

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

**Controle de qualidade e avaliação das propriedades tecnológicas das
formas polimórficas de talidomida**

ANA PAULA CAPPRA SILVA

PORTO ALEGRE, 2011.

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

**Controle de qualidade e avaliação das propriedades tecnológicas das
formas polimórficas de talidomida**

Tese apresentada por **Ana Paula Cappra Silva**
para obtenção do GRAU DE DOUTOR em
Ciências Farmacêuticas

Orientador: Prof. Dr. Pedro Eduardo Fröhlich
Co-orientador: Prof. Dr. Paulo Mayorga

PORTO ALEGRE, 2011.

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, em nível de Doutorado, da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul e aprovada com louvor em 16.12.2011, pela Banca Examinadora constituída por:

Prof. Dr. Cássia Virginia Garcia

Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS

Prof. Dr. Clarice Madalena Bueno Rolim

Universidade Federal de Santa Maria - UFSM

Prof. Dr. Vitor Paulo Pereira

Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS

CIP - Catalogação na Publicação

Cappra Silva, Ana Paula

Controle de qualidade e avaliação das propriedades tecnológicas das formas polimórficas de talidomida / Ana Paula Cappra Silva. -- 2011.

140 f.

Orientador: Pedro Eduardo Froehlich.

Coorientador: Paulo Mayorga.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Farmácia, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Porto Alegre, BR-RS, 2011.

1. Talidomida. 2. Polimorfismo. 3. Controle de qualidade. 4. Física da compressão. 5. Degradação. I. Froehlich, Pedro Eduardo, orient. II. Mayorga, Paulo, coorient. III. Título.

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

Este trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Química Farmacêutica (LAPPS) e Centro de Desenvolvimento Tecnológico Farmacêutico (CDTF), fazendo uso de equipamentos da Central Analítica (PPGCF), Laboratório de Difração de Raio X (LDRX) do Instituto de Geociências, Centro de Microscopia Eletrônica (CME) e do Laboratório de Materiais Cerâmicos (LACER) da Escola de Engenharia, todos pertencentes à Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS).

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Prof. Dr. Pedro Eduardo Fröhlich, pelos ensinamentos, dedicação, amizade e compreensão durante todo o doutorado.

Ao meu co-orientador, Prof. Dr. Paulo Mayorga, pela disponibilidade e constantes contribuições durante a realização do trabalho.

Aos professores do Laboratório de Química Farmacêutica pelos momentos de convívio e exemplo profissional.

Aos colegas e funcionários do Laboratório de Química, Cristiane, Carolina, Lisiane, Rochele, Fernanda, Marcella, Andréa P., Andréia L., Leonardo, César, Felipe, Pâmela, Tâmara, Sirlei, Marquinhos, Luiz (*in memoriam*) pelos grandes momentos de convívio descontraído, amizade, ajuda e companheirismo durante todo o trabalho.

Aos colegas Vinicius Claudino Bica e Leonardo Zanchetti Meneghini, pelo auxílio ao longo do trabalho.

A todos os colegas do curso de Pós-Graduação, pela amizade, convívio e companheirismo.

Ao Centro de Desenvolvimento Tecnológico Farmacêutico (CDTF) por depositar total confiança no meu trabalho.

A Fundação Ezequiel Dia (FUNED), em especial a Dra. Silvia Ligório Fialho pelo apoio, parceria e troca de conhecimento durante todo o trabalho.

Aos funcionários da Faculdade de Farmácia, pelo auxílio e amizade.

Aos meus pais, irmãs e sobrinhos pelo amor e compreensão nos momentos de ausência.

Ao Paulo pelo amor, estímulo e apoio que muitas vezes me fez ver as situações por outra maneira e que me foram indispensáveis.

Ao Vicente agradeço pelo amor e pela força de finalizar este trabalho.

RESUMO

CONTROLE DE QUALIDADE E AVALIAÇÃO DAS PROPRIEDADES TECNOLÓGICAS DAS FORMAS POLIMÓRFICAS DE TALIDOMIDA

A talidomida foi amplamente prescrita entre 1950 e 1960, em quase 50 países, como hipnosedativo não-barbitúrico e antiemético para indisposição matinal durante a gravidez, sendo em seguida fortemente controlada em função da ocorrência de sérios problemas de teratogenicidade. Nos últimos anos, vários esforços foram realizados no sentido de buscar identificar e elucidar as propriedades antiinflamatórias, imunomodulatórias e anti-angiogênicas da talidomida. Na mesma direção, investigações clínicas foram conduzidas em pacientes com diversas doenças, como mieloma múltiplo, carcinoma renal, câncer de próstata, Síndrome da rejeição paciente-enxerto, entre outras. A talidomida possui um centro quiral e dois anéis amida em sua estrutura e é sintetizada como racemato, constituída por dois enantiômeros ativos: (+)-(R)- e (+)-(S)-talidomida. A talidomida racêmica apresenta duas formas polimórficas, alfa (α) e beta (β). Assim, a variabilidade observada em relação ao polimorfismo representa um ponto crítico se considerarmos o potencial de alteração de propriedades biofarmacêuticas em decorrência da predominância de um ou outro polimorfo. No Brasil o medicamento talidomida é fabricado exclusivamente pela FUNED – Fundação Ezequiel Dias, laboratório público do Estado de Minas Gerais que integra o Sistema Oficial de produção de Medicamentos do País. Neste contexto, este trabalho tem como principal objetivo a avaliação de características físicas, físico-químicas e tecnológicas dos polimorfos da talidomida, com ênfase nos ensaios de cristalização, dissolução, degradação e compressão. Os resultados deste trabalho contribuíram para um melhor entendimento da relação entre características cristalográficas e propriedades farmacêuticas, agregando uma base científica capaz de avaliar as diferenças existentes destes polimorfos e garantir o controle de qualidade adequado do produto final produzido em um Laboratório Oficial. Estes estudos contribuíram para o cumprimento de exigências regulatórias.

Palavras-chave: talidomida, polimorfismo, controle de qualidade, dissolução, física da compressão, validação, degradação, indústria farmacêutica

ABSTRACT

QUALITY CONTROL AND EVALUATION OF TECHNOLOGICAL PROPERTIES OF POLYMORPHIC FORMS OF THALIDOMIDE

Thalidomide was widely prescribed between 1950 and 1960, in nearly 50 countries, as sedative and antiemetic for morning sickness during pregnancy. After the occurrence of serious problems of teratogenicity it was heavily controlled. Growing interest has been observed in recent years to identify and elucidate the anti-inflammatory, immunomodulatory and anti-angiogenic properties of thalidomide. In the same direction, clinical investigations have been conducted in patients with various diseases such as myeloma, renal carcinoma, and prostate cancer, among others. Thalidomide possesses a chiral center and two amide rings in its structure and is synthesized as racemate, consisting of two active enantiomers: (+)-(*R*)- and (+)-(*S*)-thalidomide. It is known that the racemic thalidomide has two polymorphic forms, alpha (α) and beta (β). Thus, the observed variability in relation to the polymorphism represents a critical point considering the potential of changes in biopharmaceutical properties due to the predominance of one of them. In Brazil thalidomide tablets are manufactured exclusively by FUNED – Fundação Ezequiel Dias, the public laboratory of the State of Minas Gerais, which integrates the Country's Official System of drug production. In this context, the objectives of this work are the assessment of physical characteristics, physical-chemical and technological properties of polymorphic forms of thalidomide, with emphasis on crystallization, dissolution, degradation and compression. The results of this work contributed to a better understanding of the relationship between characteristic crystallographic properties and pharmaceutical properties, aggregating a scientific basis to assess the differences of these polymorphs and ensure the appropriate quality control of the final product produced in an official laboratory. These studies contributed to compliance with regulatory requirements.

Key-works: Thalidomide, polymorphism, quality control, dissolution, physics of compression, validation, degradation, pharmaceutical industry.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
2 OBJETIVOS	5
2.1 OBJETIVO GERAL	7
2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	7
3 REVISÃO DO TEMA	9
CAPÍTULO 1 – Polymorph screening and solid-state characterization of alpha and beta-thalidomide	21
CAPÍTULO 2 – Discriminatory dissolution test for tablets containing alpha and beta-thalidomide polymorphs.....	51
CAPÍTULO 3 – Degradation study of thalidomide polymorphs using an UPLC-DAD MS/MS method and degradation kinetic.....	73
CAPÍTULO 4 – Evaluation of compaction proprieties and compressibility of alpha and beta-thalidomide.....	99
4 DISCUSSÃO GERAL	123
5 CONCLUSÕES	131
REFERÊNCIAS	137

1. INTRODUÇÃO

Apesar de ter passado vários anos com restrição limitada de utilização clínica, a talidomida demonstra excepcional valor no controle e cura de uma série de patologias, geralmente associadas a alternativas terapêuticas reduzidas ou nulas. Tal fato se deve às suas características farmacodinâmicas únicas, que se adaptam perfeitamente às bases fisiopatológicas de uma série de doenças, muitas sem tratamento eficaz (BRASIL, 2007).

Para fármacos com baixa solubilidade aquosa, a forma polimórfica deve ser controlada para se ter certeza de que a biodisponibilidade seja a mesma a cada lote fabricado. Assim, é essencial que os laboratórios farmacêuticos verifiquem a existência de polimorfos e assegurem o uso da forma apropriada em todas as etapas de produção e tempo de vida do produto (BUCKTON, 2005).

Estudos recentes com os polimorfos da talidomida sintetizados no Brasil demonstraram, de modo geral, amostras com diferentes características do ponto de vista do tamanho de partículas, área superficial, constituição cristalina e polimórfica, comportamento térmico e velocidade de dissolução intrínseca (CARINI *et al*, 2009).

A variabilidade observada em relação ao polimorfismo representa um ponto crítico se considerarmos o potencial de alteração de propriedades biofarmacêuticas em decorrência da predominância de um ou outro polimorfo. Por outro lado, é inevitável a necessidade de aprimorar o processo de aquisição de insumos farmacêuticos pelas indústrias, o que por sua vez nos remete à necessidade de melhorar as especificações técnicas das matérias-primas utilizadas.

Neste contexto, faz-se necessária a avaliação do controle de qualidade e das características tecnológicas dos polimorfos da talidomida, agregando uma base científica capaz de avaliar as diferenças existentes utilizando técnicas adequadas para suas identificações.

Especial destaque deve ser conferido ao fato deste trabalho ser desenvolvido em parceria com um Laboratório Oficial (FUNED), o qual é o único produtor deste medicamento no País. Assim, espera-se contribuir com a qualificação permanente da rede oficial na promoção do acesso a medicamentos essenciais e do seu uso racional.

1. OBJETIVOS

1.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar as propriedades físicas, físico-químicas e tecnológicas das duas formas polimórficas de talidomida tendo em vista o melhor entendimento da relação entre polimorfismo e características farmacêuticas bem como a garantia da qualidade de um medicamento fabricado e distribuído no âmbito do Sistema Único de Saúde.

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar amostras dos polimorfos α e β da talidomida através de análises físico-químicas e tecnológicas;
- Estudar a cristalização dos polimorfos α e β da talidomida;
- Produzir comprimidos por compressão direta a partir de cada polimorfo e realizar testes de controle de qualidade;
- Desenvolver e validar método de dissolução discriminativo para formulações contendo os polimorfos α e β da talidomida;
- Avaliar os produtos de degradação da talidomida através de testes de estresse das amostras, para matéria-prima e produto acabado;
- Avaliar as características de compressão dos polimorfos α e β da talidomida.

3. REVISÃO

Histórico

A talidomida foi sintetizada em 1954 pela companhia alemã Chemie Grünenthal. Foi amplamente vendida e prescrita entre 1950 e 1960, em quase 50 países, para mulheres grávidas, como antiemético no combate as náuseas matinais e também como sedativo. Antes desta liberação de venda da talidomida, testes inadequados foram desenvolvidos para garantir a segurança do fármaco, ocasionando resultados indesejados em filhos de mulheres que a utilizaram durante a gravidez (TEO *et al.*, 2004; MELCHERT e LIST, 2007).

Os efeitos farmacológicos da talidomida se estendem além dos efeitos neuro-sedativos e, por esta razão, foi avaliada em outras situações (MELCHERT e LIST, 2007). Em 1965, o dermatologista israelense Jacob Sheskin utilizou a talidomida como sedativo em pacientes que tinham transtornos do sono devido à lesão inflamatória cutânea denominada eritema nodoso leproso (ENL), uma complicação inflamatória da doença de Hansen (hanseníase). Durante o uso, ele observou que as lesões melhoravam rapidamente e através de confirmação da sua eficácia em experimentos, a talidomida se tornou o fármaco de escolha para tratamento do ENL (MARRIOTT *et al.*, 1999; TEO *et al.*, 2004; MELCHERT e LIST, 2007).

Quatro décadas depois de ser retirada do mercado, um novo capítulo começou com a aprovação pelo FDA, em julho de 1998, da utilização da forma farmacêutica cápsula (Thalomid[®], Celgene, Warren, NJ, US), a única formulação aprovada nos Estados Unidos (TEO *et al.*, 2004).

O interesse tem se intensificado nos últimos anos em identificar e elucidar suas propriedades antiinflamatória, imunomodulatória e anti-angiogênica. Investigações clínicas foram conduzidas em pacientes com diversas doenças, como mieloma múltiplo, carcinoma renal, câncer de próstata, Síndrome da rejeição paciente-enxerto, entre outros. O uso da talidomida

também está sendo investigado para o tratamento de pacientes com úlcera aftóide idiopática, infectados com o vírus da imunodeficiência humana (VIH) (TEO *et al.*, 2004; KUMAR e RAJKUMAR, 2006; SHARMA *et al.*, 2006; KRÖEGER *et al.*, 2009; OLIVEIRA *et al.*, 2009; BRASIL, 2011).

O acesso a este fármaco nos Estados Unidos é restrito, existindo um programa de segurança (*System for Thalidomide Education and Prescribing Safety* [STEPS]) para controlar e monitorar seu uso. Os médicos devem ter profundo conhecimento dos hábitos dos pacientes e os farmacêuticos devem coletar e arquivar o consentimento de uso assinado pelo paciente, antes da dispensação. No caso de mulheres grávidas, os pacientes devem também estar de acordo e assegurar que não ocorrerá à exposição do fármaco ao feto. Mulheres capazes de engravidar devem fazer com frequência teste de gravidez e usar duas formas simultâneas de contraceptivo (CALABRESE e FLEISCHER, 2000; MELCHERT and LIST, 2007).

Estrutura química

A talidomida (DCB 08266 e CAS nº 50-35-1) (figura 1), [2-(*R,S*)-(2,6-dioxo-piperidin-3-il)-isoindol-1,3-diona], é um derivado sintético do ácido glutâmico, tem fórmula molecular $C_{13}H_{10}N_2O_4$ e massa molecular de 258,23. Possui um centro quiral e dois anéis amida em sua estrutura e é sintetizada como racemato constituído por dois enantiômeros ativos: (+)-(*R*)- e (+)-(*S*)-talidomida (REEPMEYER *et al.*, 1997; HUANG *et al.*, 2005; USP 34, 2010; BOSCH *et al.*, 2008)

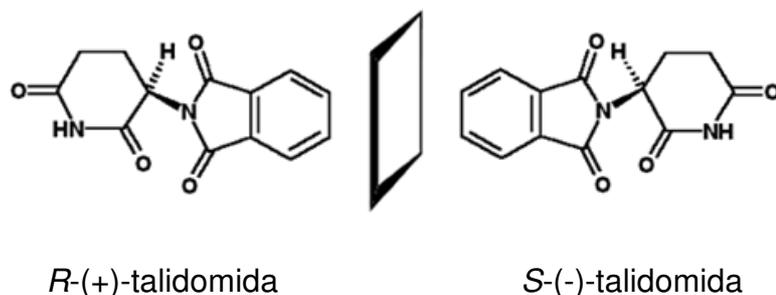


Figura 1. Estrutura dos enantiômeros da talidomida.

Farmacocinética

Até recentemente, não havia estudo farmacocinético da talidomida em humanos, uma vez que seu uso foi limitado. Ao longo dos anos, resultados encorajadores de estudos investigativos para diversas doenças foram realizados com doses entre 100 e 1200 mg do fármaco (TEO *et al.*, 2004; YANG *et al.*, 2005; MURPHY-POULTON *et al.*, 2006).

Estudos com os enantiômeros demonstraram diferentes propriedades farmacocinéticas e farmacodinâmicas. O efeito teratogênico é atribuído ao enantiômero (*S*), ao passo que o enantiômero (*R*) causa sedação. Os efeitos imunomoduladores são atribuídos ao enantiômero (*S*) (CANER *et al.*, 2004; TEO *et al.*, 2004; ERKOÇ e ERKOÇ, 2005; HUANG *et al.*, 2005; MELCHERT e LIST, 2007; BOSCH *et al.*, 2008).

A purificação do enantiômero (*R*) foi uma tentativa de otimizar a aplicação clínica, mas eventualmente não se mostrou factível devido à rápida interconversão dos isômeros em condições fisiológicas (ERIKSSON *et al.*, 1998a; LIMA *et al.*, 2001; FRANK, 2004; MELCHERT e LIST, 2007).

A inversão quiral em humanos, em pH fisiológico, é catalisada pela albumina do soro humano, produzindo ambos enantiômeros (ERIKSSON *et al.*, 1995; TEO *et al.*, 2004; HUANG *et al.*, 2005; MELCHERT e LIST, 2007). Reist e colaboradores (1998) estudaram a inversão quiral da talidomida em relação ao pH. Em pH ácido, a inversão quiral foi praticamente zero, aumentando com a elevação do pH. Assim, a inversão quiral demonstrou ser por catálise básica. Foi sugerido então que a capacidade da albumina sérica humana em catalisar a inversão quiral se deve aos grupamentos funcionais básicos dos aminoácidos arginina e lisina e não a um simples sítio catalítico.

A baixa solubilidade em água da talidomida, ao redor de 50 µg/mL para a mistura racêmica (ERIKSSON *et al.*, 1995; HUANG *et al.*, 2005), levou ao seu desenvolvimento exclusivamente para uso oral. A absorção pelo trato gastrointestinal é lenta e a biodisponibilidade varia de 67 a 93%, com pico de concentração plasmática em 3-6 h. Após a absorção, sofre hidrólise não-enzimática gerando mais de 12 diferentes metabólitos. Menos de 0,7% do fármaco é excretado na forma inalterada. Juntamente com seus metabólitos é rapidamente eliminada na urina, com um tempo de meia-vida de aproximadamente 5 h. A taxa de depuração é de 1,15 ml/min (ERIKSSON *et al.*, 1998b; FRANKS *et al.*, 2004; HUANG *et al.*, 2005; Fundação Ezequiel Dias, 2007; MELCHERT e LIST, 2007).

Posologia

A dose diária usual varia de 50 a 800 mg. Para ENL, a dose é de 100 a 300 mg, uma vez ao dia, podendo chegar a 400 mg. Para portadores do VIH que apresentam úlceras aftóides idiopáticas, associadas com quadro característico de perda significativa de peso, diarreia e debilidade, a dose diária é de 100 a 200 mg. Para a doença do enxerto-versus-hospedeiro, a dose inicial varia de 800 a 1600 mg, uma vez ao dia (FUNED, 2007). Para indicações oncológicas como mieloma múltiplo, a dose inicial é de 200 mg/dia aumentando para 800 mg/dia com dose de manutenção de 200 a 400 mg/dia (TEO *et al.*, 2004).

Polimorfismo da Talidomida

A talidomida é um pó branco cristalino (ALLEN e TROTTER, 1971; CAIRA *et al.*, 1994; LARA-OCHOA *et al.*, 2006; CIPRIANI e SMITH, 2007) que apresenta duas formas polimórficas, alpha (α) e beta (β), sintetizadas cada uma na forma racêmica (*R*) – (*S*) - talidomida. Pertence ao sistema cristalino monoclinico, ou seja, os eixos a, b e c diferem entre si (ALLEN e TROTTER, 1971; CAIRA *et al.*, 1994). Reepmeyer e colaboradores (1994) estudaram o comportamento dos polimorfos da talidomida por DSC e os termogramas das formas α e β mostraram picos endotérmicos de ponto de fusão em 272,3 e 275,7 °C, respectivamente.

Carini e colaboradores (2009), ao estudar as características físico-químicas da talidomida produzida pelos dois fabricantes brasileiros desta matéria-prima, utilizando dados cristalográficos resultantes de análises por difratometria de raios X, espectrofotometria, morfologia e comportamento térmico, constataram que estas matérias-primas são heterogêneas em relação à constituição cristalina, identificando presença de fases polimórficas e de materiais semicristalinos. Análises cristalográficas para amostras dos polimorfos α e β , em diferentes temperaturas, indicaram a existência de formas metaestáveis deste fármaco. Segundo estes autores, aquelas formadas em elevadas temperaturas provavelmente são intermediárias à formação do polimorfo β , a partir do α , durante o aquecimento.

Outro aspecto relevante relacionado ao polimorfismo diz respeito ao processo de síntese, mais especificamente na etapa de cristalização. O que deve ser considerado para a forma de crescimento do cristal está relacionado com a estrutura da molécula sólida, além dos efeitos do solvente de escolha e aditivos no processo de crescimento cristalino. Deste modo, este efeito é um processo camada por camada. A evolução destas camadas, ou seja, a maneira que estes cristais crescem, está definida pela forma de empacotamento da célula unitária (BLAGDEN *et al.*, 2007). A passagem do núcleo (onde a célula

inicia a cristalização) a cristal se produz pela junção progressiva de átomos ou de moléculas sobre a superfície do núcleo. Os processos de crescimento cristalino sólido-sólido são mais complexos e dependem de muitas variáveis, que vão comandar o tamanho e a morfologia dos cristais (BARD, 1980).

A célula unitária é a menor unidade cristalina e pode se organizar no espaço em três dimensões, podendo ser composta por um conjunto de átomos ou moléculas (figura 2). A força de interação intermolecular, definida dentro da célula unitária, da qual, no primeiro nível, determina as camadas dominantes do processo de crescimento do cristal (BLAGDEN *et al.*, 2007). Na maioria dos casos, o crescimento cristalino é ligado às variações de energia livre dos núcleos e/ou grãos neoformados. Devido a isso, pode haver diferentes tipos de crescimento cristalino, podendo ser destacados os crescimentos dendríticos, camada por camada, espiral e outros (BARD, 1980).

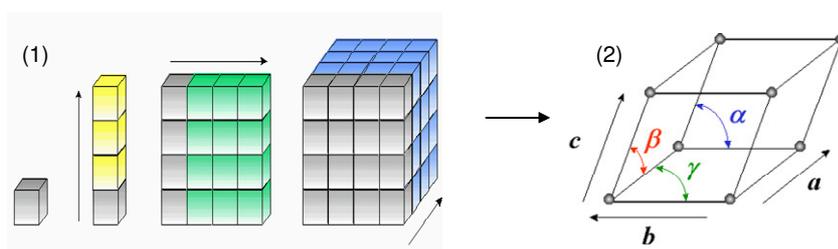


Figura 2. (1) Empilhamento de células unitárias através de repetições translacionais e (2) os vetores a , b e c e ângulos (α , β e γ) que descrevem a forma e o tamanho da célula unitária, denominados parâmetros de rede.

Muitos compostos orgânicos e inorgânicos de aplicação farmacêutica podem existir como uma ou mais formas cristalinas. Cada cristal tem uma orientação e forma definidas pelos vetores, a , b e c , e conseqüentemente tem um volume definido, V , que contém os átomos e moléculas necessárias para a formação do cristal. Cada cristal pode ser classificado como um membro de sete possíveis sistemas cristalinos ou classes de cristais que são definidos pela relação entre as dimensões individuais, a , b e c , da unidade celular e entre os ângulos individuais, α , β , e γ da unidade celular (VIPAGUNTA *et al.*, 2001).

As formas cristalinas mais comuns em fármacos podem constituir polimorfos. Polimorfos cristalinos apresentam a mesma composição química, mas diferença na sua estrutura cristalina e diferentes propriedades físico-químicas. Os solvatos, também conhecidos como pseudopolimorfos, são sólidos cristalinos que apresentam na sua estrutura moléculas solvatadas, que assim como os polimorfos possuem diferenças nas propriedades físicas e farmacêuticas do fármaco, tais como densidade, dureza, compressão, índice de refração, ponto de fusão, solubilidade, velocidade de dissolução, entre outras (VIPAGUNTA *et al.*, 2001).

As diferenças das propriedades físicas das formas sólidas apresentam resultados importantes para produção do fármaco e do processo produtivo do medicamento. Assim, diferenças na solubilidade podem implicar na diferença na velocidade de dissolução do fármaco bem como na sua dosagem, afetando, deste modo, a velocidade de absorção (VIPAGUNTA *et al.*, 2001; LARA-OCHOA *et al.*, 2006). Esta preocupação tem levado ao aumento do interesse regulatório em entender o comportamento e as propriedades do estado sólido dos fármacos (FDA, 1998; VIPAGUNTA *et al.*, 2001).

Dissolução é pré-requisito para a biodisponibilidade, considerando que o fármaco deve primeiro ser dissolvido antes que ele possa ser absorvido do trato gastrointestinal. Um número de exemplos da literatura demonstra os efeitos da mudança da morfologia cristalina na dissolução *in vitro*, com potencial melhora na biodisponibilidade (VEGA *et al.*, 2004; MARTINS *et al.*, 2009; ANTONIO *et al.*, 2011). Em geral, a forma polimórfica mais estável terá menor solubilidade. Enquanto a bioequivalência está relacionada com a biodisponibilidade, nos casos de fármacos de baixa solubilidade, conhecer o polimorfo da formulação é importante para assegurar a bioequivalência de formulações (SINDER *et al.*, 2004).

Talidomida no Brasil

A substância química talidomida é produzida no Brasil pelas empresas nacionais Microbiológica/RJ e Champion/GO. O medicamento disponível é fabricado exclusivamente pela Funed – Fundação Ezequiel Dias, laboratório público do Estado de Minas Gerais que integra o Sistema Oficial de Produção de Medicamentos e que atende a demanda dos Estados da Federação com financiamento do Ministério da Saúde. O medicamento é comercializado na forma de comprimidos com 100 mg de talidomida. A produção, conforme dados fornecidos pela FUNED do ano de 2007, foi de 3.253.920 comprimidos, com um gasto de R\$ 979.755,31, para os programas de SIDA, Hanseníase e Lupus do Ministério da Saúde (FUNED, 2007; BRASIL, 2007).

A talidomida fez parte, até recentemente, da Relação Nacional de Medicamentos Essenciais (RENAME), para utilização em programas de saúde pública, especialmente no combate da Hanseníase. Além desta indicação, a talidomida é utilizada no Brasil no tratamento das seguintes doenças: úlceras aftosas, lupus eritematoso, doença paciente-versus-enxerto e mieloma múltiplo. Algumas outras doenças, como caquexia aidética, Síndrome de Behçet, câncer renal e de próstata também estão sendo tratadas com este fármaco (BRASIL, 2007).

A Portaria nº 354/MS/SNVS de 15 de agosto de 1997 e a Portaria SVS/MS nº 344, de 12 de maio de 1999, regulamentam o registro, a produção, a comercialização, a exposição à venda, a prescrição e a dispensação dos produtos à base de talidomida e permitem seu uso em Eritema Nodoso Hansêmico, Úlceras Aftóides Idiopáticas nos pacientes portadores de VIH/SIDA, no Lúpus Eritematoso e na doença Enxerto-Versus-Hospedeiro. Porém, diante de pesquisas científicas que comprovaram resultados satisfatórios no tratamento de neoplasias, como também atendendo demandas de sociedades médicas, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) constituiu um grupo assessor composto por médicos, especialistas, oncologistas, dermatologistas. Como resultado, a Diretoria Colegiada aprovou

a Resolução RDC nº 34, de 20 de maio de 2000, autorizando sua utilização no tratamento de mieloma múltiplo refratário à quimioterapia (BRASIL, 2007).

Em junho de 2006, a ANVISA promoveu um painel no intuito de agir no cumprimento dos seus preceitos básicos de assegurar, não só a eficácia, a segurança e a qualidade de produtos e serviços de uso humano no Brasil, mas também o acesso universal e igualitário aos mesmos, tendo como base o Art. 196 da Constituição Brasileira. Entre as conclusões do “Painel de Utilização Terapêutica da Talidomida”, destacam-se: promover a educação continuada aos profissionais (prescritor e dispensador) e aos usuários; que seja obrigatório e garantido à paciente usuária de talidomida o acompanhamento periódico por ginecologista para a orientação e fornecimento dos métodos anticoncepcionais a serem utilizados; que as agências de fomento à pesquisa deverão estimular estudos envolvendo sucedâneos da talidomida dotados de perfil menos adverso. Com respeito aos ensaios clínicos utilizando a talidomida, a FUNED e outras indústrias só poderão fornecer a talidomida após a aprovação do estudo pelo CEP/CONEP, pela ANVISA e do parecer final do Departamento de Assistência Farmacêutica do MS. Outra conclusão diz respeito à necessidade de efetuar com extrema urgência uma revisão da bula do medicamento (BRASIL, 2007).

Em recente resolução do Ministério da Saúde (BRASIL, 2011), a ANVISA aprovou o Regulamento Técnico que dispõem sobre o controle das atividades que envolvem a substância talidomida e do medicamento que a contenha, mantendo a autorização da prescrição para os três programas de governo: Hanseníase (reação hansênica tipo eritema nodoso ou tipo II); DST/SIDA (úlceras aftóide idiopática em pacientes portadores de VIH/SIDA) e Doenças crônico-degenerativas (lúpus eritematoso sistêmico, doença enxerto contra hospedeiro, Mieloma Múltiplo).

Com base nos elementos apresentados anteriormente, fica evidenciada a relevância do estudo sobre a relação entre polimorfismo e características

farmacêuticas do insumo talidomida para a garantia da qualidade na produção industrial do respectivo medicamento.

**POLYMORPH SCREENING AND SOLID-STATE CHARACTERIZATION OF
ALPHA AND BETA-THALIDOMIDE**

Ana Paula Cappra Silva^{*}; Juliana Pogliã Carini; Silvia Ligório Fialho; Vitor Paulo Pereira; Paulo Mayorga; Pedro Eduardo Froehlich.

Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas

Faculdade de Farmácia

Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)

Av. Ipiranga, 2752, Cep: 90610-000, Porto Alegre - RS, Brazil

^{*}Corresponding author: Tel: +55 51 33085415; Fax: +55 51 33085313

E-mail adress: anapaula@farmacia.ufrgs.br

ABSTRACT

Thalidomide shows, at least, two polymorphic forms, alpha (α) and beta (β), each one isolated by crystallization using different conditions. Physical characterization of the solid state of a drug has become an extremely important area in pharmaceuticals and it has been the subject of many studies involving different analytical methods. For drugs with poorly aqueous solubility, as Thalidomide, the polymorphic form must be controlled to ensure adequate bioavailability. The aim of this work was to characterize Thalidomide polymorphs α and β to re-examine the presence of crystalline forms prepared by recrystallization from different organic solvents using distinct cooling procedures. The polymorphs were characterized by Fourier transformed infrared spectroscopy (FTIR), differential scanning calorimetry (DSC), X-ray diffraction (XRD) and quantified by Rietveld analyses. The size of the particles were analyzed by laser diffractometry, superficial area by Brunauer, Emmett and Teller method (BET) and morphology by scanning electron microscopy (SEM). For the recrystallization, an amount of α and β -Thalidomide were dissolved in different solvents and the insoluble material was removed by filtration. Each filtrate was underwent to the recrystallization process which was carried out at low room temperature ($23\pm 1^\circ\text{C}$) and refrigeration ($8\pm 2^\circ\text{C}$) with fast evaporation heat ($40\pm 1^\circ\text{C}$). The solid results from recrystallization were characterized by FTIR, DSC and XRD. The FTIR absorption spectra of α and β polymorphs showed different characteristics in the $-\text{NH}$ stretching band of the amide group and $-\text{CH}$ stretching band of aromatic ring. DSC scans of the α -polymorph presented an endothermic peak at 272 and 275°C and the β polymorph at 275°C . The XRD was useful to identify the crystalline phases of the samples. The α -polymorph showed higher intensity peak at $11.36^\circ 2\theta$ and the β polymorph display higher intensities at 11.78° , 12.94° and $13.7^\circ 2\theta$. The Rietveld refinement was useful in the quantification of crystalline phases of Thalidomide samples. The polymorphic purity of the sample identified as α polymorph was 99.97% while the sample identified as β polymorph was 99.00%. Particles size and superficial areas analyses demonstrated a similar mean diameter of 86.88 and 82.29 μm and superficial area of 3.07 and 4.47 m^2/g , for the α and β polymorphs, respectively. SEM analyses demonstrated that α and β polymorphs have distinct crystalline habits. These analyses showed to be efficient to characterize the Thalidomide crystalline forms and the results obtained by recrystallization permitted conclude that α or β -Thalidomide could exhibit other crystalline forms when submitted to different recrystallization conditions.

Keywords: Thalidomide, polymorphs, crystallization, Rietveld, physicochemical properties

CAPÍTULO 2

Discriminatory Dissolution test for tablets Containing Alpha and Beta – Thalidomide Polymorphs

Ana Paula Cappra Silva¹; Leonardo Zanchetti Meneghini¹; Lisiane Bajerski¹;
Juliana Pogliа Carini¹; Silvia Ligório Fialho²; Paulo Mayorga¹; Pedro Eduardo
Fröhlich¹✉.

^aPrograma de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Faculdade de
Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)

Av. Ipiranga, 2752

90610-000, Porto Alegre, RS, Brazil

^bFUNED – Fundação Ezequiel Dias

R. Conde Pereira Carneiro, 80, 30510-010, Belo Horizonte, MG, Brazil

✉Corresponding author:

Av. Ipiranga, 2752, Faculdade de Farmacia da UFRGS

90610-000, Porto Alegre, RS, Brazil

e-mail: pedroef@ufrgs.br

Phone/Fax: +55 51 33085313

ABSTRACT

Over the years, thalidomide has been prescribed for an increasing number of diseases, including multiple myeloma and erythema nodosum leprosum. In Brazil and some other countries, thalidomide is available in tablets and there is no official dissolution testing available for this dosage form. Considering this, a dissolution method was developed and validated for tablets containing 100 mg of the pure alpha or beta-thalidomide polymorphs in 1,000 mL vessels to verify if it was able to differentiate between polymorphs, since drug product is supposed to be formulated with the first one. This method was compared to the USP dissolution method described for thalidomide capsules (4,000 mL vessel), through independent model using difference and similarity factors as well as dissolution efficiencies. Dissolution kinetics was evaluated using zero-order, first-order, Higuchi and Korsmeyer-Peppas models. The kinetic parameters and the suitability of the models to experimental data were evaluated. The developed dissolution method was fully validated and it allowed a better discrimination of thalidomide polymorphs when compared to the USP method for the formulations tested. Considering that it uses a conventional dissolution apparatus with 1000 mL vessels and there is no method described for tablets it can be used as a quality control of thalidomide in this dosage form.

Keywords: thalidomide; polymorphism; dissolution; tablet

CAPÍTULO 3

**DEGRADATION STUDY OF THALIDOMIDE POLYMORPHS USING AN
UPLC-DAD-MS/MS METHOD AND DEGRADATION KINETIC**

Ana Paula Cappra Silva^{*}; Maribete Homrich Holzschuh; Leonardo Zanchetti
Meneghini; Silvia Ligório Fialho; Paulo Mayorga; Pedro Eduardo Froehlich.

Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas

Faculdade de Farmácia

Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)

Av. Ipiranga, 2752, Cep: 90610-000, Porto Alegre - RS, Brazil

^{*}Corresponding author: Tel: +55 51 33085415; Fax: +55 51 33085313

E-mail adress: anapaula@farmacia.ufrgs.br

ABSTRACT

The aim of this work was to develop and to validate an isocratic ultra performance liquid chromatographic (UPLC) method for the quantification of alpha (α) and beta (β) - thalidomide in raw material and tablets in the presence of the degradations products generated under stress conditions. The analyses were performed at 25 °C on a reversed-phase Acquity Waters® UPLC BEH C18 column using a mobile phase composed of 0.1 % formic acid:acetonitrile (80:20, v/v). The flow rate was 0.3 ml.min⁻¹ and the detection was carried out with a photodiode array detector at 237 nm. The method showed a linear response ($r = 0.9998$) from 25 to 125 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. No chromatographic interference was found during the analysis. The specificity and stability-indicating capability of the method was verified subjecting alpha and beta-thalidomide raw materials and tablets to acid and basic hydrolytic, oxidative, photolytic and thermal stress conditions. The mean of recovery of tablets was 100.3% with a high inter-day precision (relative standard deviation, RSD, <1.62%). Thalidomide degradation was observed only under alkaline conditions and the degradation products were suggested based on LC-MS/MS spectra. The performance of the method, linearity, accuracy, precision and robustness demonstrate that it can be used to quantify thalidomide without the interference of its major degradation products and it could be used in the quality control of the only formulation made in Brazil by FUNED, a public laboratory that produces medicines for the Brazilian Department of Health.

Keywords: ultra performance liquid chromatography; validation; mass spectrometry; degradation products; stability; thalidomide; polymorphism.

CAPÍTULO 4

**EVALUATION OF COMPACTION PROPRIETIES AND COMPRESSIBILITY
OF ALPHA AND BETA-THALIDOMIDE**

Ana Paula Cappra Silva^{*}; Vinicius Claudino Bica; Juliana Poggia Carini; Silvia Ligório Fialho; Pedro Eduardo Froehlich; Paulo Mayorga.

Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas

Faculdade de Farmácia

Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)

Av. Ipiranga, 2752, Cep: 90610-000, Porto Alegre - RS, Brazil

^{*}Corresponding author: Tel: +55 51 33085415; Fax: +55 51 33085313

E-mail adress: anapaula@farmacia.ufrgs.br

ABSTRACT

Thalidomide shows at least two polymorphic forms, alpha (α) and beta (β), each one isolated by crystallization using different conditions. Physical characterization of the solid state of a drug has become an extremely important area in pharmaceuticals and it has been the subject of many studies involving different analytical methods. In fact, this information allows the reduction in time demand to pre-formulation and formulation processes, adding a rational basis in selection and specification of raw materials. In addition, it was also observed a large interest in direct compression, mainly from an economic point of view. Thus, the aim of this work was to evaluate the compaction behavior of two polymorphic forms of thalidomide in order to observe the impact of polymorphism on the compressibility of these powders. The single-polymorph materials were compacted using a rotative instrumented compression machine. Compressibility of two polymorphic forms was approached by evaluating a decrease in porosity under pressure, Heckel's plot and increase of hardness as a function of applied force. From the point of view of the phenomenon of deformation, it was observed that the alpha polymorph has a better cohesion index and plastic behavior based on the resulting P_y values obtained by the equation of Heckel. The better compressibility performance makes alpha-thalidomide more favorable to the direct compression.

Keywords: thalidomide, polymorphism, physics of compression, Heckel plot

4. DISCUSSÃO GERAL

Muitos compostos orgânicos e inorgânicos de aplicação farmacêutica podem existir como uma ou mais formas cristalinas. O polimorfismo é caracterizado como a capacidade de uma substância existir como duas ou mais fases cristalinas que possuem diferentes arranjos e/ou conformações das moléculas na rede interna do cristal. Fármacos polimórficos apresentam a mesma estrutura química, porém diferem na estrutura interna, ou seja, cristalina, possuindo diferentes propriedades físico-químicas e mecânicas. Essas propriedades podem ter um impacto direto na fabricação do medicamento bem como na sua qualidade e desempenho, como estabilidade, dissolução e biodisponibilidade. Como resultado, fármacos que apresentam polimorfos devem receber uma análise precisa ao longo das várias fases do desenvolvimento do medicamento, fabricação e registro do produto final.

Outro aspecto relevante relacionado ao polimorfismo diz respeito ao processo de síntese, mais especificamente na etapa de cristalização. O crescimento cristalino é um processo camada por camada do qual a evolução destas camadas será definida pelo empacotamento da célula unitária do cristal. Se considerarmos que aproximadamente um terço dos compostos orgânicos e cerca de 80% dos fármacos apresenta polimorfismo em condições experimentais acessíveis, a eficaz caracterização da matéria-prima é de extrema importância para especificação do polimorfo que se quer utilizar.

Estudos recentes com os polimorfos da talidomida sintetizados no Brasil demonstraram, de modo geral, amostras com diferentes características do ponto de vista do tamanho de partículas, área superficial, constituição cristalina e polimórfica, comportamento térmico e velocidade de dissolução intrínseca (CARINI *et al*, 2009).

Diversos métodos são empregados para caracterização polimórfica de fármacos. O método atualmente mais eficaz para identificar a existência de polimorfismo é o da difração de raios X (DRX). Outros métodos, como espectroscópicos (FTIR), térmicos (DSC) e microscópicos (MEV) são geralmente usados para corroborar com os resultados da análise de DRX.

O estudo de recristalização da talidomida foi realizado com o objetivo de caracterizar os polimorfos da talidomida e avaliar a possibilidade de formação outras formas polimórficas através da recristalização em diferentes solventes sob diferentes temperaturas. As análises de DRX, FTIR, DSC e MEV foram eficientes para caracterização das formas cristalinas da talidomida e os cristais resultantes do processo de recristalização destes polimorfos.

O método de recristalização é geralmente avaliado no estudo de *screening* sólido, uma vez que um grande número de formas polimórficas podem ser descobertas com a mudança do sistema de solvente. O objetivo deste tipo de estudo é encontrar a melhor forma para o desenvolvimento do medicamento. A escolha da forma adequada é resultante do ajuste entre as propriedades físico-químicas e as propriedades biofarmacêuticas.

Durante o processo de cristalização, uma série de polimorfos pode ser obtida, começando pelo de menor estabilidade térmica e terminando com os polimorfos mais estáveis. A desvantagem da forma termodinamicamente mais estável é que ela quase sempre apresenta a menor solubilidade e assim, pode apresentar uma menor biodisponibilidade. No caso de fármacos de baixa solubilidade, como a talidomida, a formulação deve ser desenvolvida para que os efeitos de polimorfismo na dissolução e na bioequivalência possam ser minimizados.

A conversão de uma forma polimórfica em outra depende da sua estabilidade relativa em ultrapassar a barreira da conversão de fase sob condições de estresse aplicadas, como temperatura e/ou pressão. Conforme os termogramas de caracterização das matérias-primas de talidomida observa-se que o polimorfo α se interconverte a β a temperaturas elevadas (próximo a 275 °C). Podemos assim dizer que o polimorfo β é termodinamicamente mais estável que o α , ou seja, apresenta menor energia livre em relação ao outro polimorfo.

O método de refinamento de Rietveld permitiu quantificar a pureza das fases polimórficas das matérias-primas α e β , além de calcular o volume da

célula unitária destas amostras. O volume de célula do polimorfo β é praticamente duas vezes maior que o volume de célula do polimorfo α . Assim, os cristais com o mesmo tamanho de partícula terão diferentes taxas de dissolução. Polimorfo α terá maior taxa de dissolução por apresentar maior superfície livre. Estes resultados corroboram com a premissa que a forma polimórfica termodinamicamente mais estável quase sempre apresenta a menor solubilidade. Quando as diferenças entre a solubilidade das formas polimórficas são suficientemente grandes, pode afetar a biodisponibilidade do fármaco.

O teste de dissolução é usado, principalmente, para avaliar a qualidade do lote do medicamento produzido, fornecendo uma aproximação do comportamento de liberação do fármaco *in vivo*. Em particular, alterações acidentais da forma polimórfica podem ocorrer, impactando na biodisponibilidade do medicamento e muitas vezes são detectadas por testes de dissolução. Desta forma, é importante que o método de dissolução seja capaz de detectar alterações no produto, e principalmente para fármacos que apresentam baixa solubilidade. Assim, foi desenvolvido e validado neste trabalho um método de dissolução discriminativo capaz de detectar as diferenças nos perfis de dissolução para os comprimidos de 100 mg formulados com α e β -talidomida. Este método foi desenvolvido utilizando 1.000 ml de meio de dissolução e foi comparado com o método USP para talidomida que utiliza 4.000 ml de meio de dissolução.

Quando realizada a caracterização da matéria-prima e dos comprimidos de α e β -talidomida, algumas diferenças observadas nas propriedades físico-químicas (tamanho de partícula, área superficial) e parâmetros tecnológicos (dureza, friabilidade) não foram relevantes no que diz respeito à rápida desintegração dos comprimidos. No entanto, a existência de polimorfismo parece ter um efeito muito maior na taxa de dissolução, provavelmente relacionado com o volume de célula unitária calculado anteriormente. O método desenvolvido é mais fácil para a rotina do controle de qualidade, por utilizar o equipamento de dissolução convencional e mostrou ser discriminativo para os

polimorfos α e β na forma farmacêutica comprimidos de 100 mg, sendo uma alternativa importante para o controle da qualidade da talidomida.

A estrutura química da talidomida sofre hidrólise espontânea em solução aquosa a pH 7,0. Além disso, talidomida apresenta mais de 20 produtos derivados da metabolização. De acordo com o ICH (ICH, 2007), é importante avaliar a segurança biológica de impurezas ou de produtos de degradação do fármaco ou forma farmacêutica. Com base nisso, foi desenvolvido e validado um método analítico rápido utilizando equipamento UPLC-DAD-MS/MS para estudar a estabilidade da talidomida em condições forçadas de degradação.

A talidomida apresentou instabilidade frente à hidrólise alcalina e os produtos de degradação desta hidrólise foram sugeridos através da técnica de espectrometria de massa. O método foi sensível e seletivo para quantificar a talidomida na forma farmacêutica comprimidos e os produtos majoritários de degradação, α -(o-carboxibenzamido) glutarimida e ácido 2 e/ou 4-(o-carboxibenzamido) glutarâmico formados em condições alcalinas. A taxa de degradação, assim como os produtos formados da degradação são pH dependentes.

Devido às diferenças entre as diversas formas de empacotamento do material particulado sólido, estes podem apresentar diferenças de comportamento compressional. Estas diferenças normalmente estão relacionadas com as características da estrutura interna cristalina oriunda da célula unitária (polimorfismo) e externa (hábito cristalino). Foi mostrado que os polimorfos da talidomida apresentam diferentes células unitárias e, conseqüentemente, diferenças na molhabilidade e solubilidade. Sabe-se também que apresentam diferentes hábitos cristalinos. O polimorfo α apresenta hábito cristalino prismático tabular enquanto que o polimorfo β apresenta hábito cristalino placóide.

A forma farmacêutica desenvolvida para a produção do medicamento talidomida Funed é comprimido de 100 mg, pelo método de compressão direta. A eficiência do processo de compressão depende das propriedades físicas do

fármaco e dos excipientes, bem como do tempo e da magnitude da força aplicada para formação do comprimido. Sob estas influências as partículas de um material sólido podem sofrer deformação plástica (manutenção da massa compactada), elástica (resistência à deformação) ou fragmentativa (ruptura do material particulado).

Sabe-se da influência das diferentes formas cristalinas e suas características físico-químicas e mecânicas do sólido. Deste modo, as propriedades do fármaco devem ser entendidas para garantir um produto de desempenho preciso. É recomendado o uso da forma cristalina com maior estabilidade físico-química para o desenvolvimento da formulação. Entretanto, nem sempre esta forma cristalina apresenta as melhores propriedades farmacêuticas, tanto no aspecto tecnológico como biofarmacêutico. Neste contexto, foi estudado o comportamento compressional dos polimorfos α e β -talidomida, aplicando a equação de Heckel para os compactos formados em diferentes pressões utilizando máquina de comprimir rotativa instrumentalizada. O estudo permitiu comparar os perfis de compactação de α e β -talidomida. Do ponto de vista do fenômeno da deformação, observou-se que para o polimorfo α existe predomínio do comportamento plástico, mais favorável para a compressão direta. Sob o aspecto tecnológico, foi observada a tendência para laminação de compactos com β -talidomida, provavelmente em função da recuperação elástica, como resultados obtidos através da equação de Heckel. Materiais mais amorfos ou de menor estabilidade termodinâmica, que apresentam maior energia livre, favorecem a deformação plástica (BOLHUIS e HOWHAN, 1996). Este comportamento pode ser observado nos polimorfos da talidomida, uma vez que o polimorfo α , menos estável termodinamicamente, apresentou comportamento plástico, sem deformação, em relação ao polimorfo β , com tendência à deformação elástica.

Com base nos elementos apresentados neste trabalho, fica evidente a relevância do estudo sobre a relação entre polimorfismo e características farmacêuticas da talidomida para a garantia da qualidade na produção industrial do respectivo medicamento. Da mesma forma, é possível vislumbrar

uma base racional para a escolha do polimorfo α , tendo em vista a viabilidade tecnológica da compressão direta.

Estudos futuros relacionados à biodisponibilidade serão de relevante contribuição no sentido de estabelecer a correlação *in vitro* / *in vivo* bem como para aprofundar o entendimento sobre a influência do polimorfismo da talidomida nas suas propriedades biofarmacêuticas. Finalmente, o presente estudo auxiliou na qualificação das atividades desenvolvidas no âmbito de um dos maiores Laboratórios Oficiais, contribuindo, em última análise, para a garantia da qualidade de produtos distribuídos através do Sistema Único de Saúde.

5. CONCLUSÕES

- Os resultados de caracterização da matéria-prima quanto a tamanho de partícula, área superficial, polaridade e umidade se apresentaram similares para α e β -talidomida;
- Os ensaios utilizados para caracterizar as formas cristalinas da talidomida também demonstraram ser eficientes para caracterizar os cristais resultantes da recristalização destes polimorfos;
- Como regra geral, a forma termodinamicamente mais estável (β -talidomida) é obtida quando operada em condições mais brandas, enquanto a forma termodinamicamente menos estável (α -talidomida) é esperada em condições mais enérgicas;
- Os polimorfos α e β -talidomida podem apresentar interconversão entre uma e outra forma quando submetidas a diferentes condições de recristalização;
- Algumas pequenas diferenças nas propriedades físico-químicas observadas (tamanho de partícula, área superficial) e parâmetros tecnológicos (dureza, friabilidade) não apresentaram relevância significativa pela rápida desintegração dos comprimidos;
- O método de dissolução apresentou ser específico, linear, preciso, exato demonstrando que pode ser usado para quantificar a talidomida liberada da forma farmacêutica comprimido de 100 mg;
- O perfil de dissolução, com comprimidos β -talidomida não alcançaram os critérios de dissolução para o método proposto;
- O método de dissolução desenvolvido (1 L) apresenta maior praticidade quando aplicado na rotina de controle de qualidade e apresenta resultados similares ($f1$ e $f2$) quando comparados ao Método USP (4L);

- O método de dissolução proposto neste trabalho mostrou ser discriminativo, sendo uma importante alternativa ao método oficial para o controle de qualidade dos comprimidos de talidomida;
- O método UPLC-DAD desenvolvido e validado para quantificação da talidomida no estudo de estabilidade sob condições de estresse forçado apresentou ser linear, preciso, exato e robusto;
- O método de UPLC-DAD desenvolvido foi específico para separar os produtos de degradação da talidomida;
- A talidomida não apresentou fotossensibilidade e o método usado para avaliar a fotoestabilidade apresentou ser seletivo;
- A talidomida não apresentou degradação quando exposta à temperatura de 60 °C;
- Três produtos majoritários de degradação, α -(o-carboxibenzamido) glutarimida, ácido 2- e 4-(o-carboxibenzamido) glutarâmico (mais polares) foram observados em condições alcalinas (NH_4OH 0,1 e 0,01 M);
- UPLC-MS/MS mostrou ser eficiente para sugerir os produtos da degradação da talidomida sob condições de estresse alcalina;
- A taxa de degradação, assim como os compostos formados pela degradação são pH dependentes;
- O estudo da física da compressão para os polimorfos da talidomida apresentou diferenças do comportamento compressional destes polimorfos;

- O polimorfo α apresentou melhor índice de coesão e comportamento mais plástico (menor P_y), quando comparado ao polimorfo β ;
- Sob aspectos tecnológicos, o polimorfo β apresentou tendência a laminação, provavelmente em função da recuperação elástica;
- O melhor desempenho de compressibilidade foi obtido pelo polimorfo α , mais favorável à compressão direta.

REFERÊNCIAS

ALLEN, F.H.; TROTTER, J. Crystal and molecular structure of thalidomide, N-(α -glutarimido)-phthalimide. **Journal of Chemical Society (B)**, p. 1073-1079, 1971.

ANTONIO, S.G.; BENINI, F.R.; FERREIRA, F.F.; ROSA, P.C.P.; PAIVA-SANTOS, C.O. Quantitative phase analyses through the Rietveld method with X-Ray powder diffraction data of heat-treated carbamazepine form III. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, Article in Press, 2011.

BARD, J.P. Microtextures des roches magmatiques et metamorphiques. Paris, France: 1980, 192 p.

BLAGDEN, N.; de MATAS, M.; GAVAN, P.T.; YORK, P. Crystal engineering of active pharmaceutical ingredients to improve solubility and dissolution rates. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 59, p. 617-630, 2007.

BOSCH, M.E.; SÁNCHEZ, A.J.R.; ROJAS, F.S.; OJEDA, C.B. Recent advances in analytical determination of thalidomide and its metabolites. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 46, p. 9-17, 2008.

BRASIL, Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Resolução nº 482, de 19 de março de 2002. Guia para estudos de correlação in vitro-in vivo (CIVIV). **Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil**, 20/03/2002.

BRASIL, Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Resolução nº 896, de 29 de maio de 2003. Guia para provas de biodisponibilidade relativa/bioequivalência de medicamentos. **Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil**, 02/06/2003a

BRASIL, Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Gerência de Pesquisas, Ensaios Clínicos, Medicamentos Biológicos e Novos. talidomida a necessidade de nova regulamentação, 2007

BRASIL, Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Resolução nº 11, de 22 de março de 2011. Controle da substância Talidomida e do medicamento que a contenha. . **Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil**, 24/03/2011.

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

CALABRESE, L.; FLEISCHER, A.B. Thalidomide: current and potential clinical applications. **The American Journal of Medicine**. v. 108, p. 488-495, 2000.

CANER, H.; GRONER, E.; LEVY, L. Trends in the development of chiral drugs. **Drug Discovery Today**, v. 9, p. 105-110, 2004.

CAIRA, M.R.; BOTHA, S.A.; FLANAGAN, D.R. Polymorphism of N-(2,6-dioxo-3-piperidyl)phthalimide (Thalidomide): structural characterization of a second monoclinic racemic modification. **Journal of Chemical Crystallography**, v. 24, p. 95-99, 1994.

CARINI, J.P.; PAVEI, C.; SILVA, A.P.C.; MACHADO, G.; MEXIAS, A.S.; PEREIRA, V.P.; FIALHO, S.L.; MAYORGA, P. Solid state evaluation of some Thalidomide raw materials. **International Journal of Pharmaceutics**. v. 372, p. 17-23, 2009.

CIPRIANI, P.; SMITH, C.Y. Characterization of thalidomide using Raman spectroscopy. **Spectrochimia Acta Part A**. Article in press, 2007.

ERIKSSON, T.; BJÖRKMAN, S.; ROTH, B.; FYGE, A.; HÖGLUND, P. Stereospecific determination, chiral inversion in vitro and pharmacokinetics in humans of the enantiomers of thalidomide. **Chirality**, v. 7, p. 44-52, 1995.

ERIKSSON, T.; BJÖRKMAN, S.; ROTH, B.; FYGE, A.; HÖGLUND, P. Enantiomers of thalidomide: blood distribution and the influence of serum albumin on chiral inversion and hydrolysis. **Chirality**, v. 10, p. 223-228, 1998.

ERIKSSON, T.; BJÖRKMAN, S.; ROTH, B.; BJÖRK, H.; HÖGLUND, P. Hydroxylated metabolites of thalidomide: formation in vitro and in vivo in man. **Journal of Pharmaceutical Pharmacology**, v. 50, p. 1409-1416, 1998.

ERKOÇ, S.; ERKOÇ, F. Quantum chemical investigation of thalidomide molecule. **Theochem**, v. 719, p. 1-5, 2005.

FDA. U.S. Food and Drug Administration. Center for Drug Evaluation and Research, Rockville, 1998. Disponível em:
<<http://www.fda.gov/cder/foi/label/1998/20785lbl.pdf>> Acesso em 05/12/2007.

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

FUNDAÇÃO EZEQUIEL DIAS. **Bula Funded talidomida**. Belo Horizonte, 2007. Disponível em:
http://www.funed.mg.gov.br/produtos_servicos/medicamentos/bulas/pdf/Bula-FUNED%20talidomida-pdf.pdf
Acesso em 05/12/2007.

HILFIKER, R.; BLATTER, F.; RAUMER, M. Relevance of solid-state properties for pharmaceutical products. In: **Polymorphism in the Pharmaceutical Industry**. Weinheim: Wiley-VCH, 2006, p. 1-19. (a)

HILFIKER, R.; DE PAUL, S.M.; SZELAGIEWICZ, M. Approaches to polymorphism screening. In: **Polymorphism in the Pharmaceutical Industry**. Weinheim: Wiley-VCH, 2006, p. 287-308. (b)

HUANG, Y-J.; LIAO, J-F.; TSAI, T-H. Concurrent determination of thalidomide in rat blood, brain and bile using multiple microdialysis couplet to liquid chromatography. **Biomedical Chromatography**, v. 19, p. 488-493, 2005.

KRÖEGER, N.; BADBARAN, A.; LIOZNOV, M.; SCHWARS, B.; ZESCHEKE, S.; HILDEBRAND, Y.; AYUK, F.; ATANACKOVIC, D.; SCHILLING, G.; ZABELINA, T.; BACHER, U.; KLYUCHNIKOV, E.; SHIMONI, A.; NAGLER, A.; CORRADINI, P.; FEHSE, B.; ZANDER, A. Post-transplant immunotherapy with donor-lymphocyte infusion and novel agents to upgrade partial into complete and molecular remission in allografted patients with multiple myeloma. **Experimental Hematology**. Article in Press, 2009.

KUMAR, S.; RAJKUMAR, S.V. Thalidomide and lenalidomide in the treatment of multiple myeloma. **European Journal of Cancer**, v. 42, p. 1612-1622, 2006.

LARA-OCHOA, F.; PÉREZ, G.E.; MIJANGOS-SANTIAGO, F. Calorimetric determinations and theoretical calculations of polymorphs of thalidomide. **Journal of Molecular Structure**. v. 840, p. 97-106, 2006.

LIMA, L.M.; FRAGA, C.A.M.; BARREIRO, E.J. O renascimento de um fármaco: talidomida. **Química Nova**, v. 24, p. 683-688, 2001.

MARRIOTT, J.B.; MULLER, G.; DALGLEISH, A.G. Thalidomide as an emerging immunotherapeutic agent. **Trends Immunology Today**, v. 20, p. 538-540, 1999.

MARTINS, F.T.; BOCELLI, M.D.; BONFILIO, R.; ARAÚJO, M.B.; LIMA, P.V.; NEVES, P.P.; VELOSO, M.P.; ELLENA, J.; DORIGUETTO, A.C. Conformational polymorphism in racemic crystals of the diuretic drug chlortalidone. **Crystal Growth and Design**, v. 9 (7), p. 3235-3244, 2009.

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

MURPHY-POULTON, S.F.; BOYLE, F.; GU, X.Q.; MATHER, L.E. Thalidomide enantiomers: determination in biological samples by HPLC and vancomycin-CSP. **Journal of Chromatography B**, v. 831, p. 48-56, 2006.

OLIVEIRA, A.M.; DURVANEI, A.M.; MELTZGER, M.; LINARDI, C.; GIORGI, R.R.; MOURA, F.; MARTINEZ, G.A.; BYDLOWSKI, S.P.; NOVAK, E.M. Thalidomide treatment down-regulates SDF-1 α and CXCR4 expression in multiple myeloma patients. **Leukemia Research**. v. 33, p. 970-973, 2009.

REEPMEYER, J.C.; RHODES, M.O.; COX, D.C.; SILVERTON, J.V. Characterization and crystal structure of two polymorphic forms of racemic

thalidomide. **Journal Chemical Society-Perkin Transactions**, v. 2, n.9, p. 2063-2067, 1994.

REEMMEYER, J.C.; COX, D.C. Liquid chromatographic determination of thalidomide in tablets, capsules and raw materias. **Journal of AOAC Internacional**, v. 80, p. 767-773, 1997.

REIST, M.; CARRUPT, P-A.; FRANCOFFE, E.; TESTA, B. Chiral inversion and hidrolisis of thalidomide: mechanisms and catalysis by bases and serum albumin, and chiral stability of teratogenic metabolites. **Chemical Research Toxicology**, v. 11, p. 1521-1528, 1998.

SHARMA, R.A.; STEWARD, W.P.; DAINES, C.A.; KNIGHT, R.D.; O'BYRNE, K.J.; DALGLEISH, A.G. Toxicity profile of the immunomodulatory thalidomide analogue, lenalidomide: phase I clinical trial of three dosing schedules in patients with solid malignancies. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**. v. 42, p. 2318-2325, 2006.

SINDER, D.A.; ADDICKS, W.; OWENS, W. Polymorphism in generic drug product development. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 5, p. 391-395, 2004.

SOARES, L.A.L.; PETROVICK, P.R. Física da compressão. **Caderno de Farmácia**, v. 15, p. 65-79, 1999.

TEO, S.K.; COLBURN, W.A.; TRACEWELL, W.G.; KOKK, K.A.; STIRLING, D.I.; JAWORSKY, M.S.; SCHEFFER, M.A.; THOMAS, S.D.; LASKIN, O.L. Clinical pharmacokinetics of thalidomide. **Clinical Pharmacokinetics**, v. 43 (5), p. 311-327, 2004.

USP 34. **The United States Pharmacopeia**. 33 ed. Rockville: United States Pharmacopeia Convention, 2010.

VEGA, D.; PETRAGALLI, A.; FERNÁNDEZ, D.; ELLENA, J.A. Polymorphism on leflunomide: stability and crystal structures. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 95 (5), 2006.

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

YANG, X.; HU, Z.; CHAN, S.Y.; HO, P.C.; CHAN, E.; DUAN, W.; GOH, B.C.; ZHOU, S. Determination of thalidomide by hight performance liquid chromatography: plasma pharmacokinetic studies in the rat. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 39, p. 299-304, 2005.