

Rachel de Sousa Augusto

**Caracterização do insumo nimesulida e desenvolvimento de uma
formulação de comprimidos de liberação imediata**

Rio de Janeiro

2015

Rachel de Sousa Augusto

**Caracterização do insumo nimesulida e desenvolvimento de uma formulação
de comprimidos de liberação imediata**

Dissertação apresentada como um dos requisitos para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-graduação em Gestão, Pesquisa e Desenvolvimento na Indústria Farmacêutica, do Instituto de Tecnologia em Fármacos – Fundação Oswaldo Cruz

Orientadores: Dra. Erika Martins de Carvalho
Dr. Helvécio Vinícius Antunes Rocha

Rio de Janeiro
2015

Rachel de Sousa Augusto

**Caracterização do insumo nimesulida e desenvolvimento de uma formulação
de comprimidos de liberação imediata**

Dissertação apresentada como um dos requisitos para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-graduação em Gestão, Pesquisa e Desenvolvimento na Indústria Farmacêutica, do Instituto de Tecnologia em Fármacos – Fundação Oswaldo Cruz

Aprovada em 28 de abril de 2015.

Banca Examinadora:

Profa. Dra. Erika Martins de Carvalho (Presidente da banca)
Farmanguinhos – FIOCRUZ

Profa. Dra. Silvia Lucia Cuffini
Instituto de Ciência e Tecnologia – Universidade Federal de São Paulo

Profa. Dra. Samanta Cardozo Mourão
Faculdade de Farmácia – Universidade Federal Fluminense

Profa. Dra. Claudia Regina Brandão Gomes
Farmanguinhos – FIOCRUZ

Rio de Janeiro

2015

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca de Medicamentos e Fitomedicamentos/
Farmanguinhos / FIOCRUZ - RJ

A922c Augusto, Rachel de Sousa

Caracterização do insumo nimesulida e desenvolvimento de uma
formulação de comprimidos de liberação imediata. / Rachel de Sousa
Augusto . – Rio de Janeiro, 2015.

xix, 170f. : il. ; 30 cm.

Orientadora: Dra. Erika Martins de Carvalho

Co-orientador: Dr. Helvécio Vinícius Antunes Rocha

Dissertação (mestrado) – Instituto de Tecnologia em Fármacos –
Farmanguinhos, Pós-graduação em Gestão, Pesquisa e
Desenvolvimento na Indústria Farmacêutica, 2015.

Bibliografia: f. 165-175

1. Nimesulida. 2. Polimorfismo. 3. Caracterização de matéria-prima.
4. Perfil de dissolução. 5. Desenvolvimento de formulação. I. Título.

CDD 615.1

DEDICATÓRIA

A Deus, pela dádiva da vida, por me incluir em seus planos e me presentear com uma mãe de coração humilde, generoso e íntegro.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me fortalecer a cada dificuldade, por renovar a minha fé e pelos suprimentos de paz e tranquilidade.

À minha mãe, Elma de Sousa, todo o meu reconhecimento e gratidão por seu amor incondicional e infinita paciência e por dedicar a sua vida em me proporcionar não apenas conhecimento e oportunidades, mas também valores e virtudes.

À minha querida avó (*in memoriam*), Genny Gomes, por todo o amor até hoje presente em minhas lembranças.

À minha família e aos amigos, pela compreensão nos momentos de ausência, pelas palavras de carinho e incentivo nas situações difíceis e pelo entusiasmo a cada conquista.

Aos meus orientadores Helvécio Rocha e Erika Carvalho, sempre incansáveis nos ensinamentos, por ampliarem os meus horizontes e pela sabedoria em dosar os momentos enérgicos e rigorosos com as palavras de conforto e elogio.

À Livia Prado e ao Eduardo Sousa, pela inestimável ajuda nas análises de caracterização e por serem tão atenciosos e prestativos.

À direção do Laboratório Químico Farmacêutico do Exército, pelo apoio e liberação para as atividades do mestrado.

Às colegas de trabalho Bianca Gonzalez, Clara Dias e Patrícia Dias, pela parceria, dedicação, amizade e pelos inesquecíveis momentos de descontração.

À chefia do Laboratório de Controle de Qualidade do LQFEx e toda a sua equipe, por disponibilizar os equipamentos sempre que possível e ainda compartilhar tempo e conhecimentos na discussão dos resultados.

Aos colegas do mestrado, pela maravilhosa convivência, pela cumplicidade e trocas de experiência.

Aos integrantes do Laboratório de Difração de Raios X da UFF, do Laboratório Multiusuário de RMN de Sólidos do IQ/UFRJ, do Setor de Caracterização Tecnológica da Coordenação de Análise Mineral (SCT/COAM) do CETEM, do Laboratório de Tecnologia Farmacêutica e do Laboratório de Sistemas Farmacêuticos Avançados, ambos de Farmanguinhos/FIOCRUZ que foram essenciais para a realização de ensaios importantes desse trabalho.

A todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

Toda casa tem uma janela, se tiver janela também pode ter porta, e ainda mais uma muralha. O importante é saber como pular para dentro, quais as chaves compatíveis e como abrir os ferrolhos.

Virgílio

RESUMO

AUGUSTO, Rachel de Sousa. *Caracterização do insumo nimesulida e desenvolvimento de uma formulação de comprimidos de liberação imediata*. 2015. 188f. Dissertação de Mestrado Profissional em Gestão, Pesquisa e Desenvolvimento na Indústria Farmacêutica, do Instituto de Tecnologia em Fármacos – Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2015.

A nimesulida é um fármaco anti-inflamatório não esteroidal (AINE), com seletividade preferencialmente para a COX-2. A nimesulida é um ácido fraco, praticamente insolúvel em água e está classificado como um fármaco de Classe II do Sistema de Classificação Biofarmacêutica. Além disso, apresenta polimorfismo, sendo descrito na literatura o polimorfo I e II, que demonstram algumas diferenças identificadas através da análise térmica, difração de raios X e RMN no estado sólido. Nesse trabalho, amostras do fármaco nimesulida obtidas de diferentes fabricantes, sendo duas amostras micronizadas e uma não micronizada, foram caracterizadas através de análise térmica, técnicas espectroscópicas, análise morfológica, ensaios de fluidez e avaliação biofarmacêutica. Com os resultados obtidos, verificou-se que as amostras são de um mesmo polimorfo, não apresentam boa fluidez e as variações dos tamanhos de partícula influenciam nos ensaios de avaliação biofarmacêutica. O delineamento das formulações e a escolha do processo produtivo foram conduzidos com base nos resultados obtidos nos ensaios de caracterização do fármaco. Os lotes galênicos foram avaliados através da realização de perfis de dissolução utilizando os parâmetros preconizados pela Farmacopeia Brasileira (FB 5, 2010) e comparados com o medicamento de referência Nisulid[®]. As formulações propostas apresentaram diferentes comportamentos de dissolução, podendo destacar a escolha do tensoativo, do aglutinante e as etapas de adição do tensoativo e desintegrante como fundamentais para a obtenção de resultados mais favoráveis. Foi selecionado o lote galênico que apresentou valores de cedência mais próximos do medicamento de referência e, em seguida, avaliou-se o comportamento em meios de dissolução contendo diferentes concentrações de tensoativo, com o objetivo de verificar se a concentração de 2% (v/v) de polissorbato 80, preconizado pela Farmacopeia Brasileira, estaria superestimando a biodisponibilidade do ativo em condições *in vivo*. Os resultados obtidos demonstraram que o percentual de tensoativo presente no meio de dissolução impacta diretamente na quantidade de fármaco dissolvida. A formulação selecionada demonstrou resultados promissores para prosseguir com a fabricação dos biolotes e realização do estudo de equivalência farmacêutica.

Palavras-chave: Nimesulida. Polimorfismo. Caracterização de matéria-prima. Perfil de dissolução. Desenvolvimento de formulação.

ABSTRACT

AUGUSTO, R. S. Characterization of nimesulide and development of a immediate release formulation tablets. 2015. 188p. Professional Master's Thesis in Management, Research and Development in the Pharmaceutical Industry, Institute of Pharmaceutical Technology – FIOCRUZ, Rio de Janeiro, 2015.

Nimesulide is a nonsteroidal antiinflammatory drug (NSAID), preferably with selectivity for COX-2. Nimesulide is a weak acid, almost insoluble in water and classified as a Class II drug Biopharmaceutical Classification System. Moreover, the literature has been described polymorph I and II, which show some differences identified by thermal analysis, diffraction X-ray and NMR in the solid state. In this study, drug nimesulide samples were obtained from different manufacturers, two micronized and one non-micronized samples were characterized by thermal analysis, spectroscopic techniques, morphological analysis, flowability and biopharmaceutical evaluation. The results showed that the samples belong to the same polymorph, do not have good flowability and particle size variations affect the biopharmaceutical evaluation tests. The design of the formulations and the choice of the production process were carried out based on the results obtained in the characterization of the drug tests. Pilot batches were evaluated by conducting dissolution profiles using the parameters established by the Brazilian Pharmacopoeia (FB 5, 2010) and compared with the reference Nisulid[®]. The proposed formulations show different dissolution behavior, and may highlight the choice of the surfactant, binder and adding steps of the surfactant and binding essential for obtaining most favorable results. The closest pilot batch dissolution values of the reference product was selected and then evaluated the behavior of dissolution media containing different concentrations of surfactant, in order to verify if the concentration of 2% (v/v) polysorbate 80, recommended by the Brazilian Pharmacopoeia, would be overestimating the bioavailability of the drug *in vivo* conditions. The results showed that the percentage of surfactant present in the dissolution medium directly impacts the amount of dissolved drug. The selected formulation demonstrated promising results to proceed with the manufacture of biobatches and the pharmaceutical equivalence study.

Keywords: Nimesulide. Polymorphism. Characterization of the raw material. Dissolution profile. Formulation development.

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1	Fórmulas estruturais dos AINEs.....	19
FIGURA 2	Inibidores não seletivos da COX-2.....	23
FIGURA 3	Inibidores seletivos e altamente seletivos da COX-2.	24
FIGURA 4	Metabólitos da nimesulida.....	27
FIGURA 5	Curvas de DSC dos polimorfos da nimesulida (SANPHUI <i>et al.</i> , 2011).....	30
FIGURA 6	Espectros de infravermelho dos polimorfos da nimesulida (SANPHUI <i>et al.</i> , 2011).....	31
FIGURA 7	Espectros de RAMAN dos polimorfos da nimesulida (SANPHUI <i>et al.</i> , 2011).	32
FIGURA 8	Sobreposição dos três confôrmeros da nimesulida, do polimorfo I (azul e rosa) e polimorfo II (vermelho) (Adaptado de SANPHUI <i>et al.</i> , 2011).	33
FIGURA 9	Sobreposição dos padrões de difração de raios X de pó para as formas I e II (em preto), com as linhas simuladas da estrutura cristalina (em vermelho). (A) Forma I e (B) Forma II (SANPHUI <i>et al.</i> , 2011).	34
FIGURA 10	Microscopia eletrônica de varredura da nimesulida (NALLURI <i>et al.</i> , 2002).	39
FIGURA 11	Principais processos de obtenção de comprimidos: granulação úmida e compressão direta.....	53
FIGURA 12	Fluxograma do desenvolvimento farmacotécnico das formulações propostas de nimesulida 100 mg comprimidos simples.....	72
FIGURA 13	Curvas de DSC das amostras NM1, NM2 e NM3 com razão de aquecimento de 5°C.min ⁻¹	84
FIGURA 14	Curvas de DSC das amostras NM1, NM2 e NM3 com razão de aquecimento de 10°C.min ⁻¹	84
FIGURA 15	Curvas de DSC das amostras NM1, NM2 e NM3 com razão de aquecimento de 20°C.min ⁻¹	85
FIGURA 16	Curvas de DSC das amostras NM1, NM2 e NM3 com razão de aquecimento de 40°C.min ⁻¹	85
FIGURA 17	Espectros de absorção no infravermelho das amostras NM1, NM2 e NM3.	87
FIGURA 18	Padrões de difração de raios X das amostras NM1, NM2 e NM3 e os padrões calculados dos polimorfos I e II da nimesulida obtidos do CDCC.....	91
FIGURA 19	Fórmula estrutural da nimesulida com a identificação dos anéis aromáticos A e B.....	94
FIGURA 20	Espectros de RMN ¹ H em CDCl ₃ da amostra NM2	95

FIGURA 21	Espectro de RMN ¹³ C em CDCl ₃ da amostra NM2.....	96
FIGURA 22	Espectro DEPT135 em CDCl ₃ da amostra NM2.....	97
FIGURA 23	Espectro de RMN HSQC em CDCl ₃ da amostra NM2.....	98
FIGURA 24	Espectro de RMN ¹³ C CP/MAS da amostra NM2.....	102
FIGURA 25	Sobreposição dos três confômeros da nimesulida, do polimorfo I (azul e rosa) e polimorfo II (vermelho) (SANPHUI <i>et al.</i> , 2011).....	103
FIGURA 26	Espectros de RMN no estado sólido dos polimorfos I e II da nimesulida (Adaptado de SANPHUI <i>et al.</i> , 2011).....	103
FIGURA 27	Gráfico da distribuição granulométrica da amostra NM1	107
FIGURA 28	Gráfico da distribuição granulométrica da amostra NM2	107
FIGURA 29	Gráfico da distribuição granulométrica da amostra NM3	107
FIGURA 30	Microscopia eletrônica de varredura das amostras NM1 (A), NM2 (B) e NM3 (C), utilizando um aumento de 250 X, 20 kV.	110
FIGURA 31	Microscopia eletrônica de varredura das amostras NM1 (A), NM2 (B) e NM3 (C), utilizando um aumento de 2.000 X, 20 kV.	110
FIGURA 32	Microscopia eletrônica de varredura da amostra NM1, com medições, utilizando aumento de 500 X, 20 kV.	111
FIGURA 33	Microscopia eletrônica de varredura da amostra NM2, com medições, utilizando aumento de 16.000 X, 20 kV.	112
FIGURA 34	Microscopia eletrônica de varredura da amostra NM3, com medições, utilizando aumento de 16.000 X, 20 kV.	112
FIGURA 35	Imagens do ensaio de molhabilidade das amostras NM1 (a), NM2 (b) e NM3 (c).....	114
FIGURA 36	Dissolução por dispersão das amostras de nimesulida NM1, NM2 e NM3 em meio de solução tampão fosfato de potássio pH 7,4 com 2,0% de polissorbato 80, volume 900mL, utilizando o aparato pá a 75 rpm.....	116
FIGURA 37	Dissolução intrínseca das amostras de nimesulida NM1, NM2 e NM3 em 500 mL de meio tampão fosfato de potássio pH 7,4 com 2,0% de polissorbato 80 e 10,0% de etanol, utilizando pá a 300 rpm (n=3).	122
FIGURA 38	Gráfico de fluxo por orifício da amostra NM1	128
FIGURA 39	Gráfico de fluxo por orifício da amostra NM2.....	129
FIGURA 40	Gráfico de fluxo por orifício da amostra NM3.....	129
FIGURA 41	Sobreposição dos perfis de dissolução dos lotes galênicos L ₁ , L ₂ , L ₃ , L ₄ , L ₇ e do medicamento de referência (R), nas condições farmacopeicas (FB 5, 2010).....	145
FIGURA 42	Correlação entre d _{4,3} , molhabilidade, dispersão (t = 15 min) e dissolução (t = 15 min).....	147

FIGURA 43	Sobreposição dos perfis de dissolução do lote galênico L ₂ e do medicamento de referência (R), em tampão fosfato de potássio pH 7,4 contendo diferentes concentrações de polissorbato 80 (2,0%, 1,0% e 0,5%).	153
FIGURA 44	Espectro de infravermelho da amostra NM1	176
FIGURA 45	Espectro de infravermelho da amostra NM2	177
FIGURA 46	Espectro de infravermelho da amostra NM3	178
FIGURA 47	Espectro de RMN ¹ H em CDCl ₃ da amostra NM1	179
FIGURA 48	Espectro de RMN ¹ H em CDCl ₃ da amostra NM2	180
FIGURA 49	Espectro de RMN ¹ H em CDCl ₃ da amostra NM3	181
FIGURA 50	Espectro de RMN ¹³ C em CDCl ₃ da amostra NM2	182
FIGURA 51	Espectro de DEPT135 em CDCl ₃ da amostra NM2	183
FIGURA 52	Espectro de RMN HMBC em CDCl ₃ da amostra NM2	184
FIGURA 53	Espectro de RMN HSQC em CDCl ₃ da amostra NM2	185
FIGURA 54	Fotomicrografia da amostra NM1, utilizando um aumento de 250 X, 20 kV.	186
FIGURA 55	Fotomicrografia da amostra NM2, utilizando um aumento de 250 X, 20 kV.	187
FIGURA 56	Fotomicrografia da amostra NM3, utilizando um aumento de 250 X, 20 kV.	188

ÍNDICE DE QUADROS E TABELAS

QUADRO 1	Compilação dos resultados das análises de caracterização das amostras NM1, NM2 e NM3.....	156
QUADRO 2	Compilação dos resultados dos ensaios realizados com os lotes galênicos.....	159
TABELA 1	Sistema de Classificação Biofarmacêutica	42
TABELA 2	Parâmetros que influenciam na dissolução do fármaco no trato gastrointestinal (TGI).....	51
TABELA 3	Escala de fluidez de acordo com o índice de compressibilidade (ou de Carr) e razão de Hausner (FONTE: USP 36, 2013).....	69
TABELA 4	Classificação da fluidez em função do ângulo de repouso	70
TABELA 5	Resultados obtidos no ensaio de perda por dessecação das amostras NM1, NM2 e NM3.....	79
TABELA 6	Resultados do ensaio cinzas sulfatadas obtidos com as amostras NM1, NM2 e NM3.....	79
TABELA 7	Resultados de doseamento das amostras NM1, NM2 e NM3.....	80
TABELA 8	Dados obtidos a partir das curvas de DSC, T_{onset} , T_{pico} e entalpia (ΔH), para as amostras NM1, NM2 e NM3 nas diferentes razões de aquecimento utilizadas.....	82
TABELA 9	Parâmetros utilizados nas análises de DSC com amostras de nimesulida, apresentados na literatura e no presente trabalho.....	83
TABELA 10	Frequências (cm^{-1}) das amostras NM1, NM2 e NM3 e atribuições das bandas de absorção.....	88
TABELA 11	Frequências (cm^{-1}) dos polimorfos da nimesulida	89
TABELA 12	Comparativo dos picos de difração de raios X característicos dos polimorfos I e II apresentados pela literatura, pelo CCDC e obtidos nos experimentos com as amostras NM1, NM2 e NM3.....	92
TABELA 13	Correlação entre os deslocamentos químicos 1H e ^{13}C observados no espectro HMBC da amostra NM2.....	99
TABELA 14	Correlação entre os deslocamentos químicos obtidos nos espectros 1H e ^{13}C da amostra NM2.....	100
TABELA 15	Comparação dos deslocamentos químicos de RMN em $CDCl_3$ e RMN no estado sólido (continua).....	104
TABELA 16	Resultados dos tamanhos de partículas e índice de dispersividade das amostras NM1, NM2 e NM3	106
TABELA 17	Ângulos de contato medidos no ensaio de molhabilidade com as amostras NM1, NM2 e NM3.....	114
TABELA 18	Médias das quantidades de fármaco dissolvidas ($n=3$), obtidas nos tempos de amostragem das amostras NM1, NM2 e NM3.....	116

TABELA 19	Comparação dos perfis de dissolução por dispersão das amostras NM1, NM2 e NM3, utilizando os parâmetros F1, F2 e ED.....	117
TABELA 20	Comparativo dos métodos e resultados utilizados nos ensaios de dissolução por dispersão de nimesulida apresentados na literatura e no presente trabalho.....	118
TABELA 21	Ensaio de dissolução intrínseca realizados com as amostras NM1, NM2 e NM3 (n=3).....	120
TABELA 22	Resultados das taxas de dissolução intrínseca em $\text{mg}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{cm}^{-2}$ das amostras de nimesulida em estudo.....	122
TABELA 23	Resultados das densidades aparente e compactada das amostras NM1, NM2 e NM3 (n=3).....	124
TABELA 24	Resultados do índice de compressibilidade e razão de Hausner das amostras NM1, NM2 e NM3.....	125
TABELA 25	Resultados do ângulo de repouso e fluxo por orifícios das amostras de nimesulida.....	128
TABELA 26	Descrição qualitativa do medicamento de referência Nisulid [®]	132
TABELA 27	Formulações dos lotes galênicos produzidos.....	133
TABELA 28	Resultados encontrados de peso médio e variação de peso obtidos com os comprimidos dos lotes galênicos e do medicamento de referência (n=20).....	135
TABELA 29	Resultados dos testes de dureza e friabilidade dos lotes galênicos e do medicamento de referência.....	136
TABELA 30	Resultados dos testes de desintegração dos lotes galênicos e do medicamento de referência.....	139
TABELA 31	Resultados de doseamento dos comprimidos dos lotes galênicos L ₁ , L ₂ , L ₃ , L ₄ , L ₅ , L ₆ e L ₇ e do medicamento de referência (R).....	140
TABELA 32	Médias das quantidades de fármaco dissolvidas (%) dos lotes galênicos L ₁ , L ₂ , L ₃ , L ₄ , L ₇ e do medicamento de referência (R), nas condições farmacopeicas (FB 5, 2010) e seus respectivos valores de eficiência de dissolução (ED).....	144
TABELA 33	Médias das quantidades de fármaco dissolvidas (%) do lote galênico L ₂ e do medicamento de referência (R) em tampão fosfato pH 7,4 contendo diferentes concentrações de polissorbato 80 (2,0%, 1,0% e 0,5%).....	152
TABELA 34	Especificações do IFA nimesulida, com base nos critérios de DSC e distribuição do tamanho de partícula por difração de LASER.....	161

ÍNDICE DE EQUAÇÕES

Equação 1	Ângulo de repouso	40
Equação 2	Índice de compressibilidade	41
Equação 3	Razão de Hausner	41
Equação 4	Noyes-Whitney	49
Equação 5	Noyes-Whitney modificada.....	49
Equação 6	Fator de diferença	66
Equação 7	Fator de similaridade.....	66
Equação 8	Eficiência de dissolução.....	67
Equação 9	Densidade aparente	68
Equação 10	Densidade compactada.....	69
Equação 11	Friabilidade.....	75

LISTA DE ABREVIATURAS

AAS	Ácido acetilsalicílico
AINE	Anti-inflamatório não esteroideal
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ASC	Área sob a curva
C _{max}	Concentração plasmática máxima
CCDC	<i>Cambridge Crystallographic Data Centre</i>
COX	Ciclo-oxigenase
DMF	<i>Drug Master File</i>
DRX	Difração de raios X
DSC	<i>Differential scanning calorimetry</i> (calorimetria exploratória diferencial)
ED	Eficiência de dissolução
F1	Fator de diferença
F2	Fator de similaridade
FB	Farmacopeia Brasileira
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
IC	Índice de Compressibilidade
IFA	Insumo farmacêutico ativo
IV	Espectroscopia no infravermelho
IVIV	<i>In vivo-in vitro</i>
LASER	<i>Light amplification by stimulated emission</i>
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
FAP	Fator de ativação plaquetária
PGE	Prostaglandina

PGI	Prostaciclina
RDC	Resolução de Diretoria Colegiada
RH	Razão de Hausner
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
SCB	Sistema de Classificação Biofarmacêutica
TDI	Taxa de dissolução intrínseca
TG	Termogravimetria
TGI	Trato gastrointestinal
T _{max}	Tempo para atingir a concentração plasmática máxima
UV/VIS	Ultravioleta e visível

SUMÁRIO

Sumário	i
Índice de Figuras	ii
Índice de Tabelas	iii
Índice de Equações	iv
Lista de Abreviaturas	v
INTRODUÇÃO	19
1 REVISÃO DA LITERATURA	21
1.1 Inflamação	21
1.2 Anti-inflamatórios não esteroidais	22
1.3 Nimesulida	24
1.3.1 <u>Propriedades farmacológicas</u>	25
1.3.2 <u>Propriedades farmacocinéticas</u>	26
1.3.3 <u>Propriedades físico-químicas</u>	28
1.4 Métodos analíticos utilizados para a caracterização de insumos farmacêuticos ativos	29
1.4.1 <u>Análise térmica (TG e DSC)</u>	29
1.4.2 <u>Espectroscopia no infravermelho e Raman</u>	30
1.4.3 <u>Difração de raios X</u>	33
1.4.4 <u>Ressonância Magnética Nuclear (RMN)</u>	35
1.4.5 <u>Caracterização do tamanho de partícula</u>	37
1.4.6 <u>Microscopia eletrônica de varredura (MEV)</u>	38
1.4.7 <u>Fluxo dos pós</u>	39
1.5 Sistema de Classificação Biofarmacêutica	42
1.5.1 <u>Avaliação biofarmacêutica</u>	44
1.5.2 <u>Fatores que podem alterar a biodisponibilidade</u>	47
1.6 Desenvolvimento de formas farmacêuticas sólidas	52
1.6.1 <u>Ensaio de dissolução</u>	54
2 JUSTIFICATIVA	56
3 OBJETIVOS	57
3.1 Objetivo geral	57
3.2 Objetivos específicos	57
4 MATERIAL E MÉTODOS	58
4.1 Material	58

4.1.1	<u>Equipamentos</u>	58
4.1.2	<u>Reagentes, material e matérias-primas</u>	59
4.2	Métodos	60
4.2.1	<u>Análise do insumo nimesulida de acordo com os ensaios farmacopeicos</u>	60
4.2.2	<u>Calorimetria diferencial exploratória (DSC)</u>	62
4.2.3	<u>Espectroscopia no infravermelho</u>	63
4.2.4	<u>Difração de raios X (DRX)</u>	63
4.2.5	<u>Ressonância magnética nuclear (RMN)</u>	63
4.2.6	<u>Tamanho de partícula por difração de LASER</u>	64
4.2.7	<u>Microscopia eletrônica de varredura</u>	65
4.2.8	<u>Avaliação biofarmacêutica</u>	65
4.2.9	<u>Dissolução intrínseca</u>	67
4.2.10	<u>Avaliação da fluidez</u>	68
4.2.11	<u>Delineamento das formulações</u>	71
4.2.12	<u>Avaliação das formulações propostas</u>	73
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	78
5.1	Caracterização do insumo farmacêutico ativo - nimesulida	78
5.1.1	<u>Avaliação do insumo farmacêutico ativo de acordo com os critérios farmacopeicos</u>	78
5.1.2	<u>Calorimetria exploratória diferencial (DSC)</u>	80
5.1.3	<u>Espectroscopia no infravermelho</u>	86
5.1.4	<u>Difração de raios X</u>	89
5.1.5	<u>Ressonância magnética nuclear (RMN)</u>	93
5.1.6	<u>Tamanho de partícula por difração de LASER</u>	105
5.1.7	<u>Microscopia eletrônica de varredura (MEV)</u>	109
5.1.8	<u>Molhabilidade</u>	113
5.1.9	<u>Dissolução por dispersão</u>	115
5.1.10	<u>Dissolução intrínseca</u>	120
5.1.11	<u>Densidades aparente e compactada</u>	123
5.1.12	<u>Avaliação da fluidez</u>	123
5.2	Delineamento das formulações e avaliação dos comprimidos de nimesulida obtidos nos lotes galênicos	131
5.2.1	<u>Determinação do peso</u>	134
5.2.2	<u>Determinação da dureza e friabilidade</u>	135

5.2.3	<u>Desintegração</u>	138
5.2.4	<u>Doseamento</u>	140
5.2.5	<u>Perfil de dissolução</u>	141
5.3	Compilação geral dos resultados e definição de especificação do fármaco	155
6	CONCLUSÕES	162
7	PERSPECTIVAS	164
	REFERÊNCIAS	165
	Apêndices	176
	Apêndice A Espectros de infravermelho das amostras NM1, NM2 e NM3. ..	176
	Apêndice B Espectros de RMN ¹ H das amostras NM1, NM2 e NM3 e espectros de RMN ¹³ C, DEPT135, HMBC e HSQC da amostra NM2.....	179
	Apêndice C Fotomicrografias das amostras NM1, NM2 e NM3.....	186

INTRODUÇÃO

A nimesulida é uma sulfonamida pertencente à classe dos anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs) que demonstra uma seletividade para a COX-2 (ciclo-oxigenase 2). Possui propriedades anti-inflamatória, analgésica e antipirética (BERNAREGGI, 2000; RAINSFORD, 2006; SINGLA *et al.*, 2000). A nimesulida, quando administrada na dosagem recomendada, apresenta baixa incidência de efeitos colaterais, sendo mais bem tolerada do que outros AINEs (FIGURA 1), como diclofenaco, cetoprofeno, naproxeno e piroxicam (BERNAREGGI, 2000).

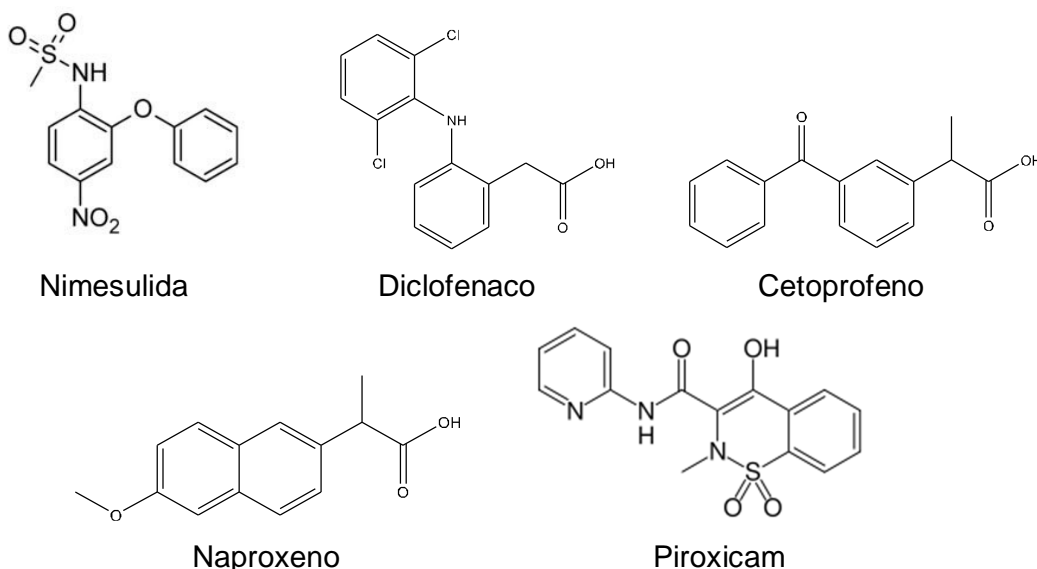


FIGURA 1 – Fórmulas estruturais dos AINEs.

Este fármaco é levemente amarelado, praticamente insolúvel em água (aproximadamente 10 µg/mL) e solúvel em metanol e etanol (SINGLA *et al.*, 2000; FB 5, 2010). De acordo com o Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB), a nimesulida é classificada como um fármaco de classe II, caracterizado por baixa solubilidade e alta permeabilidade. Dessa forma, a sua dissolução representa um passo limitante no processo de absorção do fármaco, característica que deve ser considerada durante o desenvolvimento farmacotécnico de formas farmacêuticas sólidas (FONSECA *et al.*, 2009; NAINAR *et al.*, 2012; MIRCIOIU *et al.*, 2013).

Em relação à estrutura cristalina, a literatura descreve a existência de dois

polimorfos da nimesulida: forma I e forma II (BERGESE *et al.*, 2003; SANPHUI *et al.*, 2011). A caracterização das formas cristalinas de fármacos utilizados em formas farmacêuticas sólidas é de suma importância, pois diferentes polimorfos podem acarretar em alterações na velocidade de dissolução, levando à desvios na biodisponibilidade; impactar na processabilidade, representada, muitas vezes, por problemas na etapa de compressão e levar à alterações na estabilidade química e física (PUDIPEDDI e SERAJUDDIN, 2004; ZHANG *et al.*, 2004; BAUER, 2008).

Diante do exposto, o objetivo desse trabalho foi o desenvolvimento de uma formulação de comprimidos de liberação imediata de nimesulida, com vistas à obtenção de registro, como medicamento similar, junto à agência reguladora. Para isso, em uma primeira etapa, foram realizadas análises para a caracterização de amostras do fármaco nimesulida, obtidas de diferentes fabricantes, utilizando análise térmica, difração de raios X e RMN no estado sólido, buscando o estudo da estrutura cristalina; espectroscopia no infravermelho e RMN em solução para a identificação das amostras; análise morfológica, granulométrica e biofarmacêutica. As propriedades de fluidez também foram avaliadas, utilizando diversas técnicas. Em seguida, os resultados advindos da caracterização das amostras de nimesulida foram utilizados para nortear a escolha do processo de fabricação e, também, o delineamento das formulações. Os lotes galênicos com melhores resultados nos ensaios conduzidos durante a compressão foram selecionados para a realização de estudos de perfis de dissolução comparativos. A seleção da formulação com resultados mais promissores foi balizada na avaliação da processabilidade e dissolução.

1 REVISÃO DA LITERATURA

1.1 Inflamação

A inflamação participa de uma grande variedade de processos patológicos (MEDZHITOV, 2008). O processo envolvido na inflamação consiste em uma estratégia de proteção do organismo em resposta a uma infecção por agentes infecciosos, lesão tecidual ou outras condições nocivas (AHMED, 2011).

A resposta inflamatória é coordenada por uma grande variedade de mediadores que formam redes reguladoras complexas. A via do ácido araquidônico representa uma das principais vias envolvidas na síntese de mediadores pró-inflamatórios. O ácido araquidônico é metabolizado para formar eicosanóides através das ciclo-oxigenases (COX-1 e COX-2), dando origem as prostaglandinas (PGEs) e tromboxanos ou através da lipoxigenase, dando origem aos leucotrienos e lipoxinas. A prostaglandina PGE₂ e a prostaciclina PGI₂ possuem propriedades vasodilatadoras e hiperalgésicas. Além disso, a PGE₂ também é um potente indutor da febre. Por outro lado, as lipoxinas inibem o recrutamento de neutrófilos, promovem o recrutamento de monócitos, os quais removem as células mortas e iniciam o reparo do tecido (MEDZHITOV, 2008).

Embora as prostaglandinas (especialmente PGE₂) sejam responsáveis pelos sintomas inflamatórios, também possuem efeitos citoprotetores no trato gastrointestinal e participam do controle das funções renais. Por esse motivo, a inibição das PGEs exercida pelo ácido acetilsalicílico (AAS) e outros AINEs clássicos apresenta efeitos adversos importantes na mucosa gástrica e na fisiologia renal, podendo culminar com o aparecimento de úlcera gástrica e disfunção renal. Após a descoberta de uma segunda isoforma da COX, a COX-2, a dupla função de prostaglandinas como mediadores das funções fisiológicas e patológicas foi esclarecida. Ambas as isoenzimas participam da mesma biotransformação catalítica da cascata do ácido araquidônico, mas diferem na sua estrutura, expressão e função (CHAKRABORTI *et al.*, 2010).

Dentro desse contexto, a terapêutica da dor e inflamação tem sido liderada

por um grupo de diversos compostos, classificados como fármacos anti-inflamatórios não esteroidais (CHAKRABORTI *et al.*, 2010).

1.2 Anti-inflamatórios não esteroidais

O principal mecanismo de ação dos AINEs ocorre através da inibição da enzima ciclo-oxigenase (COX) e, conseqüentemente, inibição da síntese de PGEs (DANNHARDT e KIEFER, 2001; MONTEIRO *et al.*, 2008). As PGEs são substâncias vasodilatadoras, capazes de sensibilizar os nociceptores (receptores envolvidos na percepção da dor) e estimular os centros hipotalâmicos de termorregulação. Além disso, os AINEs promovem prevenção da hiperalgesia induzida por bradicinina e citocina, através do bloqueio da liberação do fator de necrose tumoral-alfa (TNF- α) (MONTEIRO *et al.*, 2008).

Existem pelo menos duas importantes isoformas da enzima COX que apresentam diferenças na sua regulação e expressão. A atividade de ambas é inibida por todos os AINEs em graus variáveis. A COX-1, conhecida como constitutiva, auxilia na manutenção da integridade da mucosa gastroduodenal, homeostase vascular, agregação plaquetária e modulação do fluxo plasmático renal. A COX-2 é uma enzima indutível, geralmente indetectável na maioria dos tecidos e sua expressão é aumentada em processos inflamatórios. Ela é expressa constitutivamente no cérebro, rim e ossos (DANNHARDT e KIEFER, 2001; MONTEIRO *et al.*, 2008).

A descoberta da ciclo-oxigenase 2 (COX-2) colocou em evidência que a seletividade na inibição das prostaglandinas é a característica que separa os efeitos terapêuticos dos efeitos indesejáveis, particularmente os gastrointestinais. De fato, as evidências indicam que a inibição da COX-2 é responsável pelo efeito anti-inflamatório. Por outro lado, a inibição da enzima ciclo-oxigenase 1 (COX-1) produz alteração do estado fisiológico gástrico. O dano à mucosa do estômago devido à presença reduzida das prostaglandinas gastroprotetoras pode ser uma consequência direta desta alteração. Atualmente, a inibição seletiva da COX-2 é um dos objetivos da terapêutica para que se obtenha boa tolerabilidade gastrointestinal

(DANNHARDT e KIEFER, 2001; SILVA e MARCZYK, 2001).

Os AINEs podem ser classificados de acordo com sua seletividade: inibidores seletivos da COX-1 – AAS (em baixas doses); inibidores não seletivos da COX – AAS (em altas doses), cetoprofeno, piroxicam, indometacina, diclofenaco, ibuprofeno, nabumetona (FIGURAS 1 e 2); inibidores seletivos da COX-2 - meloxicam, etodolaco, nimesulida, salicilato, e inibidores altamente seletivos da COX-2 - celecoxibe, paracoxibe, etoricoxibe, lumiracoxibe (FIGURA 3) (MONTEIRO *et al.*, 2008).

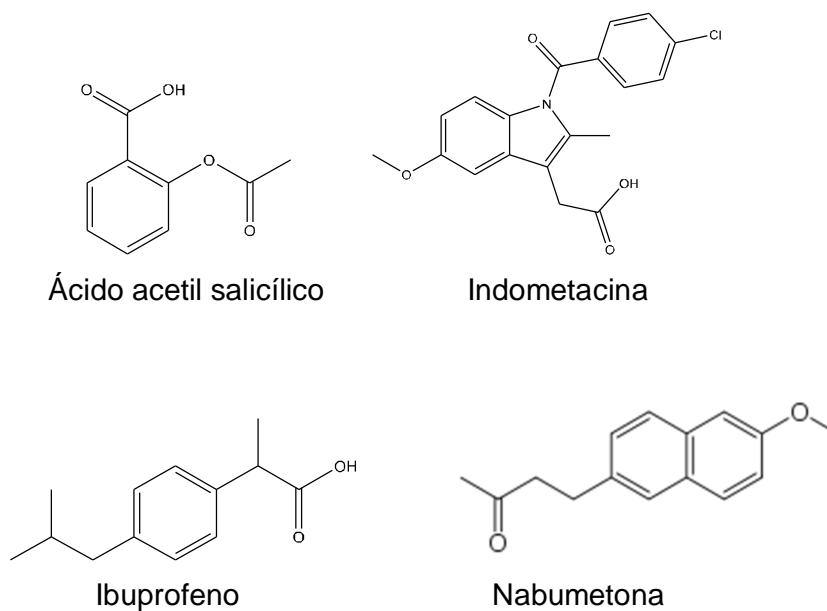


FIGURA 2 – Inibidores não seletivos da COX-2.

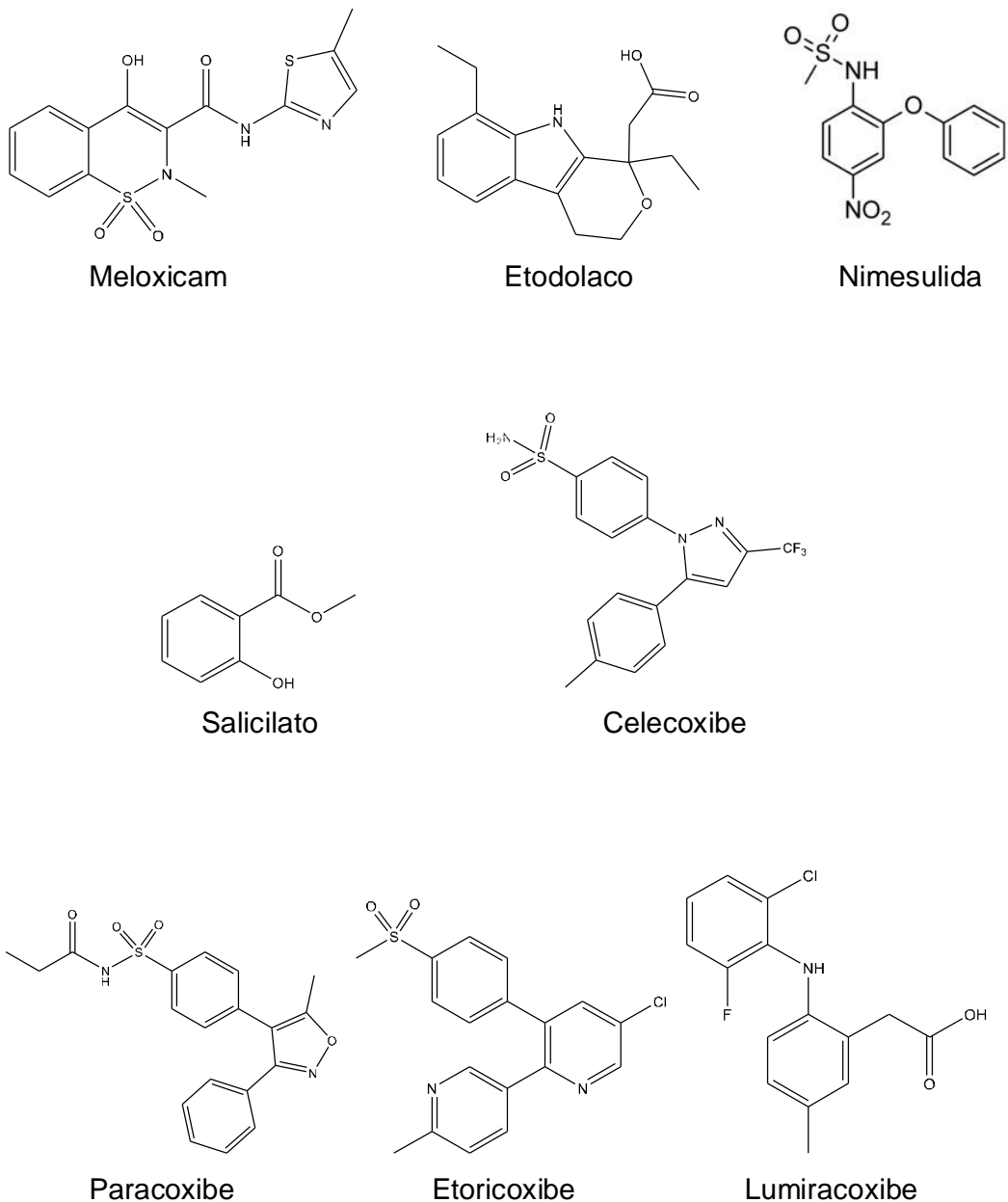


FIGURA 3 – Inibidores seletivos e altamente seletivos da COX-2.

1.3 Nimesulida

A nimesulida é comercializada em mais de 50 países e representa o AINE mais prescrito na Itália e em Portugal, sendo que a Itália, no início do século XX, era

a responsável por metade do mercado mundial (TRAVERSA *et al.*, 2003). Não foram encontrados dados mais atuais sobre este mercado.

A descoberta deste fármaco surgiu a partir de estudos realizados por George Moore e colaboradores, no ano de 1971, nos Laboratórios Riker, posteriormente adquiridos pela Companhia 3M. Atualmente, a base racional para o desenvolvimento consiste na premissa de que os radicais livres são fatores críticos na doença inflamatória crônica e a remoção destes radicais poderia apresentar novas atividades anti-inflamatórias no controle das condições inflamatórias crônicas. Baseado nessa premissa, os fluoroalcanos foram modificados, incorporando um grupo 4-nitro na estrutura das fluoroalcano-sulfonamidas para alcançar a remoção dos radicais livres, levando à síntese da 2-fenoxi-4-nitro-trifluorometano-sulfonamida. O composto sintetizado possuía melhor efeito terapêutico quando comparado com os anti-inflamatórios não esteroidais de referência disponíveis à época. O nome químico em inglês do composto, *4-nitro-2-phenoxy methane-sulfonanilide* (2-fenoxi-4-nitro-trifluorometano-sulfonamida), serviu de base para o nome genérico do fármaco, nimesulida (RAINSFORD, 2006).

Atualmente, segundo informações obtidas na página eletrônica da ANVISA (2015), a nimesulida é comercializada no Brasil por diversas indústrias farmacêuticas de genéricos e similares, nas seguintes apresentações: cápsula de liberação prolongada (200 mg), comprimidos simples e dispersíveis (100 mg), granulado (100 mg), suspensão oral (10 e 50 mg/mL), supositório (50 e 100 mg) e gel (20 mg/g). O laboratório Diffucap-Chemobras possui o registro do medicamento de referência Arflex® Retard - cápsula de liberação prolongada, enquanto a Aché detém o registro do medicamento de referência Nisulid® para as demais formas farmacêuticas.

1.3.1 Propriedades farmacológicas

A nimesulida apresenta, além dos seus efeitos anti-inflamatórios e analgésicos, outras propriedades farmacodinâmicas, tais como: a redução da geração de superóxidos através do estímulo de linfócitos polimorfonucleares, a

inibição da liberação de histamina pelos mastócitos e basófilos, a inibição da fosfodiesterase IV e do fator de ativação plaquetária (FAP), a redução dos processos de apoptose nos condrócitos e em outras células do tecido conjuntivo e a redução da atividade da óxido nítrico sintetase. A capacidade deste fármaco em afetar tantos mediadores envolvidos no processo inflamatório possibilita seu uso em diversas condições inflamatórias. Além disso, a nimesulida apresenta baixos índices de efeitos adversos gastrointestinais, provavelmente devido à sua baixa afinidade pela COX-1 (BIANCHI, 2006).

Quando administrada na dosagem recomendada, 100 mg duas vezes ao dia, a nimesulida apresenta baixa incidência de efeitos colaterais, sendo mais bem tolerada do que outros AINEs, como o diclofenaco, cetoprofeno, naproxeno e piroxicam (FIGURA 1, f. 19) (BERNAREGGI, 2000).

De acordo com o Sumário de Características do Produto (2003), documento exigido pela Agência Europeia de Medicamentos (EMA) para as indústrias farmacêuticas, a nimesulida está aprovada para o uso no tratamento da dor aguda, tratamento da dor na osteoartrite e na disminorréia primária (BIANCHI, 2006). Também está indicada para uma variedade de condições que requeiram atividade anti-inflamatória, analgésica e antipirética (SINGLA *et al.*, 2000).

1.3.2 Propriedades farmacocinéticas

A nimesulida apresenta rápida absorção oral, atingindo sua concentração máxima (2,86-6,5 mg.L⁻¹) em 1,22-2,75h (SINGLA *et al.*, 2000). Seus efeitos farmacológicos são usualmente exibidos antes do tempo previsto para a concentração plasmática máxima (C_{max}), ocorrendo cerca de 30 a 60 minutos após a administração. Apresenta farmacocinética linear até 100 mg; porém, a partir da administração de doses maiores que 200 mg começam a aparecer indícios de não-linearidade (BERNAREGGI, 2000). Quando administrada com alimento, a nimesulida não sofre influências significativas na velocidade e extensão de sua absorção. Assim como os outros AINEs, a nimesulida encontra-se extensamente ligada à albumina (99%) (BERNAREGGI, 2000; BIANCHI, 2006).

A metabolização desse fármaco ocorre no fígado, através do citocromo P450, formando seu principal metabólito, o 4-hidroxinimesulida (M1) (BIANCHI, 2006). A FIGURA 4 ilustra os cinco metabólitos da nimesulida descritos na literatura, todos com propriedades analgésicas e anti-inflamatórias, porém com potência inferior à da nimesulida (BERNAREGGI, 2000).

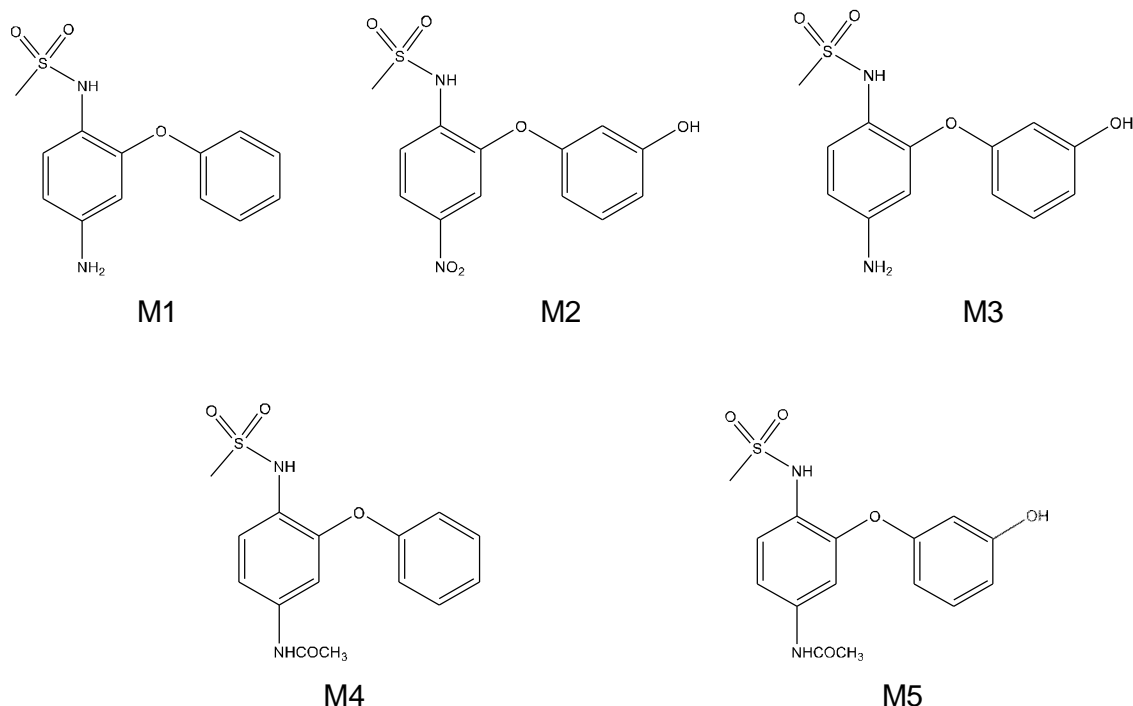


FIGURA 4 – Metabólitos da nimesulida (CARINI *et al.*, 1998).

A eliminação ocorre de forma progressiva: 2-5 horas para o fármaco e 3-9 horas para o metabólito principal (4-hidroxinimesulida). Isso permite a posologia conveniente de 100 mg duas vezes ao dia, sem qualquer evidência de acúmulo da dose recomendada (BIANCHI, 2006). A excreção dos metabólitos da nimesulida nas fezes e urina é de cerca de 20 e 80%, respectivamente, da dose administrada. (BERNAREGGI, 1993).

Em relação às interações medicamentosas, a nimesulida não apresenta nenhuma interação clínica relevante com os seguintes fármacos: glibenclamida, cimetidina, antiácidos, furosemida, teofilina, e digoxina (BERNAREGGI, 1993;

BIANCHI, 2006). No entanto, não é recomendada a administração concomitante com outros AINEs ou com varfarina (BIANCHI, 2006).

1.3.3 Propriedades físico-químicas

A nimesulida (FIGURA 1, f. 19) é um derivado da sulfonamida que apresenta coloração amarelada, com ponto de fusão em torno de 143°C (SINGLA *et al.*, 2000; FB, 2011). Segundo dados da literatura a nimesulida possui caráter fracamente ácido com pK_a em torno de 6,5, atribuído à presença do grupamento sulfonamida (DOMANSKA *et al.*, 2010; SINGLA *et al.*, 2000; RAINSFORD, 2006; NITALIKAR, SAKARKAR, 2011; MIRCIOIU *et al.*, 2013). A nimesulida é praticamente insolúvel em água (aproximadamente $10 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) e solúvel em metanol e etanol, à temperatura ambiente (FB, 2011). De acordo com o Sistema de Classificação Biofarmacêutica, a nimesulida pertence à classe II, caracterizada por baixa solubilidade e alta permeabilidade. Desta forma, sua dissolução pode representar um passo limitante no processo de absorção do fármaco (FONSECA *et al.*, 2009).

MARTINO e colaboradores (2007) demonstraram que a cristalização da nimesulida em diferentes solventes orgânicos afeta algumas propriedades físico-químicas, como ponto de fusão, solubilidade e perfil de dissolução, indicando a existência de polimorfos. A literatura científica descreve a existência de dois polimorfos da nimesulida: forma I (usualmente utilizada na indústria farmacêutica) e forma II (BERGESE *et al.*, 2003; SANPHUI *et al.*, 2011).

Durante o processo de fabricação de formas sólidas orais também podem ocorrer modificações do cristal, especialmente nas etapas de granulação úmida, secagem, compressão ou durante a estabilidade do produto (MARTINO *et al.*, 2007).

Existem diversos métodos analíticos que são capazes de identificar as diferentes formas sólidas de uma substância. A caracterização pode ser realizada por difração de raios X (DRX), espectroscopia de infravermelho (IV) e ressonância magnética nuclear (RMN) de sólidos, calorimetria exploratória diferencial (DSC), termogravimetria (TG) e microscopia (BYRN *et al.*, 1994; OLIVEIRA *et al.*, 2011), dentre outras.

1.4 Métodos analíticos utilizados para a caracterização de insumos farmacêuticos ativos

1.4.1 Análise térmica (TG e DSC)

A análise térmica é representada na área farmacêutica, principalmente, ainda que não exclusivamente, pela termogravimetria (TG) e calorimetria exploratória diferencial (DSC).

A termogravimetria mede a variação de massa em função da temperatura em uma atmosfera controlada sob um programa de aquecimento.

A calorimetria exploratória diferencial mede a diferença de fluxo de calor entre uma substância e um material de referência em função de um programa de aquecimento ou resfriamento. Quando aplicada na investigação de polimorfismo, permite a determinação das entalpias de cada forma cristalina (OLIVEIRA *et al.*, 2011).

Ambas as técnicas são bastante usadas para a caracterização, avaliação de pureza, compatibilidade entre fármaco(s) e excipiente(s), identificação de polimorfismo, estabilidade e decomposição térmica de fármacos e medicamentos (OLIVEIRA *et al.*, 2011).

A FIGURA 5 apresenta as curvas de DSC dos polimorfos da nimesulida obtidos por SANPHUI e colaboradores (2011). O comportamento térmico do polimorfo I indica que sua fusão ocorre a uma temperatura mais alta, em torno de 144°C, e é estável na faixa de temperatura estudada (40°C a 250°C). Em contrapartida, a curva do polimorfo II demonstra um início de fusão a 140 °C e, logo em seguida, é observada uma fase de transição para o polimorfo I, resultando em um pico endotérmico de maior intensidade a 144°C. Essa propriedade termodinâmica, de conversão do polimorfo II ao I, faz da nimesulida um sistema enantiotrópico (SANPHUI *et al.*, 2011).

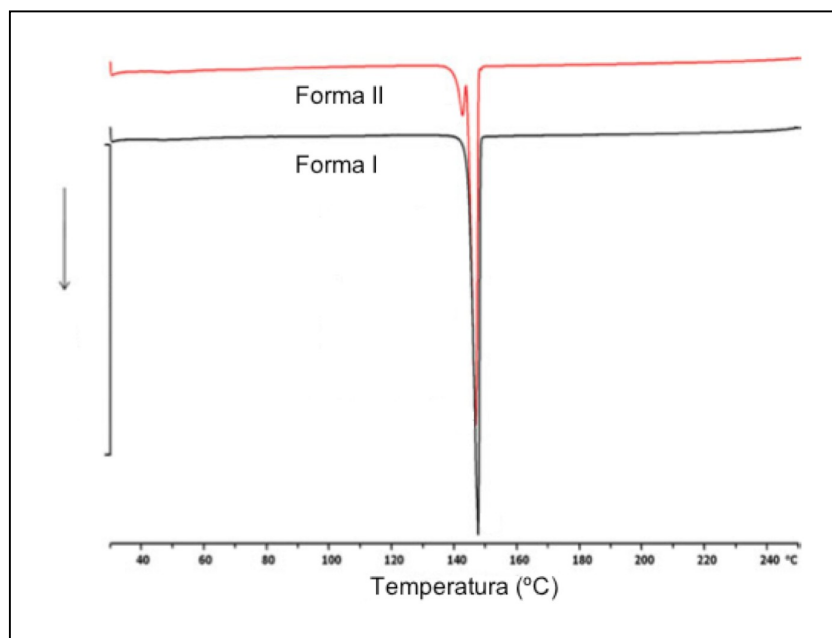


FIGURA 5 – Curvas de DSC dos polimorfos da nimesulida (SANPHUI *et al.*, 2011).

1.4.2 Espectroscopia no infravermelho e Raman

As espectroscopias de Raman e no infravermelho possibilitam obter informações diretas acerca da estrutura do material, pois são governadas pelas massas dos átomos constituintes e as constantes de força entre eles que afetam os modos vibracionais. Além disso, os modos vibracionais são influenciados pelo estado físico da amostra e pelas ligações intramoleculares e intermoleculares (JUDGE *et al.*, 2008; HÉDOUX *et al.*, 2011).

As forças responsáveis pelo arranjo cristalino são a soma de um grande número de interações intermoleculares, intramoleculares (que são particularmente mais fortes) e interiônicas. As forças intermoleculares consistem nas ligações de Van der Waals, ligações de hidrogênio e interações iônicas e eletrostáticas. As ligações de hidrogênio e de Van der Waals são as principais forças intermoleculares (DATTA, GRANT, 2004). São responsáveis por propriedades físicas como, por exemplo, polimorfismo e temperatura de fusão, enquanto as ligações covalentes mantêm a coesão da estrutura molecular. Já as interações intramoleculares são

representadas por fortes ligações covalentes, responsáveis por manter a coesão entre os átomos da molécula (HÉDOUX *et al.*, 2011).

As espectroscopias de Raman e no infravermelho são bastante úteis para a análise de sólidos e, conseqüentemente, para a investigação de polimorfismo (CHIENG *et al.*, 2011). Essas técnicas apresentam relação de complementaridade devido, principalmente, às condições de simetria das vibrações dos átomos constituintes do material. No espectro de Raman, as bandas ativas são dos modos vibracionais simétricos, enquanto os modos vibracionais assimétricos exibem bandas ativas no espectro de infravermelho (SANPHUI *et al.*, 2011).

Segundo SANPHUI e colaboradores (2011), os espectros no infravermelho dos polimorfos I e II da nimesulida mostram diferenças muito sutis que praticamente impossibilitam sua diferenciação por tal técnica. Segundo os autores, as bandas de deformações axiais de NH, envolvidas na ligação de hidrogênio NH ··· O₂N e, portanto, responsáveis pelo arranjo geométrico dos polimorfos, apresentam diferenças irrelevantes (FIGURA 6).

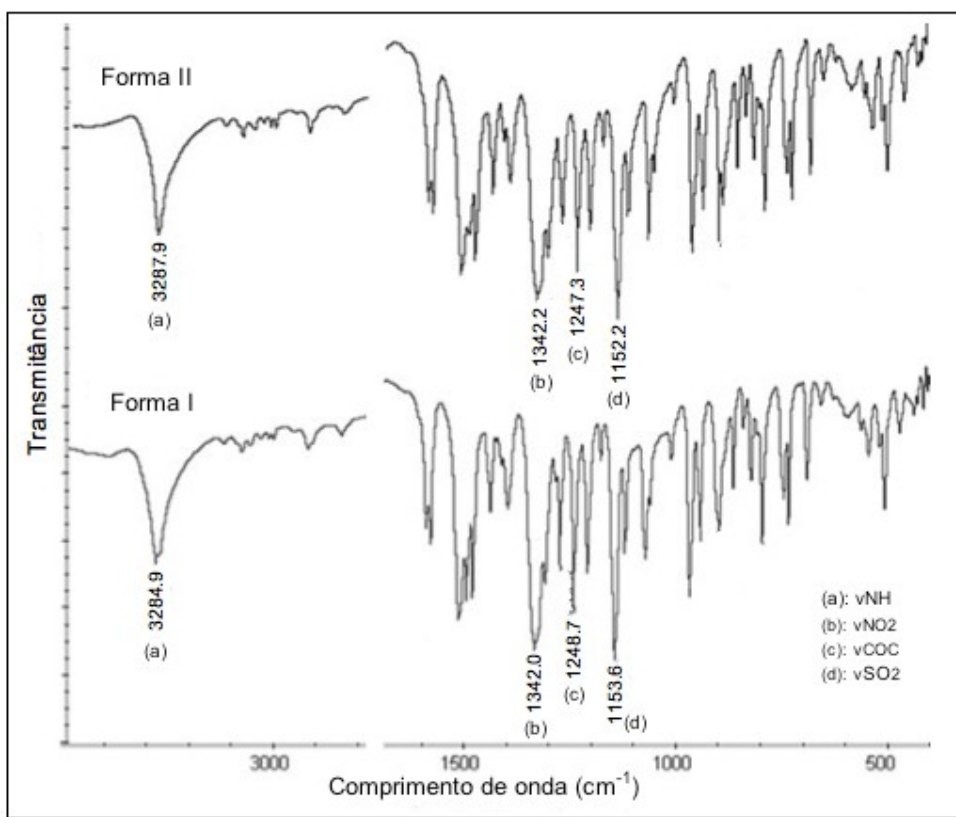


FIGURA 6 – Espectros de infravermelho dos polimorfos da nimesulida (adaptado de SANPHUI *et al.*, 2011).

Adicionalmente, os espectros de Raman dos polimorfos I e II, apresentados na FIGURA 7, são semelhantes, o que não seria o esperado, já que suas moléculas apresentam diferenças conformacionais acentuadas nas duas estruturas (SANPHUI *et al.*, 2011).

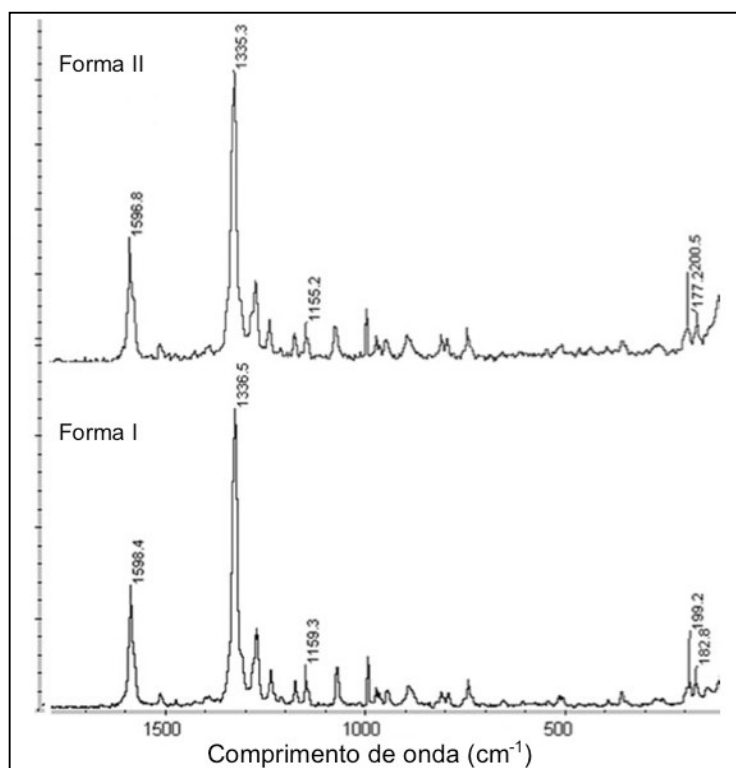


FIGURA 7 – Espectros de RAMAN dos polimorfos da nimesulida (adaptado de SANPHUI *et al.*, 2011).

A presença de graus de liberdade na estrutura da nimesulida indica a possibilidade de polimorfismo conformacional. Conforme ilustrado na FIGURA 8 os ângulos de torção localizados nos grupamentos aril éter e sulfonamida são diferentes, originando os confôrmeros da nimesulida. Por outro lado, os ângulos de torção do grupamento nitro, embora presentes, são semelhantes, não sendo responsáveis pelas mudanças conformacionais. A literatura não revela qual a conformação predominante de cada polimorfo (SANPHUI *et al.*, 2011).

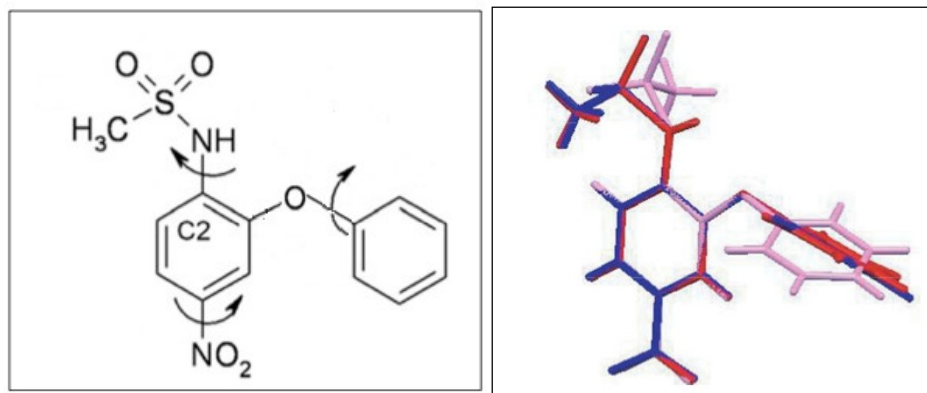
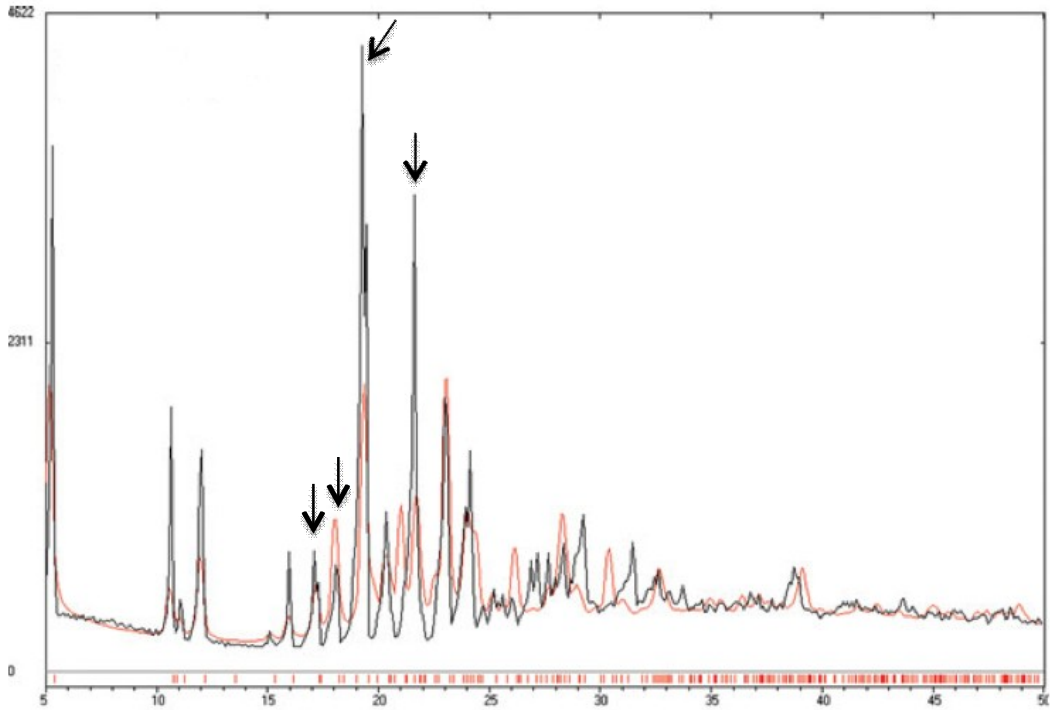


FIGURA 8 – Sobreposição dos três confôrmeros da nimesulida, do polimorfo I (azul e rosa) e polimorfo II (vermelho) (Adaptado de SANPHUI *et al.*, 2011).

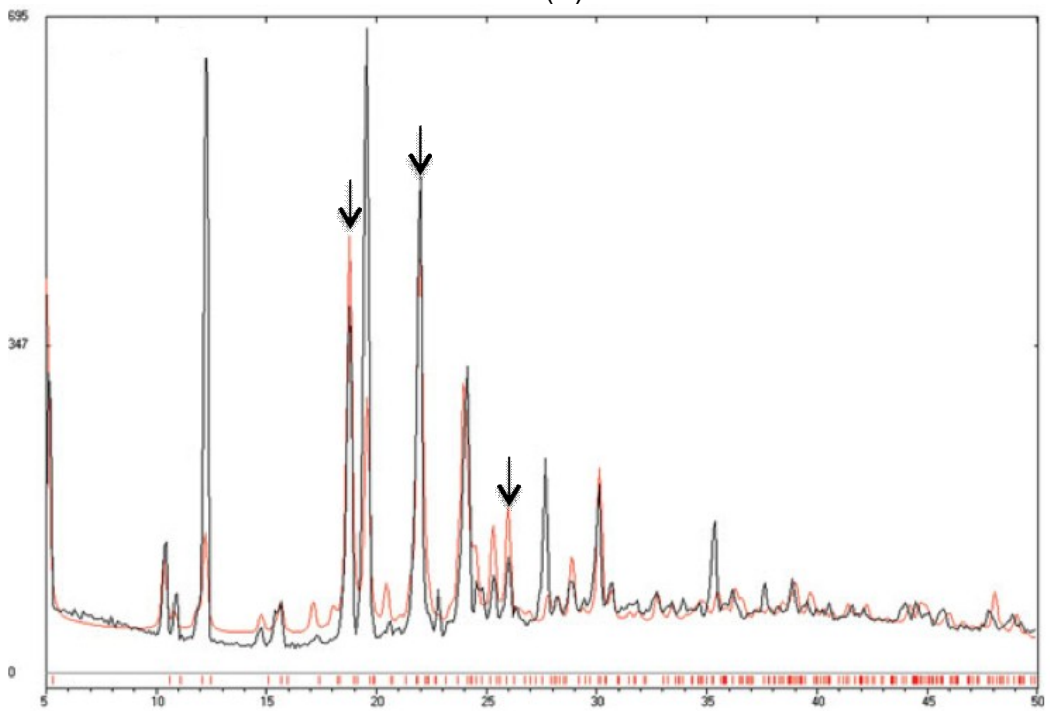
1.4.3 Difração de raios X

A difração de raios X é o método de referência para a obtenção de informações de um sólido cristalino. A difratometria de raios X baseia-se na propriedade intrínseca de cada cristal em desviar, em um ângulo específico, a direção dos raios X emitidos sobre ele. O ângulo de desvio da radiação é único para cada forma do cristal, permitindo assim caracterizá-lo e diferenciá-lo (DONG, BOYD, 2011).

SANPHUI e colaboradores (2011) analisaram o padrão de difração de uma amostra da nimesulida comercialmente disponível e verificaram que a mesma tratava-se do polimorfo I. Nesse caso, essa técnica demonstrou ser uma ferramenta importante para a diferenciação entre os polimorfos do fármaco. A difração de raios X dos polimorfos I e II ilustra claramente as diferenças na estrutura (FIGURA 9). De acordo com BERGESE e colaboradores (2003), o polimorfo I da nimesulida apresenta picos característicos em $2\theta = 17,15^\circ$, $18,13^\circ$, $19,34^\circ$ e $21,66^\circ$, enquanto o padrão de difração de raios X do polimorfo II revela ângulos característicos em $2\theta = 18,91^\circ$, $22,15^\circ$ e $26,14^\circ$.



(A)



(B)

FIGURA 9 – Sobreposição do padrão de difração de raios X de pó para as formas I e II (em preto), com as linhas simuladas da estrutura cristalina (em vermelho). (A) Forma I e (B) Forma II (SANPHUI *et al.*, 2011).

1.4.4 Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

1.4.4.1 Ressonância Magnética Nuclear em solução

A RMN em solução é capaz de fornecer informações sobre a estrutura molecular. O espectro de cada composto é único, tornando o método específico e ideal para a elucidação estrutural (MAGGIO *et al.*, 2014). Muitos núcleos podem ser estudados por esta técnica porém, o hidrogênio e o carbono são os mais comumente utilizados (PAVIA, 2009).

A RMN de ^1H é a técnica mais simples e frequentemente utilizada. Os deslocamentos químicos de ^1H e os acoplamentos ^1H - ^1H são detectados seletivamente, e relacionam-se ao ambiente químico. Além do deslocamento químico, a multicplidade de sinais, a constante de acoplamento (J) e a intensidade integral também representam parâmetros relevantes desta técnica (MAGGIO *et al.*, 2014).

O estudo de núcleos de carbono por meio da RMN é uma técnica importante para a determinação das estruturas de moléculas orgânicas. Tipicamente, essa técnica é utilizada em conjunto com a RMN de ^1H . Para a atribuição dos deslocamentos químicos dos carbonos utilizando o espectro de RMN ^{13}C , são utilizados valores tabelados. É possível prever o deslocamento químico de quase todos os átomos de carbono a partir destas tabelas, começando com um valor de base para a estrutura molecular e, em seguida, corrigindo o valor para cada substituinte. Estas correções dependem do tipo de substituinte e a sua posição em relação ao átomo de carbono considerado. Tais correções para os anéis aromáticos são diferentes daquelas para as cadeias lineares, e frequentemente dependem da estereoquímica (PAVIA, 2009).

De forma a complementar a elucidação estrutural, muitas vezes é necessário lançar mão de espectros em duas dimensões, homo (^1H , ^1H) e heteronucleares (^1H , ^{13}C). As técnicas bidimensionais permitem correlacionar hidrogênios e/ou carbonos que possuam alguma relação escalar ou espacial entre si. Desta forma é possível fazer um mapeamento estrutural mais preciso do que utilizando somente as técnicas

monodimensionais, principalmente na análise de estruturas mais complexas. (KAISER, 2000).

1.4.4.2 Ressonância Magnética Nuclear no estado sólido

A RMN no estado sólido atualmente tem sido muito aplicada em estudos de elucidação estrutural, conformacional, interações intermoleculares e determinação do grau de pureza de um fármaco (PAVIA *et al.*, 2009).

Com o desenvolvimento da instrumentação de RMN para a análise de amostras sólidas, a aplicação desta técnica na indústria farmacêutica tomou um grande impulso, já que aproximadamente 90% dos fármacos são comercializados sob esta forma. Embora em solução tanto o hidrogênio quanto o carbono-13 sejam amplamente estudados, as fortes interações dipolares H-H presentes na molécula no estado sólido, inicialmente, tornaram difícil a obtenção de espectros de hidrogênio no estado sólido. Dessa forma, o carbono-13 passou a ser o núcleo mais estudado. Os valores dos deslocamentos químicos de carbono-13 são observados em amostras sólidas e podem ser influenciados por vários fatores, tais como o empacotamento do cristal, ligação de hidrogênio, efeitos iônicos, mudanças conformacionais e outros. Por esses motivos, a RMN de sólidos representa uma técnica sensível para a detecção de polimorfos (BUGAY, 2001; DOMINGO, SAURINA, 2012).

A espectroscopia de RMN no estado sólido oferece vantagens significativas como, por exemplo, a análise e caracterização de estruturas amorfas e menor tempo de análise quando comparado a cristalografia por difração de raios X. Também é útil para o estudo da mobilidade em sólidos, que traz informações sobre as forças responsáveis pelas interconversões conformacionais e os fatores responsáveis por reações de estado sólido que conduzem aos processos de degradação e reatividade no estado sólido de produtos farmacêuticos (BUGAY, 2001).

O uso dessa técnica combinada com outras abordagens de caracterização no estado sólido, como a análise térmica, a microscopia eletrônica, a espectrometria na

região do infravermelho e a cristalografia de raios X, forma um conjunto valioso para a avaliação criteriosa de fármacos (AGUIAR *et al.*, 1999).

1.4.5 Caracterização do tamanho de partícula

A distribuição do tamanho de partículas dos insumos farmacêuticos ativos é um dos atributos de controle de qualidade mais importantes (HUANG e KU, 2010). Isso se deve à influência que a distribuição do tamanho de partículas exerce sobre os vários processos e parâmetros importantes, como compressão, mistura, fluxo das partículas, peso, tempo de desintegração, dureza, friabilidade, velocidade de dissolução e biodisponibilidade (CURY *et al.*, 2007).

As técnicas mais utilizadas para a determinação do tamanho de partículas incluem microscopia óptica, microscopia eletrônica, tamisação e difração de LASER (STEELE, 2009).

A tamisação é uma técnica simples onde as partículas são submetidas a agitação, atravessando um conjunto de tamises com aberturas de tamanho decrescente. A amostra é introduzida no tamis superior e a agitação faz com que o pó atravesse os demais, e a distribuição do tamanho de partículas é determinada a partir da massa do pó restante em cada tamis. Os dados da distribuição dos tamanhos de partículas são apresentados como uma porcentagem do material retido em cada tamis. A principal vantagem dessa técnica é sua relativa simplicidade e sua desvantagem reside na influência exercida pelo formato das partículas, podendo gerar resultados de baixa precisão. Exemplo disso ocorre quando partículas aciculares passam através dos tamises menores, sem que haja retenção (STEELE, 2009).

Atualmente, a técnica de difração de LASER ocupa um lugar de destaque dentre os métodos disponíveis para a caracterização do tamanho de partículas, principalmente para amostras constituídas por partículas da ordem de micrômetros. A análise rápida e a ampla faixa de medição dos equipamentos mais modernos, bem como a possibilidade de realizar a medição em linha constituem as vantagens mais relevantes desse método. O princípio pode ser descrito como a dispersão de uma

amostra, em um líquido ou gás, que passa através do feixe de LASER (KUCHENBECKER *et al.*, 2012). Pela medida de intensidade da luz dispersa pelas partículas, em diversos ângulos, é possível determinar a distribuição do tamanho de partículas. Em termos de preparação da amostra, é necessário dispersar as partículas, sendo esta uma etapa crítica para a obtenção de resultados reprodutíveis. De forma geral, o meio de dispersão deve, além de permitir a dispersão homogênea das partículas, também dispersar uma grande variedade de tamanhos de partículas, retardar a sedimentação e não deve alterar o tamanho e o formato das mesmas (STEELE, 2009).

Um trabalho de CASTELLI e col. (2003) utilizou a técnica de difração de LASER para caracterizar o tamanho de partículas de amostras de nimesulida antes e após a micronização, sendo o tamanho médio de partículas inicial de 37,5 μm e ao final 1,97 μm . Embora este trabalho mencione as vantagens da redução do tamanho de partículas, como o aumento da área superficial e seu provável efeito positivo na biodisponibilidade, os possíveis impactos dessas amostras de diferentes granulometrias não foram aprofundados. O gráfico de distribuição granulométrica obtido apresentou uma curva de distribuição bimodal, com a existência de uma população de partículas de menor tamanho, especialmente no caso da amostra micronizada. No entanto, o método utilizado nesse estudo não foi detalhado, faltando descrever, por exemplo, o modo como a amostra foi dispersa.

1.4.6 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A microscopia eletrônica de varredura (MEV) é utilizada para estudar os aspectos morfológicos em ordem microscópica de matérias-primas e produtos obtidos por diferentes métodos de preparação (NALLURI *et al.*, 2002), sendo rotineiramente utilizada para investigar a morfologia das partículas (SHUR; PRICE, 2012).

A avaliação morfológica dos insumos farmacêuticos é um parâmetro importante porque pode influenciar nas propriedades físicas, velocidade de dissolução, compressibilidade e fluxo dos pós (DANIEL *et al.*, 2013). Considerando

que os polimorfos podem apresentar diferentes hábitos, a MEV representa uma ferramenta bastante útil na caracterização morfológica (STEELE, AUSTIN, 2009).

De acordo com NALLURI e colaboradores (2002), a microscopia eletrônica de varredura da nimesulida comercialmente disponível revelou partículas com formato tabular e superfícies lisas, conforme demonstrado na FIGURA 10.

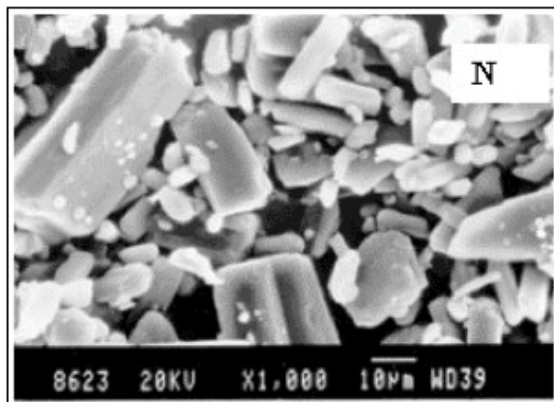


FIGURA 10 – Microscopia eletrônica de varredura da nimesulida (NALLURI *et al.*, 2002).

1.4.7 Fluxo dos pós

Na indústria farmacêutica, um fluxo adequado de pó é uma característica importante para o sucesso da produção de comprimidos (SUN, 2010). A fluidez do pó pode ser alterada por diversos fatores como distribuição granulométrica, formato da partícula e propriedades da superfície, como, por exemplo, presença de carga eletrostática (STANIFORTH, 2005). Os pós com fluxo inadequado podem impactar em variações no peso dos comprimidos, na uniformidade de conteúdo e em resultados indesejáveis nos parâmetros de dureza, tempo de desintegração e, algumas vezes, velocidade de dissolução (SUN, 2010).

Dessa forma, a caracterização da fluidez do pó é indispensável para o desenvolvimento farmacotécnico, podendo ser utilizada como ferramenta na escolha

de excipientes, deslizantes ou lubrificantes, bem como na determinação da quantidade necessária para se obter um comportamento de fluxo desejável (HAMAD *et al.*, 2010; SUN, 2010). A Farmacopeia Americana (USP 36, 2013) preconiza os seguintes métodos para avaliar as propriedades de fluxo de um pó: ângulo de repouso, fluxo por orifícios, índice de compressibilidade, razão de Hausner e célula de cisalhamento.

1.4.7.1 Determinação do ângulo de repouso e fluxo por orifícios

O comportamento da passagem do pó através de uma abertura é um parâmetro importante para muitas etapas da produção de comprimidos como, por exemplo, o tempo necessário para descarregar os pós a partir de um misturador. Esse processo vai depender da fluidez do pó através da abertura do misturador. Da mesma forma, o fluxo dos pós para preencher as matrizes de uma compressora é crucial para o processo de compressão (GUO *et al.*, 1985).

O ângulo de repouso é útil apenas para grânulos não coesivos e é altamente influenciado pelo grau de compactação (SANTOMASO *et al.*, 2003; NALLURI, KUENTZ, 2010). Experimentalmente, é determinado fazendo com que o pó flua por um funil e caia numa superfície, sendo a altura e o diâmetro do cone medidos. Se um cone simétrico de pó não pode ser formado com êxito ou se os resultados não são reprodutivos, este método não é apropriado (USP 36, 2013). A determinação do ângulo de repouso tem sido utilizada como um método indireto para avaliar o fluxo dos pós, em função de sua relação com a coesão entre as partículas (STANIFORTH, 2005). O ângulo de repouso pode ser calculado a partir da seguinte equação (LACHMAN *et al.*, 2001; SANTOMASO *et al.*, 2003):

$$\text{tang}\phi = \frac{2h}{D} \quad \text{Equação 1}$$

onde:

tang ϕ : maior ângulo formado entre a base e a superfície do pó

h: altura ocupada pelo cone de pó

D: diâmetro do orifício

O método do fluxo por orifícios tem sido proposto como uma medida mais realista na avaliação do fluxo dos pós. Pode ser medido de forma contínua usando uma balança eletrônica, pela determinação, por exemplo, do tempo que leva para 100 g de pó passarem através de um orifício. Ou seja, seus resultados são expressos em massa por unidade de tempo (USP 36, 2013). O diâmetro do orifício representa um parâmetro crítico e pode ser variável de acordo com as propriedades de fluxo da amostra (ZATLOUKAL, SKLUBALOVÁ, 2011; USP 36, 2013). Assim como o ângulo de repouso, o fluxo por orifícios não é adequado para materiais coesivos (USP 36, 2013).

1.4.7.2 Índice de compressibilidade (IC) e razão de Hausner (RH)

O índice de compressibilidade, também conhecido como índice de Carr, é um teste simples para avaliação das propriedades de fluxo de um fármaco e é determinado pelos valores das densidades aparente e compactada (STANIFORTH, 2005). Pode ser calculado através da seguinte equação:

$$IC (\%) = d_0 - \frac{d_f}{d_0} \times 100 \quad \text{Equação 2}$$

onde:

IC: índice de compressibilidade

d_0 : densidade aparente antes da compactação

d_f : densidade aparente após a compactação

A razão de Hausner é determinada a partir da equação, descrita a seguir.

$$RH = \frac{V_0}{V_f} \quad \text{Equação 3}$$

onde:

RH: razão de Hausner

V_0 : volume aparente antes da compactação

V_f : volume aparente após a compactação

Segundo OTSUKA e colaboradores (2011) o índice de compressibilidade e a razão de Hausner sofrem influência não apenas do tamanho das partículas, mas também da distribuição do tamanho das partículas. Os pós ou grânulos de maior tamanho tendem a apresentar melhores características de compressibilidade e fluidez. De modo semelhante, à medida que diminui a proporção de partículas menores em detrimento às partículas maiores, o que significa um alargamento da curva de distribuição do tamanho das partículas, observa-se diminuição da porosidade e grânulos que tendem a apresentar maior coesão entre as partículas.

1.5 Sistema de Classificação Biofarmacêutica

O Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB) é baseado nas características de solubilidade e permeabilidade intestinal de cada fármaco, principais fatores que interferem na velocidade e extensão de biodisponibilidade de uma forma farmacêutica administrada por via oral. A proposta do SCB está esquematizada na TABELA 1 (LIPKA, AMIDON, 1999).

TABELA 1 – Sistema de Classificação Biofarmacêutica.

Classe Biofarmacêutica	Solubilidade	Permeabilidade
I	Alta	Alta
II	Baixa	Alta
III	Alta	Baixa
IV	Baixa	Baixa

É importante ressaltar que a classificação, quanto à solubilidade, é baseada nas propriedades de solubilidade do fármaco no trato gastrointestinal (MANADAS *et al.*, 2002). Já os estudos de permeabilidade são necessários para localizar os principais sítios de absorção do fármaco através do trato gastrointestinal (TGI), bem como para avaliar a eficiência do transporte do fármaco pela mucosa intestinal.

Embora o SCB esteja limitado a dois dos quatro fatores condicionantes da biodisponibilidade do fármaco (desintegração, dissolução, permeabilidade e metabolismo pré-sistêmico), este sistema permite um ponto de partida muito útil no reconhecimento de quando e como os ensaios de dissolução podem ser úteis no desenvolvimento e avaliação de formas farmacêuticas sólidas orais (DRESSMAN *et al.*, 1998).

Para os fármacos de Classe II, como é o caso da nimesulida, a velocidade de dissolução do fármaco é o principal fator limitante da sua absorção oral. Esta limitação pode ser de natureza cinética ou do equilíbrio. No caso de um problema de equilíbrio, não há suficiente fluido disponível no TGI para dissolver a dose administrada. Isto pode ser verificado pelo cálculo da relação dose/solubilidade. No caso de um problema cinético, o fármaco dissolve-se muito lentamente para que a totalidade da dose dissolva-se antes de passar pelos locais de absorção. Para os fármacos de Classe II deve ser possível, portanto, estabelecer forte correlação entre os resultados dos ensaios de dissolução e a velocidade de absorção *in vivo*.

O estabelecimento de uma correlação *in vitro/in vivo* (IVIV) e a resultante capacidade para discriminar entre formulações com diferentes biodisponibilidades dependerá da qualidade de concepção dos ensaios *in vitro*. Para que o sistema tenha sucesso, é necessário reproduzir tão próximas quanto possível as condições existentes no TGI após a administração da forma farmacêutica (DRESSMAN *et al.*, 1998). A adequada comparação das formulações contendo fármacos pertencentes à Classe II requer ensaios de dissolução com, no mínimo, 4 a 6 amostragens e, no mínimo, 85% de dissolução em diferentes pH fisiológicos. Além disso, meios com condições que reproduzem a situação *in vivo*, ou seja, os chamados meios biorrelevantes, tais como a adição de tensoativos, devem ser considerados. A utilização de meios de dissolução e métodos que reflitam o processo *in vivo* é particularmente importante nesse caso, quando se deseja obter uma boa correlação IVIV (AMIDON *et al.*, 1995).

De modo geral, independente da classificação do fármaco no SCB, considera-se que ensaios de dissolução bem concebidos podem ser fundamentais para o prognóstico na determinação da absorção oral e da bioequivalência dos fármacos a partir da sua forma farmacêutica (DRESSMAN *et al.*, 1998). Além disso, tais ensaios podem identificar se a biodisponibilidade de determinado produto farmacêutico é

sensível a alterações do processo produtivo, dos constituintes da formulação ou da concentração do fármaco (SOUZA *et al.*, 2007).

1.5.1 Avaliação biofarmacêutica

1.5.1.1 Molhabilidade

A molhabilidade das partículas sólidas está diretamente relacionada com as suas características de superfície, como tensão superficial e carga eletrostática. Muitos fenômenos de importância farmacêutica iniciam-se na superfície e, entre estes, as interações sólido-líquido possuem um interesse especial pois podem impactar diretamente nos ensaios de dissolução (PURI *et al.*, 2010).

A avaliação da molhabilidade de uma superfície sólida é determinada pela medida do ângulo de contato, que pode ser obtido utilizando diferentes técnicas, sendo a mais usual o método da gota séssil (KARDE, GHOROI, 2014). O ângulo entre a superfície sólida e a tangente à superfície da gota de líquido, medido através da fase líquida, é o ângulo de contacto (HENG *et al.*, 2007). No caso de superfícies que dificilmente se tornam molhadas por um líquido, tal como a água em compostos hidrofóbicos, a gotícula assume uma forma esférica e o ângulo de contato apresenta maiores valores, usualmente acima de 90°. Por outro lado, quando um filme sobre a superfície do compactado é formado, o ângulo de contato é igual a zero e a superfície, pelas suas características hidrofílicas, é completamente molhada pelo líquido (SOARES *et al.*, 2011).

A literatura não apresenta estudos de molhabilidade realizados especificamente com a nimesulida, porém alguns trabalhos com outros fármacos utilizaram esse ensaio como uma técnica complementar à avaliação biofarmacêutica (SHETE *et al.*, 2010; PURI *et al.*, 2010; KARDE, GHOROI, 2014) e ao estudo do comportamento de diferentes formas cristalinas (HENG, WILLIAMS, 2006; CARVAJAL, STANIFORTH, 2006). Com base nisso, a avaliação da molhabilidade torna-se uma ferramenta atraente para os ensaios de caracterização, especialmente

para os fármacos de baixa solubilidade, como é o caso da nimesulida.

1.5.1.2 Dissolução por dispersão

A dissolução por dispersão é um método não farmacopeico que consiste na adição do IFA diretamente na cuba de dissolução. Assim como no perfil de dissolução, a quantidade do fármaco dissolvida é quantificada em função do tempo, com a realização de coletas em múltiplos tempos.

Existem alguns fatores importantes que podem impactar nos resultados desse ensaio como, por exemplo, a molhabilidade, a cristalinidade, o tamanho de partícula e a área superficial (DEBNATH, SURYANARAYANAN, 2004; PAULINO *et al.*, 2013). Dessa forma, a avaliação biofarmacêutica de fármacos pelo ensaio de dissolução por dispersão foi descrita em alguns trabalhos na literatura (KOBAYASHI *et al.*, 2000; AGRAWAL *et al.*, 2004; KIM *et al.*, 2008, HONORIO *et al.*, 2013).

Ainda que não seja uma técnica descrita em compêndios oficiais, a dissolução por dispersão, como mencionado, é amplamente descrita na literatura técnica na área de controle de qualidade e tecnologia farmacêutica. Ela tem se mostrado bastante útil na discriminação entre insumos com diferentes propriedades físico-químicas. A grande dificuldade, entretanto, está na complexa correlação entre seus resultados com um parâmetro exclusivo do insumo testado, uma vez que diversos fatores (propriedades) podem influenciar no desempenho do mesmo.

1.5.1.3 Dissolução intrínseca

A determinação da taxa de dissolução intrínseca (TDI) é um método farmacopeico que tem sido utilizado para caracterizar compostos farmacêuticos sólidos. Pode ser definida como a velocidade de dissolução de um fármaco sob condições constantes de área superficial, velocidade de rotação, pH e força iônica do meio de dissolução (RIEKES *et al.*, 2014). Por se tratar da determinação da

velocidade de dissolução, permite uma melhor correlação *in vivo*, quando comparada com os ensaios em equilíbrio como, por exemplo, os estudos de solubilidade (RIEKES *et al.*, 2014; YU *et al.*, 2004).

Sua aplicabilidade diz respeito à determinação de parâmetros termodinâmicos associados a diferentes fases cristalinas e suas transformações de fase mediada por soluções, investigação dos fenômenos de transferência de massa durante o processo de dissolução, a determinação de perfis de dissolução em função do pH e a avaliação do impacto de diferentes pH e da presença de tensoativos na solubilização de compostos de baixa solubilidade (RIEKES *et al.*, 2014; YU *et al.*, 2004).

Dessa forma, o ensaio de dissolução intrínseca pode ser utilizado para a avaliação de fármacos obtidos de diferentes fabricantes. A variabilidade de matérias-primas disponíveis no mercado resulta de processos de síntese distintos, especialmente nas fases finais de cristalização, e pode conduzir a diferentes tamanhos de partículas, graus de hidratação, morfologia e formas cristalinas de um único fármaco (SEHIC *et al.* 2010).

A literatura relata diversos trabalhos utilizando a dissolução intrínseca como um dos métodos para a avaliação de diferentes formas cristalinas apresentadas por fármacos como a rifampicina (AGRAWAL *et al.*, 2014), carbamazepina (SEHIC *et al.* 2010), mebendazol (FLORES, 2011), teofilina (HULSE *et al.*, 2012), carvedilol (PRADO *et al.*, 2014) e efavirenz (FANDARUFF *et al.*, 2015). SANPHUI e colaboradores (2011) avaliaram a dissolução intrínseca dos polimorfos I e II da nimesulida, tendo obtido valores de taxa de dissolução intrínseca de 5,76 e 13,67 $\mu\text{g}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{cm}^{-2}$. Contudo, a análise o gráfico apresentado no referido estudo demonstra que não houve linearidade, comprometendo os resultados de TDI obtidos. Não foram encontrados outros trabalhos na literatura utilizando a dissolução intrínseca com o fármaco em estudo.

Em relação à interpretação dos resultados de TDI, cabe contextualizar que a determinação desta é obtida a partir de um gráfico construído da quantidade acumulada de fármaco dissolvido em função do tempo e da área exposta da pastilha ao meio de dissolução, e uma regressão linear é realizada (utilizando apenas os pontos em que a área manteve-se constante). A equação linear fornece a TDI em unidades de massa por tempo por área, representada pelo valor do coeficiente

angular, sendo a unidade da TDI expressa em $\text{mg}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{cm}^{-2}$ (USP 36, 2013). Tipicamente, os valores de TDI abaixo de $1,0 \text{ mg}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{cm}^{-2}$ indicam que a dissolução é a etapa limitante da absorção (SEHIC *et al.*, 2010; YU *et al.*, 2004).

1.5.2 Fatores que podem alterar a biodisponibilidade

1.5.2.1 Polimorfismo

No estado sólido, as moléculas podem adotar mais de um arranjo cristalino, o que dá origem ao fenômeno de polimorfismo. O polimorfismo pode ser dividido em duas categorias: polimorfismo conformacional e orientacional. No primeiro caso, as moléculas possuem conformações flexíveis e adotam mais de uma conformação no estado sólido. O polimorfismo orientacional surge a partir de diferentes arranjos cristalinos de moléculas de conformações rígidas (LEE *et al.*, 2011; DATTA, GRANT, 2004).

Ainda pode acontecer dos sólidos cristalinos apresentarem a inclusão ou a incorporação das moléculas de solvente na rede cristalina, sendo estes conhecidos como solvatos. Os solvatos em que a molécula de solvente é a água são conhecidos como hidratos (LEE *et al.*, 2011; DATTA, GRANT, 2004). A escolha entre as formas solvatadas e anidra dá-se por conta de parâmetros de processabilidade, biodisponibilidade e/ou estabilidade. Contudo, algumas vezes, a única fase cristalina disponível de um fármaco é o solvato e, como tal, é necessário compreender o comportamento após a dessolvatação. Considerando-se que, após a dessolvatação, pode ocorrer a formação de entidades amorfas, a estabilidade química também pode ser uma preocupação devido à reatividade aumentada de sólidos amorfos em relação aos seus congêneres cristalinos. Análogos aos polimorfos, os solvatos também podem conferir diferentes propriedades físicas e químicas. Por conseguinte, é essencial identificar e compreender as condições necessárias para formar determinado solvato, bem como as vias de transformação para outras fases sólidas, incluindo amorfos, anidros, e mesmo outros solvatos (LEE *et al.*, 2011).

O forte interesse no polimorfismo dentro do panorama farmacêutico, principalmente ao longo das últimas duas décadas, pode ser atribuído à sua alta frequência e ao fato de que as significativas diferenças em suas características químicas e físicas podem acarretar em mudanças no estado sólido, afetando a segurança e eficácia do medicamento (LEE *et al.*, 2011; DATTA, GRANT, 2004).

As alterações da estrutura cristalina podem provocar inúmeras variações de suas propriedades físico-químicas como, por exemplo, ponto de fusão, solubilidade, densidade, grau de higroscopicidade, reatividade no estado sólido, estabilidade física e química, propriedades elétricas e ópticas e alterações do comportamento térmico. Para a indústria farmacêutica, as alterações mais relevantes que um fármaco pode sofrer, em função da existência de diferentes formas cristalinas, incluem a modificação da velocidade de dissolução, diferença nas densidades aparente e verdadeira, variações na morfologia da partícula, e alterações da estabilidade química e física. Essas diferenças podem acarretar em desvios da biodisponibilidade e das propriedades de compressibilidade e escoamento do pó (HUANG, TONG, 2004; DATTA, GRANT, 2004).

Devido à importância de como os diferentes polimorfos podem impactar na biodisponibilidade, processabilidade e estabilidade do produto farmacêutico, a *Food and Drug Administration* (FDA) e outras agências reguladoras despendem especial atenção ao polimorfismo e exigem que as indústrias farmacêuticas possuam processos robustos e consistentes para produzir o produto pretendido. Além disso, a identificação e a caracterização do polimorfo devem ser incluídas como parte do processo de submissão regulatória (LEE *et al.*, 2011). No Brasil, a ANVISA, através da RDC 60/2014, que dispõe sobre a concessão e renovação de registro de medicamento novo, genérico e similar, contempla a obrigatoriedade do envio de informações de polimorfismo relacionadas ao fármaco que, em princípio, podem ser extraídas do *Drug Master File* (DMF) enviado pelo fabricante do IFA. Dessa forma, não exige, ao menos de forma clara, que essas informações sejam confirmadas pelo fabricante do medicamento, o que pode ser questionável tendo em vista os inúmeros impactos passíveis de ocorrer em função dos fenômenos de polimorfismo.

1.5.2.2 Tamanho de partícula

O tamanho de partícula e a sua influência na dissolução está descrito na equação de Nernst e Brunner, que é uma modificação da equação de Noyes-Whitney. Primeiramente, Noyes e Whitney estabeleceram a relação entre a velocidade de dissolução, a constante de saturação e a concentração no tempo t , conforme equação descrita abaixo (DOKOUMETZIDIS, MACHERAS, 2006):

$$\frac{dC}{dt} = K (C_s - C_t) \quad \text{Equação 4}$$

onde:

dC/dt = velocidade de dissolução;

K = constante de dissolução;

C_s = concentração de saturação do fármaco na solução;

C_t = concentração do fármaco em solução no tempo t ;

$C_s - C_t$ = gradiente de concentração.

Posteriormente, essa equação foi modificada por Nernst e Brunner, que consideraram os parâmetros: coeficiente de difusão (D), área superficial (S), espessura da camada de difusão (h) e volume do meio de dissolução (V), conforme demonstrado na Equação 5 (DOKOUMETZIDIS, MACHERAS, 2006):

$$\frac{dC}{dt} = K \times \frac{D \times S}{V \times h} (C_s - C_t) \quad \text{Equação 5}$$

Esta última teoria é a mais aceita, pois demonstra os principais parâmetros que influenciam no teste de dissolução (MANADAS *et al.*, 2002).

A redução do tamanho das partículas dos fármacos para micro e nanopartículas tem demonstrado aumentar, significativamente, a dissolução e a biodisponibilidade dos fármacos. Isso é conseguido pelo aumento da superfície de contato, que provoca um impacto positivo na velocidade de dissolução e,

eventualmente, de absorção. A estratégia de redução do tamanho da partícula é uma ferramenta vantajosa para compostos com baixa solubilidade em água (WANG *et al.*, 2013; HETAL *et al.*, 2010).

Um dos processos para a redução do tamanho de partícula é a micronização e refere-se à redução de substâncias em pó a partículas de, aproximadamente, 10 µm ou inferiores (JOSHI, 2011). Embora existam vantagens acerca da otimização da dissolução dos fármacos com baixa solubilidade, a micronização deve ser ponderada, pois pode acarretar em problemas de baixa densidade e fluxo inadequado. Além disso, o tamanho e o formato da partícula podem influenciar nas propriedades físico-químicas das formas farmacêuticas (WU *et al.*, 2012). SANTL e colaboradores (2011) acrescentam que partículas menores geralmente tendem a originar comprimidos mais resistentes quando comparados com comprimidos obtidos com partículas mais grosseiras.

1.5.2.3 Parâmetros físico-químicos e fisiológicos

Conforme abordado anteriormente, a absorção do fármaco através do trato gastrointestinal depende da sua dissolução nos fluidos fisiológicos, o que requer determinada hidrossolubilidade. No entanto, o fármaco deve apresentar também certa lipossolubilidade para atravessar as membranas biológicas que são de natureza lipoproteica (STORPIRTIS *et al.*, 2004). Aliados aos parâmetros físico-químicos estão as variáveis fisiológicas que apresentam importante papel na absorção dos fármacos. LIPKA e AMIDON (1999) relacionaram os principais parâmetros físico-químicos e fisiológicos que influenciam na biodisponibilidade do fármaco, conforme demonstrado na TABELA 2.

TABELA 2 – Parâmetros que influenciam na dissolução do fármaco no trato gastrointestinal (TGI).

Parâmetro	Físico-químico	Fisiológico
Área de superfície do fármaco	Tamanho da partícula, molhabilidade	Agentes tensoativos no suco gástrico e bile
Coefficiente de difusão	Massa molar	Viscosidade dos fluidos do trato gastrointestinal
Espessura da camada de estagnação	-	Motilidade do TGI e taxa de fluxo
Solubilidade	Hidrossolubilidade, lipossolubilidade, estrutura do cristal	pH, bile, capacidade tamponante, alimentação
Concentração do fármaco em solução	-	Permeabilidade
Volume do TGI	-	Secreções

FONTE: adaptado de LIPKA, AMIDON, 1999.

Em relação aos parâmetros físico-químicos e suas influências na biodisponibilidade muito já foi discutido no presente trabalho, cabendo aqui uma abordagem mais detalhada em torno das propriedades fisiológicas. As condições fisiológicas podem afetar tanto a dissolução do fármaco como sua velocidade e extensão de absorção. A influência do pH na solubilidade, dissolução e permeação da membrana torna-se particularmente importante no trato gastrointestinal, onde existe um gradiente de pH, podendo variar de 1 a 2 no estômago até 7 a 8 no cólon. Além disso, o ambiente fisiológico está constantemente ajustando-se de acordo com a atividade humana cotidiana, como a ingestão de alimentos. O tempo de trânsito gastrointestinal também deve ser considerado, pois afeta a absorção do fármaco. Tipicamente, o tempo de esvaziamento gástrico para líquidos é de 1 hora, enquanto que para materiais sólidos é cerca de 2 a 3 h. Consequentemente, a administração de fármacos com líquido ou alimentos sólidos irá resultar em diferentes tempos de trânsito gastrointestinal, conduzindo a variações na extensão da absorção do fármaco. Adicionalmente, a ingestão de alimentos estimula a liberação de enzimas e fluidos digestivos, e estes podem melhorar ou impedir a absorção do fármaco (LU *et al.*, 2011).

Como observado, a gama de fatores que pode alterar a biodisponibilidade é

bastante complexa e requer a avaliação em cada uma das esferas de ação, seja ela físico-química ou fisiológica, de modo que no momento do desenvolvimento da formulação todos esses parâmetros devem ser levados em consideração.

1.6 Desenvolvimento de formas farmacêuticas sólidas

Dentre as várias formas farmacêuticas disponíveis, os comprimidos representam a forma farmacêutica mais comum. Isso se deve ao fato dos comprimidos oferecerem benefícios tanto para o consumidor, representados pela facilidade de administração e transporte, como para a indústria farmacêutica, a medida que viabiliza o uso de fármacos de baixa estabilidade (NGUYEN *et al.*, 2013).

Na indústria farmacêutica, o método para a produção de comprimidos preferido é a compressão direta. No entanto, muitas vezes é necessário otimizar as propriedades de fluxo e de compactação dos pós, a fim de obter uniformidade de enchimento da matriz e comprimidos que atendam aos parâmetros de dureza e desintegração. Tanto o comportamento de fluxo como a compressibilidade dos pós são geralmente reforçados com a conversão de pós finos em grânulos maiores, através dos processos de granulação úmida ou seca. A granulação úmida consiste na distribuição da solução aglutinante sobre uma mistura de pós, seguida por secagem dos aglomerados produzidos. Isto é conseguido mais corriqueiramente na indústria farmacêutica utilizando um granulador de alto cisalhamento ou a tecnologia de leito fluidizado. Alternativamente, a granulação a seco realiza uma dupla compressão, utilizando um compactador de rolos. Este processo não requer o uso de água e nem de solventes orgânicos, tornando-o um método atraente para fármacos termossensíveis. Como desvantagem, a granulação a seco produz uma quantidade relativamente maior de partículas finas que podem impactar negativamente na compressibilidade da mistura (SANTL *et al.*, 2011).

A FIGURA 11 apresenta uma ilustração simplificada dos processos de obtenção de comprimidos mais comumente utilizados na indústria farmacêutica: a compressão direta e a granulação úmida.

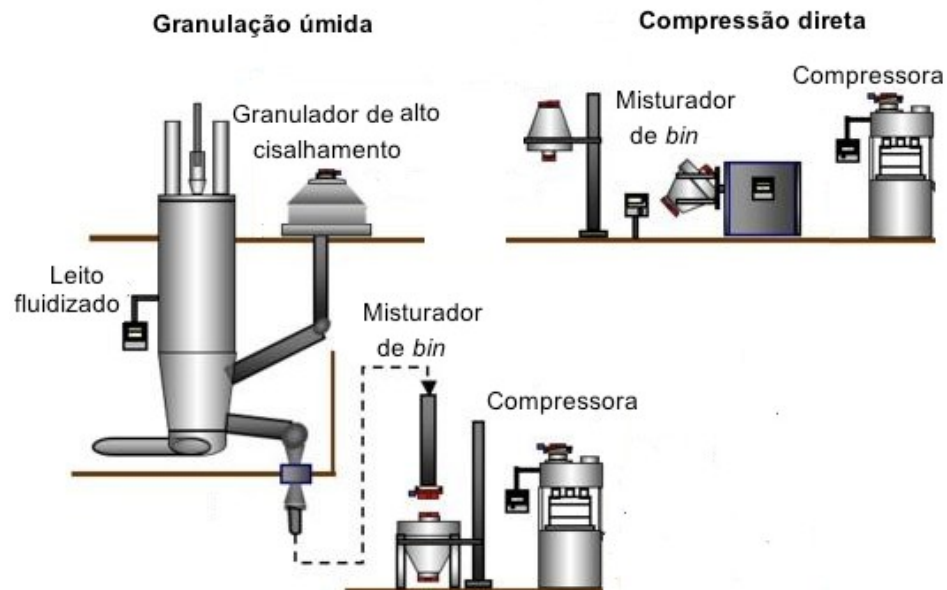


FIGURA 11 – Principais processos de obtenção de comprimidos: granulação úmida e compressão direta.

No contexto das formulações, além do IFA, os excipientes estão presentes com o objetivo de melhorar ou modificar a estabilidade e/ou o desempenho de uma forma farmacêutica. Estes insumos muitas vezes determinam as propriedades físicas e mecânicas das formas farmacêuticas finais. Para formas farmacêuticas sólidas orais, o interesse principal é a solubilidade e dissolução do IFA, seguido de considerações sobre a processabilidade (propriedades mecânicas) e estabilidade. Uma vez selecionados, os excipientes devem ser combinados com o processo de fabricação escolhido, que tipicamente requer a adição correta destes, de modo harmonizado em termos de quantidade, tempo (de adição/mistura) e etapa do processo, com o objetivo de extrair o máximo de benefícios que os excipientes podem trazer à formulação (HAMAD *et al.*, 2010).

1.6.1. Ensaio de dissolução

A absorção de fármacos a partir de formas farmacêuticas sólidas depende da sua liberação, dissolução ou solubilização sob condições fisiológicas e de sua permeabilidade através do TGI (MALESUIK *et al.*, 2006).

Dessa forma, os ensaios de dissolução, além de representarem uma exigência regulatória, constituem uma ferramenta indispensável nas várias etapas do desenvolvimento farmacotécnico, são utilizados nos estudos de correlações IVIV e fornecem informações úteis para a identificação de variáveis críticas na produção, no controle de qualidade e no estudo de estabilidade (MALESUIK *et al.*, 2006; MANADAS *et al.*, 2002).

A identificação e o controle das variáveis que podem influenciar a liberação do fármaco, bem como a padronização criteriosa das condições do ensaio, devem ser conduzidos no sentido de se obter o máximo poder discriminatório e resultar na capacidade de detecção de eventuais desvios de padrões de qualidade (MANADAS *et al.*, 2002). A definição dos parâmetros de volume do meio de dissolução, o aparato a ser utilizado, assim como o meio de dissolução adequado e o método de quantificação da amostra (geralmente cromatografia a líquido de alta eficiência acoplada a uma técnica espectrofotométrica) são parâmetros importantes para o desenvolvimento de um ensaio de dissolução (ROZET *et al.*, 2012).

Segundo a RDC 31/2010 (BRASIL, 2010) as formas farmacêuticas de liberação imediata são aquelas em que a dose total da substância ativa é disponibilizada rapidamente após sua administração. Em ensaios *in vitro* apresenta, em geral, dissolução média de no mínimo 75% da substância ativa em até 45 minutos. Tal forma farmacêutica pode apresentar tipos de dissoluções diferenciadas em:

- dissolução rápida: a dissolução média, de no mínimo 85% da substância ativa, é atingida em até 30 minutos; e
- dissolução muito rápida: quando a dissolução média de no mínimo 85% da substância ativa é alcançada em até 15 minutos.

O ensaio de dissolução também pode ser usado para a comparação de perfis de dissolução, com o objetivo de estabelecer a semelhança entre dois produtos

farmacêuticos. Para efeitos de comparação de perfis de dissolução, o fator de diferença (F1) e o fator de similaridade (F2) são muito utilizados na prática (ROZET *et al.*, 2012).

A comparação de perfis de dissolução é útil nos casos em que se deseja conhecer o comportamento de dois medicamentos antes de submetê-los a Estudo de Biodisponibilidade Relativa/Bioequivalência, para a isenção de menores dosagens desses produtos e para alterações pós-registro (BRASIL, 2010).

Os principais métodos utilizados na comparação dos perfis de dissolução são: métodos baseados na análise da variância, métodos modelo-dependentes e métodos modelo-independentes (MANADAS *et al.*, 2002). No Brasil, a ANVISA, através da RDC 31/2010, preconiza o uso do método modelo-independente e determina que os perfis de dissolução devam ser avaliados utilizando o cálculo do fator de semelhança (F2). São considerados semelhantes, os perfis de dissolução que apresentar valor de F2 compreendido entre 50 a 100.

A eficiência de dissolução (ED) representa outro parâmetro que é calculado com o objetivo de complementar o estudo comparativo dos perfis de dissolução e acrescentar uma ferramenta discriminativa às análises. A ED avalia não apenas a quantidade de fármaco dissolvida em um determinado tempo, mas a cinética de dissolução. A determinação da ED envolve o cálculo da área sob a curva (ASC) em um determinado tempo e, desse modo, a comparação entre formulações aplicando esse parâmetro tem sido defendida por alguns pesquisadores como ferramenta preditiva dos resultados *in vivo*, uma vez que a biodisponibilidade é também determinada pelo cálculo da ASC em concentrações plasmáticas (MANADAS *et al.*, 2002; MUNIZ *et al.*, 2012; PAULINO *et al.*, 2013, SERRA, STORPIRTIS, 2007).

2 JUSTIFICATIVA

O Laboratório Químico Farmacêutico do Exército (LQFEx) tem como missão produzir medicamentos que previnam e curem doenças, e atende às Organizações Militares do Exército e a convênios com o Ministério da Saúde. Recentemente, o LQFEx realizou uma revisão de seu portfólio de medicamentos, onde foi constatada a necessidade de um anti-inflamatório seletivo não esteroidal. Diante das várias alternativas farmacêuticas disponíveis no mercado, a nimesulida foi o fármaco eleito.

Do ponto de vista de efeitos terapêuticos, a nimesulida é um fármaco comprovadamente seguro e eficaz, apresentando menos efeitos adversos quando comparado com outros anti-inflamatórios como, por exemplo, diclofenaco de sódio e cetoprofeno (BERNAREGGI, 2000; DANNHARDT, KIEFER, 2001). Por outro lado, a nimesulida detém duas propriedades desafiantes para o desenvolvimento farmacotécnico de formas farmacêuticas sólidas, representadas por sua baixa solubilidade e pelo polimorfismo observado em amostras comerciais. Essas características reforçam a necessidade da caracterização do fármaco e o delineamento mais refinado de uma formulação que atenda aos critérios de processabilidade e dissolução.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

O objetivo deste trabalho é desenvolver uma formulação de comprimidos simples de liberação imediata de Nimesulida 100 mg com vistas ao registro de medicamento similar.

3.2 Objetivos Específicos

- Caracterizar os parâmetros físico-químicos do insumo farmacêutico ativo.
- Propor formulações de Nimesulida 100 mg comprimidos simples e definir o melhor processo de produção.
- Realizar estudos de perfil de dissolução comparativo entre as formulações propostas e o medicamento de referência Nisulid®.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Material

4.1.1 Equipamentos

- Calorímetro exploratório de varredura modelo 60, Shimadzu.
- Analisador Termogravimétrico (TG) TG/SDTA modelo 851e, Mettler Toledo.
- Microscópio eletrônico de varredura modelo Quanta 400, FEI.
- Difratorômetro de raios X de pó modelo D8, Bruker.
- Equipamento para determinação de densidade modelo *Tap Density Tester*, Nova Ética.
- Equipamento para determinação da fluidez *Granulate Tester* modelo GTB, Erweka.
- Dissolutor modelo Dissolutek Evolution 6100, Distek.
- Aparato de dissolução intrínseca, Distek.
- Prensa hidráulica, Distek.
- Espectrômetro no ultravioleta modelo LAMBDA 25, PerkinElmer.
- Espectrômetro no infravermelho modelo Nicolet 6700 FT-IR, Thermo Scientific.
- Espectrômetro de Ressonância Magnética Nuclear modelo Bruker Avance III 400 (9,4 Tesla).
- Tensiômetro modelo DSA 100, Krüss.
- Equipamento para determinação de granulometria por difração LASER modelo Mastersizer 2000 (módulo líquido), Malvern.
- Cromatógrafo a líquido de alta eficiência modelo EliteLaChrom, Merck.
- Balança semianalítica, capacidade 200 g, Sartorius.
- Balança analítica modelo A200S, Sartorius.
- Granulador de alto cisalhamento (*high shear*) modelo TMG 1/6, capacidade 4 L, Glatt.

- Leito fluidizado modelo Midi Glatt, Glatt.
- Granulador oscilante modelo K-70, Lawes.
- Misturador em V modelo 66/10, capacidade 2L, Lawes.
- Compressora rotativa modelo 2000 10PSC, Lawes.
- Balança de infravermelho modelo IV2500, Gehaka.
- Durômetro portátil modelo TBH100, Erweka.
- Friabilômetro modelo modelo TA10, Erweka.
- Desintegrador modelo 301-1, Nova Ética.
- Aparelho de ultrassom modelo USC 2800A, Unique.
- Placa de agitação magnética modelo 0261-12, Quimis.
- Potenciômetro modelo 827 pHLab, Metrohm.
- Incubadora com agitação orbital modelo 430/RDBP, Ethiktechnology.

4.1.2 Reagentes, material e matérias-primas

- Balão volumétrico de 10,0 mL, 25,0 mL, 50,0 mL, 100,0 mL e 1000,0 mL.
- Pipeta volumétrica de 1,0 mL, 3,0 mL e 5,0 mL.
- Bequer de 250 mL.
- Proveta de 100 mL e 250 mL.
- Cadinho de alumínio com tampa perfurada.
- Filtro de membrana 0,45 µm.
- Medicamento de referência Nisulid®, do laboratório Aché.
- Nimesulida fabricante NM1, matéria-prima não micronizada, Aarti Drugs, NMS110401144.
- Nimesulida fabricante NM2, matéria-prima micronizada, Aarti Drugs, NMS11050223.
- Nimesulida fabricante NM3, matéria-prima micronizada, Vital Health Care, NMS812023.
- Excipientes:
 - lactose monoidratada, DFE Pharma, lote 10635191;

celulose microcristalina 101, Mingtai, lote C1011080;
docusato de sódio, Shin-Etsu Chemical, 37229;
hidroxipropilcelulose de baixa substituição, Shin-Etsu Chemical, 61440;
amidoglicolato de sódio, Ecadil, lote 231301;
estearato de magnésio, Magnesia, lote 1692711;
polivinilpirrolidona K-30, Boai Nki, lote 100408112;
lauril sulfato de sódio, Nuclear, 11101156;
água purificada.

- Substância Química de Referência Nimesulida, lote 2049 (procedência: Farmacopeia Brasileira – Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde).
- Reagentes: polissorbato 80, hidróxido de sódio em lentilhas, ácido clorídrico, ácido acético glacial, fosfato de potássico dibásico, fosfato de potássio tribásico, fosfato de potássio monobásico, acetonitrila, acetato de sódio anidro.

4.2 Métodos

As análises de caracterização do IFA contemplaram as amostras de nimesulida NM1, NM2 e NM3.

4.2.1 Análise do insumo nimesulida de acordo com os ensaios farmacopeicos

As amostras de nimesulida, NM1, NM2 e NM3, foram analisadas segundo as metodologias descritas na Farmacopeia Brasileira (FB 5, 2010).

4.2.1.1 Identificação

Como métodos de identificação de nimesulida, a Farmacopeia Brasileira preconiza a espectroscopia no infravermelho, a cromatografia em camada delgada e a cromatografia a líquido de alta eficiência. Neste trabalho foi utilizado apenas o método de identificação por espectroscopia no infravermelho. O ensaio foi conduzido conforme descrito no item 4.2.3 (f. 63).

4.2.1.2 Metais pesados

O ensaio foi realizado de acordo com o procedimento descrito nos métodos gerais (ensaio limite para metais pesados, método IV) da Farmacopeia Brasileira (FB 5, 2010).

4.2.1.3 Perda por dessecação

Foram utilizadas amostras de 1,0 g que, após dessecadas em estufa a 105 °C durante 4 horas, foram pesadas. As diferenças de massa antes e após o processo não devem ser maiores do que 0,5%.

4.2.1.4 Cinzas sulfatadas

As amostras foram avaliadas a partir de 1,0 g da amostra e o percentual de perda foi determinado a partir da diferença de massas antes e após o teste, não sendo permitidos valores superiores a 0,1%.

4.2.1.5 Doseamento

O ensaio de doseamento das amostras de nimesulida foi conduzido de acordo com o método B descrito na Farmacopeia Brasileira, que utiliza espectrofotometria por absorção no ultravioleta. O ensaio foi realizado em triplicata, com a solução padrão e a solução amostra. As leituras das absorvâncias das amostras e do padrão foram realizadas em 392 nm.

A solução reagente foi obtida com a pesagem de 400 mg de hidróxido de sódio em lentilhas, em balança semianalítica, que foram transferidos para um bequer de 250 mL para solubilização com 100 mL de água purificada. Em seguida, essa solução foi transferida para balão volumétrico de 1000,0 mL e o volume completado com água purificada, resultando em uma solução com concentração 0,01M. A solução reagente foi utilizada para o preparo da amostra e padrão e para o ajuste do zero no espectrofotômetro, antes da leitura das mesmas.

Pesou-se 100,0 mg da amostra que foram transferidos para balão volumétrico de 100,0 mL, dissolvidos e avolumados com hidróxido de sódio 0,01M. A concentração final da solução foi de 0,00015% (m/v).

O preparo da solução padrão foi realizado utilizando o mesmo solvente e a mesma concentração final.

As amostras devem apresentar teor de nimesulida de 98,5% a 101,5%.

4.2.2 Calorimetria diferencial exploratória (DSC)

As análises de DSC foram realizadas no Laboratório de Controle de Qualidade do LQFEx em um calorímetro exploratório diferencial modelo 60, da Shimadzu. Foram pesados cerca de 3 mg de nimesulida, e encapsulados em cadinhos de alumínio com tampa de alumínio fechada. As curvas de DSC foram obtidas a uma razão de aquecimento de 5°C.min⁻¹, 10°C.min⁻¹, 20°C.min⁻¹ e 40°C.min⁻¹ em uma faixa de temperatura de 25°C a 200°C, utilizando argônio como gás de purga a uma vazão de 50 mL.min⁻¹.

4.2.3 Espectroscopia no infravermelho

As análises de espectroscopia na região do infravermelho médio foram realizadas na Plataforma de Métodos Analíticos de Farmanguinhos. Foi utilizado o equipamento modelo Nicolet 6700 FT-IR, da Thermo Scientific. As posições das bandas nos espectros foram apresentadas em número de ondas (ν) cuja unidade é o centímetro inverso (cm^{-1}) e as intensidades das bandas estão expressas como transmitância. A leitura foi realizada de forma direta, sem preparo da amostra. Os espectros foram registrados de 4000 a 400 cm^{-1} com resolução de 4 cm^{-1} .

4.2.4 Difração de raios X (DRX)

As análises de difração de raios X pelo método de pó foram realizadas no Laboratório de Difração de Raios X (LDRX) da Universidade Federal Fluminense, utilizando Difratorômetro D8 (Bruker). Os padrões de difração de raios X foram coletados de 4 a 50° , com passo de $0,02^\circ$ e tempo de aquisição de $0,1$ segundo, utilizando radiação $\text{Cu K}\alpha$ ($\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$), operando com 40 kV e 40 mA de tensão e corrente de tubo, respectivamente.

4.2.5 Ressonância magnética nuclear (RMN)

4.2.5.1 RMN em solução

Os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C em solução foram obtidos em um espectrômetro Bruker Avance III 500 (500 MHz para ^1H e 125 MHz para o ^{13}C) do laboratório de RMN da Plataforma de Métodos Analíticos de Farmanguinhos. Foi utilizado uma sonda *broadband* (BB) de 5 mm à $25,0 \pm 0,1^\circ \text{C}$, utilizando clorofórmio

deuterado (Cambridge Isotope Laboratories, Inc.) como solvente. Os valores dos deslocamentos químicos (δ) foram referidos em ppm, as constantes de acoplamento (J) foram expressas em Hertz (Hz) e as multiplicidades descritas como: simpleto (s), duplete (d), tripleto (t) e duplo duplete (dd). O espectro DEPT foi obtido com $\theta_z = 135^\circ$, onde -CH e -CH₃ aparecem em fase positiva e -CH₂ em fase negativa. Os experimentos bidimensionais HSQC e HMBC foram obtidos usando as sequências padrões, do programa TopSpin, fornecidas pela Bruker.

4.2.5.2 RMN no estado sólido

As análises de RMN no estado sólido foram realizadas no Laboratório Multiusuário de RMN de Sólidos Professora Adeline Costa Neto do Instituto de Química da Universidade Federal do Rio de Janeiro. Os espectros de RMN de ¹³C (100 MHz) na forma sólida foram obtidos em um equipamento Bruker Avance III 400 (9,4 Tesla) utilizando sonda tripla ressonância de 4 mm.

As amostras foram empacotadas em rotores de zircônia (ZrO₂) de 4 mm de diâmetro externo, munidos com tampas de Kel-F. Os espectros foram adquiridos por polarização cruzada ¹H → ¹³C (CP/MAS), com velocidade de rotação no ângulo mágico de 9300 Hz. As condições de aquisição foram realizadas com um tempo de contato de 20 ms e intervalo entre os pulso de 4s. Adamantano foi usado como referência para os deslocamentos químicos.

4.2.6 Tamanho de partícula por difração de LASER

A avaliação da distribuição do tamanho de partícula foi obtida através do método por difração de LASER, utilizando um difratômetro Malvern, modelo Mastersize 2000E, do Laboratório de Controle de Qualidade da Farmoquímica Nortec Química, com faixa de trabalho de 0,1 mcg a 1000,0 mcg. Em função da baixa solubilidade da nimesulida e de suas nítidas características de aglomeração,

foi necessário o uso de tensoativo. Preparou-se uma suspensão de 500 mg de nimesulida em solução aquosa contendo 0,5% de polissorbato 80. Também foi necessária a utilização de ultrassom, na velocidade 10.

4.2.7 Microscopia eletrônica de varredura

Foi utilizado o Microscópio Quanta 400 (FEI), disponibilizado pelo Setor de Caracterização Tecnológica da Coordenação de Análise Mineral (SCT/COAM) do Centro de Tecnologia Mineral (CETEM). Foi utilizada voltagem de 10 KV.

Pequenas quantidades de amostra foram aderidas a um pedaço de fita adesiva dupla face de carbono apoiada sobre um suporte. As amostras foram metalizadas com uma fina camada de ouro à temperatura ambiente e sob vácuo.

4.2.8 Avaliação biofarmacêutica

4.2.8.1 Molhabilidade

O ensaio de molhabilidade foi realizado no tensiômetro DSA 100 (Krüss, Alemanha) do Laboratório de Engenharia Química da Escola de Química da UFRJ.

A análise foi realizada em triplicata, à temperatura ambiente, utilizando o método gota séssil. Foram compactados aproximadamente 300 mg na forma de discos a 800 psi por 1 minuto com auxílio de uma prensa hidráulica. Uma gota de líquido (água saturada com nimesulida) foi dispensada na superfície da amostra e as imagens capturadas imediatamente após. O ângulo de contato foi medido pelo equipamento por expressão matemática adequada para o formato da gota.

4.2.8.2 Dissolução por dispersão

Os estudos de dissolução por dispersão foram realizados em dissolutor modelo 6100 da marca Distek, do Laboratório de Controle de Qualidade do LQFEx, utilizando o aparato II (pás), 75 rpm de agitação e 900 mL de tampão fosfato de potássio pH 7,4 com polissorbato 80 a 2,0 % (v/v) como meio de dissolução, a uma temperatura de 37°C. Cerca de 100,0 mg de nimesulida foram adicionados diretamente à cuba de dissolução e alíquotas de 10 mL serão coletadas após 5, 10, 15, 20, 30, 45, 60 e 90 minutos, mantendo condição *sink* durante todo o ensaio. As alíquotas foram filtradas, diluídas e as absorvâncias medidas em espectrofotômetro na região do ultravioleta, modelo LAMBDA 25, marca PerkinElmer, no comprimento de onda 392 nm. Os ensaios foram realizados em triplicata.

A comparação dos perfis de dissolução por dispersão foi realizada através dos cálculos do fator de diferença (F1), do fator de similaridade (F2) e da eficiência de dissolução (ED), obtidos através das Equações 6, 7 e 8:

$$F1 = \frac{[\sum_{t=1}^n |R_t - T_t|]}{[\sum_{t=1}^n R_t]} \times 100 \quad \text{Equação 6}$$

onde:

n = número de coletas

R_t = porcentagem de fármaco dissolvido de uma amostra R em um tempo t

T_t = porcentagem de fármaco dissolvido de uma amostra T em um tempo t

$$F2 = 50 \times \log \left[1 + \frac{1}{n} \sum_{t=1}^n (R_t - T_t)^2 \right]^{-0,5} \times 100 \quad \text{Equação 7}$$

onde:

n = número de coletas

R_t = porcentagem de fármaco dissolvido de uma amostra R em um tempo t

T_t = porcentagem de fármaco dissolvido de uma amostra T em um tempo t

$$ED (\%) = \frac{ASC_{(0-45)}}{ASC_{ATR}} \times 100\%$$

Equação 8

onde:

ED = eficiência de dissolução

ASC = área sob a curva

ATR = área total do retângulo

Os valores de ED foram submetidos à análise estatística de variância (ANOVA *one-way*) seguida pelo teste de Tukey e considerando como significante $p < 0,05$.

4.2.9 Dissolução intrínseca

Os ensaios de dissolução intrínseca foram realizados no Laboratório de Controle de Qualidade do LQFEx.

Foi utilizada a técnica de dissolução em disco fixo, no dissolutor Dissolutek Evolution 6100. O aparato utilizado para dissolução intrínseca (Distek, EUA) consiste numa matriz de aço e uma base plástica. A matriz foi fixada à base e em sua cavidade cilíndrica central foram adicionados 100 mg do IFA. Em seguida, um punção foi encaixado nessa cavidade para auxiliar na compactação da amostra através de uma prensa hidráulica. A força exercida no processo de compactação foi aquela suficiente para se obter um compactado que não se desintegrasse de forma rápida. Foram realizados ensaios utilizando 2000 psi e 1500 psi de pressão. Após a obtenção do compacto fixado à matriz, removeu-se a base expondo um compactado de 0,5 cm². A matriz foi encaixada a uma tampa plástica e, com o pó compactado para cima, esse conjunto foi introduzido na cuba de dissolução de fundo plano contendo 500 mL de tampão fosfato de potássio pH 7,4 com polissorbato 80 a 2,0 % (v/v) e etanol a 10% (v/v) a uma temperatura de 37°C. O ensaio foi conduzido utilizando 300 rpm de agitação com o aparato pá. O teste foi realizado em triplicata

para cada amostra e as alíquotas foram de 10 mL após 10, 15, 20, 25, 30, 45, 60 e 90 minutos. A quantidade de fármaco dissolvido foi determinada através da leitura direta das alíquotas, não havendo necessidade de diluição, em espectrofotômetro na região do ultravioleta Shimadzu UV-1800 no comprimento de onda 392 nm.

4.2.10 Avaliação da fluidez

4.2.10.1 Densidades aparente e compactada

As análises para determinação das densidades aparente e compactada de nimesulida foram realizadas conforme previsto no Método I da Farmacopeia Americana (USP 36, 2013).

Foram pesadas amostras, em triplicata, em quantidade suficiente para ocupar, no mínimo, 60% do volume de uma proveta de 100 mL de capacidade. As amostras foram cuidadosamente transferidas para proveta graduada de 100 mL, sem favorecer a compactação do pó. O volume inicialmente ocupado pelo pó é o volume aparente (V_0) e os valores obtidos foram utilizados para cálculo da densidade aparente (D_a), em g/mL, de acordo com a equação:

$$D_a = \frac{m}{V_0} \quad \text{Equação 9}$$

onde:

D_a = densidade em g/mL

m = massa da amostra (g)

V_0 = volume ocupado pela amostra (em mL)

A densidade compactada foi obtida através da compactação das amostras previamente utilizadas para a determinação da densidade aparente. Após a observação do volume aparente (V_0), as amostras foram submetidas a compactação mecânica até volume constante, utilizando equipamento *Tap Density Tester*, do

Laboratório Químico Farmacêutico do Exército. As batidas 500, 750 e 1250 foram aplicadas, sucessivamente, às amostras e determinados os volumes V_{500} , V_{750} e V_{1250} , respectivamente. A densidade compactada (D_c) foi calculada, em g/mL, utilizando a seguinte equação:

$$D_c = \frac{m}{V_f} \quad \text{Equação 10}$$

onde:

D_c = densidade em g/mL

m = massa da amostra (g)

V_f = volume ocupado pela amostra (em mL) ao final da compactação

4.2.10.2 Índice de Carr e razão de Hausner

Esses valores foram obtidos após a realização dos ensaios de densidade aparente e compactada através das fórmulas apresentadas no item 4.2.9.1 Dessa forma, as propriedades de fluxo das amostras poderão ser classificadas de acordo com a TABELA 3.

TABELA 3 – Escala de fluidez de acordo com o índice de compressibilidade (ou de Carr) e razão de Hausner (FONTE: USP 36, 2013).

Índice de Compressibilidade (%)	Classificação do Fluxo	Razão de Hausner
10	Excelente	1,00-1,11
11-15	Bom	1,12-1,18
16-20	Razoável	1,19-1,25
21-25	Aceitável	1,26-1,34
26-31	Ruim	1,35-1,45
32-37	Muito ruim	1,46-1,59
>38	Péssimo	>1,60

4.2.10.3 Determinação do ângulo de repouso e fluxo por orifícios

As propriedades de fluidez das amostras foram coletadas no equipamento *Granulate Tester*, modelo GTB, marca Erweka, do Laboratório de Tecnologia Farmacêutica do Complexo Tecnológico de Medicamentos de Farmanguinhos, FIOCRUZ. O princípio de operação do equipamento envolve a passagem das amostras por funil localizado em altura pré-determinada sobre uma plataforma circular, formando um cone gravimétrico. O ângulo formado entre o prato horizontal e a altura do cone consiste no ângulo de repouso do pó e é determinado opticamente pelo equipamento. Em casos de amostras com fluidez pobre, podem ser testadas aberturas de diâmetros diferentes e o auxílio de aparato para agitação do pó, com velocidade controlável.

Os resultados obtidos foram avaliados de acordo com a classificação prevista na Farmacopeia Americana (USP 36, 2013), conforme descrito na TABELA 4.

TABELA 4 – Classificação da fluidez em função do ângulo de repouso.

Ângulo de Repouso	Classificação do Fluxo
25-30	Excelente
31-35	Bom
36-40	Razoável
41-45	Aceitável
46-55	Ruim
56-65	Muito ruim
>66	Péssimo

FONTE: USP 36, 2013.

4.2.11 Delineamento das formulações

As propostas de formulações para o produto Nimesulida 100 mg comprimidos simples foram elaboradas a partir da análise dos resultados da caracterização do fármaco e das informações já obtidas da literatura científica. Tendo em vista o objetivo de peticionar o registro de medicamento similar junto à ANVISA, as formulações propostas seguiram critérios de similaridade com o medicamento de referência, Nisulid®.

4.2.11.1 Preparo das formulações

Os lotes galênicos foram manipulados no LQFEx, utilizando os excipientes disponíveis e mais comuns para a produção de comprimidos, bem como aqueles presentes na formulação do medicamento de referência e os equipamentos: granulador de alto cisalhamento (*high shear*) modelo TMG 1/6, Glatt; leito fluidizado modelo Midi Glatt, Glatt; granulador oscilante modelo K-70, Lawes; misturador em V modelo 66/10, Lawes; e compressora rotativa modelo 2000 10PSC, Lawes. A FIGURA 12 ilustra o fluxograma de desenvolvimento experimental e os ensaios realizados nas respectivas etapas.

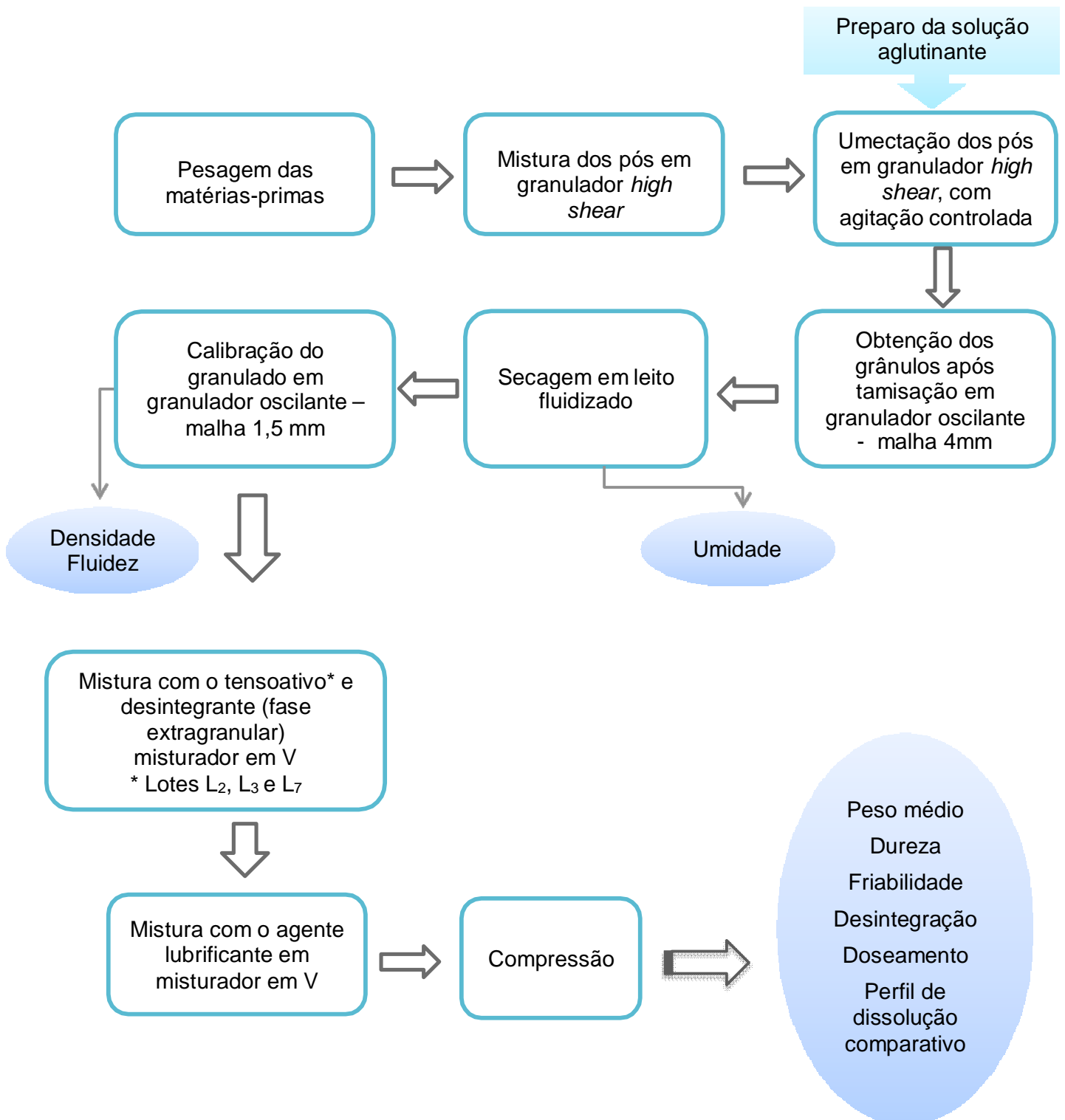


FIGURA 12 – Fluxograma do desenvolvimento farmacotécnico das formulações propostas de nimesulida 100 mg comprimidos simples.

Os lotes galênicos foram preparados em quantidades de cerca de 600 a 800 g. Os insumos das formulações foram pesados em balança semianalítica.

A granulação úmida foi conduzida em granulador de alto cisalhamento (*high shear*), com capacidade para 4L, no qual ocorreu a mistura inicial de pós e a umectação com a solução aglutinante, realizada manualmente. As velocidades do misturador e do triturador foram controladas durante o processo. Terminada a granulação, a massa úmida foi passada em malha 4 mm utilizando o granulador oscilante. A secagem do granulado foi realizada em leito fluidizado a uma temperatura de 45°C e com vazão controlada. O ponto final da secagem foi determinado através da verificação da umidade residual, utilizando uma balança de infravermelho, sendo estabelecida a faixa de umidade residual entre 2 a 3%. Após a secagem, o granulado foi normalizado com malha 1,5 mm, em granulador oscilante. Em seguida transferiu-se este granulado para o misturador em V, capacidade 5L, para a realização da mistura dos excipientes que foram adicionados na etapa extragranular. Por fim, a compressão foi realizada em compressora rotativa montada com jogo de punções de 10 mm plano sulcado. A compressora foi regulada e a velocidade foi mantida constante durante todo o processo de compressão. O controle de processo foi realizado através da verificação dos parâmetros de peso médio, dureza e friabilidade.

4.2.12 Avaliação das formulações propostas

Os comprimidos foram analisados empregando os testes de peso médio, dureza, friabilidade, desintegração, doseamento, uniformidade de doses unitárias, dissolução, conduzidos conforme descrito na Farmacopeia Brasileira, além do perfil de dissolução comparativo, realizado com o medicamento de referência Nisulid®. Os perfis de dissolução comparativos entre as formulações propostas e o medicamento referência serão realizados conforme preconizado na RDC 31/2010.

4.2.12.1 Peso médio

O objetivo deste teste é verificar a uniformidade de massa dos comprimidos de um mesmo lote. Para isso, foram pesadas 20 unidades de comprimidos, individualmente, e a média foi determinada. A Farmacopeia Brasileira preconiza no máximo 2 unidades fora da faixa estabelecida e, para comprimidos de 400 mg, é permitida a variação de $\pm 5\%$ de peso médio.

4.2.12.2 Dureza

A determinação da dureza permite avaliar a resistência dos comprimidos ao esmagamento ou à ruptura sob pressão radial. A dureza de um comprimido é proporcional à força de compressão e inversamente proporcional à sua porosidade.

O teste de dureza foi realizado em durômetro portátil modelo TBH100, Erweka, utilizando 20 unidades por lote.

4.2.12.3 Friabilidade

O teste de friabilidade permite determinar a resistência dos comprimidos à abrasão, quando submetidos à ação mecânica.

Para comprimidos de 400 mg, a Farmacopeia Brasileira preconiza o uso de 20 comprimidos que foram pesados e transferidas para friabilômetro modelo TA10, Erweka. As amostras foram submetidas a 20 rotações por minuto, durante 5 minutos. Ao final do teste, retirou-se os comprimidos e, após a remoção de qualquer resíduo de pó, os comprimidos foram novamente pesados. A diferença entre a massa inicial e a final representa a friabilidade, medida em função da porcentagem de pó perdido e pode ser calculada através da seguinte equação:

$$\% = M_0 - M_f \times \frac{100}{M_0}$$

Equação 11

onde:

% = friabilidade

M_0 = massa inicial de comprimidos, em gramas, submetidos ao teste

M_f = massa final de comprimidos, em gramas, submetidos ao teste

São considerados aceitáveis valores de friabilidade iguais ou inferiores a 1,5% (FB 5, 2010).

4.2.12.4 Desintegração

O teste de desintegração permite verificar se os comprimidos se desintegram-se dentro do limite de tempo especificado. Isso pode ser verificado quando nenhum resíduo das unidades testadas (neste caso, comprimidos) permanece na tela metálica do desintegrador.

Os ensaios foram realizados em desintegrador modelo 301-1, Nova Ética utilizando 6 unidades de comprimidos, de cada lote, água purificada a $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ como líquido de imersão, com os discos cilíndricos. Ao final do teste, quando todos os comprimidos estavam completamente desintegrados, foi determinado o tempo de desintegração.

Foi considerado o limite de tempo estabelecido para a desintegração de comprimidos simples de 30 minutos (FB 5, 2010).

4.2.12.5 Doseamento

A análise de doseamento foi executada de acordo com o teste A da Farmacopeia Brasileira, que quantifica o teor do fármaco nimesulida nos comprimidos por espectrofotometria de absorção no ultravioleta. Realizou-se o ensaio em triplicata com a solução padrão e a solução amostra. As leituras das

absorvâncias das amostras e padrão foram obtidas utilizando o comprimento de onda de 392 nm.

O preparo da solução reagente iniciou com a pesagem de 400,0 mg de hidróxido de sódio em lentilhas, em balança semianalítica, que foram transferidos para um bécher de 250 mL para solubilização com 100 mL de água purificada. Em seguida, essa solução foi transferida para balão volumétrico de 1000,0 mL e o volume foi completado com água purificada. Utilizou-se esta solução para o preparo da amostra e padrão e para o ajuste do zero no espectrofotômetro.

Para a obtenção da solução padrão foram pesados exatamente, 25,00 mg de substância química de referência de nimesulida, que foram transferidos, quantitativamente, para balão volumétrico de 25,00 mL. Em seguida, adicionou-se 15,00 mL de solução reagente e a agitação foi realizada em banho ultrassônico, por 40 minutos. Posteriormente, o volume foi completado com solução de hidróxido de sódio 0,01M. A solução resultante foi filtrada, com papel de filtro quantitativo, e do filtrado foi retirado 1,00 mL para balão volumétrico de 50,0 mL. Completou-se o volume com a mesma solução reagente. As leituras das absorvâncias das amostras foram realizadas no comprimento de onda 392 nm.

O doseamento dos comprimidos iniciou-se com a pesagem de 20 comprimidos de nimesulida 100 mg, em balança semianalítica. Com o auxílio de gral e pistilo de porcelana, os comprimidos foram triturados até a obtenção de um pó fino. Em seguida, foram pesados o equivalente a 100,00 mg de nimesulida que foram transferidos para balão volumétrico de 100,0 mL. Adicionou-se 60,00 mL de solução de hidróxido de sódio 0,01M e a agitação foi realizada em banho ultrassônico, por 40 minutos. As próximas etapas do preparo da solução amostra foram conduzidas exatamente da mesma forma que o preparo da solução padrão.

4.2.12.6 Perfil de dissolução

Inicialmente, os perfis de dissolução foram realizados utilizando as condições preconizadas pela Farmacopeia Brasileira (FB 5, 2010), com os lotes pilotos que apresentaram os resultados dos testes físicos (dureza, friabilidade e desintegração)

mais promissores e do medicamento de referência. As condições analíticas seguem descritas abaixo:

- meio de dissolução: tampão fosfato de potássio pH 7,4 com polissorbato 80 a 2,0 % (v/v);
- volume do meio: 900 mL;
- aparato: pá;
- agitação: 75 rpm;
- tempo: 45 minutos.

As alíquotas foram de 10 mL e retiradas após 5, 10, 15, 20, 30 e 45 minutos, mantendo a condição *sink* durante todo o ensaio. Em seguida, 3,00 mL foram filtrados e transferidos para balão volumétrico de 25,0 mL e avolumados com água purificada. A quantidade de fármaco dissolvido foi determinada pela leitura em espectrofotômetro (Shimadzu UV-1800) na região do ultravioleta no comprimento de onda 392 nm.

De acordo com a monografia de comprimidos de nimesulida, o produto deve liberar não menos que 85% do valor rotulado em 45 minutos (FB 5, 2010).

Em seguida, uma das formulações dos lotes galênicos, que apresentou o mesmo tipo de dissolução do medicamento de referência, foi selecionada para a realização de estudos de perfis de dissolução complementares. Para isso, foram utilizados meios de dissolução tampão fosfato de potássio pH 7,4 acrescidos de polissorbato 80 nas concentrações 0,5% e 1,0%. As demais condições analíticas foram mantidas.

Para a comparação dos perfis de dissolução foi determinada a eficiência de dissolução (ED) pela razão entre a área sob a curva de dissolução no intervalo de tempo entre 0 e 45 minutos (ASC 0-45 minutos) e a área total do retângulo (ASC_{ATR}) definido pela ordenada (100% de dissolução) e pela abscissa (tempo = 45 minutos). A ED foi expressa em porcentagem e foi determinada pela Equação 8 (f. 67) (SERRA, STORPIRTIS, 2007). Os valores de ED foram submetidos à análise estatística de variância (ANOVA *one-way*) seguida pelo teste de Tukey e considerando como significante $p < 0,05$.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados do presente trabalho foram divididos em duas partes. Na primeira parte (item 5.1) serão apresentados os resultados referentes à caracterização da nimesulida mediante técnicas físico-químicas. Na segunda parte (item 5.2) serão apresentados os resultados das análises dos comprimidos de nimesulida obtidos nos lotes galênicos, incluindo a avaliação das propriedades mecânicas e o estudo do perfil de dissolução.

5.1 Caracterização do insumo farmacêutico ativo - nimesulida

5.1.1 Avaliação do insumo farmacêutico ativo de acordo com os critérios farmacopeicos

5.1.1.1 Identificação

A identificação das amostras de nimesulida NM1, NM2 e NM3 foi realizada utilizando a espectroscopia no infravermelho, conforme preconizado pela Farmacopeia Brasileira (FB 5, 2010). Os resultados obtidos estão apresentados no item 5.1.3 (f. 86).

5.1.1.2 Metais pesados

Segundo a monografia da nimesulida da Farmacopeia Brasileira (FB 5, 2010), o limite máximo permitido corresponde a 0,002% (20 ppm) de metais pesados. As amostras NM1, NM2 e NM3 atenderam às especificações farmacopeicas.

5.1.1.3 Perda por dessecação

Os percentuais obtidos no ensaio de perda por dessecação das amostras de nimesulida estão dentro do limite permitido pela Farmacopeia Brasileira (FB 5, 2010) que equivale a, no máximo, 0,5% (TABELA 5).

TABELA 5 – Resultados obtidos no ensaio de perda por dessecação das amostras NM1, NM2 e NM3.

Amostra	NM1	NM2	NM3
Perda por dessecação (%)	0,19	0,21	0,34

As amostras em estudo apresentaram resultados satisfatórios, sendo NM1 a detentora do menor valor de perda por dessecação.

5.1.1.4 Cinzas sulfatadas

O ensaio de cinzas sulfatadas tem por objetivo determinar o teor de constituintes ou impurezas inorgânicas contidos em substâncias orgânicas (FB, 2010). A Farmacopeia Brasileira (FB 5, 2010) estabelece, para o fármaco em estudo, o limite máximo permitido de 0,1% de cinzas sulfatadas. Todas as amostras apresentaram valores \leq a 0,04 %, o que atende às especificações farmacopeicas (TABELA 6).

TABELA 6 – Resultados do ensaio cinzas sulfatadas obtidos com as amostras NM1, NM2 e NM3.

Amostra	NM1	NM2	NM3
Cinzas sulfatadas (%)	0,04	0,03	0,03

5.1.1.5 Doseamento

A análise de doseamento foi conduzida conforme o preconizado pela Farmacopeia Brasileira (FB 5, 2010). Todas as amostras em estudo apresentaram resultados dentro do especificado pelo compêndio referenciado, que deve corresponder a no mínimo 98,5% e no máximo 101,5%, em relação à substância dessecada (TABELA 7).

TABELA 7 – Resultados de doseamento das amostras NM1, NM2 e NM3.

Amostra	NM1	NM2	NM3
Doseamento (%)	99,5	99,2	99,6

5.1.2 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

De acordo com GÁLICO e colaboradores (2014), a nimesulida apresenta um único evento endotérmico atribuído a fusão próximo a 148,9°C, com entalpia (ΔH) de 102,97 J.g⁻¹, enquanto MONEGHINI e col. (2004) encontraram 150,4°C e 127,4 J.g⁻¹, para a fusão e entalpia (ΔH), respectivamente. Outros autores (DANTU *et al.*, 2013; PAIVA *et al.*, 2013), ainda que não mencionem os valores de entalpia, também obtiveram eventos endotérmicos únicos, respectivamente, em 150,1°C e 151,0°C, resultados que podem ser considerados próximos ao primeiro e aos valores encontrados com as amostras em estudo.

De acordo com a literatura, a redução do tamanho de partícula pode causar uma diminuição do ponto de fusão e da variação de entalpia (VARSHOSAZ *et al.*, 2008; VARSHOSAZ *et al.*, 2013). Avaliando-se os valores de T_{onset} , T_{pico} e ΔH obtidos com as variações na razão de aquecimento, pode ser verificado que as amostras micronizadas (NM2 e NM3) apresentaram valores ligeiramente inferiores quando comparados com os resultados da amostra não micronizada (NM1). Esta pequena diferença pode ser atribuída à redução do tamanho de partícula

conseguida através da micronização e comprovada com os resultados da análise de distribuição de partículas por difração de LASER, apresentadas no decorrer deste trabalho. Este fenômeno está amplamente descrito na literatura referente à DSC (NG *et al.*, 2010; QUAN *et al.*, 2011; DOMINGO, SAURINA, 2012).

Na TABELA 8 estão registrados os dados obtidos a partir das curvas de DSC, referentes aos valores de T_{onset} , T_{pico} e entalpia (ΔH), das amostras dos fabricantes de nimesulida NM1, NM2 e NM3, nas diferentes razões de aquecimento.

TABELA 8 – Dados obtidos a partir das curvas de DSC, T_{onset} , T_{pico} e entalpia (ΔH), para as amostras NM1, NM2 e NM3 nas diferentes razões de aquecimento utilizadas.

Razão de aquecimento	T_{onset} (°C) \pm DP			T_{pico} (°C) \pm DP			ΔH (J.g ⁻¹) \pm DP		
	NM1	NM2	NM3	NM1	NM2	NM3	NM1	NM2	NM3
5°C.min⁻¹	148,27	147,86	147,56	149,83	149,21	149,14	121,64	111,77	109,69
	\pm 0,28	\pm 0,32	\pm 0,21	\pm 0,25	\pm 0,28	\pm 0,22	\pm 0,33	\pm 0,38	\pm 0,29
10°C.min⁻¹	148,46	148,18	147,84	150,87	150,05	149,43	111,82	110,66	109,73
	\pm 0,33	\pm 0,38	\pm 0,28	\pm 0,29	\pm 0,32	\pm 0,29	\pm 0,40	\pm 0,47	\pm 0,36
20°C.min⁻¹	148,97	148,84	148,58	152,54	151,40	151,14	112,22	111,69	107,62
	\pm 0,57	\pm 0,49	\pm 0,36	\pm 0,51	\pm 0,45	\pm 0,35	\pm 0,55	\pm 0,51	\pm 0,47
40°C.min⁻¹	150,75	149,80	149,81	156,97	153,51	153,98	120,06	116,66	113,04
	\pm 0,65	\pm 0,44	\pm 0,31	\pm 0,59	\pm 0,47	\pm 0,32	\pm 0,69	\pm 0,58	\pm 0,41

Algumas variáveis podem afetar os resultados das análises de DSC, incluindo o tipo de cadinho (selado, aberto ou perfurado), a razão de aquecimento, a distribuição granulométrica e a porosidade das amostras (STEELE, AUSTIN, 2009). Os estudos mencionados inicialmente (GÁLICO *et al.*, 2014; DANTU *et al.*, 2013; PAIVA *et al.*, 2013, MONEGHINI *et al.*, 2004) utilizaram condições de análises diferentes entre si e da metodologia utilizada no presente trabalho, principalmente no que se refere ao gás de purga, à razão de aquecimento e ao tipo de cadinho. Dessa forma, embora os resultados sejam bastante próximos, tais diferenças comprometem uma correlação mais fidedigna. A TABELA 9 apresenta um comparativo entre os parâmetros utilizados pelos autores mencionados e aqueles descritos no item 4.2.2, aplicados no presente trabalho.

TABELA 9 – Parâmetros utilizados nas análises de DSC com amostras de nimesulida, apresentados na literatura e no presente trabalho.

Parâmetro	GÁLICO <i>et al.</i> (2014)	DANTU <i>et al.</i> (2013)	PAIVA <i>et al.</i> (2013)	MONEGHINI <i>et al.</i> (2004)	Item 4.2.2 (desta dissertação)
Quantidade de amostra	3 mg	4 mg	Não informado	0,6-0,8 mg	3 mg
Temperatura de trabalho	Não informado	0-500°C	25-225°C	30-180°C	25-200°C
Tipo de cadinho	Alumínio	Alumínio	Não informado	Alumínio perfurado	Alumínio fechado
Gás de purga	Nitrogênio	Nitrogênio	Ar sintético	Ar sintético	Argônio
Fluxo do gás de purga	20 mL/min	20 mL/min	Não informado	Não informado	50 mL/min
Razão de aquecimento	10°C.min ⁻¹	10°C.min ⁻¹	10°C.min ⁻¹	10°C.min ⁻¹	5, 10, 20 e 40°C.min ⁻¹

As curvas de DSC obtidas com as amostras NM1, NM2 e NM3 estão apresentadas nas FIGURAS 13, 14, 15 e 16, utilizando diferentes razões de

aquecimento com o objetivo de se pesquisar a presença de diferentes formas cristalinas. A análise das curvas obtidas permite observar que as amostras NM1, NM2 e NM3 apresentaram comportamento térmico semelhante, ocorrendo apenas um pico endotérmico, referente à fusão do fármaco, na temperatura próxima a 149°C.

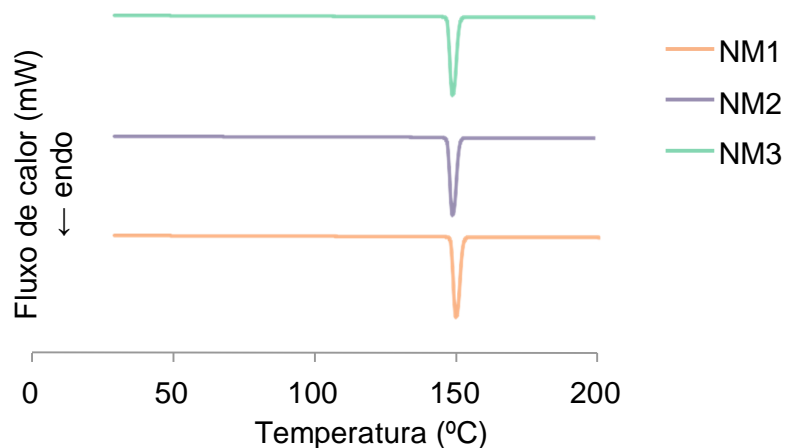


FIGURA 13 – Curvas de DSC das amostras NM1, NM2 e NM3 com razão de aquecimento de 5°C.min⁻¹.

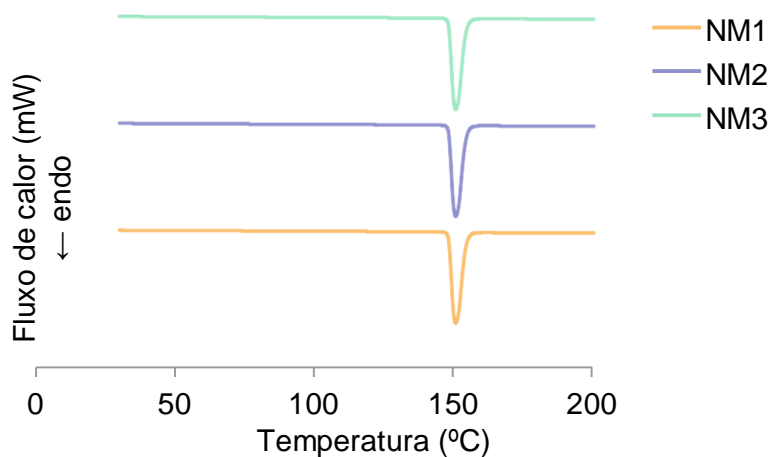


FIGURA 14 – Curvas de DSC das amostras NM1, NM2 e NM3 com razão de aquecimento de 10°C.min⁻¹.

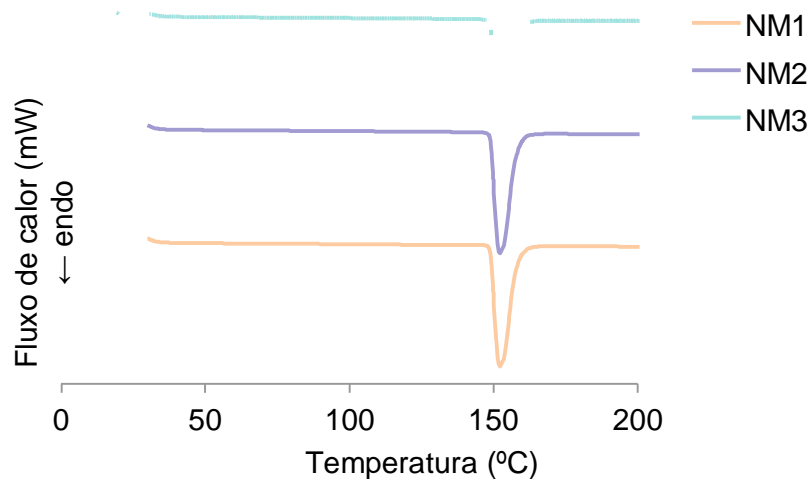


FIGURA 15 – Curvas de DSC das amostras NM1, NM2 e NM3 com razão de aquecimento de $20^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$.

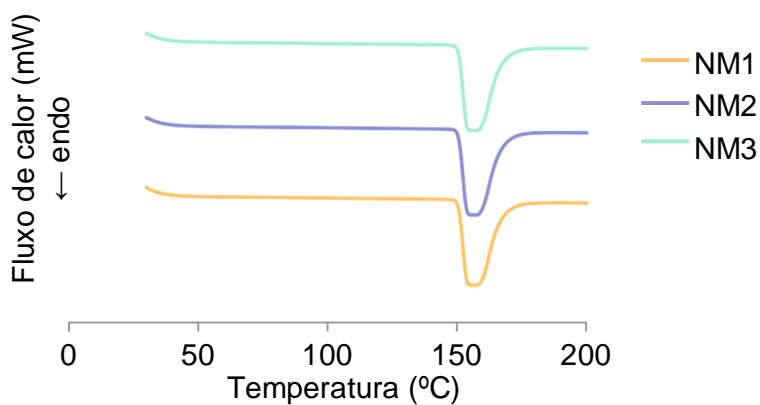


FIGURA 16 – Curvas de DSC das amostras NM1, NM2 e NM3 com razão de aquecimento de $40^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$.

As curvas de DSC mostram um pico endotérmico simétrico e intenso próximo a 149°C nas razões de aquecimento de $5^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$, $10^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ e $20^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$. Contudo, à medida que a razão de aquecimento foi aumentada, o pico endotérmico apresentou um alargamento. Isto pode ser atribuído à reorganização molecular que ocorre a razões de aquecimento mais baixas e, conseqüentemente, maior tempo de

análise (SHETE *et al.*, 2010). Para uma análise de rotina, a utilização de uma razão de aquecimento de $10^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ é recomendável, na maioria das vezes, em função de reunir o benefício de uma análise relativamente rápida com a possibilidade de identificar fenômenos térmicos dependentes da razão de aquecimento (STEELE, AUSTIN, 2009). Diante dos resultados apresentados, esta recomendação também pode ser aplicada para as análises térmicas de amostras de nimesulida.

Conforme mencionado anteriormente, a literatura descreve a existência de dois polimorfos (I e II) para a nimesulida. O polimorfo I é termodinamicamente mais estável, com ponto de fusão entre 144°C e 147°C , representado por um único pico endotérmico, e entalpia de $107,63 \text{ J}\cdot\text{g}^{-1}$. O polimorfo II apresenta um início de fusão a 140°C e, logo em seguida, é observada uma fase de transição para o polimorfo I, resultando em um pico endotérmico de maior intensidade a 144°C e entalpia de $105,97 \text{ J}\cdot\text{g}^{-1}$ (SANPHUI *et al.*, 2011; BERGESE *et al.*, 2003).

Os resultados obtidos das curvas de DSC e ilustrados na TABELA 10 (f. 82) revelam que as amostras analisadas apresentam comportamentos térmicos semelhantes, com pequenas diferenças nas variações das condições de análise, indicando que todas possuem o mesmo arranjo cristalino, com comportamento térmico típico do polimorfo I, ainda que os valores de entalpia encontrados com as amostras NM1, NM2 e NM3 sejam maiores do que os valores apresentados pela literatura.

5.1.3 Espectroscopia no infravermelho

Os espectros de infravermelho das amostras NM1, NM2 e NM3 estão apresentados na FIGURA 17. Os espectros de IV das amostras analisadas apresentaram as bandas dos grupamentos funcionais da nimesulida. Nota-se uma banda característica de deformação axial de N-H em 3278 cm^{-1} , uma banda a 1149 cm^{-1} atribuída à deformação simétrica do grupamento SO_2 , além dos estiramentos simétrico em 1330 cm^{-1} e assimétrico em 1588 cm^{-1} referente ao grupo NO_2 e o estiramento simétrico em 1246 cm^{-1} atribuído à ligação C-O-C.

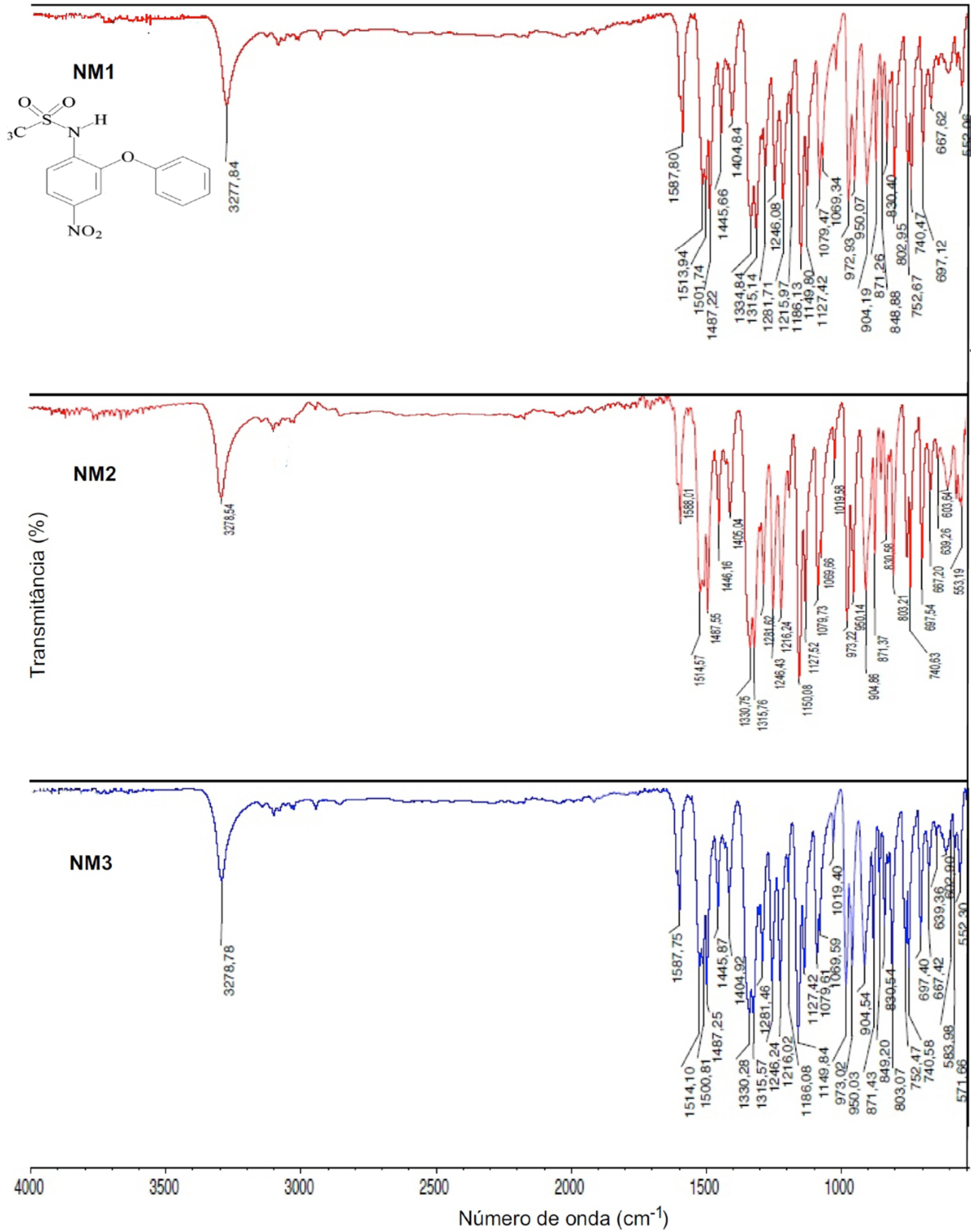


FIGURA 17 – Espectros de absorção no infravermelho das amostras NM1, NM2 e NM3.

A literatura relata diversos estudos de caracterização da nimesulida utilizando a espectroscopia no infravermelho de forma complementar a outras técnicas analíticas. As frequências encontradas nos espectros das amostras NM1, NM2 e NM3 conferem com os resultados encontrados por ABDELKADER (2007), SANPHUI e col. (2011), PAIVA e col. (2012) e DANTU e col. (2013), conforme demonstrado na TABELA 10.

TABELA 10 – Frequências (cm^{-1}) das amostras NM1, NM2 e NM3 e atribuições das bandas de absorção.

Fabricante NM1 ^(a)	ABDELKADER, 2007	SANPHUI et al., 2011 ^(b)	PAIVA et al., 2012	DANTU et al., 2013	Grupo funcional
Frequência (cm^{-1})					
3278	3288	3284	3284	3283	νNH
1150	1153	1153	1153	1153	νSO_2
1335 e 1588*	1342	1342	1317	1589*	νNO_2
1246	NI	1248	NI	NI	$\nu\text{C-O-C}$

^(a) representativa das amostras dos fabricantes analisados.

^(b) estiramentos do polimorfo I.

NI não informado.

* banda de absorção assimétrica do grupamento νNO_2 observada por DANTU et al. (2013) e nas amostras em estudo.

O uso da espectroscopia no IV é descrito na literatura como uma técnica aplicada para a diferenciação de polimorfos presentes em alguns fármacos como, por exemplo, mebendazol (LIMBERGER, 2011; KUMAR et al., 2008), carbamazepina (CZERNICKI, BARANSKA, 2013; GRZESIAK et al., 2003) e carvedilol (BEYER et al., 2004; PRADO et al., 2014).

No entanto, SANPHUI e colaboradores (2011) demonstraram que especificamente para a nimesulida, esta técnica não revela diferenças significativas para os grupos funcionais de forma a distinguir os polimorfos I e II, segundo ilustra a TABELA 11.

TABELA 11 – Frequências (cm⁻¹) dos polimorfos da nimesulida.

Nimesulida	N-H	SO₂	C-O	S-N
Polimorfo I	3284,9	1153,6	1248,7	907,4
Polimorfo II	3287,9	1152,2	1247,3	905,1

FONTE: adaptado de SANPHUI *et al.*, 2011.

Similarmente, segundo resultados internos de Farmanguinhos (comunicação pessoal) os polimorfos da mefloquina apresentam diferenças muito sutis nos espectros de infravermelho, sendo necessário utilizar outras técnicas analíticas como, por exemplo, a difração de raios X e a DSC, para a caracterização dos polimorfos desse fármaco.

Diante do exposto, é possível afirmar que os espectros obtidos com as amostras NM1, NM2 e NM3 apresentam as bandas de absorção características do fármaco nimesulida. Contudo, os resultados apresentados não permitem inferir qual polimorfo está presente nas amostras analisadas. Conforme demonstrado no decorrer do presente trabalho, os resultados obtidos utilizando as técnicas de DRX e RMN, em conjunto com aqueles já apresentados pela DSC, permitiram uma análise mais segura em relação à avaliação do polimorfismo nas amostras de nimesulida.

5.1.4 Difração de raios X

A primeira informação que o padrão de difração de raios X fornece é a distinção entre um material cristalino ou amorfo. Se o material consiste em uma fase cristalina, o padrão de difração de raios X obtido é característico daquela estrutura cristalina, caracterizando sua impressão digital. Normalmente, a análise da difratometria de amostras em estudo é realizada comparando os padrões experimentais com aqueles relatados na literatura e nos padrões calculados nos bancos de dados (FONT-BARDIA, ALCOBÉ, 2012). Dessa forma, para a análise da difratometria das amostras NM1, NM2 e NM3 foram utilizados dados da literatura para a identificação de suas fases cristalinas.

De acordo com DANTU e colaboradores (2013), a nimesulida apresenta picos característicos em $2\theta = 19,46^\circ$, $19,54^\circ$, $21,80^\circ$ e $23,26^\circ$. Já a patente de OLIVIERI e DE ANGELIS (2002) aponta os ângulos de $2\theta = 12,06^\circ$, $19,04^\circ$ e $21,68^\circ$ como sendo os mais evidentes. Um trabalho de DI MARTINO e colaboradores (2007) destaca, particularmente, um pico próximo a $2\theta = 22^\circ$. Contudo, tais trabalhos não mencionam, individualmente, os padrões de difração de raios X dos polimorfos da nimesulida.

A elucidação da difratometria dos polimorfos I e II da nimesulida foi demonstrada por BERGESE e colaboradores (2003), que descreveram o polimorfo I apresentando picos característicos em $2\theta = 17,15^\circ$, $18,13^\circ$, $19,34^\circ$ e $21,66^\circ$, enquanto o padrão de difração de raios X do polimorfo II apresentou os ângulos em $2\theta = 18,91^\circ$, $22,15^\circ$ e $26,14^\circ$.

A FIGURA 18 apresenta os padrões de difração de raios X obtidos pelo método de pó das amostras NM1, NM2 e NM3, bem como os padrões de difração de raios X dos polimorfos I e II obtidos do *Cambridge Crystallographic Data Centre* (CCDC).

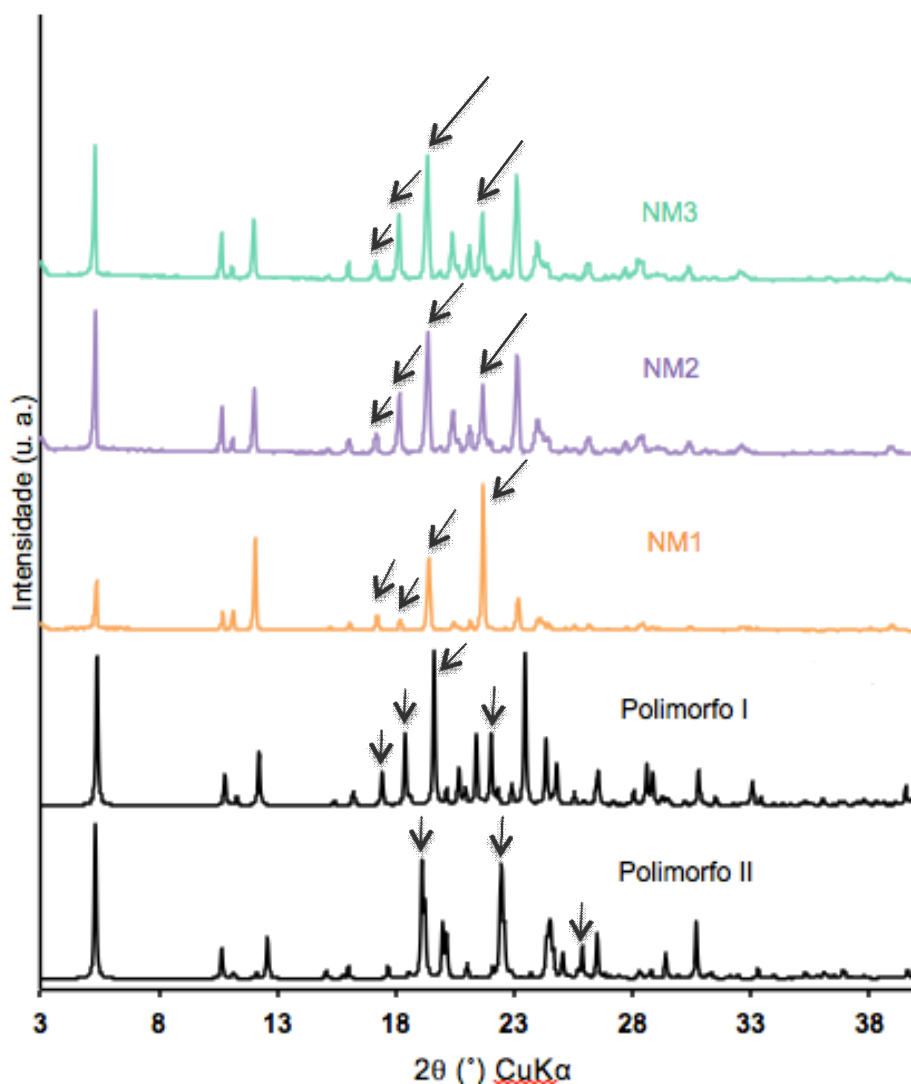


FIGURA 18 – Padrões de difração de raios X das amostras NM1, NM2 e NM3 e os padrões calculados dos polimorfos I e II da nimesulida obtidos do CDCC.

Os padrões de difração dos polimorfos I e II obtidos do CDCC apresentam semelhanças, o que significa que o arranjo cristalino desses polimorfos é parecido, exigindo um olhar criterioso na interpretação desses dados. A TABELA 12 apresenta um comparativo dos padrões de difrações de raios X obtidos na literatura, no *Cambridge Crystallographic Data Centre* (CCDC) e nos resultados experimentais com as amostras NM1, NM2 e NM3.

TABELA 12 – Comparativo dos picos de difração de raios X característicos dos polimorfos I e II apresentados pela literatura, pelo CCDC e obtidos nos experimentos com as amostras NM1, NM2 e NM3.

Nimesulida	BERGESE <i>et al. (2003)</i>	CCDC	Amostras NM1, NM2 e NM3
	2 θ (°)		
Polimorfo I	17,15	17,38	17,07
	18,13	18,38	18,14
	19,34	19,62	19,35
	21,66	22,00	21,60
Polimorfo II	18,91	19,10	
	22,15	22,44	NE*
	26,14	25,84	

* não encontrado

As amostras em estudo apresentaram picos característicos coerentes com os dados da literatura, em ângulos próximos a $2\theta = 17,07^\circ$, $18,14^\circ$, $19,35^\circ$ e $21,60^\circ$, assinalados na FIGURA 18 e apresentados na TABELA 12, e assemelham-se ao padrão de difração de raios X do polimorfo I. Adicionalmente, alguns picos de difração observados no polimorfo II (também destacados na FIGURA 18) não foram identificados nas amostras em estudo, afastando a hipótese das amostras NM1, NM2 e NM3 pertencerem ao polimorfo II. A difratometria da amostra NM1 (amostra não micronizada) apresentou diferenças nas intensidades dos picos. De acordo com um estudo realizado por CHIOU e colaboradores (2007), utilizando amostras micronizada e não micronizada de meloxicam, o aumento da área superficial, promovido pela micronização, pode acarretar alterações nas intensidades dos picos observadas na difratometria de raios X. Neste estudo, embora tenham sido observadas estas diferenças, as amostras apresentaram o mesmo padrão de difração de raios X, o que significa que não houve alteração da forma cristalina durante o processo de micronização. Acrescenta-se que estudos anteriores utilizando a difratometria de raios X em amostras de nimesulida mencionam a ocorrência de orientação preferencial, resultando em picos de diferentes

intensidades, porém sempre na mesma posição (BERGESE *et al.*, 2003).

Com base nessas informações e considerando que as amostras NM1, NM2 e NM3 apresentaram padrões de difração de raios X com picos característicos nas mesmas posições, os resultados obtidos indicam que as amostras possuem o mesmo arranjo cristalino, característico do polimorfo I. Além disso, as diferenças encontradas nas intensidades dos picos da amostra não micronizada (NM1) comparadas às amostras micronizadas (NM2 e NM3) sugerem a ocorrência do efeito de orientação preferencial, onde os cristais presentes na amostra tendem a se orientar preferencialmente em uma direção, resultando em diferentes medidas de intensidade.

Diante dos resultados até agora apresentados pelas amostras NM1, NM2 e NM3, particularmente nos padrões de difração de raios X e no comportamento térmico evidenciado pela DSC, pode-se inferir que o estudo da estrutura cristalina aponta para a presença do polimorfo I.

5.1.5 Ressonância magnética nuclear (RMN)

5.1.5.1 RMN em solução

Para o assinalamento das amostras, foram obtidos os espectros de RMN de ^1H das amostras de nimesulida NM1, NM2 e NM3. Os resultados obtidos foram concordantes e, com isso, optou-se por proceder com as análises de RMN de ^{13}C , DEPT135, HSQC e HMBC apenas com a amostra NM2.

Para auxiliar na identificação dos hidrogênios nos espectros de RMN, os anéis aromáticos da nimesulida foram identificados como A e B conforme ilustra a FIGURA 19. A linha assinalada no anel B mostra um plano de simetria, que faz com que os átomos de carbonos e hidrogênios nas posições 2' e 6' e nas posições 3' e 5' apresentem os mesmos deslocamentos químicos.

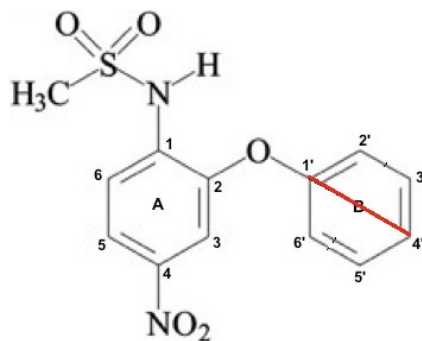


FIGURA 19 – Fórmula estrutural da nimesulida com a identificação dos anéis aromáticos A e B.

A análise dos espectros de RMN de ^1H de todas as amostras de nimesulida (NM1, NM2 e NM3) obtidos em CDCl_3 revelou a presença de sinais característicos de hidrogênios aromáticos entre 7,00 e 8,00 ppm e um sinal de metila a 3,17 ppm (s, 1H). A FIGURA 20 apresenta o espectro de RMN de ^1H da amostra NM2. Os espectros de RMN de ^1H das amostras NM1 e NM3 estão apresentados no Apêndice B (f. 179 e 180).

Os hidrogênios do anel A foram assinalados como dois dupletos a 7,77 e 7,66 ppm, atribuídos a H-6 e H-3, respectivamente, e um duplo-dupletos a 8,01 ppm, atribuído a H-5. Os substituintes do anel A podem explicar os deslocamentos químicos atribuídos aos hidrogênios. O grupamento nitro, retirador de elétrons, acarreta o maior deslocamento químico atribuído ao H-5, enquanto os grupamentos sulfonamida e fenóxi, doadores de elétron, influenciam os deslocamentos químicos hidrogênios H-6 e H-3 para menores deslocamentos químicos, quando comparado ao H-5 (FIGURA 20). Além disso, as constantes de acoplamento (J) também auxiliaram na atribuição dos deslocamentos químicos, as quais $J \approx 2\text{-}3$ Hz são característicos de acoplamentos *meta* e $J \approx 7\text{-}10$ Hz são típicos de acoplamento *orto* (PAVIA, 2012). Dessa forma, justifica-se a atribuição do deslocamento químico observado a 7,66 ppm, com $J = 2,5$ Hz, ao H-3.

Os hidrogênios do anel B foram assinalados como um tripleto a 7,46 (t, 2H) e um dupletos a 7,10 ppm (d, 2H) atribuídos, respectivamente, aos pares de hidrogênio H-3' e H-5' e H-2' e H-6' e um tripleto a 7,30 ppm (t, 1H), atribuído ao H-4' (FIGURA 20).

Os deslocamentos químicos encontrados no espectro de RMN ^1H em CDCl_3

da nimesulida foram comparados com dados da literatura e confirmam o assinalamento (NALLURI *et al.*, 2003; PRASAD *et al.*, 2005; PAIVA *et al.*, 2012).

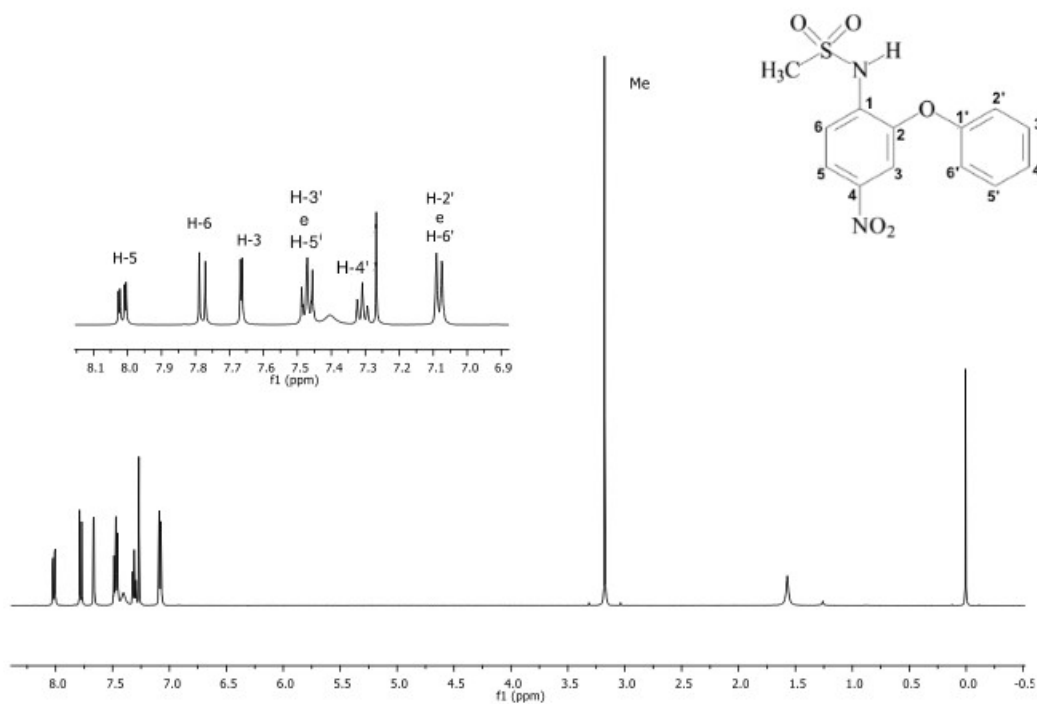


FIGURA 20 – Espectros de RMN ¹H em CDCl₃ da amostra NM2.

A análise dos espectros de RMN ¹³C (FIGURA 21) revelou a presença de 12 carbonos aromáticos na região entre 110 e 155 ppm e do carbono da metila próximo a 40 ppm.

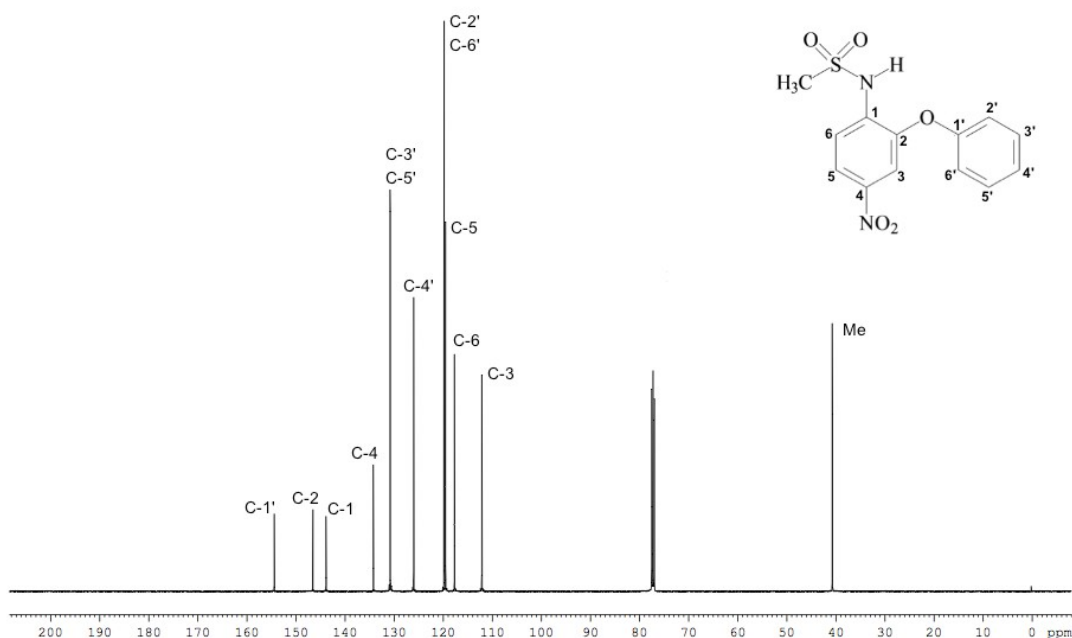


FIGURA 21 – Espectro de RMN ^{13}C em CDCl_3 da amostra NM2.

O espectro DEPT135 foi utilizado para confirmar a presença dos carbonos –CH e –CH₃, tendo em vista que esta técnica fornece diferentes sinais para carbonos ligados a 1, 2 ou 3 hidrogênios, a saber: os carbonos –CH e –CH₃ exibem picos positivos, que aparecem na parte superior da linha de base, os carbonos –CH₂ aparecem como sinais negativos e os carbonos quaternários não fornecem sinais nos espectros DEPT. A FIGURA 22 ilustra o espectro DEPT135 obtido com a amostra NM2.

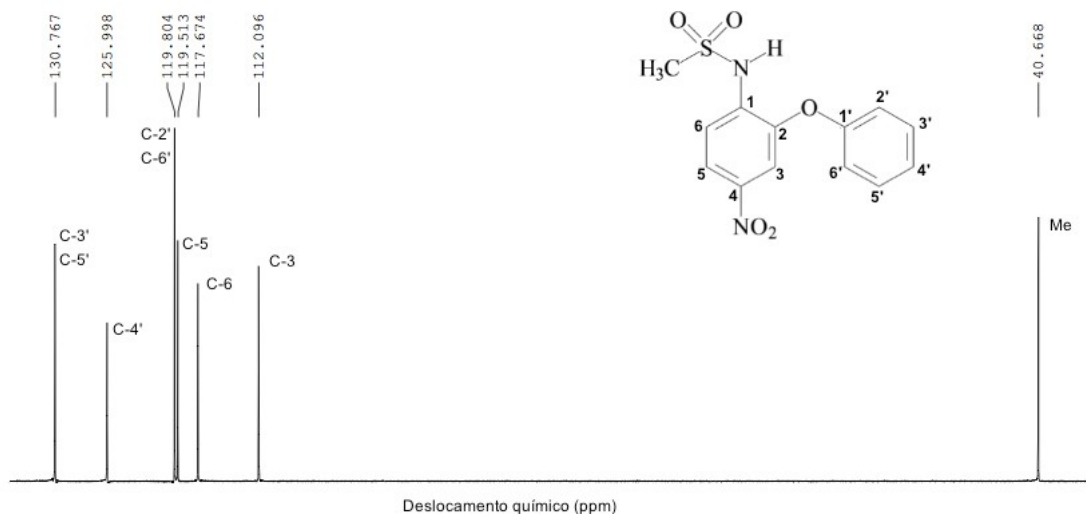


FIGURA 22 – Espectro DEPT135 em CDCl_3 da amostra NM2.

A fórmula estrutural da nimesulida possui apenas carbonos do tipo $-\text{CH}$ e $-\text{CH}_3$, de forma que o espectro DEPT135 apresenta apenas sinais positivos. Os deslocamentos químicos observados na região entre 111,0 e 131,0 ppm referem-se aos 6 sinais dos carbonos $-\text{CH}$, considerando que o carbono 2' apresenta o mesmo deslocamento químico do 6', o mesmo ocorrendo com os carbonos 3' e 5'. Assim como o resultado obtido no espectro de RMN ^{13}C , o carbono da metila aparece próximo a 40 ppm.

Contudo, a elucidação estrutural completa só foi possível com a correlação $^1\text{H}-^{13}\text{C}$, obtida através dos espectros HSQC (J^1) e HMBC (J^2 e J^3), conforme demonstrado a seguir.

A análise do espectro HSQC (FIGURA 23) permitiu correlacionar o hidrogênio H-5 a 8,01 ppm com o carbono que apresenta deslocamento químico a 119,5 ppm (C-5). O hidrogênio a 7,77 ppm (H-6) foi correlacionado com um carbono a 117,7 ppm, atribuído à posição C-6. O hidrogênio H-3 a 7,66 ppm se correlaciona com um carbono a 112,1 ppm (C-3). Aos carbonos C-3' e 5' foi atribuído o deslocamento químico a 130,7 ppm, em função das correlações observadas com os hidrogênios H-3' e 5' a 7,46 ppm. O deslocamento químico do carbono a 125,9 ppm foi atribuído a C-4', pois este se correlaciona com o hidrogênio H-4' a 7,30 ppm. Aos carbonos C-2' e 6' foi atribuído o deslocamento químico a 119,8 ppm, em função das correlações

observadas com os hidrogênios H-2' e 6' a 7,07 ppm.

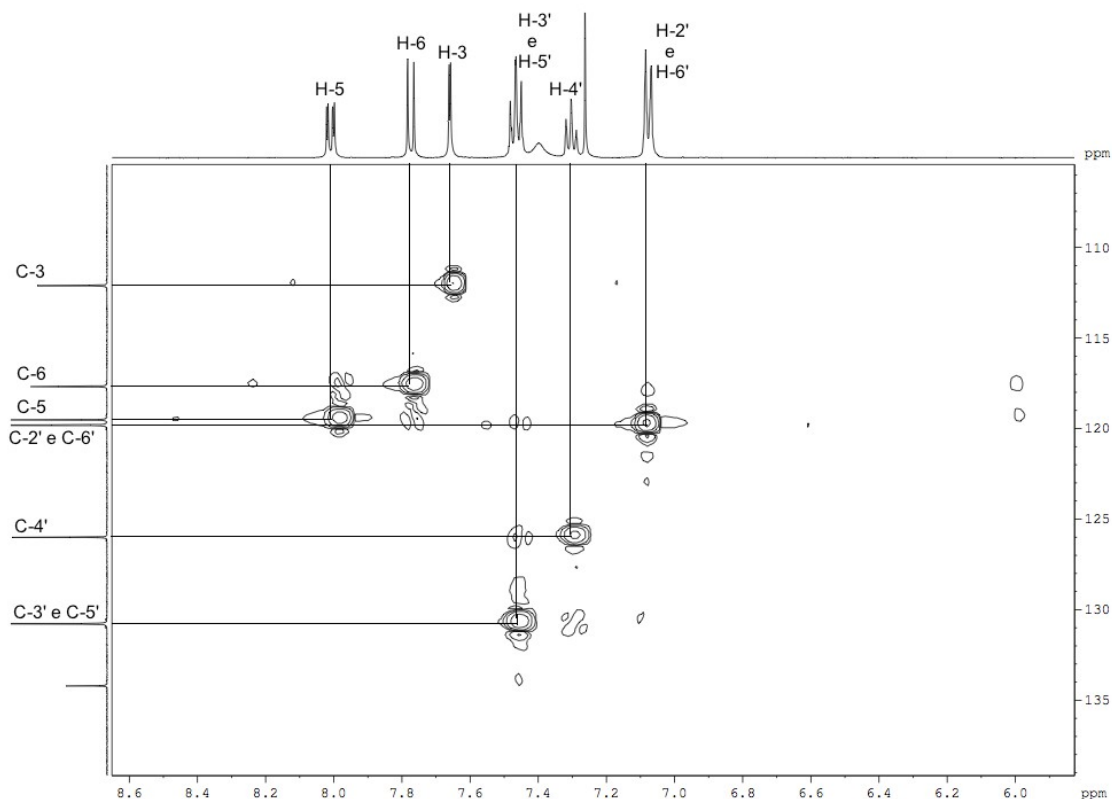


FIGURA 23 – Espectro de RMN HSQC em CDCl₃ da amostra NM2.

Para o assinalamento dos carbonos quaternários, observados no espectro de RMN ¹³C a 154,4, 146,6, 143,9 e 134,2 ppm foi obtido o espectro HMBC, que permitiu obter informações sobre átomos acoplados às distâncias de 2 ou 3 ligações (J^2 e J^3). No presente experimento, o espectro HMBC foi determinante para a completa elucidação estrutural do IFA em estudo. A análise desse espectro permitiu verificar que os hidrogênios H-6, H-5 e H-3 correlacionaram com um carbono a 143,9 ppm, que foi atribuído ao carbono C-1. Os hidrogênios H-3 e H-5 apresentaram correlação com um carbono a 134,2 ppm, sendo este deslocamento químico atribuído ao carbono C-4. Os hidrogênios H-3 e H-6 apresentaram correlação com um carbono a 146,5 ppm, que não apresentou correlação com o hidrogênio H-5, sendo este deslocamento químico atribuído ao carbono C-2. Ao

carbono C-1' foi atribuído o deslocamento químico a 154,4 ppm, em função dos acoplamentos observados com os hidrogênios H-2',6' e H-3',5' e da ausência de correlação com os demais hidrogênios (H-3, H-5, H-6 e H-4'). A TABELA 13 apresenta as correlações encontradas no espectro HMBC obtido com a amostra NM2.

TABELA 13 – Correlação entre os deslocamentos químicos ^1H e ^{13}C observados no espectro HMBC da amostra NM2.

	H-2' e H-6'	H-4'	H-3' e H-5'	H-3	H-5	H-6
C-1	-	-	-	✓	✓	✓
C-2	-	-	-	✓	-	✓
C-3	-	-	-	-	✓	-
C-4	-	-	-	✓	✓	-
C-5	-	-	-	-	-	-
C-6	-	-	-	-	-	-
C-1'	✓	-	✓	-	-	-
C-2' e C-6'	-	✓	✓	-	-	-
C-4'	✓	-	✓	-	-	-
C-3' e C-5'	✓	✓	-	-	-	-

✓ correlaciona

- não correlaciona

Diante dos resultados apresentados com todos os espectros obtidos, foi possível realizar o assinalamento completo da estrutura da nimesulida (TABELA 14).

TABELA 14 – Correlação entre os deslocamentos químicos obtidos nos espectros ^1H e ^{13}C da amostra NM2.

Amostra NM2		
POSIÇÃO	RMN ^{13}C	RMN ^1H
1	143,9	---
2	146,5	---
3	112,1	7,66 (d, $J = 2,5$ Hz, 1H)
4	134,2	---
5	119,5	8,01 (dd, $J = 9,0$ e $2,5$ Hz, 1H)
6	117,7	7,77 (d, $J = 9$ Hz, 1H)
1'	154,4	---
2',6'	119,8	7,07 (d, $J = 8,5$ Hz, 2H)
4'	125,9	7,30 (t, $J = 7,5$ Hz, 1H)
3',5'	130,7	7,46 (dd, $J = 8,6$ e $0,9$ Hz, 2H)
Me	40,7	3,17 (s, 1H)

Os deslocamentos químicos dos carbonos obtidos nos espectros de RMN ^{13}C , DEPT135, HSQC e HMBC e apresentados na TABELA 14 foram comparados com os dados da literatura. Um trabalho conduzido por PAIVA e colaboradores (2012) demonstrou algumas diferenças no assinalamento estrutural, principalmente em relação aos deslocamentos químicos atribuídos aos carbonos C-1, C-1' e C-4. Contudo, o solvente utilizado difere do presente trabalho, o que justifica a diferença em relação aos dados do presente trabalho. SANPHUI e col. (2011) apresentaram a elucidação estrutural de amostras de nimesulida realizada através do espectro de RMN ^{13}C em CDCl_3 (mesmo solvente utilizado nos experimentos deste trabalho) e ainda assim foram observadas diferenças nos deslocamentos químicos referentes aos carbonos C-4, C-5, C-6 e C-4'. Neste caso, os resultados apresentados por esses autores são passíveis de contestação, tendo em vista que o assinalamento proposto na presente dissertação utilizou diversas técnicas de RMN em solução para um melhor refinamento dos resultados e maior precisão da elucidação estrutural.

5.1.5.2 RMN no estado sólido

A análise de RMN no estado sólido foi realizada apenas com a amostra NM2 pois, até o presente momento, em função de dificuldades de agendamento do uso do equipamento, não foi possível analisar todas as amostras. No entanto, como os resultados obtidos trouxeram informações diferenciadas frente às outras técnicas, optou-se por apresentá-los, mesmo reconhecendo a importância de analisar as amostras dos outros fabricantes, o que deverá ser realizado futuramente, para compor os resultados da publicação do artigo.

O assinalamento do espectro de ^{13}C no estado sólido foi realizado de acordo com aquele apresentado pelo espectro de RMN de ^{13}C em solução. Dessa forma, o espectro de RMN ^{13}C CP/MAS também demonstrou a presença dos carbonos aromáticos na região entre 105,0 e 155,0 ppm e do carbono da metila próximo a 40,0 ppm, conforme ilustra a FIGURA 24.

Além disso, a análise do espectro obtido neste experimento e ilustrado na FIGURA 24 revelou que na região compreendida entre 118,1 e 121,3 ppm, atribuída aos carbonos C-2' e C-6', o sinal está desdobrado como um duplete e, entre 127,9 e 133,9 ppm, região atribuída aos carbonos C-3' e C-5', ocorre uma duplicidade de sinais, o que indica a presença de diferentes ambientes químicos.

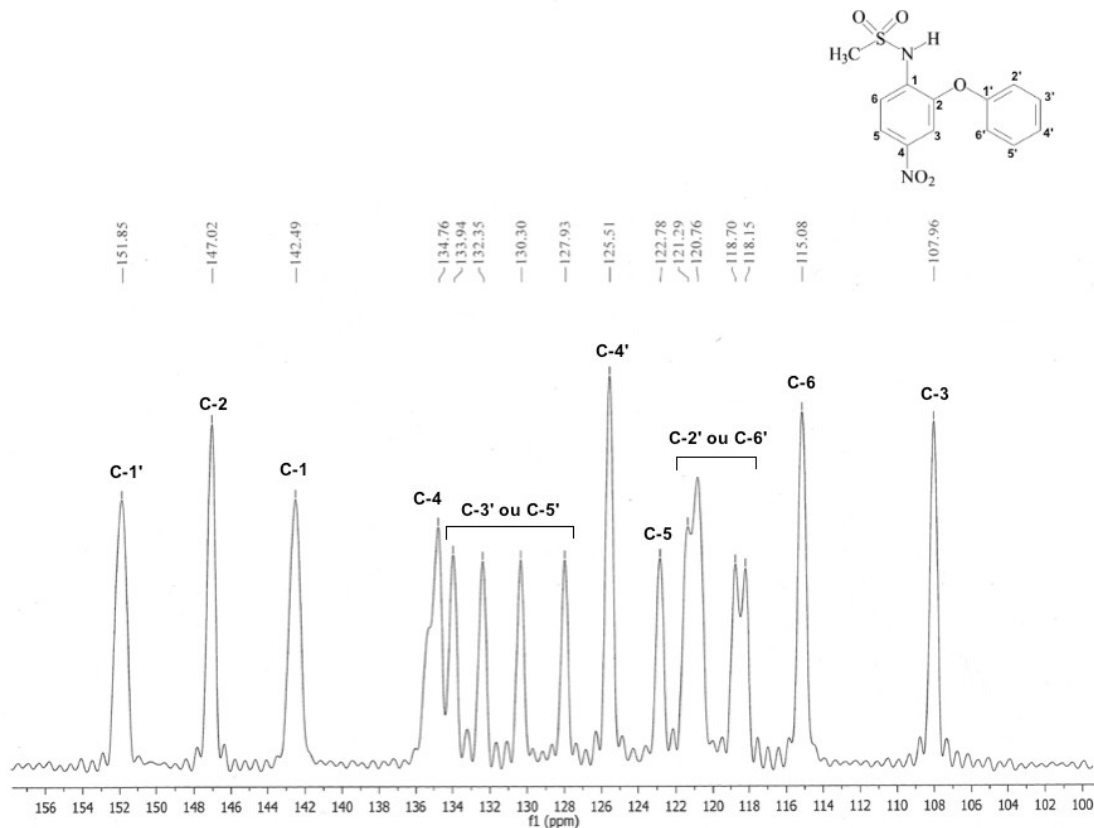


FIGURA 24 – Espectro de RMN ¹³C CP/MAS da amostra NM2.

A FIGURA 25 elucidada as conformações dos polimorfos da nimesulida, onde pode ser observado que o polimorfo I apresenta 2 (duas) conformações (rosa e azul) e o polimorfo II, apenas 1 (uma), representada em vermelho. Diante disso, acredita-se que os desdobramentos e as duplicidades de sinais identificados nas regiões atribuídas aos carbonos C-2', C-6' e C-3', C-5', sejam resultantes da mudança de ambiente químico provocada pelos ângulos de torção do grupamento aril éter, levando aos diferentes confôrmeros do polimorfo I (SANPHUI *et al.*, 2011).

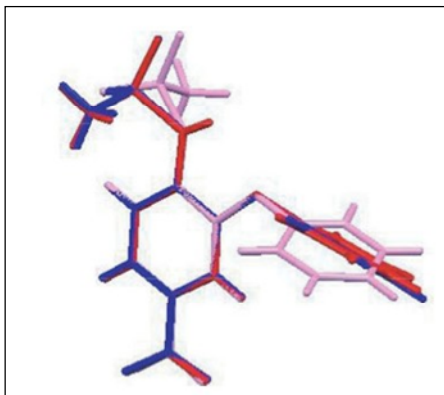


FIGURA 25 – Sobreposição dos três confôrmeros da nimesulida, do polimorfo I (azul e rosa) e polimorfo II (vermelho) (SANPHUI *et al.*, 2011).

SANPHUI e colaboradores (2011) caracterizaram os polimorfos I e II da nimesulida através da análise de RMN no estado sólido e obtiveram os espectros ilustrados na FIGURA 26. Neste trabalho, as regiões que apresentaram diferenças foram destacadas com linhas verticais vermelhas, embora a região compreendida entre 110,00 e 130,00 ppm, também demonstre algumas diferenças.

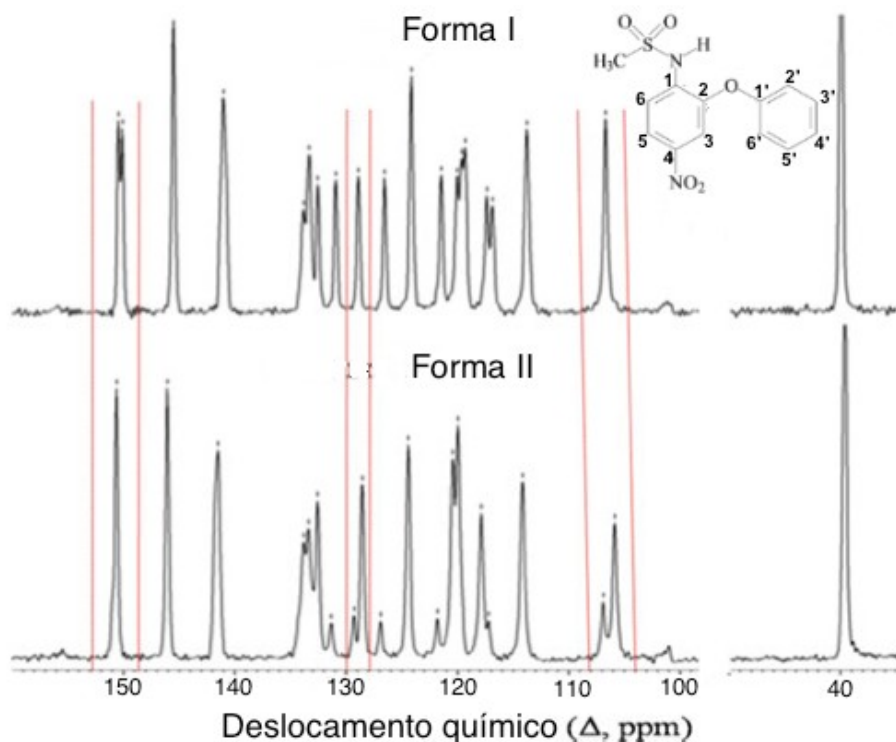


FIGURA 26 – Espectros de RMN no estado sólido dos polimorfos I e II da nimesulida (Adaptado de SANPHUI *et al.*, 2011).

A análise do espectro obtido com a amostra em estudo (FIGURA 24) assemelha-se ao polimorfo I, relatado na literatura e apresentado na FIGURA 26, exceto pela duplicidade de sinais observada na região a 150,0 ppm (FIGURA 26), não observada no espectro da amostra NM2. Assim, os resultados demonstram que a amostra NM2 é majoritariamente constituída pelo polimorfo I, contudo, apresenta indícios da presença dos diferentes confômeros deste polimorfo.

Conforme demonstrado na TABELA 15, o assinalamento proposto com os deslocamentos químicos obtidos através das técnicas de RMN em solução foi comparado com aqueles obtidos no espectro de RMN de ^{13}C no estado sólido e este último com os deslocamentos químicos apresentados pelos polimorfos I e II da nimesulida descritos na literatura.

TABELA 15 – Comparação dos deslocamentos químicos de RMN em CDCl_3 e RMN no estado sólido (continua).

POSIÇÃO	Amostra NM2 - RMN ^{13}C			SANPHUI <i>et al.</i> (2011)	
	CDCl_3	CP/MAS	$\otimes\delta$	FORMA I	FORMA II
1	143,9	142,4	1,5	141,46	141,51
2	146,5	147,0	0,5	145,98	146,04
3	112,1	107,9	4,2	106,90	106,91; 105,86
4	134,2	134,7	0,5	145,98	146,04
5	119,5	122,8	3,3	134,23; 133,72	133,82; 133,37
6	117,7	115,0	2,7	129,26	129,28; 128,55
1'	154,4	151,8	2,6	150,96; 150,61	150,60
2',6'	119,8	118,1; 118,7 OU 120,7; 121,3	1,7; 1,1 OU 0,9; 1,5	121,77; 120,33	121,80; 120,40

TABELA 15 – Comparação dos deslocamentos químicos de RMN em CDCl₃ e RMN de sólidos (conclusão).

POSIÇÃO	Amostra NM2 - RMN ¹³ C			SANPHUI <i>et al.</i> (2011)	
	CDCl ₃	CP/MAS	⊗δ	CP/MAS	
				FORMA I	FORMA II
4'	125,9	125,5	0,4	124,48	124,40
3',5'	130,7	127,9; 130,3 OU 132,3; 133,9	2,8; 0,4 OU 1,6; 3,2	132,91	132,53; 131,33
Me	40,7	40,65	0,05	39,68	39,59

A comparação dos deslocamentos químicos de ¹³C em solução e no estado sólido mostra algumas variações dos deslocamentos químicos, indicando que as diferenças observadas nos espectros em solução ocorrem em função do equilíbrio existente entre soluto-soluto e soluto-solvente, o que não é possível no estado sólido. Nota-se que as maiores diferenças encontradas, são referentes aos carbonos C-1, C-3, C-5, C-6, C-1', C-2', C-6' e C-3', C-5', que são aqueles mais suscetíveis a sofrerem as influências das mudanças de ambiente químico provocadas pelos ângulos de torção dos grupamentos aril éter, sulfonamida e nitro (FIGURA 25).

5.1.6 Tamanho de partícula por difração de LASER

Conforme mencionado anteriormente, a distribuição do tamanho de partículas exerce influência sobre vários processos e parâmetros importantes envolvidos na obtenção de formas farmacêuticas sólidas como, por exemplo, mistura, fluxo das partículas, compressão, uniformidade de conteúdo e velocidade de dissolução (CURY *et al.*, 2007).

Na TABELA 16 são apresentados os resultados de tamanho médio de

partículas, os valores de d_{10} , d_{50} e d_{90} e os resultados do índice de dispersividade (*span*) obtidos com as amostras dos diferentes fabricantes de nimesulida. Os parâmetros d_{10} , d_{50} e d_{90} representam os tamanhos de partículas para os quais 10%, 50% e 90% da amostra, respectivamente, são inferiores aos valores obtidos.

TABELA 16 – Resultados dos tamanhos de partículas e índice de dispersividade das amostras NM1, NM2 e NM3.

Amostra	Tamanho de partícula (μm)				Índice de dispersividade (<i>span</i>)
	d_{10}	d_{50}	d_{90}	$d_{4,3}$	
NM1	10,34	33,85	76,52	39,19	1,96
NM2	2,09	8,46	20,89	10,28	2,22
NM3	1,28	6,57	20,61	10,13	2,94

De acordo com os resultados obtidos, a amostra NM3 apresentou o menor tamanho de partícula, seguida de forma muito próxima pela amostra NM2 e, por fim, a amostra não micronizada (NM1) apresentou o maior tamanho de partícula. Em relação à uniformidade de distribuição granulométrica, o índice de dispersividade pode ser utilizado como um parâmetro para a avaliação das amostras. Quanto mais próximo de 1, maior a uniformidade de distribuição granulométrica (STEELE, 2009). A comparação dos índices de dispersividade obtidos indica que a amostra NM3 apresenta a maior desuniformidade de distribuição granulométrica, seguida pela amostra NM2 e, por fim, a amostra NM1.

Os gráficos de distribuição granulométrica estão apresentados nas FIGURAS 27, 28 e 29.

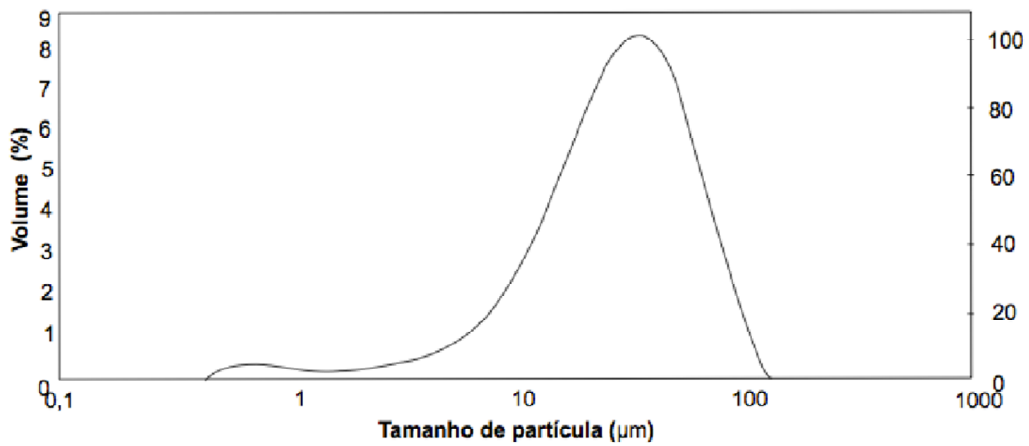


FIGURA 27 – Gráfico da distribuição granulométrica da amostra NM1.

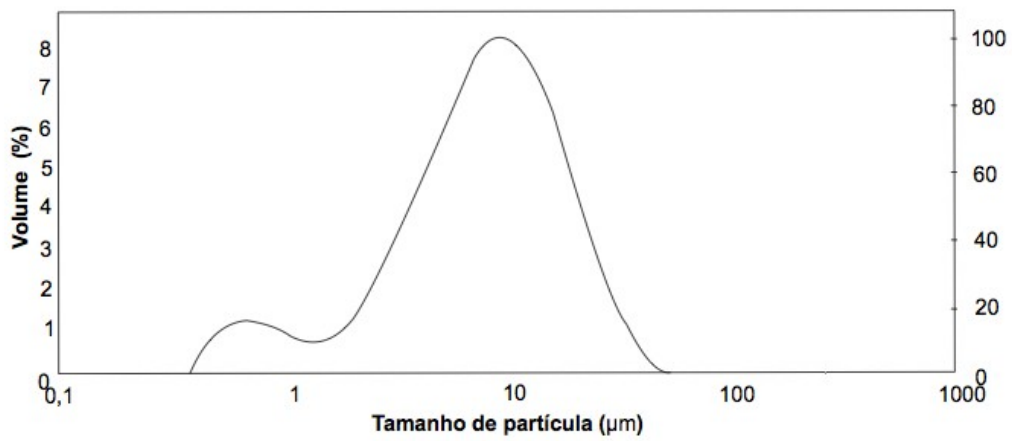


FIGURA 28 - Gráfico da distribuição granulométrica da amostra NM2.

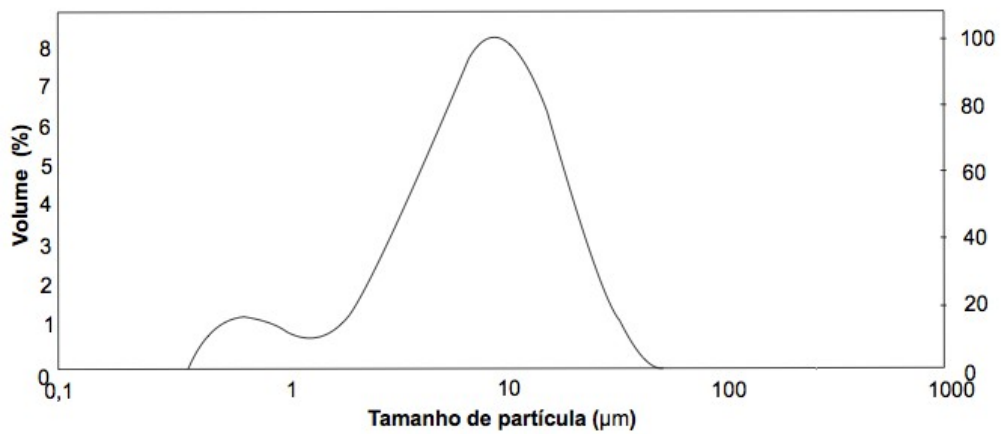


FIGURA 29 - Gráfico da distribuição granulométrica da amostra NM3.

A avaliação dos gráficos da distribuição granulométrica permite observar a presença de mais de uma população de tamanhos de partículas, evidenciada principalmente nas amostras micronizadas (NM2 e NM3), abaixo de 1 μm , o que caracteriza uma curva de distribuição bimodal. Já a amostra NM1, não micronizada, apresenta uma população de tamanho de partículas abaixo de 5 μm , porém menos expressiva, quando comparada com a população de tamanhos de partículas abaixo de 1 μm detectada nas amostras micronizadas.

A análise granulométrica de materiais micronizados, como é o caso das amostras NM2 e NM3, merece um cuidado especial, pois suas propriedades coesivas, garantidas por forças interparticulares e eletrostáticas, podem dificultar a obtenção de resultados satisfatórios. Uma das estratégias aplicadas para a dispersão de amostras micronizadas é a utilização de um meio dispersante contendo tensoativo (ADI *et al.*, 2007). Dentro desse contexto, GOUVEIA (2011) utilizou uma solução aquosa contendo 0,5% de tensoativo (polissorbato 80), como agente dispersante, para a caracterização do tamanho de partícula de suas amostras de nimesulida, tendo obtido o resultado de d_{50} entre 7,43 e 10,79 μm (embora os gráficos obtidos nas análises de tamanho de partícula não tenham sido apresentados para uma melhor avaliação comparativa). No presente trabalho, foi utilizado o mesmo meio dispersante. Contudo, nota-se, principalmente nas amostras NM2 e NM3, uma curva de distribuição bimodal, com a existência de uma população de partículas de menor tamanho.

Sabe-se que a distribuição de partículas de um fármaco pode afetar o processamento e a biodisponibilidade de formas farmacêuticas sólidas (STEELE, 2009). As partículas de maior tamanho tendem a apresentar melhor fluxo. Por outro lado, as partículas de menor tamanho apresentam maiores áreas de superfície, o que acarreta maior interação entre as mesmas e, conseqüentemente, piores propriedades de fluxo (SANTL *et al.*, 2011). De qualquer forma, outros parâmetros, como a morfologia, também devem ser levados em consideração na correlação com as medidas de fluidez.

Na produção de comprimidos por compressão direta, o tamanho das partículas pode influenciar a segregação e a compressibilidade de uma formulação que, por sua vez, pode afetar a homogeneidade do peso dos comprimidos e as propriedades mecânicas do produto acabado (JONES, 2011). Em contrapartida, a

granulação úmida, geralmente, permite a obtenção de misturas com propriedades de fluxo superiores, pois possibilita a formação de grânulos maiores e com distribuição de tamanho de partícula mais estreita (SANTL *et al.*, 2011).

Diante do exposto, durante o desenvolvimento de uma formulação de comprimidos, as informações do tamanho e distribuição do tamanho de partículas podem ser utilizadas para nortear a escolha de um processo por compressão direta ou granulação úmida. A análise dos resultados obtidos na difração de LASER será utilizada em conjunto com os resultados dos ensaios de avaliação da fluidez, de forma a complementar a escolha do processo de fabricação dos comprimidos de nimesulida.

5.1.7 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A análise das fotomicrografias obtidas com as amostras NM1, NM2 e NM3 foi realizada com base em algumas informações apresentadas pela literatura, conforme descrito a seguir.

Segundo NALLURI e colaboradores (2003), a MEV de amostras comerciais de nimesulida revelou partículas com formato tabular e superfícies lisas. Um estudo realizado por DI MARTINO e col. (2007) verificou que a recristalização da nimesulida em diferentes solventes pode alterar a sua morfologia como, por exemplo, quando é utilizado o etanol como solvente de recristalização. Neste caso, as partículas do IFA apresentam-se com o formato acicular. Em relação aos polimorfos da nimesulida, SANPHUI e colaboradores (2011) obtiveram morfologia tabular e acicular, respectivamente, para os polimorfos I e II. Deve-se ressaltar, todavia, não haver qualquer relação direta entre morfologia e cristalinidade.

As fotomicrografias das amostras em estudo, obtidas através da MEV com aumento de até 2.000 vezes, estão apresentadas nas FIGURAS 30 e 31.

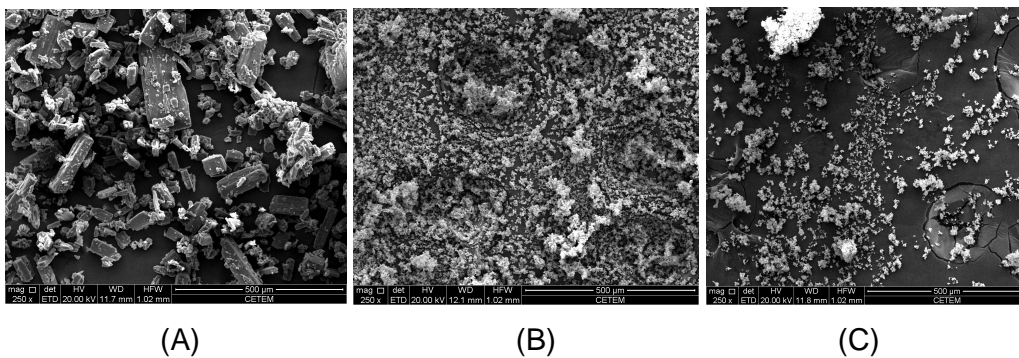


FIGURA 30 – Microscopia eletrônica de varredura das amostras NM1 (A), NM2 (B) e NM3 (C), utilizando um aumento de 250 X, 20 kV.

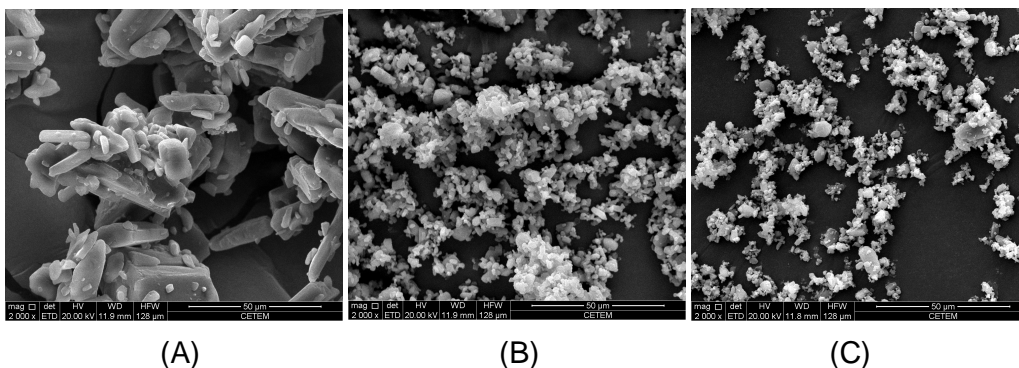


FIGURA 31 – Microscopia eletrônica de varredura das amostras NM1 (A), NM2 (B) e NM3 (C), utilizando um aumento de 2.000 X, 20 kV.

Os dados obtidos pela MEV confirmam os resultados da distribuição granulométrica por difração de LASER, nos quais a amostra NM1 também apresentou tamanhos de partículas bem maiores, quando comparadas às amostras NM2 e NM3.

A amostra NM1 apresenta os maiores tamanhos de partículas, entre 25,2 e 103,5 μm , pois se trata do IFA não micronizado (FIGURA 32). As fotomicrografias de NM1, embora demonstrem uma certa variabilidade na sua morfologia, revelam partículas alongadas, assim como as evidenciadas por NALLURI e col. (2003) e SANPHUI e col. (2011). As fotomicrografias das amostras micronizadas NM2 e NM3 revelaram maior similaridade quanto aos tamanhos das partículas, estando situados na faixa de 364,8 nm a 3,5 μm (FIGURAS 33 e 34). O processo de micronização

levou à formação de agregados, que podem ser mais bem visualizados na FIGURA 31 (B) e (C).

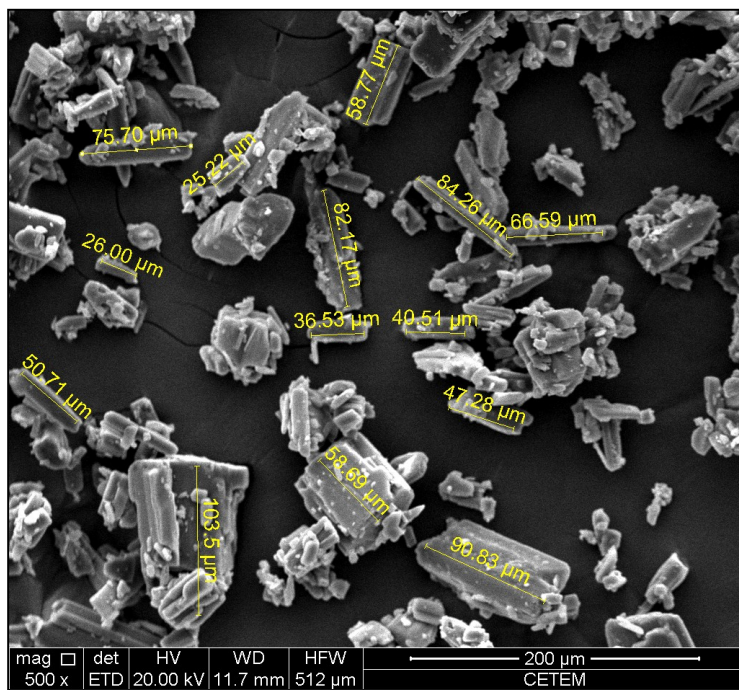


FIGURA 32 - Microscopia eletrônica de varredura da amostra NM1, com medições, utilizando aumento de 500 X, 20 kV.

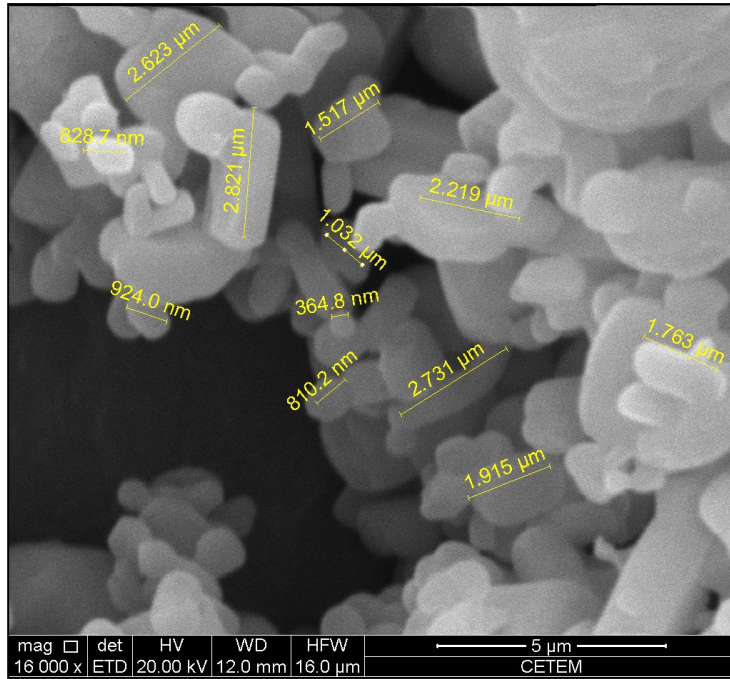


FIGURA 33 - Microscopia eletrônica de varredura da amostra NM2, com medições, utilizando aumento de 16.000 X, 20 kV.

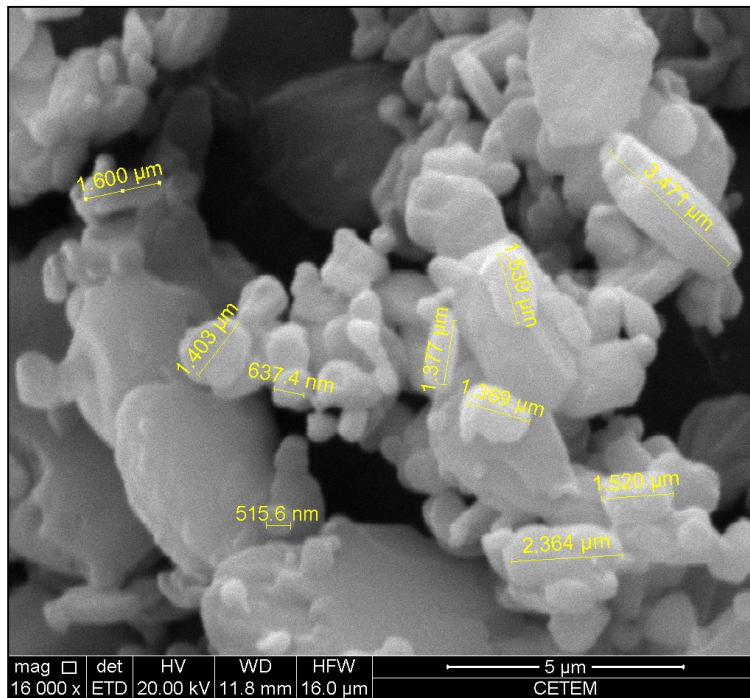


FIGURA 34 - Microscopia eletrônica de varredura da amostra NM3, com medições, utilizando aumento de 16.000 X, 20 kV.

As fotomicrografias com medições das amostras micronizadas NM2 e NM3, apresentadas nas FIGURAS 33 e 34, corroboram os resultados da distribuição granulométrica por difração de LASER, quanto à presença de uma população de partículas com tamanhos próximos a 1 μm . Semelhantemente, a FIGURA 32 confirma aquela população de partículas com tamanhos próximos a 5 μm da amostra NM1, observada de forma pouco expressiva na distribuição granulométrica por difração de LASER.

Segundo SHUR e PRICE (2012) existem diversos estudos que utilizam a MEV para avaliar os impactos da morfologia das partículas nas propriedades de fluxo e no desempenho do produto final. Contudo, no presente trabalho, os dados obtidos através da MEV foram avaliados em conjunto com os resultados encontrados na difração de LASER e, mais adiante, serão discutidos junto aos ensaios de fluidez, de forma a tornar mais consistente a caracterização das propriedades de fluxo da nimesulida e a escolha do processo produtivo.

5.1.8 Molhabilidade

A molhabilidade das partículas constitui um pré-requisito para processos importantes, como desintegração, dispersão, dissolução e solubilidade e é governado principalmente pelas propriedades de superfície das amostras sólidas (PURI *et al.*, 2010).

O ensaio de molhabilidade, utilizando água como líquido, é comumente realizado como um critério de avaliação da natureza hidrofóbica de uma superfície e pode ser avaliada através da medida do ângulo de contato (BALASUWATTHI *et al.*, 2004).

A FIGURA 35 ilustra o ensaio de molhabilidade realizado com as amostras de nimesulida NM1, NM2 e NM3, utilizando o método da gota séssil e água como agente molhante. Em seguida, a TABELA 17 apresenta os resultados do ensaio.

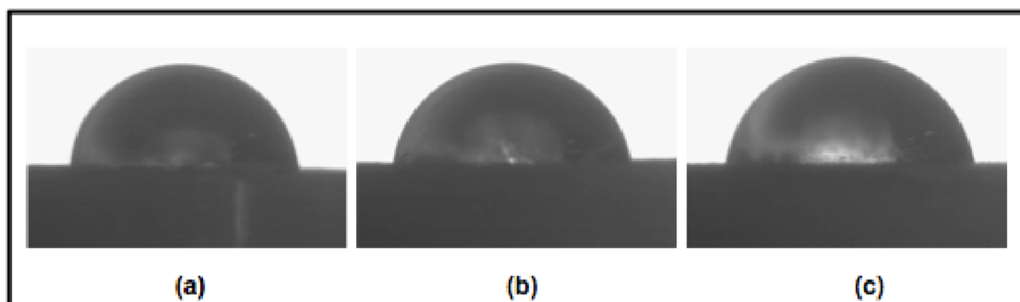


FIGURA 35 – Imagens do ensaio de molhabilidade das amostras NM1 (a), NM2 (b) e NM3 (c).

TABELA 17 – Ângulos de contato medidos no ensaio de molhabilidade com as amostras NM1, NM2 e NM3.

Amostra	Ângulo de contato	
	Média (°)	Desvio padrão (°)
NM1	80,7	1,7
NM2	79,1	3,0
NM3	78,8	3,3

Segundo BALASUWATTHI e colaboradores (2004) baixos valores de ângulo de contato (próximos de 0°) são indicativos de alta molhabilidade e valores mais altos (próximos de 90°) predizem uma pobre molhabilidade. Os resultados apresentados pelas amostras analisadas foram todos próximos a 80° e confirmam as expectativas de um fármaco de reconhecida baixa hidrossolubilidade.

Embora a literatura não apresente estudos aplicando ensaios de molhabilidade com a nimesulida, constam alguns trabalhos com outros fármacos, nos quais os resultados dos ângulos de contato foram correlacionados com a hidrossolubilidade. Assim ocorre com o celecoxibe (PURI *et al.*, 2010), atorvastatina (SHETE *et al.*, 2010) e albendazol (VIDAL *et al.*, 2014) que demonstraram ângulos de contato superiores a 90°, sendo atribuído um caráter predominantemente hidrofóbico.

Quando se almeja o desenvolvimento de uma formulação de comprimidos, a baixa solubilidade do fármaco representa um aspecto que reflete negativamente na

sua biodisponibilidade. Dessa forma, é possível antever a necessidade de incluir excipientes que favorecem a dissolução, como ferramenta para minimizar os possíveis problemas de biodisponibilidade. Uma análise mais completa a respeito da solubilidade da nimesulida e seus impactos na biodisponibilidade serão realizados em conjunto com os ensaios de dissolução por dispersão.

5.1.9 Dissolução por dispersão

De acordo com o Sistema de Classificação Biofarmacêutica, a nimesulida é considerada um fármaco de classe II, ou seja, de baixa solubilidade e alta permeabilidade. Os fármacos pertencentes a esta classe têm a dissolução como um passo limitante de sua absorção, de forma que a solubilização em meios contendo tensoativos otimiza a dissolução de fármacos pobremente solúveis (PURCARU *et al.*, 2010). Dentro deste contexto, foram selecionadas as mesmas condições preconizadas na Farmacopeia Brasileira (FB 5, 2010) para o ensaio de dissolução, que consiste no meio tampão fosfato de potássio pH 7,4 com 2,0% de polissorbato 80, utilizando o aparato pá a 75 rpm.

Inicialmente, a análise do gráfico de dissolução permite atribuir à amostra NM1, não micronizada, a menor dissolução do IFA. Isso pode ser observado, de forma mais evidente, no primeiro e nos últimos tempos de amostragem ($t = 45$ min e $t = 60$ min). A amostra NM3 apresentou os maiores valores de dissolução do fármaco, em todos os tempos de amostragem, principalmente no último tempo ($99,48 \pm 1,13$) e quando comparada com a amostra NM1 ($85,31 \pm 3,42$). O gráfico de dissolução por dispersão das amostras NM1, NM2 e NM3 está ilustrado na FIGURA 36 e os valores estão discriminados na TABELA 18. Os resultados obtidos para F1, F2 e ED estão lançados na TABELA 19.

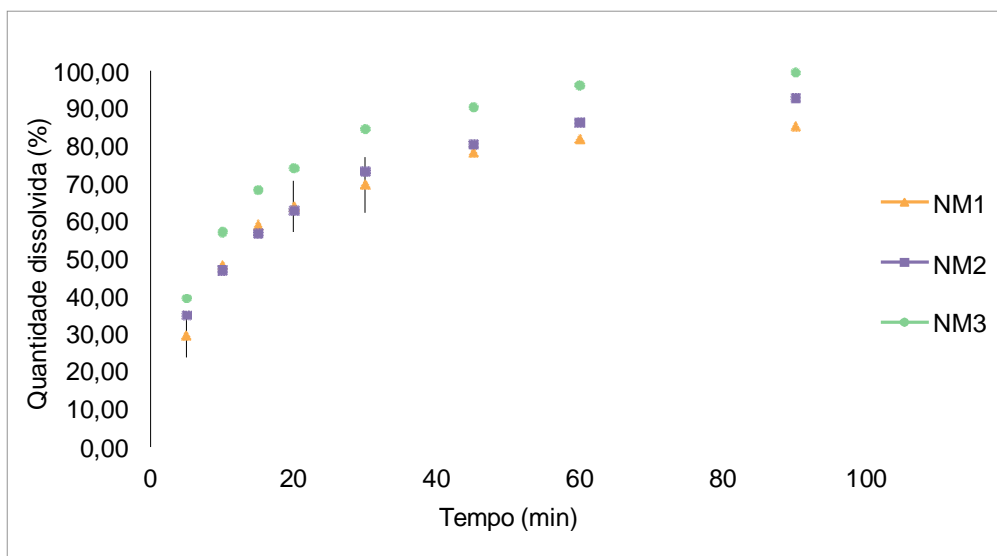


FIGURA 36 – Dissolução por dispersão das amostras de nimesulida NM1, NM2 e NM3 em meio de solução tampão fosfato de potássio pH 7,4 com 2,0% de polissorbatos 80, volume 900mL, utilizando o aparato pá a 75 rpm.

TABELA 18 – Médias das quantidades de fármaco dissolvidas (n=3), obtidas nos tempos de amostragem das amostras NM1, NM2 e NM3.

Tempo (min)	NM1	NM2	NM3
	Média da quantidade de fármaco dissolvida (%) ± DP* (%)		
5	29,63 ± 5,84	34,92 ± 10,75	39,46 ± 9,97
10	48,44 ± 3,40	46,97 ± 8,81	57,13 ± 3,92
15	59,11 ± 3,23	56,87 ± 9,20	68,43 ± 3,51
20	63,96 ± 6,73	62,82 ± 8,38	74,18 ± 0,80
30	69,74 ± 7,47	73,14 ± 7,93	84,43 ± 1,52
45	78,43 ± 4,00	80,55 ± 7,04	90,38 ± 2,09
60	81,96 ± 2,90	86,29 ± 7,46	96,14 ± 0,80
90	85,31 ± 3,42	92,80 ± 6,63	99,48 ± 1,13

* desvio padrão.

TABELA 19 – Comparação dos perfis de dissolução por dispersão das amostras NM1, NM2 e NM3, utilizando os parâmetros F1, F2 e ED.

F1 (NM1:NM2)	3,33		
F1 (NM1:NM3)	15,26		
F1 (NM2:NM3)	12,35		
F2 (NM1:NM2)	69,29		
F2 (NM1:NM3)	46,23		
F2 (NM2:NM3)	50,55		
ED (%)	70,54 ± 1,88	73,50 ± 5,42	82,68 ± 1,41

Sabe-se que a semelhança entre dois perfis de dissolução é estabelecida quando os valores de F1 apresentam-se entre 0 e 15 e os de F2, entre 50 e 100 (SERRA, STORPIRTS, 2007). Diante disso, pontua-se que o maior valor de F1 foi obtido com as amostras NM1 e NM3, o que comprova as maiores diferenças entre os percentuais obtidos de fármaco dissolvido com essas amostras. Aliado ao resultado de F1, o cálculo de F2 para as amostras NM1 e NM3 demonstrou o menor resultado, abaixo de 50, corroborando a falta de similaridade entre os perfis. O resultado de F1 para as amostras micronizadas NM2 e NM3 também apresentou um valor consideravelmente alto, e um resultado de F2 praticamente limítrofe. De forma pouco esperada, os valores de F1 e F2 que apresentaram a maior similaridade foi quando se comparou os perfis de dissolução das amostras NM1 (não micronizada) e NM2 (micronizada).

A eficiência de dissolução (ED) também foi utilizada como uma ferramenta para comparar os resultados dos perfis de dissolução por dispersão. Os valores obtidos de ED demonstram que as amostras micronizadas apresentaram uma diferença de quase 10%, enquanto os valores mais próximos pertencem a NM1 (não micronizada) e NM2 (micronizada).

Os valores de ED foram submetidos à análise estatística pela ANOVA e foram identificadas diferenças significativas ($p < 0,05$). No entanto, ao utilizar o teste de Tukey, foi verificado que não existem diferenças significativas entre os valores de ED dos perfis NM1 e NM2, estando as diferenças significativas entre os perfis NM1 e NM3, e NM2 e NM3.

A literatura revela alguns trabalhos realizados com a nimesulida em ensaios de dissolução por dispersão utilizando diferentes condições analíticas. A TABELA 20 apresenta um breve comparativo dos métodos empregados em alguns desses trabalhos e os resultados encontrados, bem com aquele descrito no item 4.2.8.2 e os valores obtidos com a amostra NM1, que apresentou os menores valores de dissolução (TABELA 20).

TABELA 20 – Comparativo dos métodos e resultados utilizados nos ensaios de dissolução por dispersão de nimesulida apresentados na literatura e no presente trabalho.

Parâmetro/ Resultado	NALLURI <i>et al.</i> (2003)	MONEGHINI <i>et al.</i> (2004)	PARK, CHOI (2006)	Método descrito no item 4.2.8.2/ resultados da amostra NM1
Meio de dissolução	Tampão borato pH 8,4	Tampão fosfato de potássio pH 7,4 + 0,5% de polissorbato 80	Tampão fosfato de potássio pH 6,8 + 1,0% de polissorbato 80	Tampão fosfato de potássio pH 7,4 + 2,0% de polissorbato 80
Aparato	Pá	Pá	Pá	Pá
Rotação	50 rpm	100 rpm	50 rpm	75 rpm
Massa do fármaco	50 mg	Não informado	Não informado	100 mg
Dissolução (%)	34,26 (t = 30 min)	≈ 30,00 (t = 5 min)	< 80,00 (t = 60 min)	29,63 (t = 5 min) 69,74 (t = 30 min) 81,96 (t = 60 min)

Embora o resultado obtido no primeiro ponto de coleta (t = 5min) por MONEGHINI e colaboradores (2004) seja semelhante àqueles apresentados pelas amostras NM1, NM2 e NM3, assim como o percentual de dissolução obtido em 60 minutos no trabalho de PARK e CHOI (2006) foi igualmente próximo ao encontrado

na análise da amostra NM1, as condições analíticas diferem entre si e da metodologia utilizada no presente trabalho, principalmente no que se refere ao meio de dissolução e à velocidade de rotação. Embora os resultados apresentem alguma proximidade de valores, tais diferenças comprometem uma correlação mais fidedigna. Esta situação reproduz uma dificuldade corriqueiramente encontrada neste tipo de avaliação, que se refere à enorme variação comumente verificada nas técnicas e nos parâmetros analíticos entre diferentes trabalhos. Diante do exposto, apesar de algumas similaridades serem observadas, uma comparação mais específica torna-se impossível.

Sabe-se que o tamanho da partícula, a área superficial e a porosidade da amostra constituem fatores relevantes capazes de influenciar o perfil de dissolução do fármaco nos ensaios por dispersão. Em relação à granulometria, os resultados da difração de LASER demonstraram uma diferença muito pequena entre NM2 e NM3. Contudo, na dissolução por dispersão, NM2 e NM3 não demonstraram comportamentos semelhantes, o que pode ser verificado pelo desempenho superior da amostra NM3 em relação a NM2. Já a amostra não micronizada (NM1) apresentou tamanhos de partículas maiores quando comparada com as amostras micronizadas e, no entanto, no ensaio de dissolução por dispersão NM1 apresentou valores próximos a NM2. Sendo assim, outros fatores que impactam os resultados de dissolução por dispersão devem ser levados em consideração como a presença de carga eletrostática e a tendência à aglomeração, que poderiam estar prejudicando o desempenho da amostra NM2 (VARSHOSAZ *et al.*, 2013; HAN *et al.*, 2011). No presente trabalho, não foi possível determinar a densidade eletrostática das amostras.

Quanto à primeira análise de avaliação biofarmacêutica, o ensaio de molhabilidade, também não foi possível estabelecer uma relação direta com os resultados da dissolução por dispersão. Os ângulos de contato obtidos com as amostras dos fabricantes do IFA em estudo apresentaram valores muito próximos, não sendo possível correlacionar tais resultados com os encontrados na dissolução por dispersão.

5.1.10 Dissolução intrínseca

O ensaio de dissolução intrínseca está descrito como um método farmacopeico (USP 36, 2013), porém as monografias dos fármacos não descrevem a metodologia a ser utilizada, devendo esta ser desenvolvida caso a caso. Dessa forma, foram utilizadas diferentes condições analíticas com o objetivo de alcançar um mínimo de dissolução capaz de ser mensurada. A TABELA 21 descreve todos os parâmetros testados, sendo o ensaio 4 correspondente ao método descrito no item 4.2.8.3.

TABELA 21 – Ensaio de dissolução intrínseca realizados com as amostras NM1, NM2 e NM3 (n=3).

Parâmetros de análise	Ensaio			
	1*	2	3	4
Meio de dissolução	Tampão fosfato de potássio pH 7,4 + polissorbato 80 a 2,0 % (v/v)	Tampão fosfato de potássio pH 7,4 + polissorbato 80 a 2,0 % (v/v)	Tampão fosfato de potássio pH 7,4 + etanol a 10,0 % (v/v)	Tampão fosfato de potássio pH 7,4 + polissorbato 80 a 2,0 % (v/v) + etanol a 10,0 % (v/v)
Volume	900 mL	500 mL	500 mL	500 mL
Aparato	Pá			
Rotação	75 rpm	75 rpm	75 rpm	300 rpm
Pressão do compactado	2000 psi	1500 psi	1500 psi	1500 psi
Tempo de compressão	2 minutos	1 minuto e 30 segundos	1 minuto e 30 segundos	1 minuto e 30 segundos

* mesmo meio de dissolução, volume, aparato e rotação descrito na monografia de dissolução de comprimidos de nimesulida (FB 5, 2010).

Os ensaios 1, 2 e 3 não apresentaram valores de dissolução detectáveis, mesmo após 90 minutos. As condições farmacopeicas previstas para o ensaio de

dissolução de comprimidos (ensaio 1) não foi capaz de fornecer quantidades de fármaco quantificáveis, provavelmente porque a dissolução intrínseca utiliza a amostra do IFA puro, diferentemente do produto formulado que possui excipientes, os quais, possivelmente, facilitam a dissolução do fármaco. O método descrito no ensaio 4 foi o único capaz de fornecer percentuais de dissolução do IFA passíveis de serem mensurados, cabendo informar que neste ensaio foram utilizados a maior rotação e o menor volume de meio permitidos pelo equipamento. Em relação ao aumento da rotação e o menor volume do meio, para fármacos de baixa solubilidade, tais condições podem ser necessárias para a detecção de fármaco dissolvido (YU *et al.*, 2004; USP 36, 2013; RIEKES *et al.*, 2014). Além disso, a adição de 10% de etanol no meio de dissolução foi realizada com base na maior solubilidade da nimesulida em etanol, 3,32 mg.mL⁻¹ a 25°C (SEEDHER, BHATIA 2003), frente à sua solubilidade em água, 10 mcg.mL⁻¹ (NALLURI *et al.*, 2003).

A Farmacopeia Americana (USP 36, 2013) recomenda a utilização de meios de dissolução aquosos e que se aproximem das condições fisiológicas. No entanto, a literatura relata alguns trabalhos que utilizam meios contendo solvente orgânico para fármacos de baixa solubilidade em água (RIEKES *et al.*, 2014; MODI *et al.*, 2014, FAGERBERG *et al.*, 2012). No caso da nimesulida, também foi necessário o uso de um solvente orgânico, o que compromete uma correlação mais fidedigna com as propriedades biofarmacêuticas. De qualquer forma, apesar de inicialmente a dissolução intrínseca ter sido aventada como possível parâmetro de correlação biofarmacêutica, cada vez mais a literatura utilizou-a como método de caracterização físico-química. E é com tal propósito que a mesma é aqui empregada. Logo, a inclusão de etanol no meio não compromete o resultado e sua relevância para o trabalho.

A análise do gráfico de dissolução intrínseca obtido com as amostras NM1, NM2 e NM3 (FIGURA 37) permite observar que o método utilizado proporcionou a obtenção de retas lineares, conforme preconizado pela Farmacopeia Americana (USP 36, 2013). Além disso, é possível atribuir às amostras micronizadas, NM2 e NM3, maiores valores de IFA dissolvido por área, quando comparado aos apresentados pela amostra não micronizada, NM1.

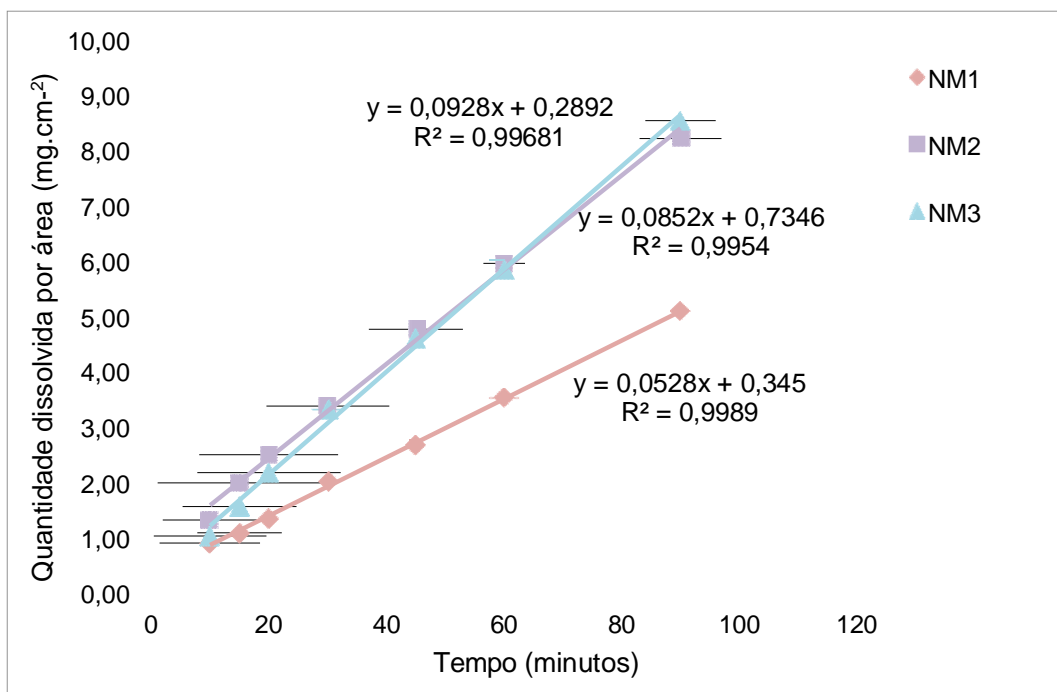


FIGURA 37 – Dissolução intrínseca das amostras de nimesulida NM1, NM2 e NM3 em 500 mL de meio tampão fosfato de potássio pH 7,4 com 2,0% de polissorbato 80 e 10,0% de etanol, utilizando pá a 300 rpm (n=3).

As amostras NM1, NM2 e NM3 demonstraram um comportamento no ensaio de dissolução intrínseca semelhante àquele observado na dissolução por dispersão, expresso nos valores de TDI, nos quais NM1 apresentou a menor TDI seguido de NM2 e, de forma próxima, por NM3 (TABELA 22). Contudo, uma análise mais criteriosa permite observar que, na dissolução por dispersão, NM2 apresentou um comportamento mais próximo da amostra NM1 (não micronizada), enquanto na dissolução intrínseca, o valor de TDI da amostra NM2 foi mais próximo a NM3 do que da amostra não micronizada.

TABELA 22 – Resultados das taxas de dissolução intrínseca em mg.min⁻¹.cm⁻² das amostras de nimesulida em estudo.

Amostra	NM1	NM2	NM3
Taxa de dissolução intrínseca (TDI)	0,105	0,170	0,185

A possibilidade de avaliar a estrutura cristalina das amostras através da dissolução intrínseca torna necessário rever os resultados obtidos com as análises de DSC, DRX e RMN no estado sólido, que demonstram que as amostras NM1, NM2 e NM3 apresentam a mesma estrutura cristalina. Diante disso, faz-se necessário buscar possíveis explicações para as variações encontradas na TDI.

Em relação à correlação entre o tamanho de partícula e a TDI, pontua-se que a superfície da pastilha é lisa e, portanto, o tamanho das partículas não influencia no resultado. Por outro lado, a rugosidade microscópica da pastilha não é contemplada nas avaliações e este fator poderia acarretar um impacto significativo no resultado. Além disso, um trabalho recente demonstrou que fatores microestruturais podem ter relevância na biodisponibilidade de fármacos, indicando que a avaliação de tais parâmetros pode ser muito relevante em toda a caracterização farmacêutica; estes efeitos de microestrutura também podem ser eventualmente impactantes na dissolução intrínseca (FANDARUFF *et al.*, 2015). No presente momento, tais avaliações, seja de rugosidade da pastilha, seja de microestrutura, não foram possíveis para as amostras de nimesulida aqui apresentadas.

Assim, conclui-se que a dissolução intrínseca foi uma ferramenta viável na discriminação entre as amostras, ainda que haja uma dúvida a ser respondida em relação ao parâmetro que estaria causando tal diferenciação entre as mesmas.

5.1.12 Avaliação da fluidez

5.1.12.1 Densidades aparente e compactada

Segundo ABDULLAH e GELDART (1999), a densidade aparente de um pó pode sofrer alterações em função do arranjo de suas partículas, expresso pelo grau de empacotamento, e não existe um valor único especificado para cada matéria-prima. Dessa forma, estabelecer a especificação das densidades aparente e compactada do insumo farmacêutico ativo é pertinente, principalmente quando se

trata de formulações nas quais o ativo está presente em concentrações significativas.

Vale ressaltar que a determinação do índice de compressibilidade e da razão de Hausner, parâmetros preditivos da fluidez dos pós e dos granulados, está atrelada à obtenção dos valores das densidades aparente e compactada.

As densidades obtidas para a amostra NM1 (TABELA 23), apesar de apresentarem valores um pouco maiores, coerentes com um material que apresenta partículas de maior tamanho, ainda assim representam valores de densidade baixos. Os pós que apresentam baixos valores de densidade, como é o caso das amostras analisadas, predizem características de fluxo insatisfatórias. Isso foi comprovado com os ensaios subsequentes.

TABELA 23 – Resultados das densidades aparente e compactada das amostras NM1, NM2 e NM3 (n=3).

Amostra	Densidade aparente (g/mL) ± DP	Densidade compactada (g/mL) ± DP
NM1	0,45 ± 0,01	0,69 ± 0,01
NM2	0,20 ± 0,02	0,28 ± 0,02
NM3	0,19 ± 0,02	0,26 ± 0,02

DANTU e colaboradores (2013) avaliaram uma amostra de nimesulida e encontraram os resultados das densidades aparente e compactada próximos a 0,43 g/mL e 0,53 g/mL, respectivamente. Nota-se que o valor da densidade aparente é próximo ao obtido para a amostra não micronizada, NM1. Em relação à densidade compactada, o resultado encontrado pelo estudo mencionado inicialmente utilizou uma metodologia que difere da realizada no presente trabalho, o que torna contestável a correlação com os resultados aqui apresentados. Os valores inferiores obtidos para as densidades aparentes das amostras NM2 e NM3 podem ser explicados pelos efeitos do processo de micronização, que acarreta em pós com maior adesão entre as partículas e, em consequência, maior tendência à aglomeração. O resultado disso é um material de fluxo pobre e com baixa densidade aparente (HAN *et al.*, 2011).

5.1.12.2 Índice de compressibilidade e razão de Hausner

O índice de compressibilidade e a razão de Hausner são os métodos mais simples e rápidos utilizados como resultados preditivos das propriedades de fluidez dos pós (USP 36, 2013).

De modo geral, os resultados obtidos demonstraram que todas as amostras não possuem boas propriedades de fluidez (TABELA 24). Em concordância com esses valores, DANTU e colaboradores (2013) também não encontraram características de fluidez satisfatórias para essas determinações, com sua amostra de nimesulida.

A TABELA 24 relaciona a classificação de fluidez das amostras de nimesulida com os resultados encontrados para o índice de compressibilidade e razão de Hausner, de acordo com o preconizado pela Farmacopeia Americana (USP 36, 2013).

TABELA 24 – Resultados do índice de compressibilidade e razão de Hausner das amostras NM1, NM2 e NM3.

Fabricante	Índice de Compressibilidade		Razão de Hausner	
	Resultado	Classificação	Resultado	Classificação
NM1	34,78	Muito ruim	1,53	Muito ruim
NM2	26,53	Ruim	1,36	Ruim
NM3	27,69	Ruim	1,38	Ruim

Segundo a literatura, valores mais altos para os índices de compressibilidade e razão de Hausner indicam interações interparticulares mais fortes e características de fluxo indesejáveis (WU *et al.*, 2012; SHAH *et al.*, 2008). Diante disso, o esperado seria que as amostras micronizadas NM2 e NM3, por apresentarem maior adesão entre as suas partículas, demonstrassem piores resultados de fluxo. Entretanto, em contraste ao previsto, os resultados obtidos através do índice de compressibilidade (IC) e razão de Hausner (RH) resultaram em uma classificação de fluidez melhor do que a apresentada pela amostra NM1 (não micronizada).

Adicionalmente, verificou-se que não existe um consenso categórico sobre as correlações entre os parâmetros de densidades, IC, RH e demais ensaios utilizados na avaliação da fluidez. Alguns autores encontraram boas correlações entre amostras com diferentes tamanhos de partícula e os valores de IC e RH, nas quais as amostras com partículas de maiores tamanhos apresentaram melhores propriedades de fluidez (WU *et al.*, 2012; SHA *et al.* 2008). Por outro lado, SANTOMASO e colaboradores (2003) relataram que a RH não foi capaz de distinguir amostras com diferentes propriedades de fluxo, ao passo que o ângulo de repouso permitiu tal diferenciação. Outros estudos também não encontraram boas correlações entre a RH e o ângulo de repouso (SHA *et al.* 2008; WONG, 2002).

Uma das possíveis explicações para as discordâncias entre os resultados encontrados nos diversos ensaios de avaliação da fluidez reside no caráter qualitativo da escala de classificação das propriedades de fluxo adotada pelos compêndios oficiais como, por exemplo, a farmacopeia americana (SHA *et al.* 2008). Dessa forma, os parâmetros de IC e RH possuem baixo poder discriminatório, especialmente para as amostras de fluxo pobre. Tais ensaios são mais úteis para pós de fluxo livre, nos quais os diferentes graus de fluidez podem ser identificados (WONG, 2002).

Com base nesses dados, é possível admitir que os pós não podem ser vistos como entidades invariantes e as suas propriedades de fluxo não devem ser previstas apenas por um indicador. É necessária a realização de vários métodos de caracterização para assegurar uma compreensão completa das propriedades de fluxo e, sempre que possível, utilizar uma ampla gama de condições. Esta abordagem deve ser aplicada durante o desenvolvimento de uma forma farmacêutica sólida, pois permite uma visão mais completa sobre as características de fluidez de um IFA e os possíveis impactos durante o seu processamento (LETURIA *et al.*, 2014).

5.1.12.3 Determinação do ângulo de repouso e fluxo por orifícios

De acordo com a Farmacopeia Americana (USP 36, 2013), o ângulo de repouso é uma característica relacionada com a interação entre as partículas ou com a resistência ao movimento e representa um dos métodos utilizados para a avaliação da fluidez dos pós.

WU e colaboradores (2012) acrescentam que este método possui melhor aplicabilidade para os pós de coesão baixa e intermediária, já que para pós mais coesos e com forte tendência à aglomeração dificilmente se consegue um ângulo de repouso bem definido. Em relação à utilização deste parâmetro na avaliação da processabilidade dos pós, mencionam que o ângulo de repouso não pode ser aplicado para avaliar a forma como os materiais fluem em um *bin* ou uma compressora. Contudo, no presente trabalho, este ensaio foi realizado com o objetivo de complementar a caracterização da fluidez das amostras de nimesulida.

A determinação do ângulo de repouso e o fluxo por orifícios foi realizado no mesmo equipamento, conforme descrito no item 4.2.10.3. O ensaio com as amostras NM1, NM2 e NM3 foi conduzido utilizando as seguintes aberturas do funil: 10, 15 e 25 mm (maior abertura disponível no equipamento utilizado). No entanto, não houve fluidez detectável. Na tentativa de obter um resultado mensurável, foi necessário incluir o agitador na execução do ensaio. A abertura de 15 mm é a que melhor se adapta às dimensões do agitador disponível. Foram testadas as quatro (4) velocidades disponíveis no equipamento (1, 2, 3 e 4). A amostra NM1 apresentou fluidez com a velocidade 1 (um), porém, para a detecção da fluidez das amostras NM2 e NM3, foi necessário utilizar a velocidade 4, máxima permitida ao equipamento. As diferentes condições experimentais utilizadas comprometem, de certa forma, a discussão dos resultados. Ainda assim, é possível pontuar algumas considerações acerca das propriedades de fluxo das amostras em estudo.

A TABELA 25 apresenta os resultados obtidos com o ensaio realizado, utilizando as condições descritas anteriormente.

TABELA 25 – Resultados do ângulo de repouso e fluxo por orifícios das amostras de nimesulida.

Amostra	Ângulo de repouso	Fluxo por orifício	
		Resultado (segundos/100g)*	Desvio padrão relativo (%)
NM1	ND	18,8 (17,0-21,3)	11,78
NM2	ND	61,0 (32,7-112,0)	72,69
NM3	ND	189,6 (52,7-323,1)	71,34

ND não determinado

*os resultados expressos representam a média obtida referente à determinação em triplicata das amostras. Os valores entre parênteses referem-se à faixa encontrada nas análises.

Os resultados encontrados corroboraram a estimativa de baixa fluidez para este fármaco, anteriormente prevista pelos demais ensaios. Também é possível verificar que não houve reprodutibilidade nos ensaios realizados em triplicata, como pode ser visto através dos altos valores de desvios padrão relativos encontrados, particularmente para as amostras micronizadas. Os gráficos obtidos com o ensaio de fluxo por orifício estão apresentados nas FIGURAS 38, 39 e 40.

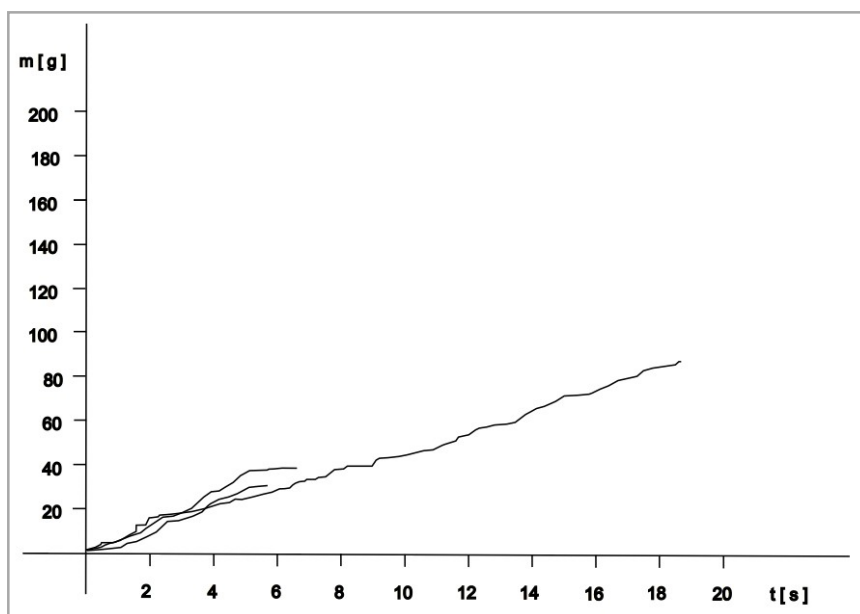


FIGURA 38 – Gráfico de fluxo por orifício da amostra NM1.

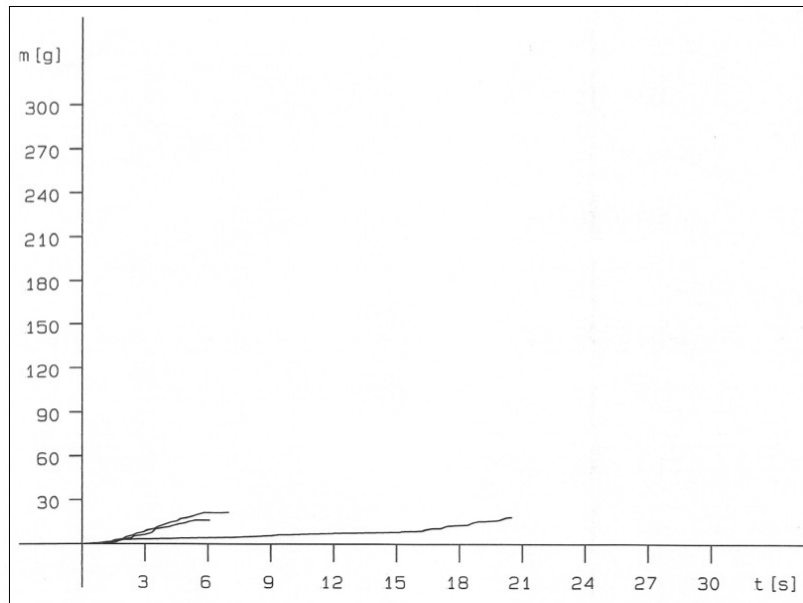


FIGURA 39 – Gráfico de fluxo por orifício da amostra NM2.

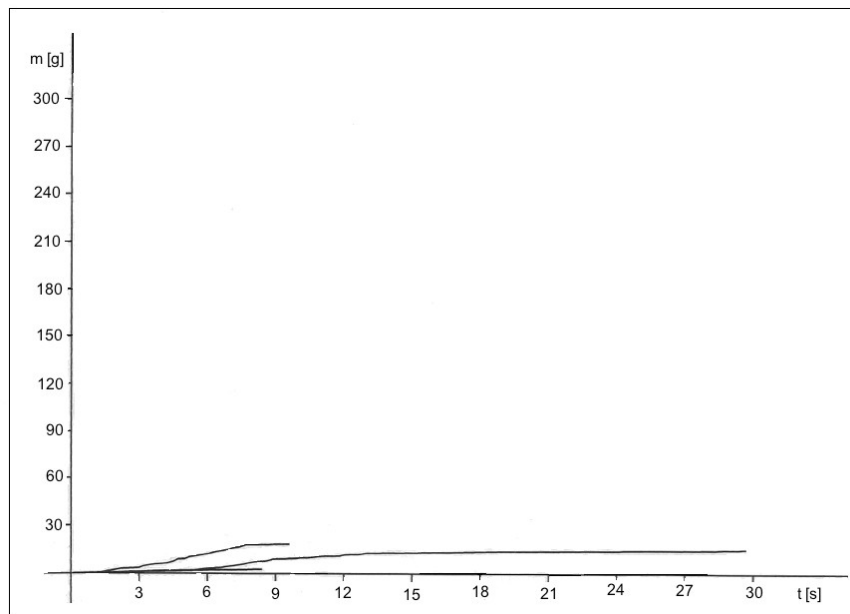


FIGURA 40 – Gráfico de fluxo por orifício da amostra NM3.

As propriedades de fluxo são determinadas por uma combinação de fatores que envolvem o tamanho da partícula, a morfologia, a densidade e a carga eletrostática. Dessa forma, a força gravitacional exercida em uma amostra constituída de partículas de maior densidade pode acarretar um melhor fluxo, quando comparada com uma amostra de partículas de menor tamanho (KACHRIMANIS *et al.*, 2005). Por outro lado, as forças entre partículas muito pequenas são grandes em comparação com as forças gravitacionais, resultando em partículas de baixa mobilidade e um pó com elevada resistência estrutural (FORSYTH *et al.*, 2002).

Confrontando tais dados da literatura com os resultados apresentados na TABELA 25 e os gráficos obtidos, justificam-se as razões pelas quais a amostra NM1, não micronizada, apresentou propriedades de fluxo superiores às outras amostras. Também é possível atribuir um fluxo pior para o fabricante NM3, que ainda demonstrou comportamento menos uniforme (FIGURA 40).

É interessante mencionar que as amostras NM2 e NM3, ambas micronizadas, provavelmente apresentam partículas com uma densidade eletrostática maior. Isto ocorre porque o processo de micronização promove uma tendência ao aumento da carga eletrostática (HAN *et al.*, 2011; SOPPELA *et al.*, 2010). Dessa forma, as amostras NM2 e NM3 reúnem duas importantes propriedades que contribuem para um pior fluxo: partículas de baixa densidade e, supostamente, alta carga eletrostática. Infelizmente, para este trabalho, não foi possível lançar mão de uma técnica específica para avaliação de densidade eletrostática.

De modo geral, todas as amostras apresentaram um comportamento de fluxo errático, o que indica que um processo instável de formação e destruição do arco domina o processo de fluxo dos pós. Esse processo também é evidenciado pelo padrão em “passos”, onde a taxa de fluxo de pó acelera periodicamente, provavelmente em função da destruição do arco formado (KACHRIMANIS *et al.*, 2005). Os altos valores de desvio padrão relativo indicam que os resultados não apresentaram reprodutibilidade e, sendo assim, este método não é o mais indicado para a avaliação de amostras que apresentem comportamento de fluidez pobre, como é o caso das amostras em estudo.

Uma breve revisão dos resultados obtidos nos ensaios de avaliação da fluidez realizados nesse trabalho permite identificar uma discordância entre as

determinações do IC e RH e o fluxo por orifício. Neste último, embora os resultados sejam concordantes com os valores encontrados para as densidades, que apontam a amostra NM1, não micronizada, com melhores propriedades de fluxo comparativamente às outras, tal comportamento não foi observado nas determinações do IC e RH. No presente trabalho, o fluxo por orifício forneceu resultados mais reais, demonstrando numericamente a característica de baixa fluidez do fármaco nimesulida. Conforme mencionado anteriormente, os valores de RH e IC podem não ser tão discriminatórios, podendo gerar resultados irreais de fluidez para pós que são notadamente de fluxo pobre. Além disso, de modo geral, o fluxo dos pós sofre influência do grau de compactação. As amostras em estudo apresentam tamanhos de partículas que são considerados pequenos ($< 80 \mu\text{m}$) e baixos valores de densidade, fatores que estão relacionados com a alta coesão entre suas partículas e, desse modo, entende-se que os métodos de avaliação de fluxo utilizados podem apresentar resultados discordantes. Por fim, pode-se concluir que a aplicabilidade dos ensaios de avaliação da fluidez na rotina do controle de qualidade, particularmente para o fármaco nimesulida, deve ser analisada criteriosamente, considerando todas as limitações inerentes a cada um dos ensaios.

A análise dos resultados obtidos nos ensaios de ângulo de repouso e fluxo por orifícios, aliados aos resultados apresentados nos outros métodos aplicados para a avaliação da fluidez da nimesulida, não deixa dúvidas de que o fármaco apresenta péssimas propriedades de fluxo. Tendo em vista o desenvolvimento de uma formulação de comprimidos, o processo de compressão direta torna-se preterido à granulação, em função da grande possibilidade de problemas relacionados à fluidez, preenchimento das matrizes e consequente desuniformidade de massa e conteúdo.

5.2 Delineamento das formulações e avaliação dos comprimidos de nimesulida obtidos nos lotes galênicos

O delineamento das formulações dos lotes galênicos foi conduzido com os excipientes comumente usados na indústria farmacêutica, além dos presentes na

formulação do medicamento de referência. Sendo assim, a formulação qualitativa, bem como a função dos excipientes do Nisulid[®] foram relacionados, conforme descrito na TABELA 26.

TABELA 26 – Descrição qualitativa do medicamento de referência Nisulid[®].

Insumo ^(a)	Função ^(b)
Nimesulida	Insumo farmacêutico ativo
Lactose monoidratada	Diluente
Celulose microcristalina	Diluente
Hidroxipropilcelulose	Aglutinante
Amidoglicolato de sódio	Desintegrante
Docusato de sódio	Tensoativo
Óleo vegetal hidrogenado	Lubrificante
Estearato de magnésio	Lubrificante

Fonte: ^(a) Bula do medicamento Nisulid[®] – Aché Laboratórios Farmacêuticos S. A.;

^(b) ROWE *et al.*, 2009.

Os lotes galênicos produzidos (TABELA 27) utilizaram as amostras do IFA micronizado, NM2 e NM3, em função da maior quantidade disponível e, além disso, os resultados de dissolução por dispersão foram considerados, nos quais a amostra NM3 apresentou melhor desempenho (TABELA 18, f. 116). Os resultados advindos da avaliação da fluidez, bem como da distribuição granulométrica e MEV forneceram subsídios para a escolha da obtenção dos comprimidos de nimesulida pelo processo de granulação úmida.

TABELA 27 – Formulações dos lotes galênicos produzidos.

Insumo	Propostas de formulação							Função ^(a)
	1	2	3	4	5	6	7	
Nimesulida (NM3)	X	X		X	X	X	X	Ativo
Nimesulida (NM2)			X					Ativo
Lactose monoidratada	X	X	X	X	X	X	X	Diluyente
Celulose microcristalina 101	X	X	X	X	X	X	X	Diluyente
Amido pré-gelatinizado							X ¹	Aglutinante
Hidroxipropilcelulose (baixa substituição)					X	X		Aglutinante
Amidoglicolato de sódio	X ²	X ²	X ²	X ²	X ²	X ²	X ²	Desintegrante
Docusato de sódio				X	X	X		Tensoativo
Polivinilpirrolidona K-30	X	X	X	X				Aglutinante
Lauril sulfato de sódio	X ¹	X ²	X ²				X ²	Tensoativo
Estearato de magnésio	X	X	X	X	X	X	X	Lubrificante
Água purificada	X ³	X ³	X ³	X ⁴	X ⁵	X ⁶	X ⁷	Solvente

Fonte: ^(a) ROWE *et al.*, 2009.

¹: fase intragranular.

²: 50% na fase intragranular + 50% na fase extragranular.

³: usada na granulação úmida para solubilizar o PVP K-30, numa solução a 20%.

⁴: usada na granulação úmida para solubilizar o docusato de sódio, numa solução a 20%.

⁵: usada na granulação úmida para solubilizar o docusato de sódio, numa solução a 5,5%.

⁶: usada na granulação úmida para solubilizar o docusato de sódio, numa solução a 6,5%.

⁷: usada na granulação úmida para solubilizar o lauril sulfato de sódio, numa solução a 3%.

Inicialmente, foram produzidas as formulações L₁, L₂ e L₃ com os excipientes prontamente disponíveis no LQFEx. Os excipientes em comum ao Nisulid[®] são os diluentes (celulose microcristalina e lactose monoidratada), o desintegrante (amidoglicolato de sódio) e o lubrificante (estearato de magnésio). Em seguida, foram adquiridos o docusato de sódio e a hidroxipropilcelulose de baixa substituição, presentes na formulação do medicamento de referência como tensoativo e

aglutinante, respectivamente, sendo produzidos os lotes L₄, L₅ e L₆. Os demais excipientes foram mantidos (diluente, desintegrante e lubrificante) iguais aos lotes galênicos iniciais. Por fim, o lote L₇ utilizou amido pré-gelatinizado como aglutinante e os demais excipientes utilizados nos lotes L₁, L₂ e L₃.

Todos os lotes galênicos foram avaliados durante a compressão, por meio das determinações de peso médio, dureza, friabilidade, desintegração e doseamento. Os lotes que apresentaram os melhores resultados foram selecionados para os ensaios de perfil de dissolução.

5.2.1 Determinação do peso

A escolha do peso médio das formulações dos lotes galênicos foi baseada não apenas nos dados encontrados para o medicamento de referência, mas também através da avaliação das características do princípio ativo e dos ferramentais disponíveis para o processo produtivo. Como pode ser observado (TABELA 28), os valores de peso médio encontrados para os lotes galênicos são próximos ao peso médio apresentado para o medicamento de referência, sendo estabelecido o valor de 400 mg. De acordo com a Farmacopeia Brasileira 5^a edição, a variação de peso máxima permitida para comprimidos simples, com peso médio de 400 mg, é de $\pm 5,0\%$. Além disso, pode-se tolerar não mais que duas unidades fora da variação de peso permitida e nenhuma unidade poderá estar acima ou abaixo do dobro da variação permitida (FB 5, 2010). Dessa forma, os resultados apresentados para o peso médio dos comprimidos obtidos com os lotes galênicos, apesar de apresentarem uma certa variação, foram todos satisfatórios.

TABELA 28 – Resultados encontrados de peso médio e variação de peso obtidos com os comprimidos dos lotes galênicos e do medicamento de referência (n=20).

Lotes galênicos e medicamento de referência (Nisulid®)	Peso médio (mg)	Maior peso (mg)	Menor peso (mg)	Resultado
Especificação: 400 mg ± 5,0% (380 – 420 mg)				
L ₁	402	419	384	Aprovado
L ₂	395	414	383	
L ₃	402	419	385	
L ₄	406	416	395	
L ₅	402	419	382	
L ₆	388	401	380	
L ₇	408	419	391	
R	403	401	406	

5.2.2 Determinação da dureza e friabilidade

Ambos os testes avaliam a resistência mecânica dos comprimidos à ruptura provocada por quedas ou abrasão. De modo mais específico, a dureza avalia a resistência dos comprimidos ao esmagamento ou à ruptura sob pressão radial, enquanto a friabilidade permite determinar a resistência dos comprimidos à abrasão. Dessa forma, considerando que os ensaios complementam-se, os resultados dos testes de dureza e friabilidade foram apresentados conjuntamente.

Os resultados de dureza encontrados com os comprimidos obtidos dos lotes galênicos demonstraram correlação com os resultados de friabilidade, nos quais os lotes L₂, L₃, L₆ e L₇ apresentaram os menores valores de dureza e os maiores valores de friabilidade. No entanto, mesmo que tais lotes tenham apresentado maiores valores de friabilidade, esses percentuais ainda são considerados bons resultados. Já os comprimidos obtidos com os lotes galênicos L₁ e L₄ demonstraram maior resistência, tanto à ruptura como à abrasão, o que pode ser verificado pelos seus valores relativamente mais altos obtidos no ensaio de dureza, bem como os

menores percentuais de perda de massa, apresentados no ensaio de friabilidade. A TABELA 29 apresenta os resultados dos referidos testes.

TABELA 29 – Resultados dos testes de dureza e friabilidade dos lotes galênicos e do medicamento de referência.

Lotes galênicos e medicamento de referência (Nisulid®)	Dureza (kgf) n=20			Friabilidade (%) n=20
	Média (kgf)	Máxima (kgf)	Mínima (kgf)	
L ₁	7,5	8,1	6,8	0,34
L ₂	5,3	6,7	4,7	0,41
L ₃	4,8	5,6	4,1	0,47
L ₄	7,1	8,0	5,6	0,37
L ₅	5,5	6,7	4,3	0,39
L ₆	5,2	6,2	4,8	0,41
L ₇	4,2	5,1	3,5	0,40
R	4,9	5,3	4,6	0,27

A Farmacopeia Brasileira (FB 5, 2010) preconiza que o ensaio de dureza é informativo e, portanto, não estabelece limites a serem obedecidos. Dentro deste conceito, todos os lotes galênicos apresentaram resultados satisfatórios.

Por outro lado, o mesmo compêndio preconiza que após o ensaio de friabilidade, os comprimidos devem apresentar uma perda de massa de, no máximo, 1,5% em relação à massa inicial. Além disso, ao final do teste de friabilidade, nenhum comprimido pode apresentar-se quebrado, lascado, rachado ou partido. Os valores apresentados na TABELA 29 revelam que todos os lotes galênicos apresentaram resultados que atendem às especificações farmacopeicas.

Conforme mencionado anteriormente, a redução do tamanho das partículas resulta no aumento da área de superfície e, portanto, maior interação entre as mesmas, o que levaria à obtenção de comprimidos de maior dureza (SANTL *et al.*, 2011). Os lotes galênicos L₂ e L₃ apresentam a mesma formulação e o mesmo processo, apenas alterando o fabricante do IFA. Verifica-se que foram obtidos

comprimidos de maior dureza no lote L₂ (média = 5,3 kgf) em relação ao lote L₃ (média = 4,8 kgf), sendo que o primeiro foi manipulado com o fabricante NM3, o qual, quando submetido à difração de LASER, apresentou tamanho de partícula menor do que o fabricante NM2, utilizado no lote L₃. Contudo, tanto as diferenças de tamanho de partícula como dos resultados de dureza não são expressivas, impedindo uma correlação direta entre esses ensaios.

O lote L₄ possui quali- e quantitativamente os mesmos excipientes capazes de influenciar a compactabilidade dos lotes L₂ e L₃, porém apresentou valores mais altos de dureza (média = 7,1 kgf). A granulação dos lotes L₂ e L₃ foi realizada com uma solução aquosa de PVP K-30, enquanto que o lote L₄ foi manipulado com o agente aglutinante em pó e usando água como solução granulante. O método mais comum da adição de aglutinantes é como uma solução de granulação. É possível adicionar alguns dos polímeros sintéticos, tais como o PVP como pós, e usar a água como o agente de granulação. Esta abordagem, que tem a vantagem de não necessitar da etapa de preparo da solução granulante, resulta, muitas vezes, na hidratação incompleta dos polímeros, o que vai afetar a qualidade do granulado final (DAVIES, 2009). No entanto, a granulação do lote L₄ foi realizada com um maior tempo de adição da solução, além do maior tempo de mistura. Possivelmente, essas variações do processo permitiram a molhagem adequada dos pós, originando grânulos mais resistentes. Como a força dos grânulos aumenta, há muitas vezes um efeito adverso sobre a desintegração e a dissolução. De fato, o lote L₄ apresentou maior tempo de desintegração e dissolução mais lenta quando comparado com os valores apresentados pelos lotes L₂ e L₃. Os resultados desses ensaios serão mais bem discutidos nos próximos itens.

Em relação ao medicamento de referência, cabe elucidar que os comprimidos do Nisulid[®] apresentam formato côncavo, o que facilita a manutenção da resistência à abrasão, observada pelo baixo valor de friabilidade, ainda que sua dureza seja menor, comparativamente aos lotes galênicos.

5.2.3 Desintegração

De acordo com LACHMAN e col. (2001), a fácil desagregação do comprimido no trato gastrointestinal faz-se necessária para que haja a efetiva liberação do princípio ativo no caso de formulações de pronta liberação. Os comprimidos que apresentam tempos de desintegração inadequados acabam por limitar a dissolução do fármaco e, por conseguinte, a sua absorção.

O lote galênico L₁ apresenta a mesma composição qualitativa dos lotes L₂ e L₃, porém o tensoativo (neste caso o laurilsulfato de sódio) foi utilizado na formulação somente na fase intragranular, diferentemente dos lotes L₂ e L₃ que tiveram o tensoativo adicionado nas fases intra- e extragranular. Além dessa diferença entre as formulações, L₁ apresentou os maiores valores no ensaio de dureza. Tais diferenças impactaram negativamente na desintegração dos comprimidos obtidos com o lote L₁ (6 minutos e 40 segundos), que apresentou o dobro do tempo de desintegração dos lotes L₂ e L₃ (L₂ = 3 minutos e 18 segundos e L₃ = 3 minutos e 10 segundos) (TABELA 30). Nesse sentido, pode-se concluir que a etapa na qual o tensoativo é adicionado à formulação, assim como a dureza dos comprimidos, alteram diretamente o tempo de desintegração e, sendo assim, podem ser utilizados como ferramentas auxiliares na discriminação entre formulações de comprimidos de nimesulida. Os lotes L₂ e L₃ apresentaram tempos de desintegração bastante próximos e, por meio das informações resgatadas da TABELA 27 (f. 133), esses lotes apresentam a mesma formulação e diferem apenas no fabricante do IFA.

Diferentemente dos lotes L₁, L₂ e L₃, a formulação do lote L₄ apresenta como tensoativo o docusato de sódio, igualmente presente na formulação do medicamento de referência. Entretanto, o tempo de desintegração deste último foi superior aos lotes L₂ e L₃ (L₄ = 4 minutos e 10 segundos).

Os lotes galênicos L₅ e L₆ foram produzidos utilizando hidroxipropilcelulose de baixa substituição, como agente aglutinante, e docusato de sódio, como tensoativo. Tais formulações são as mais próximas, qualitativamente, do medicamento de referência e, no entanto, apresentaram os tempos de desintegração mais extensos (L₅ = 9 minutos e 30 segundos e L₆ = superior a 30 minutos); obviamente, não se pode atribuir semelhança ou diferença quantitativa por não se ter conhecimento

sobre as porcentagens de cada agente na formulação do medicamento referência.

O lote galênico L₇ apresentou o menor tempo de desintegração (1 minuto e 23 segundos) e foi o resultado que mais se aproximou da desintegração obtida com o medicamento de referência (1 minuto e 15 segundos).

TABELA 30 – Resultados dos testes de desintegração dos lotes galênicos e do medicamento de referência.

Lotes galênicos e medicamento de referência (Nisulid[®])	Desintegração n=6
L ₁	6 minutos e 40 segundos
L ₂	3 minutos e 18 segundos
L ₃	3 minutos e 10 segundos
L ₄	4 minutos e 10 segundos
L ₅	9 minutos e 30 segundos
L ₆	Superior a 30 minutos
L ₇	1 minuto e 23 segundos
R	1 minuto e 15 segundos

A correlação entre os resultados obtidos no teste de dureza e os tempos de desintegração é usualmente observada durante o desenvolvimento de formas farmacêuticas sólidas onde, quanto maior a dureza dos comprimidos, maior é o tempo de desintegração (SANTL *et al.*, 2011; LIMA *et al.*, 2006). Isso pode ser verificado com o lote L₇, que apresentou o menor resultado de dureza (TABELA 29, f. 136) e também o menor tempo de desintegração. Da mesma forma, os comprimidos obtidos no lote L₁ apresentaram o maior valor de dureza e, por conseguinte, o maior tempo de desintegração.

De acordo com DAVIES (2009), o teste de desintegração é uma parte importante dos testes de controle em processo, como uma ferramenta preditiva da uniformidade lote a lote. No entanto, a sua importância na avaliação biofarmacêutica é suplantada pelos ensaios de dissolução.

5.2.4 Doseamento

O doseamento dos comprimidos dos lotes galênicos L₁, L₂, L₃, L₄, L₅, L₆ e L₇ e do medicamento de referência R foi realizado conforme descrito no método A da Farmacopeia Brasileira (2010), que preconiza a análise por espectrofotometria de absorção no ultravioleta. A avaliação dos resultados obtidos com os comprimidos dos lotes galênicos permite notar que todos os valores ficaram próximos a 95% do valor rotulado (TABELA 31) e atendem à especificação prevista na Farmacopeia utilizada, que estabelece uma faixa de 95,0% a 105,0% da quantidade declarada.

TABELA 31 – Resultados de doseamento dos comprimidos dos lotes galênicos L₁, L₂, L₃, L₄, L₅, L₆ e L₇ e do medicamento de referência (R).

Lotes galênicos/ medicamento de referência (Nisulid®)	Média do doseamento (%) ± DP (%)
L ₁	97,25 ± 2,43
L ₂	96,45 ± 1,40
L ₃	95,27 ± 2,06
L ₄	95,91 ± 2,41
L ₅	95,38 ± 1,95
L ₆	96,62 ± 2,27
L ₇	96,11 ± 2,31
R	100,19 ± 0,83

A avaliação dos resultados obtidos com os comprimidos dos lotes galênicos permite notar que todos os valores ficaram próximos a 95% do valor rotulado. Durante a manipulação dos lotes galênicos foi observada, principalmente nas etapas de granulação e tamisação, uma aderência da massa úmida aos equipamentos. Aliado a esse comportamento observado durante a manipulação, acrescenta-se que as transferências do *high shear* para o granulador oscilante, e deste para o leito

fluidizado, são realizadas manualmente, de modo que todos esses fatores, somados, podem ter contribuído para a perda do fármaco durante tais etapas e seu consequente impacto na redução do teor.

De qualquer forma, é importante mencionar que a prática galênica já demonstrou que muitas vezes fenômenos deste tipo são observados apenas em escala de bancada, sendo os mesmos inexistentes ou insignificantes quando se trabalha em escala industrial. Logo, não se vê como um problema a ser solucionado, atribuindo-se, ao menos até o presente momento, apenas à escala de fabricação dos lotes utilizados neste trabalho.

5.2.5 Perfil de dissolução

Inicialmente, os perfis de dissolução foram realizados entre os lotes galênicos L₁, L₂, L₃, L₄, L₇ e o medicamento de referência utilizando as condições preconizadas pela Farmacopeia Brasileira (FB 5, 2010). O lote L₅ apresentou um tempo de desintegração relativamente alto, principalmente quando comparado ao medicamento de referência, enquanto que L₆ foi reprovado nesse mesmo ensaio, de modo que optou-se por não realizar os perfis de dissolução desses lotes.

De acordo com a RDC 31/2010 (BRASIL, 2010), a comparação de perfis de dissolução é útil não apenas para prever os resultados do estudo de equivalência farmacêutica, mas também nos casos em que se deseja conhecer o comportamento de dois medicamentos antes de submetê-los à bioequivalência. Para que dois perfis de dissolução sejam considerados semelhantes, alguns critérios devem ser atendidos, conforme descrito abaixo:

a) os medicamentos teste e referência devem apresentar tipos de dissoluções correspondentes. Por exemplo, se o medicamento de referência apresentar dissolução média de 85% em 15 minutos (dissolução muito rápida) o medicamento teste também deve apresentar dissolução muito rápida;

b) o valor obtido para F₂ deverá estar compreendido entre 50 e 100;

c) o número de pontos de coleta deve ser representativo do processo de dissolução até que se obtenha o platô na curva, sendo obrigatória a quantificação de

amostras de, no mínimo, cinco tempos de coleta;

d) para fins de cálculo do F2, é permitido a inclusão de apenas um ponto da curva após ambos os medicamentos atingirem a média de 85% de dissolução;

e) para permitir o uso dos valores médios, os coeficientes de variação para os primeiros pontos de coleta não podem exceder 20%. Para os demais pontos considera-se o máximo de 10%. São considerados como primeiros pontos de coleta o correspondente a 40% do total de pontos coletados. Sendo assim, para um perfil de dissolução com cinco tempos de coleta, consideram-se primeiros pontos os dois primeiros tempos de coleta.

f) Quando a dissolução for muito rápida para ambos os medicamentos, o F2 perde o seu poder discriminativo e, portanto, não é necessário calculá-lo. Nesses casos, deve-se comprovar a dissolução muito rápida, por meio do gráfico da curva, realizando coletas em, por exemplo: 5, 10, 15, 20 e 30 minutos. O coeficiente de variação no ponto de 15 minutos não pode exceder 10%.

Nos ensaios realizados com as condições farmacopeicas, o Nisulid[®], medicamento de referência, apresentou dissolução superior a 85% em 15 minutos. Dessa forma, dentre as formulações testadas, foi selecionada uma formulação que apresentasse o mesmo tipo de dissolução e, a partir daí, foram realizados estudos de perfis de dissolução complementares. Tendo em vista que o ensaio de dissolução da Farmacopeia Brasileira preconiza o uso do tensoativo polissorbato 80 na concentração de 2%, foi avaliada a influência deste tensoativo em diferentes concentrações.

5.2.5.1 Perfis de dissolução realizados de acordo com o preconizado pela Farmacopeia Brasileira (FB 5, 2010)

Após a análise comparativa dos resultados de dureza, friabilidade e desintegração dos lotes galênicos, foram selecionados os lotes que apresentaram melhores resultados, sendo estes L₁, L₂, L₃, L₄ e L₇ para a realização dos perfis de dissolução.

A eficiência de dissolução (ED) foi calculada com o objetivo de complementar

o estudo comparativo dos perfis de dissolução e acrescentar uma ferramenta discriminativa às análises tendo em vista que, no caso das formulações apresentadas, o cálculo de F2 tornou-se inapropriado.

Os resultados obtidos com o perfil de dissolução do medicamento de referência e dos lotes galênicos indicam que apenas os lotes L₂ e L₃ apresentaram um perfil de dissolução muito rápido, mesmo tipo de dissolução do medicamento de referência. Os valores de eficiência de dissolução demonstram que o lote L₂ apresentou o maior valor de ED enquanto L₁ demonstrou o menor percentual de ED (TABELA 32 e FIGURA 41). Os valores de ED foram submetidos ao tratamento estatístico por ANOVA e teste de Tukey e verificou-se que todas as formulações dos lotes galênicos diferem significativamente do Nisulid[®] ($p < 0,05$) e os lotes L₂ e L₃ não apresentam diferenças significativas entre os valores de ED ($p > 0,05$).

TABELA 32 – Médias das quantidades de fármaco dissolvidas (%) dos lotes galênicos L₁, L₂, L₃, L₄, L₇ e do medicamento de referência (R), nas condições farmacopeicas (FB 5, 2010) e seus respectivos valores de eficiência de dissolução (ED).

Tempo (min)	L₁	L₂	L₃	L₄	L₇	R
	Média da quantidade de fármaco dissolvida (%) ± DP (%)					
5	28,44 ± 14,30	34,01 ± 8,58	37,49 ± 11,61	33,98 ± 16,12	46,07 ± 5,42	74,32 ± 2,86
10	60,07 ± 7,52	70,31 ± 2,80	78,05 ± 6,72	68,97 ± 8,97	72,19 ± 1,56	87,65 ± 4,97
15	77,88 ± 2,51	92,75 ± 2,39	89,47 ± 3,78	84,65 ± 4,76	83,78 ± 2,25	98,84 ± 1,61
20	86,24 ± 4,59	99,33 ± 2,11	94,47 ± 4,36	91,15 ± 4,93	91,69 ± 2,23	100,12 ± 4,89
30	94,68 ± 2,11	102,89 ± 1,34	102,05 ± 2,46	99,64 ± 3,43	92,71 ± 3,69	102,96 ± 2,42
45	102,05 ± 1,92	103,34 ± 1,42	103,17 ± 3,56	102,90 ± 3,59	97,09 ± 3,01	103,02 ± 0,86
ED (%)	76,61 ± 1,27	84,95 ± 1,02	84,02 ± 0,81	80,92 ± 1,83	79,67 ± 1,24	90,83 ± 2,27

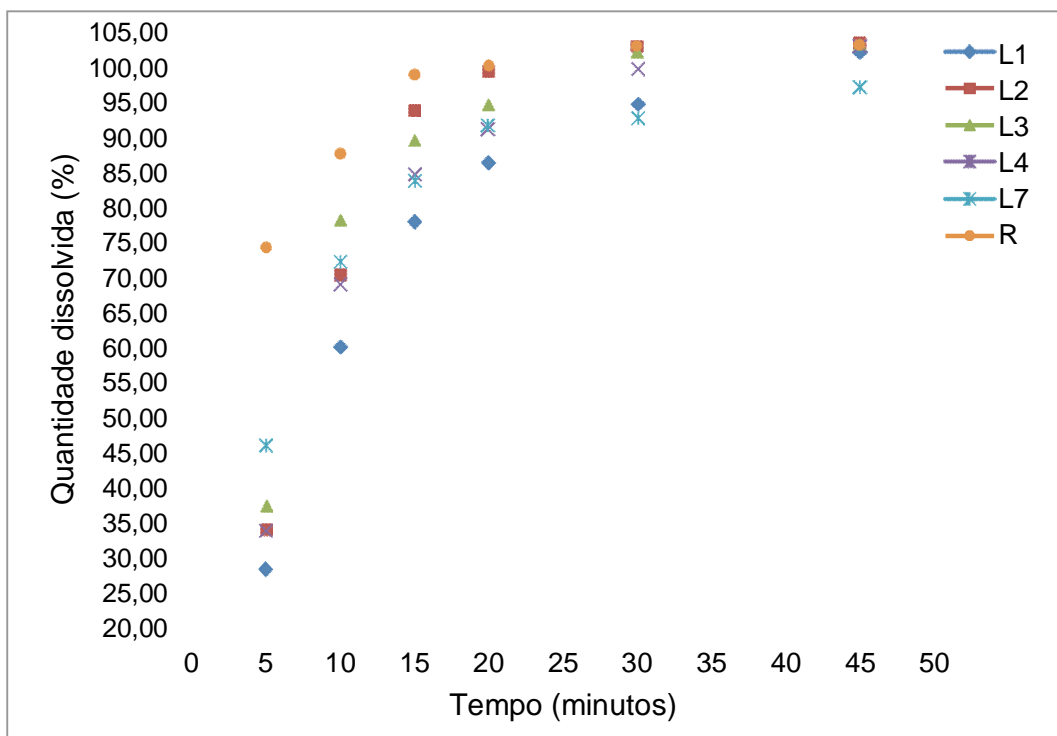


FIGURA 1 – Sobreposição dos perfis de dissolução dos lotes galênicos L₁, L₂, L₃, L₄, L₇ e do medicamento de referência (R), nas condições farmacopeicas (FB 5, 2010).

O lote galênico L₁ apresentou dissolução acima de 85% em 30 minutos, o que caracteriza uma dissolução rápida, enquanto o medicamento de referência apresentou dissolução muito rápida, caracterizada por sua dissolução acima de 85% em 15 minutos. Diante desse resultado, delineou-se a formulação L₂ apenas alterando a introdução do tensoativo lauril sulfato de sódio para 50% na fase intragranular e 50% na fase extragranular, tendo em vista que no lote L₁ foi introduzido na fase intragranular, em sua totalidade.

A literatura relata o uso do lauril sulfato de sódio com resultados promissores em diversos estudos de desenvolvimento de formas farmacêuticas sólidas (BHASIN, GHOSH, 2012; GRACE *et al.*, 2012; MOORE *et al.*, 2010). O uso de tensoativos constitui uma interessante ferramenta para otimizar a dissolução dos fármacos de baixa solubilidade, pois seus efeitos envolvem a redução da tensão superficial e o incremento das propriedades de molhabilidade, contribuindo para melhores resultados nos ensaios de dissolução (SAHARAN *et al.*, 2009).

As formulações do lote L₂ e do medicamento de referência apresentaram dissolução muito rápida, com resultados da quantidade de fármaco dissolvida superiores a 85 % em 15 minutos e, desse modo, o valor de F2 perde o seu valor discriminativo. Segundo a RDC 31/2010 (BRASIL, 2010), para fins de cálculo do F2, é permitida a inclusão de apenas um ponto da curva após ambos os medicamentos atingirem a média de 85% de dissolução e o número de pontos de coleta deve ser de, no mínimo, cinco tempos de coleta. Analisando os dados apresentados na TABELA 32, verifica-se que o cálculo de F2 torna-se inviável, pois a utilização de cinco pontos de coletas envolve mais de um ponto acima de 85%, o que vai de encontro ao preconizado pela normativa que rege os estudos de perfil de dissolução comparativo.

Em seguida, foi produzido o lote L₃, quali- e quantitativamente com a mesma formulação do L₂, apenas alterando o fabricante do IFA. Conforme ilustrado na TABELA 27 (f. 133), L₂ utilizou a nimesulida NM3 e L₃, a NM2, ambas matérias-primas micronizadas. Os resultados do perfil de dissolução do lote L₃ permaneceram satisfatórios. Cabe mencionar que os valores obtidos para os ensaios físicos durante a produção dos lotes galênicos L₂ e L₃ (dureza, friabilidade e desintegração), também foram próximos.

Considerando que os lotes L₂ e L₃ tratam-se de formulações que diferem apenas no fabricante do IFA, é interessante correlacionar os resultados obtidos no perfil de dissolução dos produtos formulados com esses lotes, com os dados obtidos nos ensaios de caracterização do IFA, particularmente na determinação de tamanho de partícula, molhabilidade e dissolução por dispersão. Os resultados obtidos da análise granulométrica por difração de LASER e molhabilidade foram bastante próximos. Contudo, no ensaio de dissolução por dispersão, NM3 apresentou uma dissolução cerca de 10% superior à apresentada por NM2 e, mais ainda, tais perfis demonstraram diferenças estatísticas significativas ($p < 0,05$). Embora tenham sido observadas propriedades biofarmacêuticas superiores da amostra NM3 em relação à NM2, no produto formulado, os lotes L₂ e L₃ apresentaram resultados de dissolução próximos e a análise estatística dos valores de ED demonstrou semelhança entre esses perfis ($p > 0,05$), ainda que os valores de cedência do fármaco tenham sido ligeiramente maiores no lote L₂. A FIGURA 42 demonstra esta relação entre os resultados obtidos com as amostras NM2 e NM3.

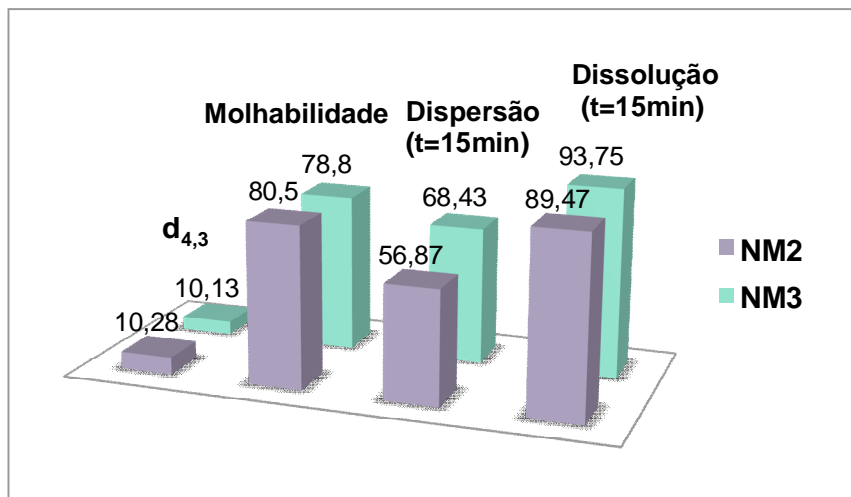


FIGURA 2 – Correlação entre $d_{4,3}$, molhabilidade, dispersão (t = 15 min) e dissolução (t = 15 min).

O lote L₄ apresentou um perfil de dissolução semelhante aos lotes L₂ e L₃, porém com valores médios de cedência do fármaco inferiores. O tensoativo utilizado no lote L₄ foi o docusato de sódio, também presente na formulação do medicamento de referência, mas diferente daquele utilizado nos lotes L₂ e L₃, o lauril sulfato de sódio (TABELA 26, f. 132 e TABELA 27, f. 133). Os dois primeiros pontos de coleta do perfil de dissolução de L₄ apresentaram valores próximos aos de L₂. Contudo, no tempo de 15 minutos, determinante para a avaliação e seleção das diferentes formulações propostas, o valor de cedência do fármaco, embora bastante próximo de 85%, não alcançou o referido valor, o que acarreta na classificação de L₄ como uma formulação de dissolução rápida, classificação distinta da apresentada pelo Nisulid[®] e pelos lotes L₂ e L₃.

A formulação do lote L₇ diferencia-se pelo uso do amido pré-gelatinizado como aglutinante e o uso de uma solução de lauril sulfato de sódio como agente molhante. Assim como L₄, L₇ não atingiu 85% de liberação do fármaco em 15 minutos, apesar de apresentar valor muito próximo (TABELA 32), estando igualmente classificado como uma formulação de dissolução rápida. Um detalhe interessante do perfil de dissolução do L₇ reside no resultado obtido no primeiro ponto de coleta, que foi superior em quase 10% de cedência do fármaco, quando comparado com o resultado obtido com L₃. Uma possível explicação é o caráter duplo do amido pré-gelatinizado, que atua não apenas como aglutinante, mas

também como desintegrante, podendo estar maximizando a liberação do IFA neste ponto inicial. O resultado do teste de desintegração corrobora essa hipótese, tendo em vista o menor tempo apresentado, frente aos outros lotes galênicos (TABELA 30, f. 139) (DILOVA, ARNAUDOVA, 2013; BALA, 2012).

Dentre todos os lotes galênicos avaliados, L₂ apresentou os maiores valores de cedência do fármaco (TABELA 32). Embora a análise estatística tenha demonstrado que os valores de ED dos perfis de dissolução dos lotes L₂, L₃ e L₄ não são significativamente diferentes ($p>0,05$), optou-se por selecionar o lote L₂ por dois motivos: L₂ foi manipulado com a amostra NM3, que foi adquirida em maior quantidade pelo LQFEx e, caso fossem necessárias a realização de ensaios complementares, a disponibilidade de IFA não seria um problema e, em segundo lugar, porque foi manipulado com excipientes que também estavam prontamente disponíveis no LQFEx e em quantidades suficientes para a fabricação de outros lotes galênicos (caso necessário), ao contrário do docusato de sódio, utilizado no lote L₄.

Ainda que L₂ tenha apresentado os maiores valores de dissolução, nota-se uma diferença considerável entre os valores de cedência de L₂ e os do medicamento de referência nos primeiros tempos de amostragem ($t = 5 \text{ min}$ e $t = 10 \text{ min}$). Em termos de estudo de equivalência farmacêutica, os resultados apresentados por L₂ atendem aos critérios previstos na RDC 31/2010 (BRASIL, 2010), que dispensa para medicamentos de dissolução muito rápida o cálculo de F₂. Dessa forma, a dissolução média dos medicamentos teste e referência de 85% em 15 minutos (dissolução muito rápida) é suficiente para que os produtos sejam considerados equivalentes farmacêuticos.

No entanto, para o registro de medicamento similar é necessário, após o teste de equivalência farmacêutica, realizar o estudo de bioequivalência (BRASIL, 2014). Os principais parâmetros farmacocinéticos utilizados para a avaliação da biodisponibilidade são:

- pico de concentração máxima - C_{max} ;
- tempo para ocorrer C_{max} - T_{max} ;
- área sob a curva - ASC.

Segundo SINGLA e colaboradores (2000) a nimesulida apresenta rápida absorção oral, atingindo sua concentração máxima (2,86-6,5 mg/L) em 1,22-2,75h.

Adicionalmente, um estudo realizado com brasileiros avaliou a bioequivalência de comprimidos de nimesulida frente ao medicamento de referência Nisulid[®] e foram encontrados valores para C_{max} equivalentes a 5,30 e 4,52 ng/mL e T_{max} de 2,23 e 3,32h, respectivamente para o medicamento de referência e teste (RIGATO *et al.*, 2010).

Analisando tais dados da literatura e tomando por base que os ensaios de dissolução são delineados para simular as condições fisiológicas e constituem ferramentas para a avaliação *in vitro* da biodisponibilidade, os parâmetros de avaliação C_{max} e T_{max} não representariam problemas de bioinequivalência. Isso porque, decorridos 45 minutos (tempo este inferior àqueles apresentados pela literatura para atingir C_{max}) o lote L₂ e o medicamento de referência já apresentavam o mesmo valor de cedência do IFA; de modo que se espera a mesma proximidade de liberação do fármaco entre os medicamentos (teste e referência) nos ensaios *in vivo*. Acrescenta-se que, em consulta a alguns Centros de Bioequivalência, o protocolo do estudo de bioequivalência de comprimidos de nimesulida apresenta o primeiro tempo de coleta das amostras após 15 minutos da administração do medicamento, tempo em que, nos ensaios *in vitro* realizados, ambas as formulações (L₂ e referência) apresentaram comportamentos semelhantes.

Já o parâmetro da ASC requer uma análise mais cuidadosa, pois é a medida da extensão de absorção do fármaco e representa a quantidade total de fármaco absorvido para a circulação após a administração de uma única dose. Conforme já discutido anteriormente, a absorção do fármaco através do trato gastrointestinal depende da sua dissolução nos fluidos fisiológicos, o que requer determinada hidrossolubilidade; porém uma certa lipossolubilidade também é importante para atravessar as membranas biológicas que são de natureza lipoproteica (STORPIRTIS *et al.*, 2004). Neste ponto, é pertinente relembrar que a nimesulida pertence à classe II do SCB, na qual a dissolução representa a etapa limitante para a absorção, sendo mandatório um delineamento criterioso do ensaio de dissolução para que haja uma correlação dos resultados obtidos nos ensaios *in vitro* e o esperado na avaliação *in vivo*. POSTALI (2011), ao mencionar um estudo de bioequivalência de comprimidos de nimesulida que apresentou resultado reprovado, tendo sido previamente aprovado na equivalência farmacêutica, reforça o alerta para a interpretação dos resultados dos perfis de dissolução deste fármaco.

Diante do exposto e considerando que o ensaio de dissolução preconizado pela Farmacopeia Brasileira (2010) preconiza o uso de 2% do tensoativo polissorbato 80, condição analítica que poderia mascarar as diferenças entre a formulação testada e o medicamento de referência, tornou-se necessário verificar a influência de diferentes concentrações deste tensoativo no perfil de dissolução. O lote L₂ foi selecionado para a realização dos ensaios de perfil de dissolução contendo diferentes concentrações de polissorbato 80.

5.5.2.2 Perfil de dissolução em meio tampão fosfato de potássio pH 7,4 contendo diferentes concentrações de polissorbato 80

A utilização de meios que contenham agentes tensoativos foi proposta como um método adequado para solubilizar fármacos de baixa hidrossolubilidade e de caráter fracamente ácido, como é o caso da nimesulida, devido à possibilidade de simular o ambiente *in vivo* do lúmen intestinal. Em função do alto custo dos tensoativos naturais ou endógenos, não é prático utilizá-los nos estudos de dissolução, podendo os mesmos ser substituídos por tensoativos sintéticos, como o polissorbato 80 (SILVA, VOLPATO, 2002; PARK, CHOI, 2006).

O alcance de um aumento substancial da solubilidade coincide com a quantidade de tensoativo, no mínimo, acima da concentração micelar crítica. Em função da interação do fármaco com as micelas de tensoativo, normalmente ocorre uma dependência linear entre a solubilidade e a concentração deste agente. É recomendável utilizar a menor quantidade de tensoativo para solubilizar o fármaco e alcançar um valor acima de 85% de dissolução em uma quantidade razoável de tempo (GOWTHAMARAJAN, SINGH, 2010). Além disso, deve haver uma justificativa sólida para a utilização de tensoativo, preferencialmente com a demonstração de perfis de dissolução em diferentes concentrações (USP 36, 2013).

Dessa forma, ainda que o meio preconizado pela Farmacopeia Brasileira seja acrescido de 2,0% de polissorbato 80 (FB 5, 2010), considerou-se interessante avaliar o comportamento do lote L₂, utilizando o mesmo tampão fosfato de potássio previsto pela FB, porém contendo diferentes concentrações de tensoativo.

Os resultados apresentados demonstraram uma redução nos valores de cedência do fármaco à medida em que a concentração de polissorbato 80 foi sendo reduzida, comportamento coerente com o previsto pela literatura, conforme mencionado anteriormente. Ainda assim, em todas as concentrações de tensoativo avaliadas, o produto teste e o medicamento de referência mantiveram valores acima de 85% em 15 minutos, mantendo a classificação de dissolução muito rápida e tornando desnecessário o cálculo de F2. No entanto, a eficiência de dissolução foi calculada como ferramenta de comparação dos perfis de dissolução. Novamente, observou-se uma redução dos valores obtidos de ED à medida em que a concentração do tensoativo foi sendo retirada do meio de dissolução. Isso ocorreu tanto para o lote L₂ como para o medicamento de referência. A análise estatística por ANOVA revelou que os perfis de dissolução são estatisticamente diferentes entre si ($p < 0,05$) e o teste de Tukey identificou que, em cada condição avaliada (polissorbato 80 a 2,0%, 1,0% e 0,5%), o perfil de dissolução do lote L₂ difere estatisticamente do medicamento de referência. Os resultados e as curvas obtidas no perfil de dissolução contendo diferentes concentrações de polissorbato 80 estão apresentados na TABELA 33 e na FIGURA 43.

TABELA 33 – Médias das quantidades de fármaco dissolvidas (%) do lote galênico L₂ e do medicamento de referência (R) em tampão fosfato pH 7,4 contendo diferentes concentrações de polissorbato 80 (2,0%, 1,0% e 0,5%).

Tempo (min)	Polissorbato 80 a 2,0%		Polissorbato 80 a 1,0%		Polissorbato 80 a 0,5%	
	L ₂	R	L ₂	R	L ₂	R
	Média da quantidade de fármaco dissolvida (%) ± DP (%)					
5	34,01 ± 8,58	74,32 ± 2,86	34,05 ± 7,54	74,05 ± 1,24	33,74 ± 5,42	69,18 ± 7,80
10	70,31 ± 2,80	87,65 ± 4,97	69,64 ± 6,30	86,20 ± 1,57	69,21 ± 2,88	79,87 ± 1,82
15	92,75 ± 2,39	98,84 ± 1,61	90,79 ± 3,36	95,57 ± 2,16	88,55 ± 1,82	91,34 ± 2,41
20	99,33 ± 2,11	100,12 ± 4,89	95,88 ± 2,95	99,61 ± 5,35	92,49 ± 1,26	95,02 ± 1,39
30	102,89 ± 1,34	102,96 ± 2,42	99,91 ± 2,30	102,15 ± 1,41	97,63 ± 1,30	99,56 ± 1,95
45	103,34 ± 1,42	103,02 ± 0,86	101,31 ± 1,75	102,98 ± 1,36	99,36 ± 1,02	101,22 ± 1,46
ED (%)	84,95 ± 1,02	90,83 ± 2,27	82,21 ± 3,01	90,53 ± 2,17	80,41 ± 1,63	87,05 ± 2,09

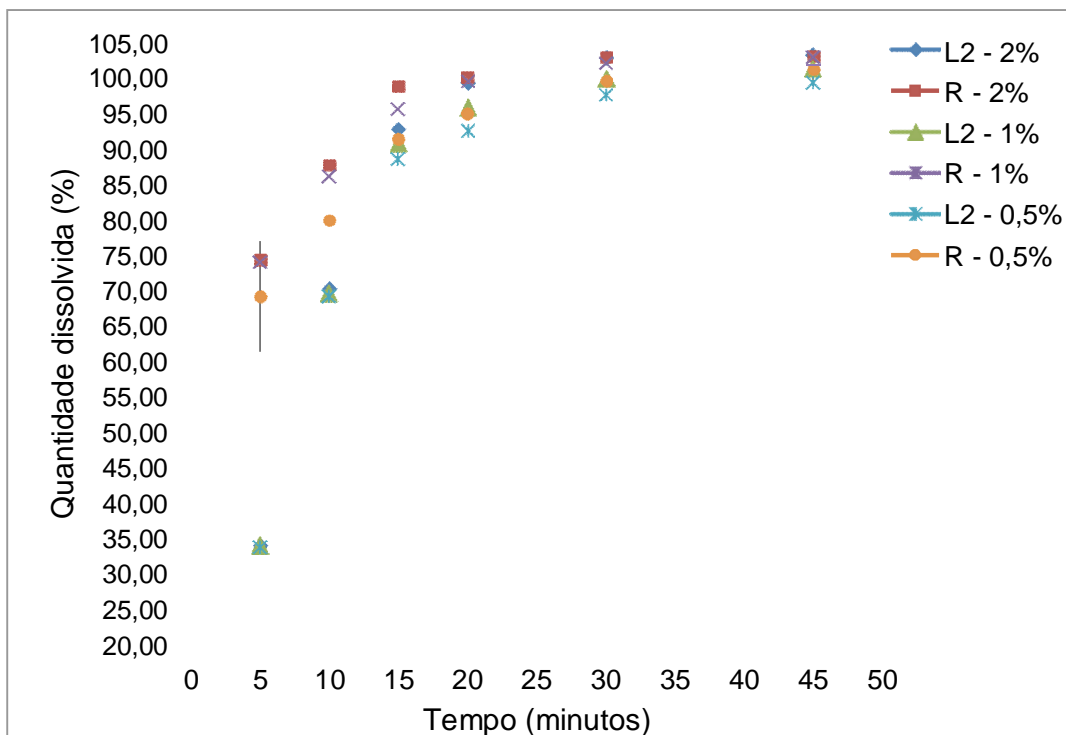


FIGURA 43 – Sobreposição dos perfis de dissolução do lote galênico L₂ e do medicamento de referência (R), em tampão fosfato de potássio pH 7,4 contendo diferentes concentrações de polissorbato 80 (2,0%, 1,0% e 0,5%).

Em consulta à literatura, foi verificado um estudo realizado por PURCARU e colaboradores (2010) no qual foi avaliado o perfil de dissolução de comprimidos de nimesulida em meio de dissolução tampão fosfato pH 7,4 com 2,5%, 1,0%, 0,5%, 0,1%, 0,05% e 0,01% de polissorbato 80. Diferentemente dos resultados encontrados nesta dissertação, a liberação total do fármaco não foi atingida em nenhum dos meios de dissolução testados, apresentando maior valor de cedência quando na presença de 2,5% de tensoativo, obtendo valores de dissolução em torno de 90% em 60 minutos.

De modo semelhante, RUELA e col. (2009) também não obtiveram resultados de dissolução acima de 90% em 60 minutos ao avaliarem amostras comerciais de comprimidos de nimesulida em solução tampão fosfato de sódio pH 7,4 acrescido de 1,0% de polissorbato 80.

Uma vez que ambos os trabalhos não trazem informações quanto à composição dos medicamentos teste, as disparidades de resultados encontrados

frente à presente dissertação podem ser atribuídas às prováveis diferenças nas formulações, tendo em vista que os excipientes podem atuar de modo direto nos processos de dissolução. Além da importante contribuição dos excipientes na velocidade e extensão de dissolução, aspectos como, por exemplo, a granulometria das partículas do IFA, constituem características impactantes na dissolução de formas farmacêuticas sólidas. Tais propriedades físico-químicas também não foram disponibilizadas nos trabalhos referenciados acima, limitando uma discussão mais aprofundada.

Os testes de dissolução *in vitro* de comprimidos são utilizados no controle de qualidade de medicamentos e no desenvolvimento de novas formulações. Dependendo da classe do fármaco, os resultados de um estudo de dissolução podem ser intimamente relacionados com os resultados *in vivo*. Para os fármacos de classe II do Sistema de Classificação Biofarmacêutica, como é o caso da nimesulida, a dissolução do fármaco pode ser o passo limitante da sua taxa de absorção em condições *in vivo*. Para esses fármacos são encontradas dificuldades em termos de selecionar o meio de dissolução com a capacidade de discriminar diferentes formulações (PARK, CHOI, 2006).

De acordo com KOSTEWICZ e colaboradores (2014) as farmacopeias fornecem às indústrias farmacêuticas métodos de dissolução confiáveis para o controle de qualidade de formas farmacêuticas sólidas. Contudo, em termos de meio de dissolução, os métodos descritos nos compêndios, muitas vezes, estão longe de permitir uma avaliação preditiva dos resultados da biodisponibilidade *in vivo*. Para preencher a lacuna entre o método farmacopeico de dissolução preconizado para o controle de qualidade de rotina e o desenvolvimento de um método de dissolução capaz de prever os resultados *in vivo*, a escolha do meio de dissolução é particularmente importante e deve reproduzir as condições fisiológicas para que haja a correlação *in vitro-in vivo*.

5.3 Compilação geral dos resultados e definição de especificação do fármaco

A jornada que envolve o desenvolvimento de uma formulação farmacêutica esbarra em uma série de desafios que se inicia com um estudo consistente de pré-formulação, cujo objetivo é ampliar as possibilidades de sucesso do produto final. No presente trabalho, a caracterização do fármaco nimesulida buscou compreender os aspectos de cristalinidade, as propriedades de fluxo e biofarmacêuticas e correlacionar seus impactos na formulação, principalmente no que se refere às características de processabilidade e dissolução.

Com base nisso e nos resultados obtidos, fica bastante evidente a importância de se definir uma especificação mais detalhada do fármaco, que não esteja limitada apenas às especificações farmacopeicas. Indo mais além e já vislumbrando a produção em escala industrial, é fundamental adquirir insumos com as mesmas propriedades, de modo a respaldar uma produção sem interrupções em função de insumos adquiridos com desempenhos de processabilidade e/ou dissolução insatisfatórios. O QUADRO 1 compila os resultados obtidos nas análises de caracterização das amostras de nimesulida em estudo e o QUADRO 2 os dados dos ensaios de avaliação dos lotes galênicos.

QUADRO 1 – Compilação dos resultados das análises de caracterização das amostras NM1, NM2 e NM3 (continua).

Análises		Caracterização do IFA		
		NM1	NM2	NM3
Ensaio farmacopeicos	Identificação	Resultados satisfatórios, segundo as especificações preconizadas pela Farmacopeia Brasileira (FB 5, 2010).		
	Metais pesados			
	Cinzas sulfatadas			
	Doseamento			
DSC		<p>Curvas de DSC com um único evento endotérmico (atribuído à fusão). Na razão de aquecimento de $10^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$, apresentaram os seguintes resultados: T_{onset} próximo a 148°C e T_{pico} próximo a 150°C; entalpia (ΔH) em torno de $110 \text{ J}\cdot\text{g}^{-1}$.</p> <p>De acordo com a literatura, esse comportamento térmico é compatível com o polimorfo I.</p>		
Espectroscopia no infravermelho		Presença de todas as bandas características dos grupamentos funcionais da nimesulida. Não foi possível identificar alterações que pudessem estar vinculadas à presença de diferentes polimorfos.		
DRX		Padrão de difrações de raios X com picos característicos nas mesmas posições das amostras NM2 e NM3, mas com intensidades inferiores. Comportamento sugestivo de orientação preferencial.	Padrões de difrações de raios X muito semelhantes.	
		Os padrões de difração de raios X indicam que as amostras possuem o mesmo arranjo cristalino, sugestivo do polimorfo I.		

QUADRO 1 – Compilação dos resultados das análises de caracterização das amostras NM1, NM2 e NM3 (continuação).

Análises		Caracterização do IFA		
		NM1	NM2	NM3
RMN	Em solução	O espectro de RMN de ¹ H apresentou os mesmos deslocamentos químicos da amostra NM2.	Os espectros de RMN de ¹ H, ¹³ C, DEPT135, HSQC e HMBC permitiram o assinalamento estrutural.	O espectro de RMN de ¹ H apresentou os mesmos deslocamentos químicos da amostra NM2.
	No estado sólido	Não realizado.	O espectro de RMN no estado sólido indica a presença majoritária do polimorfo I, porém com indícios dos dois conformeros deste polimorfo.	Não realizado.
Tamanho de partícula por difração de LASER		d ₁₀ = 10,34 d ₅₀ = 33,85 d ₉₀ = 76,52 d _{4,3} = 39,19	d ₁₀ = 2,09 d ₅₀ = 8,46 d ₉₀ = 20,89 d _{4,3} = 10,28	d ₁₀ = 1,28 d ₅₀ = 6,57 d ₉₀ = 20,61 d _{4,3} = 10,13
		Presença de uma população de partículas de tamanhos abaixo de 5 µm.	Presença de uma população de partículas de tamanhos abaixo de 1 µm.	
		Todas as amostras apresentaram curvas de distribuição bimodal. Ordem crescente dos tamanhos de partículas: NM3 < NM2 < NM1.		
MEV	Partículas alongadas. Presença de uma população de partículas de tamanhos abaixo de 5 µm.	Presença de aglomerados. Presença de uma população de partículas de tamanhos abaixo de 1 µm.		
	Resultados concordantes com aqueles obtidos na distribuição granulométrica por difração de LASER.			

QUADRO 1 – Compilação dos resultados das análises de caracterização das amostras NM1, NM2 e NM3 (conclusão).

Análises		Caracterização do IFA		
		NM1	NM2	NM3
Avaliação biofarmacêutica	Molhabilidade	Ângulos de contato próximos a 80°. Pobre molhabilidade, indicativo de baixa hidrossolubilidade.		
	Dissolução por dispersão	ED (%) = 70,54	ED (%) = 73,50	ED (%) = 82,68
		Os perfis de dissolução por dispersão foram avaliados através da ED, permitindo que as amostras sejam ordenadas, do seguinte modo: NM3 > NM2 > NM1.		
Dissolução intrínseca		TDI (mg.min ⁻¹ .cm ⁻²) 0,105	TDI (mg.min ⁻¹ .cm ⁻²) 0,170	TDI (mg.min ⁻¹ .cm ⁻²) 0,185
		TDI: NM3 > NM2 > NM1.		
Densidades aparente e compactada (g/mL)		Da = 0,45 Dc = 0,69	Da = 0,20 Dc = 0,28	Da = 0,19 Dc = 0,26
		NM1 > NM2 > NM3		
Avaliação da fluidez	IC e RH	IC = 34,78 RH = 1,53 Classificação: muito ruim	IC = 26,53 RH = 1,36 Classificação: ruim	IC = 27,69 RH = 1,38 Classificação: ruim
		18,8 segundos/100g	61,0 segundos/100g	189,6 segundos/100g
	Fluxo por orifícios	Todas as amostras apresentaram fluxo errático. Baixa reprodutibilidade, principalmente para as amostras micronizadas (NM2 e NM3).		

QUADRO 2 – Compilação dos resultados dos ensaios realizados com os lotes galênicos.

Ensaio	Avaliação dos lotes galênicos							
	L ₁	L ₂	L ₃	L ₄	L ₅	L ₆	L ₇	R
Peso médio (400 mg ± 5,0%)	402	395	402	406	402	388	408	403
Dureza (kgf)	7,5	5,3	4,8	7,1	5,5	5,2	4,2	4,9
Friabilidade (%)	0,34	0,41	0,47	0,37	0,39	0,41	0,40	0,27
Desintegração	6 min e 40 seg	3 min e 18 seg	3 min e 10 seg	4 min e 10 seg	9 min e 30 seg	> 30 min	1 min e 23 seg	1 min e 15 seg
Doseamento (%)	97,25	96,45	95,27	95,91	95,38	96,62	96,11	100,19
Dissolução* (t=15min)	77,88 %	92,75 %	89,47 %	84,65 %	-	-	83,78 %	98,84 %
ED (%)	76,61	84,95	84,02	80,92	-	-	79,67	90,83
Dissolução** (t=15min)	-	90,79 %	-	-	-	-	-	95,57 %
ED (%)	-	82,21	-	-	-	-	-	90,53
Dissolução*** (t=15min)	-	88,55 %	-	-	-	-	-	91,34 %
ED (%)	-	80,41	-	-	-	-	-	87,05

* parâmetros farmacopeicos (FB 5, 2010): pá, 75 rpm, meio de dissolução contendo tampão fosfato de potássio pH 7,4 + 2,0% de polissorbato 80.

** pá, 75 rpm, meio de dissolução contendo tampão fosfato de potássio pH 7,4 + 2,0% de polissorbato.

*** pá, 75 rpm, meio de dissolução contendo tampão fosfato de potássio pH 7,4 + 0,5% de polissorbato.

Com os testes realizados neste trabalho, foi possível definir algumas propriedades impactantes no produto final. Considerando que o desenvolvimento da formulação foi realizado com uma amostra contendo o polimorfo I e sabendo-se da existência de outras formas cristalinas, é interessante estabelecer um parâmetro de controle de qualidade capaz de garantir a aquisição e o uso de um insumo que atenda a este critério. Dentre as técnicas aplicadas, a calorimetria exploratória diferencial mostra-se como a mais conveniente, pois está disponível no LQFEx e, além disso, é uma análise de custo relativamente baixo. A espectroscopia no infravermelho, embora também disponível no LQFEx e ainda representar uma análise de identificação prevista na Farmacopeia Brasileira (FB 5, 2010), no caso da nimesulida, não atende à finalidade de discriminar seus polimorfos. Já a DRX trouxe informações importantes sobre a cristalinidade das amostras de nimesulida, porém, como rotina de controle de qualidade, apresentaria uma dificuldade muito maior, pois é menos disponível e com maior custo de terceirização.

Os ensaios de densidade e fluidez foram importantes para confirmar as pobres propriedades de fluxo da nimesulida. Com isso, o desenvolvimento da formulação dos comprimidos foi direcionado para a granulação úmida e, desse modo, esses ensaios perdem sua finalidade de especificação do fármaco.

A avaliação biofarmacêutica apresentou algumas limitações, especialmente com o ensaio de molhabilidade que, além de não ser uma técnica prontamente disponível, não foi capaz de discriminar as amostras. Já a dissolução por dispersão demonstrou que, quando se trata de amostras micronizadas de nimesulida, os resultados devem ser avaliados criteriosamente. Nesses casos, alguns fatores como a presença de carga eletrostática e a tendência à aglomeração podem impactar negativamente nos percentuais de fármaco dissolvido. Sendo assim, no momento, acredita-se que tais técnicas não devam ser utilizadas com o intuito de especificação.

A determinação do tamanho e distribuição de partículas por difração de LASER representa uma boa contribuição para a especificação, pois o tamanho de partícula parece desempenhar alguma influência na dissolução da forma farmacêutica final.

Diante do exposto, pode-se destacar as análises de distribuição de tamanho de partícula e DSC como critérios importantes de especificação, podendo ser definidos conforme demonstrado na TABELA 34.

TABELA 34 – Especificações do IFA nimesulida, com base nos critérios de DSC e distribuição do tamanho de partícula por difração de LASER.

Calorimetria exploratória diferencial (DSC)		
A amostra deverá apresentar curva de DSC típica do polimorfo I, com um único evento endotérmico, utilizando a razão de aquecimento de 10°C.min ⁻¹ . Os parâmetros de T _{onset} , T _{pico} e ΔH, deverão apresentar os resultados dentro da faixa especificada abaixo.		
T _{onset} (°C)	T _{pico} (°C)	ΔH (J.g ⁻¹)
147 a 149	149 a 151	109 a 112
Distribuição do tamanho de partícula por difração de LASER		
d ₁₀	d ₅₀	d ₉₀
menor que 2 μm	menor que 7 μm	menor que 21 μm

Cabe ressaltar que, após a produção dos biolotes e avaliação dos resultados de equivalência farmacêutica e bioequivalência, essas especificações deverão ser revisadas.

6 CONCLUSÕES

O presente trabalho identificou que a proposta de formulação do lote L₂ mostrou-se adequada para a continuidade do projeto de registro de medicamento similar, viabilizando a fabricação dos biolotes para a realização dos estudos de estabilidade, equivalência farmacêutica e bioequivalência. Além disso, com base em todos os resultados obtidos com as técnicas aplicadas para a caracterização do fármaco nimesulida, foi possível identificar e comprovar propriedades importantes que impactam no desenvolvimento de uma formulação de forma farmacêutica sólida.

Em relação à estrutura cristalina, todas amostras testadas (NM1, NM2 e NM3) apresentaram resultados que apontam para a presença do polimorfo I. Isso pode ser constatado através da calorimetria exploratória diferencial, difração de raios X e ressonância magnética nuclear no estado sólido (esta última realizada apenas com a amostra NM2).

A caracterização do tamanho de partícula demonstrou boa correlação com os resultados de densidade e fluxo por orifícios, nos quais as amostras micronizadas apresentaram pior fluxo quando comparadas com a amostra não micronizada. A microscopia eletrônica de varredura confirmou os resultados obtidos na determinação do tamanho e distribuição de tamanho de partículas, realizados por difração de LASER.

A avaliação biofarmacêutica foi realizada pelos ensaios de molhabilidade e dissolução por dispersão. Embora os resultados do ensaio de molhabilidade tenham sido muito próximos, a dissolução por dispersão identificou diferenças entre as amostras, demonstrando que a dissolução do fármaco foi superior para a amostra NM3 (micronizada). Os resultados da análise de dissolução intrínseca foram utilizados como uma caracterização físico-química das amostras em estudo e não como parte da avaliação biofarmacêutica, tendo em vista a necessidade da utilização de solvente orgânico no meio de dissolução. As amostras micronizadas apresentaram TDI superior a amostra não micronizada (NM1) e, nesse caso, propriedades de superfície como rugosidade e fatores microestruturais podem estar envolvidos, levando a diferentes valores de TDI.

Os ensaios de avaliação de fluidez apresentaram uma certa discordância entre os resultados, devidamente justificada em função das determinações de RH e

IC não serem tão discriminatórias, o que pode gerar resultados irreais de fluidez para pós que são notadamente de fluxo pobre. O fluxo por orifícios, embora também possua algumas limitações, foi o que melhor forneceu resultados capazes de mensurar a característica de baixa fluidez do fármaco nimesulida. Contudo, nenhum dos ensaios aplicados no presente trabalho, é capaz de fornecer dados consistentes que justifiquem sua inclusão como um teste de rotina no controle de qualidade. Por outro lado, a realização desses testes foi útil para nortear a escolha do processo de produção para a obtenção dos comprimidos de nimesulida.

O processo escolhido para a fabricação de comprimidos de nimesulida foi a granulação úmida. Dentre as combinações de formulações testadas, observou-se que a escolha correta do tensoativo, desintegrante e aglutinante, assim como o modo como estes são adicionados à formulação, impacta diretamente nos testes mecânicos e ainda nos ensaios de perfil de dissolução. Em relação às especificações farmacopeicas, com exceção do lote L₆ que apresentou resultado reprovado no ensaio de desintegração, todos os outros atenderam aos requisitos preconizados pela Farmacopeia Brasileira relativos aos testes de peso médio, dureza, friabilidade, desintegração e doseamento. Os lotes selecionados para o ensaio de perfil de dissolução também apresentaram resultados satisfatórios no que tange à especificação farmacopeica para um ensaio de dissolução de rotina (FB 5, 2010). Entretanto, o comportamento de cedência do IFA, verificado através das amostragens realizadas nos tempos predeterminados, demonstrou variações no estudo comparativo do perfil de dissolução com o medicamento de referência.

A análise dos perfis de dissolução, utilizando as condições farmacopeicas, permitiu discriminar as formulações propostas e ainda selecionar a formulação utilizada no lote L₂ para um estudo de perfil de dissolução complementar. Para isso, foram utilizados diferentes concentrações de tensoativo no meio de dissolução. Os resultados demonstraram uma redução nos valores de cedência do fármaco à medida em que a concentração de tensoativo foi sendo reduzida, em ambos os medicamentos (teste e referência). Contudo, o enquadramento dessas formulações na classificação de dissolução muito rápida foi mantida.

7 PERSPECTIVAS

Embora o presente trabalho tenha explorado inúmeros ensaios de caracterização do IFA, diferentes propostas de formulação e seus respectivos testes, ainda restam alguns pontos a serem aprofundados.

Em relação à análise de RMN no estado sólido, a continuidade dos ensaios com as amostras NM1 e NM3 se faz mandatória, tanto para aprofundar o conhecimento acerca do polimorfismo conformacional que permeia esse fármaco, como para tornar consistentes os resultados que serão utilizados na publicação do artigo.

Os resultados da dissolução intrínseca e a possível influência das propriedades de superfície das amostras de nimesulida demandam outros ensaios. Além disso, os parâmetros de análise ainda podem ser aprimorados, principalmente no que diz respeito à velocidade de rotação (300 rpm). Fatalmente, a redução da velocidade de rotação implicará na necessidade de ajustar o meio de dissolução como, por exemplo, aumentando a proporção de solvente orgânico.

Com o objetivo de reduzir ainda mais a probabilidade de insucesso do estudo de bioequivalência, que tem um caráter de baixa previsibilidade, inerente a um ensaio *in vivo*, a formulação do lote L₂ e o medicamento de referência deverão ser submetidos aos ensaios de perfil de dissolução comparativo utilizando diferentes meios fisiológicos.

REFERÊNCIAS

ABDELKADER, H.; ABDALLAH, O. Y.; SALEM, H. S. S. Comparison of the effect of tromethamine and polyvinylpyrrolidone on dissolution properties and analgesic effect of nimesulide. **American Association of Pharmaceutical Scientists**, v. 8, n. 3, p. E1-E8, 2007.

ABDULLAH, E. C.; GELDART, D. The use of bulk density measurements as flowability indicators. **Powder Technology**, v. 102, n. 2, p. 151-165, 1999.

ADI, H.; LARSON, I.; STEWART, P. Laser diffraction particle sizing of cohesive lactose powders. **Powder Technology**, v. 179, p. 90–94, 2007.

AGRAWAL, S.; ASHOKRAJ, Y.; BHARATAM, P. V.; PILLAI, O.; PANCHAGNULA, R. Solid-state characterization of rifampicin samples and its biopharmaceutic relevance. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 22, p. 127–144, 2004.

AGUIAR, M. R. M. P.; GEMAL, A. L.; SAN GIL, R. A. S. Caracterização de polimorfismo em fármacos por ressonância magnética nuclear no estado sólido. **Química Nova**, v. 22, n. 4, p. 553-564, 1999.

AHMED, A. U. An overview of inflammation: mechanism and consequences. **Frontiers of Biology**, v. 6, n. 4, p. 274–281, 2011.

AMIDON, G. L.; LENNERNÅS, H.; SHAH, P. V.; CRISON, J.R. A theoretical basis for a biopharmaceutic drug classification: the correlation of *in vitro* drug product dissolution and *in vivo* bioavailability. **Pharmaceutical Research**, v. 12, n. 3, p. 413-420, 1995.

BALASUWATTHI, P.; DECHABUMPHEN, N.; SAIWAN, C.; SCAMEHORN, J. F. Contact angle of surfactant solutions on precipitated surfactant surfaces. II. Effects of surfactant structure, presence of a subsaturated surfactant, pH, and counterion/surfactant ratio. **Journal of Surfactants and Detergents**, v. 7, n. 1, p. 31-40, 2004.

BAUER, J. Polymorphism – a critical consideration in pharmaceutical development, manufacturing, and stability. **Journal of Validation Technology**, p. 15-23, 2008.

BHASIN, R. K.; GHOSH, P. K. Design and development of ondansetron orally disintegrating tablets and its optimization using design of experiment. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v. 3, n. 3, p. 840-847, 2012.

BERGESE, P.; BONTEMPI, E.; COLOMBO, I.; GERVASONI, D.; DEPERO, L.E. Microstructural investigation of nimesulide–crospovidone composites by X-ray diffraction and thermal analysis. **Composites Science and Technology**, v. 63, p. 1197-1201, 2003.

BERNAREGGI, A. Clinical pharmacokinetics and metabolism of nimesulide. **Infammopharmacology**, v. 9, n. 1,2, p. 81–89, 2001.

BERNAREGGI, A. The pharmacokinetics profile of nimesulide in healthy volunteers. **Drugs**, v. 46, n. 1, p. 64-72, 1993.

BEYER, P.; REINHOLZ, E. **Carvedilol can be isolated in two polymorphic forms that are monotropic depending upon the method of preparation which are distinguishable by their infra-red raman and X-ray powder diffraction spectra, and their melting points**, US 6,730,326, 4 may, 2004, 10p.

BIANCHI, M. Nimesulide for painful osteoarthritis. **Future Rheumatology**, v. 1, n. 5, p. 533, 2006.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC 31, de 11 de agosto de 2010. Dispõe sobre a realização dos Estudos de Equivalência Farmacêutica e de Perfil de Dissolução Comparativo. Diário Oficial da União, Brasília, 12 de agosto de 2010.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RE 482, de 19 de março de 2002. Determina a publicação do “Guia para Estudos de Correlação In vitro-In vivo (CIV-IV)”. Diário Oficial da União, Brasília, 20 de março de 2002.

BUGAY, D. E. Characterization of the solid-state: spectroscopic techniques. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 48, p. 43–65, 2001.

BYRN, S. R.; PFEIFFER, J. R. R.; STEPHENSON, G.; GRANT, D. J. W.; GLEASON, W. B. Solid-state pharmaceutical chemistry. **Chemistry of Materials**, v. 6, p. 1148-1158, 1994.

CASTELLI, F.; SARPIETRO, M. G.; MESSINA, C.; DE LAZZARI, A.; DI ROSA, D.; GIANNETTO, A. Differential scanning calorimetry differences in micronized and unmiconized nimesulide uptake processes in biomembrane models. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 19, p. 237–243, 2003.

CCDC. CAMBRIDGE STRUCTURAL DATABASE. Disponível em: <<http://www.ccdc.cam.ac.uk/products/csd/>>. Acesso em: janeiro de 2015.

CARINI, M.; ALDINI, G.; STEFANI, R.; MARINELLO, C.; FACINO, R. M. Mass spectrometric characterization and HPLC determination of the main urinary metabolites of nimesulide in man. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 18, p. 201–211, 1998.

CARVAJAL, M. T.; STANIFORTH, J. N. Interactions of water with the surfaces of crystalpolymorphs. **International Journal of Pharmaceutics**, 307, 216–224, 2006.

CHIOU, A. H. J.; YEH, M. K.; CHEN, C. Y.; WANG, D. P. Micronization of meloxicam using a supercritical fluids process. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 42, p. 120–128, 2007.

CRYER, B.; FELDMAN, M. Cyclooxygenase-1 and cyclooxygenase-2 selectivity of widely used nonsteroidal anti-inflammatory drugs. **The American Journal of Medicine**, v. 104, p. 413-421, 1998.

CURY, B. S. F.; BUENO, J. H. F.; SILVA JUNIOR, N. P.; CASTRO, A. D.;

GREMIAO, M. P. D. Influência das propriedades de granulados de lactose nas características físicas dos comprimidos. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 28, n. 1, p. 85-92, 2007.

CZERNICKI, W.; BARANSKA, M. Carbamazepine polymorphs: Theoretical and experimental vibrational spectroscopy studies. **Vibrational Spectroscopy**, v. 65, p. 12–23, 2013.

DABROWSKA, M.; ATAREK, M.; SKUCINSK, J. Lipophilicity study of some non-steroidal anti-inflammatory agents and cephalosporin antibiotics: A review. **Talanta**, v. 36, p. 35-51, 2011.

DANNHARDT, G.; KIEFER, W. Cyclooxygenase inhibitors – current status and future prospects. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 36, p. 109–126, 2001.

DANTU, A. S.; DURAI, R.; HARI, B. N. V. Effect of impact and attrition milling on nimesulide for solubility enhancement. **International Journal of Applied Pharmaceutics**, v. 5, n. 2, p. 1-7, 2013.

DATTA, S.; GRANT, D. J. W. Crystal structures of drugs: advances in determination, prediction and engineering. **Nature**, v. 3, p.42-57, 2004.

DE ANGELIS, P.; OLIVIERI, A. **Method of increasing the bioavailability of nimesulide**, EP 1 258 241 A1, 20 november, 2002, 18 p.

DEBNATH, S.; SURYANARAYANAN, R. Influence of processing-induced phase transformations on the dissolution of theophylline tablets. **American Association of Pharmaceutical Scientists**, v. 5, n. 1, 2004.

DEDAVID, B. A.; GOMES C. I.; MACHADO G. Microscopia eletrônica de varredura: aplicações e preparação de amostras. Porto Alegre: EDIPUCRS, 2007, 9-10p.

DI MARTINO, P.; CENSI, P.; BARTHELEMY, C.; GOBETTO, R.; JOIRIS, E.; MASIC, A.; ODOU, P.; MARTELLI, S. Characterization and compaction behaviour of nimesulide crystal forms. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 342, p. 137–144, 2007.

DOKOUMETZIDIS, A.; MACHERAS, P. A century of dissolution research: from Noyes and Whitney to the Biopharmaceutics Classification System. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 321, p. 1–11, 2006.

DOMAŃSKA, U.; POBUDKOWSKA, A.; PELCZARSKA, A.; WINIARSKA-TUSZNIO, M.; GIERYCZ, P. Solubility and pKa of select pharmaceuticals in water, ethanol, and 1-octanol. **The Journal of Chemical Thermodynamics**, v. 42, p. 1465–1472, 2010.

DOMINGO, C; SAURINA, J. An overview of the analytical characterization of nanostructured drug delivery systems: towards green and sustainable pharmaceuticals: a review. **Analytica Chimica Acta**, v. 744, p. 8-22, 2012.

DONG, Y; BOYD, B. J. Applications of X-ray scattering in pharmaceutical science. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 417, p. 101-111, 2011.

DRESSMAN, J. B.; AMIDON, G. L.; REPPAS, C.; SHAH, V. P. Dissolution testing as a prognostic tool for oral drug absorption: immediate release dosage forms. **Pharmaceutical Research**, v. 15, n. 1, 1998.

FAGERBERG, J. H.; AL-TIKRITI, Y.; RAGNARSSON, G.; BERGSTRÖM, C. A. S. Ethanol Effects on Apparent Solubility of Poorly Soluble Drugs in Simulated Intestinal Fluid. **Molecular Pharmaceutics**, v. 9, n. 7, p. 1942–1952, 2012.

FANDARUFF, C.; SILVA, M. A. S.; BEDOR, D. C. G.; SANTANA, D. P.; ROCHA, H. V. A.; REBUFFI, L.; RICARDO, C. L. A.; SCARDI, P.; CUFFINI, S. L. Correlation between microstructure and bioequivalence in Anti-HIV Drug Efavirenz. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 91, p. 52-58, 2015.

FARMACOPEIA BRASILEIRA. 5 ed. Brasília: ANVISA, 2010. Vol. 1, 1157-1159p.

FDA. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. Guidance for Industry: Bioavailability and Bioequivalence Studies for Orally Administered Drugs Products – General Considerations. Rockville: FDA, 2003. 3p. Disponível em: <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/.../Guidances/ucm070124.pdf>. Acesso em: 07 de mar. de 2014.

FLORES, Roxana Lili Roque. **Caracterização físico-química e desenvolvimento de metodologia para avaliação da dissolução intrínseca de albendazol e mebendazol**. 2011. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, 2011.

FONSECA, L. B.; LABASTIE, M.; SOUSA, V. P.; VOLPATO, N. M. Development and validation of a discriminative dissolution test for nimesulide suspensions. **American Association of Pharmaceutical Scientists**, v. 10, n. 4, p. 1145-1152, 2009.

FORSYTH, A. J.; HUTTON, S.; RHODES, M.J. Effect of cohesive interparticle force on the flow characteristics of granular material. **Powder Technology**, v. 126, p. 150–154, 2002.

FONT-BARDIA, M.; ALCOBÉ, M. **Handbook of instrumental techniques from CCiTUB**. 2. ed. Barcelona: Centres Científics i Tecnològics. Universitat de Barcelona, 2012, 14p.

GÁLICO, D. A.; PERPÉTUO, G. L.; CASTRO, R. A. E.; TREU-FILHO, O.; LEGENDRE, A. O.; GALHIANE, M. S.; BANNACH, G. Thermoanalytical study of nimesulide and their recrystallization products obtained from solutions of several alcohols. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 115, p. 2385-2390, 2014.

GOHEL M. C.; e PATEL L. D. Processing of nimesulide-peg 400-pg-pvp solid dispersions: preparation, characterization, and *in vitro* dissolution. **Drug Development And Industrial Pharmacy**, v. 29, n. 3, p. 299–310, 2003.

GOUVEIA, Marize Aparecida. **Obtenção e caracterização de dispersões sólidas de nimesulida**. 2011. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, 2011.

GRACE, X. F.; LATHA, S.; SHANTHI, S.; REDDY, C. U. Comparative study of different surfactants for solubility enhancement of two class ii drugs for type ii diabetes mellitus. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 4, n. 2, 2012.

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, 2003.

GUO, A.; BEDDOW, J. K.; VETTER, A. F. A simple relationship between particle shape effects and density, flow rate and hausner ratio. **Powder Technology**, v. 43, p. 279-284, 1985.

HAMAD, M. L.; BOWMAN, K.; SMITH, N.; SHENG, X.; MORRIS, K.R. Multi-scale pharmaceutical process understanding: from particle to powder to dosage form. **Chemical Engineering Science**, v. 65, p. 5625-5638, 2010.

HAN, X.; GHOROI, C.; TO, D.; CHEN, Y.; DAVÉ, R. Simultaneous micronization and surface modification for improvement of flow and dissolution of drug particles. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 415, n. 1-2, p. 185-195, 2011.

HÉDOUX, A., GUINET, Y.; DESCAMPS, M. The contribution of Raman spectroscopy to the analysis of phase transformations in pharmaceutical compounds. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 417, p. 17-31, 2011.

HENG, J. Y. Y.; BISMARCK, A.; LEE, A. F.; WILSON, K.; WILLIAMS, D. R. Anisotropic surface energetics and wettability of macroscopic form I paracetamol crystals. **Langmuir**, v. 22, p. 2760-2769, 2006.

HETAL, T.; Bindesh, P.; SNEHA, T. A review on techniques for oral bioavailability enhancement of drugs. **International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research**, v. 4, n. 3, 2010.

HONÓRIO, T. S.; PINTO, E. C.; ROCHA, H. V. A.; ESTEVES, V. S. D.; SANTOS, T. S.; CASTRO, H. C. R.; RODRIGUES, C. R.; DE SOUSA, V. P.; CABRAL, L. M. *In vitro-in vivo* correlation of efavirenz tablets using GastroPlus[®]. **AAPS PharmSciTech**, v. 14, n. 3, 2013.

HUANG, C.; KU, M. S. Prediction of drug particle size and content uniformity in low-dose solid dosage forms. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 383, p. 70-80, 2010.

HULSE, W. L.; GRAY, J; FORBES, R. T. A discriminatory intrinsic dissolution study using UV area imaging analysis to gain additional insights into the dissolution behaviour of active pharmaceutical ingredients. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 434, p. 133-139, 2012.

JONES, V. Challenges of particle characterisation. **Pharmaceutical Technology Europe**, v. 4, n. 23, 2011.

JOSHI, J. T. A review on micronization techniques. **Journal of Pharmaceutical Science and Technology**, v. 3, n. 7, p. 651-681, 2011.

JUDGE, K.; BROWN, C. W.; HAMEL, L. Sensitivity of infrared spectra to chemical functional groups. **Analytical Chemistry**, v. 80, n. 11, 2008.

KACHRIMANIS, K.; PETRIDES, M.; MALAMATARIS, S. Flow rate of some pharmaceutical diluents through die-orifices relevant to mini-tableting. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 303, n. 1–2, p. 72–80, 2005.

KAISER, C. R. RMN 2D: detecção inversa e gradiente de campo na determinação estrutural de compostos orgânicos. **Química Nova**, v. 23, n. 2, 2000.

KARDE, V.; GHOROI, C. Influence of surface modification on wettability and surface energy characteristics of pharmaceutical excipient powders. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 475, p. 351–363, 2014.

KIM, J. S.; KIM, M. S.; PARK, H. J.; JIN, S. J.; LEE, S.; HWANG, S. J. Physicochemical properties and oral bioavailability of amorphous atorvastatin hemicalcium using spray-drying and SAS process. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 359, p. 211–219, 2008.

KOBAYASHI, Y.; ITO, S.; ITAI, S.; YAMAMOTO, K. Physicochemical properties and bioavailability of carbamazepine polymorphs and dehydrate. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 193, p. 137–146, 2000.

KUCHENBECKER, P.; GEMEINERT, M.; RABE, T. Inter-laboratory study of particle size distribution measurements by LASER diffraction. **Particle & Particle Systems Characterization**, v. 29, p. 304–310, 2012.

LACHMAN, L.; LIEBERMAN, H. A.; KANIG, J. L. **Teoria e prática na indústria farmacêutica**. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2001.

KUMAR, S.; CHAWLA, G.; SOBHIA, M. E.; BANSAL, A. K. Characterization of solid-state forms of mebendazole. **Pharmazie**, v. 63 p. 136–143, 2008.

LEE, A. Y.; ERDEMIR, D.; MYERSON, A. S. Crystal polymorphism in chemical process development. **Annual Review of Chemical and Biomolecular Engineering**, v. 2, p. 259–280, 2011.

LETURIA, M.; BENALI, M.; LAGARDE, S.; RONGA, I.; SALEH, K. Characterization of flow properties of cohesive powders: A comparative study of traditional and new testing methods. **Powder Technology**, v. 253, p. 406–423, 2014.

LIMA, A. C.; MICHELIN, D. C.; SANTOS, M. R. C.; PAGANELLI, M. O.; IGNÁCIO, R. F.; CHAUD, R. Força de compressão e umidade no perfil de dissolução da hidroclorotiazida. *Acta Farmaceutica Bonaerense*, v. 25, n. 1, p. 104–107, 2006.

LIMBERGER, Ana Luiza Marin Bortoluzzi. **Estudo do polimorfismo em diferentes fármacos de interesse para a indústria farmacêutica: cimetidina, mebendazol e paracetamol**. 2011. Dissertação (Mestrado em Farmacologia). Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Santa Catarina, 2011.

LIPKA, E., AMIDON, G. L. Setting bioequivalence requirements for drug development based on preclinical data: optimizing oral drug delivery systems.

Journal of Controlled Release, v. 62, p. 41–49, 1999.

LU, Y.; KIM, S.; PARK, K. *In vitro–in vivo* correlation: perspectives on model development. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 418, p. 142-148, 2011.

MALESUIK, M. D.; CARDOSO, S. G.; LANZANOVA, F. A.; BAJERSKI, L.; DORIGONI, E. Desenvolvimento de teste de dissolução e estudo comparativo de comprimidos e cápsulas magistrais contendo anlodipino **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 27, n.1, p.37-49, 2006.

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

MEDZHITOV, R. Origin and physiological roles of inflammation. **Nature**, v. 454, p. 428-435, 2008.

MODI, S. R.; DANTULURI, A. K. R.; PERUMALLA, S. R.; SUN, C. C.; BANSAL, A. K. Effect of crystal habit on intrinsic dissolution behavior of celecoxib due to differential wettability. **Crystal Growth & Design**, v. 14, p. 5283-5292, 2014.

MONEGHINI, M.; KIKIC, I.; PERISSUTTI, B.; FRANCESCHINIS, E.; CORTESI, A. Characterisation of nimesulide–betacyclodextrins systems prepared by supercritical fluid impregnation. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 58, p. 637–644, 2004.

MONTEIRO, E. C. A.; TRINDADE, J. M. F.; DUARTE, A. L. B. P., CHEHADE, W. H. Os antiinflamatórios não esteroidais (AINEs). **Temas de Reumatologia**, v. 09, n. 2, p. 53-63, 2008.

MOORE, F.; OKELO, G.; COLÓN, I.; KUSHNER J. Improving the hardness of dry granulated tablets containing sodium lauryl sulfate. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 400, p. 37–41, 2010.

MUNIZ, G. S. O.; OLIVEIRA JÚNIOR, A. Z.; GARCIA, M. T. J. Cápsulas gelatinosas duras de nimesulida: a influência do amido glicolato de sódio, e sua concentração, na dissolução do fármaco. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 33, n. 3, p. 361-371, 2012.

NALLURI, B. N.; CHOWDARY, K. P. R.; MURTHY, K. V. R.; HAYMAN, A. R.; BECKET, G. Physicochemical characterization and dissolution properties of nimesulide-cyclodextrin binary systems. **American Association of Pharmaceutical Scientists**, v. 4, n. 1, p. 1-12, 2003.

NG, W. K.; KWEK, J. W.; YUEN, A.; TAN, C. L.; TAN, R. Effect of milling on DSC thermogram of excipient adipic acid. **American Association of Pharmaceutical Scientists**, v. 11, n. 1, 2010.

NGUYEN, T. H.; MORTON, D. A. V.; HAPGOOD K. P. Application of the unified compaction curve to link wet granulation and tablet compaction behavior. **Powder Technology**, v. 240, p. 103–115, 2013.

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

OMELCZUK, M. O.; WANG, C.; POPE, D. G. Influence of micronization on the compaction properties of an investigational drug using tableting index analysis. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 43, p. 95-100, 1997.

OTSUKA, T.; IWAO, Y.; MIYAGISHIMA, A.; ITAI, S. Application of principal component analysis enables to effectively find important physical variables for optimization of fluid bed granulator conditions. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 409, n. 1-2, p. 81-88, 2011.

PAIVA, R. E. F.; ABBEHAUSEN, C.; GOMES, A. F.; GOZZO, F. C.; LUSTRI, W. R.; FORMIGA, A. L. B.; CORBI, P. P. Synthesis, spectroscopic characterization, DFT studies and antibacterial assays of a novel silver(I) complex with the anti-inflammatory nimesulide. **Polyhedron**, v. 36, p. 112–119, 2012.

PAIVA, R. E. F.; ABBEHAUSEN, C.; BERGAMINI, F. R. G.; THOMPSON, A. L.; ALVES, D. A.; LANCELLOTTI, M.; CORBI, P. P. Investigating the inclusion of the Ag(I)-nimesulide complex into β -cyclodextrin: studies in solution and in the solid state. **Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry**, 2013.

PARK, S. H.; CHOI, H. K. The effects of surfactants on the dissolution profiles of poorly water-soluble acidic drugs. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 32, n. 1, p. 35–41, 2006.

PAULINO, A. S.; RAUBER, G.; CAMPOS, C. E. M.; MAURÍCIO, M. H. P.; DE AVILLEZ, R. R.; CAPOBIANCO, G.; CARDOSO, S. G.; CUFFINI, S. L. Dissolution enhancement of deflazacort using hollow crystals prepared by antisolvent crystallization process. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 49, p. 294–301, 2013.

PRADO, L. D.; ROCHA, H. V. A.; RESENDE, J. A. L. C.; FERREIRA, G. B.; TEIXEIRA, A. M. R. F. An insight into carvedilol solid forms: effect of the supramolecular interactions on the dissolution profiles. **CrystEngComm**, v. 16, p. 3168-3179, 2014.

PUDIPEDDI, M.; SERAJUDDIN, A. T. M. Trends in solubility of polymorphs. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 94, n. 5, p. 929-939, 2005.

PURCARU, S. O.; IONESCU, M.; RANETI, C.; ANUTA, V.; MIRCIOIU, I.; BELU, I. Study of nimesulide release from solid pharmaceutical formulations in tween 80 solutions. **Current Health Sciences Journal**, v. 36, n. 1, p. 42–49, 2010.

PURI, V.; DANTULURI, A. K.; KUMAR, M.; KARAR, N.; BANSAL, A. K. Wettability and surface chemistry of crystalline and amorphous forms of a poorly water soluble drug. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 40, p. 84–93, 2010.

QUAN, P.; XIA, D.; PIAO, H.; PIAO, H.; SHI, K.; JIA, Y.; CUI, F. Nitrendipine nanocrystals: its preparation, characterization, and *in vitro*–*in vivo* evaluation.

American Association of Pharmaceutical Scientists, v. 12, n. 4, 2011.

RAINSFORD, K. D. Current status of the therapeutic uses and actions of the preferential cyclo-oxygenase-2 NSAID, nimesulide. **Inflammopharmacology**, v. 14, p. 120–137, 2006.

RIEKES, M. K.; KUMINEK, G.; RAUBER, G. S.; CUFFINI, S. L.; STULZER, H. K. Development and validation of an intrinsic dissolution method for nimodipine polymorphs. **Central European Journal of Chemistry**, v. 12, n. 5, p. 549-556, 2014.

ROWE, R. C.; SHESKEY, P. J.; OWEN, S. C. **Handbook of pharmaceutical excipients**. 6. ed. London: Royal Pharmaceutical Society of Great Britain, 2009.

ROZET, E. ZIEMONS E.; MARINI, R. D.; BOULANGER, B.; HUBERT, P. Validation of analytical methods involved in dissolution assays: Acceptance limits and decision methodologies. **Analytica Chimica Acta**, v. 751, p. 44–51, 2012.

SANPHUI, P.; SARMA, B.; NANGIA, A. Phase transformation in conformational polymorphs of nimesulide. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 100, n. 6, p. 2287-2299, 2011.

SANTL, M.; ILIC, I.; VRECER, F.; BAUMGARTNER, S. A compressibility and compactibility study of real tableting mixtures: the impact of wet and dry granulation versus a direct tableting mixture. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 414, p. 131-139, 2011.

SANTOMASO, A.; LAZZARO, P.; CANU, P. Powder flowability and density ratios: the impact of granules packing. **Chemical Engineering Science**, v. 58, p. 2857–2874, 2003.

SEEDHER, N.; BHATIA, S. Solubility enhancement of cox-2 inhibitors using various solvent systems. **American Association of Pharmaceutical Scientists**, v. 4, n. 3, p. 36–44, 2003.

SEHIC, S.; BETZ, G.; HADZIDEDIC, S.; EL-ARINI, S. K.; LEUENBERGER, H. Investigation of intrinsic dissolution behavior of different carbamazepine samples. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 386, p. 77–90, 2010.

SERRA, C. H. R.; STORPIRTIS, S. Comparação de perfis de dissolução da cefalexina através de estudos de cinética e eficiência de dissolução (ED%). **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 43, n. 1, p. 79-88, 2007.

SHAH, R. B.; TAWAKKUL, M. A.; KHAN, M. A. Comparative evaluation of flow for pharmaceutical powders and granules. **American Association of Pharmaceutical Scientists**, v. 9, n. 1, p. 250-258, 2008.

SHETE, G.; PURI, V.; KUMAR, L.; BANSAL, A. K. Solid state characterization of commercial crystalline and amorphous atorvastatin calcium samples. **American Association of Pharmaceutical Scientists**, v. 11, n. 2, 2010.

SHUR, J.; PRICE, R. Advanced microscopy techniques to assess solid-state properties of inhalation medicines. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 64, p. 369-

382, 2012.

SILVA, N. A.; MARCZYK, L. R. S. Eficácia e tolerabilidade da nimesulida versus celecoxib na osteoartrite. **Acta Ortopédica Brasileira**, v. 9, n. 1, p. 42-54, 2001.

SILVA, R. L.; VOLPATO, N. M. Meios para dissolução de comprimidos de nimesulida: ação dos tensoativos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 38, n. 2, p. 163-172, 2002.

SINGLA, A. K.; CHAWLA, M.; SINGH, A. Nimesulide: some pharmaceutical and pharmacological aspects-an update. **Journal of Pharmaceutical Pharmacology**, v. 52, p. 467-486, 2000.

SOARES, A. C.; OLIVEIRA, R. M.; BRISOLARI A.; SALES, A.; GONÇALVES, D. Molhabilidade em amostras de *Araucaria angustifolia* e *Pinus elliottii* após tratamento térmico e envelhecimento. **Scientia Forestalis**, v. 39, n. 92, p. 447-456, 2011.

SOPPELA, I.; AIRAKSINEN, S.; MURTOMAA, M.; TENHO, M.; HATARA, J.; RÄIKKÖNEN, H.; YLIRUUSI, J.; SANDLER, N. Investigation of the powder flow behaviour of binary mixtures of microcrystalline celluloses and paracetamol. **Journal of Excipients and Food Chemicals**, v. 1, n. 1, p. 55-67, 2010.

SOUZA J.; FREITAS Z. M. F.; STORPIRTS S. Modelos *in vitro* para determinação da absorção de fármacos e previsão da relação dissolução/absorção. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 43, n. 4, p. 515-527, 2007.

STANIFORTH, J. **Delineamento de Formas Farmacêuticas**. 2. ed. Brasil: Artmed, 2005, 208-221p.

STEELE, G.; AUSTIN, T. **Pharmaceutical Preformulation and Formulation**. 2. ed. v. 199. New York: Informa Healthcare USA, Inc., 2009, 89-90p.

STEELE, G. **Pharmaceutical Preformulation and Formulation**. 2. ed. v. 199. New York: Informa Healthcare USA, Inc., 2009, 198-201p.

SUN, C. C. Setting the bar for powder flow properties in successful high speed tableting. **Powder Technology**, v. 201, p. 106–108, 2010.

TRAVERSA, G.; BIANCHI, C.; DA CAS, R.; ABRAHA, I.; MENNITI-IPPOLITO, F.; VENEGONI M. Cohort study of hepatotoxicity associated with nimesulide and other non-steroidal anti-inflammatory drugs. **British Medical Journal**, v. 327, p. 18-22, 2003.

UNITED STATES PHARMACOPEIA, the national formulary – USP 36/NF 31. Rockville: United States Pharmacopeial Convention, 2013.

VARSHOSAZ, J.; KHAJAVINIA, A.; GHASEMLU, M.; ATAEI, E.; GOLSHIRI, K.; KHAYAM, I. Enhancement in dissolution rate of piroxicam by two micronization techniques. **Dissolution Technologies**, p. 15-23, 2013.

VARSHOSAZ, J.; TALARI, R.; MOSTAFAVI, S.A.; NOKHODCHI, A. Dissolution enhancement of glizolazide using in situ micronization by solvent change method.

Powder Technology, v. 187, p. 222–230, 2008.

VIDAL, N. L. G.; CASTRO, S. G.; BRUNI, S. F. S.; ALLEMANDI, D. A.; PALMA, S. D. Albendazole Solid Dispersions: Influence of Dissolution Medium Composition on In Vitro Drug Release. **Dissolution Technologies**, p. 42-47, 2014.

WANG, H.; LI, Q.; REYES, S.; ZHANG, J.; XIE, L.; MELENDEZ, V.; HICKMAN, M.; KOZAR, M. P. Formulation and particle size reduction improve bioavailability of poorly water-soluble compounds with antimalarial activity. **Malaria Research and Treatment**, v. 2013, p. 01-10, 2013.

WONG, A.C.-Y. Use of angle of repose and bulk densities for powder characterization and the prediction of minimum fluidization and minimum bubbling velocities. **Chemical Engineering Science**, v. 57, n. 14, p. 2635-2640, 2002.

WU, C.; ARMSTRONG, B.; VLACHOS, N. Characterization of powder flowability for die filling. **Particulate Science and Technology**, v. 30, p. 378-389, 2012.

YU, L. X.; CARLIN, A. S.; AMIDON, G. L.; HUSSAIN, A. S. Feasibility studies of utilizing disk intrinsic dissolution rate to classify drugs. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 270, p. 221–227, 2004.

ZHANG, G. G. Z.; LAW, D.; SCHIMTT, E. A.; QIU, Y. Phase transformation considerations during process development and manufacture of solid oral dosage forms. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 56, n. 3, p. 371-390, 2004.

APÊNDICES

Apêndice A – Espectros de infravermelho das amostras NM1, NM2 e NM3.

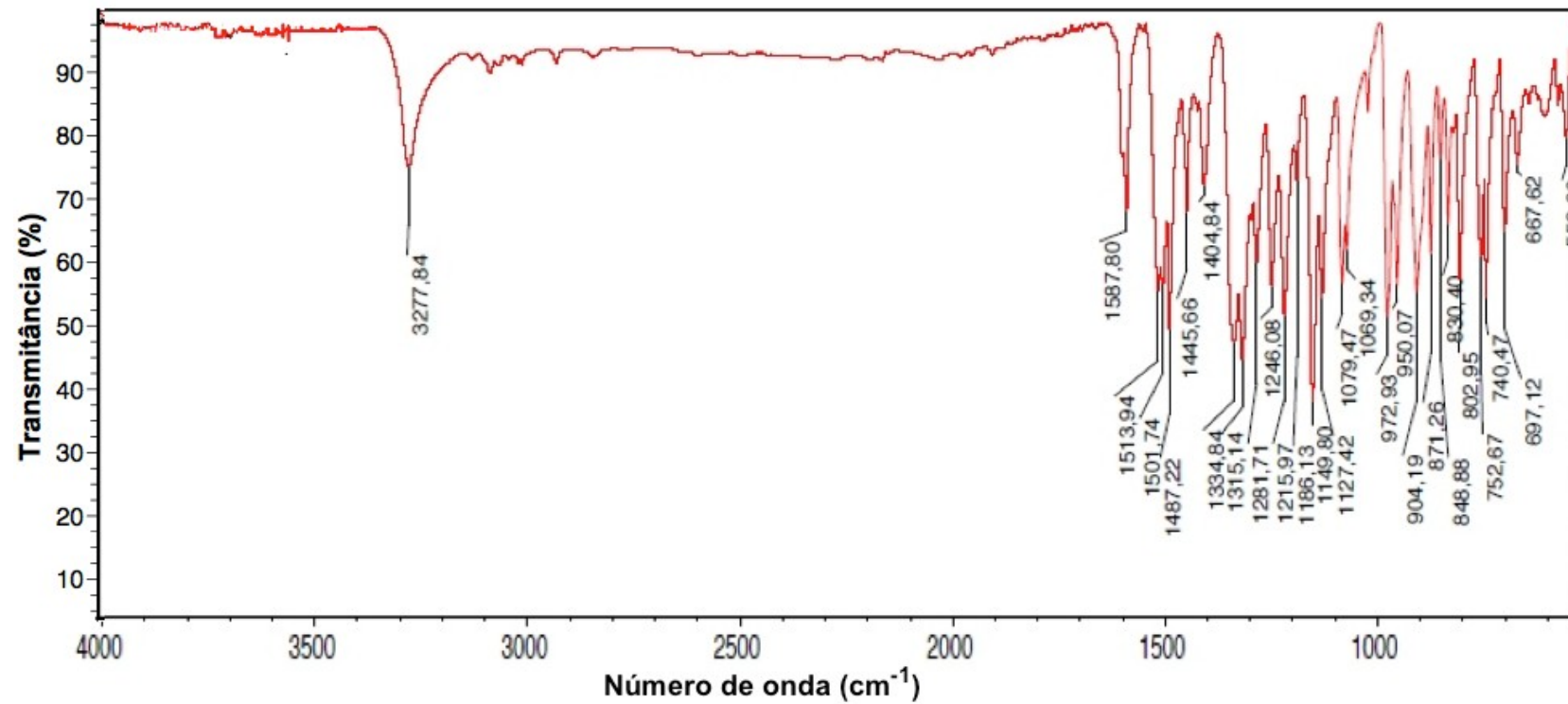


FIGURA 44 – Espectro de infravermelho da amostra NM1.

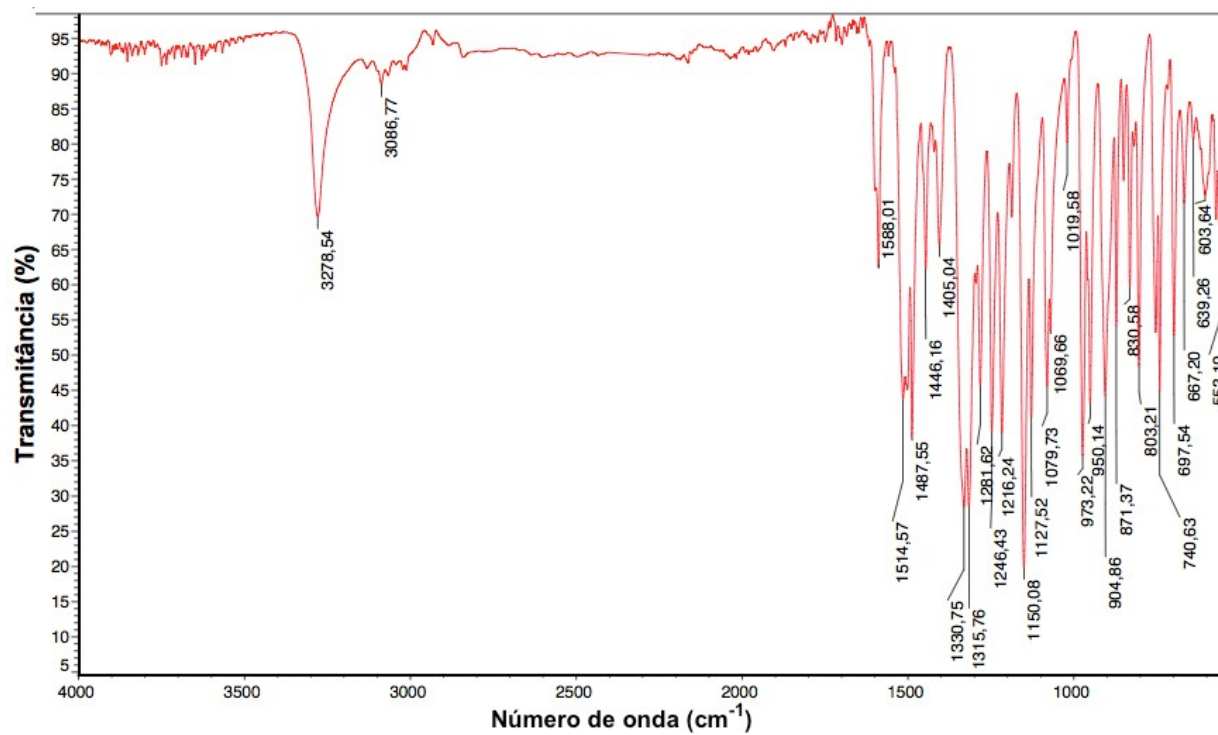


FIGURA 45 – Espectro de infravermelho da amostra NM2.

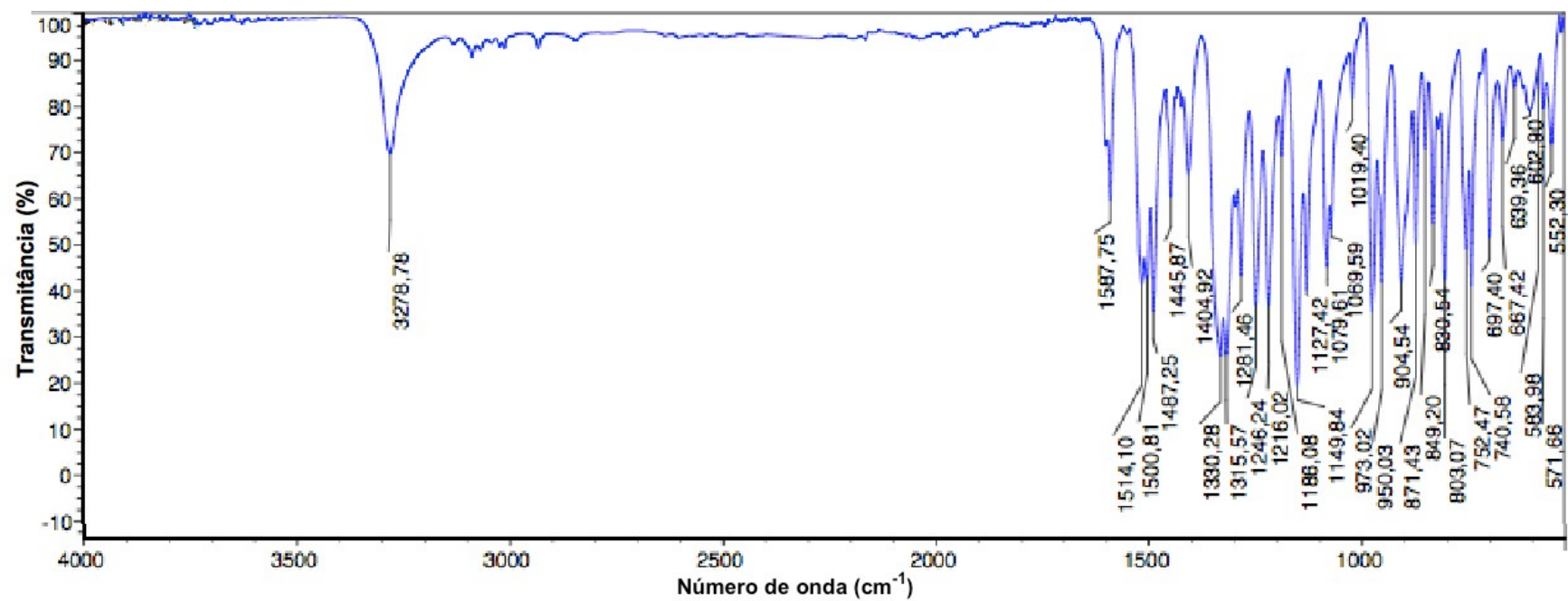


FIGURA 46 – Espectro de infravermelho da amostra NM3.

Apêndice B – Espectros de RMN ^1H das amostras NM1 e NM2 e espectros de RMN ^{13}C , DEPT135, HMBC e HSQC da amostra NM2.

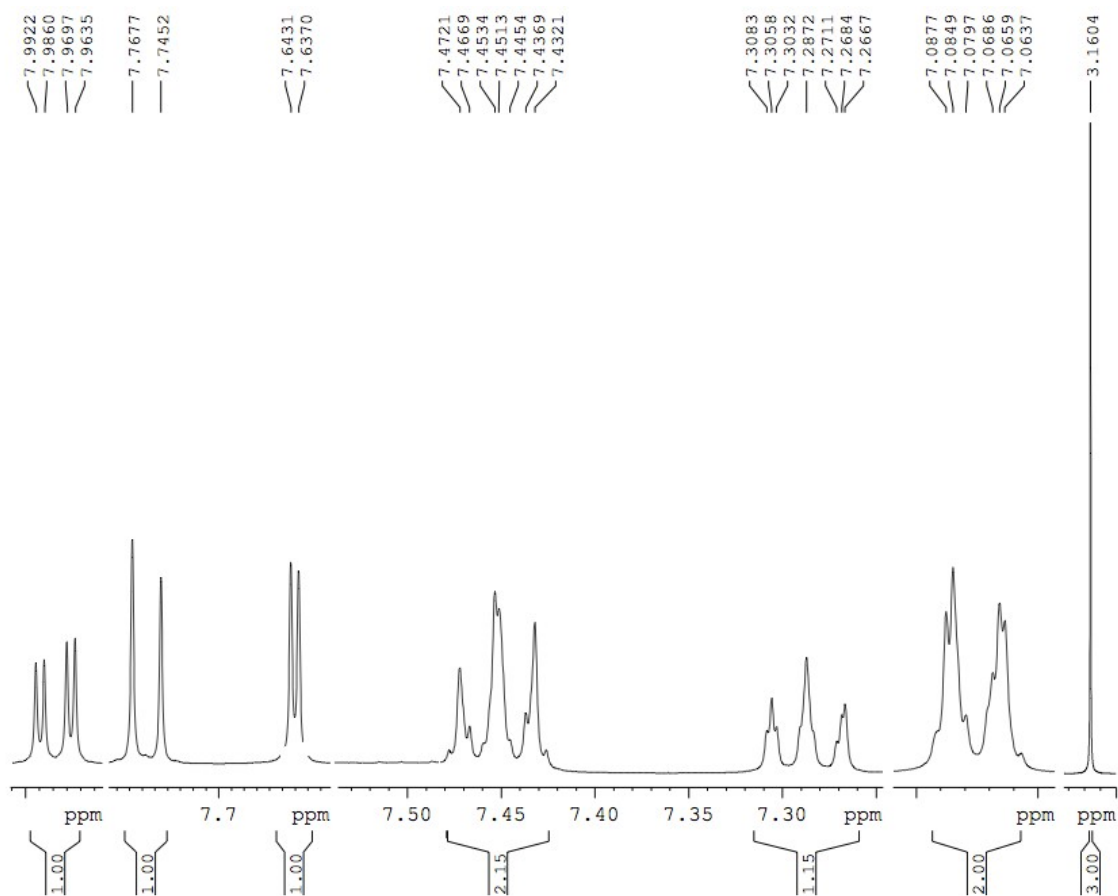


FIGURA 47 – Espectro de RMN ^1H em CDCl_3 da amostra NM1.

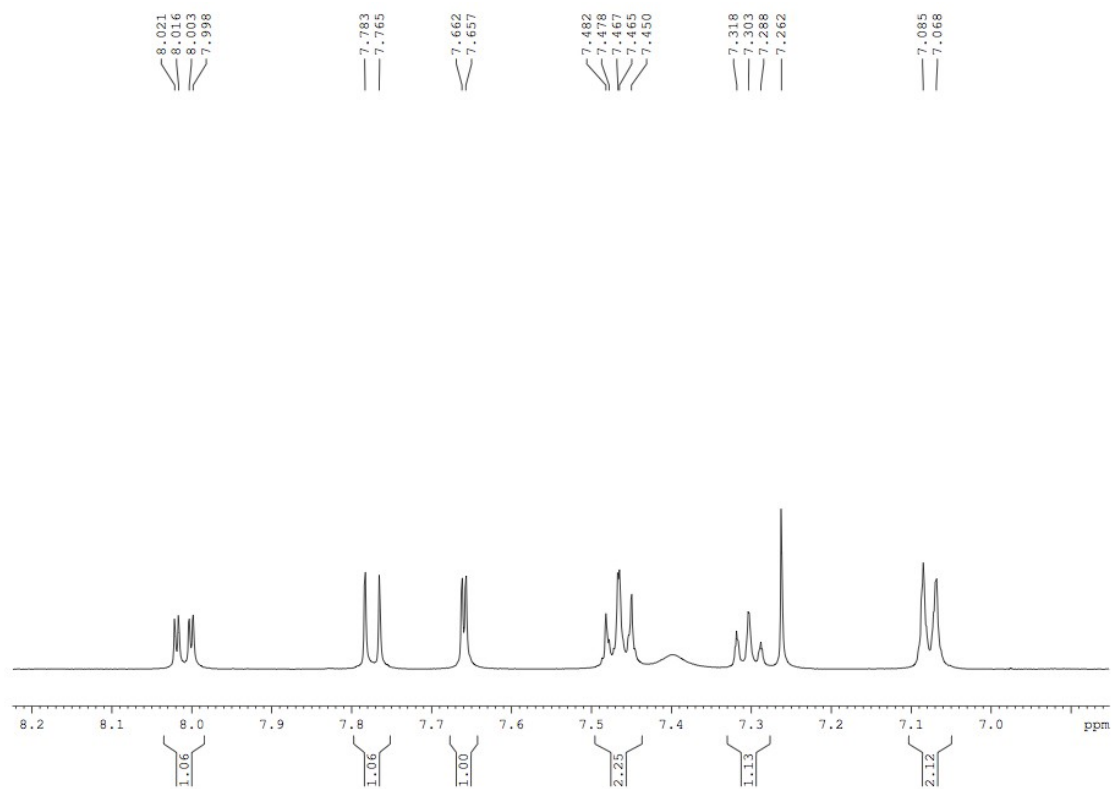


FIGURA 48 – Espectro de RMN ^1H em CDCl_3 da amostra NM2.

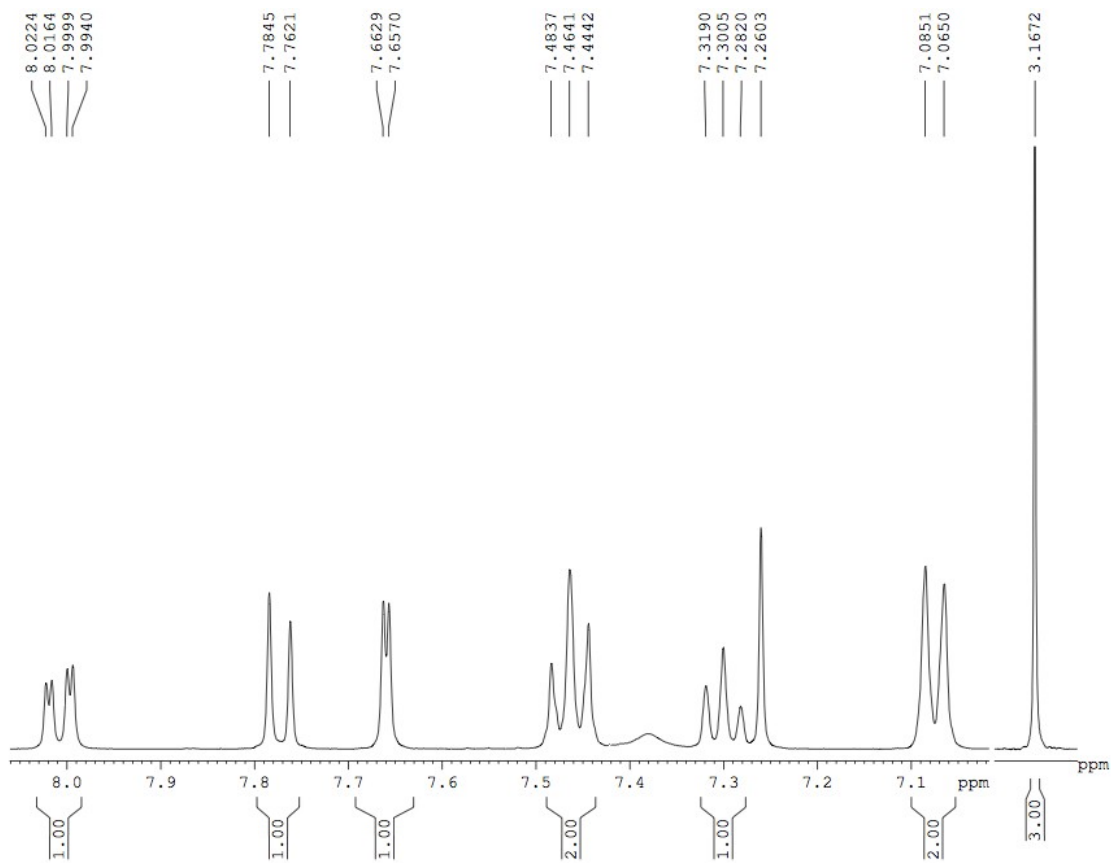


FIGURA 49 – Espectro de RMN ^1H em CDCl_3 da amostra NM3.

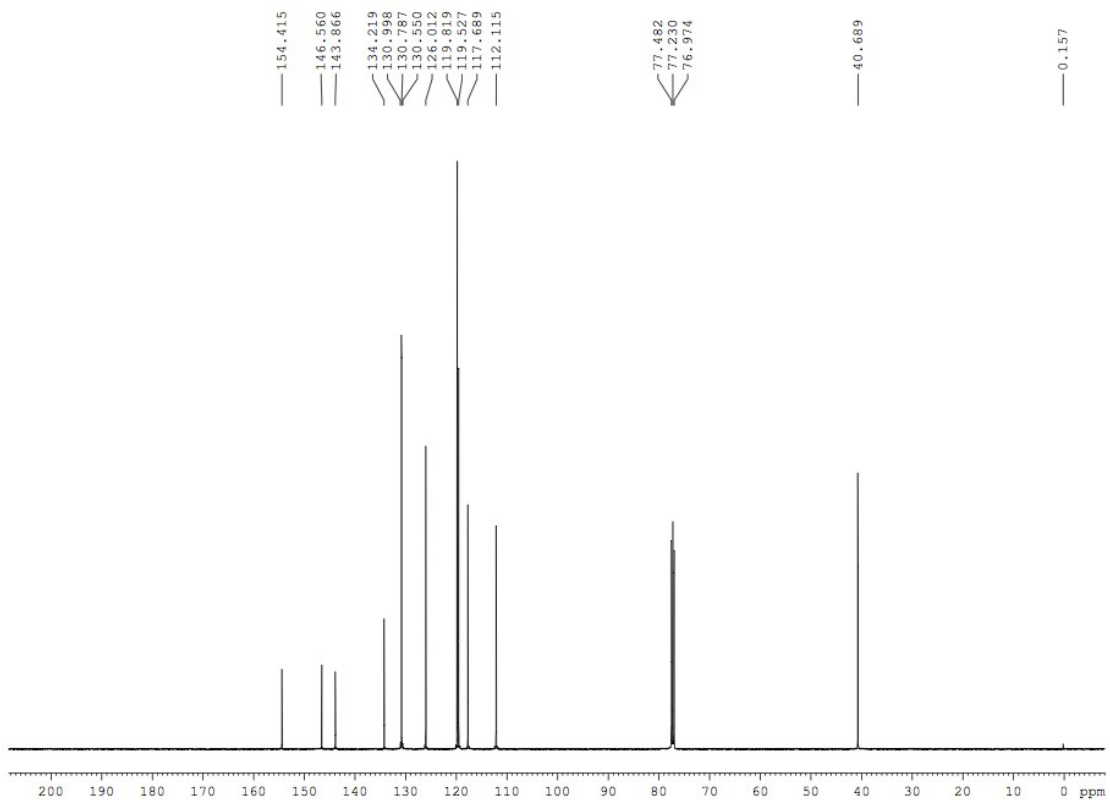


FIGURA 50 – Espectro de RMN ^{13}C em CDCl_3 da amostra NM2.

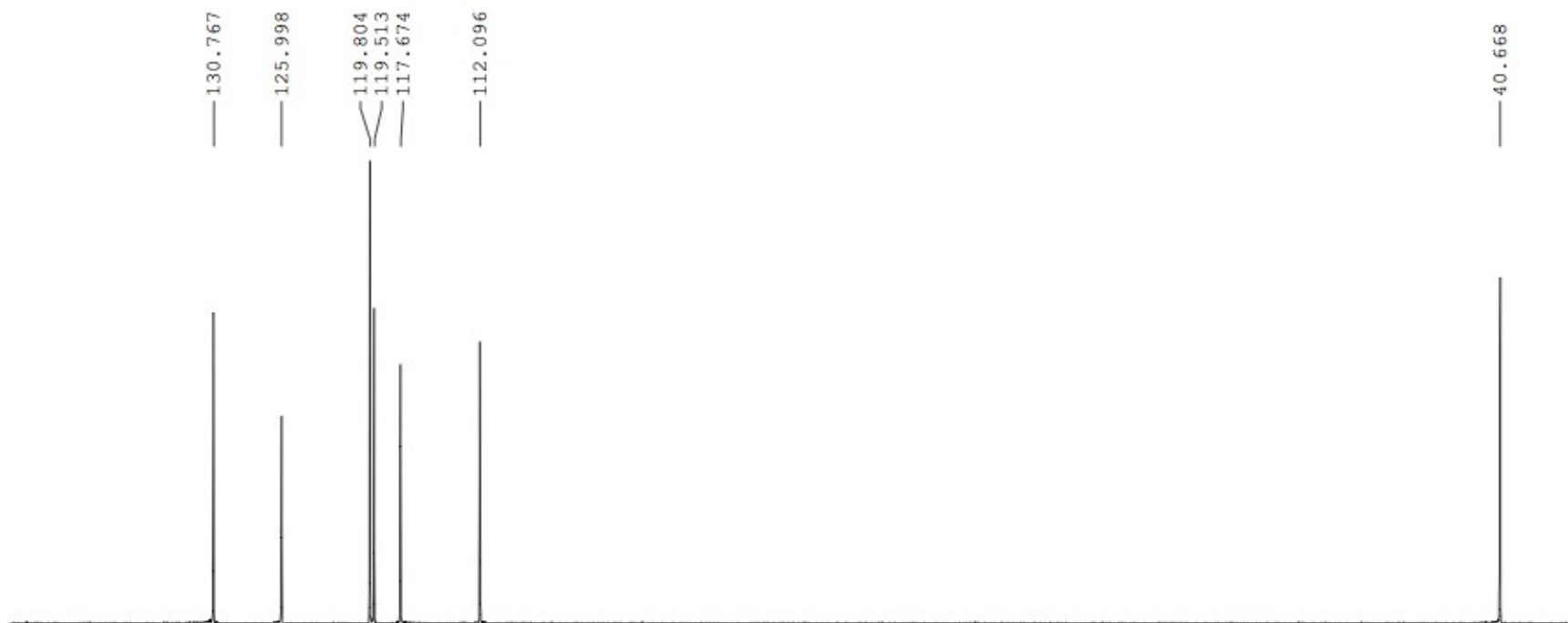


FIGURA 51 – Espectro de DEPT135 em CDCl_3 da amostra NM2.

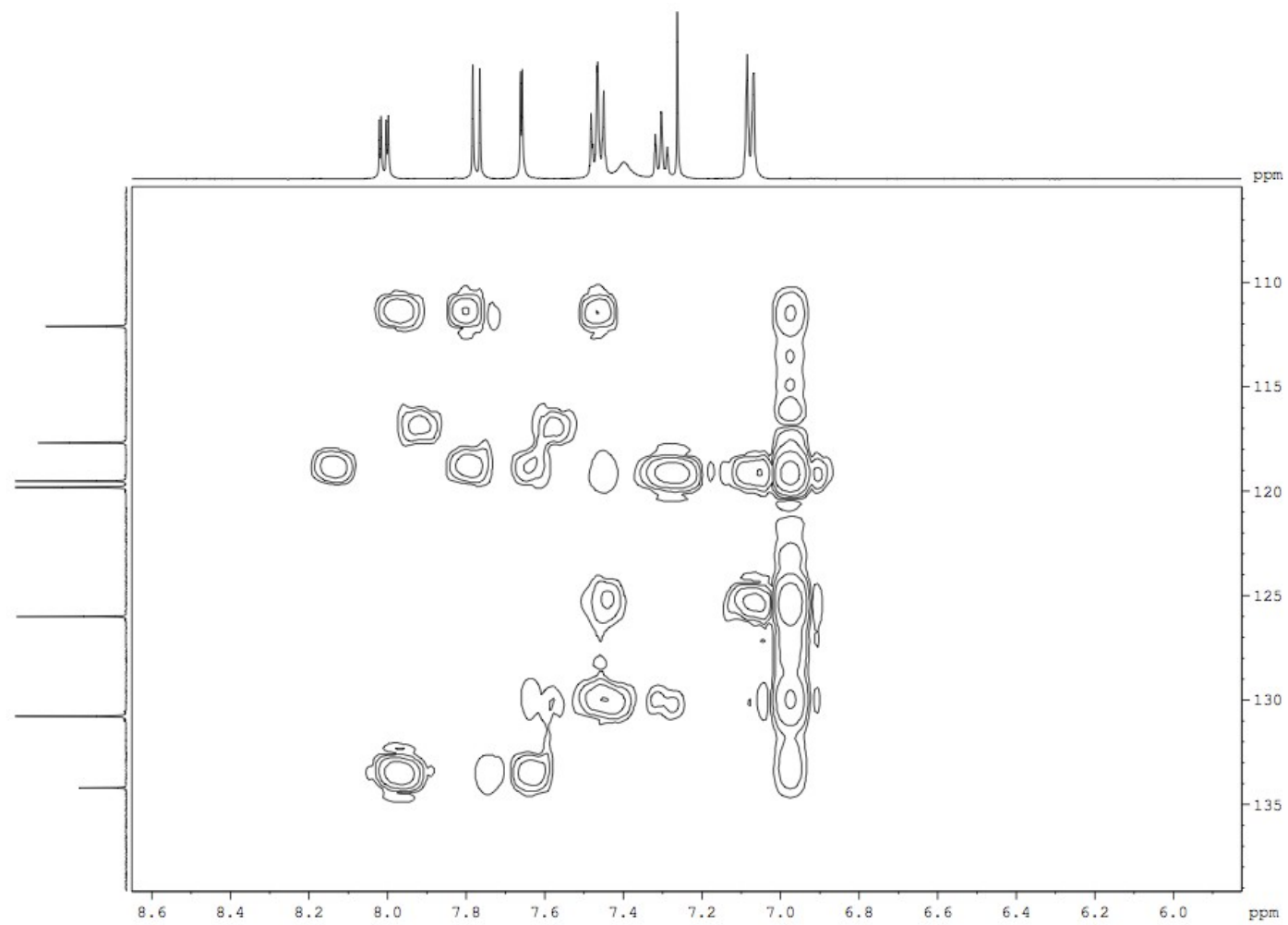


FIGURA 52 – Espectro de RMN HMBC em CDCl_3 da amostra NM2.

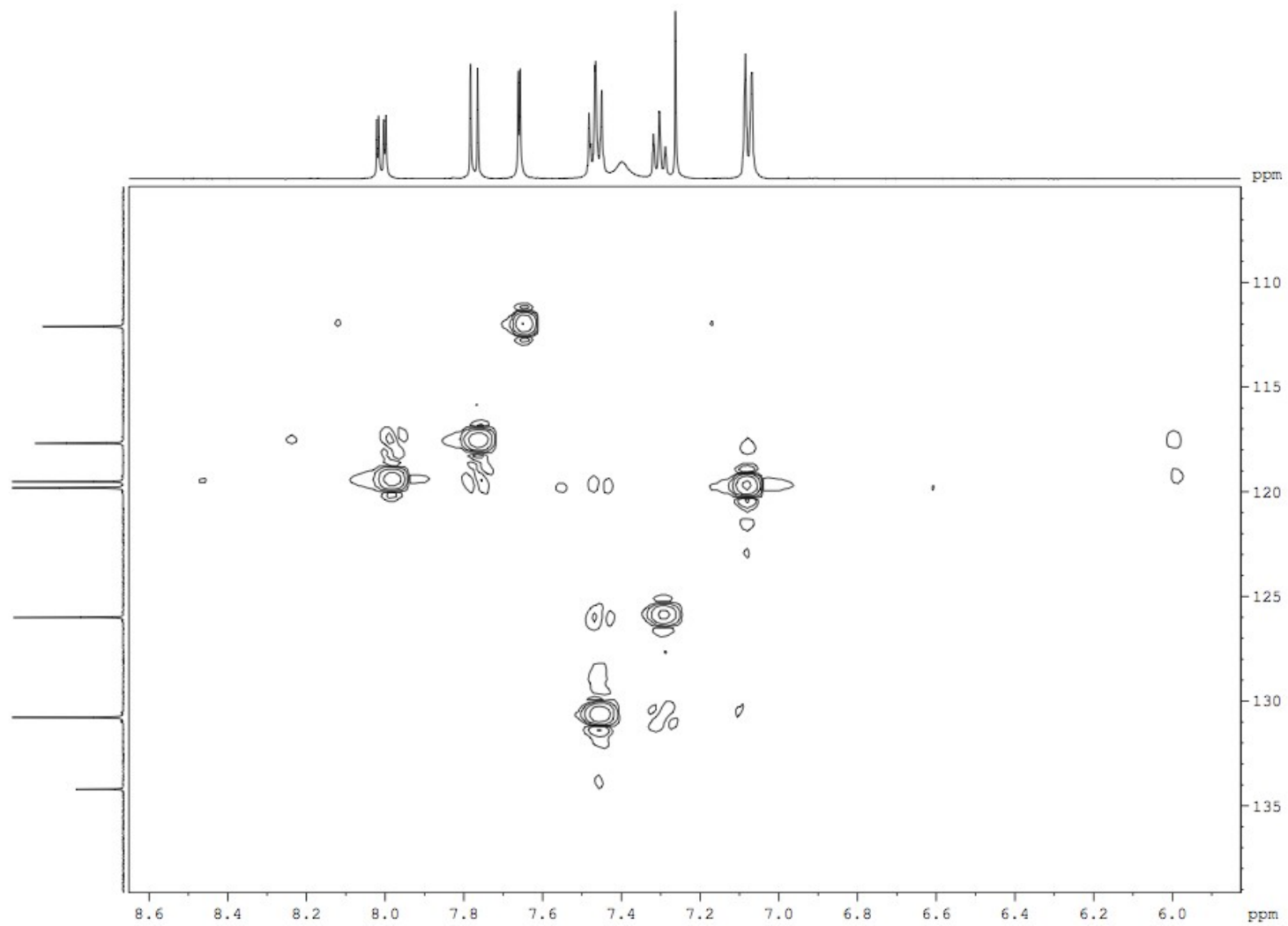


FIGURA 53 – Espectro de RMN HSQC em CDCl_3 da amostra NM2.

Apêndice C – Fotomicrografias das amostras NM1, NM2 e NM3.

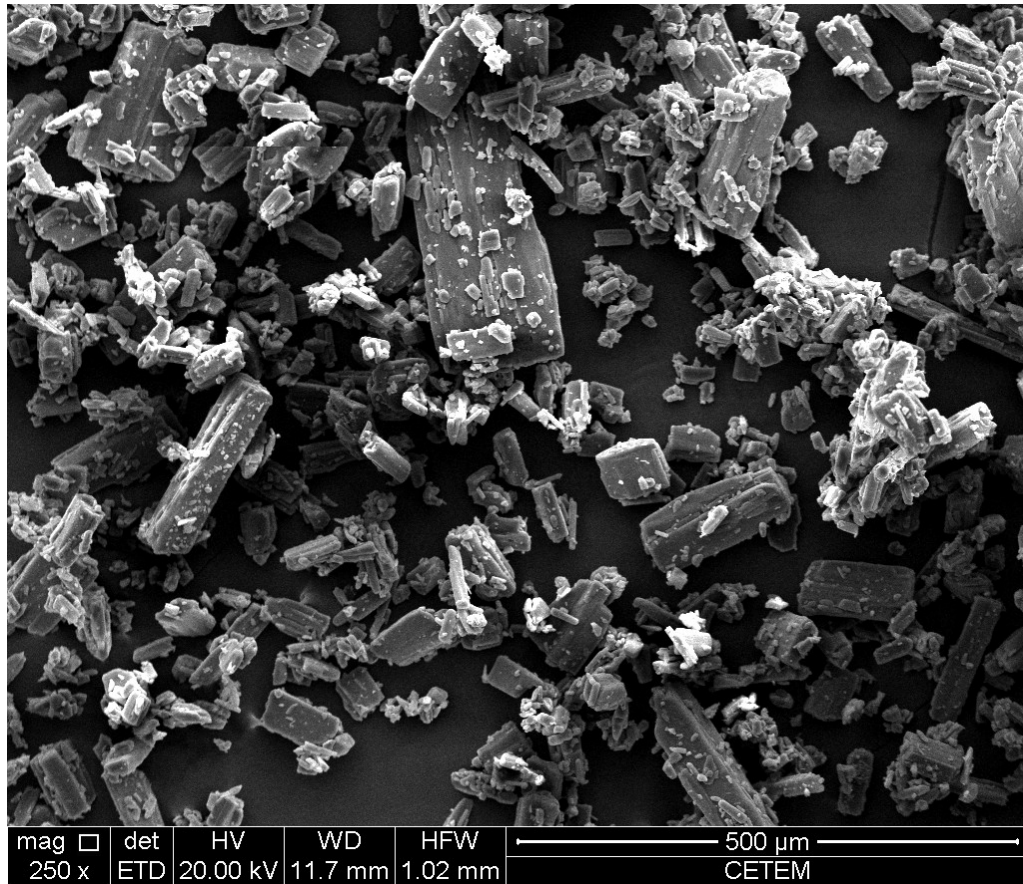


FIGURA 54 – Fotomicrografia da amostra NM1, utilizando um aumento de 250 X, 20 kV.

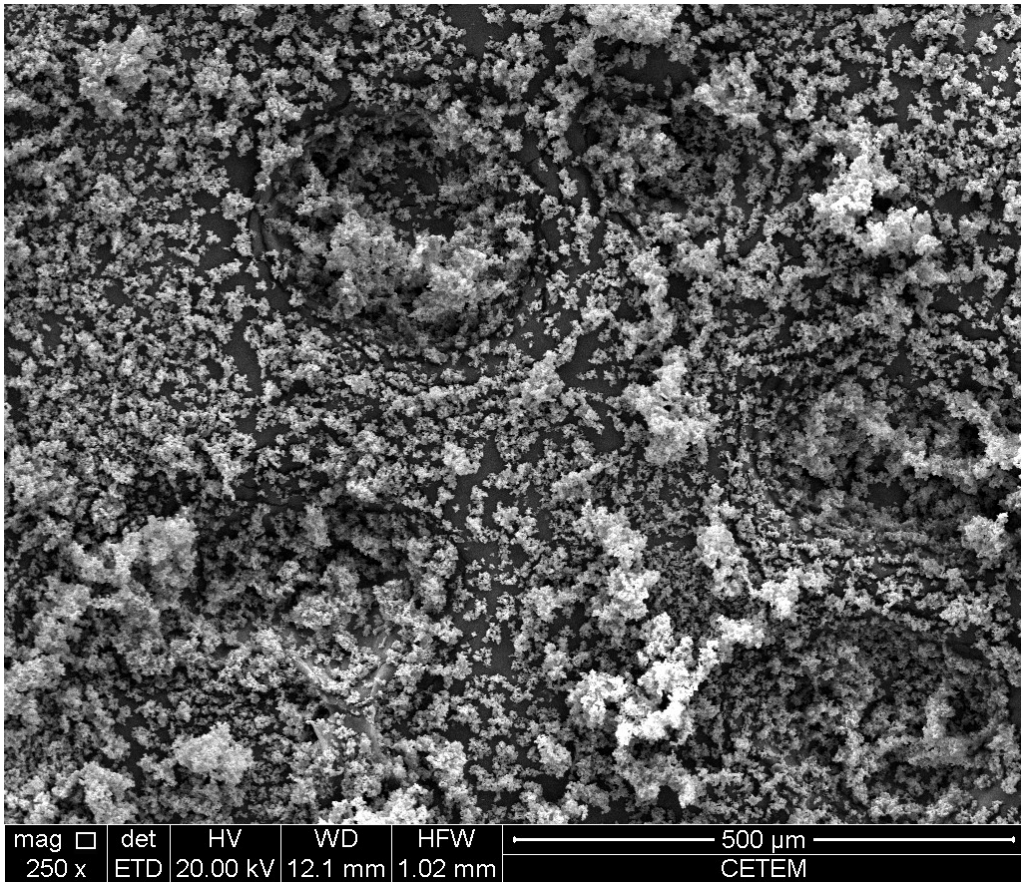


FIGURA 55 – Fotomicrografia da amostra NM2, utilizando um aumento de 250 X, 20 kV.

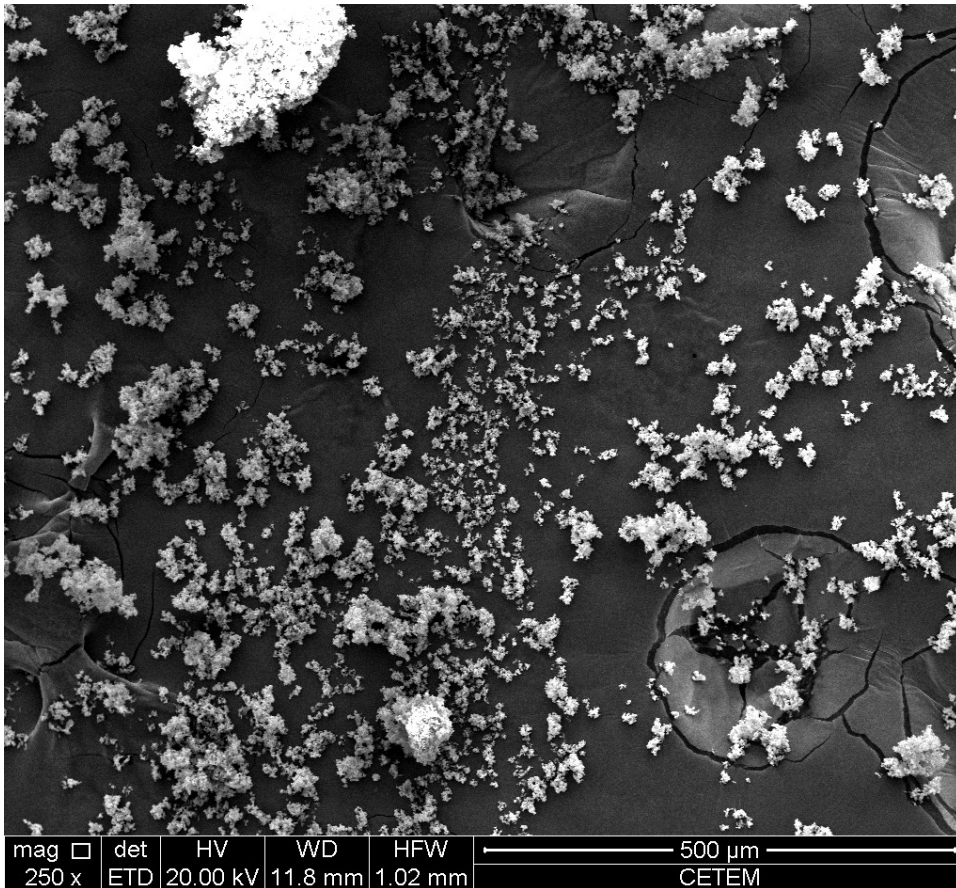


FIGURA 56 – Fotomicrografia da amostra NM3, utilizando um aumento de 250 X, 20 kV.