

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS

HOMERO DE OLIVEIRA JUNIOR

**FORMAS SÓLIDAS DE CETOPROFENO: OBTENÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E
AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA NA QUALIDADE DE INGREDIENTES
FARMACÊUTICOS ATIVOS**

Alfenas/MG

2021

HOMERO DE OLIVEIRA JUNIOR

**FORMAS SÓLIDAS DE CETOPROFENO: OBTENÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E
AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA NA QUALIDADE DE INGREDIENTES
FARMACÊUTICOS ATIVOS**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para
obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas
pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências
Farmacêuticas da Universidade Federal de Alfenas.

Orientador: Prof. Dr. Rudy Bonfilio.

Alfenas/MG

2021

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal de Alfenas
Biblioteca Central – Campus Sede

Oliveira Junior, Homero de
O48f Formas sólidas de cetoprofeno: obtenção, caracterização e avaliação da
influência na qualidade de ingredientes farmacêuticos ativos / Homero de
Oliveira Junior – Alfenas, MG, 2021.
125 f.: il. –

Orientador: Rudy Bonfilio.
Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal de
Alfenas, 2021.
Bibliografia.

1. Cetoprofeno sódico. 2. Cocrystal de cetoprofeno. 3. Validação. 4.
Solubilidade. 5. Estabilidade Acelerada. I. Bonfilio, Rudy. II. Título.

CDD- 615

HOMERO DE OLIVEIRA JÚNIOR

"FORMAS SÓLIDAS DE CETOPROFENO: OBTENÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA NA QUALIDADE DE INGREDIENTES FARMACÊUTICOS ATIVOS"

A Banca examinadora abaixo-assinada aprova a Dissertação apresentada como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas pela Universidade Federal de Alfenas. Área de concentração: Ciências Farmacêuticas

Aprovada em: 31 de agosto de 2021.

Prof. Dr. Rudy Bonfilio
Instituição: Universidade Federal de Alfenas

Prof. Dr. Ana Carolina Kogawa
Instituição: Universidade Federal de Goiás

Prof. Dr. Antônio Carlos Doriguetto
Instituição: Universidade Federal de Alfenas



Documento assinado eletronicamente por **Rudy Bonfilio, Professor do Magistério Superior**, em 31/08/2021, às 16:18, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Ana Carolina Kogawa, Usuário Externo**, em 31/08/2021, às 16:19, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Antônio Carlos Doriguetto, Professor do Magistério Superior**, em 31/08/2021, às 16:19, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.unifal-mg.edu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador 0583995 e o código CRC E56C5B94.

*Dedico este trabalho às mulheres
mais importantes da minha vida:
Cleuza, Vitória, Rafaela, Mariana,
Gabriela e Francisca.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por me fortalecer a cada provação ao longo desta jornada.

À minha família, principalmente minha mãe, Cleuza, que sempre acreditou na minha capacidade e me apoiou em todas as minhas escolhas, estando ao meu lado em todos os momentos. À minha irmãzinha Vitória, que sempre foi minha fonte de inspiração e incentivo a sempre querer prosseguir. À minha irmã e sobrinhas, Rafaela, Gabriela e Mariana, que sempre se orgulharam e estiveram torcendo por todas as minhas conquistas. À minha avó Francisca e meu avô Fernandes (*in memoriam*) que são os pilares de tudo que construí até hoje. Ao meu companheiro Lourival que foi suporte e me incentivou a persistir na etapa final deste trabalho.

Um agradecimento especial ao meu orientador, professor Dr. Rudy Bonfilio, pela parceria, paciência, e todo conhecimento que tem compartilhado comigo.

Agradeço aos professores, Dra. Magali Benjamim de Araújo pelo acolhimento no laboratório, Dra. Gislaine Pereira e Dr. Antônio Carlos Doriguetto pelo auxílio nas pesquisas.

Aos alunos Thúlio Lemos, Bruno Arantes, Marillia Toti, Rayssa Araújo, Ataislaire Batista e Maria Teresa, pela amizade e auxílio na realização desse mestrado e a toda equipe do Laboratório Núcleo de Controle de Qualidade da Unifal-MG.

À Universidade Federal de Alfenas, em especial à Faculdade de Ciências Farmacêuticas e ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Unifal-MG.

Aos órgãos de fomento: CNPq pela bolsa, CAPES pelo financiamento ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Fapemig e Finep pela contribuição financeira.

E a todos que participaram de alguma forma desta conquista.

O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

RESUMO

O cetoprofeno é um Insumo Farmacêutico Ativo (IFA) que apresenta baixa solubilidade em solventes aquosos. Além disso, apresenta outros desafios relacionados às suas propriedades farmacológicas, tais como necessidade de diminuir efeitos colaterais gastrointestinais e meia-vida de eliminação curta. Várias estratégias de formulação têm sido utilizadas para lidar com estes problemas, tais como: preparações injetáveis para início de ação rápido, supositórios e revestimentos entéricos para diminuir os efeitos gastrointestinais e formas farmacêuticas de liberação controlada para contornar os problemas de meia-vida de eliminação curta. Por outro lado, o uso de sais e cocristais de cetoprofeno sempre atraiu um interesse substancial, devido às possibilidades de melhorias obtidas no que diz respeito à tolerabilidade e solubilidade, com aumento da taxa e extensão de absorção e redução do início do efeito terapêutico. Sendo assim os objetivos deste trabalho são realizar estudos de obtenção, caracterização, estabilidade acelerada e solubilidade em diferentes formas sólidas de cetoprofeno. Inicialmente, dois métodos analíticos foram validados para aplicação nos estudos: um método espectrofotométrico e um método por CLAE. O método por CLAE demonstrou melhores resultados de seletividade, precisão e exatidão, sendo este o escolhido para os demais ensaios do trabalho. Foram obtidas duas formas sólidas com estruturas cristalinas não reportadas na base *Cambridge Structural Database* (CSD): o sal sódico de cetoprofeno (CETNa) e um cocristal de cetoprofeno e sacarina 1:2 (CET_SMPT_SAC_5). As amostras foram caracterizadas por estudos de difração de raios-X de pó (DRXP), espectroscopia na região do infravermelho (IV) e análises térmicas (TG e DSC). Além disso, foram realizados estudos de estabilidade acelerada e solubilidade. Entretanto, embora o cocristal de cetoprofeno e sacarina 1:2 tenha sido caracterizado, a sua obtenção não se mostrou reprodutível, não sendo possível realizar estudos de solubilidade na amostra. Os estudos de solubilidade em CETNa demonstraram que sua solubilidade em água foi cerca de 80 vezes maior. No entanto, CETNa apresentou problemas de estabilidade em comparação ao CETMP, onde CETNa apresentou um teor menor depois de 3 meses de ensaio sob as condições experimentais dos estudos de estabilidade acelerada. Também apresentou amorfização nos estudos de estabilidade e após tamisação, fatores que são desvantajosos. Sendo assim, não foi possível propor uma forma farmacêutica sólida de uso oral para este sal. Entretanto, estudos de caracterização de diferentes formas sólidas de IFAs são de fundamental importância para contribuir com aspectos relacionados à qualidade, segurança e eficácia de medicamentos.

Palavras-chave: Cetoprofeno sódico; Cocristal de cetoprofeno; Validação; Solubilidade; Estabilidade Acelerada

ABSTRACT

Ketoprofen is an Active Pharmaceutical Ingredient (API) that has low solubility in aqueous solvents. Furthermore, it presents other challenges related to its pharmacological properties, such as: the need to reduce gastrointestinal side effects and short elimination half-life. Various formulation strategies have been used to deal with these problems, like injectable preparations for rapid release, suppositories, and enteric coatings to decrease gastrointestinal effects, and controlled-release dosage forms to circumvent short elimination half-life problems. On the other hand, the use of salts and co-crystals of ketoprofen has always attracted substantial interest, due to the possibilities of improvements obtained regarding tolerability and solubility, with rate and extent of absorption increase, and onset of the therapeutic effect reduction. Therefore, the aims of this research were to carry out studies of ketoprofen solid-state obtention, characterization, accelerated stability and solubility. Initially, two analytical methods were validated for application in the study: a spectrophotometric method and a HPLC method. The HPLC method showed better results in selectivity, precision, and accuracy, which was chosen for the other tests. Two solid forms with crystal structures not reported in the Cambridge Structural Database (CSD) were obtained: the sodium salt of ketoprofen (CETNa) and a cocrystal of ketoprofen and saccharin 1:2 (CET_SMPT_SAC_5). The samples were characterized by X-ray powder diffraction (XRDP), infrared spectroscopy (IR) and thermal analysis (TG and DSC) studies. In addition, accelerated stability and solubility tests were performed. However, although the cocrystal of ketoprofen and saccharin 1:2 has been characterized, its achievement was not reproducible, making it impossible to carry out solubility studies in the sample. Solubility studies in CETNa demonstrated that its solubility in water was about 80 times greater. Nevertheless, CETNa presented stability problems compared to CETMP, where CETNa had a lower content after 3 months of testing under the experimental accelerated stability conditions. It also showed amorphization in stability studies and after sieving, which are disadvantageous factors. Therefore, it was not possible to propose a solid pharmaceutical form for oral use for this salt. However, characterization studies of different solid forms of APIs are fundamental to contribute to aspects related to the quality, safety and efficacy of medicines.

Keywords: Ketoprofen sodium; Ketoprofen cocrystal; Validation; Solubility; Accelerated Stability

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura química do cetoprofeno.....	22
Figura 2 - Cálculo de logD da estrutura do cetoprofeno.	23
Figura 3 - Representação gráfica do empacotamento da estrutura do cetoprofeno codificada como KEMRUP.	23
Figura 4 - Representação gráfica do empacotamento da estrutura do cetoprofeno codificada como KEMRUP01.	24
Figura 5 - Representação gráfica do empacotamento da estrutura do cetoprofeno codificada como MIRGAY01.....	25
Figura 6 - Representação gráfica do empacotamento da estrutura do cetoprofeno codificada como MIRGAY02.....	25
Figura 7 - Representação gráfica do empacotamento da estrutura do cetoprofeno codificada como COZBAX	26
Figura 8 - Difrátogramas calculados a partir das estruturas cristalinas reportadas para o cetoprofeno: KEMRUP; KEMRUP01; MIRGAY01; MIRGAY02 e COZBAX.....	27
Figura 9 - Sobreposição de espectros de soluções de matéria-prima de cetoprofeno, padrão secundário de cetoprofeno e placebo para determinação da seletividade de método espectrofotométrico para determinação de cetoprofeno em cápsulas, utilizando como solvente NaOH 0,1 mol.L ⁻¹	59
Figura 10 - Representação gráfica das respostas em função das concentrações do analito em estudo de linearidade de método espectrofotométrico para determinação de cetoprofeno em cápsulas. Leituras em 260 nm.....	63
Figura 11 - Representação gráfica de resíduos obtidos em estudo de linearidade de método espectrofotométrico para determinação de cetoprofeno em cápsulas. Leituras em 260 nm.....	64
Figura 12 - Cromatograma de cetoprofeno SQR com detecção em 260 nm.	70
Figura 13 - Representação gráfica das respostas em função das concentrações do analito em estudo de linearidade de método por CLAE para determinação de cetoprofeno em cápsulas.	74
Figura 14 - Representação gráfica de resíduos obtidos em estudo de linearidade de método por CLAE para determinação de cetoprofeno em cápsulas.	75
Figura 15 - Padrão de difração de Raios-X experimental da matéria-prima do cetoprofeno designada como CETMP-1, em comparação com os difratogramas calculados.....	80
Figura 16 - Padrões de difração de Raios-X experimentais das matérias-primas do cetoprofeno designadas como CETMP-1 a CETMP-4, em comparação com o difratograma calculado de cetoprofeno mistura racêmica.	80

Figura 17 - Padrões de difração de Raios-X experimentais das matérias-primas do cetoprofeno designadas como CETMP-5 a CETMP-8, em comparação com o difratograma calculado de cetoprofeno mistura racêmica.	81
Figura 18 - Padrão de difração de Raios-X experimental da forma obtida designada como CETNa, em comparação com os difratogramas calculados de cetoprofeno.	82
Figura 19 - Difratogramas dos ensaios de tentativas de obtenção de polimorfos de cetoprofeno.	83
Figura 20 - Difratogramas dos ensaios de tentativas de obtenção de cocristais de cetoprofeno pela metodologia SMPT utilizando ácido cítrico como coformador.	85
Figura 21 - Difratogramas dos ensaios de tentativas de obtenção de cocristais de cetoprofeno pela metodologia SMPT utilizando ácido cítrico como coformador.	85
Figura 22 - Difratogramas dos ensaios de tentativas de obtenção de cocristais de cetoprofeno pela metodologia SMPT utilizando ácido cítrico como coformador.	86
Figura 23 - Difratogramas dos ensaios de tentativas de obtenção de cocristais de cetoprofeno pela metodologia SMPT utilizando ácido cítrico como coformador.	86
Figura 24 - Difratogramas dos ensaios de tentativas de obtenção de cocristais de cetoprofeno pela metodologia SMPT utilizando ácido acetilsalicílico como coformador.	87
Figura 25 - Difratogramas dos ensaios de tentativas de obtenção de cocristais de cetoprofeno pela metodologia SMPT utilizando ácido ascórbico como coformador.	87
Figura 26 - Difratogramas dos ensaios de tentativas de obtenção de cocristais de cetoprofeno pela metodologia SMPT utilizando ácido ascórbico como coformador.	88
Figura 27 - Difratogramas dos ensaios de tentativas de obtenção de cocristais de cetoprofeno pela metodologia SMPT utilizando ácido esteárico como coformador.	88
Figura 28 - Difratogramas dos ensaios de tentativas de obtenção de cocristais de cetoprofeno pela metodologia SMPT utilizando ácido fumárico como coformador.	89
Figura 29 - Difratogramas dos ensaios de tentativas de obtenção de cocristais de cetoprofeno pela metodologia SMPT utilizando ácido glutâmico como coformador.	89
Figura 30 - Difratogramas dos ensaios de tentativas de obtenção de cocristais de cetoprofeno pela metodologia SMPT utilizando ácido glutâmico como coformador.	90
Figura 31 - Difratogramas dos ensaios de tentativas de obtenção de cocristais de cetoprofeno pela metodologia SMPT utilizando sacarina como coformador.	91
Figura 32 - Difratogramas dos ensaios de tentativas de obtenção de cocristais de cetoprofeno pela metodologia SMPT utilizando sacarina como coformador.	91
Figura 33 - Difratogramas de CET_SAC_SMPT_5 em comparação com CETMP-1 e SAC.	92
Figura 34 - Difratogramas de amostras de tentativas reprodução de cocristais de cetoprofeno:sacarina pela metodologia SMPT.	94

Figura 35 - Espectros de infravermelho do cetoprofeno matéria-prima (CETMP) e da forma obtida pelo processo de recristalização utilizando hidróxido de sódio (CETNa).	95
Figura 36 - Espectros de infravermelho de cetoprofeno matéria-prima (CETMP), da sacarina (SAC) e da forma obtida pelo método de screening via SMPT utilizando sacarina como coformador (CET_SAC_SMPT_5).	97
Figura 37 - Ampliação de espectros de infravermelho de cetoprofeno matéria-prima (CETMP), da sacarina (SAC) e da forma obtida pelo método de screening via SMPT utilizando sacarina como coformador (CET_SAC_SMPT_5).	99
Figura 38 - Curva de DSC de CETMP-1.	100
Figura 39 - Curva de TGA de CETMP-1.	100
Figura 40 - Curva de DSC de CETNa.	101
Figura 41 - Curva de TGA de CETNa.	101
Figura 42 - Curva de DSC de CET_SAC_SMPT_5 em comparação com os resultados obtidos a partir de CETMP-1, SAC e de uma mistura física de cetoprofeno e sacarina na proporção molar 1:2.	102
Figura 43 - Curva de TGA de CET_SAC_SMPT_5 em comparação com os resultados obtidos a partir de CETMP-1, SAC e de uma mistura física de cetoprofeno e sacarina na proporção molar 1:2.	103
Figura 44 - Cromatogramas de solução padrão de cetoprofeno, solução de sacarina e solução de CET_SMPT_SAC_5.	106
Figura 45 - Difractogramas do estudo de estabilidade acelerada de CETMP nos tempos 0, 3 e 6 meses	107
Figura 46 - Difractogramas do estudo de estabilidade acelerada de CETNa nos tempos 0, 3 e 6 meses	108
Figura 47 - Curva de TGA de CETNa após seis meses do estudo de estabilidade.	109
Figura 48 - Difractogramas do estudo de estabilidade acelerada de CET_SMPT_SAC_5 nos tempos 0, 3 e 6 meses	110
Figura 49 - Solubilidades de formas sólidas do cetoprofeno a 37 °C e 48 horas.	114
Figura 50 - Difractogramas das amostras de pó remanescentes do estudo de solubilidade da matéria prima de cetoprofeno.	115
Figura 51 - Difractogramas das amostras de pó remanescentes do estudo de solubilidade do cetoprofeno sódico.	115

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Os sete sistemas cristalinos, definidas a partir dos parâmetros de rede.	20
Tabela 2 - Concentrações de cetoprofeno em água destilada, utilizadas no ensaio de linearidade.	42
Tabela 3 - Concentrações de cetoprofeno em NaOH 0,1 mol.L-1, utilizadas no ensaio de precisão intermediária.	43
Tabela 4 - Concentrações de cetoprofeno em NaOH 0,1mol.L-1, utilizadas no ensaio de exatidão. ...	44
Tabela 5 - Solventes utilizados em tentativas de obtenção de polimorfos do cetoprofeno.	52
Tabela 6 - Coformadores utilizados nas tentativas de obtenção de cocrystal cetoprofeno via SMPT ...	53
Tabela 7 - Tentativa de obtenção de cocrystal de cetoprofeno e ácido cítrico por método de screening via transformação de fase mediada por solução (SMPT).....	54
Tabela 8 - Tentativa de obtenção de cocrystal de cetoprofeno e ácido acetilsalicílico por método de screening via transformação de fase mediada por solução (SMPT).....	54
Tabela 9 - Tentativa de obtenção de cocrystal de cetoprofeno e ácido ascórbico por método de screening via transformação de fase mediada por solução (SMPT).....	55
Tabela 10 - Tentativa de obtenção de cocrystal de cetoprofeno e ácido esteárico por método de screening via transformação de fase mediada por solução (SMPT).....	55
Tabela 11 - Tentativa de obtenção de cocrystal de cetoprofeno e ácido fumárico por método de screening via transformação de fase mediada por solução (SMPT).....	55
Tabela 12 - Tentativa de obtenção de cocrystal de cetoprofeno e ácido glutâmico por método de screening via transformação de fase mediada por solução (SMPT).....	56
Tabela 13 - Tentativa de obtenção de cocrystal de cetoprofeno e sacarina por método de screening via transformação de fase mediada por solução (SMPT).....	56
Tabela 14 - Valores de absorbâncias obtidos em estudo de seletividade de método espectrofotométrico para determinação de cetoprofeno em cápsulas. Leituras em 260 nm.	60
Tabela 15 - Resultados do teste de Shapiro-Wilk para estudo de seletividade de método espectrofotométrico para determinação de cetoprofeno em cápsulas.	60
Tabela 16 - Resultados do teste F para igualdade de variâncias para estudo de seletividade de método espectrofotométrico para determinação de cetoprofeno em cápsulas.	61
Tabela 17 - Resultados do teste t de Student presumindo variâncias equivalentes para estudo de seletividade de método espectrofotométrico para determinação de cetoprofeno em cápsulas.	61
Tabela 18 - Valores de absorbâncias obtidos em estudo de linearidade de método espectrofotométrico para determinação de cetoprofeno em cápsulas. Leituras em 260 nm.	62

Tabela 19 - Valores de resíduos obtidos em estudo de linearidade de método espectrofotométrico para determinação de cetoprofeno em cápsulas. Leituras em 260 nm.	64
Tabela 20 - Resultados do teste de Shapiro-Wilk para estudo de linearidade de método espectrofotométrico para determinação de cetoprofeno em cápsulas.	65
Tabela 21 - Valores de resíduos padronizados obtidos em estudo de linearidade de método espectrofotométrico para determinação de cetoprofeno em cápsulas.	65
Tabela 22 - Análise da variância (ANOVA) da regressão a partir de dados obtidos em estudo de linearidade de método espectrofotométrico para determinação de cetoprofeno em cápsulas.	66
Tabela 23 - Equação da reta, coeficiente de correlação (r) e coeficiente de regressão (R ²) a partir de dados obtidos em estudo de linearidade de método espectrofotométrico para determinação de cetoprofeno em cápsulas.....	66
Tabela 24 - Valores de recuperação obtidos em estudo repetibilidade de método espectrofotométrico para determinação de cetoprofeno em cápsulas. Leituras em 260,0 nm.	67
Tabela 25 - Valores de recuperação obtidos em estudo de precisão intermediária e exatidão do método espectrofotométrico para determinação de cetoprofeno em cápsulas. Leituras em 260,0 nm.	67
Tabela 26 - Valores de recuperação obtidos em estudo de robustez de método espectrofotométrico para determinação de cetoprofeno em cápsulas. Leituras em 260,0 nm.	68
Tabela 27 - Pureza de pico do cetoprofeno frente aos produtos de degradação.....	70
Tabela 28 - Valores de áreas obtidas em estudo de seletividade de método por CLAE para determinação de cetoprofeno em cápsulas.....	71
Tabela 29 - Resultados do teste de Shapiro-Wilk para estudo de seletividade de método por CLAE para determinação de cetoprofeno em cápsulas.	71
Tabela 30 - Teste F para igualdade de variâncias para estudo de seletividade de método por CLAE para determinação de cetoprofeno em cápsulas.	72
Tabela 31 - Resultados do teste t de Student presumindo variâncias equivalentes para estudo de seletividade de método por CLAE para determinação de cetoprofeno em cápsulas.	72
Tabela 32 - Valores das áreas obtidos em estudo de linearidade de método por CLAE para determinação de cetoprofeno em cápsulas.....	73
Tabela 33 - Valores de resíduos obtidos em estudo de linearidade de método por CLAE para determinação de cetoprofeno em cápsulas.	75
Tabela 34 - Resultados do teste de Shapiro-Wilk para estudo de linearidade de método por CLAE para determinação de cetoprofeno em cápsulas.	76
Tabela 35 - Valores de resíduos padronizados obtidos em estudo de linearidade de método por CLAE para determinação de cetoprofeno em cápsulas.	76

Tabela 36 - Análise da variância (ANOVA) da regressão a partir de dados obtidos em estudo de linearidade de método por CLAE para determinação de cetoprofeno em cápsulas.	77
Tabela 37 - Equação da reta, coeficiente de correlação (r) e coeficiente de regressão (R ²) a partir de dados obtidos em estudo de linearidade de método por CLAE para determinação de cetoprofeno em cápsulas.	77
Tabela 38 - Valores de recuperação obtidos em estudo de repetibilidade de método por CLAE para determinação de cetoprofeno em cápsulas.	78
Tabela 39 - Valores de recuperação obtidos em estudo de precisão intermediária e exatidão do método por CLAE para determinação de cetoprofeno.	78
Tabela 40 - Picos de Bragg de CET_SAC_SMPT_5 em comparação com CETMP-1 e SAC.	93
Tabela 41 - Principais bandas de absorção no infravermelho de amostra obtida a partir de CETNa, em comparação com as bandas de absorção de CETMP-1.	96
Tabela 42 - Principais bandas de absorção no infravermelho de cetoprofeno matéria-prima (CETMP), da sacarina (SAC) e da forma obtida pelo método de screening via SMPT utilizando sacarina como coformador (CET_SAC_SMPT_5).	98
Tabela 43 - Valores médios de teor de CETMP, CETNa e CET_SMPT_SAC_5.	105
Tabela 44 - Resultados de doseamento de CETMP, CETNa e CET_SAC_SMPT_5 nos tempos 0, 3 e 6 meses.	111
Tabela 45 - Resultados de solubilidade no equilíbrio de CETMP e CETNA a 37 °C no tempo de 24 horas.	112
Tabela 46 - Resultados de solubilidade no equilíbrio de CETMP e CETNA a 37 °C no tempo de 48 horas.	112
Tabela 47 - Resultados de solubilidade no equilíbrio de CETMP e CETNA a 37 °C no tempo de 72 horas.	113
Tabela 48 - Comparação estatística (ANOVA seguida de Tukey) entre as médias de solubilidade nos tempos de 24, 48 e 72 horas a 37 °C para cada forma estudada em cada meio.	113

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CETMP – Cetoprofeno matéria prima
CETNa – Cetoprofeno sódico
CET_SMPT_SAC_5 – Cocrystal de Cetoprofeno com Sacarina
AAS – Ácido acetilsalicílico
AA – Ácido ascórbico
AC – Ácido cítrico
AE – Ácido esteárico
AF – Ácido Fumárico
AG – Ácido Glutâmico
SAC – Sacarina
ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária
CLAE – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
DRXP – Difração de raios-X por policristais
DSC – Calorimetria exploratória diferencial
DPR – Desvio padrão relativo
IFA – Ingrediente Farmacêutico Ativo
IV – Infravermelho
RDC – Resolução da Diretoria Colegiada
BCS – Sistema de Classificação Biofarmacêutica
SQR – Substância Química de Referência
TG – Termogravimetria
FFS – Formas Farmacêuticas Sólidas
AINE – Anti-inflamatório não estereoidal
CSD – *Cambridge Structure Database*

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	17
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	20
2.1	CLASSIFICAÇÃO DE FORMAS SÓLIDAS DE IFAs.....	20
2.2	CETOPROFENO	22
2.2.1	Propriedades físico-químicas do cetoprofeno	22
2.2.2	Formas sólidas descritas para o cetoprofeno	23
2.2.3	Propriedades farmacodinâmicas do cetoprofeno	27
2.2.4	Propriedades farmacocinéticas do cetoprofeno	28
2.2.5	Doses e índice terapêutico	29
2.2.6	Efeitos colaterais	29
2.2.7	Formas farmacêuticas do cetoprofeno	29
2.2.8	Sais de cetoprofeno	31
2.2.9	Cocristais de cetoprofeno	33
2.2.10	Mistura eutética de cetoprofeno e nicotinamida	35
2.3	VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA ANALÍTICA.....	35
2.4	ESTUDOS DE ESTABILIDADE ACELERADA.....	37
2.5	ESTUDOS DE SOLUBILIDADE	38
3	OBJETIVOS	39
3.1	OBJETIVO GERAL	39
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	39
4	MATERIAIS E MÉTODOS	40
4.1	AMOSTRAS E REAGENTES	40
4.2	EQUIPAMENTOS E MATERIAIS.....	40
4.3	VALIDAÇÃO DA METODOLOGIA ANALÍTICA POR ESPECTROFOTOMETRIA	41
4.3.1	Seletividade	41
4.3.2	Linearidade	42
4.3.3	Precisão	43
4.3.4	Exatidão	44
4.3.5	Limite de quantificação e de detecção	45
4.3.6	Robustez	46
4.4	VALIDAÇÃO PARCIAL DE MÉTODO ANALÍTICO POR CLAE.....	46
4.4.1	Seletividade	47
4.4.2	Linearidade e Faixa de trabalho	48

4.4.3	Precisão	49
4.4.4	Exatidão	49
4.4.5	Limite de quantificação e de detecção	50
4.5	OBTENÇÃO DE FORMAS SÓLIDAS	50
4.6	CARACTERIZAÇÃO DE FORMAS SÓLIDAS	56
4.6.1	Difração de Raios-X por pó (DRXP).....	56
4.6.2	Espectroscopia de infravermelho (IV).....	57
4.6.3	Análises Térmicas.....	57
4.7	ESTUDOS DE ESTABILIDADE ACELERADA.....	57
4.8	ESTUDOS DE SOLUBILIDADE	58
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	59
5.1	VALIDAÇÃO ESPECTROFOTOMÉTRICA.....	59
5.1.1	Seletividade	59
5.1.2	Linearidade	62
5.1.3	Precisão e Exatidão	67
5.1.4	Limite de detecção e limite de quantificação.....	68
5.1.5	Robustez... ..	68
5.2	VALIDAÇÃO PARCIAL DE MÉTODO ANALÍTICO POR CLAE.....	69
5.2.1	Escolha do método cromatográfico.....	69
5.2.2	Seletividade	70
5.2.3	Linearidade e Faixa de Trabalho	73
5.2.4	Precisão e Exatidão	78
5.3	OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE FORMAS SÓLIDAS DE CETOPROFENO	79
5.3.1	DRXP	79
5.3.2	Espectroscopia de Infravermelho (IV).....	95
5.3.3	Análises Térmicas.....	99
5.3.4	Doseamento	104
5.4	ESTUDO DE ESTABILIDADE ACELERADA.....	106
5.5	ESTUDO DE SOLUBILIDADE A 37 °C	111
6	CONCLUSÃO	117
	REFERÊNCIAS	118

1 INTRODUÇÃO

Grande parte dos Insumos Farmacêuticos Ativos (IFAs) são comercializados atualmente no estado sólido, sobretudo por razões de estabilidade e facilidade no desenvolvimento dos medicamentos (PRADO, ROCHA, 2015). Entretanto, formas farmacêuticas sólidas (FFS) com solubilidade aquosa limitada podem oferecer vários desafios no desenvolvimento farmacêutico, pois podem apresentar dissolução baixa e variável em fluidos biológicos, com consequente eficácia diminuída em pacientes, principalmente quando entregues por via de administração oral (BLAGDEN *et al.*, 2007; BEATRICE *et al.*, 2017; FERNANDES *et al.*, 2018). A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) usa o Sistema de Classificação Biofarmacêutica (BCS), o qual classifica os IFAs em quatro diferentes classes de acordo com sua solubilidade e permeabilidade. Os IFAs pertencentes às classes II ou IV no BCS possuem baixa solubilidade e, portanto, podem apresentar problemas de biodisponibilidade (ARRUNÁTEGUI *et al.*, 2015).

Sendo assim, há uma série de estratégias para maximizar as taxas de dissolução de moléculas com baixa solubilidade aquosa, por exemplo: micronização (CHAUMEIL, 1998; HERPIN; SMYTH, 2018); solubilização de fármacos em co-solventes (AMIN *et al.*, 2004; LI *et al.*, 2019; SHAO *et al.*, 2018); soluções micelares (TORCHILIN, 2007); complexação com ciclodextrinas (RAJEWSKI; STELLA, 1996); uso de sistemas lipídicos (HUMBERSTONE; CHARMAN, 1997); síntese de cocristsais (REMENAR *et al.*, 2003; MCNAMARA *et al.*, 2006; HICKEY *et al.*, 2007; ROCHA *et al.*, 2016) e uso de sais (AGHARKAR; LINDENBAUM; HIGUCHI, 1976; HE *et al.*, 2017).

No caso de moléculas ionizáveis (aniônicas, catiônicas e zwitteriônicas), a formação de sais é a estratégia mais simples e custo-efetiva, já que quando o IFA é convertido à sal, ocorrem modificações das propriedades do estado sólido tais como solubilidade, taxa de dissolução, cristalinidade, higroscopicidade, ponto de fusão e propriedades físicas (hábito, tamanho de partícula, propriedades de fluxo), etc. (ELDER; HOLM; DE DIEGO, 2013).

Outra estratégia utilizada para modificar as propriedades físico-químicas de um IFA é o uso de cocristsais (BRITTAIN, 2016), que são materiais cristalinos compostos por duas ou mais moléculas diferentes dentro da mesma rede cristalina, uma das quais é o IFA, associadas por ligações não iônicas e não covalentes em uma razão estequiométrica definida (FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, 2018). Cocristsais têm sido cada vez mais estudados na busca de melhorias de solubilidade e taxas de dissolução de IFAs pouco solúveis sem a necessidade de alterações na estrutura molecular (REMENAR *et al.*, 2003; MCNAMARA *et al.*, 2006;

HICKEY *et al.*, 2007; ROCHA *et al.*, 2016). São considerados promissores pela possibilidade de apresentarem solubilidade superior em relação ao IFA na forma monocomponente (GOOD; NAÍR, 2009; ROCHA *et al.*, 2016).

O Cetoprofeno é um anti-inflamatório não estereoidal (AINE) amplamente utilizado no tratamento de uma série de condições inflamatórias e musculoesqueléticas, dor e febre em crianças e adultos (CARBONE *et al.*, 2013; GALLELLI *et al.*, 2007). É classificado, de acordo com o BCS, como classe II, ou seja, apresenta baixa solubilidade e alta permeabilidade, com coeficiente de partição (LogP) de aproximadamente 3,12 (YAZDANIAN, 2004). Além disso, apresenta outros desafios relacionados às suas propriedades farmacológicas, tais como: i) necessidade de início de ação rápido para alívio da dor; ii) efeitos colaterais gastrointestinais; iii) meia-vida de eliminação curta (entre 1,5 a 4 horas), exigindo regime de doses múltiplas e consequente baixa adesão ao tratamento (JAMALI; BROCKS, 1990; VEYS, 1991).

Várias estratégias de formulação têm sido utilizadas para lidar com estes problemas, tais como: preparações injetáveis para início de ação rápido; supositórios e revestimentos entéricos para diminuir os efeitos gastrointestinais; e formas farmacêuticas de liberação controlada para contornar os problemas de meia-vida de eliminação curta (KALEEMULLAH *et al.*, 2017; VEYS, 1991).

Por outro lado, o uso de sais de cetoprofeno sempre atraiu um interesse substancial (GIORGETTI, 2001), devido às melhorias obtidas no que diz respeito à tolerabilidade e solubilidade, com aumento da taxa e extensão de absorção e redução do início do efeito terapêutico (CIMINI *et al.*, 2015; GIORGETTI, 2001; PANERAI *et al.*, 2012; SARZI-PUTTINI *et al.*, 2011). Além disso, podem ser utilizados em preparações injetáveis com um pH próximo ao pH fisiológico, sem a necessidade de conservante, possivelmente reduzindo reações irritantes e danos aos tecidos (SARZI-PUTTINI *et al.*, 2011).

Além dos sais de cetoprofeno, a literatura descreve tentativas de obtenções de cocrystalis deste IFA com os seguintes coformadores: ácido cinâmico, ácido glutárico, ácido maleico, ácido malônico, nicotinamida, ácido oxálico, ácido p-aminobenzoico, ácido p-amino-salicílico, sacarina, ureia e ácido tartárico (HIMAWAN *et al.*, 2019; SISWANDI; RUSDIANA; LEVITA, 2015; VAGHELA *et al.*, 2015; WICAKSONO; SETYAWAN; SISWANDONO, 2017).

Entretanto, verifica-se a necessidade de pesquisas abordando a influência de diferentes formas sólidas de cetoprofeno na qualidade físico-química de IFAs. Portanto, estudos de obtenção, caracterização, solubilidade e estabilidade acelerada de formas sólidas de cetoprofeno são fundamentais para contribuir com aspectos relacionados à sua qualidade e eficácia, uma vez que tais estudos permitirão estabelecer vantagens e/ou desvantagens de cada

forma estudada, pois se determinada forma sólida for desvantajosa, torna-se necessário evitá-la. Caso seja vantajosa, pode ser utilizada como alternativa em formulações farmacêuticas.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 CLASSIFICAÇÃO DE FORMAS SÓLIDAS DE IFAs

Os IFAs no estado sólido podem ser classificados em amorfos ou cristalinos. As formas amorfas consistem em arranjos desordenados de moléculas que não possuem uma rede cristalina distinguível (FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, 2007). Os sólidos amorfos se subdividem em monocomponentes (anidros) ou multicomponentes (solvatos, sais e cocristais amorfos) (AITIPAMULA *et al.*, 2012).

As formas cristalinas apresentam repetição translacional de unidades estruturais idênticas (BRITAIN, 2016). Essas unidades estruturais são denominadas celas unitárias, ou menos frequentemente células unitárias (BRITAIN, 2016; PRADO; ROCHA, 2015). As dimensões da cela unitária podem ser caracterizadas por parâmetros de rede, que são os três eixos (a, b e c) e os ângulos entre os eixos (α , β , γ) (BRITAIN, 2016; PRADO; ROCHA, 2015). Existem sete tipos fundamentais de celas unitárias (sistemas cristalinos), os quais estão descritas na Tabela 1.

Tabela 1 - Os sete sistemas cristalinos, definidas a partir dos parâmetros de rede.

Sistema cristalino	Relação entre os eixos	Relação entre os ângulos
Cúbico	$a = b = c$	$\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$
Tetragonal	$a = b \neq c$	$\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$
Ortorrômbico	$a \neq b \neq c$	$\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$
Monoclínico	$a \neq b \neq c$	$\alpha = \gamma = 90^\circ \beta \neq 90^\circ$
Triclínico	$a \neq b \neq c$	$\alpha \neq \beta \neq \gamma \neq 90^\circ$
Hexagonal	$a = b \neq c$	$\alpha = \beta = 90^\circ \gamma = 120^\circ$
Trigonal	$a = b = c$	$\alpha = \beta = 90^\circ \gamma \neq 90^\circ$

Fonte: BRITAIN, 2016.

Assim como os sólidos amorfos, as formas cristalinas podem ser classificadas em monocomponentes (formas anidras e seus possíveis polimorfos) e multicomponentes (solvatos, sais, cocristais, sais solvatados, cocristais solvatados, sais de cocristais e sais de cocristais solvatados; cada uma dessas formas podendo apresentar variações polimórficas) (AITIPAMULA *et al.*, 2012; BERRY; STEED, 2017).

Para que o sistema seja considerado como multicomponente, as interações entre as moléculas ou íons que fazem parte da estrutura cristalina devem ser do tipo não covalente e, portanto, supramoleculares. Enquanto as interações intermoleculares entre moléculas no estado gasoso são relativamente passíveis de cálculo e, portanto, relativamente bem entendidas, a natureza tridimensional e compacta de cristais torna a compreensão das interações intermoleculares consideravelmente mais desafiadora (BERRY; STEED, 2017).

Os solvatos são formas sólidas que contêm quantidades estequiométricas ou não estequiométricas de um solvente. Se o solvente incorporado é a água, o solvato é comumente conhecido como hidrato (FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, 2007).

Os sais são definidos como compostos que resultam da substituição de parte ou de todos os hidrogênios de um ácido por um metal ou por um radical agindo como um metal; um sólido iônico ou eletrovalente (FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, 2018).

Cocristais são definidos como materiais cristalinos compostos por duas ou mais moléculas diferentes dentro da mesma rede cristalina, uma das quais é o IFA, associadas por ligações não iônicas e não covalentes em uma razão estequiométrica definida. A molécula que interage não ionicamente com o IFA em um cocristal é denominada coformador. O coformador não deve ser um solvente e nem ser volátil (FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, 2018). Além disso, o coformador deve ser “farmaceuticamente aceitável” (DAI; CHEN; LU, 2018).

Polimorfos são definidos como diferentes formas cristalinas de um IFA (FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, 2018). Portanto, o termo polimorfismo denota sistemas cristalinos para os quais uma substância pode existir em estruturas caracterizadas por diferentes células unitárias, mas onde cada uma das formas consiste exatamente na mesma composição elementar (BRITTAIN, 2016).

Dois polimorfos podem ser considerados enantiotrópicos entre si se houver uma temperatura na qual uma forma pode se transformar reversivelmente em outra abaixo do ponto de fusão. Para tais sistemas, um polimorfo será caracterizado por uma faixa definida de condições sob as quais será o mais estável e a outra forma será caracterizada por uma gama diferente de condições sob a qual é a fase mais estável. Quando apenas um polimorfo é estável em todas as temperaturas abaixo do ponto de fusão, dois polimorfos são considerados monotrópicos um em relação ao outro (BRITTAIN, 2016).

2.2 CETOPROFENO

O cetoprofeno foi sintetizado no laboratório francês Rhône-Poulenc em 1967 e introduzido no mercado em 1973 (VEYS, 1991). Quimicamente, é designado como ácido 3-benzoil- α -metilbenzenoacético (ANVISA, 2019a). Sua estrutura química está demonstrada na Figura 1.

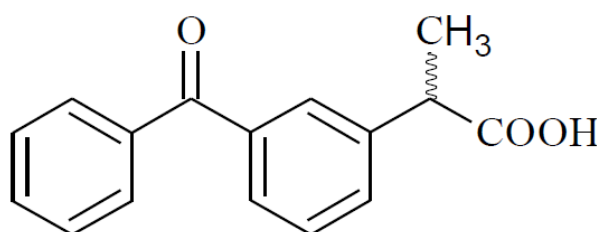


Figura 1 - Estrutura química do cetoprofeno

Fonte: (ANVISA, 2019a)

2.2.1 Propriedades físico-químicas do cetoprofeno

O cetoprofeno é um pó cristalino, branco ou quase branco. Apresenta faixa de fusão de 94 °C a 97 °C, possui massa molar de 254,3 g mol⁻¹ e Log P de aproximadamente 3,12. É considerado um ácido fraco, com valor de pKa de 4,45 a 25 °C (ANVISA, 2019a).

Sua solubilidade é descrita como praticamente insolúvel em água (cerca de 0,010 mg mL⁻¹) e facilmente solúvel em acetona, etanol e cloreto de metileno (BRASIL, 2010). No entanto, em tampão fosfato pH 6,5 ele apresenta solubilidade de 3,31 mg mL⁻¹. Por ser um ácido fraco, sua solubilidade aumenta na medida que o pH aumenta, sendo completamente ionizado e altamente solúvel em pH básico (SHOHIN *et al.*, 2012). Na presença de luz, o cetoprofeno pode sofrer degradação, porém apresenta resistência ao calor, oxidação ou exposição em meio ácido ou básico (OLIVEIRA; NASCIMENTO; LIMA, 2011).

De acordo com o software ChemSketch (ACD/LABS, 2002), a molécula de cetoprofeno encontra-se na forma neutra em pH ácido (log D de 2,81 em pH 0,0 a 4,0). Entretanto, o grupamento ácido carboxílico da molécula encontra-se desprotonado em pH básico, com log D = -0,94 em pH acima de 9,0 (Figura 2). Sendo assim, é possível a obtenção de sais de cetoprofeno em pH básico.

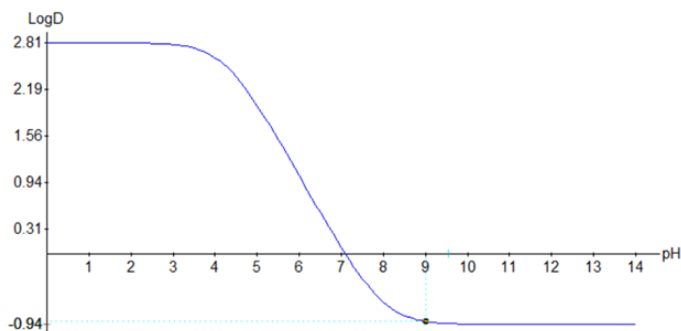


Figura 2 - Cálculo de logD da estrutura do cetoprofeno.
Fonte: Calculado a partir do software ACD/LABS, 2002.

2.2.2 Formas sólidas descritas para o cetoprofeno

Uma pesquisa na base de dados *Cambridge Structural Database (CSD)* revelou que há cinco estruturas cristalinas reportadas para o cetoprofeno até o momento.

A primeira estrutura, correspondente ao cetoprofeno na forma livre (monocomponente), foi determinada em 1990 à temperatura ambiente, sendo codificada como KEMRUP (BRIARD; ROSSI, 1990). Os parâmetros básicos de cela unitária são: $a = 13,893$ (8); $b = 7,741$ (3); $c = 6,136$ (2); $\alpha = 89,61$ (3)°, $\beta = 94,56$ (4)°, $\gamma = 88,78$ (4)°. Apresenta sistema cristalino triclinico e grupo espacial $P\bar{1}$, com uma molécula na unidade assimétrica. De acordo com os autores, os grupamentos benzoíla e ácido carboxílico apresentam conformação anti em relação ao grupo benzeno (BRIARD; ROSSI, 1990). A representação gráfica do empacotamento desta estrutura está demonstrada na Figura 3.

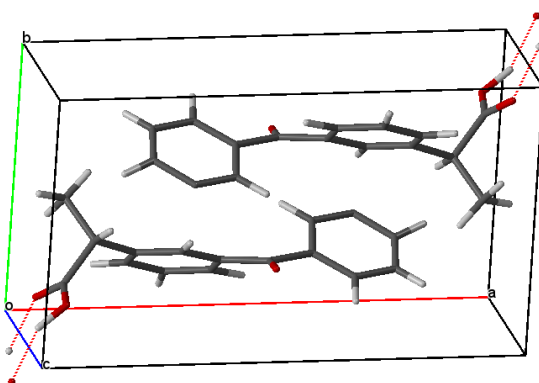


Figura 3 - Representação gráfica do empacotamento da estrutura do cetoprofeno codificada como KEMRUP.

Fonte: gerado pelo software Mercury (MACRAE *et al.*, 2008) a partir da estrutura do cetoprofeno codificada como KEMRUP (BRIARD; ROSSI, 1990).

Em 2018, a estrutura cristalina do cetoprofeno na forma livre foi redeterminada a 100 K (-173,15 °C) por Pawledzio e colaboradores, sendo denominada como β -ket ou KEMRUP01 (PAWLEDZIO *et al.*, 2018). A fim de facilitar a compressão, será padronizada a codificação KEMRUP01. Possui sistema cristalino triclínico e grupo espacial $P\bar{1}$ com uma molécula na unidade assimétrica. Os parâmetros básicos de cela unitária são: $a = 6,0671$ (4); $b = 7,5611$ (5); $c = 13,8523$ (9); $\alpha = 92,078$ (3)°, $\beta = 93,838$ (2)°, $\gamma = 90,994$ (3)°. De acordo com os autores, uma desordem foi observada no grupamento ácido propiônico (PAWLEDZIO *et al.*, 2018). A representação gráfica de seu empacotamento está demonstrada na Figura 4.

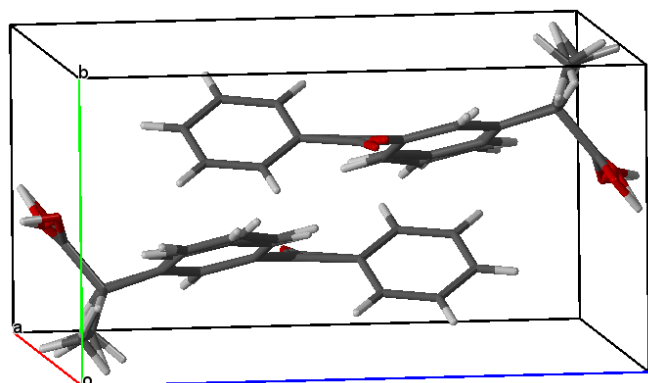


Figura 4 - Representação gráfica do empacotamento da estrutura do cetoprofeno codificada como KEMRUP01.

Fonte: gerado pelo software Mercury (MACRAE *et al.*, 2008) a partir da estrutura do cetoprofeno codificada como KEMRUP01 (PAWLEDZIO *et al.*, 2018).

No mesmo trabalho citado anteriormente, Pawledzio e colaboradores realizaram duas determinações da mesma estrutura cristalina do (S)-enantiômero puro do cetoprofeno, sendo o *R-Factor* a única diferença entre essas duas determinações. As seguintes terminologias são utilizadas para essa estrutura: DXKP- α , α -ket, MIRGAY ou MIRGAY01 (PAWLEDZIO *et al.*, 2018). A fim de facilitar a compressão, será padronizada a codificação MIRGAY01 para essa estrutura. Apresenta sistema cristalino ortorrômbico, grupamento espacial $P2_12_12_1$ com duas moléculas na unidade assimétrica e os seguintes parâmetros de cela: $a = 6,1130$ (5); $b = 7,3809$ (6); $c = 55,524$ (5); $\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$ (PAWLEDZIO *et al.*, 2018). A representação gráfica de seu empacotamento está demonstrada na Figura 5.

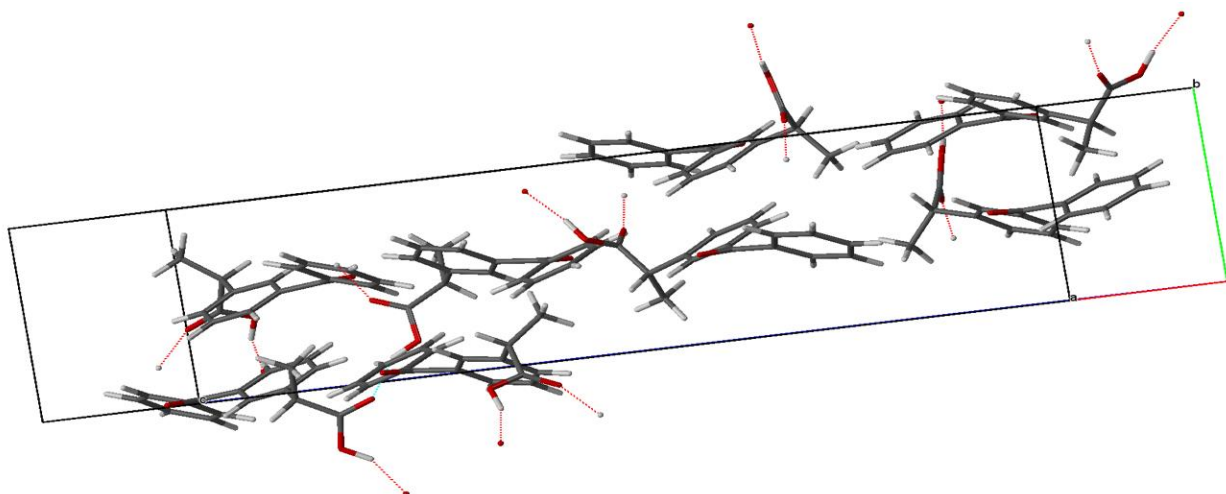


Figura 5 - Representação gráfica do empacotamento da estrutura do cetoprofeno codificada como MIRGAY01

Fonte: gerado pelo software Mercury (MACRAE *et al.*, 2008) a partir da estrutura do cetoprofeno codificada como MIRGAY01 (PAWLEDZIO *et al.*, 2018).

Em 2019, Rossi e colaboradores descreveram a estrutura cristalina de uma nova forma (polimorfo) do (S)-enantiômero do cetoprofeno, a qual é denominada como DXKP- β ou MIRGAY02 (ROSSI *et al.*, 2019). A fim de facilitar a compressão, será padronizada a codificação MIRGAY02 para essa estrutura. De acordo com os autores, a estrutura apresenta sistema cristalino monoclinico e grupo espacial $P2_1$ com duas moléculas independentes na unidade assimétrica. Apresenta os seguintes parâmetros de cela: $a = 7,6172$ (10); $b = 6,0317$ (8); $c = 27,401$ (4); $\alpha = \gamma = 90^\circ$; $\beta = 90.533$ (4) $^\circ$ (ROSSI *et al.*, 2019). A representação gráfica de seu empacotamento está demonstrada na Figura 6.

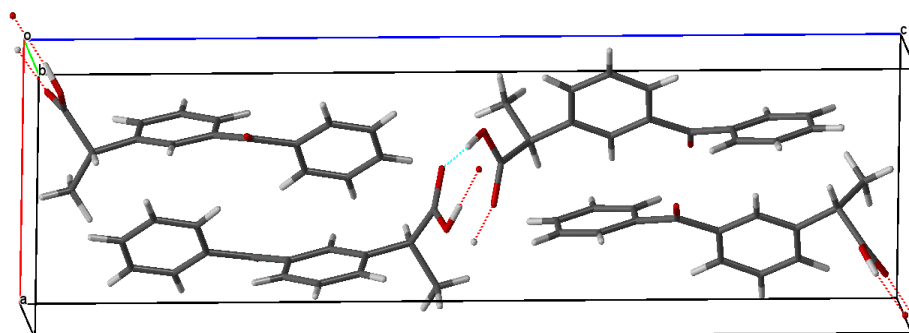


Figura 6 - Representação gráfica do empacotamento da estrutura do cetoprofeno codificada como MIRGAY02

Fonte: gerado pelo software Mercury (MACRAE *et al.*, 2008) a partir da estrutura do cetoprofeno codificada como MIRGAY02 (ROSSI *et al.*, 2019).

Em 2020, Rossi e colaboradores descreveram a estrutura cristalina de um sal de trometamina com o (S)-enantiômero puro do cetoprofeno, o qual é denominado DK-T ou COZBAX (ROSSI *et al.*, 2020). A fim de facilitar a compressão, será padronizada a codificação COZBAX para essa estrutura deste sal. A estrutura foi determinada a 100 K, demonstrando sistema cristalino monoclinico e grupo espacial $P2_1$. Apresenta os seguintes parâmetros de cela: $a = 19,204 (1)$; $b = 10,0697 (5)$; $c = 21,294 (1)$; $\alpha = \gamma = 90^\circ$; $\beta = 114.321(2)^\circ$. A representação gráfica de seu empacotamento está demonstrada na Figura 7.

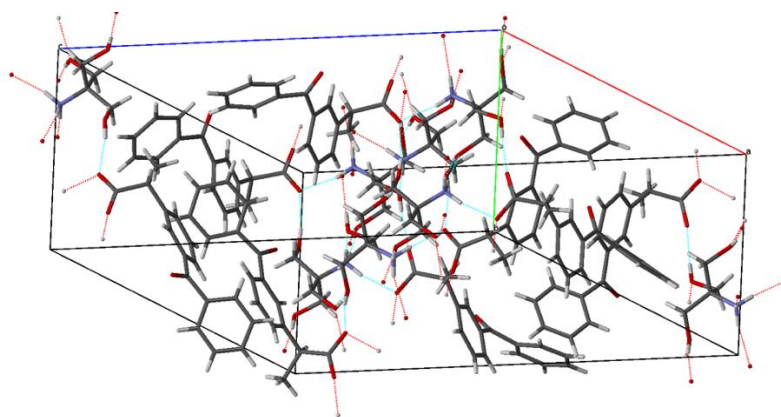


Figura 7 - Representação gráfica do empacotamento da estrutura do cetoprofeno codificada como COZBAX

Fonte: gerado pelo software Mercury (MACRAE *et al.*, 2008) a partir da estrutura do cetoprofeno codificada como COZBAX (ROSSI *et al.*, 2020).

Os difratogramas calculados a partir das estruturas cristalinas reportadas para o cetoprofeno no CSD estão demonstrados na Figura 8.

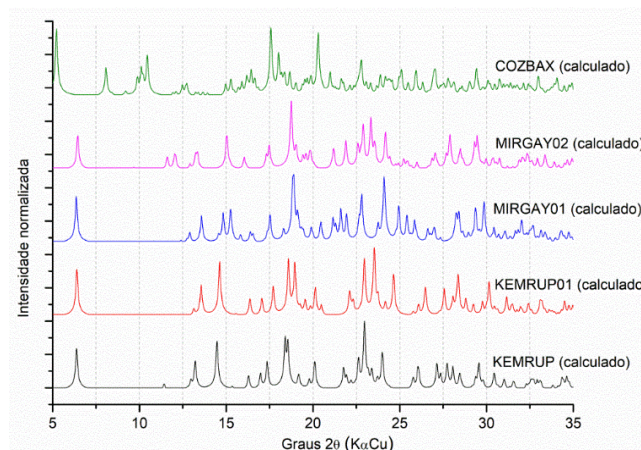


Figura 8 - Difractogramas calculados a partir das estruturas cristalinas reportadas para o cetoprofeno: KEMRUP; KEMRUP01; MIRGAY01; MIRGAY02 e COZBAX.

Fonte: gerado pelo software Origin (OriginLab) a partir das estruturas cristalinas reportadas para o cetoprofeno: KEMRUP (BRIARD; ROSSI, 1990); KEMRUP01 (PAWLEDZIO *et al.*, 2018); MIRGAY01 (PAWLEDZIO *et al.*, 2018); MIRGAY02 (ROSSI *et al.*, 2019) e COZBAX (ROSSI *et al.*, 2020).

2.2.3 Propriedades farmacodinâmicas do cetoprofeno

O cetoprofeno é um derivado do ácido propiônico com propriedades analgésicas, anti-inflamatórias e antipiréticas (PANERAI *et al.*, 2012). O mecanismo de ação principal do cetoprofeno é a inibição das ciclooxigenases 1 e 2 (COX-1 e COX-2), resultando em uma redução da biossíntese de prostaglandinas e tromboxano (PANERAI *et al.*, 2012; SHOHIN *et al.*, 2012; VEYS, 1991; WILLIAMS; UPTON, 1988). Outras atividades relatadas do cetoprofeno que podem contribuir para as atividades anti-inflamatórias e analgésicas são: inibição de bradicininas, estabilização das membranas lisossômicas contra danos osmóticos e prevenção da liberação de enzimas lisossômicas que mediam a destruição tecidual durante a inflamação (PANERAI *et al.*, 2012; VEYS, 1991).

O cetoprofeno possui um átomo de carbono assimétrico, originando dois enantiômeros, ambos possuindo atividade biológica (SHOHIN *et al.*, 2012).

Estudos clínicos têm demonstrado a eficácia e a adequação do cetoprofeno em uma ampla variedade de condições dolorosas. As principais indicações terapêuticas do cetoprofeno são: tratamento da osteoartrite, artrite reumatoide e condições relacionadas, analgésico para dor pós-

operatória e pós-parto, dor dentária, dor oncológica e dismenorreia (SHOHIN *et al.*, 2012; VEYS, 1991).

A eficácia do cetoprofeno (50-200 mg/dia) é superior à do ibuprofeno (600-1800 mg / dia) e do diclofenaco (75-150 mg / dia) quando comparados pela via de administração oral (SARZI-PUTTINI *et al.*, 2013).

2.2.4 Propriedades farmacocinéticas do cetoprofeno

Quando administrado através de formas farmacêuticas de liberação convencional, o cetoprofeno é rapidamente absorvido, com pico de concentração plasmática atingido entre meia a duas horas após a ingestão (JAMALI; BROCKS, 1990; VEYS, 1991). Quando comparadas com as formulações de liberação convencional, as formas farmacêuticas de liberação sustentada parecem promover a absorção completa do cetoprofeno, embora, como esperado, em uma taxa mais lenta (JAMALI; BROCKS, 1990).

A biodisponibilidade do cetoprofeno via oral é acima de 90% (JAMALI; BROCKS, 1990), pela via intramuscular é de 71 a 96% e pela via retal é de 73-93% (ISHIZAKI *et al.*, 1980). A presença ou ausência de alimentos parece afetar a absorção de cetoprofeno, sendo que o pico de concentração plasmática é maior e alcançado mais rapidamente em condições de jejum (BANNWARTH *et al.*, 1988).

O cetoprofeno se liga extensivamente na albumina plasmática (> 95%) (ROYER *et al.*, 1986) e concentrações substanciais de cetoprofeno são encontradas no fluido sinovial, o qual é proposto como o sítio de ação do cetoprofeno e outros AINEs no tratamento de artrite reumatoide (JAMALI; BROCKS, 1990). O volume de distribuição do cetoprofeno é de aproximadamente 0,1 a 0,2 L.Kg⁻¹ (VEYS, 1991).

O cetoprofeno é extensivamente metabolizado pelas enzimas microssomais hepáticas e sua meia-vida de eliminação é curta (entre 1,5 a 4 horas) e (JAMALI; BROCKS, 1990; VEYS, 1991).

2.2.5 Doses e índice terapêutico

A dose única máxima recomendada para cetoprofeno em formas farmacêuticas sólidas orais de liberação convencional é 100 mg e para formas farmacêuticas de liberação prolongada é 200 mg. Dependendo da indicação, o regime posológico varia de 12,5 mg a cada 4-6 horas (dose habitual para adultos com febre) a 100 mg por via oral como dose inicial, seguido por 50 mg a cada 6 horas (dose usual para adultos com gota). A dose máxima não deve exceder 300 mg/dia (SHOHIN *et al.*, 2012).

O cetoprofeno possui alto índice terapêutico. A dose letal média (DL₅₀) do cetoprofeno é 62,4 mg/kg (ratos, via oral) (SHOHIN *et al.*, 2012).

2.2.6 Efeitos colaterais

Um grande problema no uso de AINES são os efeitos adversos que estes podem causar, interferindo na filtração glomerular, retenção de líquido, podendo afetar a excreção de sódio e água, levando a quadros de hipercalemia, oligúria e anúria. Portanto, a utilização desta classe é bastante limitada (REMINGTON, 2004).

Entre os efeitos colaterais relacionados ao uso do cetoprofeno estão a retenção de líquidos, bem como o aumento de concentrações de creatinina no plasma (BURKE; SMITH; FITZGERALD, 2006). Um dos principais eventos adversos provindos do uso de cetoprofeno é a irritação no trato gastrointestinal, podendo causar úlceras e sangramentos (RADI e KHAN, 2006). Estes efeitos se dão devido a função das prostaglandinas na proteção da mucosa (BURKE; SMITH; FITZGERALD, 2006).

2.2.7 Formas farmacêuticas do cetoprofeno

O cetoprofeno é descrito em uma variedade de formas farmacêuticas. A maioria dos medicamentos comercializados contém a mistura racêmica do cetoprofeno. Entretanto, existem preparações contendo o (S)-(+)-enantiômero, conhecido como dexcetoprofeno (SHOHIN *et al.*,

2012). O (R)-(-)-enantiômero é usado como aditivo em pasta de dentes para prevenir doença periodontais (SHOHIN *et al.*, 2012).

Supositórios de cetoprofeno são recomendados para reduzir a possibilidade de efeitos colaterais gastrointestinais. Formas injetáveis (intramuscular ou endovenosa) são utilizadas para promover início de ação mais rápido do que via oral ou retal e para evitar intolerância resultante de efeitos colaterais gastrointestinais. Aplicações tópicas são utilizadas para o tratamento de lesões esportivas (VEYS, 1991). Também é utilizado na forma de soluções, as quais promovem absorção mais rápida de cetoprofeno em relação às cápsulas de liberação convencional (JAMALI; BROCKS, 1990). Formas farmacêuticas orais com revestimento entérico são utilizadas para promover a redução de efeitos colaterais gastrointestinais em relação às formas farmacêuticas de liberação convencional (VEYS, 1991).

O cetoprofeno também é administrado em formas farmacêuticas sólidas orais de liberação convencional, na forma de comprimidos ou cápsulas (VEYS, 1991). Entretanto, várias formas farmacêuticas de liberação controlada (em comprimidos ou cápsulas) são propostas para o cetoprofeno devido à sua meia-vida de eliminação curta (KALEEMULLAH *et al.*, 2017). O principal propósito das formulações de liberação controlada é manter as concentrações terapêuticas de cetoprofeno no plasma por até 24 horas, através da administração de uma única cápsula de 200 mg por dia, ajudando a melhorar a adesão dos pacientes (SCHUMACHER, 1994; VEYS, 1991).

Um estudo publicado há mais de 35 anos comparou a farmacocinética de cetoprofeno (na forma livre) administrado na dose de 200 mg em cápsulas convencionais com a administração da mesma dose via péletes de liberação sustentada. Os péletes de liberação sustentada propiciaram um pico de concentração plasmática menor e mais tardio em relação às cápsulas convencionais. Entretanto, os valores de área sob a curva (ASC) foram os mesmos para os dois tipos de formulações. Segundo os autores, estas características farmacocinéticas mostraram que as formulações de liberação sustentada são adequadas para a administração de uma dose única de cetoprofeno a cada 24 horas (HOUGHTON *et al.*, 1984).

Um estudo de 1993 comparou as propriedades farmacocinéticas do lisinato de cetoprofeno administrado na dose de 320 mg (equivalente a 203 mg de cetoprofeno na forma livre) em cápsulas de liberação controlada com a mesma dose administrada em cápsulas comerciais. Segundo os autores, as cápsulas de liberação controlada propiciaram absorção mais rápida e maior biodisponibilidade que as cápsulas comerciais. Os autores concluem que as cápsulas de liberação controlada também são adequadas para administração de única dose diária e

apresentam melhores resultados clínicos. Nenhum efeito colateral foi reportado ou observado com ambas as formulações (FINCATO; FERRARI; SCAPINELLI, 1993).

Um estudo de 1994 descreveu uma nova formulação de liberação prolongada de cetoprofeno: péletes em cápsulas de gelatina, contendo 200 mg de cetoprofeno (na forma livre) por cápsula. Segundo os autores, as formulações promovem a liberação do conteúdo de cetoprofeno somente após atingirem o ambiente não ácido do intestino delgado. Além disso, permitem a manutenção de concentrações plasmáticas terapêuticas de cetoprofeno por até 24 horas, através da administração de uma única cápsula de 200 mg por dia, ajudando a melhorar a adesão dos pacientes. Os autores concluem que a liberação prolongada de cetoprofeno é boa opção para o tratamento sintomático da artrite reumatoide e osteoartrite (SCHUMACHER, 1994).

O cetoprofeno é registrado no Brasil na forma de comprimidos de liberação prolongada (150 mg), comprimidos de liberação retardada (200 mg), comprimidos de liberação retardada com revestimento entérico (100 mg), cápsulas duras (50 mg), supositórios (100 mg), solução oral (20 mg/mL), gel (25 mg/g), xarope (1 mg/mL), solução injetável (50 mg/mL) e pó liofilizado para solução injetável (100 mg/2mL). O lisinato de cetoprofeno é comercializado no Brasil na forma de cápsulas duras de liberação prolongada (160 e 320 mg). Também é comercializado na dose de 200 mg em associação ao omeprazol (20 mg) na forma de cápsulas duras com liberação prolongada de cetoprofeno (BRASIL, 2012; BRASIL, 2019a).

2.2.8 Sais de cetoprofeno

O uso de sais de cetoprofeno sempre atraiu um interesse substancial devido às melhorias obtidas no que diz respeito à tolerabilidade e biodisponibilidade (GIORGETTI, 2001). Entretanto, os sais de cetoprofeno tendem a apresentar alta higroscopicidade. Sendo assim, por questões de estabilidade, grandes dificuldades são encontradas no preparo de comprimidos contendo sais de cetoprofeno (COURTEILLE FREDERIC; VEILLARD, 1994).

O lisinato de cetoprofeno apresenta as seguintes vantagens em comparação à forma ácida: melhor tolerabilidade gástrica, maior solubilidade, aumento da taxa e extensão de absorção e redução do início do efeito terapêutico (CIMINI *et al.*, 2015; PANERAI *et al.*, 2012; SARZI-PUTTINI *et al.*, 2011). Após a administração oral do lisinato de cetoprofeno, as concentrações séricas máximas são duas vezes mais altas (cerca de 9000 ng/mL) e são atingidas após 15

minutos, em vez de após 60 minutos, permitindo um início de ação muito rápido do sal em relação à forma livre (SARZI- PUTTINI *et al.*, 2011). Este rápido aumento da concentração plasmática, propiciado pelo lisinato de cetoprofeno, resulta em uma atividade analgésica observada apenas 30 minutos após a primeira administração oral (VEYS, 1991). Além disso, a excelente solubilidade do lisinato de cetoprofeno em solução aquosa permite a possibilidade de seu uso em preparações injetáveis com um pH próximo ao pH fisiológico, sem a necessidade de conservante, possivelmente reduzindo reações irritantes e danos aos tecidos no local de aplicação (SARZI- PUTTINI *et al.*, 2011). No entanto, devido à meia-vida curta de 1-2 horas, é necessário um regime de doses múltiplas para administração oral de lisinato de cetoprofeno, resultando em flutuação nos níveis plasmáticos e efeitos adversos relacionados à dose, com baixa adesão de pacientes (MESSERI *et al.*, 2003). Sendo assim, o lisinato de cetoprofeno é administrado na forma de sistemas de liberação controlada (CERCIELLO *et al.*, 2016).

A patente CN103524365A (TAO *et al.*, 2014) descreve um método para obtenção do lisinato de cetoprofeno, que compreende as seguintes etapas: adição de cetoprofeno em uma solução aquosa de lisina, reação em temperatura ambiente para formar sais, adição de álcool etílico absoluto para cristalização, realização de filtração e secagem a vácuo para obter o sal de lisinato de cetoprofeno.

A obtenção e caracterização do sal sódico do cetoprofeno foi descrita por Hildebrand e Müller-goymann (1997). O cetoprofeno sódico foi obtido através da solubilização de 1,02 gramas de cetoprofeno em 8,0 mL de solução de NaOH a $0,5 \text{ mol.L}^{-1}$ em etanol a 94%. O etanol foi removido sob vácuo a $40 \text{ }^\circ\text{C}$, e a água restante foi removida por aquecimento a $40 \text{ }^\circ\text{C}$ por 24 horas, produzindo um sólido amorfo. Na sequência, 1,0 grama do sólido amorfo foi disperso em 1,0 mL de etanol a 96% e a solução foi agitada por 8 horas. Posteriormente, 80% do etanol foi lentamente evaporado a temperatura ambiente até a formação dos primeiros cristais. O etanol remanescente foi então removido e o cetoprofeno sódico foi seco a 40°C por dois dias. O cetoprofeno sódico apresentou ponto de fusão de $183,9 \pm 3^\circ\text{C}$ e foi caracterizado por DSC e Espalhamento de raios-X a baixo ângulo (SAXS). As soluções de cetoprofeno sódico não apresentaram precipitação por um ano em temperatura ambiente (HILDEBRAND; MÜLLER-GOYMANN, 1997).

A patente 5.665.384 descreve o preparo de cápsulas contendo soluções oleosas de sais de sódio, arginina, lisina e N-metilglucamina (COURTEILLE FREDERIC; VEILLARD, 1994). A patente não descreve o modo de obtenção dos sais.

A patente US 6.291.527 B1 descreve formulações farmacêuticas contendo sais de cetoprofeno com glicosamina, prolina e hidroxiprolina (GIORGETTI, 2001). Os autores

descrevem procedimentos para preparo dos sais em soluções aquosas e procedimentos para preparo utilizando solventes orgânicos. Os sais de glicosamina, prolina e hidroxiprolina foram administrados em ratos em várias formas farmacêuticas em comparação com o cetoprofeno ácido e o cetoprofeno sódico. Segundo o autor, os sais de glicosamina, prolina e hidroxiprolina demonstraram um surpreendente aumento nas atividades analgésicas e anti-inflamatórias (GIORGETTI, 2001).

A obtenção e caracterização de um sal de cetoprofeno com o aminoácido cisteína foi descrita por Fúliaş e colaboradores (2015). O cisteinato de cetoprofeno foi obtido após misturar e triturar cisteína e cetoprofeno na proporção 1:1, os quais foram solubilizados em etanol absoluto a 40°C, que foi posteriormente evaporado, resultando em um pó branco. O sal apresentou decomposição entre 156°C e 158°C e foi caracterizado por espectroscopia na região do infravermelho, análises térmicas (TG e DSC) e DRXP (FULIAŞ *et al.*, 2015).

2.2.9 Cocristais de cetoprofeno

A literatura relata tentativas de obtenção de cocristais de cetoprofeno com os seguintes coformadores: ácido cinâmico, ácido glutárico, ácido maleico, ácido malônico, nicotinamida, ácido oxálico, ácido p-aminobenzoico, ácido p-amino-salicílico, sacarina, ureia e ácido tartárico (HIMAWAN *et al.*, 2019; SISWANDI; RUSDIANA; LEVITA, 2015; VAGHELA *et al.*, 2015; WICAKSONO; SETYAWAN; SISWANDONO, 2017; WICAKSONO; SETYAWAN; SISWANDONO, 2018).

Siswandi, Rusdiana e Levita (SISWANDI; RUSDIANA; LEVITA, 2015) realizaram um *screening* virtual de possíveis coformadores de cetoprofeno empregando um método de *docking* molecular. Os parâmetros observados foram tipo e energia de interação e os softwares utilizados foram ChemOffice 2004, Portable_Hyperchem_8.0.7, AutoDock 4.2.3 e OpenBabelGUI 2.2.3. As estruturas de possíveis coformadores estudadas foram: ácido benzoico, ácido fumárico, ácido malônico, ácido cítrico, ácido esteárico, ácido succínico, sacarina e metilparabeno. De acordo com os autores, o *screening* virtual mostrou que o melhor coformador calculado é a sacarina. Os autores misturaram cetoprofeno e sacarina na proporção 1:1, trituraram a mistura e adicionaram 5 mL de metanol. A mistura foi então avaliada quanto a solubilidade e dissolução, demonstrando aumento destes parâmetros em relação ao cetoprofeno monocomponente.

Vaghela e colaboradores (VAGHELA *et al.*, 2015) prepararam, caracterizaram e avaliaram a solubilidade de cocristais de cetoprofeno. Os coformadores utilizados pelos autores foram: ácido cinâmico, ácido glutárico, ácido maleico, ácido malônico, nicotinamida, ácido oxálico, ácido p-aminobenzoico, ácido p-amino-salicílico, sacarina e ureia. O método de fusão foi empregado no preparo dos cocristais, os quais foram caracterizados por DRXP, DSC e IV e estudados quanto à solubilidade e dissolução. De acordo com os autores, todos os cocristais preparados demonstraram aumento de solubilidade e dissolução quando comparados com cetoprofeno puro, sendo que cocristais de cetoprofeno e ácido p-amino-salicílico exibiram aumento de 14 vezes na solubilidade.

Wicaksono, Setyawan e Siswandono (WICAKSONO; SETYAWAN; SISWANDONO, 2017) exploraram a formação de cocrystal de cetoprofeno com ácido malônico (2:1) pelo método de evaporação de solvente utilizando álcool isopropílico. A detecção prévia da formação de cocristais foi realizada por microscopia *hot-stage* e diagrama de fase sólido-líquido. Os cocristais foram então caracterizados por DRXP, DSC, IV e microscopia eletrônica de varredura (MEV).

Wicaksono, Setyawan e Siswandono (2018) descrevem a obtenção e caracterização de um cristal cetoprofeno-nicotinamida. O cristal cetoprofeno-nicotinamida na razão molar 2:1 foi obtido através da técnica de evaporação lenta utilizando 2-propanol como solvente. A caracterização do cristal multicomponente foi realizada por DRXP, DSC, IV e MEV. Foi demonstrado que o cetoprofeno-nicotinamida apresentou maior solubilidade e taxa de dissolução do que o cetoprofeno monocomponente (WICAKSONO; SETYAWAN; SISWANDONO, 2018).

Himawan e colaboradores (HIMAWAN *et al.*, 2019) descreveram a obtenção de cocrystal de cetoprofeno e ácido tartárico através de trituração de mistura equimolar dos dois componentes por 10 minutos seguida de evaporação lenta de solvente utilizando metanol. O sólido obtido foi caracterizado por DRXP, DSC, IV, microscopia eletrônica de varredura (MEV) e propriedades de fluxo. De acordo com os autores, o cocrystal demonstrou melhores propriedades de ângulo de repouso, índice de compressibilidade de Carr, razão de Hausner e porosidade.

2.2.10 Mistura eutética de cetoprofeno e nicotinamida

Zaini e colaboradores (2015) prepararam uma mistura eutética de cetoprofeno e nicotinamida pela técnica de fusão. O sólido foi caracterizado por DRXP, microscopia eletrônica de varredura (MEV), IV, DSC e estudos de dissolução. Os autores concluíram que mistura eutética entre cetoprofeno e nicotinamida na fração molar de 0,6: 0,4 aumentou significativamente a taxa de dissolução do cetoprofeno em comparação com o cetoprofeno monocomponente e em comparação com a mistura física.

2.3 VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA ANALÍTICA

Na rotina laboratorial, devem-se empregar métodos validados, a fim de se assegurar a confiabilidade dos resultados obtidos. A validação analítica consiste num processo sistemático de testes experimentais que visam comprovar, através de evidências documentadas, que o método atende aos critérios estabelecidos para o uso pretendido (BRASIL, 2017).

A Resolução da Diretoria Colegiada – RDC N° 166, de 24 de julho de 2017 dispõe sobre a validação de métodos analíticos e dá outras providências. Os parâmetros necessários para a validação da metodologia analítica de um fármaco, de acordo com a RDC 166 são: seletividade, linearidade, precisão, exatidão, limite de detecção, limite de quantificação e robustez (BRASIL, 2017).

A seletividade de um método é comprovada quando se consegue detectar o analito de interesse, mesmo na presença de outros componentes na amostra, como excipientes e produtos de degradação, por exemplo. Em cromatografia, a seletividade deve assegurar que o pico de resposta em determinado tempo de retenção se refere apenas ao analito de interesse, sem interferência de nenhum outro componente. Recomenda-se a comprovação da pureza do pico cromatográfico, utilizando-se detectores de arranjos de diodo (DAD) ou espectrômetro de massas, para que se consiga assegurar que a resposta analítica é unicamente do analito de interesse (BRASIL, 2017; KONATU, 2014; PALLASTRELLI, 2013).

A linearidade de um método deve ser demonstrada por meio da sua capacidade de obter respostas analíticas diretamente proporcionais à concentração de um analito em uma amostra. É determinada pela correlação entre a resposta analítica e a concentração do analito de interesse. Geralmente expressa-se a linearidade por meio de uma curva analítica. Uma relação linear deve

ser avaliada em toda a faixa estabelecida para o método. Para o estabelecimento da linearidade, deve-se utilizar, no mínimo, 5 (cinco) concentrações diferentes da SQR para as soluções preparadas em, no mínimo, triplicata. As soluções utilizadas para avaliação da linearidade devem ser preparadas de maneira independente, podendo ser utilizadas soluções diluídas de uma mesma solução mãe da SQR. Todos os cálculos para a avaliação da linearidade devem ser realizados a partir dos dados de concentrações reais e respostas analíticas individuais (BRASIL, 2017; LANÇAS, 2004; KONATU, 2014).

A precisão deve avaliar a proximidade entre os resultados obtidos por meio de ensaios com amostras preparadas conforme descrito no método analítico a ser validado. A precisão deve ser expressa por meio da repetibilidade, da precisão intermediária ou da reprodutibilidade. A precisão deve ser demonstrada pela dispersão dos resultados, calculando-se o desvio padrão relativo (DPR) da série de medições conforme a fórmula " $DPR=(DP/CMD) \times 100$ ", em que DP é o desvio padrão e CMD, a concentração média determinada (BRASIL, 2017).

A exatidão de um método analítico deve ser obtida por meio do grau de concordância entre os resultados individuais do método em estudo em relação a um valor aceito como verdadeiro. A exatidão deve ser verificada a partir de, no mínimo, 9 (nove) determinações, contemplando o intervalo linear do método analítico, ou seja, 3 (três) concentrações: baixa, média e alta, com 3 (três) réplicas em cada nível (BRASIL, 2017).

O limite de detecção deve ser demonstrado pela obtenção da menor quantidade do analito presente em uma amostra que pode ser detectado, porém, não necessariamente quantificado, sob as condições experimentais estabelecidas (BRASIL, 2017).

O limite de quantificação é a menor quantidade do analito em uma amostra que pode ser determinada com precisão e exatidão aceitáveis sob as condições experimentais estabelecidas (BRASIL, 2017).

A robustez é um parâmetro tipicamente realizado no desenvolvimento do método analítico que indica a sua capacidade em resistir a pequenas e deliberadas variações das condições analíticas (BRASIL, 2017).

Ainda de acordo com a mesma resolução, os métodos analíticos oficiais devem ter sua validade demonstrada por meio de uma validação parcial, devendo ser avaliada, pelo menos, os parâmetros de precisão, exatidão e seletividade (BRASIL, 2017).

2.4 ESTUDOS DE ESTABILIDADE ACELERADA

A estabilidade de um fármaco ou medicamento é definida como o período no qual o produto retém, dentro de limites especificados, e por todo o seu período de armazenamento e uso, suas propriedades químicas, físicas, microbiológicas e biofarmacêuticas (USP 29; WHO 1996). A estabilidade dos fármacos e medicamentos se baseia na resistência a reações químicas, que podem ocorrer nos constituintes ativos das formulações. Todos os fármacos estão sujeitos a alguma forma de decomposição química ou física e de interação com os outros componentes da formulação (GIL *et al.*, 2010).

O estudo de estabilidade acelerado avalia possíveis alterações físicas, químicas, biológicas e microbiológicas de IFAs e medicamentos em condições forçadas de armazenamento, visando auxiliar na determinação do prazo de validade e avaliar o efeito de curtas excursões fora dos cuidados de conservação preconizados (ANVISA 2017).

A resolução atual que estabelece os critérios para a realização de estudos de estabilidade de insumos farmacêuticos ativos e medicamentos é a RDC número 318 de 2019 (ANVISA, 2019b). A RDC 318/2009 define estudo de estabilidade como:

Estudo projetado para testar e prover evidência quanto à variação da qualidade de IFA ou medicamento em função do tempo, diante da influência de uma variedade de fatores ambientais, tais como temperatura, umidade e luz, além de outros fatores relacionados ao próprio produto, como as propriedades físicas e químicas do IFA e dos excipientes farmacêuticos, bem como da forma farmacêutica, do processo de fabricação, do tipo e propriedades dos materiais de embalagem, com o objetivo de estabelecer o prazo de reteste do IFA ou o prazo de validade do IFA e do medicamento (ANVISA, 2019b).

A resolução RDC número 318 de 2019 possuiu uma série de especificações sobre as condições de realização dos estudos de estabilidade. Em relação ao estudo de estabilidade acelerada para IFAs com condição de armazenamento em temperatura ambiente (entre 15°C e 30°C), o mesmo deve ser conduzido a 40 °C ± 2 °C e 75% UR ± 5% UR. A resolução estabelece ainda que as amostras devem ser analisadas no tempo inicial, no 3º e no 6º mês do estudo, quanto aos seguintes testes: aspecto; teor do IFA; quantificação de produtos de degradação individuais e totais; e identificação de produtos de degradação, quando aplicável (ANVISA, 2019b). A resolução não estabelece a necessidade de caracterização das amostras quanto ao

estado sólido, ou quanto a possíveis transições na estrutura cristalina após armazenamento do IFA sob as condições descritas.

2.5 ESTUDOS DE SOLUBILIDADE

Solubilidade é caracterizada pela máxima concentração do fármaco no meio de dissolução em uma dada temperatura (AULTON, 2005). Sabe-se que diferentes formas sólidas de um mesmo IFA podem apresentar diferenças de solubilidade e taxas de dissolução (YU, 2003). A solubilidade dos fármacos na indústria farmacêutica é um assunto importante, já que quarenta por cento dos compostos comercializados e aproximadamente noventa por cento dos fármacos em desenvolvimento são classificados como pouco solúveis (JOUYBAN, 2010; MARTINE, JOUYBAN, ACREE, 2017; LOFTSSON, BREWSTER, 2010).

Em fármacos fracamente ácidos, a solubilidade cresce com o aumento do pH, pois em um pH alto o fármaco estará na sua forma ionizada. No entanto, a solubilidade de bases fracas diminui à medida que o pH aumenta. Para o caso de bases fracas pouco solúveis, é importante que dissolvam rapidamente no estômago, considerando que a sua velocidade de dissolução no intestino será muito lenta. (KANFER, 2002).

A nota técnica n. 003 da ANVISA (BRASIL, 2013) versa sobre a avaliação de solubilidade de fármacos. A ANVISA especifica que a solubilidade de um fármaco no equilíbrio deve ser determinada a 37 ± 1 °C em no mínimo três diferentes meios dentro da faixa de pH fisiológico (entre 1,2 a 6,8). Deve-se adicionar quantidades crescentes de fármaco ao meio selecionado para a obtenção de uma solução saturada que deve ser mantida sob agitação por 24 a 48 horas em velocidade e temperatura controladas, até que a solubilidade de equilíbrio seja atingida. Deve-se utilizar um método validado e indicativo de estabilidade para quantificação das amostras (BRASIL, 2013).

A eficácia terapêutica está inteiramente relacionada com a biodisponibilidade, a qual, por sua vez, está diretamente relacionada com parâmetros de solubilidade (LAWRENCE *et al.*, 2002). Considerando que uma das grandes preocupações das indústrias farmacêuticas é desenvolver medicamentos que apresentam boa biodisponibilidade oral, torna-se necessário conhecer abordagens de desenvolvimento de medicamentos sólidos que apresentem maior solubilidade, tais como a obtenção de sais, cocrístaís ou polimorfos.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Realizar estudos de obtenção, caracterização, estabilidade acelerada e solubilidade em diferentes formas sólidas de cetoprofeno.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Validar métodos para quantificação de cetoprofeno;
- b) Realizar tentativas de obtenção de diferentes formas sólidas do cetoprofeno;
- c) Realizar estudos de caracterização em formas sólidas de cetoprofeno utilizando técnicas de DRXP, IR, DSC e TGA;
- d) Realizar estudos de estabilidade acelerada em formas sólidas de cetoprofeno;
- e) Realizar estudos de solubilidade em formas sólidas de cetoprofeno.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 AMOSTRAS E REAGENTES

Os reagentes e solventes utilizados foram disponibilizados pelo Núcleo de Controle de Qualidade da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Alfenas-MG (NCQ/FCF-UNIFAL-MG).

Os solventes e reagentes utilizados estão descritos a seguir:

Ácido acético Glacial Dinâmica Química Contemporânea[®] LTDA (São Paulo, SP); ácido clorídrico 37% P.A Química moderna Industria e Comércio[®] LTDA (Barueri, SP); hidróxido de sódio P.A. Dinâmica Química Contemporânea[®] LTDA (São Paulo, SP); metanol P.A. Dinâmica Química Contemporânea[®] LTDA (São Paulo, SP). Amostras (matéria-prima, excipientes e coformadores): cetoprofeno matéria-prima, lote: 16402-3004+-009738 validade: 27/01/2020; croscarmelose sódica Henrifarma[®] (São Paulo, SP); Estearato Fragon SM empreendimentos farmacêuticos[®] (Anápolis, GO); Lactose Henrifarma[®] (São Paulo, SP); ácido acetilsalicílico Sigma-Aldrich[®] (São Paulo, SP), ácido ascórbico Sigma-Aldrich[®] (São Paulo, SP); ácido cítrico Sigma-Aldrich[®] (São Paulo, SP); ácido esteárico Sigma-Aldrich[®] (São Paulo, SP); ácido fumárico Sigma-Aldrich[®] (São Paulo, SP); ácido glutâmico Sigma-Aldrich[®] (São Paulo, SP); sacarina Sigma-Aldrich[®] (São Paulo, SP).

4.2 EQUIPAMENTOS E MATERIAIS

Os equipamentos e materiais utilizados nos ensaios estão descritos a seguir:

Balança Sartorius[®] CP225D (Gotinga, Alemanha); balança Sartorius[®] ALC (Gotinga, Alemanha); balança analítica Marte[®] LTDA (Santa Rita do Sapucaí, MG); banho-maria Ethik Technology[®] (Vargem Grande Paulista, SP); calorímetro exploratório diferencial (DSC) Netzsch[®] Syrius 3500 (São Paulo, SP, Brasil); calorímetro exploratório diferencial (DSC) T.A. Instruments[®] Q20 (New Castle, Inglaterra); difratômetro de Raios-X de pó Rigaku[®] Ultima IV (tipo II) (Tóquio, Japão); estufa Marconi[®] (Piracicaba, SP); estufa de dessecação Ethik Technology[®] 400 2ND (Vargem Grande Paulista, SP); estufa de estabilidade Ethik Technology[®] (Vargem Grande Paulista, SP); mesa agitadora orbital com controle de

temperatura Marconi[®] (Piracicaba, SP); espectrofotômetro Shimadzu[®] (Tamboré, SP); filtros PTFE Microlab Scientific[®] (Mongkok, Kowloon Hong Kong); filtro de papel quantitativo C40 faixa branca/filtro redondo/filtração média – lote: 195601214; cromatógrafo líquido Shimadzu[®] Class – VP (Tamboré, SP) com módulos desgaseificador modelo DGU14A, bomba LC-10AD vp, forno CTO-10A vp, detector SPD-10A e controlador SCL-10 A vp; cromatógrafo líquido LC-Solution Shimadzu[®] (Tamboré, SP) com módulos desgaseificador DGU20A, bomba LC-20AD vp, forno CTO-20A vp, detector SPD-M20 A, injetor automático SIL-20AChT e controlador CBM-20A vp ; espectrofotômetro de infravermelho Shimadzu[®] FTIR–ATR affinity-1 (Tamboré, SP); mesa de agitação Solab[®] (Piracicaba, SP); equipamento de termogravimetria (TG) T.A. Instruments[®] SDT Q600 (New Castle, Inglaterra); peagâmetro Marconi[®] PA 200 – Sartorius[®] (Gotinga, Alemanha); sistema de filtração a vácuo Logen Scientific[®]; sistema de purificação de água Gehaka[®] OS20LXE (São Paulo, SP); ultrassom UNIQUE[®] USC 2800 A (Indaiatuba, SP).

4.3 VALIDAÇÃO DA METODOLOGIA ANALÍTICA POR ESPECTROFOTOMETRIA

4.3.1 Seletividade

As amostras para realização da seletividade foram preparadas como descrito a seguir:

- a) solução padrão: pesou-se 0,01 g de cetoprofeno e solubilizou-se em cerca de 70 mL de NaOH 0,1 mol.L⁻¹ levando ao ultrassom por 10 minutos. Completou-se com solvente NaOH 0,1 mol.L⁻¹ para balão volumétrico de 100 mL e filtrou-se em papel de filtro quantitativo. Em seguida, transferiu-se, com auxílio de uma micropipeta, 1 mL dessa solução para balão volumétrico de 10 ml e completou-se o volume com NaOH 0,1 mol.L⁻¹ (concentração final de ativo de 10 µg.mL⁻¹). Realizou-se o procedimento em triplicata (amostras independentes);
- b) solução placebo: pesou-se 0,008 g da mistura de excipientes e solubilizou-se em cerca de 70 mL de NaOH 0,1 mol.L⁻¹ levando ao ultrassom por 10 minutos. Completou-se com solvente NaOH 0,1 mol.L⁻¹ para balão volumétrico de 100 mL e filtrou-se em papel de filtro quantitativo. Em seguida, transferiu-se, com auxílio de uma micropipeta, 1 mL dessa solução para balão volumétrico de 10 ml e completou-se o volume com NaOH 0,1

mol.L⁻¹ (concentração final do placebo de 8 µg.mL⁻¹). Realizou-se o procedimento em triplicata (amostras independentes);

- c) solução padrão adicionado de placebo: pesou-se 0,01 g de cetoprofeno e 0,008 g de placebo e solubilizou-se em cerca de 70 mL de NaOH 0,1 mol.L⁻¹ levando ao ultrassom por 10 minutos. Completou-se com NaOH 0,1 mol.L⁻¹ para balão volumétrico de 100 mL e filtrou-se em papel de filtro quantitativo. Em seguida, transferiu-se, com auxílio de uma micropipeta, 1 mL dessa solução para balão volumétrico de 10 ml e completou-se o volume com NaOH 0,1 mol.L⁻¹ (concentração final do ativo de 10 µg.mL⁻¹). Realizou-se o procedimento em triplicata (amostras independentes).

As soluções preparadas foram analisadas no espectrofotômetro através de uma varredura na região de 200 a 400 nm.

4.3.2 Linearidade

Pesou-se 0,01g de cetoprofeno, solubilizou-se em cerca de 70 mL de NaOH 0,1 mol.L⁻¹ levando ao ultrassom por 10 minutos e completou-se com NaOH 0,1 mol.L⁻¹ para balão volumétrico de 100 mL (concentração final de ativo de 100 µg.mL⁻¹). Com auxílio de uma micropipeta, procedeu-se às diluições da solução de cetoprofeno conforme Tabela 2 abaixo, transferindo para balões volumétricos de 10 mL e completando o volume com NaOH 0,1 mol.L⁻¹. Preparou-se três réplicas para cada concentração (amostras independentes).

Tabela 2 - Concentrações de cetoprofeno em água destilada, utilizadas no ensaio de linearidade.

Amostras	Volume de solução padrão (uL)	NaOH 0,1 mol.L ⁻¹ qsp. (mL)	Concentração (µg.mL ⁻¹)
1	400	10	4,0
2	600	10	6,0
3	800	10	8,0
4	1000	10	10,0
5	1300	10	13,0

Fonte: do autor.

Em seguida, procedeu-se às leituras das amostras de cetoprofeno (n=15), em espectrofotômetro no comprimento de onda de 260,0 nm. Construiu-se a curva de calibração

plotando os valores das absorvâncias em função das concentrações medidas, construiu-se o gráfico de dispersão dos resíduos acompanhado de avaliação estatística, determinou-se a equação da reta de regressão estimada pelo método dos mínimos quadrados e avaliou-se a associação linear entre as variáveis por meio dos coeficientes de correlação (r) e determinação (r^2), e determinou-se a avaliação da significância do coeficiente angular.

4.3.3 Precisão

A precisão foi avaliada aos níveis de repetibilidade e precisão intermediária.

Para a realização da precisão por repetibilidade, as soluções foram preparadas de acordo com o descrito a seguir.

Pesou-se 0,01 g de cetoprofeno e 0,008g de placebo, solubilizou-se em cerca de 70 mL de NaOH 0,1M levando ao ultrassom por 10 minutos e completou-se com NaOH 0,1M para balão volumétrico de 100 mL (concentração final de ativo de $100 \mu\text{g.mL}^{-1}$). Com auxílio de uma micropipeta, procedeu-se às diluições da solução de cetoprofeno conforme tabela abaixo, transferindo para balões volumétricos de 10 mL e completando o volume com NaOH 0,1M. Preparou-se três réplicas para cada concentração (amostras independentes). As soluções foram preparadas de acordo com a Tabela 3.

Tabela 3 - Concentrações de cetoprofeno em NaOH 0,1 mol.L⁻¹, utilizadas no ensaio de precisão intermediária.

Amostras	Volume de solução padrão (uL)	NaOH 0,1 mol.L ⁻¹ qsp. (mL)	Concentração ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)
1	400	10	4,0
2	1000	10	10,0
3	1300	10	13,0

Fonte: do autor.

Procedeu-se as leituras das amostras de cetoprofeno (n=9), em espectrofotômetro no comprimento de onda de 260,0 nm. Em seguida, calculou-se o desvio padrão relativo entre as absorvâncias obtidas em cada concentração.

Procedeu-se as leituras das amostras de cetoprofeno (n=9), em espectrofotômetro no comprimento de onda de 260,0 nm. Em seguida, calculou-se o desvio padrão relativo entre as absorvâncias obtidas em cada concentração.

Para avaliação de precisão intermediária, repetiu-se o procedimento descrito na precisão por repetibilidade em um dia diferente e realizado por um analista diferente, e em seguida procedeu-se as leituras das amostras (n=9), em espectrofotômetro no comprimento de onda de 260,0 nm, calculando o desvio padrão relativo entre as absorvâncias obtidas, considerando as absorvâncias do estudo de precisão por repetibilidade.

4.3.4 Exatidão

Para a realização do ensaio de exatidão, pesou-se 0,01 g de cetoprofeno e 0,008g de placebo, solubilizou-se em cerca de 70 mL de NaOH 0,1 mol.L⁻¹ levando ao ultrassom por 10 minutos e completou-se com NaOH 0,1 mol.L⁻¹ para balão volumétrico de 100 mL (concentração final de ativo de 100 µg.mL⁻¹). Com auxílio de uma micropipeta, procedeu-se às diluições da solução de cetoprofeno conforme tabela abaixo, transferindo para balões volumétricos de 10 mL e completando o volume com NaOH 0,1 mol.L⁻¹. Preparou-se três réplicas para cada concentração (amostras independentes). As amostras foram preparadas de acordo com a Tabela 4.

Tabela 4 - Concentrações de cetoprofeno em NaOH 0,1 mol.L⁻¹, utilizadas no ensaio de exatidão.

Amostras	Volume de solução padrão (µL)	NaOH 0,1 mol.L ⁻¹ qsp (mL)	Concentração (µg.mL ⁻¹)
1	400	10	4,0
2	1000	10	10,0
3	1300	10	13,0

Fonte: do autor.

Para o preparo da solução padrão, pesou-se 0,01 g de cetoprofeno e solubilizou-se em cerca de 70 mL de NaOH 0,1 mol.L⁻¹ levando ao ultrassom por 10 minutos. Completou-se com NaOH 0,1 mol.L⁻¹ para balão volumétrico de 100 mL e filtrou-se em papel de filtro quantitativo. Em seguida, transferiu-se, com auxílio de uma micropipeta, 1 mL dessa solução para balão

volumétrico de 10 ml e completou-se o volume com NaOH 0,1 mol.L⁻¹ (concentração final de 10 µg.mL⁻¹). Realizou-se o procedimento em triplicata (amostras independentes).

Procedeu-se as leituras das amostras de cetoprofeno (n=9) e do padrão (n=3), em espectrofotômetro no comprimento de onda de 260,0 nm. Em seguida, calculou-se a recuperação entre as absorvâncias obtidas em cada concentração em relação ao padrão, de acordo com a seguinte fórmula:

$$\text{Recuperação} = \text{CD}/\text{CT} \times 100$$

Onde, CD é a concentração determinada (experimentalmente) e CT é a concentração teórica.

4.3.5 Limite de quantificação e de detecção

O limite de quantificação foi calculado em relação ao desvio padrão residual da linha de regressão utilizando a seguinte fórmula:

$$\text{LQ}=(10 \times \sigma)/\text{IC}$$

Onde: IC é a inclinação da curva de calibração e σ é o desvio padrão dos resíduos da linha de regressão.

O limite de detecção foi calculado em relação ao desvio padrão residual da linha de regressão utilizando a seguinte fórmula:

$$\text{LD}=(3,3 \times \sigma)/\text{IC}$$

Onde: IC é a inclinação da curva de calibração e σ é o desvio padrão dos resíduos da linha de regressão.

4.3.6 Robustez

Para o ensaio de robustez, as amostras foram preparadas da mesma forma descrita no ensaio de exatidão.

A robustez do método foi avaliada através de testes relacionados às seguintes variáveis:

- a) estabilidade das soluções em função do tempo: preparou-se soluções na concentração de 100% de cetoprofeno mais placebo em triplicata utilizando NaOH 0,1 mol.L⁻¹ como solvente e procedeu-se com as leituras no tempo zero e após 24 e 48 horas;
- b) variação do tempo de ultrassom: para verificar a influência do tempo de ultrassom, preparam-se soluções na concentração de 100% de cetoprofeno mais placebo em triplicata utilizando NaOH 0,1 mol.L⁻¹ como solvente e submeteu-se ao ultrassom por 8 minutos. Após esse tempo foram efetuadas as leituras das absorvâncias em espectrofotômetro.
- c) alteração da marca do papel de filtro quantitativo: para verificar a possível interferência da marca do papel de filtro preparam-se soluções na concentração de 100% de cetoprofeno mais placebo em triplicata utilizando NaOH 0,1 mol.L⁻¹ como solvente e realizou-se a filtração, empregando-se o papel de filtro quantitativo da marca Unifil. Após a filtração foram efetuadas as leituras das absorvâncias em espectrofotômetro;
- d) modificação da concentração do solvente: Para verificar a possível interferência da concentração do solvente preparam-se soluções na concentração de 100% de cetoprofeno mais placebo em triplicata utilizando NaOH 0,09 mol.L⁻¹ como solvente.

Os dados obtidos sob cada condição descrita acima foram comparados com os dados obtidos a partir de amostras preparadas sob condições ótimas.

4.4 VALIDAÇÃO PARCIAL DE MÉTODO ANALÍTICO POR CLAE

Foi realizada uma validação parcial de metodologia analítica por CLAE utilizando o método descrito na farmacopeia americana (USP, 2017), através da avaliação dos parâmetros de seletividade, linearidade, precisão por repetibilidade, precisão intermediária, exatidão, limite de quantificação e limite de detecção.

As condições cromatográficas utilizadas para os ensaios de validação foram: fase móvel composta por água destilada, acetonitrila e ácido acético glacial (55:45:0,5 v/v/v), coluna cromatográfica octadecilsilano (C18) 25 cm x 4,6 mm x 5 µm, concentração do cetoprofeno de 20 µg.mL⁻¹ usando fase móvel como solvente, fluxo de 1,2 mL.min⁻¹, tempo de corrida de 9 minutos com tempo de retenção em aproximadamente 7,5 minutos.

4.4.1 Seletividade

A seletividade do método foi demonstrada pela ausência de interferência de produtos de degradação e de interferência dos excipientes presentes em cápsulas contendo cetoprofeno.

As cápsulas duras contendo cetoprofeno com teor declarado de 50 mg, de acordo com o bulário eletrônico da ANVISA, possuem em sua composição os seguintes excipientes: lactose monoidratada, croscarmelose sódica e estearato de magnésio. O tamanho da cápsula foi determinado de acordo com a densidade do cetoprofeno (0,450 g/mL), obtendo-se um volume de 0,11 mL de cetoprofeno, portanto, a cápsula de nº. 5 foi escolhida (0,17 mL). A mistura de excipientes foi feita considerando a concentração máxima recomendada para cada excipiente (AULTON, 2005): estearato de magnésio (5%), croscarmelose sódica (25%) e lactose monoidratada (qsp. 100%), valores referentes ao volume total de excipientes na cápsula (0,06 mL).

Para avaliação da seletividade frente aos produtos de degradação, as amostras foram submetidas a condições de estresse, conforme descritas a seguir:

- a) hidrólise ácida: em uma estufa, foi acondicionada uma solução de cetoprofeno a 1 mg.mL⁻¹ em ácido clorídrico 1 mol.L⁻¹ com temperatura controlada de 40 °C. Após 24 horas a solução foi diluída em fase móvel a 20 µg.mL⁻¹ e submetida a análise por CLAE;
- b) hidrólise básica: Em uma estufa, foi acondicionada uma solução de cetoprofeno a 1 mg.mL⁻¹ em hidróxido de sódio 1 mol.L⁻¹ com temperatura controlada de 40 °C. Após 24 horas a amostra foi diluída em fase móvel a 20 µg.mL⁻¹ e submetida a análise por CLAE;
- c) fotólise: em uma câmara de UV, 10 mg de cetoprofeno foi exposto a luz ultravioleta. Após 6 horas, a amostra foi diluída em fase móvel a 20 µg.mL⁻¹ e submetida a análise por CLAE;

d) degradação térmica: em uma estufa, 10 mg de cetoprofeno foram acondicionados a 80°C. Após 24 horas, a amostra foi diluída em fase móvel a 20 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ e submetida a análise por CLAE;

e) oxidação: em uma estufa, foi acondicionada uma solução de cetoprofeno a 1 mg.mL^{-1} em peróxido de hidrogênio 10% com temperatura controlada de 40 °C. Após as 24 horas, a amostra foi diluída em fase móvel a 20 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ e submetida a análise por CLAE.

Para demonstrar a seletividade do método frente aos excipientes presentes em cápsulas, foram preparadas três soluções independentes do padrão (a 20 $\mu\text{g. mL}^{-1}$) e três soluções independentes do padrão (a 20 $\mu\text{g. mL}^{-1}$) adicionadas de excipientes. A possível interferência dos excipientes foi avaliada através de análise estatística (comparação das respostas das três soluções do padrão com as respostas das três soluções do padrão adicionado de placebo) através do teste *t de Student*.

4.4.2 Linearidade e Faixa de trabalho

Para avaliação da linearidade, foram preparadas cinco concentrações diferentes da SQR de cetoprofeno em triplicata (réplicas independentes). Inicialmente, pesou-se 10 mg de cetoprofeno SQR, transferiu-se para balão volumétrico de 50 mL e dissolveu-se em fase móvel. A solução foi então diluída em fase móvel para as concentrações de 8,0 (40%); 12,0 (60%); 16,0 (80%); 20,0 (100%) e 24,0 (120%) $\mu\text{g.mL}^{-1}$.

Os seguintes dados foram apresentados: (1) representação gráfica das respostas em função da concentração do analito; (2) gráfico de dispersão dos resíduos, acompanhado de sua avaliação estatística; (3) equação da reta de regressão de y em x, estimada pelo método dos mínimos quadrados; (4) avaliação da associação linear entre as variáveis por meio dos coeficientes de correlação (r, o qual deve estar acima de 0,990) e de determinação (r^2); (5) investigação da homocedasticidade dos dados utilizando um nível de significância de 5%; (6) avaliação da significância do coeficiente angular (o coeficiente angular deve ser significativamente diferente de zero).

Todos os cálculos para a avaliação da linearidade foram realizados a partir dos dados de concentrações reais e respostas analíticas individuais.

A faixa de trabalho foi estabelecida a partir dos estudos de linearidade, juntamente com os resultados de precisão e exatidão.

4.4.3 Precisão

A precisão do método foi avaliada através do cálculo do desvio padrão relativo (DPR) das recuperações das análises aos níveis de repetibilidade e precisão intermediária.

A repetibilidade foi avaliada sob as mesmas condições de operação, mesmo analista e mesma instrumentação, em uma única corrida analítica, utilizando nove determinações (concentrações baixa, média e alta, com três réplicas em cada nível). As amostras para avaliação da precisão foram preparadas de maneira independente desde o início do procedimento descrito no método.

A precisão intermediária foi avaliada repetindo o procedimento de repetibilidade no mesmo laboratório em um dia diferente por um analista diferente.

Para determinação de precisão, adicionou-se a SQR de cetoprofeno nas concentrações de 8,0; 20,0 e 24,0 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ juntamente com os excipientes. As análises foram preparadas em triplicata de maneira independente em cada nível de concentração.

A repetibilidade foi demonstrada pelo cálculo do desvio padrão relativo (DPR) das recuperações das três determinações de cada concentração.

A precisão intermediária foi demonstrada pelo cálculo do desvio padrão relativo (DPR) das recuperações das seis determinações de cada concentração (considerando os resultados obtidos em dois dias diferentes por analistas diferentes). O limite aceitável adotado foi o do DPR inferior a 2,0.

4.4.4 Exatidão

A exatidão foi verificada a partir de nove determinações: baixa, média e alta, com três réplicas em cada nível. As amostras para avaliação da exatidão foram preparadas de maneira independente.

Para avaliação da exatidão, adicionou-se a SQR de cetoprofeno nas concentrações de 8,0; 20,0 e 24,0 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ nas amostras de placebo.

A porcentagem de recuperação, no caso de adição de SQR ao placebo, foi calculada através da seguinte fórmula:

$$\text{Recuperação} = \text{CD}/\text{CT} \times 100$$

Onde, CD é a concentração determinada (experimentalmente) e CT é a concentração teórica.

O limite aceitável para recuperação foi entre 98-102% em cada nível de concentração para os ensaios de exatidão.

4.4.5 Limite de quantificação e de detecção

O limite de quantificação foi calculado em relação ao desvio padrão residual da linha de regressão utilizando a seguinte fórmula:

$$\text{LQ} = (10 \times \sigma) / \text{IC}$$

Onde: IC é a inclinação da curva de calibração e σ é o desvio padrão dos resíduos da linha de regressão.

O limite de detecção foi calculado em relação ao desvio padrão residual da linha de regressão utilizando a seguinte fórmula:

$$\text{LD} = (3,3 \times \sigma) / \text{IC}$$

Onde: IC é a inclinação da curva de calibração e σ é o desvio padrão dos resíduos da linha de regressão.

4.5 OBTENÇÃO DE FORMAS SÓLIDAS

Inicialmente, diferentes matérias-primas de cetoprofeno foram codificadas como CETMPs e analisadas por DRXP, a fim de se verificar qual a estrutura cristalina presente no material de partida a ser utilizado nas tentativas de obtenção de formas sólidas do cetoprofeno. Os

difratogramas obtidos a partir das matérias-primas foram comparados com os difratogramas calculados a partir das estruturas do cetoprofeno depositadas na *Cambridge Structural Database* (CSD): cetoprofeno mistura racêmica (KEMRUP e KEMRUP01) (BRIARD E ROSSI, 1990; PAWLEDZIO *et al.*, 2018), polimorfo DXKP- α do S-enantiômero do cetoprofeno (MIRGAY01) (PAWLEDZIO *et al.*, 2018), polimorfo DXKP- β do S-enantiômero do cetoprofeno (MIRGAY02) (ROSSI *et al.*, 2019) e o sal de trometamina do S-enantiômero puro do cetoprofeno (COZBAX) (ROSSI *et al.*, 2020).. As matérias-primas foram também analisadas quanto a possíveis contaminações por outras formas sólidas do cetoprofeno, através das análises dos picos de Bragg dos seus difratogramas experimentais.

Na sequência, a fim de se obter um sal sódico de cetoprofeno, a metodologia descrita por Hildebrand e Müller-Goyman (1996) foi adaptada solubilizando-se 1g de cetoprofeno matéria prima em 8 mL de hidróxido de sódio 0,5 mol.L⁻¹ etanólico, obtendo-se uma solução equimolar entre as moléculas de cetoprofeno e os íons sódio. Em seguida, a solução foi filtrada utilizando filtro de papel quantitativo e transferida para béquer de 10 mL, cobrindo-se com papel filme furado e deixado em repouso em temperatura ambiente até completa evaporação do solvente. Foi observada a formação de um pó branco, codificado como CETNa, o qual foi analisado por DRXP. O difratograma da amostra foi então comparado com os difratogramas calculados a partir das estruturas do cetoprofeno depositadas no CSD.

Com o objetivo de tentar obter polimorfos de cetoprofeno, foi utilizada a técnica de evaporação lenta de solvente, através de *screening* utilizando diferentes soluções. Em uma primeira etapa, foram preparadas soluções de cetoprofeno saturadas e/ou próximas da saturação em solventes puros ou solventes misturados com água. Inicialmente pesou-se 10 mg do cetoprofeno, transferiu-se para um béquer e adicionou-se os solventes descritos na Tabela 5 à temperatura ambiente (aproximadamente 25°C). Na sequência, filtrou-se cada solução para frasco de penicilina, cobriu-se com papel filme furado e deixou-se evaporar em temperatura ambiente.

Tabela 5 - Solventes utilizados em tentativas de obtenção de polimorfos do cetoprofeno.

H ₂ O (10 mL)	ISOP (5 mL) + H ₂ O (5 mL)
ACN (10 mL)	METET (10 mL)
ACN (5 mL) + H ₂ O (5 mL)	MET (5 mL) + H ₂ O (5 mL)
ACE (10 mL)	ET (10 mL)
ACE (5 mL) + H ₂ O (5 mL)	ET (5 mL) + H ₂ O (5 mL)
MET (10 mL)	CLO (10 mL)
MET (5 mL) + H ₂ O (5 mL)	CLO (5 mL) + H ₂ O (5 mL)
ISOP (10 mL)	

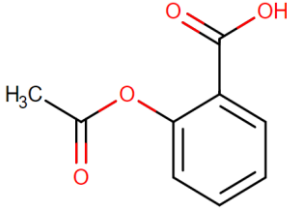
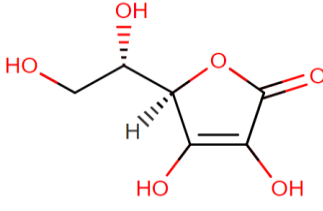
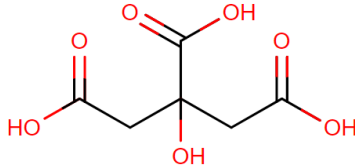
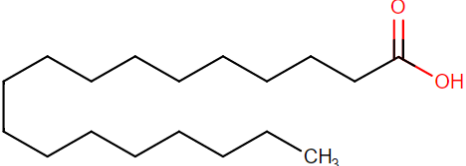
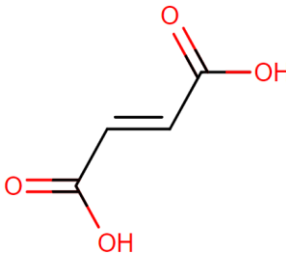
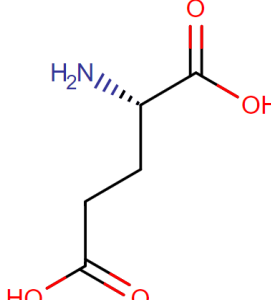
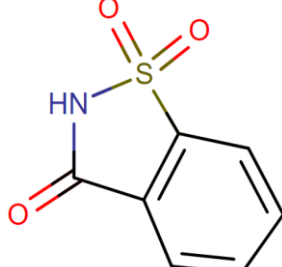
Fonte: do autor.

Legenda: acetonitrila (ACN), acetona (ACE), metanol (MET), álcool isopropílico (ISOP), metil etil cetona (METET), álcool etílico (ET) e clorofórmio (CLO).

Ao término dessa etapa, foram selecionados os processos que apresentaram cristais macroscópicos com rendimento considerável para reprodução do método. Foi possível observar a formação de cristais nas soluções de cetoprofeno em metanol, mistura de metanol e água, e acetona. Um novo processo de recristalização foi então realizado em maior quantidade, utilizando 50 mg de cetoprofeno dissolvido em 25 mL de solvente puro ou em 30 mL de misturas de solventes (15 mL de solvente + 15 mL de H₂O). Codificou-se os pós obtidos em CETMET, CETMETH₂O e CETACE, os quais foram analisados por DRXP. Os difratogramas das amostras foram então comparados com os difratogramas calculados a partir das estruturas do cetoprofeno depositadas no CSD.

Foram também realizadas tentativas de obtenção de cocristais de cetoprofeno por método de *screening* via transformação de fase mediada por solução (SMPT) (BUČAR *et al.*, 2009; ZHANG *et al.*, 2007), utilizando diferentes coformadores escolhidos considerando os critérios utilizados para formação de cocristais de acordo com Gadade e Pekamwar (2016): i) delta pKa menor que 3 entre o cetoprofeno e o coformador, para evitar a formação de sal; ii) região de complementariedade com o fármaco, para formação de sítios supramoleculares, considerando os seguintes princípios: todo hidrogênio ácido presente em uma molécula pode formar ligações de hidrogênio intermoleculares na estrutura cristalina do composto; bons receptores de ligação de hidrogênio podem apresentar interações intermoleculares com doadores de ligações de hidrogênio disponíveis; preferencialmente, as ligações de hidrogênio são formadas entre o melhor doador e o melhor receptor de ligações de hidrogênio (GADADE; PEKAMWAR, 2016). Os coformadores escolhidos estão descritos na Tabela 6, de acordo com a disponibilidade.

Tabela 6 - Coformadores utilizados nas tentativas de obtenção de cocrystal cetoprofeno via SMPT

Coformador	Estrutura	PKas
Ácido acetilsalisílico		3,5
Ácido L-ascórbico		4,17; 11,57
Ácido cítrico		3,09; 4,75; 6,41
Ácido esteárico		4,9
Ácido fumárico		3,03; 4,44
Ácido glutâmico		2,19; 4,25; 9,67.
Sacarina		~ 2

Primeiramente, 1 a 3 mmols de cetoprofeno foram misturados com 1 mmol de coformador em frasco de penicilina. Foram adicionados de 1,0 a 4,0 mL de diferentes solventes conforme representado nas Tabelas 7, 8, 9, 10, 11, 12 e 13. O frasco foi tampado e levado no ultrassom por 10 minutos, observando se houve mudança de fase. Deixou-se o frasco tampado à temperatura ambiente por 24 horas, o sólido residual foi recolhido, seco em dessecador e analisado por DRXP. Os difratogramas obtidos foram então comparados com os difratogramas calculados a partir das estruturas do cetoprofeno depositadas no CSD.

Tabela 7 - Tentativa de obtenção de cocrystal de cetoprofeno e ácido cítrico por método de screening via transformação de fase mediada por solução (SMPT).

Código	Proporção de Cetoprofeno + Ácido Cítrico (mmols)	Solvente
CET_AC_SMPT_1	1:1	Acetonitrila (1mL)
CET_AC_SMPT_2	2:1	Acetonitrila (1mL)
CET_AC_SMPT_3	3:1	Acetonitrila (1mL)
CET_AC_SMPT_4	1:1	Hexano (1mL)
CET_AC_SMPT_5	2:1	Hexano (1mL)
CET_AC_SMPT_6	3:1	Hexano (1mL)
CET_AC_SMPT_7	1:1	Acetonitrila (2mL)
CET_AC_SMPT_8	1:1	Acetonitrila (3mL)
CET_AC_SMPT_9	1:1	Acetonitrila (4mL)
CET_AC_SMPT_10	1:1	Hexano (2mL)
CET_AC_SMPT_11	1:1	Hexano (3mL)
CET_AC_SMPT_12	1:1	Hexano (4mL)

Fonte: do autor.

Legenda: Ácido cítrico utilizado como coformador.

Tabela 8 - Tentativa de obtenção de cocrystal de cetoprofeno e ácido acetilsalicílico por método de screening via transformação de fase mediada por solução (SMPT).

Código	Proporção de Cetoprofeno + Ácido Acetilsalicílico (mmols)	Solvente
CET_AAS_SMPT_1	1:1	Etanol (1mL)
CET_AAS_SMPT_2	1:1	Isopropanol (1mL)

Fonte: do autor.

Legenda: Ácido acetilsalicílico utilizado como coformador.

Tabela 9 - Tentativa de obtenção de cocrystal de cetoprofeno e ácido ascórbico por método de screening via transformação de fase mediada por solução (SMPT).

Código	Proporção de Cetoprofeno + Ácido Ascórbico (mmols)	Solvente
CET_AA_SMPT_1	1:1	Etanol (1mL)
CET_AA_SMPT_2	1:1	Isopropanol (1mL)
CET_AA_SMPT_3	1:1	Etanol (4mL)
CET_AA_SMPT_4	1:1	Isopropanol (4mL)
CET_AA_SMPT_5	2:1	Etanol (1mL)

Fonte: do autor.

Legenda: Ácido ascórbico utilizado como coformador.

Tabela 10 - Tentativa de obtenção de cocrystal de cetoprofeno e ácido esteárico por método de screening via transformação de fase mediada por solução (SMPT).

Código	Proporção de Cetoprofeno + Ácido Esteárico (mmols)	Solvente
CET_AE_SMPT_1	1:1	Etanol (1mL)
CET_AE_SMPT_2	1:1	Isopropanol (1mL)

Fonte: do autor.

Legenda: Ácido esteárico utilizado como coformador.

Tabela 11 - Tentativa de obtenção de cocrystal de cetoprofeno e ácido fumárico por método de screening via transformação de fase mediada por solução (SMPT).

Código	Proporção de Cetoprofeno + Ácido Fumárico (mmols)	Solvente
CET_AF_SMPT_1	1:1	Etanol (1mL)
CET_AF_SMPT_2	1:1	Isopropanol (1mL)
CET_AF_SMPT_5	2:1	Etanol (1mL)

Fonte: do autor.

Legenda: Ácido fumárico utilizado como coformador.

Tabela 12 - Tentativa de obtenção de cocrystal de cetoprofeno e ácido glutâmico por método de screening via transformação de fase mediada por solução (SMPT)

Código	Proporção de Cetoprofeno + Ácido Glutâmico (mmols)	Solvente
CET_AG_SMPT_1	1:1	Etanol (1mL)
CET_AG_SMPT_2	1:1	Isopropanol (1mL)
CET_AG_SMPT_3	1:1	Etanol (4mL)
CET_AG_SMPT_4	1:1	Isopropanol (4mL)
CET_AG_SMPT_5	2:1	Etanol (1mL)

Fonte: do autor.

Legenda: Ácido glutâmico utilizado como coformador.

Tabela 13 - Tentativa de obtenção de cocrystal de cetoprofeno e sacarina por método de screening via transformação de fase mediada por solução (SMPT).

Código	Proporção de Cetoprofeno + Sacarina (mmols)	Solvente
CET_SAC_SMPT_1	1:1	Etanol (1mL)
CET_SAC_SMPT_2	1:1	Isopropanol (1mL)
CET_SAC_SMPT_3	1:1	Etanol (4mL)
CET_SAC_SMPT_4	1:1	Isopropanol (4mL)
CET_SAC_SMPT_5	1:2	Etanol (1mL)

Fonte: do autor.

Legenda: Sacarina utilizada como coformador.

4.6 CARACTERIZAÇÃO DE FORMAS SÓLIDAS

4.6.1 Difração de Raios-X por pó (DRXP)

As amostras foram colocadas individualmente sobre lâmina de vidro e inseridas no suporte de amostra do difratômetro. As análises foram realizadas em difratômetro de pó da marca Rigaku®, modelo Ultima IV de geometria θ - 2θ , com detector de cintilação, e radiação monocromatizada por grafite proveniente de um tubo selado de Cu ($\text{CuK}\alpha$, $\lambda = 1,54187 \text{ \AA}$). As

varreduras foram realizadas entre o intervalo de 5 a $35^\circ 2\theta$, à temperatura ambiente, corrente de 30 mA, tensão de 40 kV e velocidade de varredura de $1^\circ 2\theta/\text{min}$.

4.6.2 Espectroscopia de infravermelho (IV)

As análises foram realizadas em espectrofotômetro de infravermelho por transformada de *Fourier* da marca Shimadzu[®], modelo Affinity-1, com a utilização de módulo de refletância total atenuada (ATR). Os dados foram coletados a temperatura ambiente, na região do infravermelho entre $3500\text{-}400\text{ cm}^{-1}$, no modo transmitância, com resolução de $4,0\text{ cm}^{-1}$ e 32 *scans*.

4.6.3 Análises Térmicas

Análises por DSC foram realizadas pesando-se de 5,0 a 7,0 mg de amostra em placas de alumínio, as quais foram posteriormente fechadas e analisadas em calorímetro DSC NETZSCH[®], modelo Sirius 3500. As medidas foram realizadas na faixa de 40 a 400 °C, sob atmosfera de nitrogênio ($50\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$) e taxa de aquecimento de $10\text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$.

Análises por TG foram realizadas pesando-se cerca de 11 mg de amostra em placas de alumina (óxido de alumínio) abertas. As medidas foram realizadas em termobalança SII Nano Technology[®], modelo EXSTAR TG/DTA-7300, no intervalo de 40 a 500 °C, sob atmosfera de nitrogênio gasoso ($50\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$) e taxa de aquecimento de $10\text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$.

4.7 ESTUDOS DE ESTABILIDADE ACELERADA

As formas sólidas foram acondicionadas em câmara climática a $40\text{ }^\circ\text{C} \pm 2\text{ }^\circ\text{C} / 75\% \text{ UR} \pm 5\% \text{ UR}$. Os seguintes testes foram realizados nos tempos 0 (zero), 3 (três) e 6 (seis) meses após acondicionamento das amostras: doseamento do IFA e DRXP de acordo com as condições descritas.

4.8 ESTUDOS DE SOLUBILIDADE

Os ensaios foram realizados em triplicata, adicionando-se excesso de cada forma sólida (até que fosse observado corpo de fundo) em frascos contendo 10 mL de solventes com pH controlado: tampão fosfato pH 6,8 (322,4 mmol.L⁻¹), tampão acetato pH 4,5 (24,7 mmol.L⁻¹), tampão HCl pH = 1,2 (135 mmol.L⁻¹) e água obtida por sistema de osmose reversa (pH entre 5 e 7). Posteriormente, as soluções foram agitadas sob temperatura controlada (37°C ± 1°C) por até 72 horas. Nos intervalos de tempo de 24, 48 e 72 horas, alíquotas de 1 mL de amostra foram coletadas, diluídas em fase móvel, e quantificadas por cromatografia líquida de alta eficiência, utilizando método validado. Em cada amostragem a 37 °C, também foram observados o padrão de difração de pó do sólido remanescente, para verificar se não houve aparecimento de outra fase sólida.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 VALIDAÇÃO ESPECTROFOTOMÉTRICA

5.1.1 Seletividade

Inicialmente, foram realizadas varreduras espectrais na região do UV de 200 a 400 nm em soluções de matéria-prima de cetoprofeno, padrão secundário de cetoprofeno e placebo. Os resultados estão demonstrados na Figura 9.

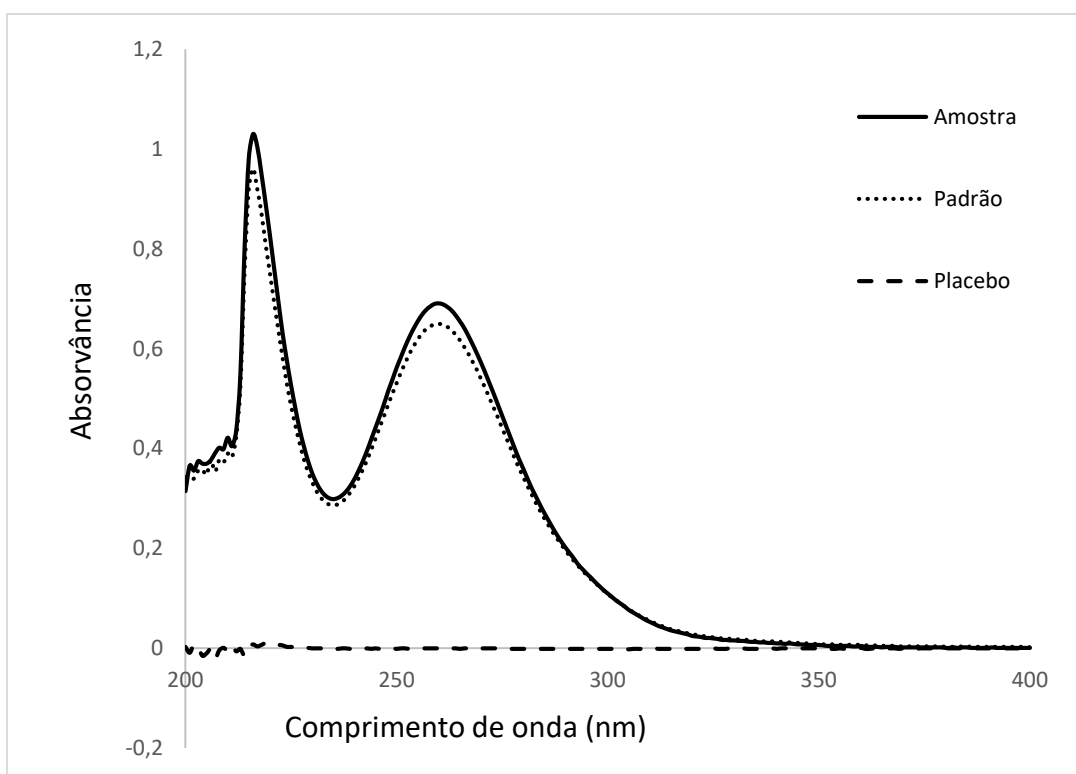


Figura 9 - Sobreposição de espectros de soluções de matéria-prima de cetoprofeno, padrão secundário de cetoprofeno e placebo para determinação da seletividade de método espectrofotométrico para determinação de cetoprofeno em cápsulas, utilizando como solvente NaOH 0,1 mol.L⁻¹.

Fonte: do autor.

Conforme demonstrado na Figura 9, a seletividade do método foi verificada pela ausência de resposta em 260 nm da mistura de excipientes (placebo) utilizados em cápsulas de cetoprofeno. Por este motivo, o comprimento de onda de 260 nm foi selecionado para os estudos posteriores.

Para confirmar a ausência de interferência do placebo junto ao padrão de cetoprofeno, foi realizado um estudo de comparação estatística entre as respostas analíticas do cetoprofeno SQR e cetoprofeno SQR adicionado ao placebo (matriz). Os resultados de absorvâncias das soluções estão demonstrados na Tabela 14.

Tabela 14 - Valores de absorvâncias obtidos em estudo de seletividade de método espectrofotométrico para determinação de cetoprofeno em cápsulas. Leituras em 260 nm.

Cetoprofeno SQR	Cetoprofeno SQR adicionado ao placebo
0,660	0,643
0,685	0,683
0,726	0,689

Fonte: do autor.

Os dados da Tabela 14 foram então analisados pelos seguintes testes: teste de Shapiro-Wilk, teste F para igualdade de variâncias e teste t de *Student* presumindo variâncias equivalentes. Os resultados estão demonstrados nas tabelas 15, 16 e 17 abaixo.

Tabela 15 - Resultados do teste de Shapiro-Wilk para estudo de seletividade de método espectrofotométrico para determinação de cetoprofeno em cápsulas.

Tamanho da amostra	6
Média	0,6810
Desvio padrão	0,0282
W	0,9528
p	0,7199

Fonte: do autor.

Conforme demonstrado na Tabela 15, o p-valor obtido (0,7199) é maior do que o nível de significância de 0,05. Portanto, se aceita a hipótese nula de que os dados analisados seguem

distribuição normal, sendo este um dos pré-requisitos para posterior análise pelo teste t de *Student*.

Tabela 16 - Resultados do teste F para igualdade de variâncias para estudo de seletividade de método espectrofotométrico para determinação de cetoprofeno em cápsulas.

	Cetoprofeno SQR	Cetoprofeno SQR adicionado ao placebo
Média	0,690	0,672
Variância	0,001	0,0006
Observações	3	3
gl	2	2
F	1,78	
P(F<=f) uni-caudal	0,36	
F crítico uni-caudal	19	

Fonte: do autor.

Conforme demonstrado na Tabela 16 acima, o p-valor obtido (0,36) é maior do que o nível de significância de 0,05. Portanto, aceita-se a hipótese nula de que as variâncias são estatisticamente iguais. Sendo assim, os dados foram comparados pelo teste t de *Student* presumindo variâncias equivalentes.

Tabela 17 - Resultados do teste t de Student presumindo variâncias equivalentes para estudo de seletividade de método espectrofotométrico para determinação de cetoprofeno em cápsulas.

	Cetoprofeno SQR	Cetoprofeno SQR adicionado ao placebo
Média	0,690	0,672
Variância	0,0011	0,0006
Observações	3	3
gl	4	
Stat t	0,7761	
P(T<=t) uni-caudal	0,2405	
t crítico uni-caudal	2,13	
P(T<=t) bi-caudal	0,48	
t crítico bi-caudal	2,78	

Fonte: do autor.

Conforme demonstrado na Tabela 17 acima, o p-valor bi-caudal obtido (0,48) é maior do que o nível de significância de 0,05. Portanto, aceita-se a hipótese nula de que as absorvâncias das soluções da SQR do analito e as absorvâncias das soluções do placebo + SQR do analito são estatisticamente iguais. Sendo assim, comprova-se que a matriz não influencia no resultado analítico, sendo confirmada a seletividade em relação os excipientes utilizados neste estudo.

5.1.2 Linearidade

Os resultados obtidos no estudo de linearidade estão demonstrados na Tabela 18.

Tabela 18 - Valores de absorvâncias obtidos em estudo de linearidade de método espectrofotométrico para determinação de cetoprofeno em cápsulas. Leituras em 260 nm.

Concentração ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	Absorvância
4,000	0,249
4,120	0,272
4,240	0,287
6,000	0,399
6,180	0,417
6,360	0,449
8,000	0,515
8,240	0,560
8,480	0,598
10,000	0,640
10,300	0,685
10,600	0,732
13,000	0,831
13,390	0,872
13,780	0,942

Fonte: do autor.

A partir dos resultados da Tabela 18 acima, construiu-se um gráfico das respostas em função das concentrações do analito através do método dos mínimos quadrados. Os resultados estão demonstrados na Figura 10.

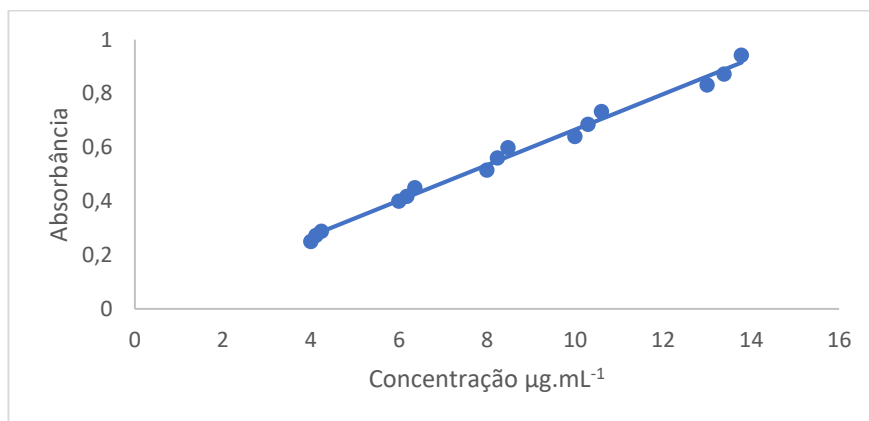


Figura 10 - Representação gráfica das respostas em função das concentrações do analito em estudo de linearidade de método espectrofotométrico para determinação de cetoprofeno em cápsulas. Leituras em 260 nm.

Fonte: do autor.

Os resultados da Figura 10 acima demonstram que o método para determinação de cetoprofeno em cápsulas segue tendência linear.

Os dados obtidos no estudo de linearidade foram utilizados para verificação de homocedasticidade (igualdade das variâncias) pelo teste de Cochran. O valor C calculado, obtido pela equação: $C = (\text{Maior variância em } Y) / (\text{Soma de todas as variâncias em } Y)$, foi de 0,394. Este valor é menor do que o valor C tabelado para 5 pontos e 3 réplicas (0,684). Portanto, aceita-se a hipótese nula de que as variâncias são estatisticamente iguais.

Os dados obtidos no estudo de linearidade foram utilizados para cálculo de resíduos. Os resultados estão demonstrados na Tabela 19 e Figura 11.

Tabela 19 - Valores de resíduos obtidos em estudo de linearidade de método espectrofotométrico para determinação de cetoprofeno em cápsulas. Leituras em 260 nm.

Observação	Resíduos
1	-0,021
2	-0,006
3	0,001
4	-0,003
5	0,003
6	0,023
7	-0,019
8	0,010
9	0,033
10	-0,026
11	0,000
12	0,027
13	-0,033
14	-0,017
15	0,027

Fonte: do autor.

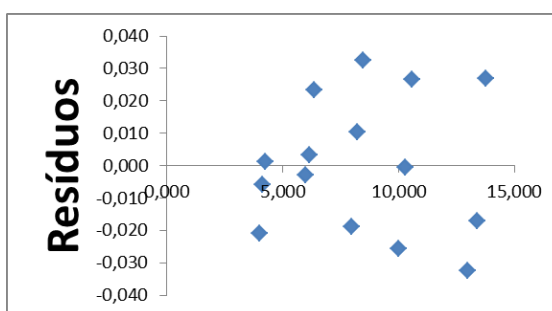


Figura 11 - Representação gráfica de resíduos obtidos em estudo de linearidade de método espectrofotométrico para determinação de cetoprofeno em cápsulas. Leituras em 260 nm.

Fonte: do autor.

Os resultados da Tabela 19 e Figura 11 acima demonstram que há comportamento aleatório, não sendo observada nenhuma tendência no gráfico de resíduos.

Na sequência, a hipótese de que os resíduos estão aleatoriamente distribuídos em torno da média foi avaliada pelo teste de Shapiro-Wilk. Os resultados estão demonstrados na Tabela 20.

Tabela 20 - Resultados do teste de Shapiro-Wilk para estudo de linearidade de método espectrofotométrico para determinação de cetoprofeno em cápsulas.

Tamanho da amostra	15
Média	-0,0001
Desvio padrão	0,0209
W	0,9488
p	0,4899

Fonte: do autor.

Conforme demonstrado na Tabela 20 acima, o p-valor obtido (0,4899) foi maior do que o nível de significância de 0,05. Portanto, aceita-se a hipótese nula de que os dados analisados seguem distribuição normal.

Os dados obtidos no estudo de linearidade foram utilizados para cálculo de resíduos padronizados. Os resultados estão demonstrados na Tabela 21.

Tabela 21 - Valores de resíduos padronizados obtidos em estudo de linearidade de método espectrofotométrico para determinação de cetoprofeno em cápsulas.

Observação	Resíduos padronizados
1	-1,012
2	-0,285
3	0,057
4	-0,139
5	0,156
6	1,126
7	-0,906
8	0,501
9	1,570
10	-1,238
11	-0,022
12	1,289
13	-1,568
14	-0,831
15	1,303

Fonte: do autor.

Os resultados da Tabela 21 demonstram que nenhuma das observações pode ser considerada como um "outlier", pois todos os resíduos padronizados estão dentro do intervalo de -3 a +3.

Os dados obtidos no estudo de linearidade foram avaliados por meio do teste F na análise da variância (ANOVA) da regressão. Os resultados estão demonstrados na Tabela 22.

Tabela 22 - Análise da variância (ANOVA) da regressão a partir de dados obtidos em estudo de linearidade de método espectrofotométrico para determinação de cetoprofeno em cápsulas.

	gl	SQ	MQ	F	F de significação
Regressão	1	0,678	0,678	1464,120	0,000
Resíduo	13	0,006	0,000		
Total	14	0,685			

Fonte: do autor.

Conforme demonstrado na Tabela 22, o valor de F calculado (1464,12) foi maior do que o valor de F tabelado. Portanto, rejeita-se a hipótese nula de que o coeficiente angular é estatisticamente igual a zero.

Finalmente, os dados obtidos no estudo de linearidade foram utilizados para cálculos de equação da reta, coeficiente de correlação (r) e coeficiente de regressão (R^2). Os resultados estão demonstrados na Tabela 23.

Tabela 23 - Equação da reta, coeficiente de correlação (r) e coeficiente de regressão (R^2) a partir de dados obtidos em estudo de linearidade de método espectrofotométrico para determinação de cetoprofeno em cápsulas.

Equação	$y = 0,0659x + 0,0062$
r	0,9956
R^2	0,9912

Fonte: do autor.

Conforme demonstrado na Tabela 23, pode-se dizer que o método espectrofotométrico é linear no intervalo de 4,000 a 13,780 $\mu\text{g. mL}^{-1}$, pois o coeficiente de correlação obtido (0,9956)

foi maior do que o valor mínimo de 0,99 estabelecido pela resolução RDC da Anvisa número 166 de 2017 (BRASIL, 2017).

5.1.3 Precisão e Exatidão

Os resultados obtidos no estudo de precisão estão demonstrados nas Tabelas 24 e 25.

Tabela 24 - Valores de recuperação obtidos em estudo de repetibilidade de método espectrofotométrico para determinação de cetoprofeno em cápsulas. Leituras em 260,0 nm.

Réplicas	4$\mu\text{g.mL}^{-1}$	DPR	10$\mu\text{g.mL}^{-1}$	DPR	13$\mu\text{g.mL}^{-1}$	DPR
	103,66		100,69		101,30	
Recuperação %	102,58	0,63	98,19	1,28	100,44	0,79
	103,75		99,87		99,72	

Fonte: do autor.

Tabela 25 - Valores de recuperação obtidos em estudo de precisão intermediária e exatidão do método espectrofotométrico para determinação de cetoprofeno em cápsulas. Leituras em 260,0 nm.

Réplicas	4 $\mu\text{g.mL}^{-1}$	DPR	10 $\mu\text{g.mL}^{-1}$	DPR	13 $\mu\text{g.mL}^{-1}$	DPR
	103,66		100,69		101,30	
	102,58		98,19		100,44	
Recuperação %	103,75	1,06	99,87	1,33	99,72	0,71
	105,80		101,31		100,65	
	103,31		98,34		101,55	
	103,28		100,85		100,00	

Fonte: do autor.

Os valores de desvio padrão relativo no ensaio de repetibilidade e precisão intermediária estão dentro do limite recomendado de 2%. Pode-se considerar que o método é preciso para análises no mesmo dia e em dias diferentes realizadas por analistas diferentes para as concentrações baixa, média e alta.

Os valores de recuperação se demonstraram dentro da faixa aceitável de 98 a 102 % nas concentrações média e alta. O método não é exato para a concentração baixa de 40 %.

5.1.4 Limite de detecção e limite de quantificação

Os limites de detecção e quantificação foram calculados utilizando o desvio padrão dos resíduos da curva de linearidade. Os resultados foram 1,04 e 3,14 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ para o limite de detecção e limite de quantificação, respectivamente. Provavelmente o método não foi exato na concentração baixa (4 $\mu\text{g.mL}^{-1}$) porque esta concentração está próxima do limite de quantificação.

5.1.5 Robustez

Os resultados de robustez estão descritos na tabela 26.

Tabela 26 - Valores de recuperação obtidos em estudo de robustez de método espectrofotométrico para determinação de cetoprofeno em cápsulas. Leituras em 260,0 nm.

Variáveis na concentração de 10 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ (100 %)	Condições normais	Ultrassom 8 minutos	Filtro marca UNIFIL	NaOH 0,09 mol.L^{-1}
	99,76	101,29	102,14	101,6
% Recuperação	98,37	103,16	106,6	101,07
	102,26	99,36	106,15	102,73
DPR (%)	1,97	1,88	2,34	1,32
% Recuperação média	100,13	101,27	104,96	101,46

Fonte: do autor.

De acordo com os resultados da tabela 26, pode-se observar que o método não é robusto para a utilização do filtro da marca UNIFIL, pois a porcentagem de recuperação está superior ao limite recomendado de 98 a 102 %.

5.2 VALIDAÇÃO PARCIAL DE MÉTODO ANALÍTICO POR CLAE

5.2.1 Escolha do método cromatográfico

Realizou-se um levantamento bibliográfico das condições cromatográficas descritas na literatura para análise de cetoprofeno.

As condições descritas nas farmacopeias pesquisadas são:

- a) Farmacopeia Brasileira (2017): método por CLAE; fase móvel: mistura de água, acetonitrila e tampão pH 3,5 (55:43:2 v/v/v); solvente: fase móvel; sistema cromatográfico: coluna 4,6 mm x 150 mm x 5 µm, detecção em 230 nm, empacotamento C-18, fluxo de 1 mL.min⁻¹ e volume de injeção de 20 µL;
- b) USP (2017): método por CLAE; fase móvel: mistura de água, acetonitrila e ácido acético glacial (110:90:1 v/v/v); solvente: fase móvel; sistema cromatográfico: coluna 4,6 mm x 25 cm x 5 µm, detecção em 260 nm, empacotamento C-18, fluxo de 1,2 mL.min⁻¹ e volume de injeção de 20 µL.

As condições utilizadas nos estudos de validação foram as descritas na farmacopeia americana (USP, 2017). O cromatograma a partir das condições descritas está representado na Figura 12 a seguir.

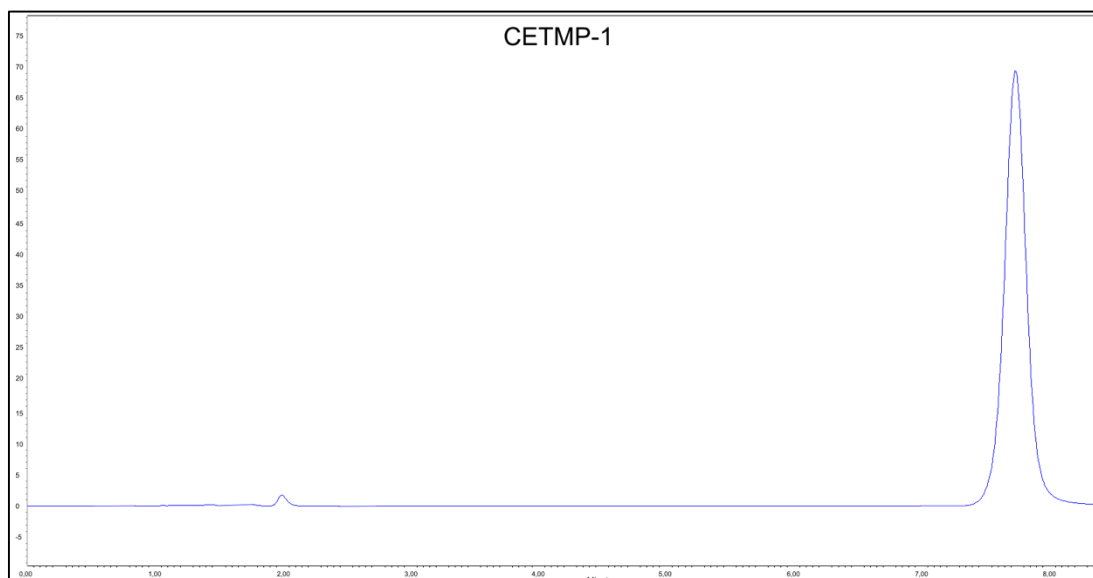


Figura 12 - Cromatograma de cetoprofeno SQR com detecção em 260 nm.
Fonte: do autor.

5.2.2 Seletividade

A avaliação da seletividade frente aos produtos de degradação sob condições de estresse conforme descrito no item 4.4.1, está demonstrada na Tabela 27 a seguir.

Tabela 27 - Pureza de pico do cetoprofeno frente aos produtos de degradação

Condição	Área	Pureza	Coel. Imp.	% Deg
Padrão	1538745	0,99997	ND	0%
Fotolítica 06h	1488412	0,99998	ND	3,27104231
Fotolítica 24h	1433896	0,99995	ND	6,81392953
Térmica 24h	1512251	0,99999	ND	1,72179276
Hidrólise Ácida 24h	1511704	0,99997	ND	1,75734121
Hidrólise Básica 24h	1525006	0,99997	ND	0,89287049
Oxidação 24h	1527658	0,99995	ND	0,72052224

Fonte: do autor.

A partir dos resultados da Tabela 27, observou-se que o pico cromatográfico referente ao cetoprofeno se demonstrou puro na presença de produtos de degradação. Nenhuma das

condições apresentaram picos de produtos de degradação. A maior percentagem de degradação foi sob a condição de UV 24h, resultado já esperado por se tratar de um IFA fotossensível.

Para a avaliação da seletividade frente aos excipientes, foram realizadas análises de soluções de cetoprofeno SQR e excipientes (lactose monoidratada, croscarmelose sódica e estearato de magnésio) no comprimento de onda de 260 nm.

Os resultados das áreas das soluções da SQR do analito e das soluções da SQR do analito adicionado de excipientes estão demonstrados na Tabela 28.

Tabela 28 - Valores de áreas obtidas em estudo de seletividade de método por CLAE para determinação de cetoprofeno em cápsulas.

SQR do analito	SQR do analito adicionadas de excipientes
845667	858630
890360	866634
833379	873610

Fonte: do autor.

Os dados da Tabela 28 foram então analisados pelos seguintes testes: teste de Shapiro-Wilk, teste F para igualdade de variâncias e teste t de *Student* presumindo variâncias equivalentes. Os resultados estão demonstrados nas tabelas 29, 30 e 31.

Tabela 29 - Resultados do teste de Shapiro-Wilk para estudo de seletividade de método por CLAE para determinação de cetoprofeno em cápsulas.

Tamanho da amostra	6
Média	861380
Desvio padrão	20275,77
W	0,9933
p	0,9900

Fonte: do autor.

Conforme demonstrado na Tabela 29, o p-valor obtido (0,9900) é maior do que o nível de significância de 0,05. Portanto, se aceita a hipótese nula de que os dados analisados seguem distribuição normal, sendo este um dos pré-requisitos para posterior análise pelo teste t de *Student*.

Tabela 30 - Teste F para igualdade de variâncias para estudo de seletividade de método por CLAE para determinação de cetoprofeno em cápsulas.

	SQR do analito	SQR do analito adicionadas à matriz
Média	856468,681	866291,131
Variância	899231982	56188302,7
Observações	3	3
gl	2	2
F	16,0039001	
P(F<=f) uni-caudal	0,05881004	
F crítico uni-caudal	19	

Fonte: do autor.

Conforme demonstrado na Tabela 30, o p-valor obtido (0,059) é maior do que o nível de significância de 0,05. Portanto, aceita-se a hipótese nula de que as variâncias são estatisticamente iguais. Sendo assim, os dados foram comparados pelo teste t de *Student* presumindo variâncias equivalentes.

Tabela 31 - Resultados do teste t de Student presumindo variâncias equivalentes para estudo de seletividade de método por CLAE para determinação de cetoprofeno em cápsulas.

	SQR do analito	SQR do analito adicionado à matriz
Média	856468,681	866291,131
Variância	899231982	56188302,7
Observações	3	3
gl	477710142	
Stat t	0	
P(T<=t) uni-caudal	4	
t crítico uni-caudal	-0,5504061	
P(T<=t) bi-caudal	0,30566641	
t crítico bi-caudal	2,13184679	

Fonte: do autor.

Conforme demonstrado na Tabela 31, o p-valor bi-caudal obtido (0,306) é maior do que o nível de significância de 0,05. Portanto, aceita-se a hipótese nula de que as áreas das soluções da SQR do analito e as áreas das soluções do placebo + SQR do analito são estatisticamente

iguais. Sendo assim, comprova-se que a matriz não influencia no resultado analítico, sendo confirmada a seletividade em relação os excipientes utilizados neste estudo.

5.2.3 Linearidade e Faixa de Trabalho

Os resultados obtidos no estudo de linearidade estão demonstrados na Tabela 32 a seguir:

Tabela 32 - Valores das áreas obtidos em estudo de linearidade de método por CLAE para determinação de cetoprofeno em cápsulas.

Concentração ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	Áreas
8	348367
8	349892
8	345875
12	507358
12	504968
12	503335
16	681825
16	677821
16	675642
20	864419
20	855858
20	840084
24	1040312
24	1021937
24	1014243

Fonte: do autor.

A partir dos resultados da Tabela 32, construiu-se um gráfico das respostas em função das concentrações do analito através do método dos mínimos quadrados. Os resultados estão demonstrados na Figura 13.

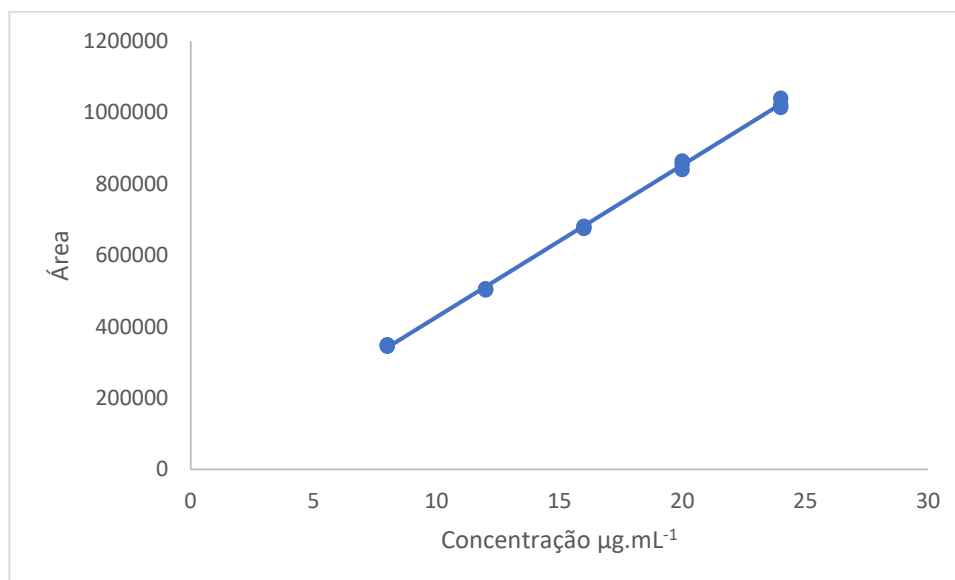


Figura 13 - Representação gráfica das respostas em função das concentrações do analito em estudo de linearidade de método por CLAE para determinação de cetoprofeno em cápsulas.

Fonte: do autor.

Os resultados da Figura 13 acima demonstram que é possível observar visualmente que o método por CLAE para determinação de cetoprofeno em cápsulas segue tendência linear.

Os dados obtidos no estudo de linearidade foram utilizados para verificação de homocedasticidade (igualdade das variâncias) pelo teste de Cochran. O valor C calculado, obtido pela equação: $C = (\text{Maior variância em } Y) / (\text{Soma de todas as variâncias em } Y)$, foi de 0,5128. Este valor é menor do que o valor C tabelado para 5 pontos e 3 réplicas (0,684). Portanto, aceita-se a hipótese nula de que as variâncias são estatisticamente iguais.

Os dados obtidos no estudo de linearidade foram utilizados para cálculo de resíduos. Os resultados estão demonstrados na Tabela 33 e Figura 14.

Tabela 33 - Valores de resíduos obtidos em estudo de linearidade de método por CLAE para determinação de cetoprofeno em cápsulas.

Observação	Resíduos
1	-0,1704718
2	-0,2062459
3	-0,1120135
4	0,09985173
5	0,15591734
6	0,19422492
7	0,00713292
8	0,1010604
9	0,15217628
10	-0,2762324
11	-0,0754049
12	0,29462806
13	-0,4024029
14	0,02864541
15	0,20913444

Fonte: do autor.

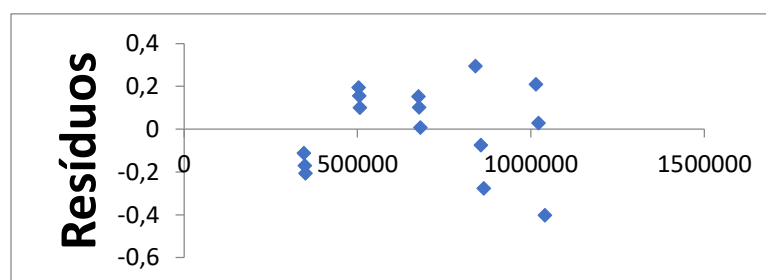


Figura 14 - Representação gráfica de resíduos obtidos em estudo de linearidade de método por CLAE para determinação de cetoprofeno em cápsulas.

Fonte: do autor.

Os resultados da Tabela 33 e Figura 14 demonstram que há comportamento aleatório, não sendo observada nenhuma tendência no gráfico de resíduos.

Na sequência, a hipótese de que os resíduos estão aleatoriamente distribuídos em torno da média foi avaliada pelo teste de Shapiro-Wilk. Os resultados estão demonstrados na tabela 34.

Tabela 34 - Resultados do teste de Shapiro-Wilk para estudo de linearidade de método por CLAE para determinação de cetoprofeno em cápsulas.

Tamanho da amostra	15
Média	0,0000
Desvio padrão	0,2009
W	0,9588
p	0,6414

Fonte: do autor.

Conforme demonstrado na Tabela 34 acima, o p-valor obtido (0,6414) foi maior do que o nível de significância de 0,05. Portanto, aceita-se a hipótese nula de que os dados analisados seguem distribuição normal.

Os dados obtidos no estudo de linearidade foram utilizados para cálculo de resíduos padronizados. Os resultados estão demonstrados na Tabela 35.

Tabela 35 - Valores de resíduos padronizados obtidos em estudo de linearidade de método por CLAE para determinação de cetoprofeno em cápsulas.

Observação	Resíduos padronizados
1	-0,8486902
2	-1,0267906
3	-0,5576565
4	0,49710954
5	0,77623086
6	0,9669443
7	0,03551108
8	0,50312689
9	0,75760612
10	-1,3752167
11	-0,3754017
12	1,46679899
13	-2,0033536
14	0,14261053
15	1,04117098

Fonte: do autor.

Os resultados da Tabela 35 demonstram que nenhuma das observações podem ser consideradas como um "outlier", pois todos os resíduos padronizados estão dentro do intervalo de -3 a +3.

Os dados obtidos no estudo de linearidade foram avaliados por meio do teste F na análise da variância (ANOVA) da regressão. Os resultados estão demonstrados na Tabela 36.

Tabela 36 - Análise da variância (ANOVA) da regressão a partir de dados obtidos em estudo de linearidade de método por CLAE para determinação de cetoprofeno em cápsulas.

	gl	SQ	MQ	F	F de significação
Regressão	1	479,435148	479,435148	11034,1322	1,9786E-20
Resíduo	13	0,56485248	0,04345019		
Total	14	480			

Fonte: do autor.

Conforme demonstrado na Tabela 36, o valor de F calculado (11034,1322) foi maior do que o valor de F tabelado. Portanto, rejeita-se a hipótese nula de que o coeficiente angular é estatisticamente igual a zero.

Finalmente, os dados obtidos no estudo de linearidade foram utilizados para cálculos de equação da reta, coeficiente de correlação (r) e coeficiente de regressão (R^2). Os resultados estão demonstrados na Tabela 37.

Tabela 37 - Equação da reta, coeficiente de correlação (r) e coeficiente de regressão (R^2) a partir de dados obtidos em estudo de linearidade de método por CLAE para determinação de cetoprofeno em cápsulas.

Equação	$y = 42578x + 873,6$
r	0,9994
R^2	0,9988

Fonte: do autor.

Conforme demonstrado na Tabela 37, pode-se dizer que o método por CLAE é linear no intervalo de 8,000 a 24,000 $\mu\text{g. mL}^{-1}$, pois o coeficiente de correlação obtido (0,9994) foi

maior do que o valor mínimo de 0,99 estabelecido pela resolução RDC da Anvisa número 166 de 2017 (BRASIL, 2017).

A faixa de trabalho foi definida a partir dos resultados de linearidade e para utilização do método em ensaios de solubilidade e estabilidade. A faixa de trabalho escolhida foi entre 8 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ (40%), e 24 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ (120%), sendo que a concentração de 20 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ foi definida como a concentração de 100%.

5.2.4 Precisão e Exatidão

Os resultados obtidos no estudo de precisão e exatidão estão demonstrados nas Tabelas 38 e 39.

Tabela 38 - Valores de recuperação obtidos em estudo de repetibilidade de método por CLAE para determinação de cetoprofeno em cápsulas.

Réplicas	8 $\mu\text{g.mL}^{-1}$	DPR	20 $\mu\text{g.mL}^{-1}$	DPR	24 $\mu\text{g.mL}^{-1}$	DPR
	101,29		100,29		101,30	
Recuperação %	100,93	0,21	99,10	0,60	100,44	0,79
	100,92		99,79		99,72	

Fonte: do autor.

Tabela 39 - Valores de recuperação obtidos em estudo de precisão intermediária e exatidão do método por CLAE para determinação de cetoprofeno.

Réplicas	8 $\mu\text{g.mL}^{-1}$	DPR	20 $\mu\text{g.mL}^{-1}$	DPR	24 $\mu\text{g.mL}^{-1}$	DPR
	101,29		100,29		101,30	
	100,93		99,10		100,44	
Recuperação %	100,92	1,16	99,79	0,62	99,72	0,77
	99,54		99,82		99,25	
	99,19		98,55		100,67	
	98,40		99,63		99,57	

Fonte: do autor.

Os valores de desvio padrão relativo nos ensaios de repetibilidade e precisão intermediária estão dentro do limite recomendado de 2%, confirmando a precisão do método

em todas as concentrações testadas. De acordo com os resultados apresentados, os valores de recuperação se encontram na faixa aceitável de 98 a 102 % em todas as concentrações. Portanto o método é preciso e exato nas concentrações baixa, média e alta.

A partir dos resultados de validação do método espectrofotométrico e do método por CLAE, observou-se que o método por CLAE apresentou duas vantagens: seletividade quanto aos produtos de degradação e exatidão em toda a faixa de concentração testada. Portanto, o método cromatográfico foi utilizado nos estudos subsequentes.

5.3 OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE FORMAS SÓLIDAS DE CETOPROFENO

5.3.1 DRXP

5.3.1.1 Matérias-primas

Os resultados dos ensaios de DRXP de todas as matérias-primas de cetoprofeno disponíveis para o estudo, codificadas como CETMPs (Figuras 15, 16 e 17) foram comparados com os difratogramas calculados a partir das estruturas do cetoprofeno depositadas no CSD: cetoprofeno mistura racêmica (KEMRUP e KEMRUP01) (BRIARD E ROSSI, 1990; PAWLEDZIO *et al.*, 2018), polimorfo DXKP- α do S-enantiômero do cetoprofeno (MIRGAY01) (PAWLEDZIO *et al.*, 2018), polimorfo DXKP- β do S-enantiômero do cetoprofeno (MIRGAY02) (ROSSI *et al.*, 2019) e o sal de trometamina do S-enantiômero puro do cetoprofeno (COZBAX) (ROSSI *et al.*, 2020).

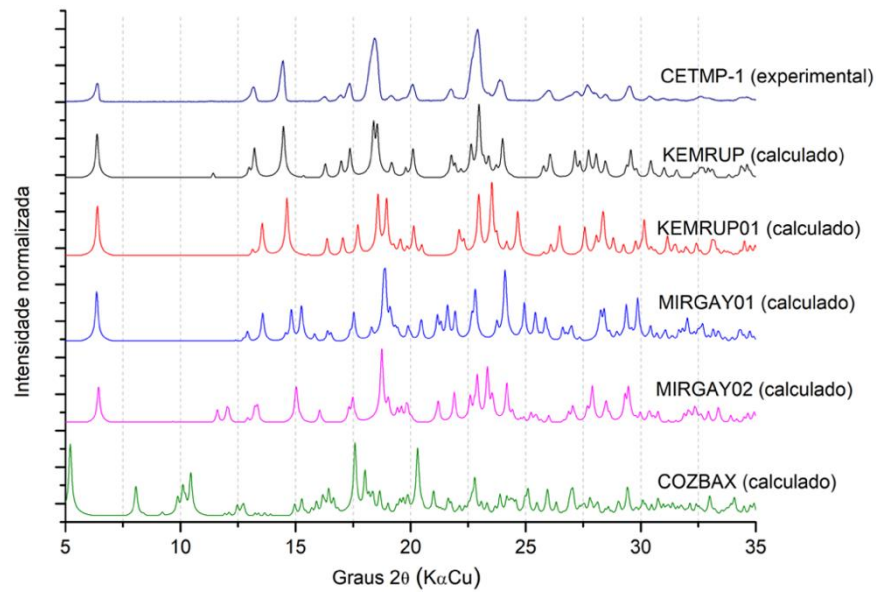


Figura 15 - Padrão de difração de Raios-X experimental da matéria-prima do cetoprofeno designada como CETMP-1, em comparação com os difratogramas calculados.

Fonte: do autor.

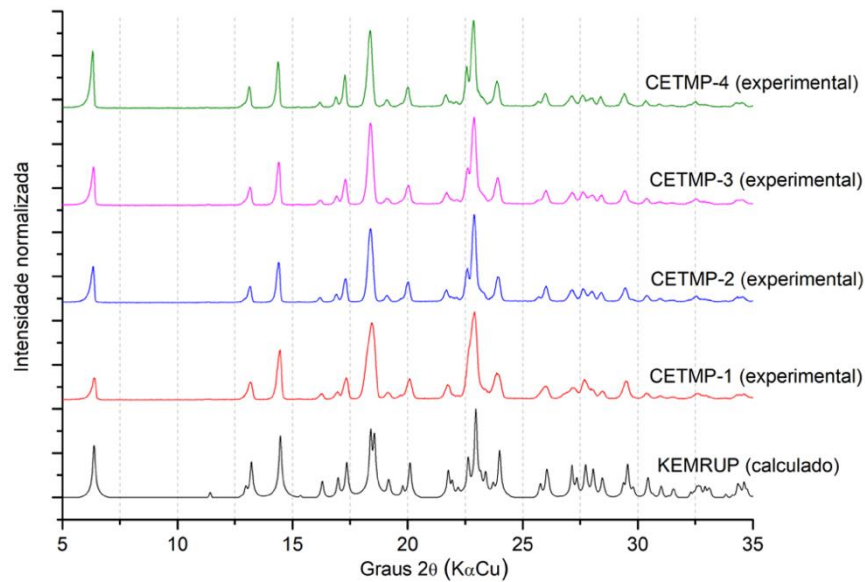


Figura 16 - Padrões de difração de Raios-X experimentais das matérias-primas do cetoprofeno designadas como CETMP-1 a CETMP-4, em comparação com o difratograma calculado de cetoprofeno mistura racêmica.

Fonte: do autor.

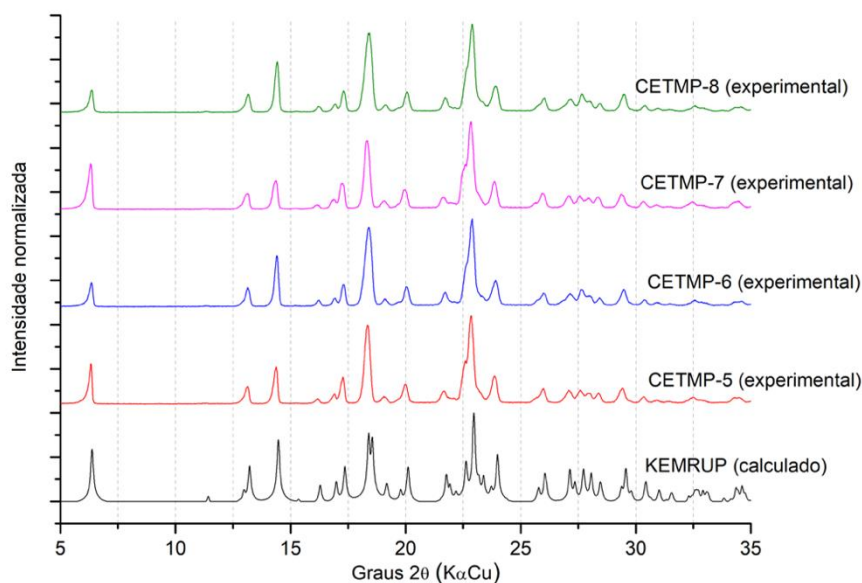


Figura 17 - Padrões de difração de Raios-X experimentais das matérias-primas do cetoprofeno designadas como CETMP-5 a CETMP-8, em comparação com o difratograma calculado de cetoprofeno mistura racêmica.

Fonte: do autor.

Considerando os resultados demonstrados nas Figuras 15, 16 e 17, pode-se observar que as amostras CETMP-1 a CETMP-8 apresentaram padrão de difração de raios-X coincidente com o padrão calculado para o cetoprofeno mistura racêmica na forma livre (KEMRUP), cuja estrutura foi determinada em 1990 (BRIARD; ROSSI, 1990). Não foram observados picos de Bragg que pudessem indicar contaminação com outra forma sólida nas amostras. A partir destes resultados, pode-se concluir que esta é a forma farmacêuticamente preferida.

5.3.1.2 Sal sódico

O pó obtido a partir da tentativa de obtenção do sal sódico de cetoprofeno (CETNa, Figura 18) também foi comparado com os difratogramas calculados a partir das estruturas do cetoprofeno depositadas no CSD: cetoprofeno mistura racêmica (KEMRUP e KEMRUP01) (BRIARD E ROSSI, 1990; PAWLEDZIO *et al.*, 2018), polimorfo DXKP- α do S-enantiômero do cetoprofeno (MIRGAY01) (PAWLEDZIO *et al.*, 2018), polimorfo DXKP- β do S-

enantiômero do cetoprofeno (MIRGAY02) (ROSSI *et al.*, 2019) e o sal de trometamina do S-enantiômero puro do cetoprofeno (COZBAX) (ROSSI *et al.*, 2020).

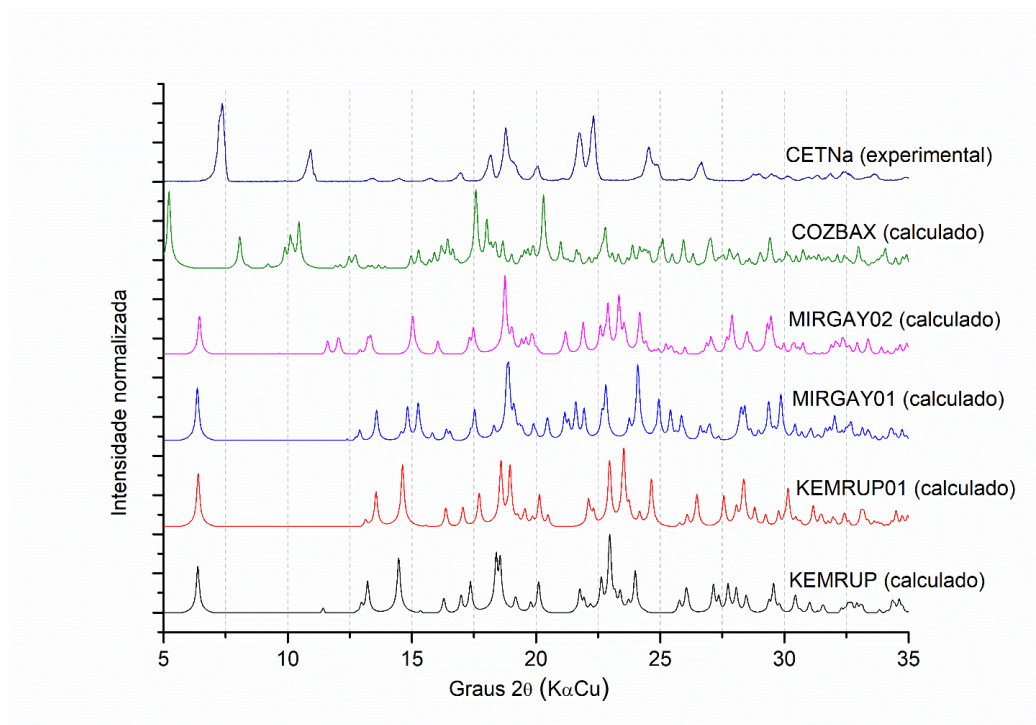


Figura 18 - Padrão de difração de Raios-X experimental da forma obtida designada como CETNa, em comparação com os difratogramas calculados de cetoprofeno.

Fonte: do autor.

Considerando a Figura 18, em relação à amostra obtida por processo de recristalização em hidróxido de sódio $0,5 \text{ mol.L}^{-1}$ etanólico (CETNa), os picos de Bragg possuem um padrão completamente diferente das demais formas analisadas, o que demonstra a obtenção de uma estrutura cristalina do cetoprofeno ainda não depositada no CSD. Os picos em $7,36$ e $10,92^\circ 2\theta$ podem ser considerados exclusivos dessa estrutura. A ausência de alguns picos de Bragg das estruturas já conhecidas no difratograma de CETNa (por exemplo: $5,22$ e $6,40^\circ 2\theta$) demonstra pureza cristalina desta amostra em relação às estruturas depositadas no CSD. Não foram encontrados, até o momento, resultados experimentais de difração de Raios-X de pó de cetoprofeno sódico cristalino sob as condições descritas neste trabalho, para fins de comparação de difratogramas, uma vez que o artigo de Hildebrand e Müller-Goymann apresenta resultados de caracterização somente por DSC e espalhamento de raios-X a baixo ângulo (SAXS) (HILDEBRAND; MÜLLER-GOYMANN, 1997). Entretanto, devido ao processo de

recristalização, suspeita-se que a amostra obtida seja o cetoprofeno sódico, o que será analisado posteriormente pelas outras técnicas de caracterização.

5.3.1.3 Tentativas de obtenção de polimorfos

Os padrões de difração obtidos a partir dos pós resultantes da estratégia de *screening* para tentativas de obtenção de polimorfos de cetoprofeno podem ser observados na Figura 19.

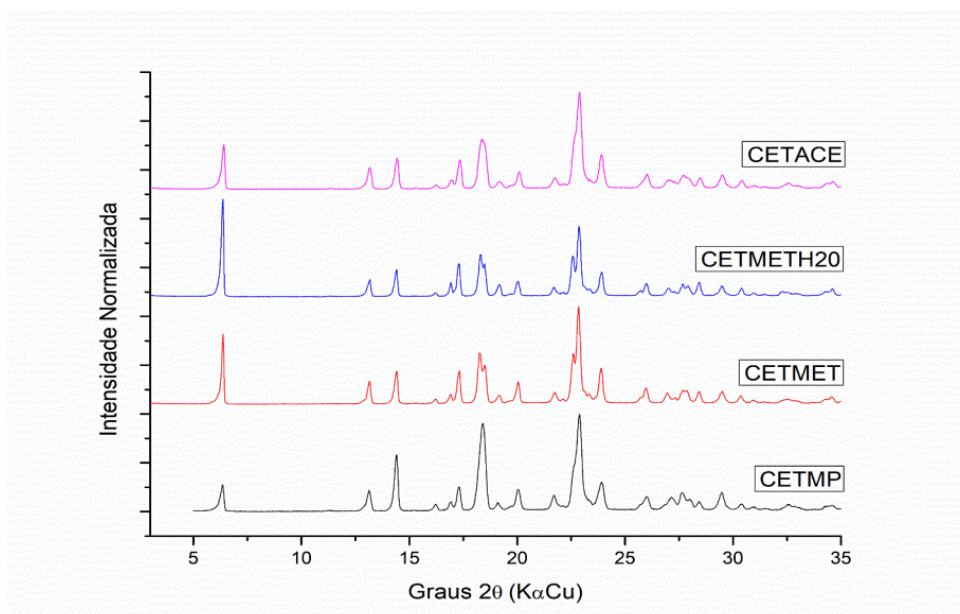


Figura 19 - Difratoogramas dos ensaios de tentativas de obtenção de polimorfos de cetoprofeno.
Fonte: do autor.

Como pode ser constatado pelo resultado apresentado na Figura 19, não há diferença entre os padrões de difração obtidos a partir de amostras recristalizadas por evaporação lenta de solvente em metanol (CETMET), mistura de metanol e água (CETMETH₂O) e acetona e o padrão de difração da matéria prima, o que sugere que não foi obtido nenhum tipo de polimorfo de cetoprofeno a partir da estratégia de *screening*, não sendo, no entanto, realizados os demais testes de caracterização com estes pós.

5.3.1.4 Tentativas de obtenção de cocristais

Conforme descrito na metodologia deste trabalho, os coformadores escolhidos foram: ácido cítrico (AC), ácido acetilsalicílico (AAS), ácido ascórbico (AA), ácido esteárico (AE), ácido fumárico (AF), ácido glutâmico (AG) e sacarina (SAC), seguindo a regra do delta pKa e baseado na possibilidade de interações entre o cetoprofeno e grupamentos químicos presentes nas moléculas dos coformadores.

Os grupamentos ácidos presentes no AC, AAS, AE, AF e AG e os grupamentos hidroxila nos coformadores AC e AA são ambos doadores de ligação de hidrogênio, podendo formar heterossíntons do tipo $O-H \cdots O=C$ por meio da interação com a carbonila cetônica do cetoprofeno (acceptor de ligação de hidrogênio). A amina presente no AG também tem a mesma função doadora de ligação de hidrogênio; no entanto, o heterossínton que pode ser formado é do tipo $N-H \cdots O=C$. Outra possibilidade para AC, AAS, AE e AF é a interação entre os grupamentos ácido carboxílicos, presentes tanto na molécula de cetoprofeno como na molécula dos coformadores, obtendo-se a formação de homossíntons.

Além disso, AAS e cetoprofeno possuem anéis aromáticos, que torna possível interações $\pi-\pi$ entre estes grupamentos. Já o coformador AA possui uma carbonila, a qual pode agir como acceptora de ligação de hidrogênio em uma interação intermolecular com o ácido carboxílico do cetoprofeno formando um heterossínton $O-H \cdots O=C$.

A SAC possui grupamento imida (doador de ligação de hidrogênio), que pode interagir com a carbonila cetônica do cetoprofeno (grupamento acceptor de ligação de hidrogênio), formando heterossíntons do tipo $N-H \cdots O=C$. Além disso, o grupamento imida pode também interagir com o grupamento ácido do cetoprofeno formando heterossíntons ácido-imida, se mostrando o coformador disponível mais promissor. Vale ressaltar que a sacarina já foi utilizada como coformador para a obtenção de cocristais de indapamida, uma substância estruturalmente relacionada ao cetoprofeno (BASAVOJU, S., BOSTRÖM, D., VELAGA, S. P., 2007; CHUN, N. *et al.*, 2013).

Os resultados dos ensaios de DRXP das amostras obtidas nas tentativas de obtenção de cocrystal de cetoprofeno por método de *screening* via transformação de fase mediada por solução (SMPT) (BUČAR *et al.*, 2009; ZHANG *et al.*, 2007) em comparação com a matéria prima de cetoprofeno e com os coformadores AC, AAS, AA, AE, AF, AG e SAC estão representados nas Figuras 20 a 33.

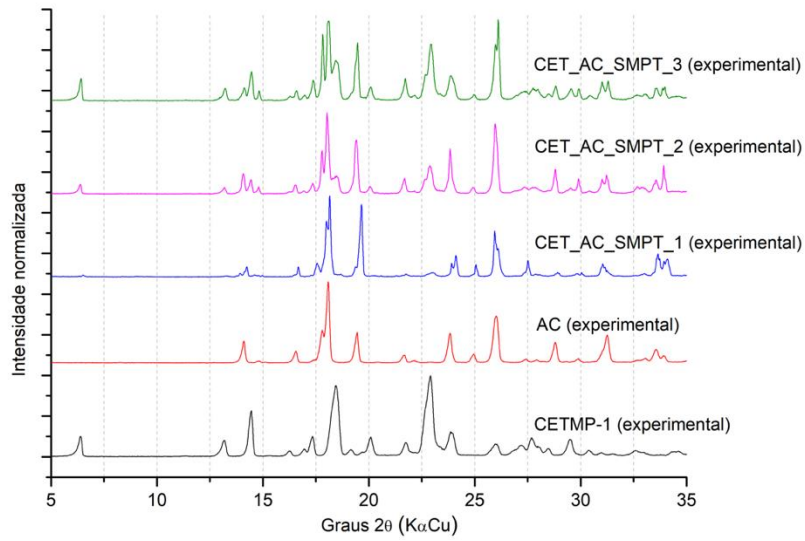


Figura 20 - Difractogramas dos ensaios de tentativas de obtenção de cocristais de cetoprofeno pela metodologia SMPT utilizando ácido cítrico como coformador.

Fonte: do autor.

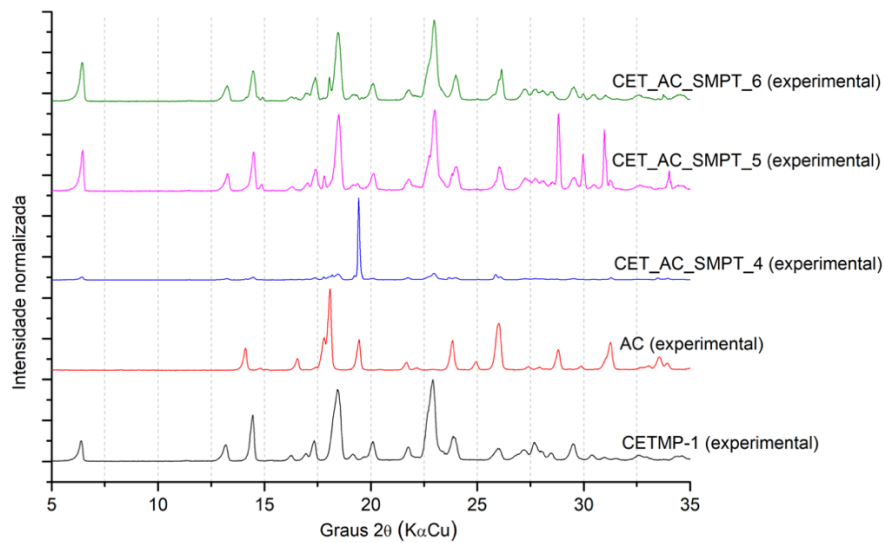


Figura 21 - Difractogramas dos ensaios de tentativas de obtenção de cocristais de cetoprofeno pela metodologia SMPT utilizando ácido cítrico como coformador.

Fonte: do autor.

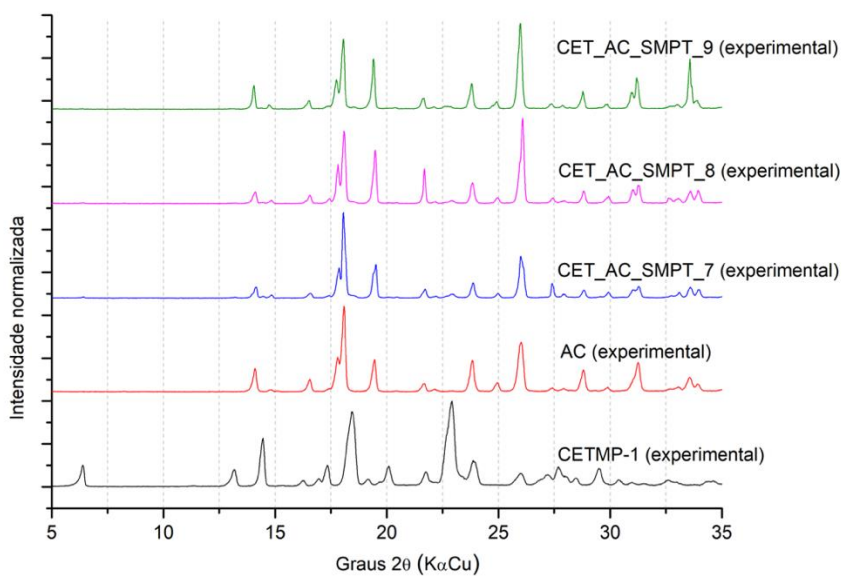


Figura 22 - Difratoogramas dos ensaios de tentativas de obtenção de cocristais de cetoprofeno pela metodologia SMPT utilizando ácido cítrico como coformador.

Fonte: do autor.

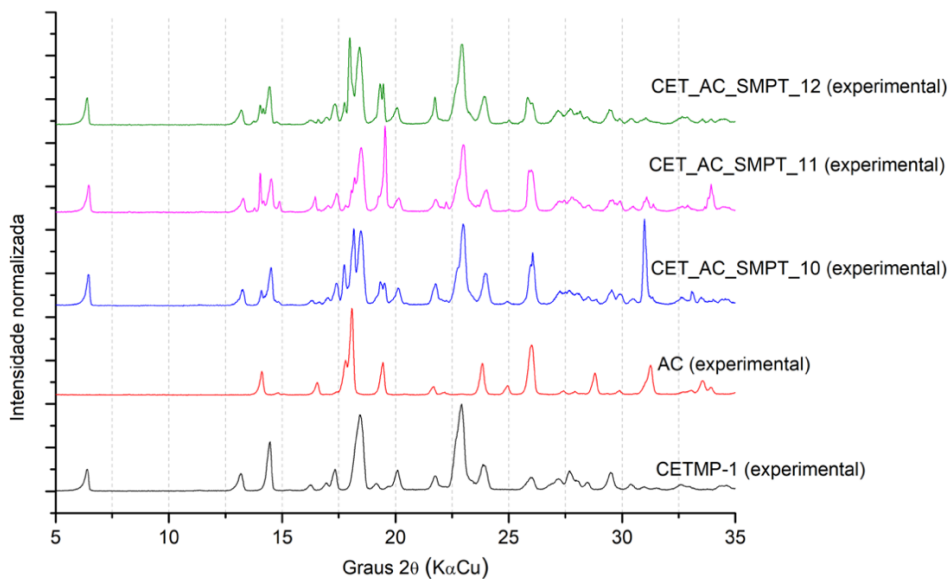


Figura 23 - Difratoogramas dos ensaios de tentativas de obtenção de cocristais de cetoprofeno pela metodologia SMPT utilizando ácido cítrico como coformador.

Fonte: do autor.

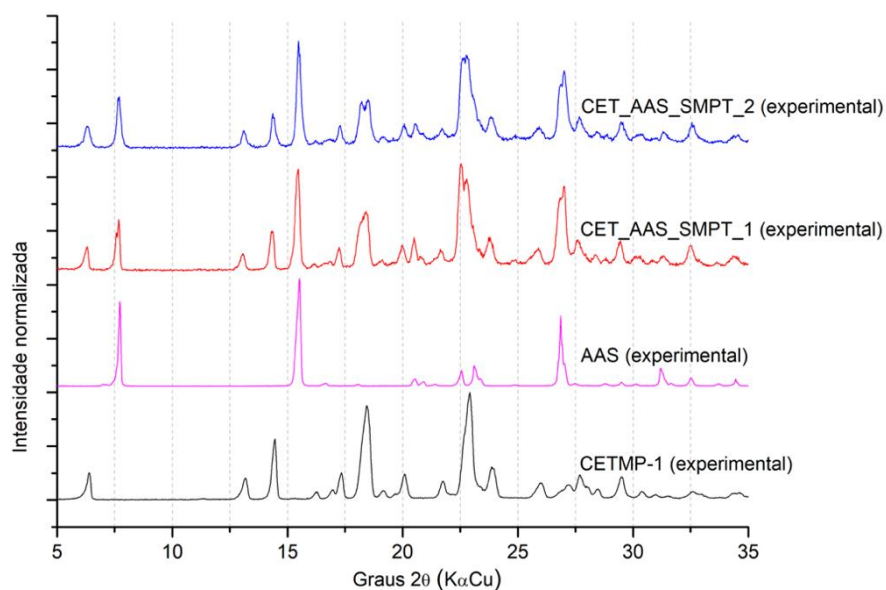


Figura 24 - Difratomogramas dos ensaios de tentativas de obtenção de cocristais de cetoprofeno pela metodologia SMPT utilizando ácido acetilsalicílico como coformador.

Fonte: do autor.

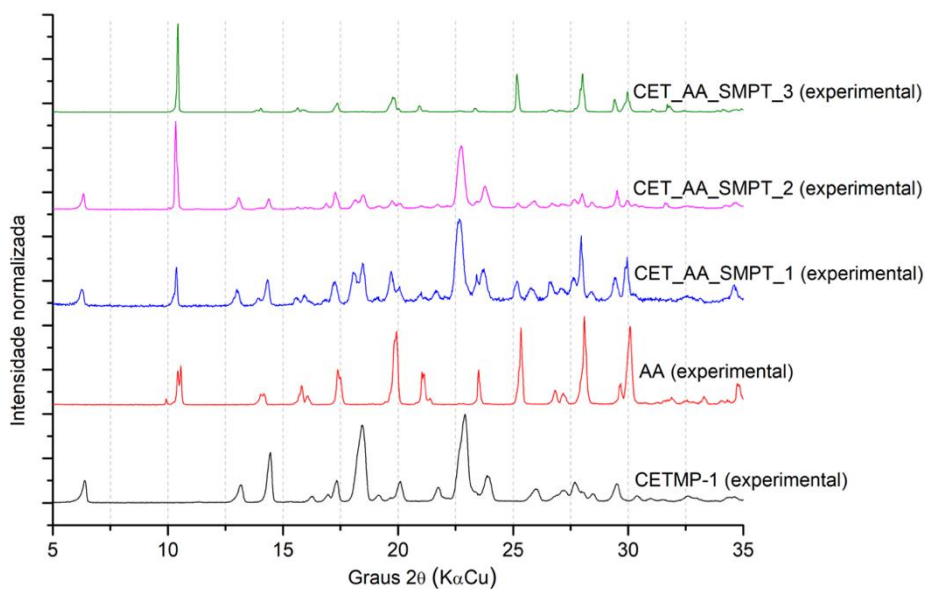


Figura 25 - Difratomogramas dos ensaios de tentativas de obtenção de cocristais de cetoprofeno pela metodologia SMPT utilizando ácido ascórbico como coformador.

Fonte: do autor.

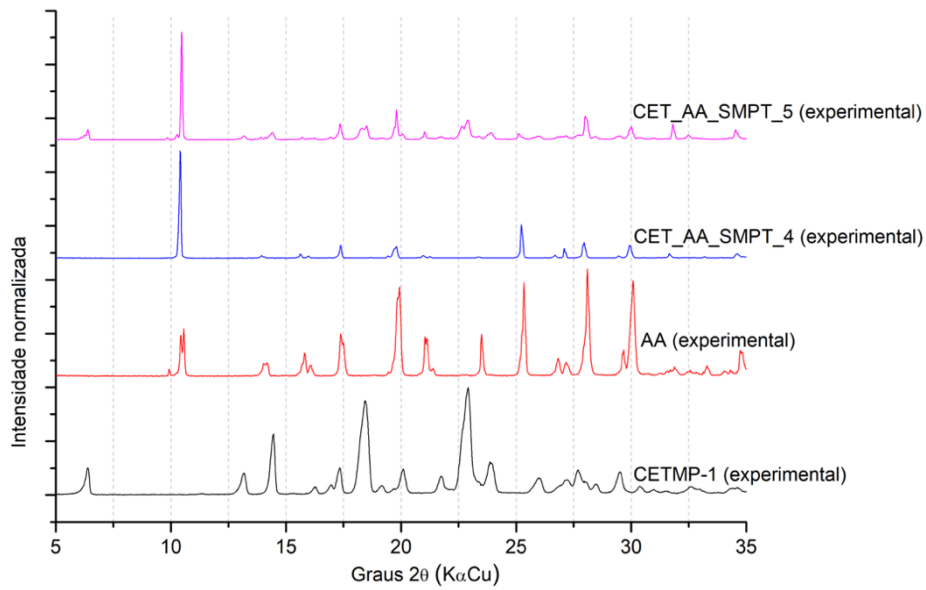


Figura 26 - Difractogramas dos ensaios de tentativas de obtenção de cocristais de cetoprofeno pela metodologia SMPT utilizando ácido ascórbico como coformador.

Fonte: do autor.

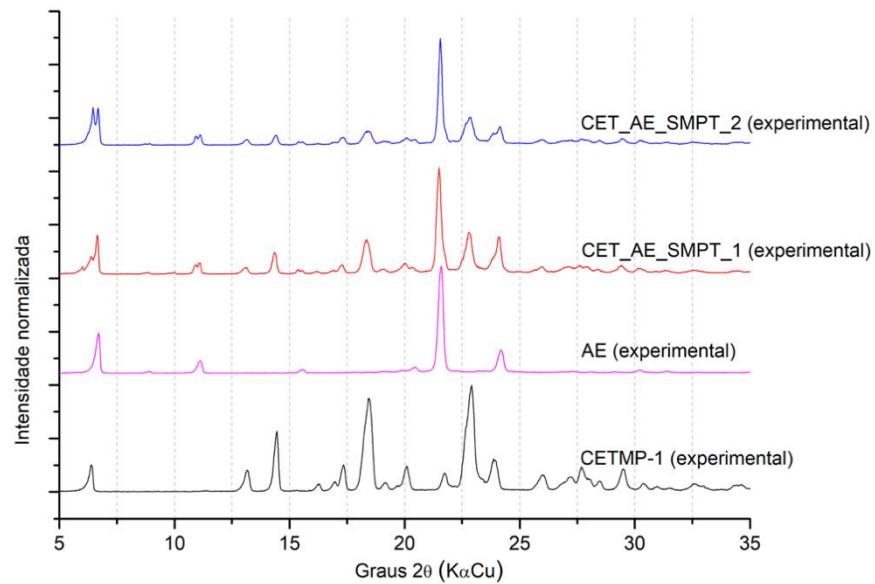


Figura 27 - Difractogramas dos ensaios de tentativas de obtenção de cocristais de cetoprofeno pela metodologia SMPT utilizando ácido esteárico como coformador.

Fonte: do autor.

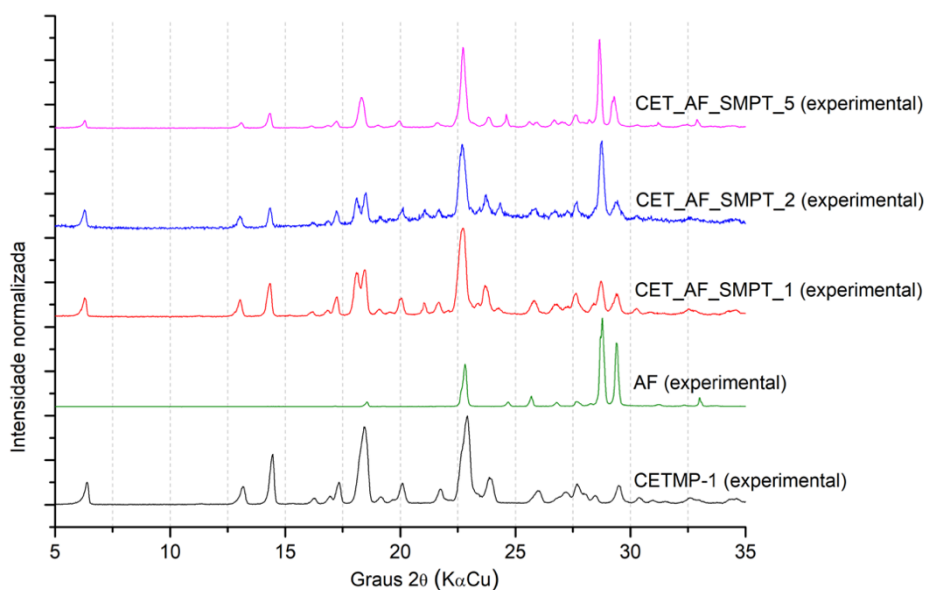


Figura 28 - Difractogramas dos ensaios de tentativas de obtenção de cocristais de cetoprofeno pela metodologia SMPT utilizando ácido fumárico como coformador.

Fonte: do autor.

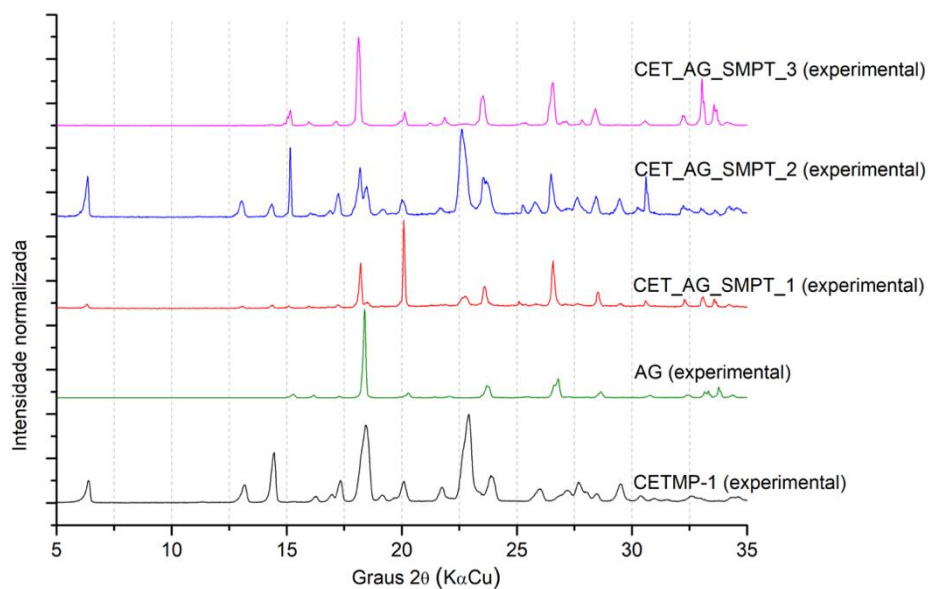


Figura 29 - Difractogramas dos ensaios de tentativas de obtenção de cocristais de cetoprofeno pela metodologia SMPT utilizando ácido glutâmico como coformador.

Fonte: do autor.

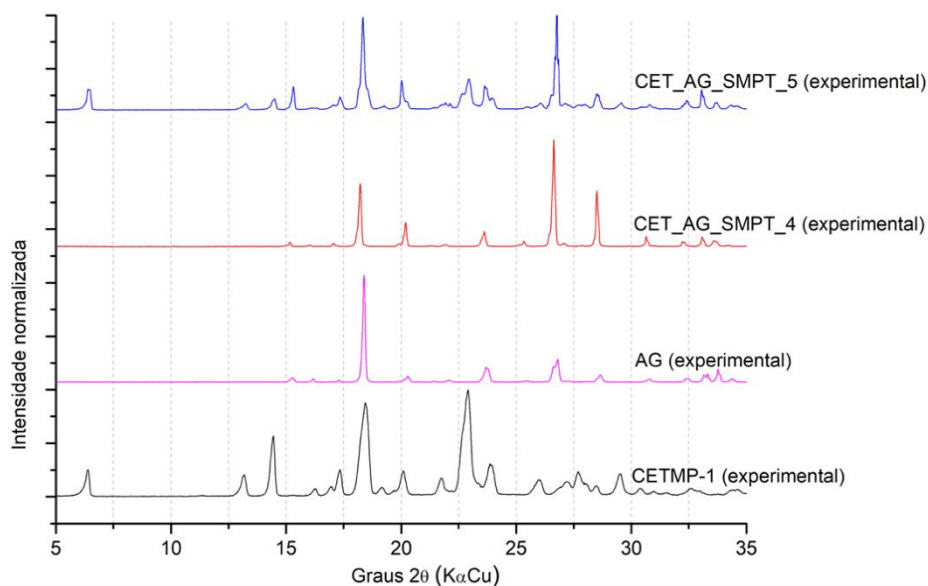


Figura 30 - Difratomogramas dos ensaios de tentativas de obtenção de cocristais de cetoprofeno pela metodologia SMPT utilizando ácido glutâmico como coformador.

Fonte: do autor.

Conforme os padrões de difração presentes nas tentativas de obtenção de cocristal com ácido cítrico (AC) CET_AC_SMPT 1 a 12 nas Figuras 20, 21, 22 e 23, com ácido acetilsalicílico (AAS) CET_AAS_SMPT_1 e 2 na Figura 24, com ácido ascórbico (AA) CET_AA_SMPT_1 a 5 nas Figuras 25 e 26, com ácido esteárico (AE) CET_AE_SMPT_1 e 2 na Figura 27, com ácido fumárico (AF) CET_AF_SMPT_1, 2 e 5, na Figura 28 e com ácido glutâmico (AG) CET_AG_SMPT_1 a 5, nas Figuras 29 e 30, é possível observar que os difratogramas das amostras apresentaram picos de Bragg correspondendo a soma dos picos de Bragg do cetoprofeno matéria-prima (CETMP-1) com os picos de Bragg dos coformadores. As intensidades dos picos das amostras variaram provavelmente em função de diferenças de solubilidade do cetoprofeno ou do coformador nos solventes testados, uma vez que no método SMPT são formadas suspensões e posterior filtração.

Com base nos resultados apresentados nas Figuras 20 a 30, pode-se concluir que não foi possível observar variações na estrutura cristalina. Portanto, não foi obtido nenhum cocristal de cetoprofeno utilizando AC, AAS, AA, AE, AF e AG como coformadores através da metodologia SMPT.

Já os resultados dos ensaios de DRXP das amostras obtidas nas tentativas de obtenção de cocristal de cetoprofeno com o co-formafor sacarina (SAC) por método de *screening* via

SMPT (BUČAR *et al.*, 2009; ZHANG *et al.*, 2007) em comparação com a matéria prima de cetoprofeno estão representados nas Figuras 31 e 32:

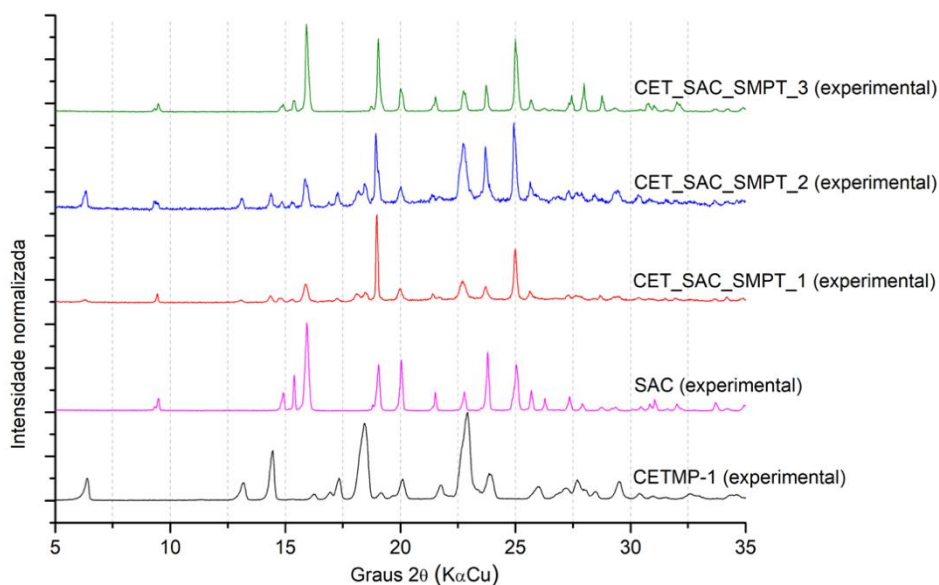


Figura 31 - Difratomogramas dos ensaios de tentativas de obtenção de cocristais de cetoprofeno pela metodologia SMPT utilizando sacarina como coformador.

Fonte: do autor.

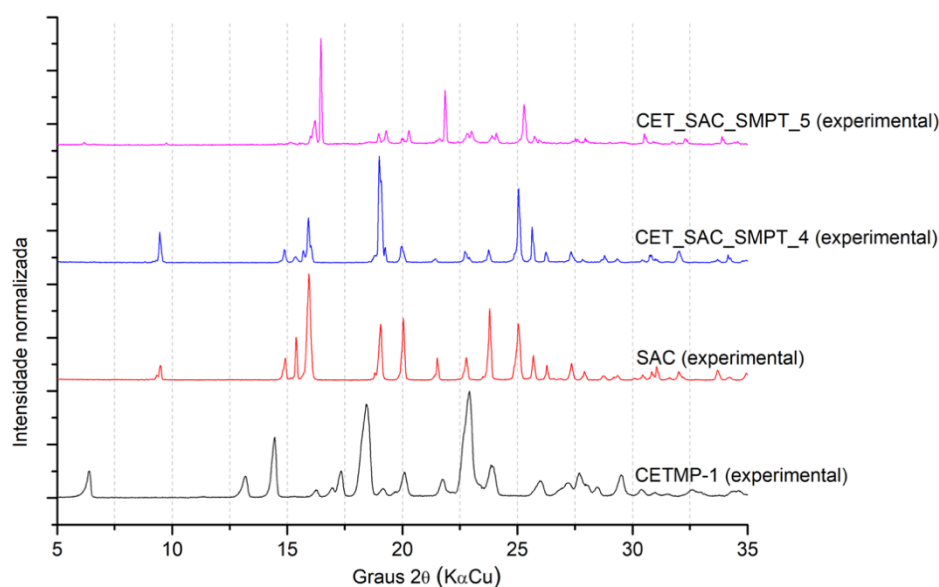


Figura 32 - Difratomogramas dos ensaios de tentativas de obtenção de cocristais de cetoprofeno pela metodologia SMPT utilizando sacarina como coformador.

Fonte: do autor.

Analisando as Figuras 31 e 32, é possível observar que os difratogramas das amostras CET_SAC_SMPT_1 a 4 apresentaram padrão de difração correspondendo a soma dos picos de Bragg do cetoprofeno matéria-prima (CETMP-1) com os picos de Bragg da sacarina (SAC) e as intensidades diferentes nos picos podem ser devido a diferença de solubilidade do cetoprofeno e da sacarina nos solventes testados. No entanto, o difratograma da amostra CET_SAC_SMPT_5 apresentou um padrão de difração diferente, onde alguns picos de Bragg não coincidem com CETMP-1 nem com SAC, apresentando, portanto, a possibilidade de obtenção de cocristal.

Para uma melhor visualização, a Figura 33 representa os difratogramas de CETMP-1 e SAC em comparação com CET_SAC_SMPT_5:

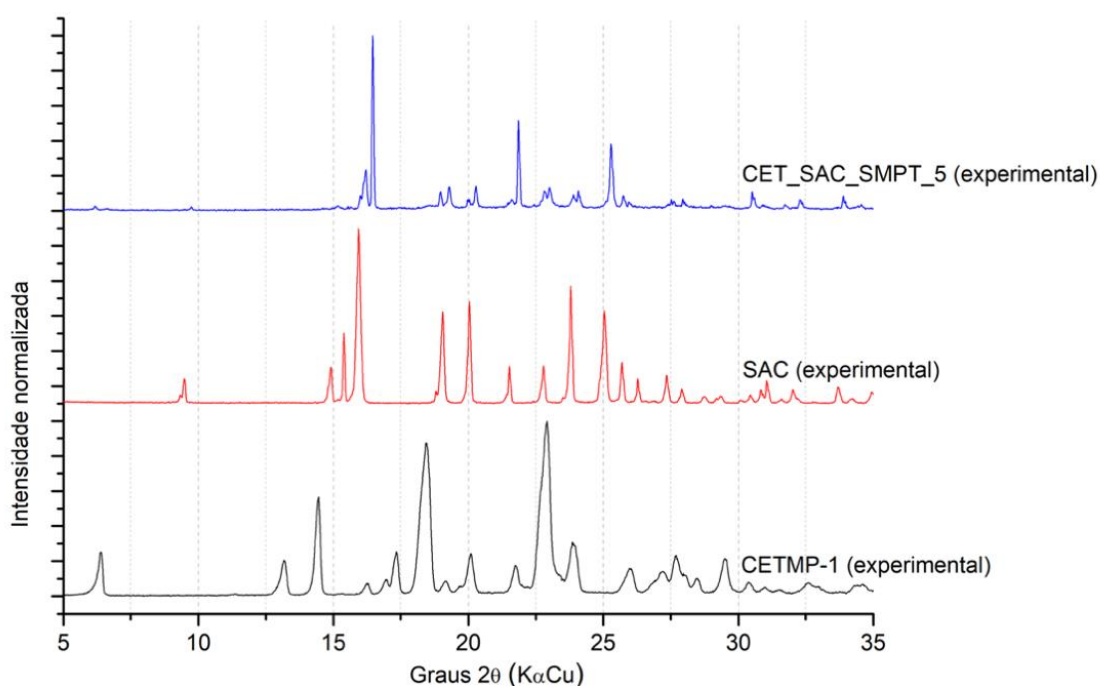


Figura 33 - Difratogramas de CET_SAC_SMPT_5 em comparação com CETMP-1 e SAC.
Fonte: do autor.

Além disso, os resultados de picos de Bragg observados CET_SAC_SMPT_5 em comparação com CETMP-1 e SAC estão descritos na Tabela 40.

Tabela 40 - Picos de Bragg de CET_SAC_SMPT_5 em comparação com CETMP-1 e SAC.

CETMP-1 (experimental)	SAC (experimental)	CET_SAC_SMPT_5 (experimental)
Graus 2θ (KαCu)	Graus 2θ (KαCu)	Graus 2θ (KαCu)
-	-	6,16*
6,38	-	-
-	9,34	-
-	9,50	-
-	-	9,74*
13,16	-	-
14,46	-	-
-	14,92	-
15,20	-	-
-	15,40	-
-	15,94	16,02
16,24	-	16,22
-	-	16,46*
16,94	-	-
17,34	-	-
18,46	-	-
-	18,80	18,98
19,14	19,06	-
-	-	19,30*
20,10	20,04	19,98; 20,04; 20,28
-	21,52	21,60
21,76	-	21,84
-	22,78	-
22,92	-	22,82; 23,00
23,86	23,80	23,90
-	-	24,08
-	25,04	-
-	-	25,28*
-	25,70	25,74
-	-	25,96*
26,04	-	-
-	26,28	-
27,22	27,34	-
27,70	-	27,52; 27,62
-	27,90	27,94; 28,00
28,46	-	-
-	28,74	-
-	29,20	-
-	29,34	-
29,50	-	-

*Picos exclusivos de CET_SAC_SMPT_5

Fonte: do autor

A Figura 33 e Tabela 40 confirmam que a amostra CET_SAC_SMPT_5 é um co cristal de cetoprofeno e sacarina, uma vez que apresenta um padrão de difração diferente do cetoprofeno matéria prima (CETMP-1), da sacarina (SAC) ou da soma destes. A partir destes

resultados, realizou-se uma busca na literatura sobre cocristais entre cetoprofeno e sacarina. No artigo de Siswandi, Rusdiana e Levita (2015), os autores realizaram um *screening* virtual de possíveis coformadores de cetoprofeno, demonstrando que o melhor coformador calculado para o cetoprofeno é a sacarina, dentre as estruturas analisadas pelos autores. Os autores misturaram cetoprofeno e sacarina na proporção 1:1, trituraram a mistura e adicionaram 5 mL de metanol. A mistura foi então avaliada somente quanto a solubilidade e dissolução, não sendo caracterizada por estudos de DRXP. Portanto, não é possível analisar se a estrutura obtida neste trabalho é a mesma da obtida por Siswandi, Rusdiana e Levita (2015). Entretanto, considerando que os autores propõem o preparo de uma amostra na proporção cetoprofeno:sacarina 1:1 e o difratograma de CET_SAC-SMPT-5 é referente a uma amostra na proporção cetoprofeno:sacarina 1:2, a estrutura do cocrystal obtida neste trabalho é provavelmente diferente. Dessa forma, seriam necessários estudos de determinação da estrutura cristalina de CET_SAC-SMPT-5 por pó ou monocristal. Entretanto, tais estudos fogem do escopo deste trabalho e serão considerados como perspectivas de estudos futuros.

Na sequência, foram realizadas novas tentativas de obtenção de cocrystal de cetoprofeno:sacarina, repetindo a metodologia descrita para CET_SAC_SMPT_5, a fim de verificar se o processo é reproduzível. Os difratogramas obtidos foram comparados com um difratograma da mistura física cetoprofeno:sacarina 1:2 e com o difratograma da amostra CET_SAC_SMPT_5. Os resultados estão descritos na Figura 34.

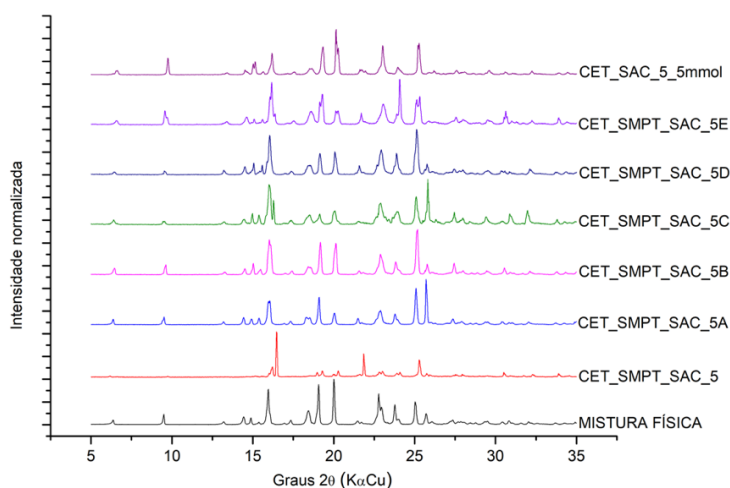


Figura 34 - Difratogramas de amostras de tentativas reprodução de cocristais de cetoprofeno:sacarina pela metodologia SMPT.

Fonte: do autor.

Comparando os difratogramas da Figura 34, observa-se que não houve a reprodução do difratograma de CET_SAC_SMPT_5 em nenhuma das seis tentativas, uma vez que, em todos os casos, foram obtidos difratogramas contendo a soma dos picos de Bragg do cetoprofeno matéria-prima (CETMP-1) com os picos de Bragg de SAC, tratando-se, portanto da mistura física da matéria prima com o coformador. Por esta razão, a quantidade de CET_SAC_SMPT_5 obtida na primeira tentativa foi suficiente apenas para a realização de caracterização por espectroscopia de infravermelho, análises térmicas, doseamento e estabilidade acelerada, não sendo possível realizar estudos de solubilidade nesta amostra, devido a maior quantidade requerida para tais estudos.

5.3.2 Espectroscopia de Infravermelho (IV)

Os resultados das análises de espectroscopia na região do infravermelho da matéria prima de cetoprofeno (CETMP-1) e da forma obtida pelo processo de recristalização utilizando hidróxido de sódio 0,5 mol.L⁻¹ etanólico (CETNa) estão representados na Figura 35 e Tabela 41.

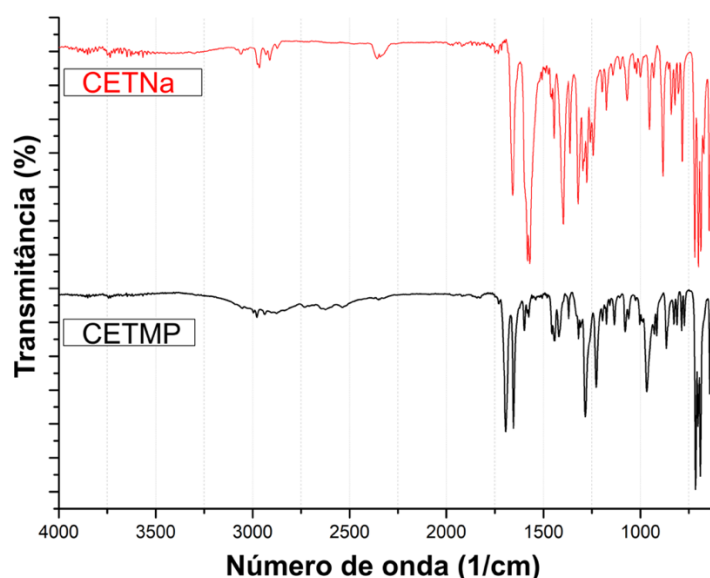


Figura 35 - Espectros de infravermelho do cetoprofeno matéria-prima (CETMP) e da forma obtida pelo processo de recristalização utilizando hidróxido de sódio (CETNa).

Fonte: do autor.

Tabela 41 - Principais bandas de absorção no infravermelho de amostra obtida a partir de CETNa, em comparação com as bandas de absorção de CETMP-1.

CETMP-1	CETNa
Número de onda (cm ⁻¹)	Número de onda (cm ⁻¹)
3300 a 2400 (Estiramento O-H de ácido carboxílico)	-
3055 (Estiramento C-H sp ²)	3061 (Estiramento C-H sp ²)
2995, 2978, 2938 (Estiramento C-H sp ³)	2974, 2965, 2930, 2913, 2874 (Estiramento C-H sp ³)
2000 a 1667 (Bandas de harmônicas/combinção dos anéis aromáticos)	2000 a 1667 (Bandas de harmônicas/combinção dos anéis aromáticos)
1695 (Estiramento C=O de ácido carboxílico)	1582 e 1570 (Estiramento C=O de íon carboxílico)
1655 (Estiramento C=O da cetona conjugada aos anéis aromáticos)	1659 (Estiramento C=O da cetona conjugada aos anéis aromáticos)
1597 a 1420 (várias bandas) (Estiramentos C=C dos anéis aromáticos)	1525 a 1420 (várias bandas) (Estiramentos C=C dos anéis aromáticos)
1369 (Dobramento CH ₃)	1362 (Dobramento CH ₃)
1285 (Estiramento C-O)	1277 (Estiramento C-O)
966 (Dobramento O-H fora do plano)	953 (Dobramento O-H fora do plano)
866 a 691 (Bandas de dobramento C-H fora do plano de anéis aromáticos)	883 a 689 (Bandas de dobramento C-H fora do plano de anéis aromáticos)

Fonte: do autor

Conforme observado na Figura 35 e Tabela 41, os resultados de espectroscopia na região do infravermelho de CETMP-1 estão condizentes com valores esperados para a estrutura molecular do cetoprofeno e com valores descritos na literatura para este IFA. Choi e colaboradores (2001) apresentaram espectros de infravermelho por transformada de *Fourier* para o cetoprofeno, onde atribuem bandas em 1700 cm⁻¹ e 1650 cm⁻¹ aos estiramentos C=O das carbonilas do ácido carboxílico e da cetona. Além disso, os autores demonstram uma banda larga entre aproximadamente 3300 e 2400 cm⁻¹, a qual é atribuída a estiramento O-H de ácido carboxílico. De acordo com Al-Tahami (2014), o espectro de infravermelho do cetoprofeno mostra bandas de absorção de estiramento de C = O do ácido carboxílico e da cetona em 1697 e 1655 cm⁻¹, respectivamente. Além disso, os autores observaram uma larga banda em 3380 cm⁻¹, atribuída ao estiramento O-H e uma banda em 3100 cm⁻¹, a qual os autores atribuem erroneamente ao estiramento C=C do anel aromático, pois trata-se de um estiramento C-H sp² do anel aromático.

A Figura 35 e Tabela 41 demonstram que CETNa apresentou as seguintes diferenças em relação à CETMP-1: ausência da banda larga de estiramento O-H entre 3300 a 2400 cm^{-1} , devido à desprotonação da hidroxila do ácido carboxílico (formação de íon carboxilato). Além disso, CETNa apresentou deslocamento da banda de estiramento C=O de ácido carboxílico (observada em 1695 cm^{-1} em CETMP-1) para região de menor energia (duas bandas em 1582 e 1570 cm^{-1} em CETNa), o que é esperado para o sal sódico, devido à formação do íon carboxilato, que apresenta ressonância e consequente diminuição da energia de estiramento C=O. Não foram encontrados resultados de caracterização de cetoprofeno sódico por espectroscopia na região do infravermelho.

Os resultados das análises de infravermelho da matéria prima de cetoprofeno (CETMP), da sacarina (SAC) e da forma obtida pelo método de *screening* via SMPT utilizando a sacarina como coformador (CET_SMPT_SAC_5) estão representados na Figura 36 e Tabela 42:

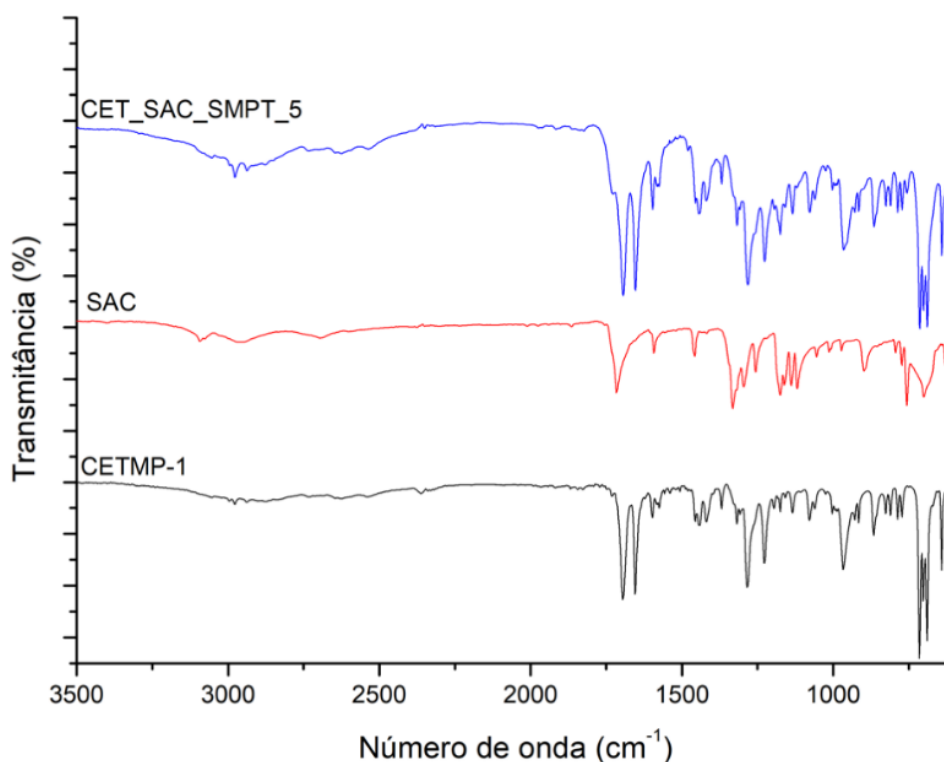


Figura 36 - Espectros de infravermelho de cetoprofeno matéria-prima (CETMP), da sacarina (SAC) e da forma obtida pelo método de *screening* via SMPT utilizando sacarina como coformador (CET_SAC_SMPT_5).

Fonte: do autor.

Tabela 42 - Principais bandas de absorção no infravermelho de cetoprofeno matéria-prima (CETMP), da sacarina (SAC) e da forma obtida pelo método de screening via SMPT utilizando sacarina como coformador (CET_SAC_SMPT_5).

CETMP-1	SAC (experimental)	CET_SAC_SMPT_5
Número de onda (cm⁻¹)	Número de onda (cm⁻¹)	Número de onda (cm⁻¹)
3300 a 2400 (Estiramento O-H de ácido carboxílico)	-	3300 a 2400 (Estiramento O-H de ácido carboxílico)
3055 (Estiramento C-H sp ²)	-	3055 (Estiramento C-H sp ²)
2995, 2978, 2938 (Estiramento C-H sp ³)	-	2995, 2978, 2938 (Estiramento C-H sp ³)
2000 a 1667 (Bandas de harmônicas/combinção dos anéis aromáticos)	2000 a 1667 (Bandas de harmônicas/combinção dos anéis aromáticos)	2000 a 1667 (Bandas de harmônicas/combinção dos anéis aromáticos)
-	1717* (Estiramento C=O imida)	1728 (Estiramento C=O imida)
1695 (Estiramento C=O de ácido carboxílico)	-	1694 (Estiramento C=O de ácido carboxílico)
1655 (Estiramento C=O de cetona conjugada aos anéis aromáticos)	-	1653 (Estiramento C=O de cetona conjugada aos anéis aromáticos)
1597 a 1420 (várias bandas) (Estiramentos C=C dos anéis aromáticos)	1594, 1458 (Estiramentos C=C do anel aromático)	1597 a 1420 (várias bandas) (Estiramentos C=C dos anéis aromáticos)
1369 (Dobramento CH ₃)	-	1369 (Dobramento CH ₃)
1285 (Estiramento C-O)	-	1283 (Estiramento C-O)
966 (Dobramento O-H fora do plano)	-	966 (Dobramento O-H fora do plano)
866, 716, 704 e 691 (Bandas de dobramento C-H fora do plano de anéis aromáticos)	-	864, 714, 702 e 691 (Bandas de dobramento C-H fora do plano de anéis aromáticos)
-	758* (Dobramento C-H fora do plano de anel aromático orto-substituído)	756 (Dobramento C-H fora do plano de anel aromático orto-substituído)

Fonte: do autor

*Bandas de absorção exclusivas da sacarina.

Os resultados demonstrados na Figura 36 e Tabela 42 mostram que o espectro de infravermelho de CET_SAC_SMPT_5 apresenta bandas de absorção do cetoprofeno e da sacarina (SAC). Em uma primeira análise visual da Figura 36, pode parecer que CET_SAC_SMPT_5 contém somente cetoprofeno, uma vez que o espectro da amostra é

semelhante ao espectro do cetoprofeno. Este resultado ocorreu porque a maioria das bandas da sacarina são coincidentes com as bandas do cetoprofeno, ocorrendo conseqüentemente sobreposição das bandas. Entretanto, uma análise mais detalhada mostra que as bandas em 1717 (estiramento C=O da imida) e 758 cm^{-1} (dobramento C-H fora do plano de anel aromático orto-substituído) são bandas exclusivas da sacarina. Conforme demonstrado na Tabela 42, foi observada uma banda em 756 cm^{-1} em CET_SAC_SMPT_5, evidenciando a presença de sacarina na amostra. A banda referente ao estiramento C=O da imida de SAC apareceu deslocada para 1728 cm^{-1} em CET_SAC_SMPT_5, indicando que a carbonila da sacarina pode estar envolvida em uma interação intermolecular na estrutura cristalina do cocrystal. A fim de mostrar melhor estes resultados, os espectros de infravermelho foram ampliados e estão demonstrados na Figura 37:

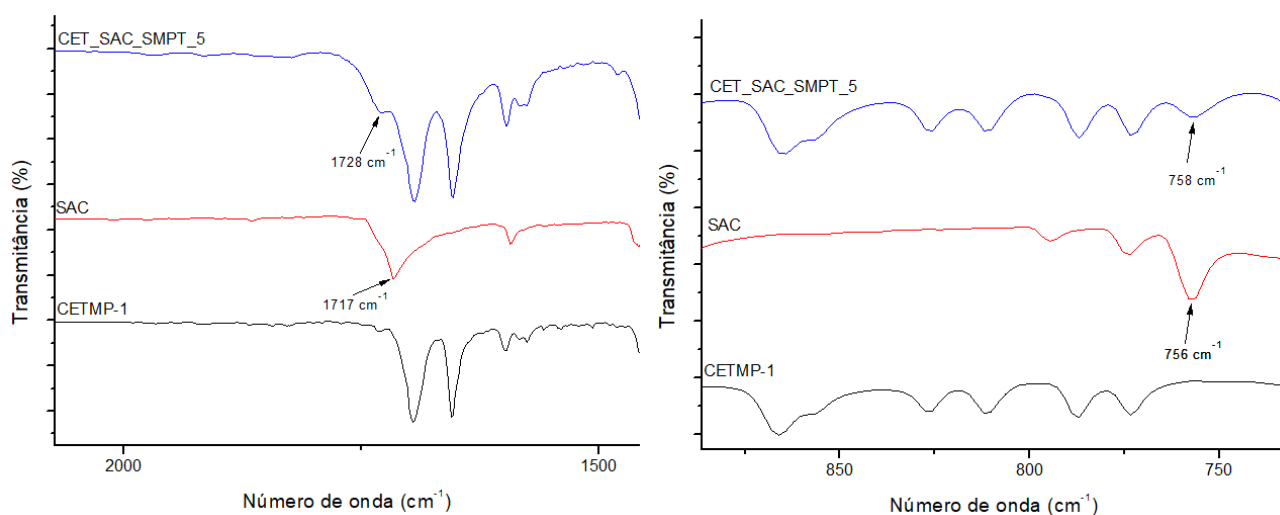


Figura 37 - Ampliação de espectros de infravermelho de cetoprofeno matéria-prima (CETMP), da sacarina (SAC) e da forma obtida pelo método de screening via SMPT utilizando sacarina como coformador (CET_SAC_SMPT_5).

Fonte: do autor.

5.3.3 Análises Térmicas

Os resultados de análises térmicas (DSC e TGA) de CETMP-1 e CETNa estão demonstrados nas Figuras 38, 39, 40 e 41.

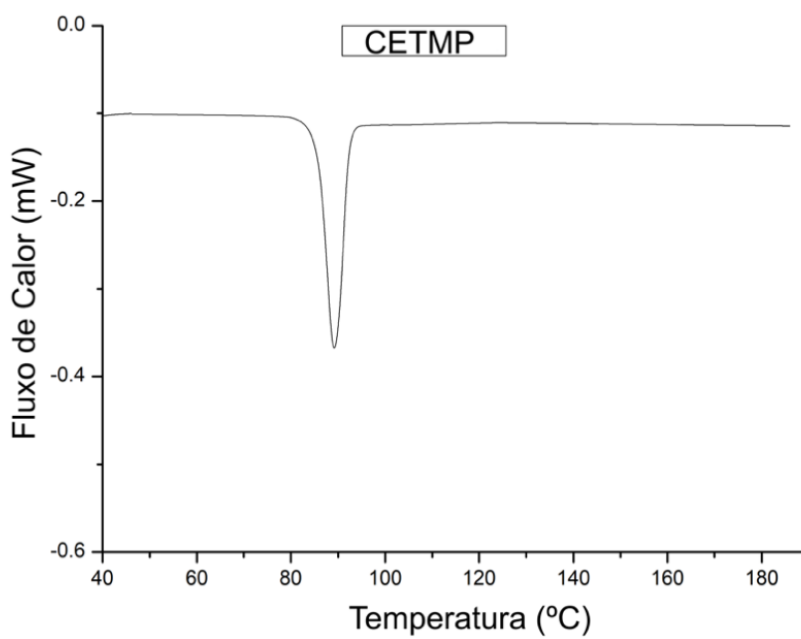


Figura 38 - Curva de DSC de CETMP-1.
Fonte: do autor.

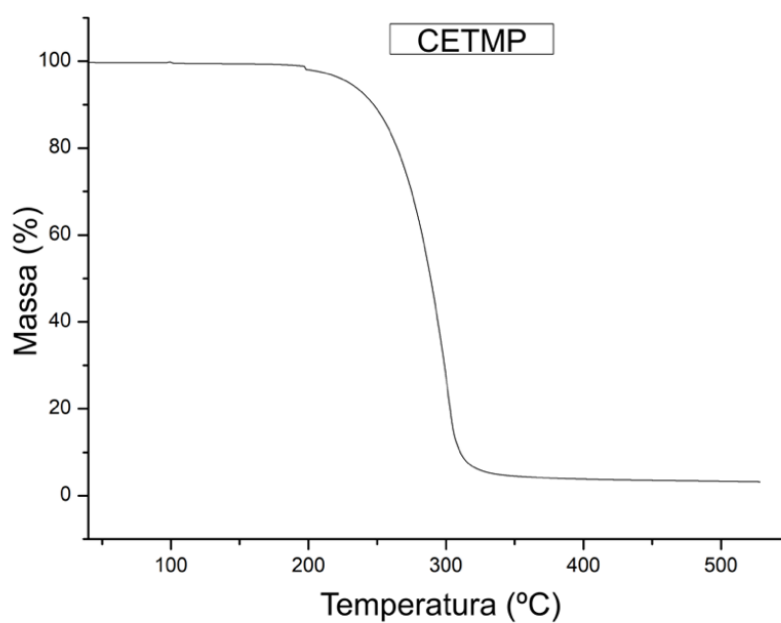


Figura 39 - Curva de TGA de CETMP-1.
Fonte: do autor.

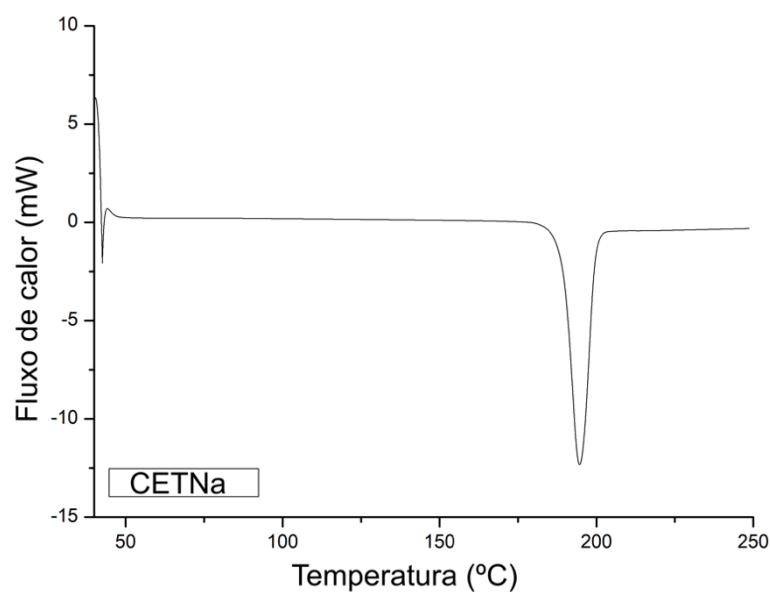


Figura 40 - Curva de DSC de CETNa.

Fonte: do autor.

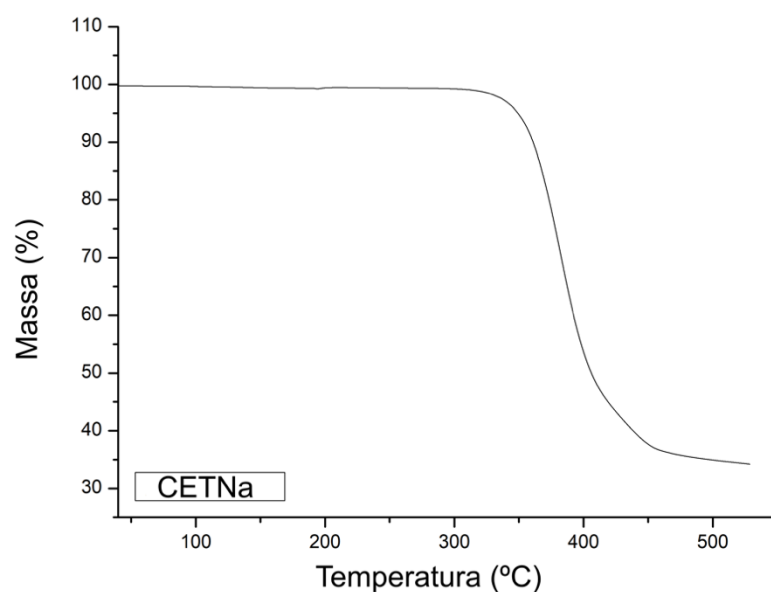


Figura 41 - Curva de TGA de CETNa.

Fonte: do autor.

A curva de DSC de CETMP (Figura 38) mostra apenas um evento endotérmico em 95,3 °C ($T_{\text{onset}} = 92,4$ °C), o qual não está associado à perda de massa na curva de TGA. Portanto, este evento provavelmente se trata de uma fusão, estando de acordo com a literatura, que descreve a faixa de fusão do cetoprofeno entre 94 °C a 97 °C (ANVISA, 2019a). A

decomposição de CETMP ocorre acima de 200°C devido à perda de massa significativa na curva de TGA desta amostra (Figura 39).

A curva de DSC de CETNa (Figura 40) mostra apenas um evento endotérmico em 194,6 °C ($T_{\text{onset}} = 188,2$ °C), o qual não está associado à perda de massa na curva de TGA. Portanto, este evento provavelmente se trata de uma fusão. A decomposição de CETNa ocorre acima de 300°C devido à perda de massa significativa na curva de TGA desta amostra (Figura 41). Estes dados estão condizentes com a literatura, que o ponto de fusão de $183,9 \pm 3$ °C para o cetoprofeno sódico (HILDEBRAND; MÜLLER-GOYMANN, 1997).

Estas diferenças de temperaturas de fusão e decomposição das formas indicam uma maior estabilidade térmica de CETNa. Além disso, CETNa não apresentou eventos de transição de fases, indicando que esta forma sólida pode ser vantajosa em relação à forma atualmente comercializada (CETMP) em termos de estabilidade físico-química.

Os resultados de análises térmicas (DSC e TGA) de CET_SAC_SMPT_5 foram comparados com os resultados obtidos a partir de CETMP-1, SAC e de uma mistura física de cetoprofeno e sacarina na proporção molar 1:2 e estão demonstrados nas Figuras 42 e 43.

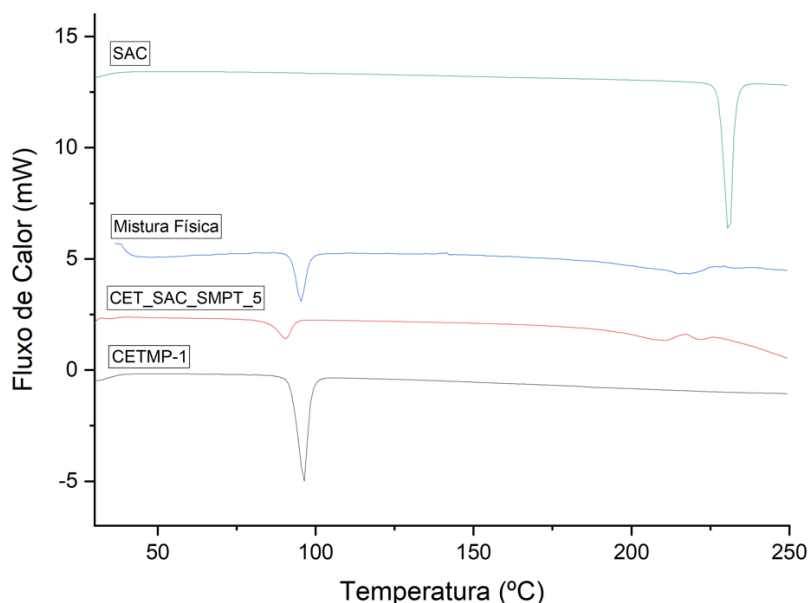


Figura 42 - Curva de DSC de CET_SAC_SMPT_5 em comparação com os resultados obtidos a partir de CETMP-1, SAC e de uma mistura física de cetoprofeno e sacarina na proporção molar 1:2.

Fonte: do autor.

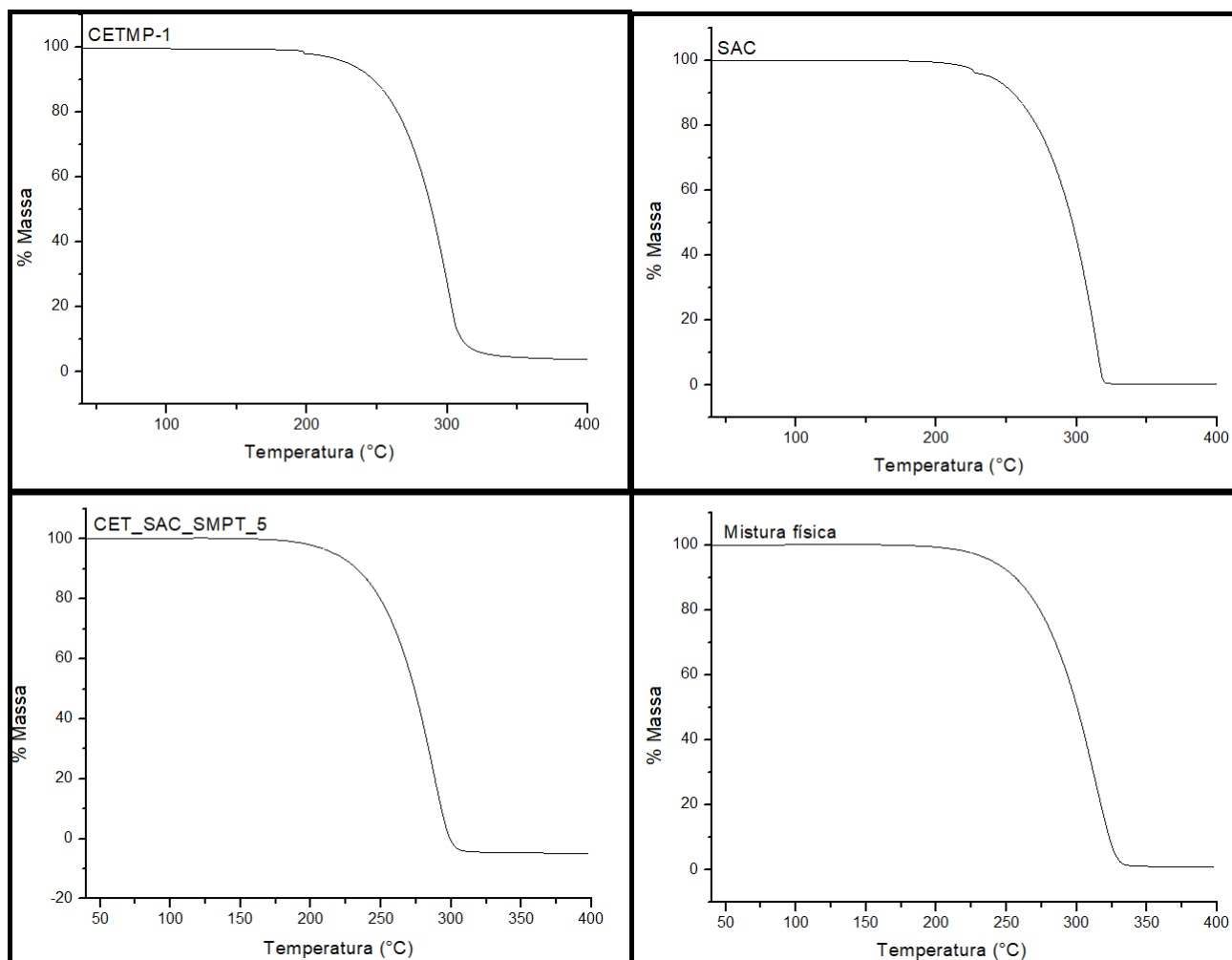


Figura 43 - Curva de TGA de CET_SAC_SMPT_5 em comparação com os resultados obtidos a partir de CETMP-1, SAC e de uma mistura física de cetoprofeno e sacarina na proporção molar 1:2.

Fonte: do autor.

A curva de DSC de SAC (Figura 42) mostra apenas um evento endotérmico em 232 °C ($T_{\text{onset}} = 227,5$ °C), o qual está associado à perda de massa na curva de TGA (Figura 43). Portanto, este evento provavelmente se trata de fusão seguida de decomposição.

A curva de DSC da mistura física apresenta um evento endotérmico em 95,3 °C ($T_{\text{onset}} = 92,3$ °C), o qual não está associado à perda de massa na curva de TGA. Portanto, este evento se trata da fusão do cetoprofeno na mistura física, uma vez que foi coincidente com o mesmo evento observado para CETMP-1, estando, portanto, de acordo com o esperado. Um segundo evento com $T_{\text{onset}} = 216,5$ °C foi observado na curva de DSC da mistura física, o qual está associado à perda de massa que ocorre a partir de 200 °C, observada na curva de TGA da

mistura física (Figura 43). Portanto, trata-se da decomposição das moléculas de cetoprofeno e de sacarina.

A curva de DSC de CET_SAC_SMPT_5 apresenta um evento endotérmico em 90,5 °C com Tonset de 85,7°C, o qual não está associado à perda de massa na curva de TGA (Figura 43). Portanto, este evento provavelmente se trata de fusão. O segundo evento endotérmico (Tonset = 222,2 °C) na curva de CET_SAC_SMPT_5 está associado à perda de massa no gráfico de TGA dessa mesma amostra (Figura 43), indicando que ocorre decomposição da amostra a partir dessa temperatura, de forma semelhante ao que ocorre na mistura física. Quando se compara a curva de DSC de CET_SAC_SMPT_5 com a curva da mistura física, observa-se que CET_SAC_SMPT_5 apresenta deslocamento do primeiro evento endotérmico de 95,3 °C para 90,5 °C, com Tonset deslocado de 92,3 °C para 85,7°C. Estes resultados estão condizentes com o trabalho de Schultheiss e Newman, o qual relata que 51% dos cocristais possuem ponto de fusão com temperatura intermediária entre a fusão do coformador e do IFA, 39% possuem ponto de fusão em menor temperatura que do IFA e coformador, 6% com ponto de fusão em temperatura acima e 4% com ponto de fusão em mesma temperatura (SCHULTHEISS, NEWMAN, 2009). No caso de CET_SAC_SMPT_5, essa alteração em relação à temperatura de fusão poderia ser devido a formação de mistura eutética ou de cocristal. Entretanto, considerando os resultados de DRXP, onde essa amostra apresentou padrão de difração diferente da soma dos picos de Bragg de CETMP-1 e SAC, pode-se confirmar que o comportamento térmico observado foi decorrente da formação do cocristal entre cetoprofeno e sacarina. Portanto, a amostra se enquadra nos 39% dos cocristais que apresentam ponto de fusão em menor temperatura que do IFA e do coformador.

5.3.4 Doseamento

Foram realizados ensaios de doseamento das amostras CETMP-1, CETNa e CET_SAC_SMPT_5 utilizando o método cromatográfico validado. Estes ensaios foram realizados por dois motivos: i) avaliar a pureza química das amostras utilizadas nos estudos, a fim de verificar se cumprem a especificação farmacopeica para matérias-primas de cetoprofeno; 2) verificar se CET_SMPT_SAC_5 possui a proporção molar de duas moléculas de sacarina para cada molécula de cetoprofeno. Neste sentido, considerando o peso molecular do cetoprofeno (254,28) e da sacarina (183,19), para o doseamento de CET_SMPT_SAC_5,

pesou-se 10 mg de padrão de cetoprofeno e 24,41 mg de SMPT_SAC_5 (equivalente a 10 mg de molécula de cetoprofeno para um cocristal cetoprofeno:sacarina 1:2). Os resultados estão demonstrados na Tabela 43.

Tabela 43 - Valores médios de teor de CETMP, CETNa e CET_SMPT_SAC_5.

Amostras	Média de teor % (n = 3)	DPR* %
CETMP	100,80	0,70
CETNa	98,91	0,21
CET_SMPT_SAC_5	98,77	0,33

Fonte: do autor.

Legenda: *DPR, desvio padrão relativo.

A partir dos resultados demonstrados na Tabela 43, pode-se observar que os teores de cetoprofeno em cada forma sólida estão dentro do limite de 98 a 102 %, o que comprova pureza adequada de CETMP, CETNa e CET_SMPT_SAC_5.

Considerando o teor obtido para CET_SMPT_SAC_5 de 98,77 %, a partir da pesagem de 24,41 mg do cocristal (equivalente a 10 mg de molécula de cetoprofeno para um cocristal cetoprofeno:sacarina 1:2), pode-se confirmar que o cocristal possui dois mols de sacarina para cada mol de cetoprofeno, conforme esperado. Além disso, os resultados obtidos pelo método de cromatografia líquida de alta eficiência confirmam a presença de cetoprofeno e sacarina em CET_SMPT_SAC_5, conforme demonstrado o cromatograma da Figura 44.

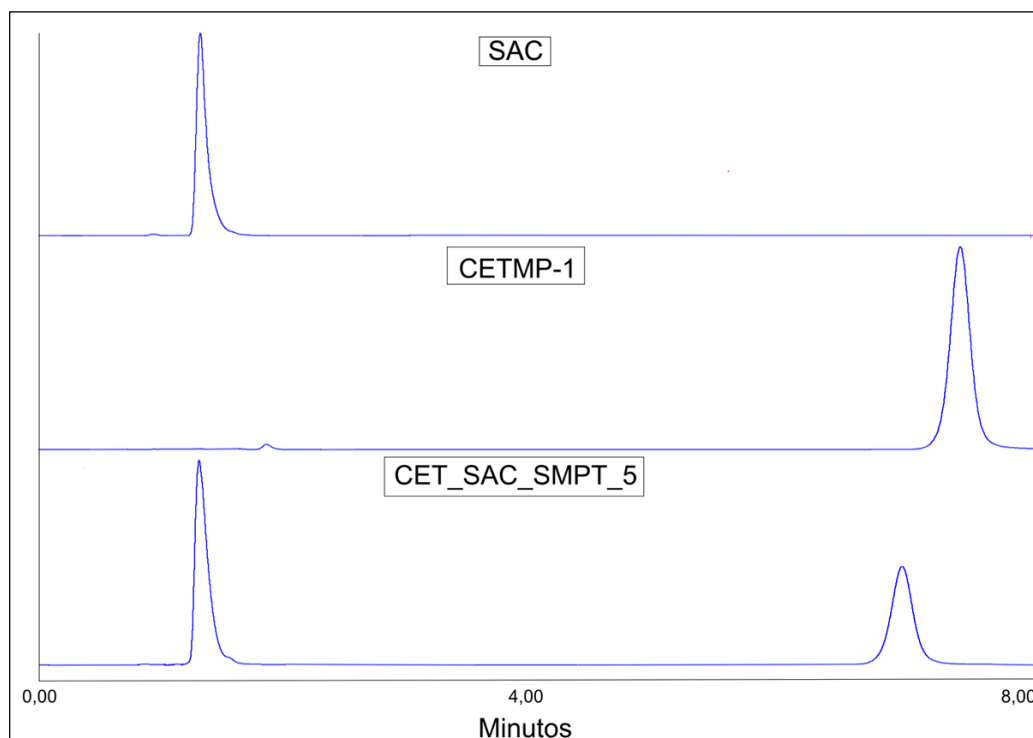


Figura 44 - Cromatogramas de solução padrão de cetoprofeno, solução de sacarina e solução de CET_SMPT_SAC_5.

Fonte: do autor

5.4 ESTUDO DE ESTABILIDADE ACELERADA

Um estudo de estabilidade acelerada foi realizado, acondicionando amostras de CETMP-1, CETNa e CET_SAC_SMPT_5 em estufa a 40 °C e 75 % UR, as quais foram coletadas nos tempos de 0, 3 e 6 meses e analisadas por DRXP e CLAE. Os resultados de DRXP de CETMP-1 estão demonstrados na Figura 45, de CETNa na Figura 46 e de CET_SAC_SMPT_5 na Figura 47.

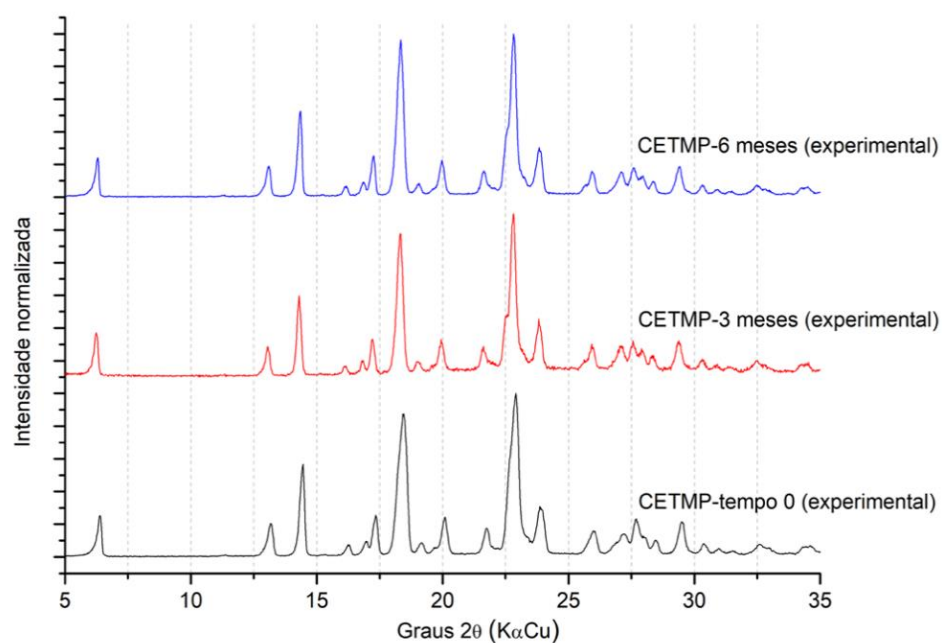


Figura 45 - Difratogramas do estudo de estabilidade acelerada de CETMP nos tempos 0, 3 e 6 meses
Fonte: do autor.

De acordo com a Figura 45 pode-se perceber que a matéria-prima de cetoprofeno (CETMP) manteve o mesmo padrão de DRXP após três e seis meses de acondicionamento a 40 °C e 75 % UR, indicando a estabilidade física desta amostra frente às condições determinadas da RDC 318/2019 (ANVISA, 2019b).

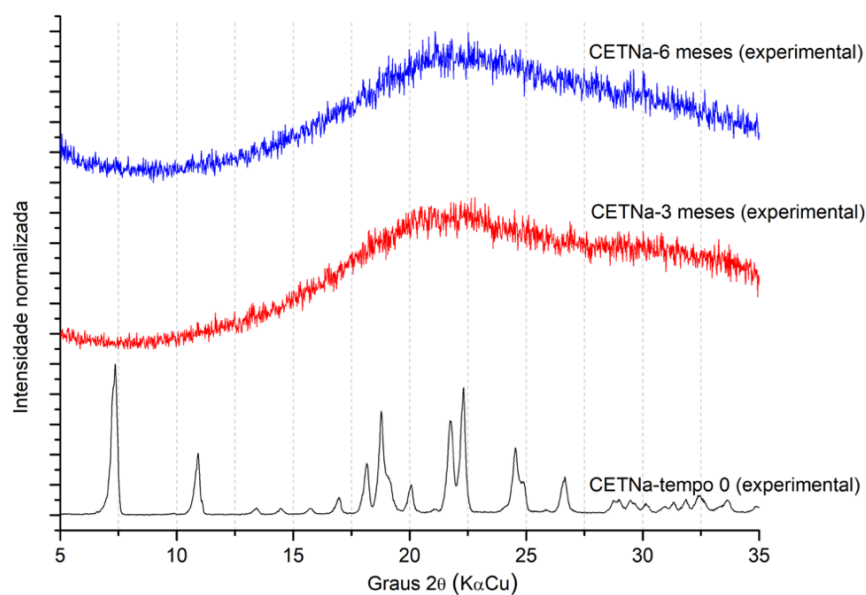


Figura 46 - Difratogramas do estudo de estabilidade acelerada de CETNa nos tempos 0, 3 e 6 meses

Fonte: do autor.

De acordo com a Figura 46, foi verificado processo de amorfização de CETNa após três e seis meses de acondicionamento a 40 °C/5 % UR, demonstrando instabilidade física do sal sódico de cetoprofeno. Este processo provavelmente está relacionado com a alta higroscopicidade descrita para os sais de cetoprofeno (COURTEILLE FREDERIC; VEILLARD, 1994).

Para avaliar a higroscopicidade do sal sódico, foi realizada uma análise por termogravimetria da amostra CETNa após seis meses de acondicionamento a 40 °C/5 % UR. O resultado está demonstrado na Figura 47.

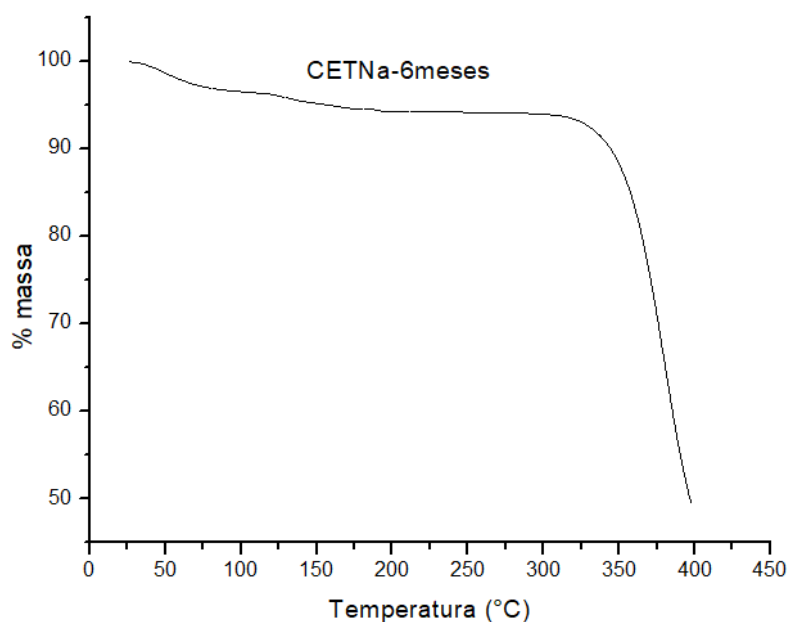


Figura 47 - Curva de TGA de CETNa após seis meses do estudo de estabilidade.
Fonte: do autor

Conforme observado na Figura 47 acima, é possível verificar perda de massa na curva de TGA de CETNa-6 meses. Até a temperatura de 300 °C (início da decomposição do CETNa), foi observada perda de 6,05% de massa, correspondendo provavelmente a perda de água da estrutura do composto. Portanto, foi constatado que houve absorção de água por parte do sal sódico de cetoprofeno, comprovando sua alta higroscopicidade.

Sendo assim, recomenda-se o acondicionamento de IFAs de cetoprofeno sódico em embalagens impermeáveis. Além disso, qualquer contato com umidade inviabiliza a utilização do sal sódico de cetoprofeno em formas farmacêuticas sólidas. Este fator pode ser considerado como uma desvantagem do sal sódico em relação à forma livre.

Outro fator relacionado à instabilidade de CETNa que merece atenção, foi sua amorfização após tamisação, o que inviabilizou a utilização deste sólido em formulações sólidas. Sendo assim, não foi possível propor uma forma farmacêutica sólida de uso oral para este sal.

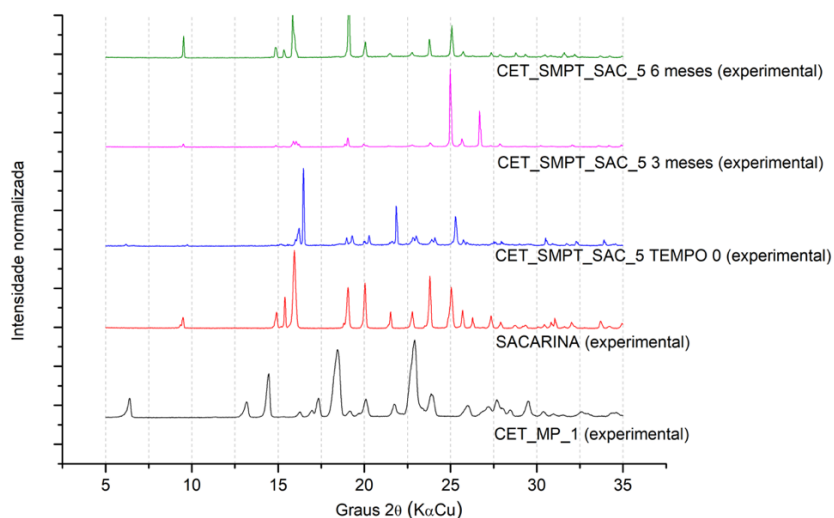


Figura 48 - Difratoformas do estudo de estabilidade acelerada de CET_SMPT_SAC_5 nos tempos 0, 3 e 6 meses

Fonte: do autor

Como pode ser observado nos difratogramas da figura 48, CET_SAC_SMPT_5 não se demonstrou fisicamente estável após três e seis meses, prevalecendo picos de Bragg de sacarina e ausência de picos de Bragg de cetoprofeno. Conclui-se que este fato esteja ligado a amorfização do cetoprofeno a partir do cocristal nas condições de estabilidade acelerada estudada, uma vez que os resultados doseamento (Tabela 44), mostram que a amostra CET_SAC_SMPT_5 apresentou teor de cetoprofeno de 97,96% após seis meses de acondicionamento a 40 °C/5 % UR.

Os resultados do estudo de doseamento de CETMP, CETNa e CET_SAC_SMPT_5 nos tempos 0, 3 e 6 meses estão demonstrados na Tabela 44.

Tabela 44 - Resultados de doseamento de CETMP, CETNa e CET_SAC_SMPT_5 nos tempos 0, 3 e 6 meses.

	CETMP		CETNa		CET_SAC_SMPT_5	
	Teor de Cetoprofeno %	DPR %	Teor de Cetoprofeno %	DPR %	Teor de Cetoprofeno %	DPR %
Tempo 0	100,80	0,14	98,91	0,70	100,71	0,17
3 meses	101,47	0,11	91,20	0,47	98,32	0,84
6 meses	99,56	0,21	88,83	0,38	97,96	1,13

Fonte: do autor.

De acordo com os resultados da Tabela 44, pode-se observar que os resultados de doseamento de CETMP se mantiveram dentro da faixa de concentração de 98 a 102 %. No entanto, após três meses de experimento, pode ser observado que o CETNa apresentou teor de 88,83%, apresentando-se fora da faixa de concentração de 98 a 102 %. Portanto, pode-se dizer que o sal de cetoprofeno possui menor estabilidade em comparação com a matéria prima. Entretanto, esta diminuição de teor (de 98,91% para 88,83%) provavelmente está relacionada com a alta higroscopicidade do sal, que absorveu água quando exposto por 6 meses à umidade relativa de 75%. Já CET_SAC_SMPT_5 apresentou teor de cetoprofeno dentro da faixa de concentração de 98% a 102%, comprovando a presença do fármaco na amostra.

5.5 ESTUDO DE SOLUBILIDADE A 37 °C

Foi realizado um estudo de solubilidade a 37 °C pelo método *shake flask* nas amostras CETMP-1 e CETNa. Não foi possível realizar estes estudos em CET_SAC_SMPT_5, uma vez a obtenção dessa amostra não se mostrou reprodutível, sendo que a quantidade obtida no primeiro processo foi insuficiente para realização de estudos de solubilidade.

Após 24, 48 e 72 horas de ensaio, retirou-se uma alíquota de 1 mL de cada amostra, filtrou-se imediatamente, diluiu-se e quantificou-se utilizando o método previamente validado. Os resultados estão descritos nas Tabelas 45, 46 e 47.

Tabela 45 - Resultados de solubilidade no equilíbrio de CETMP e CETNa a 37 °C no tempo de 24 horas.

24 horas				
CETMP-1			CETNa	
Meios	X mg.mL ⁻¹	DP	X mg.mL ⁻¹	DP
pH 1,2	0,28	0,11	0,62	0,04
pH 5,4	0,84	0,08	4,78	0,05
pH 6,8	6,56	0,07	19,68	0,08
H ₂ O	0,32	0,12	28,60	0,05

Fonte: do autor.

Legendas: X = solubilidade média (n = 3); DP = desvio padrão amostral (n = 3); pH 1,2 = tampão HCl pH 1,2 (135 mmol.L⁻¹M); pH 5,4 = tampão acetato pH 5,4 (42,3 mmol.L⁻¹); pH 6,8 = tampão fosfato pH 6,8 (322,4 mmol.L⁻¹).

Tabela 46 - Resultados de solubilidade no equilíbrio de CETMP e CETNa a 37 °C no tempo de 48 horas.

48 horas				
CETMP			CETNa	
Meios	X mg.mL ⁻¹	DP	X mg.mL ⁻¹	DP
pH 1,2	0,38	0,09	0,84	0,06
pH 5,4	0,85	0,09	6,81	0,09
pH 6,8	8,48	0,05	25,44	0,07
H ₂ O	0,44	0,11	34,47	0,12

Fonte: do autor.

Legendas: X = solubilidade média (n = 3); DP = desvio padrão amostral (n = 3); pH 1,2 = tampão HCl pH 1,2 (135 mmol.L⁻¹M); pH 5,4 = tampão acetato pH 5,4 (42,3 mmol.L⁻¹); pH 6,8 = tampão fosfato pH 6,8 (322,4 mmol.L⁻¹).

Tabela 47 - Resultados de solubilidade no equilíbrio de CETMP e CETNa a 37 °C no tempo de 72 horas.

72 horas				
CETMP			CETNa	
Meios	X mg.mL ⁻¹	DP	X mg.mL ⁻¹	DP
pH 1,2	0,38	0,10	0,83	0,07
pH 5,4	0,85	0,08	6,78	0,07
pH 6,8	8,50	0,06	25,50	0,09
H ₂ O	0,45	0,10	34,88	0,11

Fonte: do autor.

Legendas: X = solubilidade média (n = 3); DP = desvio padrão amostral (n = 3); pH 1,2 = tampão HCl pH 1,2 (135 mmol.L⁻¹M); pH 5,4 = tampão acetato pH 5,4 (42,3 mmol.L⁻¹); pH 6,8 = tampão fosfato pH 6,8 (322,4 mmol.L⁻¹).

A partir dos resultados das Tabelas 45, 46 e 47, foi realizado um estudo estatístico através do teste de ANOVA seguida do teste TUKEY ao nível de significância de 0,05 para comparação entre as médias de solubilidade nos tempos de 24, 48 e 72 horas para cada forma estudada em cada meio. Os resultados da análise estatística estão descritos na Tabela 48.

Tabela 48 - Comparação estatística (ANOVA seguida de Tukey) entre as médias de solubilidade nos tempos de 24, 48 e 72 horas a 37 °C para cada forma estudada em cada meio.

CETMP			CETNa	
Meio	Valor p (ANOVA)	Resultado do teste de Tukey	Valor p (ANOVA)	Resultado do teste de Tukey
pH 1,2	<0,05	24<48=72	<0,05	24<48=72
pH 5,4	0,22	-	<0,05	24<48=72
pH 6,8	<0,05	24<48=72	<0,05	24<48=72
H ₂ O	<0,05	24<48=72	<0,05	24<48=72

Fonte: do autor.

A partir dos resultados das Tabelas 45, 46, 47 e 48, pode-se concluir que o máximo de solubilidade de cetoprofeno a 37°C foi observado estatisticamente após 48 horas de ensaio para ambas as formas em todos os meios utilizados para o ensaio de solubilidade. Portanto, comparou-se as solubilidades entre CETMP e CETNa a 37°C após 48 horas de ensaio. Os resultados estão demonstrados na Figura 49.

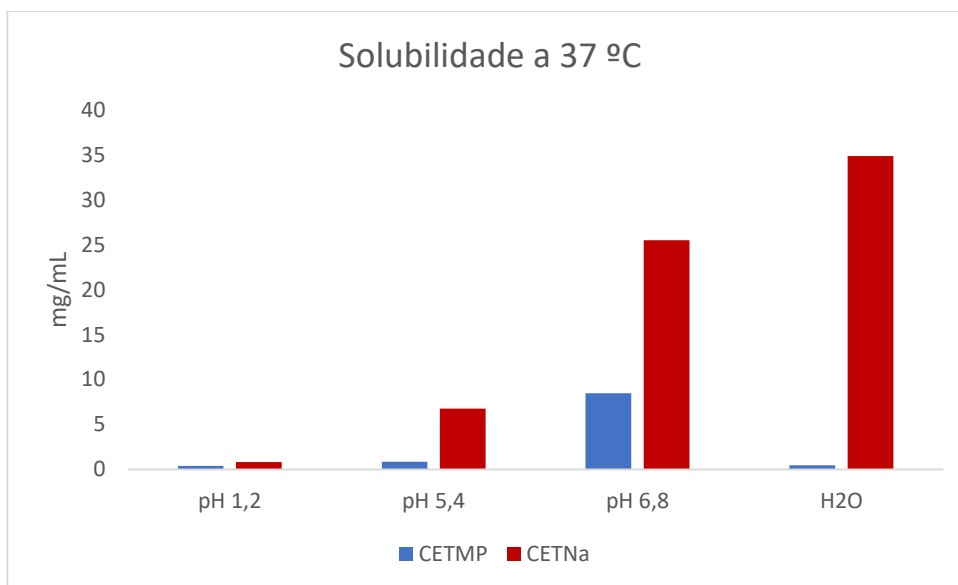


Figura 49 - Solubilidades de formas sólidas do cetoprofeno a 37 °C e 48 horas.
Fonte: do autor.

Como pode ser observado na Tabela 48 e Figura 49, a solubilidade de ambas as formas aumenta em função do aumento de pH. Este fenômeno é esperado, pois o cetoprofeno é um ácido com pKa igual a 4,45. Sendo assim, à medida que o pH aumenta, o grupamento ácido carboxílico tende a se desprotonar, aumentando conseqüentemente a solubilidade da molécula.

Quando se compara a solubilidade do sal sódico com a solubilidade da forma livre de cetoprofeno, observa-se que a solubilidade de CETNa foi significativamente maior que a solubilidade de CETMP em todos os meios. Em tampão HCl (pH 1,2) a solubilidade de CETNa foi aproximadamente duas vezes maior que CETMP; no tampão acetato (pH 4,5) a solubilidade de CETNa foi cerca de três vezes maior que CETMP; no tampão fosfato (pH 6,8) a solubilidade de CETNa foi cerca de oito vezes maior que CETMP. Em água, a solubilidade de CETNa em comparação ao CETMP foi cerca de oitenta vezes maior, o que evidencia uma vantagem do sal sódico do cetoprofeno em relação à sua forma anidra.

As amostras de pó remanescente coletadas após os estudos de solubilidade foram analisadas para verificar se houve conversão de fases. Os difratogramas estão representados nas Figuras 50 e 51.

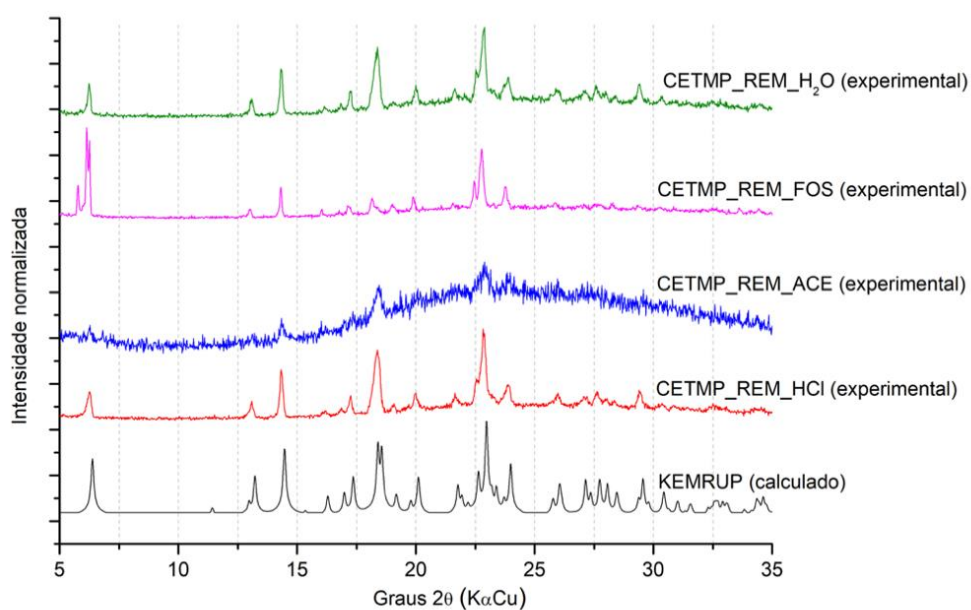


Figura 50 - Difratomogramas das amostras de pó remanescentes do estudo de solubilidade da matéria prima de cetoprofeno.

Fonte: do autor.

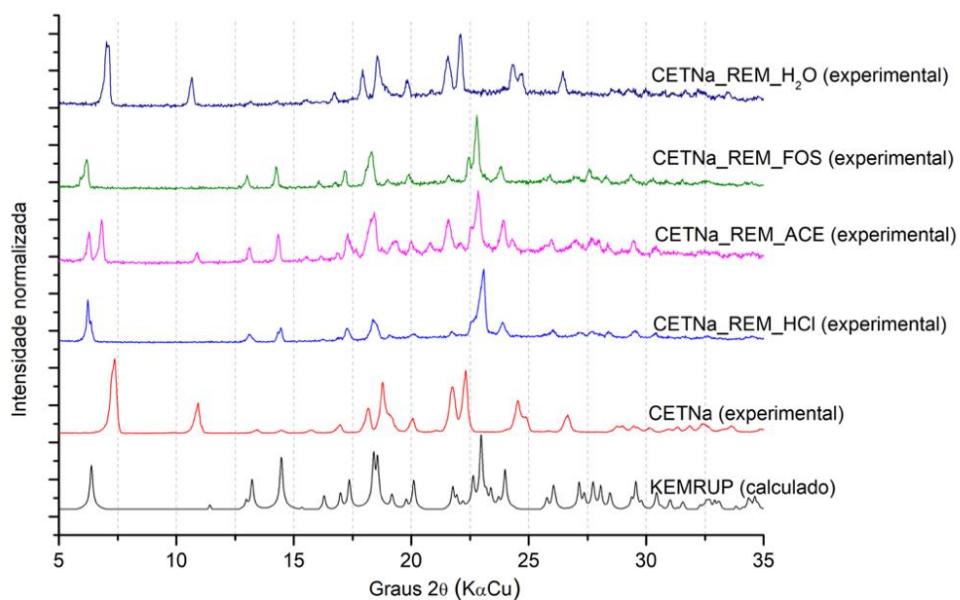


Figura 51 - Difratomogramas das amostras de pó remanescentes do estudo de solubilidade do cetoprofeno sódico.

Fonte: do autor.

Como pode ser observado na Figura 50, as amostras de pó remanescente da matéria prima de cetoprofeno utilizadas no estudo de solubilidade em meios com diferentes pHs mantiveram a estrutura nos difratogramas analisados. O difratograma do pó remanescente em tampão acetato de pH 5,4 (CETMP_REM_ACE) aparenta um sólido amorfo. No entanto, este fato se deu devido à pouca quantidade de amostra coletada ao final do experimento. No difratograma do pó remanescente utilizado no tampão fosfato de pH 6,8 (CETMP_REM_FOS), embora tenha se mantido a estrutura, houve o aparecimento de um pico em $5,76^\circ$, podendo indicar uma possível contaminação.

Como pode ser observado na Figura 51, CETNa (CETNa_REM_HCl) apresentou conversão total para a forma CETMP após o estudo de solubilidade em pH 1,2. Este fato é esperado, devido ao pH da solução ser significativamente menor que o pKa da molécula. Sendo assim, em pH 1,2 a molécula se protona e se converte na forma livre. Em pH 5,4 (CETNa_REM_ACE), o padrão de difração demonstra uma mistura das formas CETNa e CETMP, indicando conversão parcial. Em pH 6,8 (CETNa_REM_FOS) houve conversão total de CETNa para CETMP. Em água, CETNa manteve seu padrão de difração, este fato explica a maior diferença de solubilidade entre CETNa e CETMP verificada no meio aquoso.

6 CONCLUSÃO

A validação do método analítico demonstrou que ambos os métodos, espectrofotométrico e CLAE, são considerados viáveis para a determinação do cetoprofeno. No entanto, o método por CLAE demonstrou melhores resultados de seletividade, precisão e exatidão, sendo este o escolhido para os demais ensaios.

Neste trabalho, foram obtidas duas formas sólidas com estruturas cristalinas diferentes das estruturas de cetoprofeno reportadas no CSD: o sal sódico de cetoprofeno (CETNa), e um cocrystal de cetoprofeno e sacarina 1:2 (CET_SMPT_SAC_5).

Em termos de novidade, este trabalho apresenta pela primeira vez estudos de caracterização no estado sólido de cetoprofeno sódico combinando as técnicas de DRXP, IV, DSC, TG, estabilidade acelerada e solubilidade. Também apresenta estudos de caracterização de um cocrystal inédito (até o presente momento) de cetoprofeno e sacarina 1:2, através das técnicas de DRXP, IV, DSC, TG e estabilidade acelerada. Entretanto, embora o cocrystal de cetoprofeno e sacarina 1:2 tenha sido caracterizado, a sua obtenção não se mostrou reprodutível, não sendo possível realizar estudos de solubilidade na amostra.

Com relação ao sal sódico de cetoprofeno (CETNa), sua solubilidade em água foi cerca de 80 vezes maior do que a observada para a matéria-prima. No entanto, CETNa apresentou problemas de estabilidade em comparação ao CETMP, onde CETNa apresentou um teor menor depois de 3 meses de ensaio sob as condições experimentais dos estudos de estabilidade acelerada. Também apresentou amorfização nos estudos de estabilidade e após tamisação, fatores que são desvantajosos. Sendo assim, não foi possível propor uma forma farmacêutica sólida de uso oral para este sal.

Finalmente, estudos de caracterização de diferentes formas sólidas de IFAs são de fundamental importância para contribuir com aspectos relacionados à qualidade, segurança e eficácia de medicamentos.

REFERÊNCIAS

- AGHARKAR, S.; LINDENBAUM, S.; HIGUCHI, T. Enhancement of solubility of drug salts by hydrophilic counterions: Properties of organic salts of an antimalarial drug. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 65, n. 5, p. 747–749, maio 1976.
- AITIPAMULA, S. *et al.* Polymorphs, Salts, and Cocrystals: What's in a Name? **Crystal Growth & Design**, v. 12, n. 5, p. 2147–2152, maio 2012.
- AL-TAHAMI, K. Preparation, characterization, and in vitro release of ketoprofen loaded alginate microspheres. **International Journal of Applied Pharmaceutics**, v. 6, n. 3, p. 9-12, 2014.
- AMIN, K. *et al.* Lyophilization of polyethylene glycol mixtures. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 93, n. 9, p. 2244–2249, 1 set. 2004.
- ANVISA. **Farmacopeia Brasileira**. 6. ed. Brasília: [s.n.].
- ANVISA. Resolução da diretoria colegiada - RDC nº 318, de 6 de novembro 2019. Estabelece os critérios para a realização de Estudos de Estabilidade de insumos farmacêuticos ativos e medicamentos, exceto biológicos, e dá outras providências. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/>. Acesso em: 5 ago. 2020b.
- ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária Consulta Pública nº 453, de 28 de dezembro de 2017 DOU de 29/12/2017.
- AULTON, M. E. Delineamento de formas farmacêuticas. Porto Alegre: Artmed, 2005. 677 p.
- BRASIL. ANVISA. **Guia De Dissolução Aplicável A Medicamentos Genéricos, Novos E Similares**. [s.l: s.n.] 2018.
- BANNWARTH, B. *et al.* The effect of food on the systemic availability of ketoprofen. **European Journal of Clinical Pharmacology**, v. 33, n. 6, p. 643–645, 1988.
- BASAVOJU, S. *et al.* Indomethacin–Saccharin Cocrystal: Design, Synthesis and Preliminary Pharmaceutical Characterization. **Pharmaceutical Research**. v. 25, n. 3, p. 530-541, 2007.
- BEATRICE, P. *et al.* An explorative analysis of process and formulation variables affecting comilling in a vibrational mill: The case of praziquantel. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 533, n. 2, p. 402–412, 2017.
- BERRY, D. J.; STEED, J. W. Pharmaceutical cocrystals, salts and multicomponent systems; intermolecular interactions and property based design. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 117, p. 3–24, 2017.
- BLAGDEN, N. *et al.* Crystal engineering of active pharmaceutical ingredients to improve solubility and dissolution rates. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 59, n. 7, p. 617–630, 2007.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. ANVISA. **Resolução da Diretoria Colegiada - RDC N° 166, 24/07/2017**. Dispõe sobre Guia para validação de métodos analíticos. Brasília, jul. 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional De Vigilância Sanitária. **Resolução RDC n°45, de 9 de agosto de 2012**. Dispõe sobre a realização de estudos de estabilidade de insumos farmacêuticos ativos. Brasília, DF: Diário Oficial da União, 10 ago. 2012.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Nota técnica n° 003/2013/CEFAR/GTFAR/GGMED/ANVISA**. Dispõe sobre a avaliação da solubilidade de fármacos e o desenvolvimento de métodos de dissolução para estudos de equivalência farmacêutica e perfil de dissolução comparativo, e dá outras providências. 2013.

BRIARD, P.; ROSSI, J. C. Kétoprofène. **Acta Crystallographica Section C Crystal Structure Communications**, v. 46, n. 6, p. 1036–1038, 15 jun. 1990.

BRITTAIN, H. G. **Polymorphism in Pharmaceutical Solids**. Second ed. New York: Informa Healthcare, 2016.

BUČAR, D. K. *et al.* Cocrystals of caffeine and hydroxybenzoic acids composed of multiple supramolecular heterosynthons: Screening via solution-mediated phase transformation and structural characterization. **Crystal Growth and Design**, v. 9, n. 4, p. 1932–1943, 2009.

BURKE A, SMYTH E, FITZGERALD GA. Goodman and Gilman's **The Pharmacological Basis of therapeutics**. Brunton LL, Lazo JS, Parker KL (Eds.) 11th Edition, 26th Chapter, McGraw-Hill Medical publishing division, 2006;pp 700.

CARBONE, C. *et al.* **The safety of ketoprofen in different ages** *Journal of Pharmacology and Pharmacotherapeutics* Wolters Kluwer -- Medknow Publications, , dez. 2013.

CARVALHO, J. P. *et al.* Estabilidade de medicamentos no âmbito da farmacovigilância. *Fármacos & Medicamentos*, v. 6, n. 34, p. 22-27, 2005.

CERCIELLO, A. *et al.* Natural polysaccharides platforms for oral controlled release of ketoprofen lysine salt. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 42, n. 12, p. 2063–2069, 2016.

CHAUMEIL, J. C. Micronization : a method of improving the bioavailability of poorly soluble drugs . Publication Types , MeSH Terms , Substances PubMed Commons. **Methods and findings in experimental and clinical pharmacology**, v. 20, n. 3, p. 211–215, 1998.

CHOI, S.H.; KIM, S.-Y.; RYOO, J. J.; PARK, J. Y.; 1 LEE, K.-P. FT-Raman and FT-IR Spectra of the Non-steroidal Anti-inflammatory Drug Ketoprofen Included in Cyclodextrins, **Analytical Sciences**, v. 17, p. 785-788, 2001.

CHORILLI, M.; SOUZA, A. A.; CORRÊA, F. e SALGADO, H. R. N. Estudos de perfil de dissolução dos medicamentos de referência, genéricos e similares contendo cefalexina na forma farmacêutica cápsula. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 31, n. 1, p. 69-73, 2010.

CHUN, NH. *et al.* Characteristics of indomethacin–saccharin (IMC–SAC) co-crystals prepared by an anti-solvent crystallization process. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 85, p. 854–861, 2013.

CIMINI, A. *et al.* Gastroprotective effects of L-Lysine salification of ketoprofen in ethanol-injured gastric mucosa. **Journal of Cellular Physiology**, v. 230, n. 4, p. 813–820, 2015.

COURTEILLE FREDERIC; VEILLARD, M. **Oily capsules of ketoprofen**, 1994. Disponível em: <<https://patents.google.com/patent/US5665384A/en>>

DAI, X. L.; CHEN, J. M.; LU, T. B. Pharmaceutical cocrystallization: An effective approach to modulate the physicochemical properties of solid-state drugs. **CrystEngComm**, v. 20, n. 36, p. 5292–5316, 2018.

DATTA, S.; GRANT, D. J. W. Crystal structures of drugs: advances in determination, prediction and engineering. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 3, n. 1, p. 42–57, 2004.

ELDER, D. P.; HOLM, R.; DE DIEGO, H. L. Use of pharmaceutical salts and cocrystals to address the issue of poor solubility. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 453, n. 1, p. 88–100, 2013.

FERNANDES, G. J. *et al.* A Review on Solubility Enhancement of Carvedilol—a BCS Class II Drug. **Journal of Pharmaceutical Innovation**, p. 1–16, 2018.

FINCATO, G.; FERRARI, M. P.; SCAPINELLI, A. C. Pharmacokinetic comparison of 320 mg of two different oral capsule formulations of ketoprofen-lysine salt in healthy volunteers. **Advances in Therapy**, v. 10, n. 4, p. 182–188, jul. 1993.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. **Guidance for Industry. ANDAs: Pharmaceutical Solid Polymorphism. Chemistry, Manufacturing, and Controls Information**. Disponível em: <<http://www.fda.gov/cder/guidance/index.htm>>. Acesso em: 15 abr. 2020.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. **Regulatory classification of pharmaceutical co-crystals, guidance for industry**. Disponível em: <<http://www.fda.gov/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/default.htm%0Ahttps://www.fda.gov/media/81824/download>>. Acesso em: 15 abr. 2020.

FULIAŞ, A. *et al.* Ketoprofen-cysteine equimolar salt: Synthesis, thermal analysis, PXRD and FTIR spectroscopy investigation. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 121, n. 3, p. 1087–1091, 2015.

GADADE, D. D.; PEKAMWAR, S. S. Pharmaceutical cocrystals: Regulatory and strategic aspects, design and development. **Advanced Pharmaceutical Bulletin**, v. 6, n. 4, p. 479–494, 2016.

GALLELLI, L. *et al.* Retrospective evaluation of adverse drug reactions induced by nonsteroidal anti-inflammatory drugs. **Clinical Drug Investigation**, v. 27, n. 2, p. 115–122, 2007.

GIL, Eric de Souza. Controle Físico-químico de Qualidade de Medicamentos. 3. ed. São Paulo: **Pharmabooks**, 2010.

GIORGETTI, P. L. M. **Pharmaceutical preparations containing hydrosoluble Ketoprofen salts and their application**, 2001. Disponível em: <<https://patents.google.com/patent/US6291527B1/en>>

HE, Y. *et al.* Measurement and Accurate Interpretation of the Solubility of Pharmaceutical Salts. **Journal of Pharmaceutical Sciences**. Elsevier. maio 2017.

HERPIN, M. J.; SMYTH, H. D. C. Super-heated aqueous particle engineering (SHAPE): a novel method for the micronization of poorly water soluble drugs. **Journal of Pharmaceutical Investigation**, v. 48, n. 1, p. 135–142, jan. 2018.

HICKEY, M. B. *et al.* Performance comparison of a co-crystal of carbamazepine with marketed product. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 67, n. 1, p. 112–119, ago. 2007.

HILDEBRAND, G. E.; MÜLLER-GOYMANN, C. C. Ketoprofen sodium: preparation and its formation of mixed crystals with ketoprofen. **Journal of pharmaceutical sciences**, v. 86, n. 7, p. 854–857, jul. 1997.

HIMAWAN, A. *et al.* Physicochemical and Micromeritics Properties of Ketoprofen-Tartaric Acid Binary System. **Journal of Physics: Conference Series**, v. 1341, n. 7, 2019.

HOUGHTON, G. W. *et al.* Comparative pharmacokinetics of ketoprofen derived from single oral doses of ketoprofen capsules or a novel sustained-release pellet formulation. **Biopharmaceutics & Drug Disposition**, v. 5, n. 3, p. 203–209, 1984.

HUMBERSTONE, A. J.; CHARMAN, W. N. Lipid-based vehicles for the oral delivery of poorly water soluble drugs. **Advanced Drug Delivery Reviews** Elsevier Science. abr. 1997.

ISHIZAKI, T. *et al.* Pharmacokinetics of ketoprofen following single oral, intramuscular and rectal doses and after repeated oral administration. **European Journal of Clinical Pharmacology**, v. 18, n. 5, p. 407–414, 1980.

JAMALI, F.; BROCKS, D. R. Clinical Pharmacokinetics of Ketoprofen and Its Enantiomers. **Clinical Pharmacokinetics**, v. 19, n. 3, p. 197–217, set. 1990.

JOUYBAN, A. Handbook of Solubility Data for Pharmaceuticals, **CRC**, Boca Raton, FL, USA, 2010.

KALEEMULLAH, M. *et al.* Development and evaluation of Ketoprofen sustained release matrix tablet using Hibiscus rosa-sinensis leaves mucilage. **Saudi Pharmaceutical Journal**, v. 25, n. 5, p. 770–779, jul. 2017.

KANFER, I. Report on the internacional workshop on the biopharmaceutics classification system (BCS): scientific and regulatory aspects in practice. **J Pharm Pharm Sci**, 2002.

KONATU, F. R. B. **Desenvolvimento e validação de métodos analíticos para determinação de multirresíduos de agrotóxicos em cultura de alface, por cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas sequencial**. Tese (Doutorado em Ciências) – Instituto de Química da Universidade de Campinas – UNICAMP. Campinas/SP, p. 183. 2014.

LANÇAS, F. M. **Validação de métodos cromatográficos de análise**. São Carlos/SP, editora: RiMa, ed.1, p.62. 2004.

LAWRENCE, X. Y. *et al.* Biopharmaceutics classification system: the scientific basis for biowaiver extensions. **Pharm Res**, v. 19, n. 7, p. 921-925, 2002.

LI, R. *et al.* Improving the solubility of temozolomide by cosolvent and its correlation with the Jouyban-Acree and CNIBS/R-K models. **Journal of Chemical Thermodynamics**, v. 139, p. 105875, dez. 2019.

LOFTSSON, T.; BREWSTER, M. E. Pharmaceutical applications of cyclodextrins: basic science and product development. **J Pharm Pharmacol**, v. 62, p. 1607-1621, 2010.

MACRAE, C. F. *et al.* Mercury CSD 2.0 - New features for the visualization and investigation of crystal structures. **Journal of Applied Crystallography**, mar. 2008.

MARCOLONGO, R. **Dissolução de medicamentos: fundamentos, aplicações, aspectos regulatórios e perspectivas na área farmacêutica**. 117 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, 2003.

MARTINEZ, F.; JOUYBAN, A.; ACREE JR WE. Pharmaceuticals solubility is still nowadays widely studied everywhere. **Pharm Sci**, v. 23, p. 1-2, 2017.

MCNAMARA, D. P. *et al.* Use of a glutaric acid cocrystal to improve oral bioavailability of a low solubility API. **Pharmaceutical Research**, v. 23, n. 8, p. 1888–1897, ago. 2006.

MESSERI, A. *et al.* Analgesic efficacy and tolerability of ketoprofen lysine salt vs paracetamol in common paediatric surgery. A randomized, single-blind, parallel, multicentre trial. **Paediatric Anaesthesia**, v. 13, n. 7, p. 574–578, 2003.

PALLASTRELLI, M. B. **Desenvolvimento e validação de métodos analíticos enantiosseletivos para separação e determinação do esmolol e sotalol**. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo – USP. São Paulo/SP, p. 228, 2013

PANERAI, A. E. *et al.* A new ketoprofen lysine salt formulation: 40 mg orodispersible granules. **Trends in Medicine**, v. 12, n. 4, p. 159–167, 2012.

PANI, N. R. *et al.* Compatibility studies of nateglinide with excipients in immediate release tablets. **Acta Pharm**. v. 61, p. 237–247, 2011.

PAWLEDZIO, S. *et al.* Crystal structure, interaction energies and experimental electron density of the popular drug ketoprofen. **IUCrJ**, v. 5, n. 6, p. 841–853, 2018.

PRADO, L. D. ;; ROCHA, H. V. A. Estado Sólido na Indústria Farmacêutica: Uma Breve

Revisão Solid State in the Pharmaceutical Industry: A Brief Review. **Rev. Virtual Quim**, v. 7, n. 6, p. 2080–2112, 2015.

RADI ZA, KHAN NK. Effects of cyclooxygenase inhibition on the gastrointestinal tract. **Exp Toxicol Pathol**. v. 58, n. 2-3, p. 163-173, 2006.

RAJEWSKI, R. A.; STELLA, V. J. **Pharmaceutical applications of cyclodextrins. 2. In vivo drug delivery** *Journal of Pharmaceutical Sciences* John Wiley and Sons Inc., , nov. 1996. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8923319>>. Acesso em: 14 abr. 2020

REMENAR, J. F. *et al.* Crystal engineering of novel cocrystals of a triazole drug with 1,4-dicarboxylic acids. **Journal of the American Chemical Society**, v. 125, n. 28, p. 8456–8457, 16 jul. 2003.

REMYINGTON: a ciência e a prática farmacêutica. 20. ed. Guanabara. Rio de Janeiro, 2004.

ROCHA, A. B. O. *et al.* Cocristsais: Uma estratégia promissora na área farmacêutica. **Quimica Nova**, v. 39, n. 9, p. 1112–1125, 2016.

ROSA, M. F. e VILHENA, R. de O. Dissolução intrínseca: conceito e aplicações na indústria farmacêutica. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. IX, n. 1, p. 49-61, 2012.

ROSSI, P. *et al.* A new crystal form of the NSAID dexketoprofen. **Acta Crystallographica Section C: Structural Chemistry**, v. 75, p. 783–792, 1 jun. 2019.

ROSSI, P. *et al.* Relationships between Anhydrous and Solvated Species of Dexketoprofen Trometamol: A Solid-State Point of View. **Crystal Growth and Design**, v. 20, n. 1, p. 226–236, 2020.

ROYER, R. J. *et al.* Estimation by high-performance liquid chromatography of ketoprofen in plasma. Application to the study of its protein binding. - PubMed - NCBI. **Biomed Pharmacother.**, v. 40, n. 3, p. 100–105, 1986.

SALVI, S. T. B. **Método para controle da qualidade de medicamentos sólidos por difração de raios X**. 2015. 166 f. Tese (Doutorado em Química) – Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2015.

SARZI- PUTTINI, P. *et al.* Pain and ketoprofen: what is its role in clinical practice? **Reumatismo**, v. 62, n. 3, 2011.

SARZI-PUTTINI, P. *et al.* Efficacy of ketoprofen vs. ibuprofen and diclofenac: A systematic review of the literature and meta-analysis. **Clinical and Experimental Rheumatology**, v. 31, n. 5, p. 731–738, 2013.

SCHUMACHER, H. R. Ketoprofen extended-release capsules: A new formulation for the treatment of osteoarthritis and rheumatoid arthritis. **Clinical Therapeutics**, v. 16, n. 2, p. 145–159, 1994.

SHAO, D. *et al.* Improving the solubility of acipimox by cosolvents and the study of thermodynamic properties on solvation process. **Journal of Molecular Liquids**, v. 262, p. 389–

395, jul. 2018.

SHOHIN, I. E. *et al.* **Biowaiver monographs for immediate-release solid oral dosage forms: Ketoprofen** *Journal of Pharmaceutical Sciences* John Wiley and Sons Inc., 2012.

SCHULTHEISS, N.; NEWMAN, A. Pharmaceutical Cocrystals and Their Physicochemical Properties. **Cryst Growth Des.** v. 9, n. 6, p. 2950–2967, 2009.

SILVA, K. E. R. *et al.* Modelos de avaliação da estabilidade de fármacos e medicamentos para a indústria farmacêutica. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 30, n. 7, p. 12, 2009.

SISWANDI, S.; RUSDIANA, T.; LEVITA, J. Virtual screening of co-formers for ketoprofen co-crystallization and the molecular properties of the co-crystal. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**, v. 5, n. 6, p. 78–82, 2015.

STEPHENSON, G. A. Structure determination from conventional powder diffraction Data: Application to hydrates, hydrochloride salts, and metastable polymorphs. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 89, n. 7, p. 958-966, 2000.

TAO, T. *et al.* **Method for preparing lysine ketoprofen**, 2014. Disponível em: <<https://patents.google.com/patent/CN103524365A/en>>. Acesso em: 20 abr. 2020

TORCHILIN, V. P. Micellar nanocarriers: Pharmaceutical perspectives. **Pharmaceutical Research**. Springer, jan. 2007.

UNITED States Pharmacopoeia, 29 ed. Rev., Rockville. United States Pharmacopoeial Convention, Easton, Mack 2006. USP.

United States Pharmacopoeia-National Formulary (USP-NF). USP40-NF35 ed. Rockville: United States Pharmacopoeial Convention, 2017. 2 v.

VAGHELA, R. *et al.* Enhancing Aqueous Solubility of Ketoprofen by Fusion Technique Using Suitable Co-formers. **Current Drug Therapy**, v. 9, n. 3, p. 199–207, abr. 2015.

VEYS, E. M. 20 Years' Experience with Ketoprofen. **Scandinavian Journal of Rheumatology**, v. 19, n. 90, p. 3–44, jan. 1991.

WICAKSONO, Y.; SETYAWAN, D.; SISWANDONO. Formation of ketoprofen-malonic acid cocrystal by solvent evaporation method. **Indonesian Journal of Chemistry**, v. 17, n. 2, p. 161–166, 2017.

WICAKSONO, Y.; SETYAWAN, D.; SISWANDONO, S. Multicomponent crystallization of ketoprofen-nicotinamide for improving the solubility and dissolution rate. **Chemistry Journal of Moldova**, v. 13, n. 2, p. 74–81, 2018.

WILLIAMS, R. L.; UPTON, R. A. The Clinical Pharmacology of Ketoprofen. **Journal of clinical pharmacology**, v. 28, p. S13–S22, 1988.

WHO. International Stability Testing: guidelines for stability testing of pharmaceutical products containing well established drug substances in conventional dosage forms. Anex 5, WHO **Technical Report Series**. 863, 1996.

YU, L. X. Scientific considerations of pharmaceutical solid polymorphism in abbreviated new drug applications. **Pharmaceutical Research**, v. 20, n. 4, p. 531-536, 2003.

ZAINI, E.; WAHYUNI, Y. S.; HALIM, A.; YULIANDRA, Y. Preparation of Eutectic Mixture of Ketoprofen and Nicotinamide for Enhanced Dissolution Rate. **Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res.**, v. 35, n. 1, p. 161-164, 2015.

ZHANG, G. G. Z. *et al.* Efficient co-crystal screening using solution-mediated phase transformation. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 96, n. 5, p. 990–995, 2007.