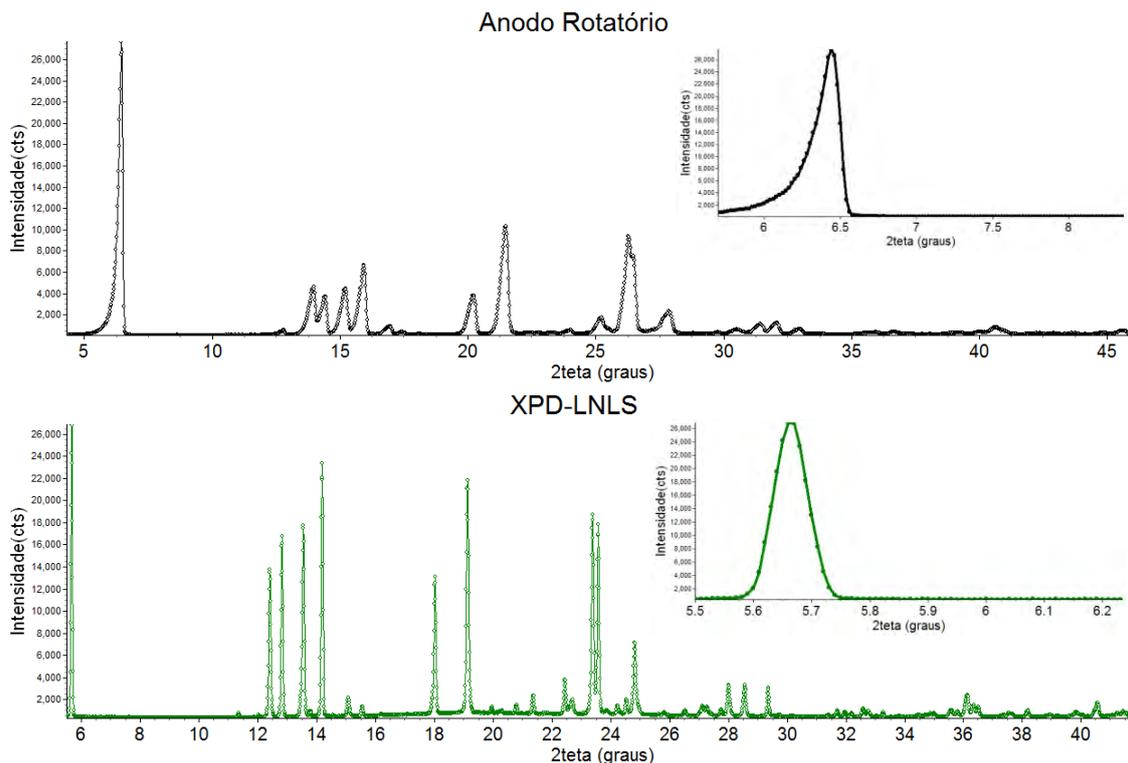


Figura 112. (a) Difratoograma obtido no anodo rotatório Rigaku RINT2000, do LIEC-Araraquara. (b) Difratoograma obtido na linha XPD do LNLS, no modo de geometria de transmissão (capilar) em alta resolução ($\lambda = 1.3117 \text{ \AA}$).

Note, nas ampliações na Figura 112, o pico (100). A assimetria do pico no caso do RIG é muito grande. No caso da XPD o pico é praticamente simétrico. A diferença na posição dos picos é devido à diferença nos comprimentos de onda (1.5418 \AA para o anodo de cobre e 1.3771 \AA no caso do LNLS). Essa grande assimetria é causada pela extremamente alta divergência axial de $\sim 5,2^\circ$ da fenda Soller. Detalhes sobre os efeitos da divergência axial sobre o alargamento e deslocamento dos picos podem ser encontrados no livro de Jenkins e Snyder¹¹⁰, páginas 187 a 191. Essa divergência é suficiente para análises de materiais cerâmicos, que normalmente possuem poucos picos abaixo de 20° (2θ) e baixa sobreposição acima de 20° (2θ), mas para compostos orgânicos isso é um grande problema, pois a divergência axial, além de causar essa altíssima assimetria causa também deslocamento dos picos da posição de Bragg e mais sobreposição acima de 20° .

Na Tabela 18 estão os resultados dos refinamentos da estrutura do ácido mefenâmico com os dois conjuntos de dados. A cela unitária refinada com os dois conjuntos de dados é bem diferente.

Tabela 18. Alguns resultados obtidos com os dados do nosso laboratório e do Laboratório Nacional de Luz Síncrotron.

	RIG	XPD	RIG-fix
a (Å)	14,596(2)	14,5539(5)	idem XPD
b (Å)	6,833(1)	6,8111(2)	idem XPD
c (Å)	7,675(1)	7,6605(2)	idem XPD
α (°)	119,61(1)	119,529(2)	idem XPD
β (°)	103,971(7)	103,914(2)	idem XPD
γ (°)	91,28(1)	91,348(3)	idem XPD
V (V ³)	636,74(18)	632,21(4)	idem XPD
Rwp (%)	8,162	3,046	8,875
χ^2	2,103	1,423	2,284
d-DW	0,564	1,164	0,499

RIG: Anodo Rotatório Rigaku, fenda Soller 5°. RIG-fix. Cella unitária não refinada
XPD: linha XPD-Laboratório Nacional de Luz Síncrotron, $\lambda=1.3771\text{Å}$.
Rwp. Índice de qualidade do refinamento¹¹¹, d-DW: estatística-*d* de Durbin-Watson.

A explicação para isso requer alguns comentários sobre os dois equipamentos usados nas medidas. Na Tabela 19 estão algumas comparações entre eles. O grande alargamento instrumental do RIG produz alta sobreposição de picos, enquanto que no LNLS a sobreposição é muito baixa. Por ter baixa absorção, ocorre um deslocamento de $\Delta 2\theta$ dos picos devido à transparência da amostras aos raios X, sendo que $\Delta 2\theta = (\text{sen } 2\theta)/(2\mu R)$, em que R é o raio do difratômetro e μ o coeficiente de absorção linear, tem-se que o maior deslocamento de picos ocorre para $\theta = 45^\circ$.

O deslocamento da amostra, *s*, produz deslocamento dos picos que varia com $\cos(\theta)$,

$$\Delta 2\theta = \frac{2 s \cos\theta}{R}$$

Portanto, maior deslocamento de picos para ângulos mais baixos.

Pela lei de Bragg, vemos que o erro na posição dos picos introduz erro nos parâmetros da cela unitária, e quanto mais baixo o 2θ maior é o erro. A lei de Bragg é:

$$\lambda = 2 d \text{sen}\theta,$$

isolando d tem-se

$$d = \lambda/2 \operatorname{sen}\theta$$

e diferenciando tem-se

$$\sigma d = \sigma\theta \frac{\lambda \cos\theta}{2 (\operatorname{sen}\theta)^2}$$

que dá o erro nas distâncias interplanares (σd) em função do erro na medida de 2θ ($\sigma\theta$).

Na Figura 113 são mostrados os efeitos de transparência e deslocamento da amostra. Na Figura 114 é mostrado o erro introduzido nas distâncias interplanares pelo erro na medida de 2θ . Veja que na região onde estão os picos mais intensos dos fármacos é a região onde ocorre o maior erro na medida das posições dos picos.

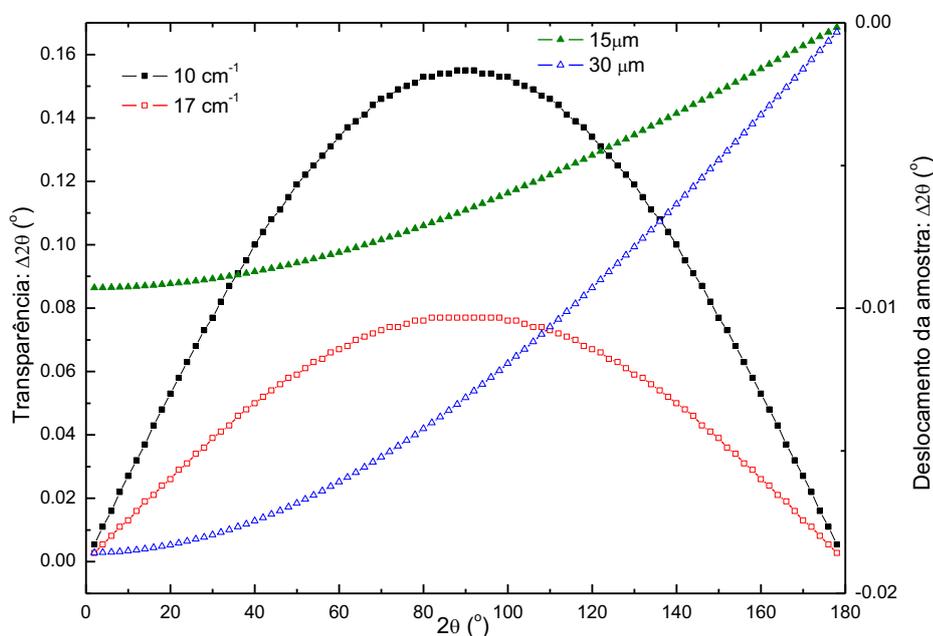


Figura 113. Representação da dependência dos erros na posição do pico em função do coeficiente de absorção linear μ (transparência) e deslocamento da amostra s , para um tubo de cobre

A orientação preferencial é outro artefato que causa alterações nas intensidades relativas dos picos de um padrão de difração. A medida com capilar praticamente elimina a orientação preferencial, enquanto que no porta-amostra plano a orientação preferencial é inevitável e chega a ser muito alta no caso de fármacos na forma de agulha ou plaquetas, como é comum acontecer. Em situações de alta sobreposição de picos e muitas fases, a correlação entre os parâmetros de rede e os que corrigem a orientação preferencial é alta. Nas Figuras 115 e 116 estão simulações mostrando o efeito que a orientação preferencial causa em um padrão de difração, na configuração de Bragg-Brentano, em função da forma do cristalito. A Figura 115(a) é o difratograma simulado para o caso sem orientação preferencial e cristalito isotrópico. A Figura 115(b) é o difratograma simulado para o caso sem orientação preferencial e cristalito com forma de agulha e dimensões (40, 360, 40)nm respectivamente nas direções de a, b, c. A Figura 115(c) representa a realidade para o caso da amostra ser depositada sobre um porta amostra plano para medidas na geometria Bragg-Brentano. Os cristalitos tendem a se posicionar com o eixo das agulhas paralelo à superfície do porta amostra, de forma que poucos ou nenhum cristalito irão ter planos (0k0) em condição de Bragg para apresentar picos de difração. Note que a altura dos picos se alteram em função da anisotropia do cristalito. Na figura 116(a) é o padrão simulado de difração para o caso de um cristalito na forma de plaqueta e dimensões (360,40, 360)nm respectivamente nas direções de **a, b, c**. Na Figura 116(b) está o padrão de difração com as plaquetas orientadas paralelamente á superfície do porta-amostra.

A intensidade relativa se mantém, mas como a largura dos picos se alteram em função das dimensões dos cristalitos, ocorre essa aparente alteração na intensidade relativa. Ou seja, o pico pode ter mesma área, e se a largura for menor, o pico ficamais alto, e vice-versa.

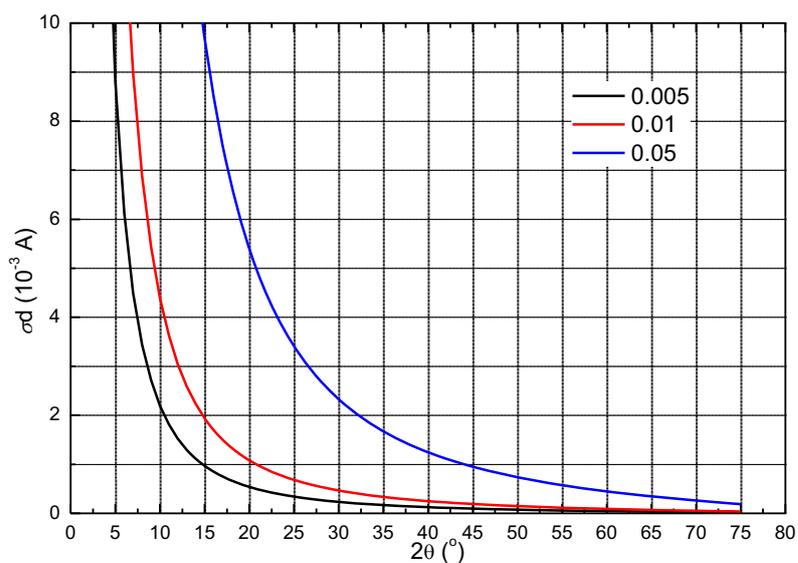


Figura 114. Dependência do erro na distância interplanar, σd , em função do ângulo de Bragg, para alguns erros na medida de 2θ , para radiação de cobre $K\alpha_1$ ($\lambda = 1,5406$ Å).

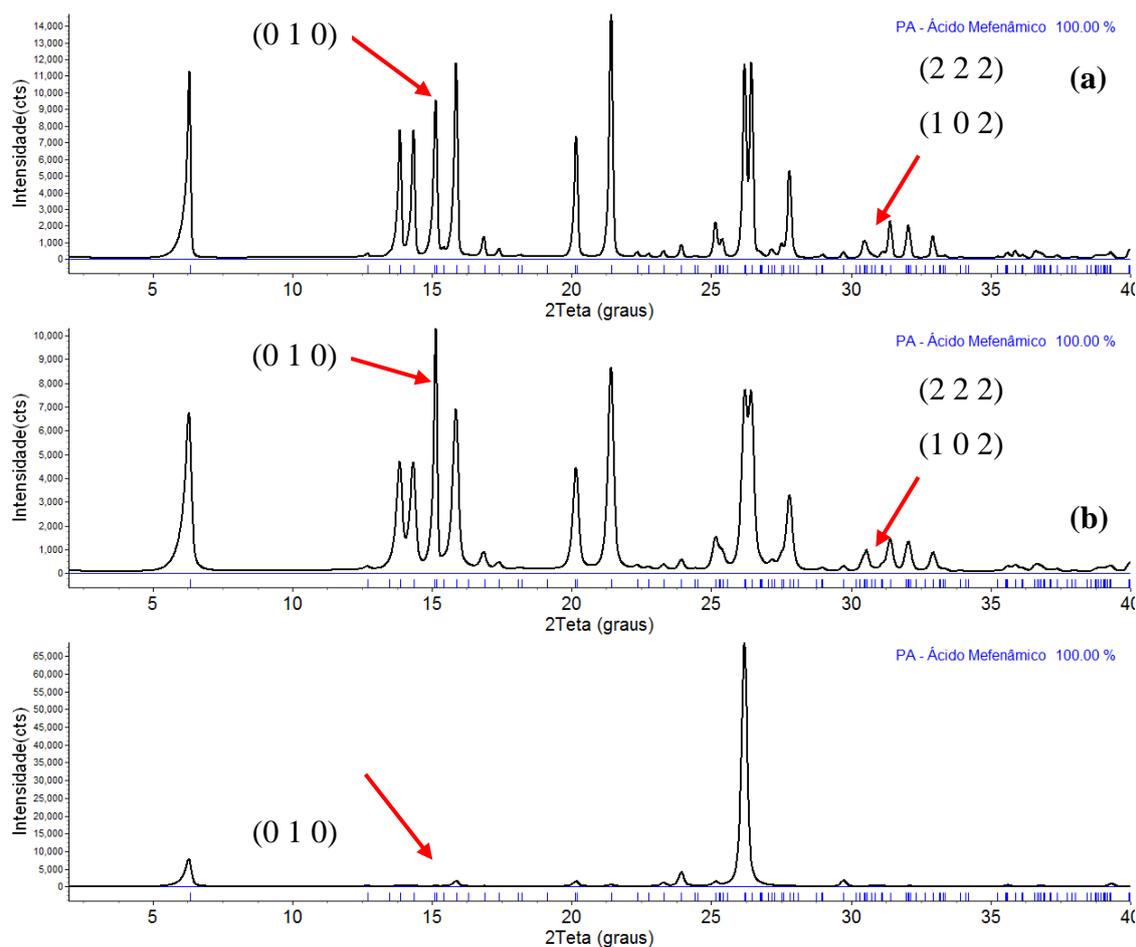


Figura 115. (a) Padrão de difração para o caso de cristalito isotrópico e sem orientação preferencial. (b) Cristalito na forma de agulha com comprimento (40, 360, 40) nm respectivamente nas direções de a, b, c. Sem orientação preferencial (c) agulhas orientadas paralelas à superfície do porta-amostra. As setas indicam as posições dos planos que em (b) e (c) estão em orientação preferencial.

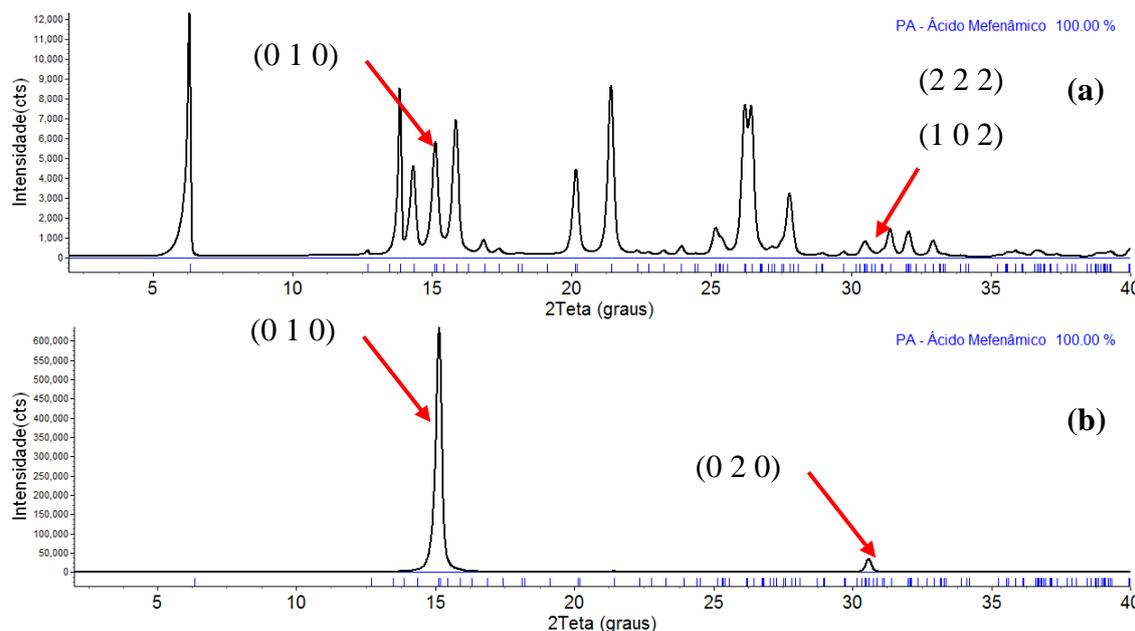


Figura 116. Cristalito na forma de plaqueta, de dimensões (360, 40, 360)nm respectivamente nas direções de a, b, c. (a) Sem orientação preferencial e (b) com as placas se acomodando paralelamente á superfície do porta amostra. As setas indicam as posições dos planos que em (b) está em orientação preferencial.

O refinamento da cela unitária pelo método de mínimos-quadrados irá buscar os valores de a , b , c , α , β e γ que minimizam a função minimização (FM) definida soma do quadrado das diferenças entre os difratogramas observado e calculado¹¹²⁻¹¹³.

$$FM = \sum w_i (y_{obs} - y_{calc})^2,$$

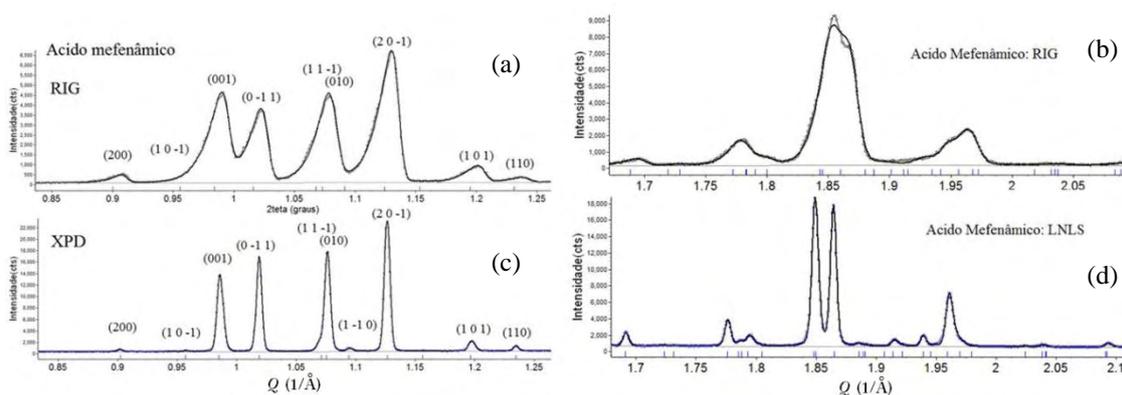
w_i é o peso da i^a e y_{obs}, y_{calc} são, respectivamente a intensidade medida e calculada no i^o ponto. E, nesse processo, os parâmetros da cela unitária irão variar buscando a melhor posição para os picos, de forma a fornecer o valor mínimo da FM. A Figura 117 apresenta algumas regiões onde se pode observar que com dados de alta resolução a sobreposição de picos é muito menor. Nessa Figura 117 os difratogramas são mostrados no espaço Q ($=2\pi/d$) para que se possam comparar diretamente os picos correspondentes em cada caso. Note que durante o refinamento vários parâmetros correlacionados deverão ser refinados, entre eles os que estão relacionados com:

- Alta orientação preferencial,
- Sobreposição devido à baixa resolução,
- Sobreposição devido ao tamanho de cristalito,

- Sobreposição devido à baixa simetria e grande cela unitária,
- Deslocamentos dos picos causados pelo deslocamento da amostra,
- Deslocamento dos picos causados planaridade da amostra. Veja a página 191 a 193 do livro de Jenkins e Snyder¹¹⁴,
- Alta divergência axial que causa tanto assimetria quando deslocamento dos picos.

Tabela 19. Comparação de características experimentais entre os dois equipamentos usados.

	RIG	XPD-LNLS
$2\theta_0$	Zero	≈ 0 (ajustado em cada medida)
Deslocamento amostra	\neq Zero (varia para cada medida)	Zero
Alargamento instrumental	Alto, $\approx 0.7^\circ$ (2θ)	$< 0.2^\circ$ (2θ)
Radiação	α_1 e α_2 ($I\alpha_2/I\alpha_1=0.5$)	Definido pelo usuário através de monocromador
divergência axial	5° (fenda Soller)	≈ 0 (ajustado por sistema de espelhos)
Porta amostra	Plano	Capilar
Área atingida pelos feixe de raios X	17,5mm em $5,2^\circ(2\theta)$ fenda horizontal 5mm	Capilar de 0.7mm diâmetro por ≈ 3 mm ao longo do capilar

Figura 117. Detalhes de regiões em Q ($2\pi/d$), onde a sobreposição dos picos é nítida, (a) e (b) são medidas do equipamento convencional Rigaku e (c) e (d) de alta resolução do LNLS.

Assim, não é de estranhar que diferenças significativas ocorram entre as duas medidas, pois com os dados obtidos no LNLS nenhum dos problemas citados acima existe. Assim, devemos tomar por base as medidas obtidas no LNLS, realizar os refinamentos e depois

procurar encontrar com o RIG qual a melhor maneira de realizar as medidas e os cálculos, a fim de se obter resultados comparáveis aos do LNLS.

A recomendação para as análises com dados de baixa resolução e tantos problemas experimentais envolvidos é manter os parâmetros da cela unitária fixos nos valores encontrados na referência, enquanto corrige o deslocamento da amostra, assimetria, orientação preferencial, alargamento físico e, uma vez concluído, fixar tudo e refinar os parâmetros da cela unitária. E só então liberar novamente os outros parâmetros.

Na Figura 118 estão os difratogramas das outras duas amostras de matérias primas de comprimidos de ácido mefenâmico analisadas em nosso laboratório. Os refinamentos foram realizados seguindo as sugestões descritas acima. Não foram realizadas medida no LNLS para essas amostras, tendo em vista que, além dos procedimentos definidos para os cálculos serem adequados, apenas uma fase foi observada e não havia necessidade de análise quantitativa de fases. As duas amostras abaixo apresentam tamanho médio de cristalito de 670Å e 1050Å respectivamente para B002648 e MA00741107. Os cálculos foram realizados usando parâmetros fundamentais¹¹⁵ implementados no programa Topas Academic v4.2, de Alan Coelho¹¹⁶. Nota-se que na amostra com maiores cristalitos existe uma alta orientação preferencial dos planos (00l), enquanto que na amostra B002648 praticamente não houve orientação preferencial.

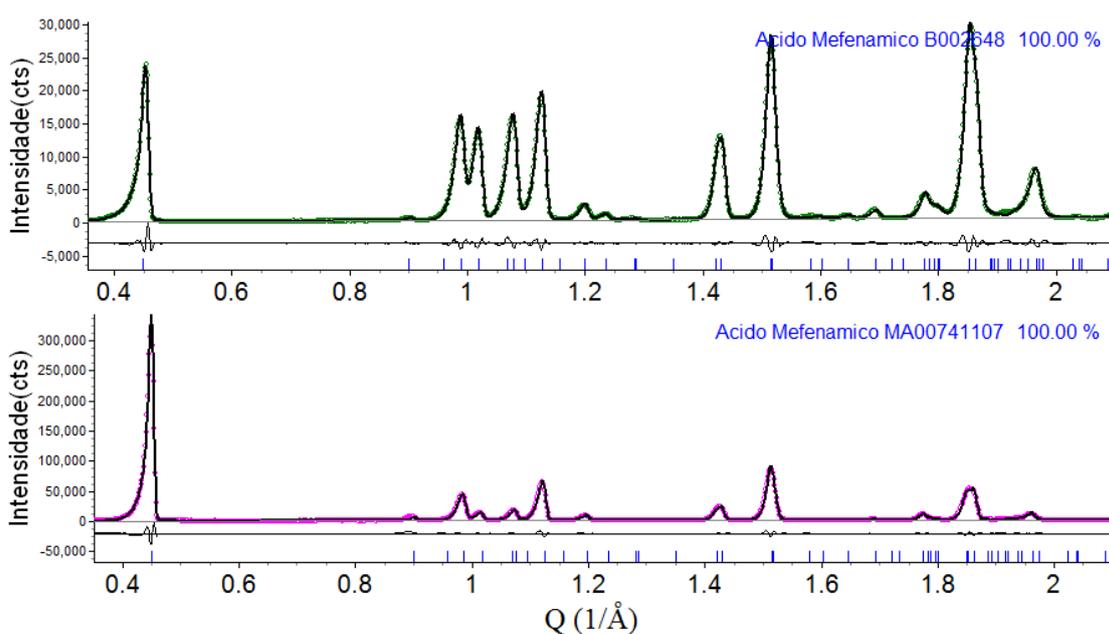


Figura 118. Gráficos de Rietveld de duas amostras de princípio ativo ácido mefenâmico. Nota-se na amostra MA00741107 uma alta orientação preferencial.

Durante a execução desse trabalho com o ácido mefenâmico notamos que o banco de dados de difração de raios X ICDD-PDF possui várias fichas com erros. São mostrados aqui apenas o do ácido mefenâmico, mas vários outros existem, como, por exemplo, a ficha do mebendazol forma A.

No ICDD-PDF existem 4 registros de dados de DRX para esse fármaco, sendo 3 para a forma I e 1 para a forma II. Na Figura 119 estão os dados das quatro fichas juntamente com o difratograma observado nesse trabalho. A forma II (picos vermelhos) nitidamente não corresponde à forma presente no material que estamos analisando. Sobram, então, as outras três que correspondem à forma I, que é o que esperamos para o nosso material.

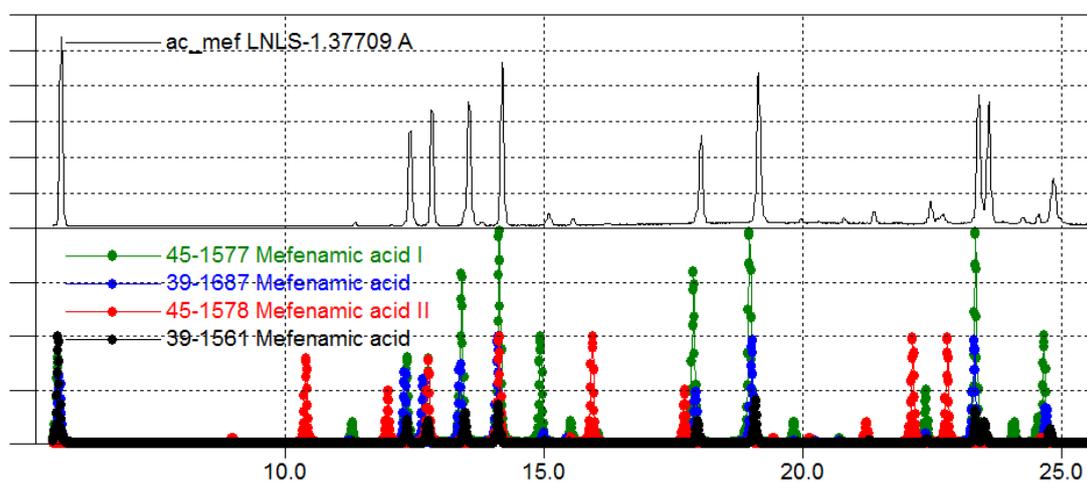


Figura 119. Difratograma observado do ácido mefenâmico e as quatro fichas do ICDD-PDF.

Veja as comparações separadamente (Fig 120(a)-(c)). Em cada caso, picos que foram observados não são fornecidos nas fichas do ICDD-PDF, indicando que o material que estamos analisando possui contaminantes.

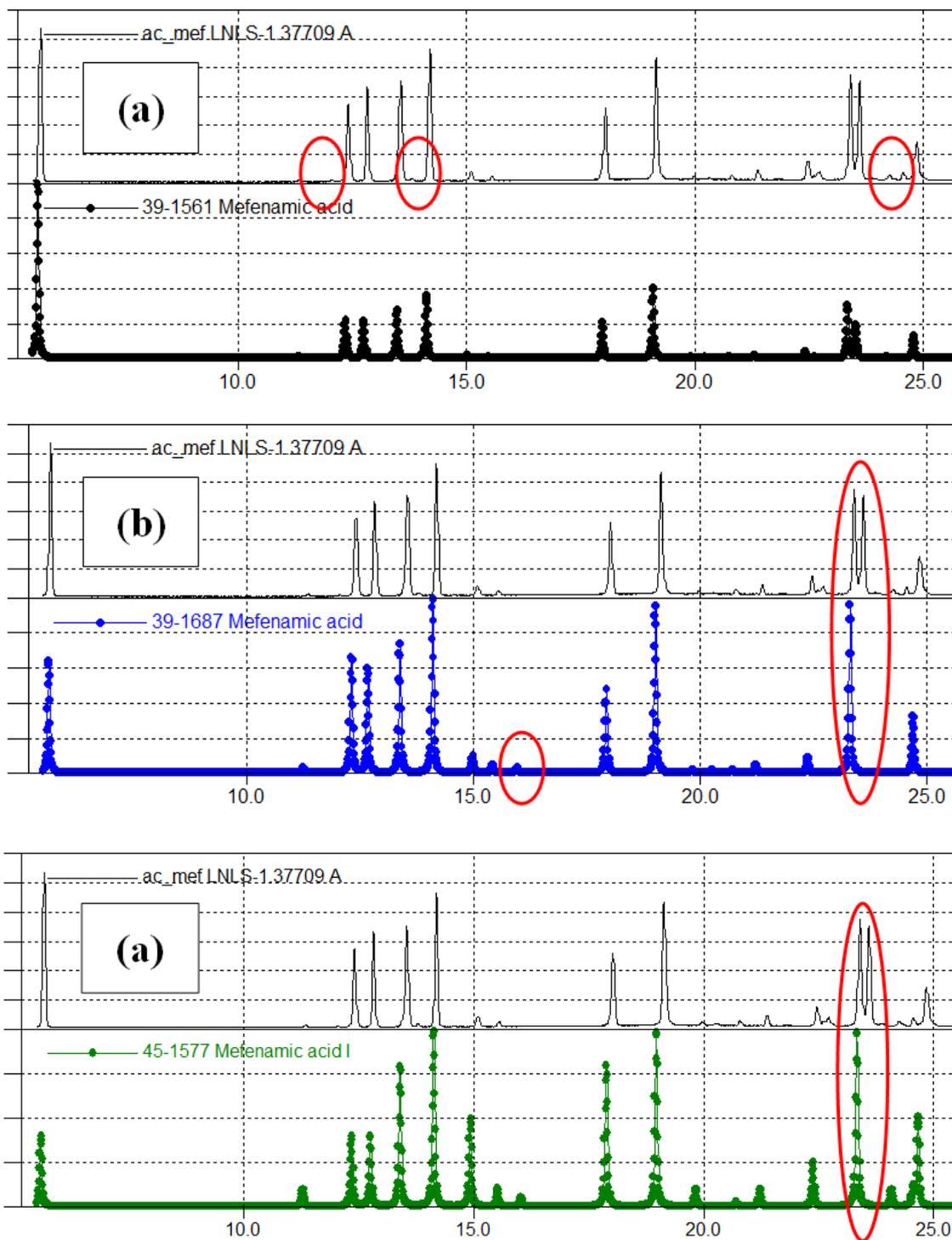


Figura 120. Comparações do difratograma observado do ácido mefenâmico com as fichas ICDD-PDF. Em cada ficha falta pelo menos um pico, destacados por elipses.

Entretanto, como a estrutura cristalina é conhecida, faz-se um refinamento e todos os picos observados são perfeitamente ajustados (Figura 121). No caso do LNLS, praticamente não se observa orientação preferencial.

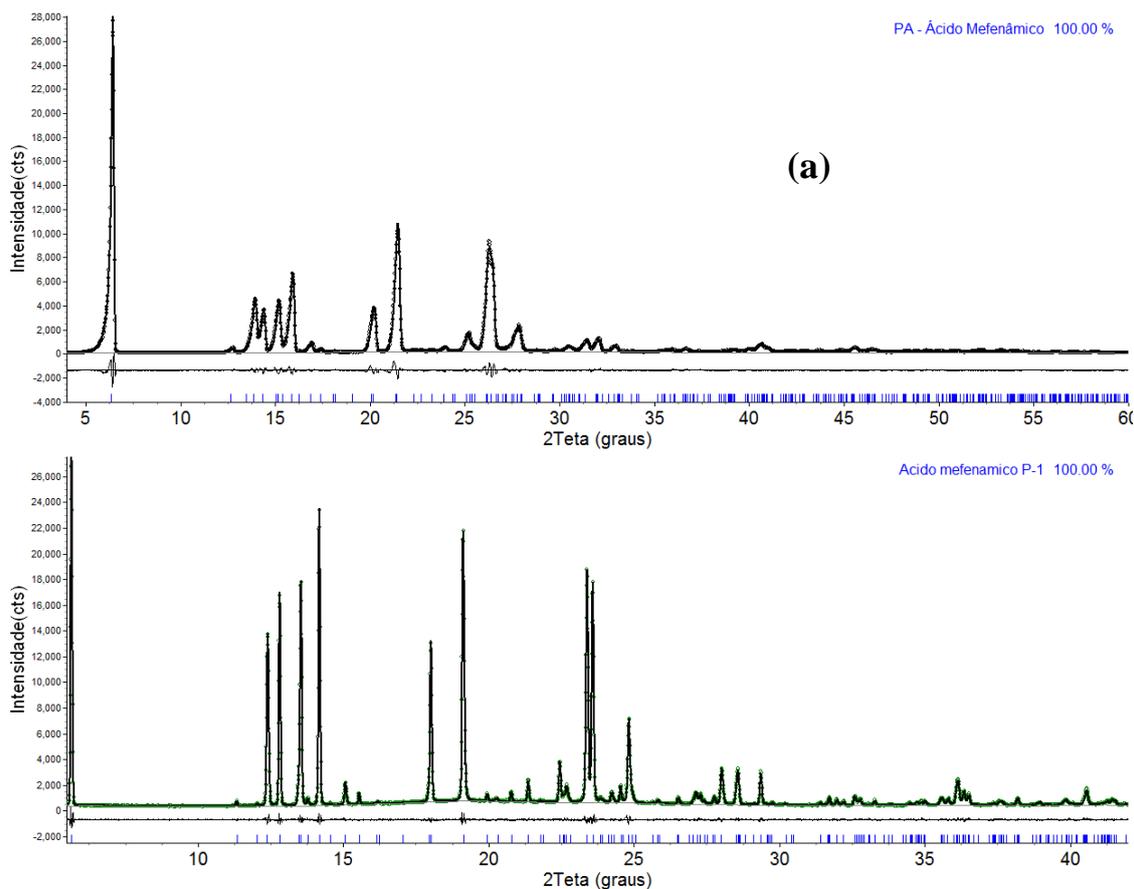


Figura 121. Refinamentos pelo método de Rietveld, com dados (a) do anodo rotatório e (b) da linha D10B-XPD do LNLS.

Isso serviu para nós como um alerta para o uso do banco ICDD-PDF. Quando um pico observado ficar “sobrando”, não quer dizer que o material está contaminado, mesmo que esse pico tenha intensidade altíssima, como foi o caso com as fichas 39-1687 e 45-1577 mostradas aqui. Para casos como esses, deve-se procurar pela estrutura cristalina, e se não encontrar, as patentes podem ser uma alternativa para buscar os padrões de difração, embora, não raramente, os difratogramas apresentados nas patentes são os piores possíveis. Temos apresentados vários exemplos em cursos e palestras em eventos científicos sobre os problemas que podem surgir com a confiança exagerada nesse banco de dados, que, embora seja caro, ainda assim é útil para o início dos trabalhos.

As conclusões sobre as análises relacionadas às variações de cela unitária descritas acima foram baseadas não apenas na análise do ácido mefenâmico, mas em todas as análises realizadas com matérias primas descritas na tese.

107. J.F.MCCONNELL & F.Z.COMPANYN-(2,3-xylyl) anthranilic acid C₁₅H₁₅NO₂ mefenamic acid.**Cryst.Struct.Commun.**, v.5, p. 861-864, 1976.
108. LIANG, F., SACHIIHIKO, N., DAISUKE, K., HIDEO, U., KOJI, N., HIROSHI, M. & YASUNORI, M.Physicochemical and crystallographic characterization of mefenamic acid complexes with alkanolamines.**Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.93, n.1, p. 144-154, 2004.
109. VASO, D., DIMITRA, K.-D., JERRY, P. J., ANGELIKI, G. & MAVROUDIS, A. D.Synthesis, Spectroscopic Studies, and Crystal Structures of Phenylorganotin Derivatives with [Bis(2,6-dimethylphenyl)amino]benzoic Acid: Novel Antituberculosis Agents.**Helvetica Chimica Acta**, v.87, n.8, p. 1940-1950, 2004.
110. RON JENKINS & SNYDER, R. L. *Introduction to X-Ray Powder Diffractometry*. (Wiley-Interscience, 1996).
111. YOUNG, R. A. & WILES, D. B.Profile Shape Functions in Rietveld Refinements.**Journal of Applied Crystallography**, v.15, n.AUG, p. 430-438, 1982.
112. RIETVELD, H. M.A Profile Refinement Method for Nuclear and Magnetic Structures.**Journal of Applied Crystallography**, v.2, p. 65-71, 1969.
113. PAIVA SANTOS, C. O. in <http://labcacc.iq.unesp.br/publicacoes/> Vol. 2006 (ed LabCACC) (LabCACC publications, 2004).
114. JENKINS, R. & SNYDER, R. L. *Introduction to X-Ray Powder Diffractometry*. (Wiley-Interscience, 1996).
115. CHEARY, R. W. & COELHO, A.A fundamental parameters approach to X-ray line-profile fitting.**Journal of Applied Crystallography**, v.25, n.2, p. 109-121, 1992.
116. Topas Academic v.4.1 (Coelho Software, Brisbane, Australia, 2007).

APÊNDICE 1

Índices de Miller (hkl), posição dos picos em 2θ e intensidade relativa (I100/%) para Atorvastatina Forma I.

h	k	l	2θ	I100
0	0	1	2.689	100
0	0	2	5.380	11
0	0	3	8.074	26
0	1	1	8.346	19
0	1	0	8.444	19
0	1	2	9.084	28
0	-1	1	9.352	22
0	1	3	10.485	19
0	0	4	10.772	10
0	-1	2	10.872	6
0	1	4	12.327	1
0	-1	3	12.788	<1
0	0	5	13.476	5
0	1	5	14.446	<1
0	-1	4	14.954	11
1	0	-1	15.076	25
1	0	0	15.120	12
1	-1	-1	15.143	45
1	-1	-2	15.285	20
1	-1	0	15.480	4
1	0	-2	15.510	2
1	0	1	15.640	5
1	-1	-3	15.893	7
0	0	6	16.188	2
1	-1	1	16.267	14
1	0	-3	16.387	1
1	0	2	16.591	2
0	2	1	16.616	2
0	2	2	16.736	3
0	1	6	16.740	3
1	-1	-4	16.918	3
0	2	0	16.934	2
0	-1	5	17.279	26
0	2	3	17.285	15
1	-1	2	17.445	<1
1	0	-4	17.641	11
0	-2	1	17.667	<1
1	0	3	17.907	2
0	2	4	18.226	1
1	-1	-5	18.292	5
0	-2	2	18.768	5
0	0	7	18.909	9
1	-1	3	18.942	6
1	1	0	19.028	1
0	1	7	19.151	34
1	0	-5	19.202	6
1	1	1	19.213	2
1	1	-1	19.229	4
1	-2	-2	19.267	29

1	-2	-1	19.388	10
0	2	5	19.503	5
1	0	4	19.517	12
1	-2	-3	19.525	3
0	-1	6	19.711	1
1	1	2	19.772	1
1	1	-2	19.804	5
1	-2	0	19.884	5
1	-1	-6	19.947	5
1	-2	-4	20.150	24
0	-2	3	20.179	14
1	1	3	20.677	14
1	-1	4	20.694	2
1	1	-3	20.723	19
1	-2	1	20.727	8
1	0	-6	21.004	6
0	2	6	21.059	25
1	-2	-5	21.111	<1
1	0	5	21.357	<1
0	0	8	21.640	3
0	1	8	21.645	5
1	-1	-7	21.822	1
0	-2	4	21.843	4
1	-2	2	21.880	<1
1	1	4	21.886	3
1	1	-4	21.944	6
0	-1	7	22.220	<1
1	-2	-6	22.365	6
1	-1	5	22.644	<1
0	2	7	22.839	<1
1	0	-7	22.994	<1
1	-2	3	23.299	<1
1	1	5	23.355	3
1	0	6	23.377	<1
1	1	-5	23.424	8
0	-2	5	23.710	2
1	-1	-8	23.868	<1
1	-2	-7	23.870	2
0	1	9	24.200	2
0	0	9	24.384	7
1	-1	6	24.750	<1
0	-1	8	24.788	2
0	2	8	24.800	2
1	-2	4	24.942	<1
0	3	2	25.022	1
1	1	6	25.042	<1
1	1	-6	25.119	4
0	3	1	25.124	<1
1	0	-8	25.132	7
0	3	3	25.218	<1
1	2	1	25.317	<1
1	2	0	25.357	2
0	3	0	25.519	<1
1	0	7	25.539	<1

1	2	2	25.572	3
1	-2	-8	25.584	4
1	-3	-2	25.620	3
1	-3	-3	25.640	<1
1	2	-1	25.690	4
0	3	4	25.705	2
0	-2	6	25.740	2
1	-3	-1	25.891	8
1	-3	-4	25.950	11
1	-1	-9	26.049	<1
1	2	3	26.111	5
0	-3	1	26.197	<1
1	2	-2	26.305	3
1	-3	0	26.444	1
0	3	5	26.469	2
1	-3	-5	26.540	<1
1	-2	5	26.770	2
0	1	10	26.805	1
0	2	9	26.905	6
1	1	7	26.909	<1
1	2	4	26.921	<1
1	-1	7	26.979	<1
1	1	-7	26.993	2
0	-3	2	27.136	<1
0	0	10	27.143	2
1	2	-3	27.184	3
1	-3	1	27.264	4
1	0	-9	27.388	1
1	-3	-6	27.393	<1
0	-1	9	27.403	3
1	-2	-9	27.471	<1
0	3	6	27.487	2
1	0	8	27.814	<1
0	-2	7	27.901	<1
1	2	5	27.979	<1
1	2	-4	28.305	1
0	-3	3	28.313	7
1	-3	2	28.328	<1
1	-1	-10	28.340	3
1	-3	-7	28.489	<1
0	3	7	28.735	<1
1	-2	6	28.753	2
1	1	8	28.925	<1
1	1	-8	29.015	<1
0	2	10	29.127	2
2	-1	-2	29.243	<1
1	2	6	29.261	<1
1	-1	8	29.308	1
2	-1	-1	29.319	<1
2	-1	-3	29.424	<1
0	1	11	29.452	1
1	-2	-10	29.504	1
1	-3	3	29.613	3
1	2	-5	29.643	3

2	-1	0	29.652	<1
0	-3	4	29.703	<1
1	0	-10	29.739	<1
1	-3	-8	29.802	<1
2	-1	-4	29.858	<1
0	0	11	29.917	<1

APÊNDICE 2

Índices de Miller (hkl), posição dos picos em 2θ e intensidade relativa(I100/%) para Isotibolona.

h	k	l	2θ	I100
0	2	0	6.861	3
1	0	0	10.760	46
1	1	0	11.296	70
0	0	1	11.359	38
0	1	1	11.868	6
-1	2	0	12.772	3
0	2	1	13.282	32
1	0	1	13.702	5
0	4	0	13.747	4
1	1	1	14.128	100
1	3	0	14.916	13
1	2	1	15.338	48
0	3	1	15.355	6
1	3	1	17.171	4
-1	0	1	17.423	6
-1	4	0	17.489	15
-1	1	1	17.762	4
0	4	1	17.867	16
-1	2	1	18.744	2
1	4	1	19.456	<1
-1	3	1	20.280	12
1	5	0	20.337	4
0	5	1	20.665	4
0	6	0	20.683	<1
2	0	0	21.616	<1
2	1	0	21.893	3
2	0	1	21.951	6
1	5	1	22.061	5
2	1	1	22.224	9
-1	4	1	22.259	2
2	2	0	22.704	1
0	0	2	22.831	<1
1	0	2	22.855	<1
2	2	1	23.024	3
0	1	2	23.094	2
1	1	2	23.117	2
1	6	0	23.369	3
0	6	1	23.657	<1
0	2	2	23.866	1
1	2	2	23.889	4
2	3	0	23.998	<1
2	3	1	24.301	5
-1	5	1	24.582	5
1	6	1	24.893	2
0	3	2	25.104	<1
1	3	2	25.126	<1
-2	4	0	25.706	<1

2	4	1	25.991	4
-1	7	0	26.531	<1
0	4	2	26.746	<1
1	4	2	26.767	<1
0	7	1	26.787	<1
-2	0	1	26.790	<1
-2	1	1	27.016	<1
-1	6	1	27.168	1
-1	0	2	27.544	<1
2	0	2	27.605	2
-2	2	1	27.686	<1
0	8	0	27.696	<1
-2	5	0	27.759	<1
-1	1	2	27.765	9
2	1	2	27.825	2
1	7	1	27.893	<1
2	5	1	28.024	<1
-1	2	2	28.419	7
2	2	2	28.477	3
0	5	2	28.730	<1
1	5	2	28.749	<1
-2	3	1	28.770	<1
-1	3	2	29.478	<1
2	3	2	29.535	<1
1	8	0	29.791	6
-1	7	1	29.957	<1
0	8	1	30.022	4
2	6	0	30.092	3
-2	4	1	30.229	1
2	6	1	30.339	<1
-1	4	2	30.906	<1
2	4	2	30.961	<1
0	6	2	30.996	<1
1	6	2	31.014	<1
1	8	1	31.022	2
3	0	1	31.972	<1
-2	5	1	32.015	<1
3	1	1	32.165	<1
2	7	0	32.653	1
-1	5	2	32.659	<1
3	0	0	32.673	<1
2	5	2	32.711	<1
3	2	13	2.739	<1
-3	1	0	32.863	<1
2	7	1	32.883	<1
-1	8	1	32.908	4
1	9	0	33.133	2
0	9	1	33.342	1
3	2	0	33.425	1
0	7	2	33.495	<1
<1	1	7		
1	0	3	33.667	<1
3	3	1		<1
1	1	3		<1

-2	6	1	34.084	2
1	9	1	34.256	<1
3	3	0	34.345	<1
1	2	3	34.400	<1
0	0	3	34.541	<1
-1	6	2	34.694	<1
0	1	3	34.721	2
2	6	2	34.743	<1
0	10	0	34.818	<1
3	4	1	34.949	<1
0	2	3	35.258	1
-2	0	2	35.265	<1
1	3	3	35.298	<1
3	0	2	35.346	<1
-2	8	0	35.403	<1
-2	1	2	35.442	<1
3	1	2	35.523	2
3	4	0	35.598	<1
2	8	1	35.617	<1
-2	2	2	35.970	<1
-1	9	1	35.991	<1
3	2	2	36.049	1
0	3	3	36.137	<1
0	8	2	36.189	<1
1	8	2	36.204	<1
2	0	3	36.327	<1
-2	7	1	36.395	2
2	1	3	36.499	<1
1	4	3	36.522	<1
3	5	1	36.530	1
1	10	0	36.545	1
0	10	1	36.737	<1
-2	3	2	36.834	<1
3	3	2	36.912	<1
-1	7	2	36.972	<1
2	2	3	37.014	<1
2	7	2	37.018	<1
-3	5	0	37.155	<1
-3	0	1	37.245	<1
0	4	3	37.337	<1
-3	1	1	37.415	<1
1	10	1	37.579	<1
2	3	3	37.857	<1
-3	2	1	37.918	<1
-2	4	2	38.015	<1
1	5	3	38.046	<1
3	4	2	38.091	<1
2	9	0	38.311	2
3	6	1	38.385	<1
2	9	1	38.510	<1
-1	0	3	38.738	<1
-3	3	1	38.745	<1
0	5	3	38.834	<1
-1	1	3	38.902	2

-2	8	1	38.914	<1
-3	6	0	38.985	<1
2	4	3	39.012	<1
0	9	2	39.046	<1
1	9	2	39.060	<1
-1	10	1	39.186	<1
-1	2	3	39.389	1
-1	8	2	39.459	<1
-2	5	2	39.490	<1
2	8	2	39.503	<1
3	5	2	39.563	<1