

Universidade Federal do ABC

Centro de Ciências Naturais e Humanas

Pós-Graduação em Nanociências e Materiais Avançados

Juliana Alves Pereira Sato

CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL DE INSUMOS
FARMACÊUTICOS ATIVOS E MEDICAMENTOS ANTI-
HIPERTENSIVOS

Santo André

2015

Juliana Alves Pereira Sato

CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL DE INSUMOS FARMACÊUTICOS
ATIVOS E MEDICAMENTOS ANTI-HIPERTENSIVOS

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nanociências e Materiais Avançados da Universidade Federal do ABC como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Nanociências e Materiais Avançados. Linha de Pesquisa: Materiais Avançados

Orientador: Prof. Dr. Fabio Furlan Ferreira

Santo André – SP

2015

Este exemplar foi revisado e alterado em relação à versão original, de acordo com as observações levantadas pela banca no dia da defesa, sob responsabilidade única do autor e com a anuência de seu orientador.

Santo André, 07 de Dezembro de 2015.

Assinatura do autor: Juliana Sato

Assinatura do orientador: [Assinatura]



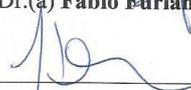
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
Fundação Universidade Federal do ABC
Programa de Pós-Graduação em Nanociências e Materiais Avançados
Avenida dos Estados, 5001 – Bairro Santa Terezinha – Santo André – SP
CEP 09210-580 · Fone: (11) 4996-0017
ppg.nanomat@ufabc.edu.br

FOLHA DE ASSINATURAS

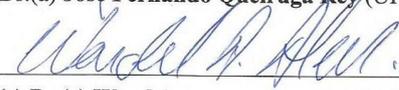
Assinaturas dos membros da Banca Examinadora que avaliou e aprovou a Defesa de Tese de Doutorado da candidata Juliana Alves Pereira Sato, realizada em 14 de agosto de 2015:



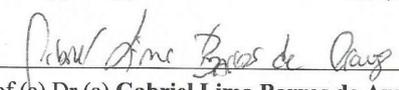
Prof.(a) Dr.(a) **Fabio Eurlan Ferreira** (UFABC) – Presidente



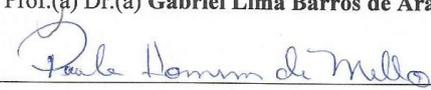
Prof.(a) Dr.(a) **Jose Fernando Queiruga Rey** (UFABC) – Membro Titular



Prof.(a) Dr.(a) **Wendel Andrade Alves** (UFABC) – Membro Titular



Prof.(a) Dr.(a) **Gabriel Lima Barros de Araujo** (USP) – Membro Titular



Prof.(a) Dr.(a) **Paula Homem-de-Mello** (UFABC) – Membro Titular

Prof.(a) Dr.(a) **Mariselma Ferreira** (UFABC) – Membro Suplente

Prof.(a) Dr.(a) **Márcia Tsuyama Escote** (UFABC) – Membro Suplente

Prof.(a) Dr.(a) **Selma Gutierrez Antonio** (UNESP) – Membro Suplente

Prof.(a) Dr.(a) **Fernando Carlos Giacomelli** (UFABC) – Membro Suplente

 Universidade Federal do ABC

DEDICATÓRIA

Dedico esta tese a minha família que infelizmente não se encontra mais presente. Minha mãe Rita e meus avós João e Julia.

Infelizmente não os tenho fisicamente próximos, porém estão em meu coração, em minhas atitudes, em meu pensamento. Mãezinha, não consegui defender o doutorado a tempo da sra assistir, mas meu pensamento em todo momento estava contigo.

Sou eternamente grata por tudo que fizeram por mim, se cheguei até aqui foi porque vocês são minha inspiração, minha referência, meu tudo! Obrigada por toda dedicação, apoio e amor que sempre tiveram por mim.

Vocês se foram cedo demais

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por me amparar em todos os momentos difíceis e por ajudar-me a superar as barreiras. Eu te agradeço, Senhor, por todas as coisas boas e más que me aconteceram. Cada uma delas, ao seu modo, me fizeram chegar onde eu cheguei, e me fizeram ser quem eu sou;

A minha mãe Rita que sempre esteve presente nos momentos bons e ruins, que sempre quis o melhor para mim, minha amiga, minha companheira. Ela que entendeu minha ausência desde a graduação e me sempre me apoiou em todas as minhas decisões, sinto muito sua falta;

Ao meu orientador, Prof. Dr. Fabio F. Ferreira, por toda sua ajuda na construção desta tese, por contribuir para o meu crescimento profissional e pelo exemplo de professor, pesquisador, pessoa a ser seguido. Agradeço por tudo que me ensinou nestes quatro anos que foi muito além da cristalografia, pela paciência (muita!), pela atenção em todos os momentos, pela compreensão nos momentos difíceis e que precisei meu ausentar do laboratório, são tantos momentos que palavras são poucas para descrever minha admiração e pelo profissional que é e pelo qual me espelho.

Ao meu noivo, Cleiton D. Maciel, por toda paciência nos momentos difíceis, pelo apoio, compreensão, pelos finais de semana que ficou comigo no laboratório, muito obrigada mor!

Aos meus amigos do LCCEM que deixam meu dia muito mais alegre, desde a hora do café, saidinhas sempre para comer, pastel na feira, RU : Viviam Moura, Alex Alavarse, Carlos Eduardo, Lindomar Albuquerque, Juscemácia Araújo e Fanny Costa. Obrigada pelas conversas e pelo auxílio nas nossas tantas conversas sobre farmacologia, química, etc vocês são demais!

Aos amigos da Unesp (FCT-Pres.Pte.) que mesmo ausentes estão presentes;

Aos amigos do coração: Andreia, Marcinha, Maikon, Dete e Wellington por compreenderem minha ausência nestes quatro anos, apesar do tempo e da distância nossa amizade e o carinho são os mesmos. Adoro vocês!

As minhas “irmãs” científicas Vânia e Kelly pelas risadas, conversas, congressos e pela companhia nestes quatro anos.

Ao meu padrasto Tadeu e aos meus irmãos Julia, Davi e Tiago por compreenderem minha ausência;

Aos professores da graduação, em especial a Profa. Dra. Maria Osório Araya Balan que tanto me ajudou durante a graduação e se hoje consegui estar aqui muito devo a esta pessoa maravilhosa;

Aos professores da pós-graduação, em especial ao Prof. Dr. Rafael Salomão, que durante o mestrado me ajudou tanto nas disciplinas como no laboratório;

Aos professores da banca de qualificação de qualificação que me auxiliaram a melhorar o trabalho: Prof. Dr. Fernando Giacomelli, Prof. Dr. Wendel Alves, Prof. Dr. José Fernando e Profa. Dra. Daniele Araújo;

Ao Prof. Dr. Humberto Ferraz e a técnica Eremita da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP- DEINFAR pelas medidas de análise térmica;

A Universidade Federal do ABC e ao Programa de Pós-graduação em Nanociências e Materiais Avançados pela infraestrutura sem a qual não seria possível a realização deste trabalho;

Ao CNPq (proc. n° 305186/2012-4 e proc. n° 141308/2021-5) e a FAPESP (proc. n° 2008/10537-3) pela bolsa de doutorado e pelos recursos financeiros do projeto de pesquisa;

A Central Experimental Multiusuário da UFABC pela utilização dos equipamentos;

A todos que contribuíram de forma direta ou não para que a realização deste trabalho fosse possível.

O anjo mais velho

(...) Enquanto houver você do outro lado

Aqui do outro eu consigo me orientar

A cena repete, a cena se inverte

Enchendo a minha alma daquilo que outrora eu

Deixei de acreditar

Tua palavra, tua história

Tua verdade fazendo escola

E tua ausência fazendo silêncio em todo lugar

Metade de mim

Agora é assim

De um lado a poesia, o verbo, a saudade

Do outro a luta, a força e a coragem pra chegar no fim

E o fim é belo incerto, depende de como você vê

O novo, o credo, a fé que você deposita em você e só

Só enquanto eu respirar

Vou me lembrar de você

Só enquanto eu respirar

O Teatro Mágico

É tão estranho

Os bons morrem jovens

Assim parece ser, quando me lembro de você

Que acabou indo embora, cedo demais

Legião Urbana

RESUMO

A hipertensão arterial é uma patologia que acomete diversas pessoas ao redor do mundo. Segundo a OMS, doenças cardiovasculares são a maior causa de morte por doenças não transmissíveis. Longevidade, sedentarismo, má alimentação entre outros fatores são as principais causas pelas quais as pessoas podem vir a apresentar doenças como a hipertensão arterial. No Brasil, anti-hipertensivos são disponibilizados gratuitamente por meio do programa social “Aqui tem farmácia popular” tanto nas Unidades básicas de saúde (UBS) como em rede privada de farmácias e drogarias. A partir do Decreto nº 5.090/2004 que regulamenta a Lei 10.858, o Sistema Único de Saúde (SUS) inicia uma nova etapa que é o acesso de toda população de forma gratuita ou de baixo custo a medicamentos essenciais entre eles encontram-se os anti-hipertensivos. Neste contexto, foram escolhidos seis medicamentos contidos na Relação Nacional de Medicamentos Essenciais (RENAME), sendo eles: Atenolol, Cloridrato de Propranolol, Maleato de Enalapril, Captopril, Hidroclorotiazida e Losartana Potássica. Geralmente, estes medicamentos são disponibilizados na forma sólida podendo se cristalizar em diferentes formas cristalinas, apresentando o fenômeno de polimorfismo. Este fenômeno pode acarretar desvios de qualidade durante a produção dos medicamentos influenciando na eficácia terapêutica. Desta forma, é de grande importância o estudo sobre a forma cristalina presente tanto no medicamento como no princípio ativo e a técnica de difração de raios X por policristais aliado ao método de Rietveld mostrou-se eficaz tanto na identificação da forma cristalina como na quantificação de fases fármaco-excipiente. Neste trabalho, foi realizada a caracterização estrutural em estado sólido de medicamentos adquiridos em drogarias bem como de insumos farmacêuticos ativos (IFA) provenientes de duas farmácias de manipulação da cidade de Santo André- SP. As análises de microscopia eletrônica de varredura permitiram visualizar a morfologia dos cristais dos IFAs bem como corroborar as micrografias com a predição de morfologia utilizando o algoritmo BFDH. Os resultados de termogravimetria e calorimetria exploratória diferencial forneceram informações sobre estabilidade térmica dos IFAs bem como a identificação de eventos térmicos e associá-los aos dados encontrados na literatura, no caso da Losartana Potássica foi possível também identificar a recristalização seguida da fusão de diferentes formas polimórficas. A espectroscopia vibracional no infravermelho confirmou as vibrações presentes nas moléculas estudadas. A união da difração de raios X por policristais com o método de Rietveld mostrou-se eficiente para a identificação de formas cristalinas presentes nos IFAs e para o caso do Atenolol foi possível também identificar e quantificar a presença de contaminação de Hidroclorotiazida e para o fármaco

Captopril foi realizada a quantificação do dímero presente na amostra no decorrer de 3 anos. Para os medicamentos adquiridos em farmácias comerciais foi realizado um estudo sobre a quantificação de fármaco-excipiente bem como a identificação da forma cristalina presente nas amostras. Um estudo sobre a incidência de luz para indução da fotodegradação para o Maleato de Enalapril foi realizado e não foi identificado mudanças na estrutura cristalina. Além dos medicamentos já consolidados no mercado, foi estudado um protótipo a agente anti-hipertensivo o LASSBio-1289 onde foi realizada a determinação de estrutura cristalina encontrando como grupo espacial o $P2_1/c$ e o sistema cristalino monoclinico.

Palavras-chave: Anti-hipertensivo. Caracterização no estado sólido. Polimorfismo.

ABSTRACT

Hypertension is a condition that affects many people around the world. According to WHO, cardiovascular diseases are the leading cause of death from NCDs. Longevity, sedentary lifestyle, poor diet and other factors are the main reasons why people can come forward with diseases such as hypertension. In Brazil, anti-hypertensive drugs are available free of charge through the social program "Here's popular pharmacy" both in basic health units (UBS) and in private network pharmacies. From the Decree n ° 5090/2004 which regulates law 10,858, the Unified Health System (SUS) entered a new stage that is the access of the entire population for free or low-cost essential drugs among them are the antihypertensives. In this context, it was chosen six drugs contained in the National List of Essential Medicines (RENAME), as follows: Atenolol, Propranolol Hydrochloride, Enalapril Maleate, Captopril, Hydrochlorothiazide and Losartan Potassium. Generally, these drugs are provided in solid form can crystallize in different crystalline forms having polymorphism. This phenomenon can result in quality deviations during the production of drugs influencing the therapeutic efficacy. Thus, it is of great importance the study of the crystalline form present in both the drug as the active ingredient and the technique of X-ray powder diffraction combined with the Rietveld method proved to be efficient for identification of the crystalline form as in quantifying phases drug-excipient. This work was carried out structural characterization in solid medications purchased in drugstores as well as active pharmaceutical ingredients (API) from two pharmacies handling of Santo André-SP. The analyzes of scanning electron microscopy allowed us to visualize the morphology of crystals of APIs and corroborate the micrographs with the prediction morphology using BFDH algorithm. The results of thermogravimetry and differential scanning calorimetry provided information on thermal stability of APIs and the identification of thermal events and link them to data found in literature, in the case of Losartan Potassium was also possible to identify the then recrystallization of the fusion of different polymorphic forms. The vibrational infrared spectroscopy confirmed the vibrations present in the studied molecules. The combination of X-ray diffraction by polycrystals with Rietveld method was effective for identifying crystal forms present in APIs and in the case of Atenolol was also possible to identify and quantify the presence of Hydrochlorothiazide contamination and the drug Captopril. It was performed to quantify the dimer present in the sample in the course of 3 years. For products purchased in commercial pharmacies it was conducted a study on the quantification of excipient-drug and the identification of the crystalline form present in the samples. A study of the incidence of light to induce photodegradation for Enalapril Maleate

was performed and wasn't identified changes in crystalline structure. In addition to the medicines already consolidated in the market, a prototype anti-hypertensive agent LASSBio-1289 where the determination of crystal structure was carried out as finding the space group $P2_1/c$ monoclinic crystal system was studied.

Keywords: Antyhipertensive. Solid state characterization. Polymorphism.

SUMÁRIO

1. Introdução	16
1.1 Considerações iniciais.....	16
1.2 Objetivos.....	18
1.2.1 Objetivos Gerais	18
1.2.2 Objetivos específicos.....	19
2. Revisão bibliográfica	21
2.1 Polimorfismo, solvatos e hidratos.....	21
2.2 Polimorfismo de fármacos	23
2.3 Hipertensão arterial.....	24
2.4 Relação nacional de medicamentos essenciais (RENAME)	27
2.4.1 Genérico	28
2.4.2 Referência.....	29
2.4.3 Similar	29
2.5 Anti-hipertensivos.....	30
2.5.1 Atenolol	31
2.5.2 Cloridrato de Propranolol.....	32
2.5.3 Captopril.....	34
2.5.4 Hidroclorotiazida.....	35
2.5.5 Maleato de Enalapril	36
2.5.6 Losartana Potássica	37
2.6 Classes de medicamentos anti-hipertensivos.....	39
2.6.1 Inibidores da enzima conversora da angiotensina (ECA)	39
2.6.2 Antagonistas dos receptores de angiotensina II	40
2.6.3 Diuréticos Tiazídicos.....	41
2.6.4 Antagonistas dos receptores adrenérgicos.....	41

3. Materiais e Técnicas Analíticas para o Estudo e Caracterização de Polimorfos	43
3.1 Propriedades fundamentais dos raios X	43
3.1.1 Natureza dos raios X	43
3.1.2 Produção de raios X	44
3.1.3 Difração de raios X por cristais	45
3.1.4 Estrutura Cristalina	47
3.1.5 Método de Rietveld	49
3.1.6 Condições experimentais	53
3.2 Análise Térmica (DSC e TG)	54
3.2.1 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)	55
3.2.2 Termogravimetria (TG)	57
3.2.3 Condições Experimentais	58
3.3 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	59
3.3.1 Condições experimentais	61
3.4 Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)	61
3.4.1 Condições experimentais	63
4. Resultados e discussões	64
4.1 Captopril	64
4.1.1. Difração de Raios X por Policristais	64
4.1.2 Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier	78
4.1.3 Microscopia Eletrônica de Varredura	79
4.1.4 Análise Térmica	81
4.2 Maleato de Enalapril	85
4.2.1 Difração de Raios X por Policristais	85
4.2.2 Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier	96
4.2.3 Microscopia Eletrônica de Varredura	103

4.2.4	Análise Térmica	105
4.3	Atenolol	110
4.3.1	Difração de raios X por policristais.....	110
4.3.2	Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier	120
4.3.3	Microscopia Eletrônica de Varredura.....	122
4.3.4	Análise Térmica	123
4.4	Cloridrato de Propranolol	128
4.4.1	Difração de Raios X por Policristais	128
4.4.2	Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier	136
4.4.3	Microscopia Eletrônica de Varredura.....	139
4.4.4	Análise Térmica	141
4.5	Hidroclorotiazida	144
4.5.1	Difração de Raios X por Policristais	144
4.5.2	Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier	152
4.5.3	Microscopia Eletrônica de Varredura.....	154
4.5.4	Análise Térmica	155
4.6	Losartana Potássica.....	159
4.6.1	Difração de Raios X por Policristais	159
4.6.2	Microscopia Eletrônica de Varredura.....	174
4.6.3	Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier	176
4.6.4	Análise Térmica	181
4.7	Lassbio – 1289	189
4.7.1	Indexação.....	190
4.7.2	Determinação da Estrutura e Refinamento de Rietveld	191
4.7.3	Descrição da estrutura	192
5.	Conclusões	200
	Referências Bibliográficas.....	203

1. INTRODUÇÃO

1.1 CONSIDERAÇÕES INICIAIS

O polimorfismo é um fenômeno muito importante a ser considerado pela indústria farmacêutica, pois diferentes polimorfos podem apresentar diferentes propriedades físico-químicas, como solubilidade, taxa de dissolução, reatividade ou ponto de fusão e, portanto, diferentes atividades farmacológicas¹. De acordo com Bernstein – que avaliou a evolução do conceito de polimorfismo, sugerido há mais de um século – a definição mais adequada de um polimorfo é aquela dada por McCrone, em 1965: "A fase sólida cristalina de um dado composto resultante da possibilidade de pelo menos duas disposições diferentes das moléculas daquele composto no estado sólido". Para o caso mais específico dos fármacos, em 1982, Byrn² atribuiu uma definição semelhante de polimorfismo como sendo: "as diferentes estruturas cristalinas em que um composto pode cristalizar. Polimorfos são normalmente caracterizados por seus grupos espaciais e parâmetros de rede". A última definição, fornecida pela FDA (*U.S. Food and Drug Administration*)³, sobre materiais que possuam polimorfos é: "formas cristalinas com diferentes arranjos e/ou conformações das moléculas na rede cristalina". Qualquer que seja a definição, é de comum acordo que uma descrição completa de polimorfismo na fase molecular, o qual é baseado nas diferenças de empacotamento cristalino, deve ser feita.

Nos últimos anos tem sido extensivamente pesquisado o tema a respeito da existência de polimorfismo em fármacos. Frequentemente, diferentes condições de cristalização podem produzir diferentes formas cristalinas. Segundo McCrone, o número de formas polimórficas é diretamente proporcional à dedicação e empenho para investigar o fenômeno⁴; é difícil prever a capacidade de um sistema existir em diversas formas e em quantas formas possíveis é provável se cristalizar.

Como regra geral, hidratos e solvatos são menos solúveis e mais estáveis em comparação com as formas correspondentes anidras e não solvatadas⁵. A incorporação de moléculas de solvente na rede cristalina produz uma nova cela unitária diferente da forma não

solvatada e, conseqüentemente, as propriedades físicas do solvato podem ser diferentes das encontradas na forma anidra. O efeito é análogo ao polimorfismo. Entretanto, os solvatos são cristais de uma mesma substância onde as moléculas do solvente estão incorporadas no retículo cristalino⁵. A presença de moléculas de água influencia nas interações intermoleculares (que afetam a energia interna e entalpia) e a desordem cristalina (entropia) e, portanto, influencia a energia livre, atividade termodinâmica, solubilidade, taxa de dissolução, estabilidade e biodisponibilidade. Além disso, muitas propriedades de estado sólido são alteradas, incluindo o comportamento mecânico, como compressão, moagem e desempenho do produto. No caso da cela unitária ser constituída pelo princípio ativo e por moléculas do solvente, a forma sólida cristalina resultante é chamada de solvato ou de co-cristal, dependendo se a espécie é líquida ou sólida em condições ambientes, respectivamente⁶.

Existem diversos fármacos que apresentam o fenômeno de polimorfismo, e sabendo que este pode influenciar a eficácia do medicamento, faz-se necessário caracterizar e estudar os insumos farmacêuticos que apresentam polimorfismo não apenas nas fases de desenvolvimento de um novo fármaco ou no processo de fabricação, mas também no controle após este estar disponível para o consumidor. Neste contexto, foram escolhidos 6 (seis) medicamentos anti-hipertensivos que são distribuídos gratuitamente pelo Programa do Governo Federal “Aqui tem farmácia popular” tanto em unidades básicas de saúde (UBS) como em drogarias.

Estes medicamentos podem também ser adquiridos em farmácias de manipulação, tendo como vantagem, a partir da prescrição médica, o farmacêutico elaborar um medicamento doses diferentes daquelas disponíveis no mercado e a mudança dos excipientes caso o paciente possua alergia a algum dos componentes presentes em medicamentos de drogarias. Entretanto, muitas reclamações são registradas na Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), questionando a eficácia dos medicamentos manipulados. Foi decidido, em um primeiro momento, estudar os princípios ativos dos 6 anti-hipertensivos escolhidos: atenolol, captopril, maleato de enalapril, losartana potássica, hidroclorotiazida e cloridrato de propranolol de duas farmácias de manipulação da região de Santo André. Posteriormente, os medicamentos genéricos, referência e similares de diferentes indústrias farmacêuticas, dos mesmos medicamentos anti-hipertensivos citados anteriormente, foram objetos de estudo. Além do estudo de matérias-primas de medicamentos já consolidados na indústria farmacêutica, caracterização estrutural do candidato a novo fármaco anti-hipertensivo sintetizado no Laboratório de Avaliação e Síntese de Substâncias Bioativas (LASSBio[®]) da Universidade

Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), com o qual mantemos colaboração científica, também foram consideradas. Vale ressaltar que tal molécula não possui estrutura cristalina reportada na literatura. Neste trabalho será descrita a determinação da estrutura cristalina do candidato a fármaco anti-hipertensivo LASSBio-1289.

A Organização Mundial de Saúde (OMS) está desenvolvendo um plano de ação global para os anos de 2013 até 2020, fornecendo um roteiro de ação conduzida por cada país, para a prevenção e controle de doenças não transmissíveis. Os Estados Membros (EM) da OMS estão entrando em um consenso sobre o quadro de monitoramento global para acompanhar o progresso na prevenção e controle destas doenças e seus fatores de risco. Uma das metas é reduzir substancialmente o número de pessoas com pressão arterial elevada. Doenças cardiovasculares ocasionam aproximadamente 17 milhões de mortes a cada ano. Destas, 9,4 milhões são devidas à hipertensão. A hipertensão arterial é responsável por, pelo menos, 45% de mortes por doenças cardíacas e 51% dos óbitos por acidente vascular cerebral (AVC)⁷.

O aumento da hipertensão arterial é atribuído ao envelhecimento, influência genética e fatores de risco comportamentais, como dieta insalubre, uso nocivo do álcool, falta de atividade física, excesso de peso e stress.

Como mencionado anteriormente, é de grande importância a caracterização em estado sólido tanto do medicamento como do princípio ativo, de modo a identificar possíveis modificações na estrutura cristalina, podendo afetar diretamente a biodisponibilidade. Neste trabalho, foram estudados os princípios ativos dos anti-hipertensivos provenientes de duas farmácias de manipulação e os medicamentos genérico, similar e referência adquiridos em farmácias comerciais. Também foi realizado um estudo para investigar as consequências da incidência de luz no princípio ativo Maleato de Enalapril no estado sólido.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 OBJETIVOS GERAIS

Realizar a caracterização estrutural de insumos farmacêuticos ativos (IFAs), em estado sólido, e verificar se há presença de diferentes polimorfos nas amostras de fármacos anti-hipertensivos que fazem parte da Relação Nacional de Medicamentos Essenciais (RENAME) provenientes de duas farmácias de manipulação da Região de Santo André, além destas amostras será estudada também uma amostra do fármaco Losartana Potássica que foi gentilmente doada por uma indústria farmacêutica.

Avaliar as formas cristalinas presentes nos medicamentos (genérico, similar e referência) provenientes de drogarias e uma amostra de Hidroclorotiazida proveniente de uma Unidade Básica de Saúde (UBS) da região da Freguesia do Ó, esta amostra foi doada por um paciente do Sistema Único de Saúde (SUS).

1.2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Caracterizar os insumos farmacêuticos ativos de anti-hipertensivos com o uso das técnicas de difração de raios X por policristais (*X-Ray Powder Diffraction - XRPD*), microscopia eletrônica de varredura (*Scanning Electron Microscopy - SEM*), calorimetria exploratória diferencial (*Differential Scanning Calorimetry - DSC*), termogravimetria (*Thermogravimetry – TG/DTG*) e espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (*Fourier Transform Infrared Spectroscopy - FTIR*);
- ✓ Caracterizar os medicamentos anti-hipertensivos genérico, similar e referência com o uso da técnica de difração de raios X por policristais;
- ✓ Utilizar o Método de Rietveld para o refinamento das estruturas cristalinas e quantificação de fases fármaco-excipiente;
- ✓ Estudar as formas cristalinas que são encontradas nas amostras e verificar se estas são as que possuem eficácia terapêutica;
- ✓ Estudar a influência da incidência de luz em amostras de Maleato de Enalapril em estado sólido;
- ✓ Realizar a recristalização do princípio ativo Losartana Potássica em diferentes solventes;
- ✓ Determinar a estrutura cristalina do LASSBio 1289, candidato a novo fármaco anti-hipertensivo.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 POLIMORFISMO, SOLVATOS E HIDRATOS

A palavra *polimorfismo* (grego: *poli* = muitas, *morfismo* = morfologias) é a capacidade de um composto cristalizar em duas ou mais diferentes formas cristalinas⁸. Este efeito é muito importante a ser considerado pela indústria farmacêutica devido ao fato de que nem sempre os polimorfos possuem a mesma biodisponibilidade e muitas vezes não são termodinamicamente estáveis⁹. Quando uma ou mais moléculas de solvente está presente na estrutura cristalina denominamos solvatos¹⁰.

Segundo McCrone, um polimorfo é um sólido cristalino de um dado composto onde há possibilidade de encontrar pelo menos dois diferentes arranjos para uma mesma molécula no estado sólido⁸. No contexto da cristalografia, o termo polimorfismo foi utilizado pela primeira vez por Mitscherlich², em meados de 1823. Mitscherlich descobriu diferentes estruturas cristalinas de um mesmo composto de uma série de sais de arsenato e fosfato. Um insumo farmacêutico ativo é frequentemente fornecido ao paciente no estado sólido, na forma de cápsulas, comprimidos, etc. A forma sólida fornece convenientemente um formato compacto e geralmente estável para armazenar um princípio ativo ou medicamento. Compreender e controlar a química de estado sólido dos princípios ativos, tanto na forma pura como no medicamento, é um aspecto importante no processo de desenvolvimento de fármacos. Os princípios ativos podem existir em uma variedade de formas sólidas distintas, incluindo polimorfos, solvatos, hidratos, sais, co-cristais e sólidos amorfos. Cada forma exibe propriedades físico-químicas únicas que podem influenciar profundamente a biodisponibilidade, estabilidade e outras características afetando o desempenho do medicamento¹¹.

No estado cristalino (polimorfos, solvatos/hidratos, co-cristais), as moléculas constituintes estão dispostas de forma repetitiva construindo a cela unitária, que também é conhecida como rede cristalina, enquanto que no estado amorfo não existe ordem a longo alcance. No caso de polimorfos, eles possuem apenas uma espécie química em sua cela unitária.

Existem duas formas em que a rede cristalina pode se organizar: o polimorfismo por empacotamento e o polimorfismo conformacional. Se as moléculas estão rígidas em uma conformação específica, e permanecem em diferentes arranjos, este se encontra com polimorfismo por empacotamento. O polimorfismo conformacional acontece quando as formas cristalinas consistem em moléculas cristalinas flexíveis com diferentes conformações em diferentes arranjos.

Se for uma molécula de água que está presente junto ao princípio ativo, então este passa a ser chamado de hidrato. Os hidratos são os solvatos mais comuns e, assim como os co-cristais, também podem apresentar o fenômeno de polimorfismo. Diversos princípios ativos são capazes de formar hidratos devido à possibilidade dos átomos (ligados a um átomo eletronegativo) fazerem ligações de hidrogênio com a água^{5, 12}. A formação de hidratos estabiliza a estrutura cristalina por meio das ligações intermoleculares na rede cristalina, sendo os hidratos as formas mais estáveis em ambiente aquoso. Muitos hidratos também são estáveis à temperatura ambiente e são, portanto, frequentemente escolhidos para a fabricação de medicamentos.

O estado amorfo pode ser o resultado de qualquer manipulação física ou ser da natureza intrínseca do composto¹³. A forma amorfa é a forma mais solúvel, mas, por outro lado, é a forma menos estável. A tendência atual dos novos princípios ativos é a de obtenção de menos formas solúveis e que resultem na utilização de formas metaestáveis nas formulações farmacêuticas, com uma alternativa para estabilizar as formas metaestáveis¹⁴⁻¹⁶. As questões relativas à estabilidade física são os principais obstáculos para o desenvolvimento de formulações com princípio ativo amorfo¹⁷. Independentemente de serem estáveis em condições ambientes ao longo do prazo de validade, formas metaestáveis podem rapidamente se converter em formas estáveis após a administração, com perda de atividade¹⁸. Os polimorfos podem ser divididos em duas classes: os enantiótopos e monótopos, sendo que os enantiótopos são reversíveis, podendo passar de uma forma metaestável para uma forma estável, entretanto de menor energia, enquanto os monótopos são irreversíveis.

As formas sólidas de um dado princípio ativo podem ter propriedades físico-químicas diferentes, afetando assim seu desempenho⁸. Se a solubilidade e/ou taxa de dissolução são dependentes da forma sólida, a biodisponibilidade do princípio ativo poderá ser afetada. Esta observação é importante porque quando um princípio ativo pertence à classe II (baixa solubilidade e alta permeabilidade) do Sistema de Classificação Biofarmacêutico (BCS), a biodisponibilidade do produto é limitada pela taxa de solvatação¹⁹. São exemplos de princípios

ativos com problemas de biodisponibilidade, devido aos fenômenos de estado sólido, a carbamazepina^{20, 21} e o ritonavir²². As diferenças nas propriedades mecânicas podem afetar o comportamento no processamento, como, por exemplo, do paracetamol²³: a compressão direta da Forma II é possível, visto que com a Forma I, devem ser utilizados excipientes ligantes que são responsáveis pela firmeza e resistência dos comprimidos²⁴. A estabilidade é uma propriedade muito importante de uma forma sólida, considerando que as matérias-primas e os produtos farmacêuticos podem ser armazenados por um longo período e a formulação deve ser preservada. Por isso, é fundamental entender a relação entre uma forma sólida de um composto em particular e suas propriedades funcionais. A descoberta e caracterização de diversas formas sólidas de uma substância fornecem opções para que seja selecionada de maneira equilibrada a forma das propriedades críticas para o desenvolvimento do medicamento. É importante ressaltar que as propriedades desejadas podem variar de acordo com a forma de administração do medicamento (isto é, por via oral, pulmonar, transdérmica, etc.), de tal modo que a forma sólida possa ser otimizada dependendo da dosagem do medicamento. Dadas estas opções, a escolha e elaboração de formas farmacêuticas sólidas são extremamente importantes para o desenvolvimento de um medicamento bem-sucedido. A forma sólida, que na maior parte das vezes é escolhida, é a forma cristalina do composto termodinamicamente mais estável. No entanto, a forma cristalina estável pode apresentar solubilidade inadequada ou taxa de dissolução baixa, resultando na má absorção do medicamento pelo paciente, particularmente para compostos insolúveis em água. Neste caso, deve-se investigar formas alternativas para contornar este problema. Compostos ionizáveis, preparação de formas de sal, utilizando ácidos e bases farmacologicamente aceitáveis, são alguns exemplos de estratégias para melhorar a biodisponibilidade.

2.2 POLIMORFISMO DE FÁRMACOS

A identificação e caracterização de formas polimórficas são aspectos essenciais para o desenvolvimento de fármacos. A presença de formas cristalinas metaestáveis pode influenciar nas propriedades físico-químicas afetando a taxa de dissolução e a biodisponibilidade²⁵.

A grande parte dos fármacos é administrada por via oral, e para que este medicamento chegue até o seu sítio de ação é importante conhecer o grau de solubilidade de um fármaco em

água. Geralmente, o fármaco se dissolve no suco gástrico antes de ser absorvido e transportado, via circulação sistêmica, até o seu sítio de ação.

A solubilidade dos fármacos, tanto em água como em outros solventes, é um fator muito importante na sua eficácia como agente terapêutico. A solubilidade depende da estrutura do composto e da natureza do solvente. Para uma atividade ótima, é necessário haver um equilíbrio entre a solubilidade em água e em lipídios²⁶.

Um exemplo clássico de como o polimorfismo pode influenciar na eficácia de um medicamento é o Ritonavir, que foi desenvolvido pelo laboratório Abbott em 1992 e entrou no mercado em janeiro de 1996, tendo sido aprovado pela *U.S. Food Drug and Administration* (FDA). O medicamento Norvir[®] foi introduzido nas farmácias em forma de cápsulas e líquido. Em 1998, um evento inesperado foi observado. Muitos lotes de medicamentos tiveram seu teste de dissolução comprometido. Depois de pesquisar o motivo para os medicamentos terem sido reprovados no teste, foi revelado um novo fato, que até então era desconhecido – o Ritonavir apresentava transição polimórfica da Fase I para a Fase II, menos solúvel que sua formulação original. Depois deste acontecimento, a Abbott precisou retirar do mercado todos os lotes do Ritonavir, causando um enorme prejuízo financeiro até encontrar uma alternativa para produzir apenas a Forma I do princípio ativo²⁷.

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), por meio da resolução RDC. N° 136 de 29 de maio de 2003, solicita que os fabricantes informem as formas polimórficas dos insumos farmacologicamente ativos (IFA) utilizados nos medicamentos. Além disto, é necessário discriminar as características do polimorfo utilizado e de outros relacionados ao insumo farmacêutico ativo, bem como incluir a metodologia analítica adotada e os resultados de testes para a determinação dos prováveis polimorfos do IFA.

2.3 HIPERTENSÃO ARTERIAL

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS) 9,4 milhões de pacientes morrem devido a doenças cardiovasculares no mundo a cada ano, aumentando o risco de surgir doenças secundárias como cegueira e insuficiência renal. Todos os anos a OMS elege um tema da

campanha para o dia mundial da saúde e, em 2013, a doença escolhida foi a hipertensão arterial: “Conheça seus números”. Assim, podemos notar que esta doença acomete pacientes em escala global e percebe-se a importância do diagnóstico precoce, tratamento e prevenção, pois tornou-se um dos maiores fatores de risco de morte no mundo de doenças não transmissíveis.

Vivemos em um ambiente que está em constante mudança. Ao redor do mundo, a saúde humana está sendo transformada por diversos fatores como: envelhecimento demográfico, rápida urbanização e estilo de vida insalubre. Um exemplo marcante desta mudança é o fato de que doenças não transmissíveis tais como doenças cardiovasculares, câncer, diabetes e doenças pulmonares crônicas têm ultrapassado o de doenças infecciosas como a principal causa mundial de mortalidade.

Um dos principais fatores de risco para a doença cardiovascular é o aumento da pressão arterial. A hipertensão já afeta um bilhão de pessoas em todo o mundo, levando a ataques cardíacos e derrames. Os pesquisadores estimam que a pressão arterial elevada mata atualmente nove milhões de pessoas a cada ano. Porém, este risco não precisa ser tão elevado porque a hipertensão pode ser evitada. Prevenir a doença é muito mais barato para o governo e mais seguro para os pacientes pois podem ser evitadas intervenções cirúrgicas e diálise, recursos terapêuticos utilizados quando a hipertensão não é tratada.

A hipertensão é um assassino silencioso que raramente causa sintomas. Aumentar a consciência pública é fundamental, assim como o acesso à detecção precoce. A população precisa saber porque a pressão arterial elevada é perigosa, e como tomar medidas para controlá-la visto que outras doenças podem advir dela, como a diabetes. Para iniciar esta consciência, é preciso que o sistema público de saúde promova eventos que encorajem hábitos de vida saudável, como ter uma dieta balanceada, reduzir a ingestão de sal, evitar o uso nocivo de álcool, tabaco e fazer atividade física regularmente. Ter acesso a medicamentos de boa qualidade, que são eficazes e baratos, é de extrema importância, particularmente no início do tratamento. Países com alta renda começaram a reduzir a hipertensão em suas populações por meio de fortes programas de políticas públicas de saúde como a redução do sal em alimentos processados e o diagnóstico disponível gratuitamente, além de combater a hipertensão e outros fatores de riscos que pessoas com hipertensão sofrem.

Por outro lado, muitos países em desenvolvimento estão tendo um crescente número da população que sofre de ataques cardíacos e derrames, devido aos fatores de risco não diagnosticados e/ou não controlados, tal como a hipertensão.

As consequências adversas da hipertensão são agravadas porque muitas pessoas afetadas também possuem outros fatores de risco à saúde que aumentam as chances de ataque cardíaco, acidente vascular cerebral e insuficiência renal. Esses fatores de risco incluem o tabaco, a obesidade, o colesterol elevado e diabetes. No ano de 2008, 1 bilhão de pessoas eram fumantes e a quantidade de pessoas acima do peso quase dobrou desde 1980. A prevalência global do colesterol alto foi de 39% e em relação ao diabetes foi de 10% em adultos com mais de 25 anos. O uso do tabaco, dieta insalubre, uso nocivo do álcool e sedentarismo são também os principais fatores de risco comportamentais das principais doenças não transmissíveis, ou seja, doenças cardiovasculares, diabetes, doenças respiratórias crônicas e câncer.

O sangue é levado do coração para todas as partes do corpo pelos vasos sanguíneos. Cada vez que o coração bate, ele bombeia o sangue para os vasos. A pressão arterial é criada pela força do sangue contra as paredes dos vasos sanguíneos (artérias) bombeado pelo coração. Hipertensão, também conhecida como pressão alta, é uma condição na qual os vasos sanguíneos são persistentemente elevados a alta pressão. Quanto maior for a pressão nos vasos sanguíneos, mais difícil é para o coração bombear o sangue. Se não for controlada, a hipertensão pode conduzir a um ataque cardíaco, um aumento no tamanho do coração e, eventualmente, insuficiência cardíaca. Os vasos sanguíneos podem desenvolver protuberâncias (aneurismas) e pontos frágeis devido à alta pressão, tornando-se mais propensos a entupir e romper. A pressão nos vasos sanguíneos também pode causar acidente vascular cerebral (AVC). A hipertensão também pode levar à insuficiência renal, cegueira, ruptura dos vasos sanguíneos e comprometimento cognitivo.

A pressão arterial é aferida em milímetros de mercúrio (mmHg) e é registrada por meio de dois números e, usualmente, um acima do outro: o número mais alto se refere à pressão arterial sistólica – a maior pressão nos vasos sanguíneos e acontece quando o coração se contrai ou bate. O número mais baixo é a pressão arterial diastólica - a menor pressão nos vasos sanguíneos entre os batimentos cardíacos, quando o músculo do coração relaxa. A pressão sanguínea normal de um adulto é definida como uma pressão sanguínea sistólica de 120 mmHg e uma pressão sanguínea diastólica de 80 mmHg. A hipertensão é definida como uma pressão arterial sistólica igual ou acima de 140 mmHg e uma pressão arterial diastólica igual ou acima

de 90 mmHg. Níveis normais de pressão arterial sistólica e diastólica são particularmente importantes para o funcionamento eficiente dos órgãos vitais como o coração, cérebro, rins e para saúde geral e bem-estar.

2.4 RELAÇÃO NACIONAL DE MEDICAMENTOS ESSENCIAIS (RENAME)

Em meados da década de 70, a OMS elaborou listas de medicamentos essenciais para a população, como uma diretriz fundamental das políticas de saúde. Esta lista é um modelo que pode ser alterado de acordo com as características de cada país, dependendo da disponibilidade do medicamento no mercado ou do perfil epidemiológico da população.

No ano de 1977, foi instituída por meio da Portaria do Ministério da Previdência Social - MPAS No. 233, a Relação Nacional de Medicamentos Essenciais (RENAME), que se constitui de um instrumento de fornecimento de medicamentos prioritários para a população.

No Brasil, esta lista é constantemente revisada e atualizada por uma comissão técnica e multidisciplinar que foi instituída por meio da Portaria GM No. 1.254/2005. Estas revisões consideram as recomendações feitas pela OMS, onde diversos fatores são considerados, tais como: eficácia e segurança de estudos clínicos, disponibilidade da forma farmacêutica incluindo biodisponibilidade, estabilidade nas condições de uso e estocagem, custo total de tratamento e preferência por monofármacos²⁸.

Na lista da RENAME, são contempladas cinco classes de anti-hipertensivos: bloqueadores adrenérgicos, bloqueadores do canal de cálcio, diuréticos, inibidores da enzima conversora da angiotensina e vasodilatadores.

2.4.1 GENÉRICO

A partir da Lei nº 9787 de 10 de fevereiro de 1999 foram regulamentadas as condições de implementação de medicamentos genéricos no Brasil seguindo as normas da Organização Mundial de Saúde (OMS). Em meados dos anos 2000 foram concedidos os primeiros registros de medicamentos genéricos e, a cada dia, mais registros de genéricos são concedidos. Segundo dados da ANVISA, no final de 2010 o Brasil aumentou em cinco vezes a quantidade de genéricos registrados em relação ao ano de 2003. Muitas são as vantagens em se adquirir, fabricar e incentivar a produção de medicamentos genéricos. É possível disponibilizar medicamentos para a população por um valor acessível pois as empresas que fabricam os genéricos não investiram em pesquisa e desenvolvimento de novos fármacos além da qualidade, visto que por lei os medicamentos genéricos devem ser submetidos a testes de equivalência farmacêutica e bioequivalência. Segundo a ANVISA, “o medicamento genérico contém o mesmo fármaco, na mesma dose e forma farmacêutica, é administrado pela mesma via e com a mesma indicação terapêutica, apresentando a mesma segurança que o medicamento de referência no país podendo, com este, ser intercambiável”. A intercambialidade é a troca segura de um medicamento de referência por um genérico segundo as normas da ANVISA em relação aos testes obrigatórios para tal e somente pode ser realizada por médicos ou farmacêuticos. O medicamento só poderá ser considerado intercambiável se o equivalente terapêutico de um medicamento de referência tiver comprovado os mesmos efeitos de eficácia e segurança que é certificada por meio de testes de bioequivalência apresentados à ANVISA. É importante salientar que nas embalagens dos medicamentos genéricos deve constar informação sobre a Lei nº 9.787/99 dentro de uma tarja amarela assim como estar destacado “Medicamento Genérico”. Os medicamentos genéricos não possuem marca, apenas o nome do insumo farmacêutico ativo do medicamento. Os genéricos são fabricados a partir do momento em que a patente do medicamento inovador expira ou é revogada. Desta forma, os preços destes medicamentos são mais baratos porque as indústrias não investiram dinheiro em P&D (Pesquisa e Desenvolvimento) para o seu desenvolvimento ou em propagandas pois não há uma marca para se divulgar. Os medicamentos genéricos são uma alternativa de qualidade para que a população de baixa renda consiga ter acesso a um tratamento quando acometidas por enfermidades.

2.4.2 REFERÊNCIA

O medicamento de referência é um produto inovador e que foi registrado no órgão federal responsável pela vigilância sanitária, patenteadado e cuja eficácia e segurança foram comprovadas por meio de testes clínicos e sua qualidade comprovada cientificamente junto ao órgão federal competente, conforme a Lei nº 6.360 de 23 de setembro de 1976, tendo seu texto adaptado a partir da Lei nº 9.787 de 10 de fevereiro de 1999.

Quando um medicamento é incluído na lista de referência faz com que este medicamento se caracterize como um modelo de segurança, qualidade e eficácia para as indústrias farmacêuticas que solicitem o registro de genéricos e similares em território brasileiro. O medicamento de referência é um parâmetro para testes de equivalência e bioequivalência farmacêutica, quando cabível.

É importante ressaltar que um medicamento similar único no mercado não pode ser considerado medicamento de referência, pois este medicamento está registrado junto à ANVISA como medicamento similar e no momento em que foi realizado o pedido para indicação como medicamento de referência ele era o único a ser comercializado. Porém, segundo a ANVISA, é necessário atender às normas da RDC nº 134 de 29/05/2003 que é uma resolução que dispõe sobre a adequação de medicamentos já registrados, uma vez que este medicamento ainda não atende às especificações necessárias de um medicamento de referência.

2.4.3 SIMILAR

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

A partir da publicação da Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) 133/2003 e 134/2003 foi solicitado que seria necessária a apresentação de testes, tanto de biodisponibilidade como de equivalência farmacêutica, para obtenção dos registros como medicamentos similares a fim de assegurar que estes medicamentos possuíam o mesmo comportamento no organismo e a mesma qualidade que um medicamento inovador. No momento da publicação da resolução anteriormente citada, os medicamentos similares que ainda não haviam sido submetidos aos testes solicitados deveriam realizá-los em um período de 10 anos, ou seja, até meados de 2013-2014, dando prioridade a medicamentos que são considerados de alto risco tais como antibióticos, antirretrovirais e antineoplásicos. A partir da Resolução RDC 17/2007 aumentaram as exigências para o registro de similares. Foi então determinado que todos os medicamentos similares apresentassem todos os ensaios que anteriormente eram necessários somente para os genéricos.

A Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº58/2014 publicada no Diário Oficial determina as medidas que deverão ser adotadas pelos titulares de registro de medicamentos para que ocorra a intercambialidade entre os similares com os respectivos medicamentos de referência. A ANVISA estabeleceu um prazo de 12 meses, contados a partir de janeiro de 2015, para que os fabricantes dos similares realizem as alterações de suas bulas declarando que estes são substitutos ao medicamento de referência. A ANVISA mantém em seu site uma lista atualizada de medicamentos similares que já comprovaram sua equivalência e, portanto, podem ser intercambiáveis. A partir de 2015 os medicamentos similares serão iguais aos produtos de referência. Para que um medicamento seja classificado como intercambiável é necessário que ele tenha sido aprovado em testes de bioequivalência, no caso dos genéricos, e de biodisponibilidade, para os similares.

2.5 ANTI-HIPERTENSIVOS

Muitos dos agentes anti-hipertensivos possuem múltiplas ações, auxiliando em mais de uma patologia, como a insuficiência renal que pode ser causa ou consequência da hipertensão. Os anti-hipertensivos são medicamentos que atuam sobre o coração ou nos vasos sanguíneos, objetivando a normalização da pressão arterial.

Os medicamentos anti-hipertensivos são divididos em classes disponíveis para uso clínico: diuréticos, inibidores adrenérgicos (ação central, betabloqueadores e alfabloqueadores), vasodilatadores diretos, bloqueadores dos canais de cálcio, inibidores da enzima conversora da angiotensina, bloqueadores do receptor AT₁ da angiotensina II e inibidor direto da renina. Estes medicamentos podem ser utilizados isoladamente ou em forma de associações com combinações fixas: diurético + diurético, inibidor adrenérgico de ação central + diurético, betabloqueador + diurético, bloqueadores dos canais de cálcio + bloqueadores do receptor AT₁ e bloqueadores dos canais de cálcio + bloqueadores do receptor AT₁ + diurético, dependendo da necessidade de cada paciente.

A seguir serão descritos os insumos farmacêuticos ativos estudados neste trabalho.

2.5.1 ATENOLOL

O Atenolol possui fórmula molecular C₁₄H₂₂N₂O₃ e massa molecular de 266,336 g mol⁻¹, pertence à família dos betabloqueadores e foi desenvolvido para a substituição do Cloridrato de Propranolol na década de 70²⁹. O Atenolol possui duas estruturas cristalinas conhecidas: o (*R,S*)-atenolol³⁰ e o (*S*)-atenolol³⁰. Sabe-se que as moléculas *R* e *S* exibem diferentes atividades farmacológicas³¹, o enantiômero *S*-atenolol é responsável pela ação anti-hipertensiva. No medicamento, o Atenolol é produzido como (*R,S*)-atenolol (mistura racêmica). Segundo Lima, os betabloqueadores podem ligar-se aos receptores β, e os enantiômeros *S*(-) são os principais responsáveis pela atividade betabloqueadora^{32, 33}.

De Castro e colaboradores³⁰ realizaram a determinação de estrutura cristalina tanto para o enantiômero como para a mistura racêmica do Atenolol. Os autores utilizaram a difração de raios X por monocristais combinado com cálculos computacionais e para ambas moléculas obtiveram o sistema cristalino monoclinico, para o enantiômero *S*-atenolol o grupo espacial encontrado foi o *C2* e para a mistura racêmica foi o grupo espacial *C2/c*.

Este medicamento é utilizado para o tratamento da hipertensão, angina e em casos de distúrbios cardiovasculares, tais como: arritmia cardíaca, infarto do miocárdio, enxaqueca e insuficiência cardíaca congestiva²⁹. Para o tratamento da hipertensão, pode ser administrado de

forma isolada ou em associações com outro anti-hipertensivo do tipo diurético³⁴. Sua estrutura química é apresentada na Figura 1³⁵.

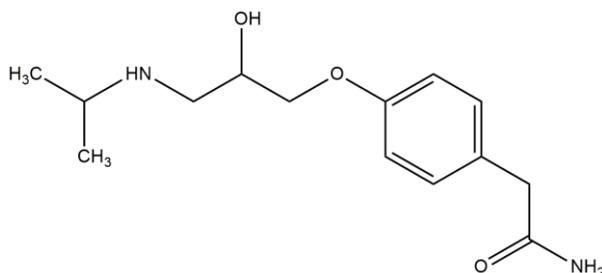


FIGURA 1: ESTRUTURA QUÍMICA DO ATENOLOL.

Da mesma forma que outros betabloqueadores, o Atenolol tem sido utilizado como agente dopante em atividades esportivas. Por este motivo, o Comitê Olímpico Internacional (COI) incluiu o Atenolol na lista de substâncias proibidas, além do Cloridrato de Propranolol e o diurético Hidroclorotizida³⁶. O Atenolol é um pó branco, pouco insolúvel em água ou solventes orgânicos polares (acetona, clorofórmio) com ponto de fusão entre 148-152 °C. Os betabloqueadores são caracterizados pela baixa solubilidade em fluidos gástricos e, conseqüentemente, possuem baixa taxa de dissolução e disponibilidade (50%)^{37, 38}.

2.5.2 CLORIDRATO DE PROPRANOLOL

O Cloridrato de Propranolol, cuja fórmula química é C₁₆H₂₂NO₂Cl e massa molecular de 295,80 g mol⁻¹, existe em três formas cristalinas diferentes, denominadas Formas I, II e III, de acordo com a diminuição do ponto de fusão. As diferentes formas cristalinas do fármaco apresentam propriedades físicas e espectroscópicas únicas: a Forma II (que é encontrada em amostras comerciais), é a forma estável à temperatura ambiente e apresenta uma pequena tendência para se transformar na Forma I depois da fusão. Esta temperatura de transição está muito próxima da temperatura de degradação, o que dificulta acompanhar de forma eficaz a mudança de fase antes do início da degradação do material. O Cloridrato de Propranolol também é encontrado na forma de mistura racêmica. Shanks³⁹ verificou que os enantiômeros individuais deste betabloqueador diferem em suas atividades farmacológicas. O isômero (*S*)-do Cloridrato de Propranolol funciona como o eutômero (enantiômero que causa os efeitos desejados) do betabloqueador, e o eutômero (*R*)- é o distômero que estimula a musculatura lisa

do útero⁴⁰. O distômero é farmacologicamente inativo e responsável pelos efeitos colaterais^{39, 41, 42}. A estrutura química do Cloridrato de Propranolol é apresentada na Figura 2.

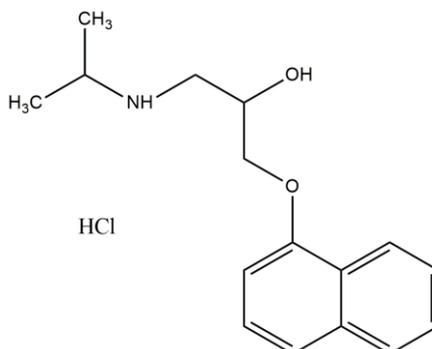


FIGURA 2: ESTRUTURA QUÍMICA DO CLORIDRATO DE PROPRANOLOL.

Em 1973, Barrans e colaboradores⁴³ realizaram a determinação da estrutura cristalina para o *DL*-Cloridrato de Propranolol encontrando o grupo espacial $P2_1/c$. Dois anos depois Gadret⁴⁴ determinou a estrutura para o *D*-Cloridrato de Propranolol encontrando o grupo espacial $P2_1$. Ammon⁴⁵ determinou a estrutura das moléculas: Propranolol e Cloridrato de Propranolol, para a segunda ele encontrou o sistema cristalino monoclinico e o grupo espacial $P2_1/n$. No ano de 2004, Litvinov⁴⁰ realizou a re-determinação de estrutura do Cloridrato de Propranolol (mistura racêmica) porque eles encontraram algumas diferenças na conformação da molécula em relação aos dados anteriormente publicados.

O Cloridrato de Propranolol é um antagonista beta-adrenérgico não seletivo e interage com os receptores β_1 e β_2 , sendo utilizado principalmente no tratamento sistêmico da hipertensão, enxaqueca, arritmias e de cardiopatia isquêmica⁴¹. Normalmente é comercializado em formas sólidas de 10, 40 ou 80 mg de Cloridrato de Propranolol por comprimido, podendo também ser adquirido em outras concentrações por meio de farmácias de manipulação ou soluções injetáveis. Depois de administrado, é rapidamente absorvido pelo trato intestinal. Dentre os vários efeitos colaterais, destacam-se: broncoconstrição, depressão cardíaca, bradicardia, hipoglicemia (devido a liberação de glicose em resposta à adrenalina), entre outros⁴⁶.

As propriedades de estado sólido deste fármaco, no que diz respeito à relação entre a mistura racêmica dos enantiômeros, foi primeiramente estudada por Kuhnert-Brandstatter²⁵ e colaboradores, mostrando, por meio da técnica de DSC, que o Cloridrato de Propranolol existe em mais de uma forma sólida. Observando filmes cristalinos (obtidos por solidificação do fármaco fundido) com termomicroscopia, duas modificações cristalinas (que foram designadas

por I e II) foram identificadas e apresentadas por meio do espectro de infravermelho²⁵. Depois de alguns anos, foi descoberta uma terceira forma para o Cloridrato de Propranolol, denominada Forma III. Tais formas são classificadas segundo seus pontos de fusão, de forma decrescente.

A biodisponibilidade oral do fármaco é 30-40 % e a principal via de excreção é a renal. O Cloridrato de Propranolol é um pó branco, inodoro, de sabor amargo e aspecto cristalino ou amorfo e seu ponto de fusão encontra-se entre 163 e 165 °C.

2.5.3 CAPTOPRIL

Captopril é um dos medicamentos de primeira escolha no tratamento farmacológico da insuficiência cardíaca crônica. Sua fórmula química é $C_9H_{15}NO_3S$ e o ponto de fusão varia entre 104-108 °C. É um pó branco cristalino e possui massa molecular de $217,28 \text{ g mol}^{-1}$. Sua estrutura química é apresentada na Figura 3.

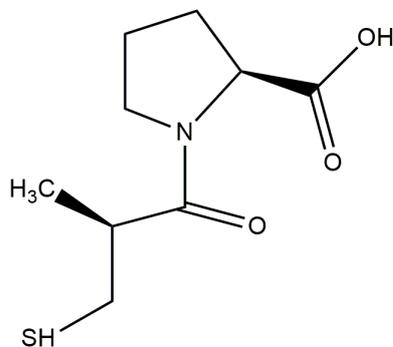


FIGURA 3: ESTRUTURA QUÍMICA DO CAPTOPRIL.

O Captopril foi o primeiro fármaco inibidor da enzima conversora da angiotensina utilizado no tratamento da hipertensão e da insuficiência cardíaca⁴⁷. Quando administrado, o Captopril exerce efeito anti-hipertensivo, inibindo a conversão da angiotensina I em II⁴⁸. Após a administração oral do medicamento ocorre a absorção da dose terapêutica (12,5 – 100 mg), com níveis plasmáticos máximos em torno de 1-2 horas. Quando eliminado rapidamente pela urina, sua biodisponibilidade chega em torno de 70 %, quando administrado em jejum; se ingerido juntamente com alimento, sua biodisponibilidade fica comprometida, embora sua eficácia não.

Este fármaco é oxidado espontaneamente pelo grupo sulfidrilado após a dissolução em água, de modo a formar dissulfeto em algumas horas, assim como em outros peptídeos que contêm prolina, que normalmente apresentam uma conformação de equilíbrio entre os isômeros *cis* e *trans*⁴⁷. A razão entre os isômeros *cis* e *trans* do Captopril à temperatura ambiente é de 6:1 em solução aquosa, mas a forma farmacologicamente ativa do Captopril é o isômero *trans*, quando ligado à enzima⁴⁷. Esta interconversão *cis-trans* do Captopril é uma propriedade muito importante para preparações farmacêuticas. Diversos estudos abordaram a análise conformacional do Captopril em solução, embora não existam muitos estudos em fase sólida^{47, 49}.

A estrutura cristalina do Captopril foi determinada por Fujinaga em 1980⁵⁰. Em 2015 Remko e colaboradores⁵¹ realizaram a re-determinação da estrutura cristalina do Captopril e de seu dímero o dissulfeto de Captopril utilizando difração de raios X por monocristais. Assim como Fujinaga, Remko encontrou para o Captopril o sistema cristalino ortorrômbico e o grupo espacial $P2_12_12_1$ e para seu dímero o sistema cristalino monoclinico e grupo espacial $P2_1$.

2.5.4 HIDROCLOROTIAZIDA

O fármaco Hidroclorotiazida pertence à família dos anti-hipertensivos diuréticos e também é utilizado para o tratamento do diabetes. Com uma meia vida em torno de 5,6-14,8 h, é facilmente eliminado por via renal. Os diuréticos, em particular a Hidroclorotiazida são frequentemente utilizados na forma de associações com outros agentes anti-hipertensivos. As características farmacológicas deste fármaco fazem com que ele seja comumente utilizado¹. A Hidroclorotiazida cristaliza-se em duas diferentes formas polimórficas: Formas I (sistema cristalino monoclinico $P2_1$)⁵² e II (sistema monoclinico $P2_1/c$)⁵³, a Forma I é a forma estável e é a que se encontra em medicamentos. A estrutura química da Hidroclorotiazida é apresentada na Figura 4.

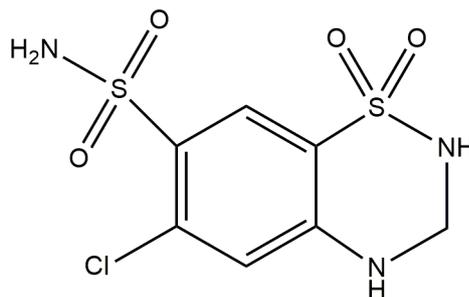


FIGURA 4: ESTRUTURA QUÍMICA DA HIDROCLOROTIAZIDA.

Sua fórmula química é $C_7H_8N_3ClO_4S_2$ e massa molecular de $297,74 \text{ g mol}^{-1}$ e possui biodisponibilidade entre 50-60 %. É um pó cristalino branco e possui baixa solubilidade em água⁵⁴. De acordo com o Sistema de Classificação Biofarmacêutica a solubilidade e permeabilidade aquosa são as variáveis mais importantes que afetam a biodisponibilidade de fármacos. A Hidroclorotiazida é classificada como Classe IV, onde o princípio ativo possui baixa solubilidade e características de baixa permeabilidade após a administração oral⁵⁵.

Recentemente foi publicado um artigo onde os autores⁵⁴ foi caracterizado uma nova conformação da Hidroclorotiazida, sendo chamada de Forma IA. A partir da Forma I da Hidroclorotiazida eles fizeram experimentos de recristalização utilizando o método de solvente e anti-solvente e pelo método de evaporação lenta do solvente. Os cristais obtidos foram caracterizados por diferentes técnicas e foi realizada a determinação de estrutura por monocristal tendo como sistema cristalino o monoclinico e o grupo espacial $P2_1$. Esta nova conformação possui maior solubilidade em água, porém menos estabilidade termodinâmica quando comparada a Forma I.

2.5.5 MALEATO DE ENALAPRIL

O Enalapril é um inibidor da enzima carboxipeptidase, apresentando baixa solubilidade, o que dificulta sua absorção pelo corpo humano. Desta forma, o fármaco é administrado na forma de Maleato de Enalapril que é um composto mais solúvel. A determinação da estrutura cristalina do Maleato de Enalapril foi resolvida por Précigoux⁵⁶. Sua fórmula química é $C_{20}H_{29}N_2O_5^+, C_4H_3O_4^-$ e massa molecular $492,52 \text{ g mol}^{-1}$. A Figura 5 apresenta a estrutura química do fármaco.

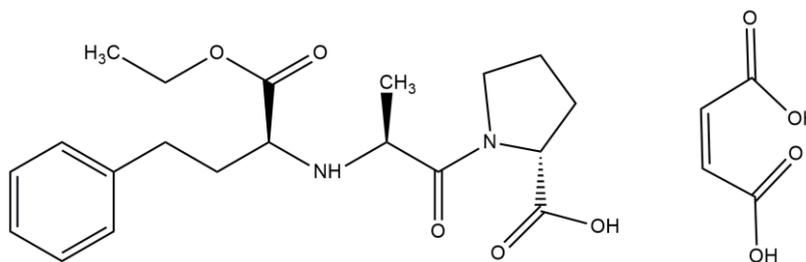


FIGURA 5: ESTRUTURA QUÍMICA DO MALEATO DE ENALAPRIL.

Este fármaco pode sofrer fotodegradação em pH 2,5 e 6 se exposto a radiações UVA-UVB. Foi realizado um estudo utilizando incidência de luz para induzir fotodegradação em estado sólido deste fármaco, porém, não houve mudanças significativas no difratograma. Sob estas condições específicas, é encontrado como produto de degradação - a dicetopiperazina (DKP) - interferindo na eficácia do medicamento^{57, 58}.

A degradação química do princípio ativo frequentemente resulta da diminuição da eficácia terapêutica ou em alguns casos, o produto de degradação pode ser tóxico tornando inviável sua utilização se o nível de degradação for alto⁵⁹.

A Forma I para o Maleato de Enalapril foi resolvida e reportada por dois diferentes grupos em 1896. Shibata e Précigoux^{56, 60} determinaram a estrutura cristalina da Forma I do Maleato de Enalapril, encontrando o sistema cristalino monoclinico e grupo espacial $P2_1$ utilizando dados de difração de raios X por monocristais. Entretanto, o Maleato de Enalapril também pode apresentar-se na Forma II e a determinação deste outro polimorfo foi resolvida por Kiang⁶¹ em 2003 utilizando difração de raios X por policristais. Os pesquisadores encontraram ao final da determinação o sistema cristalino ortorrômbico e o grupo espacial $P2_12_12_1$.

2.5.6 LOSARTANA POTÁSSICA

A Losartana Potássica é um medicamento potente e eficaz para o tratamento da hipertensão arterial, sendo também utilizado no tratamento contra insuficiência cardíaca congestiva. Foi o primeiro anti-hipertensivo da classe dos antagonistas receptores da angiotensina (ARA) disponível no mercado. É comumente indicado para pacientes com idade

inferior a 55 anos nos casos em que os anti-hipertensivos da classe dos inibidores da enzima conversora da angiotensina (IECA) não são indicados e possui boa disponibilidade oral⁶². Muitas vezes é prescrita na forma de associação com o diurético Hidroclorotiazida. Duas formas polimórficas da Losartana Potássica foram identificadas por meio de técnicas espectroscópicas⁶³ e de análise térmica⁶⁴. A estrutura cristalina da Forma I cristaliza-se no grupo espacial $P2_1/c$ e foi determinada por Fernandez⁶². Utilizando DSC para estudar o comportamento térmico da Losartana Potássica (LP), Wu e colaboradores⁶⁴ notaram um pronunciado pico endotérmico por volta de 276 °C, representando o ponto de fusão. Entretanto, por volta de 235-250 °C, observaram um pequeno pico endotérmico em alguns lotes de material. Neste caso, não representava impureza, hidrato ou solvato. Foi identificada a presença da Forma I, que foi enantiotropicamente convertida na Forma II sem fusão, e o pico endotérmico em 276 °C é referente à fusão da Forma II. Estas duas formas polimórficas são confirmadas por meio de análises de difração de raios X por policristais. A Forma I é o polimorfo estável a temperatura ambiente e é a forma escolhida para o processo de fabricação de medicamentos⁶⁴.

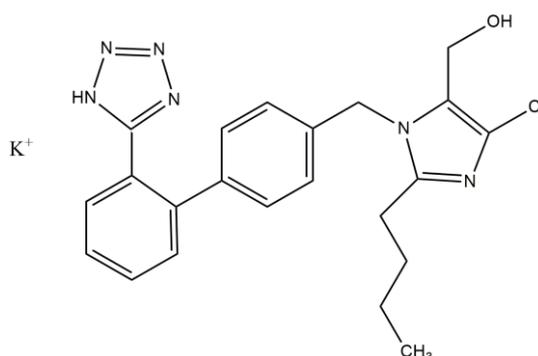


FIGURA 6: ESTRUTURA QUÍMICA DA LOSARTANA POTÁSSICA.

A Losartana Potássica (Figura 6) é um sólido amarelo solúvel em água, com fórmula química $K^+.C_{22}H_{22}ClN_6O^-$ e massa molecular de 452 g mol^{-1} . As formas de excreção são renal e biliar. Uma das vantagens na utilização deste anti-hipertensivo se deve ao fato da elevada seletividade e bloqueio efetivo da angiotensina, sem apresentar algumas reações adversas associadas a medicamentos da classe dos IECA.

2.6 CLASSES DE MEDICAMENTOS ANTI-HIPERTENSIVOS

O primeiro passo quando um paciente é diagnosticado hipertenso é iniciar o tratamento sem intervenção medicamentosa, como a mudança na alimentação, prática de atividade física, ou seja, mudança de seus hábitos para uma melhor qualidade de vida e, como consequência, redução da pressão arterial. Infelizmente, nem sempre essa metodologia é eficaz, e há necessidade de começar um tratamento com medicamentos. Geralmente é escolhida a monoterapia, onde é administrado um único fármaco, beta e inibidores da ECA reduzem a pressão arterial entre 30-50 %. Muitas vezes a toxicidade relacionada aos fármacos anti-hipertensivos está relacionada à alta dose que deve ser administrada. Neste caso, uma alternativa é aderir ao uso de agentes sinérgicos em doses baixas. Desta forma, o paciente irá fazer uso de combinações de anti-hipertensivos em menores doses – um diurético tiazídico com um inibidor da ECA, por exemplo.

Em alguns casos, deve-se iniciar o tratamento por determinada classe específica de anti-hipertensivo, dependendo do histórico médico do paciente. Se um paciente faz tratamento para diabetes, ou possui doença renal crônica, o medicamento indicado é o inibidor da ECA. Uma terapia também empregada é por etapas, ou seja, os medicamentos são inseridos de forma gradual para o paciente. Esta terapia baseia-se em unir medicamentos que possuem diferentes mecanismos de ação com o intuito de minimizar as reações adversas e a toxicidade. Segundo o *Joint National Committee (JNT)*, a escolha de primeira linha no tratamento anti-hipertensivo por etapas deve ser um diurético da família das tiazidas, a não ser que haja alguma outra indicação em relação a outras doenças que o paciente possa ter.

Dependendo do público a que se destina o tratamento, certas classes de agentes anti-hipertensivos podem ser mais ou menos eficientes. No caso de idosos, os diuréticos possuem respostas mais favoráveis no tratamento em comparação com outros agentes anti-hipertensivos.

2.6.1 INIBIDORES DA ENZIMA CONVERSORA DA ANGIOTENSINA (ECA)

Para o tratamento da hipertensão arterial, os inibidores da enzima conversora da angiotensina (ECA) são tão eficazes quanto o uso de diuréticos tiazídicos ou antagonistas beta.

Esta classe de medicamentos possui características interessantes como diminuição da perda da função renal em pacientes que sofrem de doença renal crônica e pouca incidência de reações adversas. Entretanto, os diuréticos tiazídicos são mais cardioprotetores do que os inibidores da ECA.

Os inibidores da ECA são os medicamentos escolhidos para o tratamento de pacientes que, além de hipertensos, são diabéticos. Além do efeito anti-hipertensivo, os inibidores da ECA também auxiliam no tratamento da insuficiência cardíaca e infarto do miocárdio e é contraindicado para pacientes gestantes.

2.6.2 ANTAGONISTAS DOS RECEPTORES DE ANGIOTENSINA II

Os antagonistas dos receptores de angiotensina II (ARA II), além de agentes anti-hipertensivos orais, possuem ação para nefropatia diabética e insuficiência cardíaca. Seu uso é contraindicado para gestantes e mostra-se efetivo como substituinte dos inibidores da ECA em pacientes que possuem como efeito colateral a tosse induzida. Muitas vezes este efeito colateral faz com que o paciente interrompa o tratamento. No final da década de 80, os antagonistas dos receptores da angiotensina II entraram no mercado farmacêutico com a Losartana. Logo após a inclusão deste anti-hipertensivo, outros, da mesma classe, entraram em circulação. Apesar da recente inserção desta classe de medicamento no mercado farmacêutico, atualmente são encontrados oito diferentes medicamentos desta classe: Candesartana, Irbesartana, Losartana, Olmesartana, Telmisartana, Evalsartana, Azilzartana e Eprosartana. Geralmente, a escolha por grande parte dos médicos é pela Losartana, devido a seu baixo custo. Entretanto, alguns autores acreditam que o uso da Olmesartana é mais eficaz para o tratamento da hipertensão e, mesmo sendo um medicamento com preço mais elevado, o custo-benefício é vantajoso. Não são encontrados muitos efeitos colaterais com a utilização dos ARA II. Porém, um estudo feito por McMurray⁶⁵ sugere que, o após o uso fármaco Candesartana, houve uma incidência significativa de pacientes acometidos com neoplasias. Este medicamento também pode ser encontrado em associações, principalmente com o diurético Hidroclorotiazida.

2.6.3 DIURÉTICOS TIAZÍDICOS

Os diuréticos, além de serem utilizados no tratamento da hipertensão arterial, podem ser prescritos para o tratamento da insuficiência cardíaca. A Hidroclorotiazida é um diurético tiazídico amplamente prescrito para o tratamento da hipertensão arterial. Devido às suas características farmacocinéticas e farmacodinâmicas, os medicamentos da família dos tiazídicos são utilizados para o tratamento da hipertensão crônica. Estes medicamentos possuem alta disponibilidade oral e são de longa duração. A Hidroclorotiazida, por exemplo, tem seu efeito no organismo entre 16 h – 24 h. Há muito tempo eles têm sido extensivamente utilizados no tratamento da hipertensão. Embora nem todos os mecanismos de ação tenham sido completamente desvendados, esta classe de anti-hipertensivos – os diuréticos – diminui o volume intravascular por meio do aumento da excreção renal de Na^+ e H_2O . Entretanto, este efeito, por si só, não explica a ação anti-hipertensiva dos diuréticos. Os diuréticos tiazídicos também são utilizados no tratamento da insuficiência cardíaca e hipertensão sistólica.

2.6.4 ANTAGONISTAS DOS RECEPTORES ADRENÉRGICOS

Os antagonistas dos receptores adrenérgicos são agentes antiarrítmicos da classe II, também conhecidos por betabloqueadores. A ativação de receptores beta-adrenérgicos no tecido cardíaco faz com que o coração aumente a frequência cardíaca e a força contrátil. Existem diversas gerações destes antagonistas, cada uma delas possuindo propriedades farmacológicas diferentes. O Cloridrato de Propranolol é o primeiro antagonista β de primeira geração não seletivo (antagoniza tanto os receptores β_1 – adrenérgico como β_2 – adrenérgico) disponível comercialmente. Ele pode ser administrado tanto por via oral (com efeito terapêutico em torno de 1 a 1,5 h depois de administrado) como parental, tendo sua vida média parental por volta de 3 h.

O Atenolol é um agente antiarrítmico da classe II de segunda geração. É geralmente seletivo para os receptores β_1 -adrenérgico quando administrado em baixas doses. Estas

diferentes classes de antiarrítmicos apresenta diferentes reações adversas; por exemplo, se o fármaco penetrar no sistema nervoso central pode ocasionar depressão e insônia.

Os antagonistas β são indicados também para o tratamento da insuficiência cardíaca, enxaqueca, coronariopatia e taquiarritmias e é contraindicado para pacientes que sofrem de asma.

3. MATERIAIS E TÉCNICAS ANALÍTICAS PARA O ESTUDO E CARACTERIZAÇÃO DE POLIMORFOS

Os insumos farmacêuticos ativos utilizados neste trabalho foram adquiridos diretamente de duas farmácias de manipulação da cidade de Santo André – SP e utilizados da forma como recebidos, sem tratamento prévio, para as análises de DRXP, MEV, FTIR, DSC e TG/DTG.

Em uma segunda etapa foram analisados os medicamentos atenolol, cloridrato de propranolol, captopril, maleato de enalapril, hidroclorotiazida, e losartana potássica adquiridos de drogarias. Foram estudados os medicamentos genérico, similar e referência por DRXP e foi realizado o refinamento de Rietveld para todas as amostras de modo a identificar se o princípio ativo estava presente no medicamento.

Foi doada, por um paciente do SUS-SP, um blíster do medicamento hidroclorotiazida que é distribuído gratuitamente nos postos de saúde de São Paulo por meio do Programa Farmácia Popular. Para este medicamento foi realizada medida de DRXP e subsequente utilização do método de Rietveld.

Analisamos amostras do princípio ativo maleato de enalapril irradiado em diferentes intervalos de tempo para estudar possíveis mudanças na estrutura cristalina devido a fotodegradação. Para estas amostras foram utilizadas as técnicas de DRXP, FTIR e DSC. As amostras foram doadas pelo Prof. Dr. Humberto Ferraz da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo (USP-DEINFAR).

3.1 PROPRIEDADES FUNDAMENTAIS DOS RAIOS X

3.1.1 NATUREZA DOS RAIOS X

Wilhelm Conrad Roentgen, professor na Universidade Wuerzburg, descobriu os raios X no ano de 1895 enquanto realizava experiências em um tubo de raios catódicos. Roentgen foi o primeiro físico laureado com o prêmio Nobel, em 1901, por sua descoberta.

A radiação eletromagnética é gerada sempre que uma carga elétrica é acelerada ou desacelerada. Consiste, em ondas transversais onde os campos elétrico e magnético são perpendiculares entre si. Os raios X possuem comprimento de onda da ordem de 0,1-100 angstroms (Å) e estão localizados entre a radiação gama e a radiação ultravioleta. Os comprimentos de onda comumente utilizados em cristalografia estão no intervalo entre 0,5-2,5 (Å) uma vez que eles são da mesma ordem de magnitude da menor distância interatômica observada em materiais orgânicos e inorgânicos. Como toda radiação eletromagnética, os raios X possuem os fenômenos de interferência, difração, polarização, refração e reflexão. Ao contrário dos raios catódicos, os raios X não são desviados por um campo eletromagnético e possuem alto poder de penetração.

3.1.2 PRODUÇÃO DE RAIOS X

Os raios X são gerados a partir de dois diferentes métodos ou fontes – tubo de raios X convencional ou por meio de uma fonte de luz síncrotron. Iremos escrever sobre o primeiro, que foi utilizado neste trabalho. Os tubos de raios X são formados por um cátodo, que geralmente é formado por um filamento de tungstênio, podendo também ser feito a partir de outro material metálico, porém que possua alto ponto de fusão e um ânodo, sendo feito vácuo entre eles. Os elétrons são emitidos termiõnicamente pelo cátodo e acelerados por uma diferença de potencial até o alvo. Estes elétrons irão penetrar no alvo transferindo energia para os átomos, desta forma irão retirar os elétrons das camadas mais internas do átomo e no momento em que os elétrons das camadas mais externas forem ocupar as vacâncias são liberados fótons de raios X.

Quando os elétrons penetram no ânodo são desacelerados e liberam fótons de raios X, este evento também é conhecido como radiação de freamento ou *Bremsstrahlung*, palavra de origem alemã (*Bremsen* = frear e *Strahlung* = radiação). Alguns elétrons conseguem arrancar elétrons situados nas camadas mais internas dos átomos do alvo cujo “buraco” é ocupado por elétrons que estavam em uma camada de mais alta energia e neste processo ocorre a liberação de um fóton conhecido como raios X característico. A Figura 7 mostra um difratograma de raios X emitido por um tubo formado por um alvo de tungstênio operando em uma diferença de potencial de 87 keV. São indicados dois picos finos denominados de K_{α} e K_{β} , chamados de

picos característicos pois são correspondentes aos fótons de raios X emitidos do alvo de tungstênio. Estes picos podem se deslocar dependendo do material que é feito o anodo. O halo formado no gráfico é chamado de espectro contínuo. Segundo a física clássica, sempre que uma carga elétrica é acelerada será emitida uma radiação eletromagnética e no momento em que os elétrons se aproximam dos núcleos dos alvos sofrem tanto atração como deflexão na sua trajetória, sendo então acelerados. É importante ressaltar que o espectro contínuo não depende do material que é feito o alvo, somente da diferença de potencial aplicada.

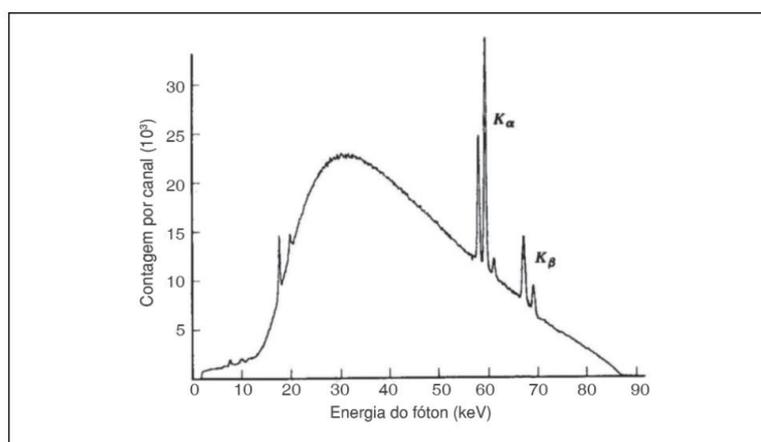


FIGURA 7: ESPECTRO DE RAIOS X EMITIDOS DE UM TUBO COM ALVO DE TUNGSTÊNIO QUANDO ELÉTRONS SÃO ACELERADOS POR UMA DIFERENÇA DE POTENCIAL DE 87 KV. O ESPECTRO É COMPOSTO DE FÓTONS DE RAIOS X DE FLUORESCÊNCIA E DE FREAMENTO. ADAPTADO DE OKUNO⁶⁶.

3.1.3 DIFRAÇÃO DE RAIOS X POR CRISTAIS

Podemos utilizar a difração de fótons, nêutrons e elétrons para estudar a estrutura cristalina. Max Von Laue, em meados de 1912, foi o primeiro físico a propor que era possível determinar a estrutura cristalina de um sólido com um arranjo periódico de átomos (ele utilizou o cloreto de sódio) utilizando difração de partículas também conhecidas como ondas de DeBroglie e por fótons. Ondas que possuam a mesma ordem de grandeza das distâncias interatômicas destes sólidos (da ordem de 1,0 Å) conseguem difratar, pois os cristais atuam como redes de difração. Em abril de 1913, William Henry Bragg e William Lawrence Bragg publicaram o artigo “*The Reflection of X-rays by Crystals*”⁶⁷ e em 1915 dividiram o prêmio Nobel de física pela determinação das estruturas cristalinas do cloreto de sódio, diamante e do sulfeto de zinco. Pai e filho basearam-se nos estudos de Laue a respeito da cristalografia⁶⁸⁻⁷¹.

Os Bragg perceberam que, quando um feixe de raios X incide sobre um material cristalino poderiam ser observados alguns picos intensos de radiação em direções e comprimentos de onda bem definidos. Desta forma, eles consideraram que algumas condições deveriam ser satisfeitas para que ocorressem máximos de difração provenientes de um espalhamento coerente de radiação. Para eles, as ondas incidentes na superfície do cristal são refletidas de forma difusa por planos paralelos de átomos do cristal. Em uma reflexão difusa, o ângulo da radiação incidente é igual ao ângulo da radiação refletida e estas reflexões de planos paralelos de átomos interferem de forma construtiva.

De acordo com os Bragg, a difração de uma amostra cristalina pode ser explicada e visualizada utilizando a reflexão do feixe de raios X incidente em uma série de planos cristalográficos. Para que ocorra interferência construtiva deve-se impor que a diferença de caminho entre as ondas (incidente e refletida) seja igual a um número inteiro de comprimento de onda. Para facilitar o entendimento da Lei de Bragg, a Figura 8 será muito útil. Devemos também recordar sobre duas relações geométricas:

I. O ângulo entre o feixe de raios X incidente e a normal do plano de reflexão deve ser igual à normal e o feixe de raios X difratado. O feixe de raios X incidente, o plano normal e o feixe de raios X difratado sempre são coplanares.

II. O ângulo entre o feixe de raios X incidente e difratado é sempre 2θ ; este ângulo é chamado de ângulo de difração.

Se os raios X incidentes, de comprimento de onda λ , encontrarem um cristal onde todos os átomos estão colocados em uma disposição regular e periódica, com espaçamento interplanar d , o feixe de difração é suficientemente intenso e é detectado somente quando a condição de Bragg é satisfeita:

$$2d \sin \theta = n\lambda$$

A lei de Bragg somente é satisfeita quando $\lambda \leq 2d$.

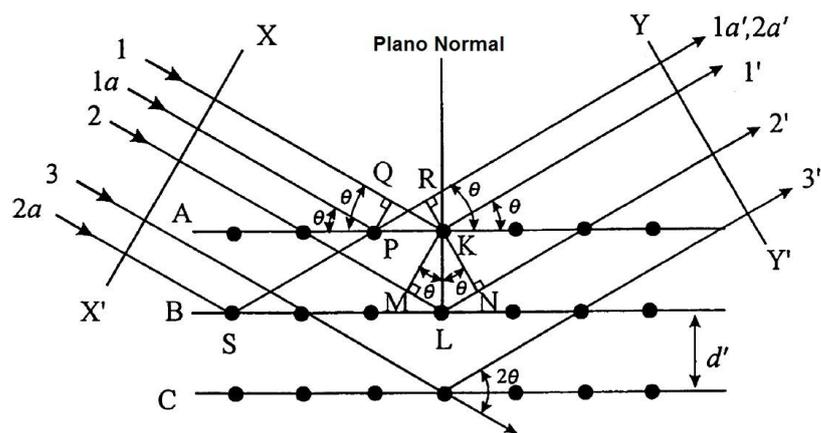


FIGURA 8: DIAGRAMA ESQUEMÁTICO DA DIFRAÇÃO DE RAIOS X POR UM CRISTAL (CONDIÇÃO DE BRAGG). ADAPTADO DO LIVRO: X-RAY CRYSTALLOGRAPHY⁷².

Embora a reflexão de cada plano seja difusa, somente alguns raios difratados se somam em fase para formar um pico intenso.

3.1.4 ESTRUTURA CRISTALINA

Diversos materiais (sólidos) organizam-se em uma rede geométrica tridimensional (3D) que chamamos de rede cristalina. Os materiais cristalinos possuem ordem de longo alcance, ou seja, possuem uma estrutura altamente organizada diferentemente de materiais amorfos, que possuem ordem de curto alcance. A rede cristalina é composta pela cela unitária, que consiste em um pequeno grupo de átomos que irão se repetir ao longo da rede. A cela unitária representa a simetria que existe na rede cristalina. Na Figura 9 podemos ver um cubo distorcido do lado esquerdo onde estão representados os seis parâmetros que definem a geometria da cela unitária: os comprimentos das três arestas: a , b e c , e os três ângulos entre as arestas: α , β e γ e estes são conhecidos por parâmetros de rede da estrutura cristalina. São encontradas sete possíveis combinações de parâmetros de rede, os quais definem os chamados sistemas cristalinos. A Figura 9 apresenta os sete sistemas cristalinos conhecidos: cúbico, tetragonal, hexagonal, ortorrômbico, romboédrico ou trigonal, monoclinico e triclinico. Abaixo de cada sistema cristalino é descrita a relação entre os parâmetros de rede e a geometria da cela unitária. Podemos notar um asterisco no sistema hexagonal. Esta observação se dá porque alguns autores consideram o sistema hexagonal como variante do sistema romboédrico por duplicação.

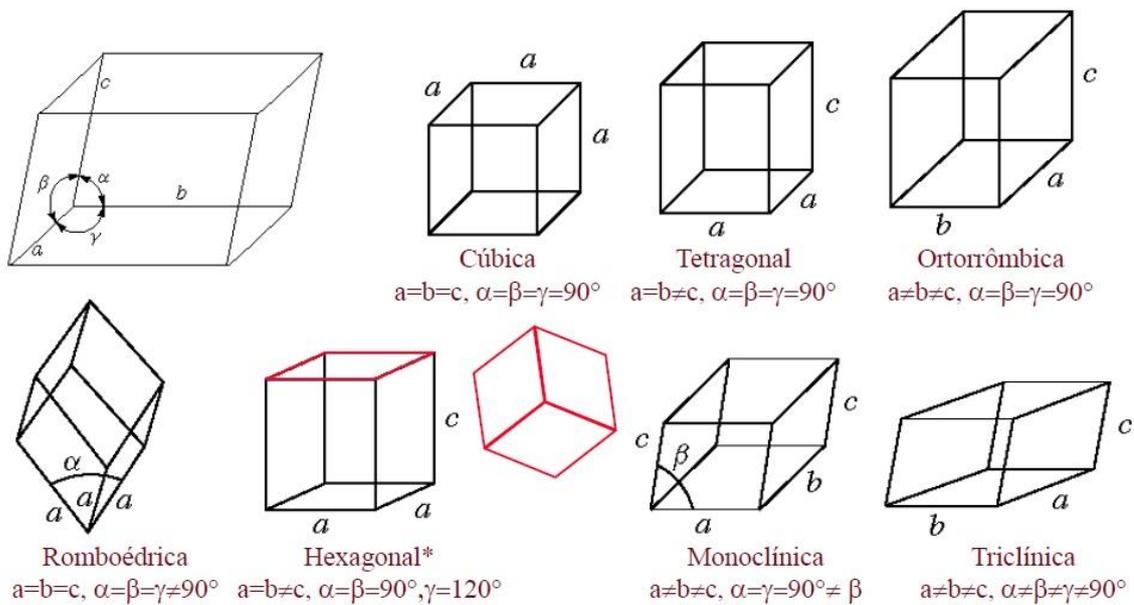


FIGURA 9: OS SETE SISTEMAS CRISTALINOS.

A partir dos sete sistemas cristalinos, identificamos 14 tipos diferentes de celas unitárias que são conhecidas por redes de Bravais.

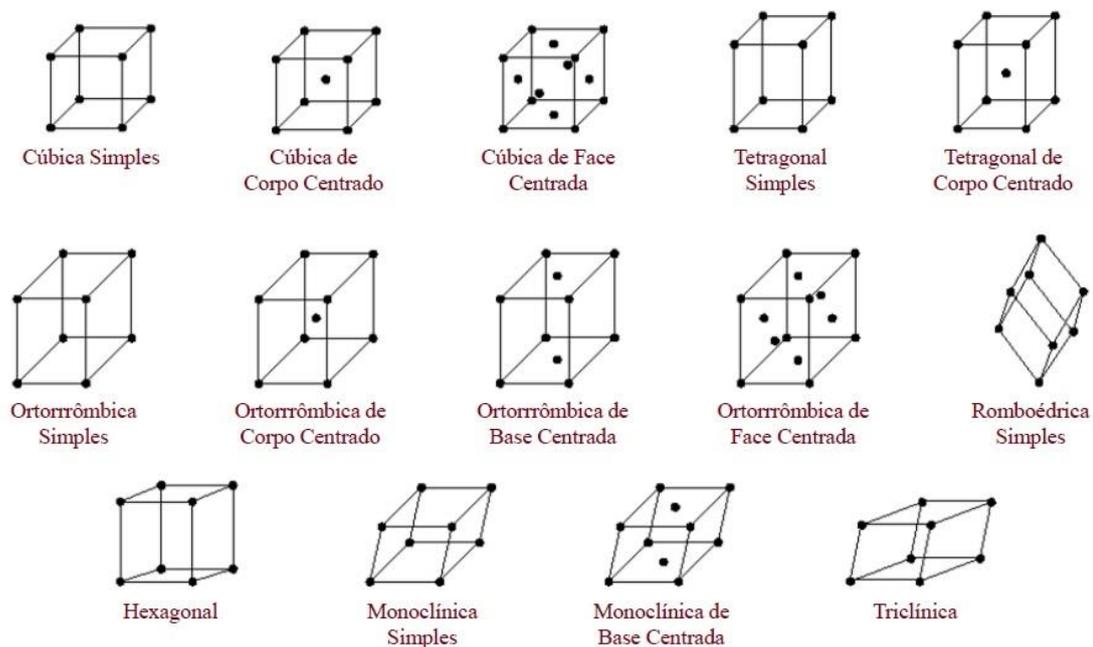


FIGURA 10: AS 14 REDES DE BRAVAIS.

Um trabalho sistemático descrevendo e enumerando as redes dos sistemas cristalinos foi realizado inicialmente por Frankenheim⁷³ que, em 1835 propôs a existência de um total de 15 redes. Porém, duas destas redes eram idênticas e esta observação foi primeiramente apontada por Bravais⁷³, em 1848. As celas unitárias das redes de Bravais são apresentadas na Figura 10.

As diferentes formas e tamanhos destas celas podem ser descritas em termos de três comprimentos de arestas ou distâncias axiais.

3.1.5 MÉTODO DE RIETVELD

Hugo Rietveld é um cristalógrafo que trabalhou na Fundação de Pesquisa em Energia da Holanda e um dos seus trabalhos era descobrir as possíveis estruturas de combustíveis para reatores nucleares, para os quais existiam somente na forma de pó. Sua experiência era com a utilização de softwares para estudar modelos de amostras com padrão de difração de monocristais, porém ele começou a estudar os padrões de difração proveniente de policristais. O software desenvolvido por Rietveld gerava alguns parâmetros que podiam ser extraídos a partir dos dados reais, como a posição, largura e intensidade dos picos para calcular um perfil teórico de difração. Isto foi utilizado como um ponto de partida para o ajuste do difratograma por meio do método dos mínimos quadrados.

Os primeiros conceitos e resultados foram publicados em 1967 e uma segunda publicação, dois anos depois, forneceu uma descrição detalhada sobre o procedimento de refinamento que hoje é conhecido como Método de Rietveld (MR). O artigo publicado em 1969 foi escrito especificamente utilizando dados de difração de nêutrons, embora naquela época ele já especulava que seria possível utilizar o método de refinamento também para difração de raios X por policristais.

Inicialmente, o Método de Rietveld foi desenvolvido para refinar a estrutura de materiais cristalinos utilizando dados de difração de nêutrons de baixa resolução. Com o passar dos anos, e consequentes avanços tecnológicos, dados de difração de raios X por policristais passaram a ser utilizados. Atualmente, este método tem demonstrado ser bastante eficiente, até mesmo em estruturas com milhares de átomos, como as proteínas, que também podem ter suas estruturas refinadas. Com a utilização deste método também é possível determinar, qualitativamente e quantitativamente, os componentes de uma mistura de materiais. O objetivo do método de Rietveld é minimizar a diferença entre os difratogramas observado e calculado. Para isto, é necessário ter um modelo teórico inicial que represente adequadamente o padrão experimental, isto é, é necessário que sejam conhecidos o grupo espacial, as dimensões aproximadas da cela

unitária e as coordenadas atômicas. Este modelo teórico pode ser extraído utilizando o arquivo CIF (*crystallographic information framework*) para dar início ao refinamento. O arquivo CIF contém informações sobre a estrutura cristalina de determinado material e é utilizado como arquivo de entrada para dar início ao refinamento de Rietveld. O periódico *Acta Crystallographica* relata diversas determinações de estrutura. Nesta tese, para a procura dos arquivos CIF referente aos fármacos estudados foram utilizados os bancos de dados: Cambridge Structural Database e o Crystallography Open Database além do software Conquest®.

No ajuste do difratograma é utilizado o método dos mínimos quadrados e a função de minimização é apresentada abaixo:

$$M = \sum_i w_i (y_i(obs) - y_i(calc))^2, \text{ onde } w_i = \frac{1}{y_i}$$

Esta equação é a soma dos quadrados das diferenças entre as intensidades observadas e calculadas, onde:

$y_i(obs)$ = intensidade observada experimentalmente no *i-ésimo* passo do difratograma

$y_i(calc)$ = intensidade calculada no *i-ésimo* passo do difratograma

A Figura 11 apresenta um pico obtido a partir de um gráfico de Rietveld, onde a linha contínua em vermelho representa o difratograma calculado com base nas informações obtidas por meio do arquivo CIF (grupo espacial, parâmetros de rede e coordenadas fracionárias dos átomos constituintes da amostra) e os “círculos” em preto representam o difratograma observado experimentalmente. A linha em azul, na parte inferior da figura, indica a diferença entre o difratograma observado e o calculado, sendo a linha verde uma representação da função da radiação de fundo (background) ajustada ao refinamento. A linha vertical em magenta representa a posição calculada para o pico de Bragg.

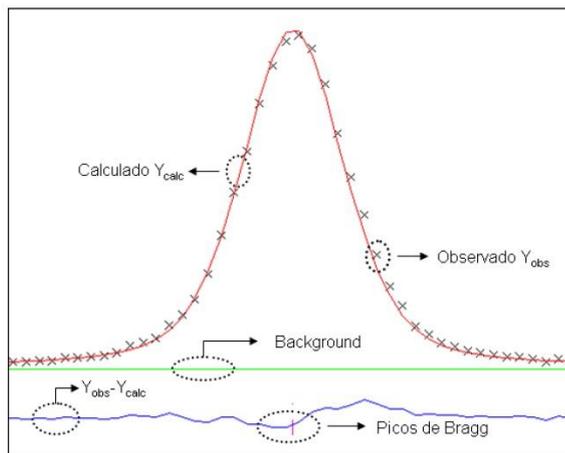


FIGURA 11: ILUSTRAÇÃO DE UM PICO OBTIDO A PARTIR DE UM GRÁFICO DE RIETVELD. A LINHA CONTÍNUA VERMELHA REPRESENTA O DIFRATOGRAMA CALCULADO, COM BASE NAS INFORMAÇÕES SOBRE GRUPO ESPACIAL, DIMENSÕES DA CELA UNITÁRIA E COORDENADAS FRACIONÁRIAS DE TODOS OS ÁTOMOS CONSTITUINTES DA AMOSTRA; AS CRUZES EM PRETO REPRESENTAM O DIFRATOGRAMA OBSERVADO; A DIFERENÇA ENTRE O DIFRATOGRAMA OBSERVADO E O CALCULADO ESTÁ REPRESENTADA PELA LINHA CONTÍNUA AZUL E OS PICOS DE BRAGG SÃO INDICADOS PELAS BARRAS VERTICAIS MARGENTA⁷⁴.

Para analisar um refinamento de Rietveld é importante observar, tanto visualmente como por meio de índices de qualidade, conhecidos como índices R . Os índices utilizados para acompanhar a qualidade do refinamento são: R_{wp} , R_{exp} , R_{Bragg} e χ^2 ^{75, 76}.

A equação do índice R_{wp} é utilizada para analisar se o refinamento está convergindo. Quando o refinamento chegar ao fim, este valor não deve apresentar variações, deverá permanecer constante, isso significa que o valor mínimo foi atingido⁷⁶.

$$R_{wp} = \frac{\sum_i w_i (y_i(obs) - y_i(calc))^2}{\sum_i w_i (y_i(obs))^2}$$

onde,

$y_i(obs)$ e $y_i(calc)$ são as intensidades observadas e calculadas do i -ésimo ponto do difratograma, respectivamente;

w_i é o valor ponderado das intensidades.

O índice R_{exp} nos ajuda a encontrar o valor que é esperado estatisticamente para R_{wp} . N e P são, respectivamente, o número de pontos que foram utilizados durante o refinamento e a quantidade de parâmetros que foram refinados^{75, 76}.

$$R_{\text{exp}} = \left[\frac{(N - P)}{\sum_i w_i (y_i(\text{obs}))^2} \right]^2$$

O “chi quadrado”, χ^2 , também conhecido como Gof (*Goodness of fit*) é a divisão entre o índice R_{wp} e R_{exp} e seu “valor ótimo” é o mais próximo de 1,0. Um valor de $\chi^2 = 1$, significa que o refinamento já atingiu os valores esperados^{75,76}.

$$C^2 = \left[\frac{M}{(N - P)} \right] = \frac{R_{wp}}{R_{\text{exp}}} = \sqrt{\frac{\sum_i w_i (y_i(\text{obs}) - y_i(\text{calc}))^2}{N - P}}$$

Os índices acima descritos nos auxiliam a indicar a qualidade do refinamento. Já o valor de R_{Bragg} está associado com a estrutura cristalina; neste momento é avaliada a qualidade do refinamento em relação aos parâmetros de rede⁷⁶:

$$R_{Bragg} \text{ ou } R_B = \frac{\sum_i \hat{a} |I_i(\text{obs}) - I_i(\text{calc})|}{\sum_i \hat{a} I_i(\text{obs})}$$

A análise quantitativa de fases é um método útil para determinar a porcentagem de componentes cristalinos e amorfos ou para identificar e quantificar misturas de fases, dada pela equação abaixo⁷⁷:

$$W_p = \frac{S_p(ZMV)_p}{\sum_i \hat{a} S_i(ZMV)_i}$$

onde,

W = fração do peso relativo da fase p em uma mistura de n fases;

S = fator de escala do refinamento de Rietveld;

Z = número de fórmulas unitárias por cela unitária;

M = massa da cela unitária (em unidade de massa atômica);

V = volume da cela unitária;

i = cada uma das fases presente na amostra;

Ibiapino e colaboradores⁷⁸ realizaram a caracterização estrutural da Forma I anidra da Rifampicina, IFA utilizado no tratamento da tuberculose utilizando DRXP, FTIR, DSC, TG e DTG. Fizeram também a determinação de estrutura encontrado como grupo espacial $C2$ e o sistema cristalino monoclinico. Com as medidas de análise térmica e FTIR puderam esclarecer o caráter anidro da Rifampicina uma vez que não observaram picos endotérmicos abaixo de 115°C nas curvas de DSC e perda de massa abaixo de 200°C para as curvas de TG/DTG. Podemos perceber a importância da caracterização estrutural por diferentes técnicas para a indústria farmacêutica.

Os refinamentos de Rietveld foram realizados com o uso do programa comercial *Topas-Academic* v.5 utilizando os dados oriundos do difratômetro, sem a necessidade de nenhum tratamento prévio. Nos casos onde estavam disponibilizadas as fichas com informações cristalográficas para os materiais analisados, somente os parâmetros de rede e parâmetros de deslocamento atômicos (B_{iso}) foram refinados. As coordenadas fracionárias dos átomos presentes na cela unitária foram mantidas fixas.

3.1.6 CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS

O difratômetro de raios X por policristais utilizado foi o modelo STADI-P, da Stoe[®], operando em modo de transmissão (com as amostras acondicionadas entre duas folhas de acetato-celulose com espessura de 0,014 mm e densidade de $1,3 \text{ g cm}^{-3}$), utilizando radiação $\text{CuK}\alpha_1$ ($\lambda = 1,54056 \text{ \AA}$), selecionada por um monocromador curvo de Ge (111). Foi utilizada uma tensão de 40 kV e corrente de 40 mA. Os fótons de raios X foram detectados por um detector linear (*microstrip*) de estado sólido (Mythen 1K) da Dectris, proporcionando alta resolução instrumental e tempos de coleta bastante reduzidos (da ordem de alguns minutos). As varreduras para as amostras dos fármacos e medicamentos foram realizadas na faixa angular de 2° a 60° (2θ), utilizando um passo de $1,05^{\circ}$ e tempo de integração de 60 segundos por passo. O porta amostras ficou mantido sob rotação durante a aquisição dos dados. As análises foram realizadas no Laboratório de Cristalografia e Caracterização Estrutural de Materiais (LCCEM) da UFABC.

3.2 ANÁLISE TÉRMICA (DSC E TG)

Na literatura são encontrados diversos artigos que demonstram a importância da aplicação da análise térmica, especialmente a termogravimetria (TG), que são técnicas rotineiramente empregadas para o estudo de medicamentos. Como exemplo, podemos citar: método de *screening*, para avaliar as interações fármaco-excipiente, caracterização de fármacos com definição de eventos térmicos, na determinação do grau de pureza, quantificação de componentes voláteis, na identificação/caracterização de polimorfos, em estudos de compatibilidade de formulações sólidas farmacêuticas (estudos de pré-formulação), na avaliação da estabilidade térmica, cinética de degradação térmica^{35,79-81}. O DSC é utilizado para caracterizar propriedades físicas de produtos farmacêuticos, incluindo ponto de fusão, calor específico, calor de fusão, transição vítrea, pressões de vapor e solubilidade⁷⁹. Desta forma, os resultados obtidos utilizando análise térmica estão diretamente relacionados com o controle de qualidade de medicamentos e de IFAs, tanto na caracterização da matéria-prima, como nos medicamentos, bem como com a estabilidade e biodisponibilidade^{5,82}.

Geralmente, para uma melhor compreensão dos resultados, são realizadas tanto análises de termogravimetria (TG) como calorimetria exploratória diferencial (DSC) nas mesmas condições experimentais de modo a interpretar os processos térmicos de maneira adequada, principalmente em eventos térmicos onde ocorrem perda de massa.

Veiga e Cadorniga⁸³ estudaram diferentes polimorfos por meio de técnicas termoanalíticas da Prednisona que é um medicamento utilizado para o tratamento de doenças endócrinas, reumatismo e outras patologias onde o tratamento com corticosteroide possa ser utilizado. Os autores identificaram três diferentes polimorfos da Prednisona utilizando DSC, TG e DTG. Para a fabricação do medicamento comercial é utilizado a Forma I da Prednisona BP/USP. A Forma II da Prednisona foi encontrada a partir da Forma I, onde foi realizada uma recristalização lenta utilizando uma mistura de solventes (água e metanol). A Forma III foi preparada aquecendo-se a Forma II a 130 °C por 24 h. Os autores também utilizaram-se das técnicas de espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), difração de raios X por policristais (XRPD) e microscopia eletrônica de varredura (MEV) para a identificação das três formas da Prednisona. Por DSC, notou-se que houve variação tanto do

ponto de fusão como para a entalpia de fusão para as três formas, como pode ser visto na tabela abaixo.

TABELA 1: DADOS TERMOANALÍTICOS OBTIDOS POR DSC DA AMOSTRA DE PREDNISONA⁸³

	<i>Forma I</i>	<i>Forma II</i>	<i>Forma III</i>
<i>Ponto de fusão (°C)</i>	239,1	245,3	243,0
<i>Entalpia de fusão (J.mol⁻¹)</i>	331(80)	280,8(9,6)	236,7(1,1)
<i>Pureza (%)</i>	99,0(0,7)	92,52(4,0)	98,7(2,5)

Os autores⁸³ ainda comentam que a grande variação no cálculo da pureza para a Forma II é provavelmente de uma cristalização incompleta do fármaco fundido.

Mendes do Prado⁸⁴ e colaboradores realizaram a caracterização estrutural do Cloridrato de Mefloquina, um medicamento utilizado no tratamento da malária. Este fármaco possui propriedades físico-químicas e atividade biológica que são fortemente influenciadas pelas diferentes formas cristalinas que o fármaco pode apresentar. Estas formas podem afetar a estabilidade e, em alguns casos, a biodisponibilidade do medicamento. Foi estudada a presença de um solvente confinado dentro do cristal de Cloridrato de Mefloquina, sabe-se que o solvente pode influenciar na conformação e no arranjo dos átomos na cela unitária. Na literatura são reportadas diversas formas anidras e solvatadas deste medicamento. Desta forma, os autores utilizaram-se de diversas técnicas entre elas o DSC, TG e DTG onde puderam verificar efeitos como perda de massa de forma gradual devido à perda de água e decomposição. No DSC notaram o ponto de fusão seguido de decomposição térmica que é um comportamento similar à forma tetragonal do Cloridrato de Mefloquina. Com os exemplos citados anteriormente, nota-se a importância da análise térmica para a caracterização estrutural de fármacos bem como para a identificação de polimorfos.

3.2.1 CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL (DSC)

A calorimetria exploratória diferencial (DSC) é uma técnica termoanalítica na qual mede-se a diferença de energia em função da temperatura entre a amostra a ser analisada e uma referência (material termicamente inerte) em função da temperatura, quando estas são

submetidas a uma programação controlada de temperatura. Esta técnica possibilita avaliar as variações entálpicas que ocorrem em determinada amostra durante o aquecimento ou resfriamento. A amostra é colocada em um porta amostra (chamado de panela; no caso das amostras aqui estudadas foram utilizadas panelas herméticas) e prensada e a referência é um porta amostra prensado e vazio. Ambos são colocados em um disco termoelétrico e submetidos a um mesmo programa de aquecimento ou arrefecimento, rigorosamente controlado por meio de termopares conectados ao disco. A curva obtida por meio da técnica de DSC representa a quantidade de energia fornecida tanto para a amostra como para referência e não apenas à variação de temperatura. Desta forma, a área sobre o pico, representa a variação de entalpia que ocorre em cada transformação⁸⁵.

Dentre os diversos exemplos já citados, onde a calorimetria exploratória diferencial é utilizada na área farmacêutica, podemos destacar a determinação da pureza de um IFA. São diversas vantagens que fazem do DSC uma atraente técnica para este fim, onde destacamos: rapidez, exatidão, facilidade de execução além de não ser necessária a utilização de padrões certificados. Porém, nem sempre é possível determinar o grau de pureza de um IFA por DSC pois existem algumas restrições quanto a utilização. A análise de pureza utilizando o DSC somente pode ser aplicada em amostras que apresentam intervalos normais de fusão e sem fenômenos adicionais que se sobrepõem com a fusão. Alguns destes fenômenos são: evaporação de impurezas, separação de voláteis (hidratos e solvatos), polimorfismo, distribuição de tamanho de cristal e decomposição térmica. Vale ressaltar que com o aumento da porcentagem de impurezas diminui proporcionalmente a exatidão do resultado do grau de pureza obtido por meio da curva de DSC, uma vez que este método se baseia na presença de pequenas quantidades de impurezas presentes na amostra e levando-se em conta que as impurezas fazem com que a amostra analisada tenha seu ponto de fusão diminuído e seu perfil de pico alargado.

As análises por DSC permitem ao usuário obter informações tanto qualitativas como quantitativas. Assim, podemos calcular a fração molar de impurezas de determinada amostra utilizando a equação de Van 't Hoff⁸⁶ com base em seu ponto de fusão:

$$T_{fusão} = T_0 - X_2 \frac{RT_0^2}{\Delta H_{fusão}} \frac{1}{F}$$

onde:

$T_{fusão}$ = temperatura da amostra durante a fusão (K)

T_0 = ponto de fusão do componente principal ou puro (K)

R = constante dos gases (8,3143 J.K⁻¹.mol⁻¹)

X_2 = fração molar do componente 2 (impurezas) na fase líquida

$\Delta H_{fusão}$ = calor molar de fusão do componente principal (J.mol⁻¹)

F = fração fundida

Para a utilização da equação de Van't Hoff, para determinar o grau de pureza, é necessário previamente realizar experimentos de TG e DSC a fim de averiguar se a amostra está fundindo sem decomposição térmica e a célula deve estar calibrada para uma razão de aquecimento de 1-2 °C min⁻¹. O cálculo de pureza por DSC é aceito pelas farmacopeias (brasileira e americana) e as padronizações de preparação e ensaio podem ser encontrados na Norma ASTM⁸⁷ (*American Society for Testing and Materials*) – órgão americano de padronização.

A calorimetria exploratória diferencial é muitas vezes utilizada para detectar formas polimórficas de IFAs, porque normalmente eles possuem diferentes calores e pontos de fusão⁸⁸. No entanto, assim como qualquer outra técnica analítica, ela deve ser empregada com cuidados em relação as condições experimentais. O uso de várias razões de aquecimento é uma excelente forma de detectar eventos cinéticos, como decomposição ou transformação de uma forma cristalina em outra.

3.2.2 TERMOGRAVIMETRIA (TG)

A necessidade de medir uma série de parâmetros físicos levou ao desenvolvimento de várias técnicas, tais como a análise termogravimétrica (TGA) e a termogravimetria derivativa (DTG). Em ciências farmacêuticas, métodos de análise térmica têm encontrado importantes aplicações. A análise termogravimétrica é uma técnica que envolve a variação da massa de uma amostra aquecida em função da temperatura. É um método eficaz para o estudo da estabilidade térmica e determinação dos parâmetros cinéticos e decomposição do IFA. A TGA pode ser

utilizada no controle de qualidade de medicamentos visando a melhora do produto, decomposição térmica, teor de voláteis, estudos de degradação e higroscopicidade, estudos cinéticos de reações, entre outros. A amostra é submetida a um programa de aquecimento onde, em determinada temperatura, a amostra começa a sofrer degradação térmica e, conseqüentemente, inicia o processo de perda de massa sob a forma de produtos voláteis.

Dois principais pontos devem ser analisados em uma medida de TG: a temperatura inicial (T_i), definida como a menor temperatura onde se inicia a perda de massa, também conhecida como T_{onset} e a temperatura final (T_f), que é a temperatura que indica que o processo de variação de massa foi concluído. Comumente encontramos os gráficos de TG gerados juntamente com sua derivada - a DTG. Estes artifícios são úteis principalmente quando há sobreposição de eventos de perda de massa decorrentes ao tipo de amostra analisada.

O equipamento para realização de medidas de TG é constituído por uma termobalança, um forno, um programador de temperatura e um computador. A termobalança é um instrumento que fornece a pesagem de forma contínua da amostra à medida que a amostra é aquecida ou resfriada. Geralmente, é apresentado um gráfico das curvas de variação de massa (ganho ou perda) em função da temperatura ($^{\circ}\text{C}$ ou K), sendo possível, desta forma, e juntamente com as medidas de DSC, estudar o comportamento térmico dos fármacos.

3.2.3 CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS

Para este trabalho foi utilizado um Calorímetro Exploratório Diferencial DSC Q2000, da TA *Instruments*, na Central Experimental Multiusuário (CEM-UFABC). Este equipamento possui algumas restrições de uso, não podendo ser analisados materiais que contenham elementos da família dos halogênios (flúor, cloro, bromo, iodo e astato), ácidos, bases ou oxidantes voláteis. Para os fármacos que possuem halogênios em sua composição foi utilizado um Calorímetro Exploratório Diferencial 7020 Exstar SII – Seiko e para as análises termogravimétricas (TGA) foi utilizado um TG-DTA:7200 Exstar SII – Seiko, ambos localizados no Laboratório de Desenvolvimento e Inovação Farmacotécnica (DEINFAR), da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo (FCF-USP), este laboratório é coordenado pelo Prof. Dr. Humberto Gomes Ferraz.

As curvas de DSC para este experimento foram realizadas sob atmosfera dinâmica de nitrogênio ($50 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$) e razão de aquecimento de $10 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$. As amostras foram acondicionadas em um porta-amostras hermético utilizando aproximadamente 5-8mg para as amostras realizadas na CEM e 3mg para as amostras realizadas no DEINFAR. A faixa de temperatura utilizada para aquisição dos dados iniciou-se a temperatura ambiente ($25 \text{ }^\circ\text{C}$) até $350 \text{ }^\circ\text{C}$. Para os fármacos onde foi possível realizar análise de pureza foram utilizadas aproximadamente 2mg de amostra sob atmosfera dinâmica de nitrogênio ($50 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$) e razão de aquecimento de $2 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ somente no intervalo entre os picos de fusão.

As curvas de TG para todos os fármacos foram obtidas em atmosfera de nitrogênio ($100 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$) e razão de aquecimento de $10 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$. As amostras foram acondicionadas em um porta-amostra de platina (Pt) e a faixa de temperatura em que os dados foram obtidos iniciaram a temperatura de $25 \text{ }^\circ\text{C}$ até $600 \text{ }^\circ\text{C}$ com aproximadamente 3 mg de amostra.

3.3 MICROCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)

O microscópio eletrônico de varredura tem sua maior aplicação no exame de superfícies rugosas. A fácil visualização e interpretação das imagens é um elemento marcante deste equipamento. São vários os atributos característicos da MEV, tais como: informações sobre morfologia e identificação de elementos químicos de amostras sólidas, com grande profundidade de campo e alta resolução, fácil interpretação das imagens, com aparência tridimensional, entre outros.

O microscópio eletrônico de varredura é composto por uma coluna ótico-eletrônica que contém uma câmara com porta amostra, sistema eletrônico, detectores e um sistema de alto ou baixo vácuo. É uma técnica útil para observar e analisar características microestruturais devido à sua alta resolução (de até 4 nanômetros) e aumento de até 300 mil vezes no caso do microscópio eletrônico de varredura compacto utilizado nas micrografias desta tese.

O canhão de elétrons é responsável por fornecer uma alta corrente de elétrons, estável e com diâmetro pequeno. Os canhões mais utilizados são os de emissão termoiônica de tungstênio (W) e hexaboreto de lantânio (LaB_6) além dos de emissão de campo. Os canhões de elétrons convencionais são compostos basicamente por três componentes: o cátodo, que é

composto pelo filamento de W ou LaB₆ e é o responsável pela emissão de elétrons; o cilindro de Wehnelt (polarizado negativamente, repelindo os elétrons) focaliza, converge e acelera os elétrons emitidos para uma região chamada de *cross over*, situada entre o filamento e o ânodo, que é o último componente⁸⁹.

Outro importante elemento na formação de imagens no MEV é o sistema de lentes magnéticas. A focalização do feixe de elétrons geralmente se dá por meio de lentes magnéticas ou eletrostáticas, fazendo com que a trajetória dos elétrons se modifique pela aplicação de campos elétricos e magnéticos. A função das lentes condensadoras é diminuir o diâmetro do feixe de elétrons que é emitido pelo canhão. As lentes objetivas são as últimas lentes da coluna eletrônica, sendo responsáveis por focalizar a imagem⁹⁰.

A microscopia eletrônica de varredura é uma técnica versátil e está relacionada a várias interações entre o feixe de elétrons liberados pelo canhão e a superfície da amostra a ser analisada. Lembrando que os elétrons são um tipo de radiação eletromagnética, as interações elétron-amostra podem ser divididas em espalhamentos elásticos e inelásticos. O primeiro afeta as trajetórias do feixe de elétrons dentro da amostra sem alterar a energia cinética do elétron - estes são os elétrons retroespalhados. Já o espalhamento inelástico é resultado da transferência de energia do feixe de elétrons para os átomos da amostra, que gera os elétrons secundários, elétrons Auger, raios X contínuo (*Bremsstrahlung*) e característico, pares elétron-buraco em semicondutores e isolantes, fônons e plásmons.

A microscopia é uma das técnicas de análise utilizadas em diversas áreas da ciência para a visualização de aspectos estruturais, superfícies e interfaces. No caso da análise de fármacos pode ser útil para auxiliar na identificação de diferentes formas cristalinas. Um exemplo da utilização da microscopia para a identificação de diferentes polimorfos é o caso do Ritonavir, onde as Formas I e II deste fármaco possuem diferentes hábitos cristalinos.

O Ritonavir é um fármaco antirretroviral inibidor da protease utilizado para o tratamento de pacientes acometidos pelo vírus HIV. Bauer e colaboradores^{22, 91} prepararam e caracterizaram dois polimorfos (Forma I e Forma II) deste fármaco. A Figura 12 apresenta a micrografia com luz polarizada das Formas I e II, respectivamente. Podemos notar que os hábitos cristalinos das duas formas são bem diferentes. A microscopia ótica ou eletrônica permite observar a morfologia de fármacos, sendo uma importante ferramenta para análise preliminar de processos de cristalização e diferentes formas cristalinas como pôde ser verificado no exemplo abaixo.

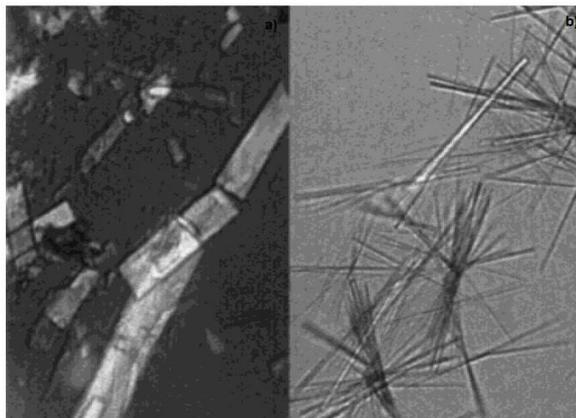


FIGURA 12: FOTOMICROGRAFIA DE MICROSCOPIA ÓPTICA DOS POLIMORFOS DO RITONAVIR. FORMA I (A) E FORMA II (B).²²

3.3.1 CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS

As análises de MEV foram realizadas em um microscópio eletrônico de varredura compacto JMS-6701F, JEOL na Central Experimental Multiusuário (CEM-UFABC). Como as amostras não são condutoras foi necessário recobrir a superfície com ouro utilizando um sputtering. A deposição foi realizada no Laboratório do Departamento de Física Geral localizado no Instituto de Física da Universidade de São Paulo (IFUSP) este laboratório é coordenado pelo Prof. Dr. Pedro Kunihiko Kiyohara.

3.4 ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)

O estudo da interação eletromagnética com a matéria é chamado de espectroscopia. A absorção, emissão e o espalhamento são três formas onde a radiação eletromagnética pode interagir com a matéria. Tanto o espalhamento Raman como a absorção no infravermelho são duas técnicas espectroscópicas onde é estudada a transição das vibrações moleculares.

O espectro eletromagnético é dividido em partes que correspondem aos comprimentos de onda (ou frequência) que têm início nos raios gama e termina nas ondas de rádio. A faixa do espectro que corresponde à radiação infravermelha situa-se entre as regiões das micro-ondas e visível. A radiação infravermelha pode ainda ser subdividida em infravermelho longínquo (10 a 400

cm^{-1}), infravermelho médio (400 a 4000 cm^{-1}) e infravermelho próximo (4000 a 12820 cm^{-1}). Para as análises realizadas nesta tese foram utilizadas frequências de 650 a 4000 cm^{-1} . Podemos apresentar as intensidades das bandas tanto como transmitância (T) como por absorbância (A), uma vez que uma é o inverso logarítmico decimal da outra.

A espectroscopia FTIR é uma técnica versátil, pois oferece seletividade e especificidade. É muito útil para análise de inúmeras substâncias sem a necessidade de um tratamento prévio da amostra. Nos últimos anos tem sido utilizada de forma intensa na indústria farmacêutica, tanto na pesquisa como no controle de qualidade. São muitos os fatores que fazem com que esta técnica seja extensivamente utilizada na indústria farmacêutica como: muitos fármacos absorvem radiação infravermelha; a evolução da técnica em relação à instrumentação e acessórios, fornecendo soluções efetivas para muitos problemas ⁹².

O FTIR tem demonstrado ser uma ferramenta útil para distinguir duas formas polimórficas. Duas formas foram reportadas por Bartolomei⁹³, que exibiu diferenças significativas nas transições vibracionais. A região de impressão digital (*fingerprint*) do espectro diferencia cada forma do espectro e pode ser utilizada na caracterização e identificação de diferentes modificações cristalinas. A Figura 13 mostra o espectro da forma I e II do fármaco Cloridrato de Propranolol no intervalo entre $1700 - 700 \text{ cm}^{-1}$. As bandas específicas para cada forma também são adequadas para identificação de misturas.

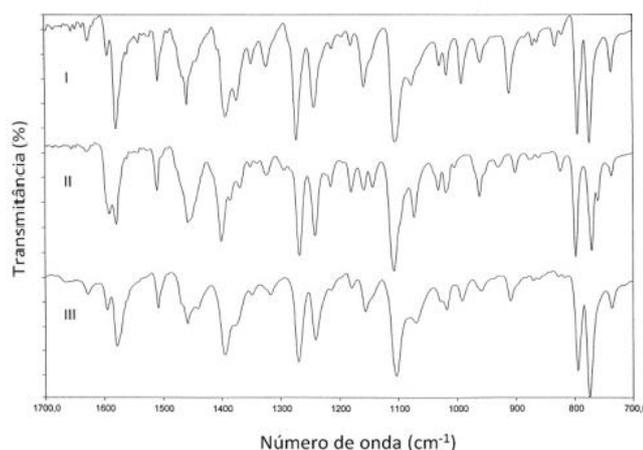


FIGURA 13: ESPECTRO FTIR DA REGIÃO DE IMPRESSÃO DIGITAL PARA OS POLIMORFOS I, II E III DO CLORIDRATO DE PROPRANOLOL A TEMPERATURA AMBIENTE²⁵.

Figueiredo e Ferreira⁹⁴ estudaram as diferentes formas da celulose microcristalina, que é um excipiente muito utilizado na indústria farmacêutica. No processo de produção do medicamento, é importante a utilização da forma cristalina correta, pois pode acarretar diversos problemas na fabricação como incompatibilidade fármaco-excipiente, perdas financeiras ou

acarretar problemas à saúde dos pacientes. Utilizando a FTIR eles conseguiram identificar bandas características das amostras de celulose microcristalina PH-101 e PH-102. Verificaram, também, que a diminuição da banda localizada em 1430 cm^{-1} reflete na redução do grau de cristalinidade da amostra. Olhando o espectro da Figura 14 nota-se que esta banda é mais intensa para a celulose microcristalina PH-102, podendo ser inferido que esta amostra possui maior grau de cristalinidade.

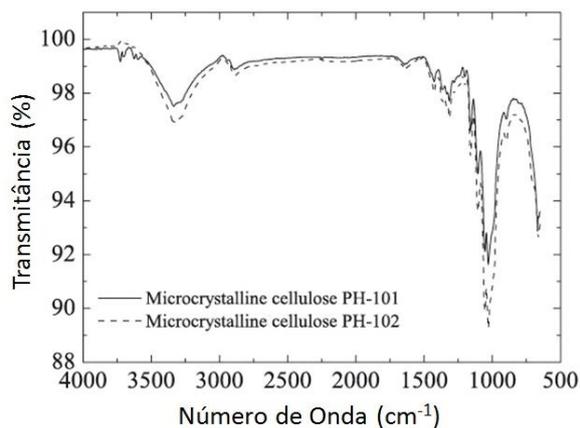


FIGURA 14: ESPECTRO FTIR PARA A CELULOSE MICROCRISTALINA PH-101 E PH-102.⁹⁴

Essa informação foi corroborada com os resultados de difração de raios X por policristais juntamente com o refinamento de Rietveld. Utilizando um padrão interno de Al_2O_3 foi possível calcular a porcentagem de fase amorfa para cada amostra. A celulose microcristalina PH-101 (63,70(11) % de amorfo) tem menor cristalinidade em relação à amostra PH-102 (51,00(11) % de amorfo).

3.4.1 CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS

Neste trabalho as análises de FTIR foram realizadas em um espectrofotômetro PerkinElmer Frontier 100 FT-IR modo de refletância total atenuada (ATR) utilizando um cristal de ZnSe na faixa de 4000 a 650 cm^{-1} e com resolução de 4 cm^{-1} , o equipamento está localizado no Laboratório de espectroscopias eletrônica e óptica, sob responsabilidade da Profa. Dra. Marcia Aparecida da Silva Spinacé na Universidade Federal do ABC (UFABC).

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Neste capítulo serão apresentados e discutidos os resultados, separados por fármacos, de duas farmácias de manipulação da Região de Santo André – SP, bem como dos medicamentos genérico, similar e referência adquiridos em drogarias. Estas farmácias de manipulação serão indicadas por F e S, de modo a manter o sigilo. Por ultimo será apresentado resultados referente a determinação de estrutura do candidato a novo fármaco anti-hipertensivo LASSBio-1289.

4.1 CAPTOPRIL

4.1.1. DIFRAÇÃO DE RAIOS X POR POLICRISTAIS

Na Figura 15 são apresentados os difratogramas de raios X do fármaco Captopril de ambas as farmácias de manipulação. Podemos notar que os difratogramas são semelhantes, tanto na posição dos picos como na intensidade e largura dos mesmos.

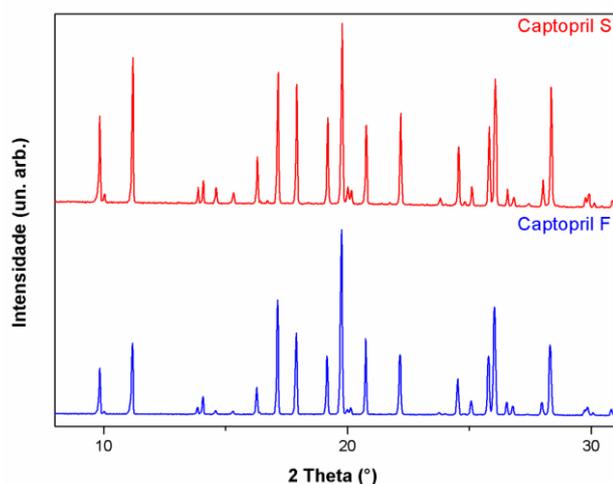


FIGURA 15: DIFRATOGRAMAS DE RAIOS X DO FÁRMACO CAPTOPRIL DE DUAS FARMÁCIAS DE MANIPULAÇÃO: “F” E “S”- AMOSTRAS REALIZADAS EM 2012.

Após a obtenção dos difratogramas de raios X foi realizada uma procura na literatura, incluindo artigos científicos, bases de dados, patentes, etc. para verificação de similaridade

entre os padrões observados. Na base de dados do CSD foram encontrados dois arquivos CIF (*crystallographic information framework*) para o fármaco o Captopril: M CPRPL (grupo espacial $P2_12_12_1$) e M CPRPL01 (grupo espacial $P2_12_12_1$) onde o primeiro se ajusta de forma satisfatória no refinamento da estrutura cristalina, utilizando o método de Rietveld, de ambas as amostras, sendo comprovado pelo índice de qualidade do ajuste, X^2 , e pelos índices R , bem como pelo bom ajuste visual entre os difratogramas observado e calculado. O segundo arquivo CIF (M CPRPL01) foi depositado no banco de dados do CSD por Milan Remko e colaboradores⁵¹, cujo trabalho reporta uma re-determinação de estrutura do fármaco com o mesmo grupo espacial encontrado anteriormente por Fujinaga⁵⁰ em 1980 utilizando dados de difração de raios X por cristais únicos. Na Figura 16 e na Figura 17 são apresentados os difratogramas de raios X experimentais das amostras de Captopril das farmácias F e S, com os arquivos CIFs encontrados no banco de dados do CSD.

É importante ressaltar que o Captopril pode existir em duas conformações através da ligação amida da prolina. A conformação *trans* é a que mais aparece quando comparada com a conformação *cis*. Entretanto, a distribuição entre as conformações *cis* e *trans* é altamente dependente dos estados de protonação do ácido carboxílico e do grupo tiol. Estudos de estrutura-atividade têm mostrado que o Captopril está na conformação *trans* quando ligado à enzima⁴⁹.

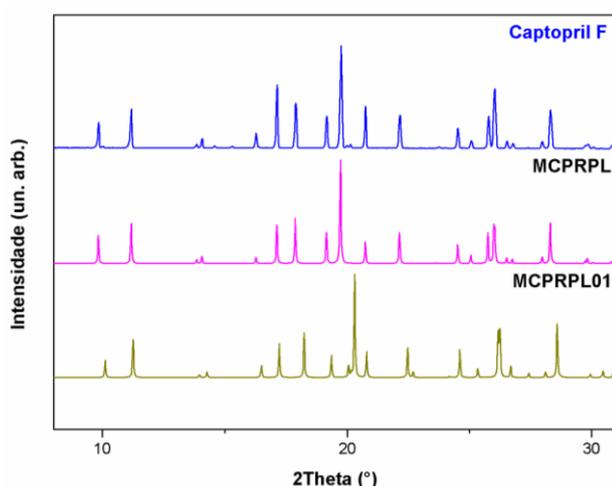


FIGURA 16: DIFRATOGRAMAS DE RAIOS X DO FÁRMACO CAPTOPRIL DA FARMÁCIA F E OS ARQUIVOS CIFs DEPOSITADOS NO BANCO DE DADOS DO CSD.

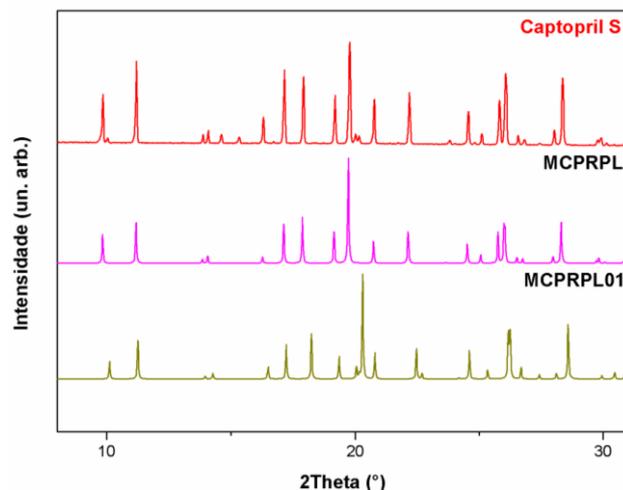


FIGURA 17: DIFRATOGRAMAS DE RAIOS X DO FÁRMACO CAPTOPRIL DA FARMÁCIA S E OS ARQUIVOS CIF DEPOSITADOS NO BANCO DE DADOS DO CSD.

A Tabela 2 apresenta as informações cristalográficas disponíveis nos arquivos CIFs como os parâmetros de rede, volume, grupo espacial e sistema cristalino do Captopril.

TABELA 2: INFORMAÇÕES CRISTALOGRAFICAS DO CAPTOPRIL

	<i>M CPRPL</i>	<i>M CPRPL01</i>
<i>a</i> (Å)	8.811(1)	6.8001(1)
<i>b</i> (Å)	17.984(2)	8.8015(2)
<i>c</i> (Å)	6.837(1)	17.4805(3)
α (°)	90	90
β (°)	90	90
γ (°)	90	90
Volume (Å ³)	1083.37	1046.23(3)
Grupo Espacial	<i>P</i> 2 ₁ 2 ₁ 2 ₁	<i>P</i> 2 ₁ 2 ₁ 2 ₁
Sistema Cristalino	Ortorrômico	Ortorrômico

A Figura 18 apresenta as diferenças entre os difratogramas do fármaco Captopril da farmácia S, sendo o difratograma em preto referente à medida realizada em 2012, em verde à medida realizada em 2013, em azul a medida realizada em 2014 e em rosa a medida realizada em 2015. Em 2012, foi utilizado um passo de 1.05° (2 θ) e um tempo de integração de 30

segundos por passo; em 2013 e 2014 foi utilizado o mesmo passo, porém com um tempo de integração de 60 segundos por passo, melhorando a estatística de contagem.

Além da diferença nas intensidades dos picos, podemos notar que algumas reflexões aparecem nos dados obtidos em 2013 - 2015 e estão ausentes na amostra medida em 2012. Foram realizados os refinamentos de Rietveld para todas as amostras, os quais serão apresentados mais adiante.

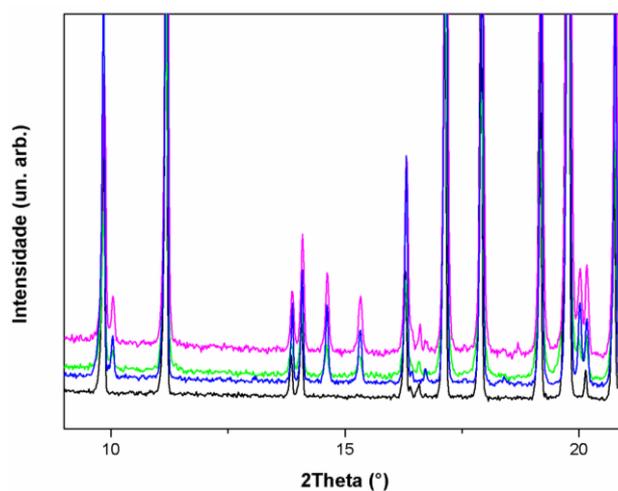


FIGURA 18: DIFRATOGRAMAS DE RAIOS X DO FÁRMACO CAPTOPRIL DA FARMÁCIA S COMPARANDO AS MEDIDAS REALIZADAS NOS ANOS DE 2012 (PRETO), 2013 (VERDE), 2014 (AZUL) E 2015(LILÁS).

A Figura 19 apresenta a comparação entre os difratogramas das amostras medidas em 2012 (preto), 2013 (verde), 2014 (azul) e 2015 (rosa) para o Captopril proveniente da farmácia F. Assim como comentado no caso anterior, foram realizados os refinamentos de Rietveld para todas as amostras. As condições experimentais para as amostras provenientes de ambas as farmácias foram as mesmas.

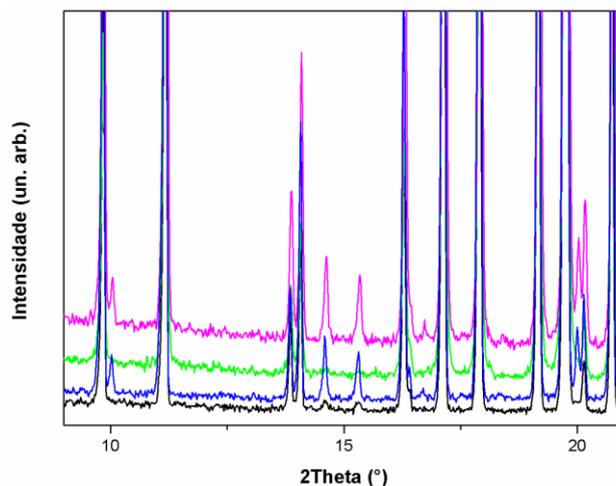


FIGURA 19: DIFRATOGRAMAS DE RAIOS X DO FÁRMACO CAPTOPRIL DA FARMÁCIA F COMPARANDO AS MEDIDAS REALIZADAS NOS ANOS DE 2012 (PRETO), 2013 (VERDE), 2014 (AZUL) E 2015(LILÁS).

A Figura 20 mostra o gráfico de Rietveld para a amostra de Captoril da farmácia F, cuja medida fora realizada em 2014, utilizando o arquivo CIF MCPRL⁵⁰. Podemos notar que o gráfico se ajusta de forma satisfatória, com exceção de alguns picos indicados pela seta em vermelho.

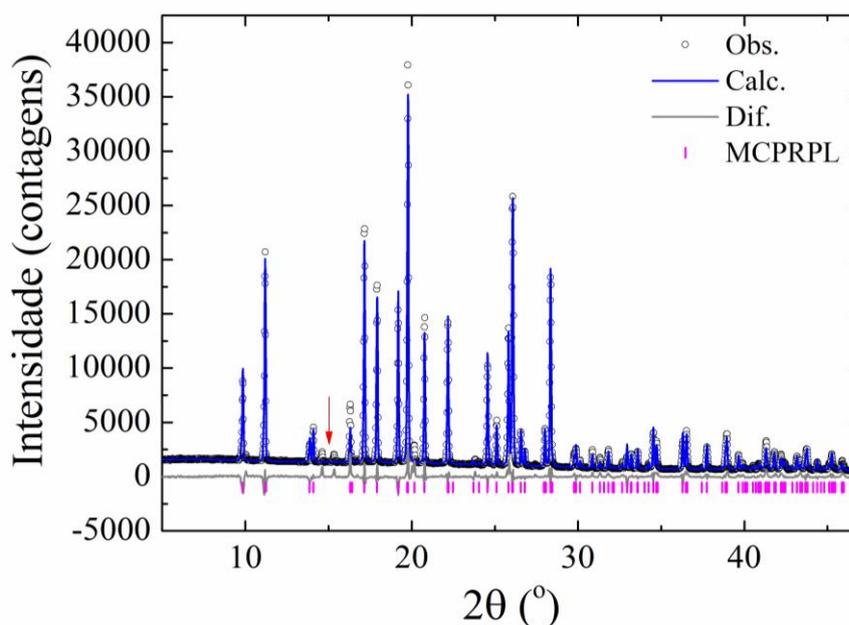


FIGURA 20: GRÁFICO DE RIETVELD DO FÁRMACO CAPTOPRIL (F) TRITURADO 2014. CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS: 1.05° (2θ), TEMPO DE INTEGRAÇÃO 60 SEG/PASSO. A LINHA EM AZUL É O DIFRATOGRAMA CALCULADO, OS CÍRCULOS EM PRETO O DIFRATOGRAMA OBSERVADO E AS LINHAS EM CINZA SÃO AS DIFERENÇAS ENTRE AMBOS, AS BARRAS EM ROSA MOSTRAM OS PICOS DE BRAGG.

Sabe-se que o Captoril é propenso a sofrer degradação oxidativa⁴⁹. O Captoril degrada-se em solução com formação de quantidades consideráveis de seu dímero. Porém, se o IFA for formulado com excipientes que liberem umidade, ou ainda se for armazenado em

ambiente onde haja umidade e/ou temperaturas elevadas, poderá ocorrer a formação de seu produto de degradação: o dissulfeto de captopril ($C_{18}H_{28}N_2O_6S_2$).

Recentemente, foi publicado um artigo por Milan Remko e colaboradores⁵¹ (*Captopril and its dimer captopril disulfide: comparative structural and conformational studies*) onde foi descrita a determinação de estrutura do produto de degradação do Captopril (CIF: YOZTIS). Desta forma, para os difratogramas onde não foi possível identificar todos os picos foi realizado o refinamento de Rietveld utilizando o arquivo CIF do dissulfeto de Captopril para verificar se o IFA havia sofrido degradação durante o armazenamento. A Figura 21 mostra o gráfico de Rietveld do Captopril da farmácia F (amostra 2014) juntamente com o seu dímero, ou seja, no refinamento foram utilizadas as informações estruturais dessas duas fases. Podemos notar que os picos que antes não eram refinados agora se encontram identificados.

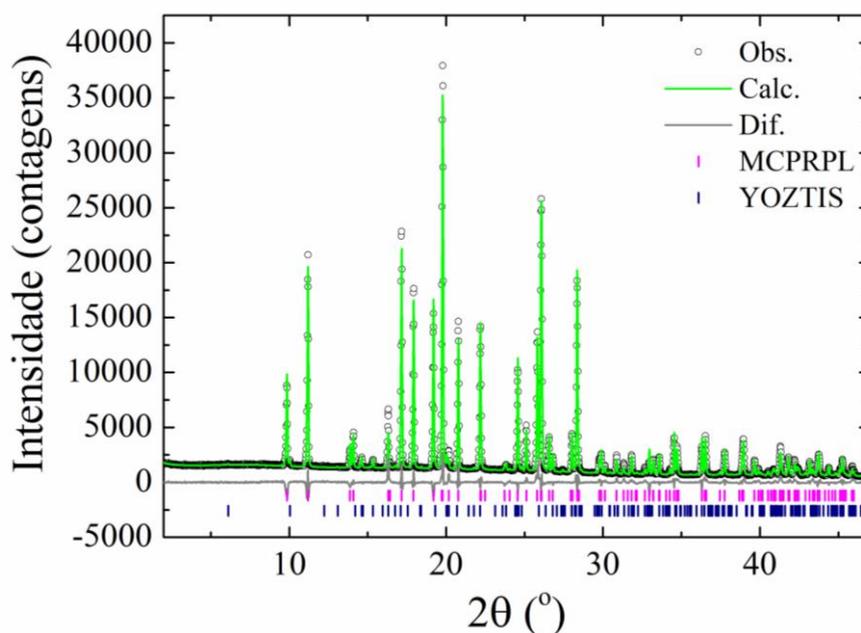


FIGURA 21: GRÁFICO DE RIETVELD DO FÁRMACO CAPTOPRIL (F) TRITURADO 2014 CONSIDERANDO O DÍMERO. CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS: 1.05° (2θ), TEMPO DE INTEGRAÇÃO 60 SEG/PASSO. A LINHA EM VERDE É O DIFRATOGRAMA CALCULADO, OS CÍRCULOS EM PRETO O DIFRATOGRAMA OBSERVADO E A LINHA EM CINZA SÃO AS DIFERENÇAS ENTRE AMBOS. AS BARRAS VERTICAIS EM ROSA MOSTRAM OS PICOS DE BRAGG PARA CAPTOPRIL E AS BARRAS EM AZUL INDICAM OS PICOS DE BRAGG PARA O DISSULFETO DE CAPTOPRIL.

Utilizando o método de Rietveld foi possível quantificar 3,50(21) % referente ao produto de degradação presente na amostra e 96,50(21) % de Captopril.

A Tabela 3 indica os índices estatísticos R^{76} referente aos refinamentos de Rietveld das amostras de Captopril (2014) utilizando o CIF do dissulfeto de Captopril. Nota-se, tanto

visualmente como pelos índices, que o Captopril sofreu degradação enquanto estava armazenado.

TABELA 3: ÍNDICES DE QUALIDADE DO FÁRMACO CAPTOPRIL F – AMOSTRA 2014

	R_{wp}	R_{exp}	$R_{Bragg-ifa}$	$R_{Bragg-dimero}$	X^2
<i>Captopril</i> ₂₀₁₄	8,419	2,600	5,088	-	3,238
<i>Captopril</i> ₂₀₁₄	7,473	2,594	4,964	4,843	2,736

Na Figura 22 e na Figura 23 são apresentados os gráficos de Rietveld para as amostras de Captopril da farmácia F utilizando os dados das medidas realizadas em 2013 (Figura 22) e em 2012 (Figura 23). Podemos perceber que, nestes casos, não houve degradação do fármaco uma vez que o modelo foi ajustado de forma satisfatória.

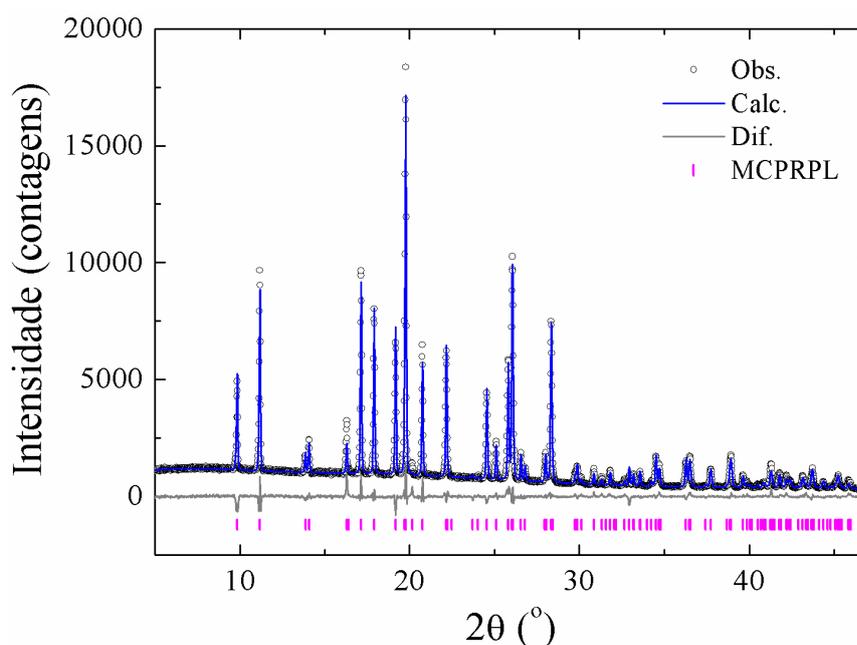


FIGURA 22: GRÁFICO DE RIETVELD DO FÁRMACO CAPTOPRIL (F) TRITURADO 2013. CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS: 1.05° (2θ), TEMPO DE INTEGRAÇÃO 60 SEG/PASSO. A LINHA EM AZUL É O DIFRATOGRAMA CALCULADO, OS CÍRCULOS EM PRETO O DIFRATOGRAMA OBSERVADO E A LINHA EM CINZA INDICA A DIFERENÇA ENTRE AMBOS. AS BARRAS VERTICAIS EM ROSA MOSTRAM OS PICOS DE BRAGG. $R_{wp} = 6,409\%$; $R_{exp} = 3,350\%$; $R_{BRAGG} = 4,075\%$; $X^2 = 1,913$.

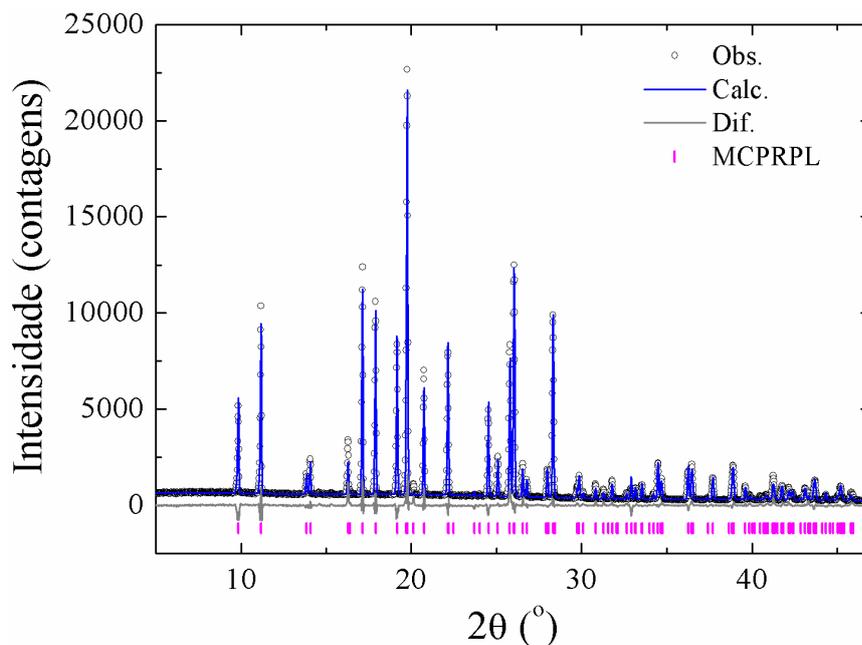


FIGURA 23: GRÁFICO DE RIETVELD DO FÁRMACO CAPTOPRIL (F) TRITURADO 2012. CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS: 1.05° (2θ), TEMPO DE INTEGRAÇÃO 60 SEG/PASSO. A LINHA EM AZUL É O DIFRATOGRAMA CALCULADO, OS CÍRCULOS EM PRETO O DIFRATOGRAMA OBSERVADO E A LINHA EM CINZA INDICA A DIFERENÇA ENTRE AMBOS. AS BARRAS VERTICAIS EM ROSA MOSTRAM OS PICOS DE BRAGG. $R_{WP} = 9,464\%$; $R_{EXP} = 3,856\%$; $R_{BRAGG} = 6,345\%$; $X^2 = 2,454$.

A Figura 24 apresenta o gráfico de Rietveld para a amostra de Captopril S cuja medida foi realizada em 2014. Assim como no exemplo anterior, notamos alguns picos que não foram adequadamente ajustados com o arquivo CIF referente ao IFA. Desta forma, foi realizado um novo refinamento de Rietveld agora incluindo o arquivo CIF referente ao produto de degradação (Figura 25). Nota-se que o modelo foi ajustado de forma adequada.

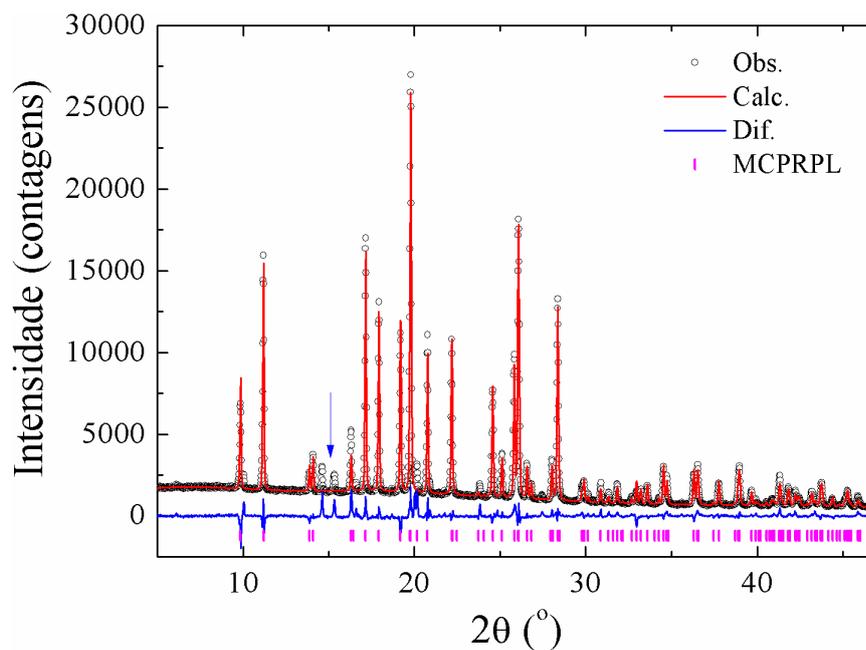


FIGURA 24: GRÁFICO DE RIETVELD DO FÁRMACO CAPTOPRIL (S) TRITURADO 2014. CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS: 1.05° (2θ), TEMPO DE INTEGRAÇÃO 60 SEG/PASSO. A LINHA EM VERMELHO É O DIFRATOGRAMA CALCULADO, OS CÍRCULOS EM PRETO O DIFRATOGRAMA OBSERVADO E A LINHA EM AZUL INDICA A DIFERENÇA ENTRE AMBOS. AS BARRAS VERTICAIS EM ROSA MOSTRAM OS PICOS DE BRAGG.

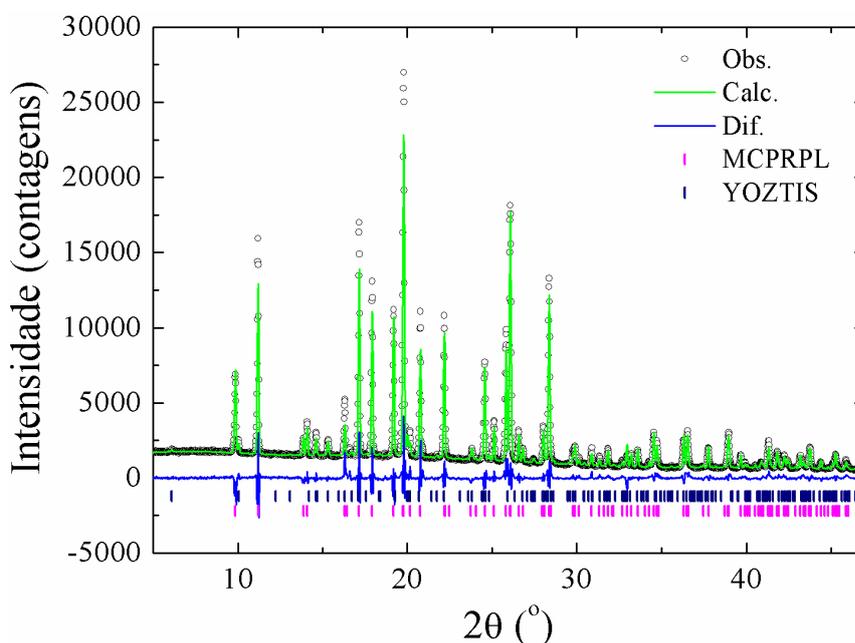


FIGURA 25: GRÁFICO DE RIETVELD DO FÁRMACO CAPTOPRIL (S) TRITURADO 2014 CONSIDERANDO O DÍMERO. CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS: 1.05° (2θ), TEMPO DE INTEGRAÇÃO 60 SEG/PASSO. A LINHA EM VERDE É O DIFRATOGRAMA CALCULADO, OS CÍRCULOS EM PRETO O DIFRATOGRAMA OBSERVADO E A LINHA EM AZUL INDICA A DIFERENÇA ENTRE AMBOS. AS BARRAS VERTICAIS EM ROSA MOSTRAM OS PICOS DE BRAGG PARA CAPTOPRIL E AS BARRAS EM AZUL INDICAM OS PICOS DE BRAGG PARA O DISSULFETO DE CAPTOPRIL.

A Tabela 4 indica os índices estatísticos, R , referentes aos refinamentos de Rietveld para as amostras de Captopril da farmácia S cujas medidas foram realizadas no ano de 2014. Além

do ajuste visual, por meio destes valores podemos concluir que a amostra da farmácia S em 2014 sofreu degradação, sendo 6,10(29) % referente ao seu produto de degradação e 93,90(29)% referente ao Captopril. Segundo a Farmacopéia Brasileira⁹⁵, o limite máximo especificado para a forma farmacêutica comprimido é de 3% de dissulfeto de Captopril⁹⁶.

TABELA 4: ÍNDICES DE QUALIDADE DO FÁRMACO CAPTOPRIL S – AMOSTRA 2014

	R_{wp}	R_{exp}	$R_{Bragg-ifa}$	$R_{Bragg-dimero}$	χ^2
<i>Captopril</i> ₂₀₁₄	8,188	2,655	4,469	-	3,084
<i>Captopril</i> ₂₀₁₄	6,152	2,646	4,111	2,880	2,325

Ao contrário da amostra da farmácia F, na farmácia S, para o ano de 2013, foi necessário também realizar o refinamento de Rietveld utilizando o arquivo CIF referente ao dissulfeto de Captopril.

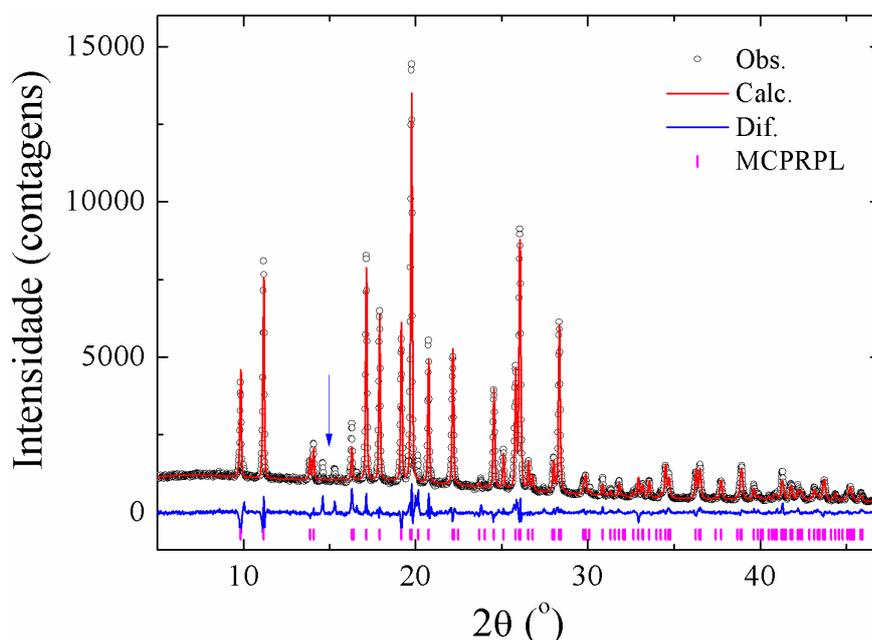


FIGURA 26: GRÁFICO DE RIETVELD DO FÁRMACO CAPTOPRIL (S) TRITURADO 2013. CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS: 1.05° (2θ), TEMPO DE INTEGRAÇÃO 60 SEG/PASSO. A LINHA EM VERMELHO É O DIFRATOGRAMA CALCULADO, OS CÍRCULOS EM PRETO O DIFRATOGRAMA OBSERVADO E AS LINHAS EM AZUL SÃO AS DIFERENÇAS ENTRE AMBOS, AS BARRAS MOSTRAM OS PICOS DE BRAGG.

A Figura 26 e a Figura 27 apresentam os gráficos de Rietveld referentes aos refinamentos utilizando somente o arquivo do IFA (Figura 26) e com o arquivo do dissulfeto (Figura 27). Percebe-se que o difratograma que melhor se ajustou foi o da Figura 27, indicando a presença do dissulfeto de Captopril na amostra referente ao ano de 2013.

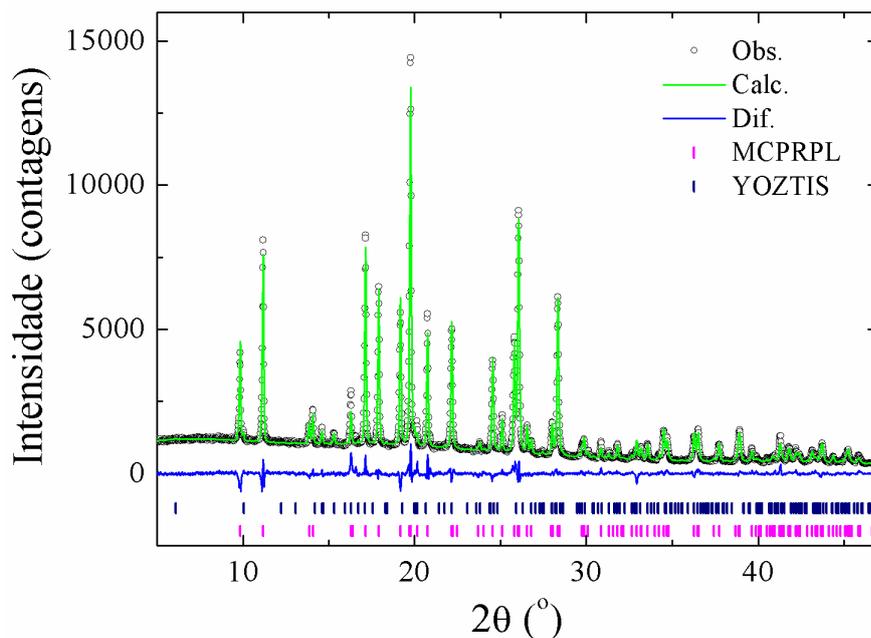


FIGURA 27: GRÁFICO DE RIETVELD DO FÁRMACO CAPTOPRIL (S) TRITURADO 2013 CONSIDERANDO O DÍMERO. CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS: 1.05° (2θ), TEMPO DE INTEGRAÇÃO 60 SEG/PASSO. A LINHA EM VERDE É O DIFRATOGRAMA CALCULADO, OS CÍRCULOS EM PRETO O DIFRATOGRAMA OBSERVADO, A LINHA EM AZUL É A DIFERENÇA ENTRE AMBOS. AS BARRAS VERTICAIS EM ROSA MOSTRAM OS PICOS DE BRAGG PARA CAPTOPRIL E AS BARRAS EM AZUL INDICAM OS PICOS DE BRAGG PARA O DISSULFETO DE CAPTOPRIL.

A Tabela 5 apresenta os valores dos índices R referentes à amostra de Captopril realizada no ano de 2013. Na amostra realizada em 2013, 96,05(21)% é referente ao Captopril e 3,95(21)% é referente ao dímero.

TABELA 5: ÍNDICES DE QUALIDADE DO FÁRMACO CAPTOPRIL S – AMOSTRA 2013

	R_{wp}	R_{exp}	$R_{Bragg-IFA}$	$R_{Bragg-dímero}$	χ^2
<i>Captopril</i> ₂₀₁₃	6,658	3,308	3,708	-	2,013
<i>Captopril</i> ₂₀₁₃	5,775	3,296	3,577	2,390	1,752

A Figura 28 apresenta o gráfico de Rietveld para a amostra de Captopril da farmácia S realizada no ano de 2012. Podemos notar que neste caso não foi necessário incluir no refinamento o arquivo de entrada referente ao dissulfeto de Captopril, indicando que o fármaco não sofreu degradação.

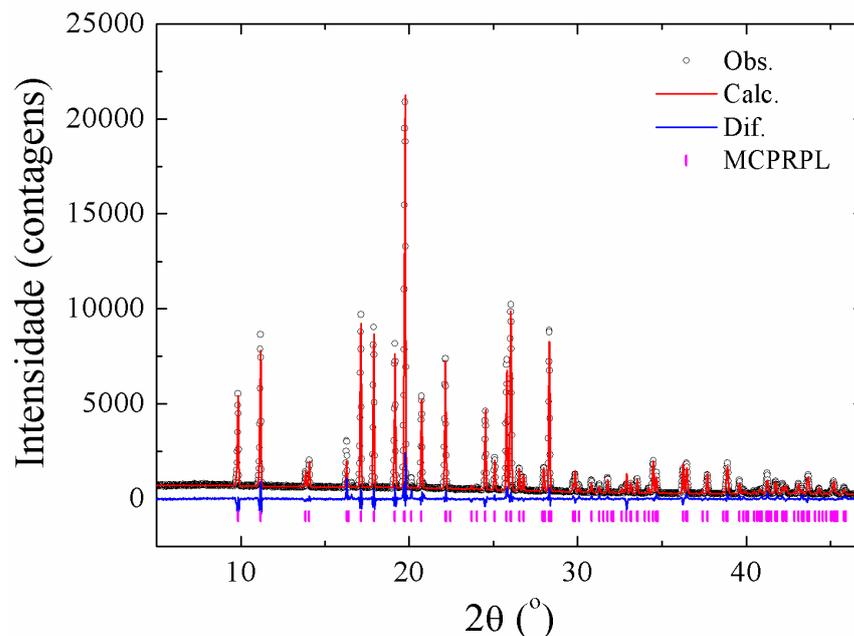


FIGURA 28: GRÁFICO DE RIETVELD DO FÁRMACO CAPTOPRIL (S) TRITURADO 2012. CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS: 1.05° (2θ), TEMPO DE INTEGRAÇÃO 60 SEG/PASSO. A LINHA EM VERMELHO É O DIFRATOGRAMA CALCULADO, OS CÍRCULOS EM PRETO O DIFRATOGRAMA OBSERVADO E A LINHA EM AZUL SÃO AS DIFERENÇAS ENTRE AMBOS, AS BARRAS MOSTRAM OS PICOS DE BRAGG. $R_{WP} = 9,053\%$; $R_{EXP} = 3,958\%$; $R_{BRAGG} = 4,778\%$; $X^2 = 2,287$.

O medicamento Captopril é comercializado em comprimidos revestidos de 12,5 mg, 25 mg e 50 mg. Neste trabalho foi utilizada a composição de 25 mg com 20-30 comprimidos revestidos em cada embalagem. O medicamento de referência é o Capoten[®], comercializado pela Bristol-Myers Squibb. Porém, este medicamento não foi analisado pois estava fora do mercado. Foram adquiridos os medicamentos similar, que é comercializado como Captomed[®], do laboratório Grupo Cimed, e o genérico, da Medley. Na Tabela 6 é apresentada a lista dos medicamentos: genérico (G) e similar (S), na forma de comprimidos, que foram analisados com a informação dos excipientes que constam em suas bulas.

TABELA 6: EXCIPIENTES DOS MEDICAMENTOS GENÉRICO (G) E SIMILAR (S) DO MEDICAMENTO CAPTOPRIL

<i>Excipientes</i>	<i>Captopril G</i>	<i>Captopril S</i>
<i>ácido esteárico</i>	X	X
<i>croscarmelose sódica</i>	X	
<i>lactose monoidratada</i>	X	
<i>lactose</i>		X
<i>corante amarelo tartrazina</i>		

<i>amido</i>	X	X
<i>celulose microcristalina</i>	X	X
<i>dióxido de silício coloidal</i>		X
<i>dióxido de silício</i>	X	

A Figura 29 mostra o gráfico de Rietveld para o medicamento genérico. Foi incluído no refinamento, como arquivo de entrada o CIF, aquele correspondente à lactose. Nota-se que o refinamento foi satisfatório, podendo ser corroborado pela Tabela 7, onde são indicados os índices estatísticos para o refinamento. É importante salientar que com o uso da difração de raios X por policristais aliada ao método de Rietveld pudemos inferir que o princípio ativo está presente no medicamento analisado (barras verticais em rosa representadas na Figura 29). Pequenas bandas não foram satisfatoriamente sobrepostas possivelmente devido à presença de alguns excipientes amorfos que se fazem presentes na composição do medicamento.

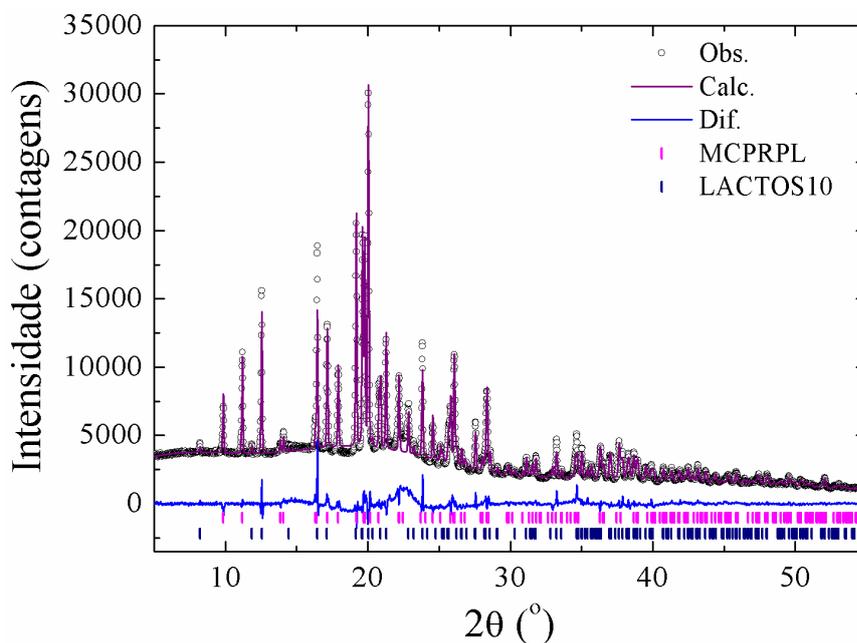


FIGURA 29: GRÁFICO DE RIETVED DO MEDICAMENTO CAPTOPRIL GENÉRICO MEDLEY. CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS: 1.05° (2θ), TEMPO DE INTEGRAÇÃO 60 SEG/PASSO. A LINHA EM LILÁS É O DIFRATOGRAMA CALCULADO, OS CÍRCULOS EM PRETO O DIFRATOGRAMA OBSERVADO E A LINHA EM AZUL SÃO AS DIFERENÇAS ENTRE AMBOS, AS BARRAS EM ROSA MOSTRAM OS PICOS DE BRAGG PARA O IFA E AS BARRAS EM AZUL REFEREM-SE A LACTOSE.

Não foi realizado um estudo de quantificação de fase amorfa, porém é possível inferir que a parte cristalina presente na amostra é majoritariamente composta pela lactose ~60,25(43)% e o princípio ativo corresponde a ~39,75(43)%.

TABELA 7: ÍNDICES DE QUALIDADE DO MEDICAMENTO GENÉRICO MEDLEY

	R_{wp}	R_{exp}	R_{Bragg}	χ^2
<i>M CPRPL</i>	6,512	1,807	3,206	3,604
<i>LACTOS10</i>	6,512	1,807	4,084	3,604

A Figura 30 apresenta o gráfico de Rietveld para a amostra de Captopril Similar utilizando além do arquivo CIF do IFA, os arquivos referente aos excipientes ácido esteárico e lactose. Fazendo uma análise visual, juntamente com os valores encontrados na Tabela 8, podemos concluir que o refinamento foi satisfatório e o princípio ativo referente ao Captopril está presente no medicamento similar.

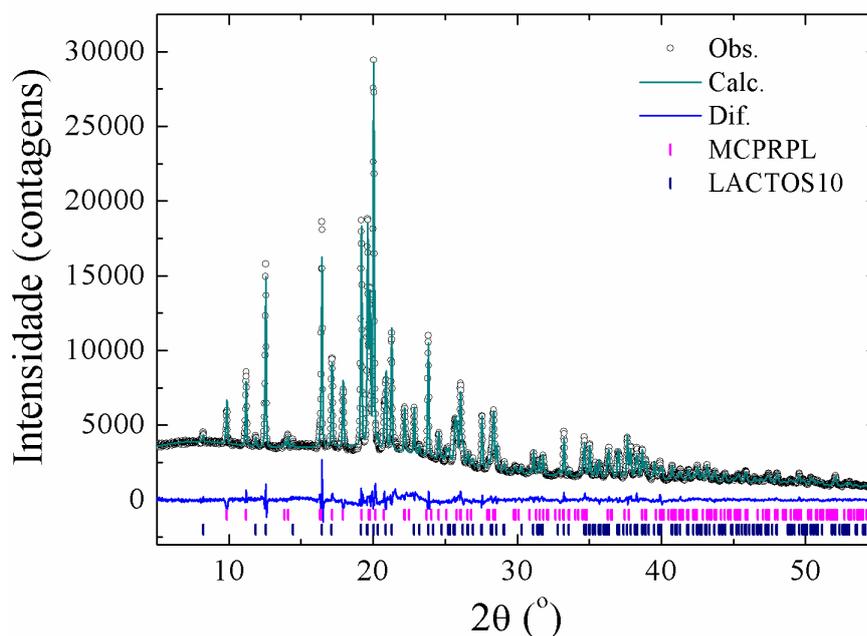


FIGURA 30: GRÁFICO DE RIETVED DO MEDICAMENTO SIMILAR CIMED. CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS: 1.05° (2 θ), TEMPO DE INTEGRAÇÃO 60 SEG/PASSO. A LINHA EM VERDE É O DIFRATOGRAMA CALCULADO, OS CÍRCULOS EM PRETO O DIFRATOGRAMA OBSERVADO E A LINHA EM AZUL SÃO AS DIFERENÇAS ENTRE AMBOS, AS BARRAS MOSTRAM OS PICOS DE BRAGG: IFA (ROSA) E LACTOSE (AZUL).

Assim como no medicamento anterior, a fase que se apresenta em maior quantidade é a correspondente a lactose com ~77,08(50)% e o insumo farmacêutico ativo com ~22,92(45)%.

TABELA 8: ÍNDICES DE QUALIDADE DO MEDICAMENTO SIMILAR CIMED

	R_{wp}	R_{exp}	R_{Bragg}	χ^2
<i>M CPRPL</i>	4,790	1,890	2,140	2,535
<i>LACTOSIO</i>	4,790	1,890	1,382	2,535

4.1.2 ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER

Os espectros de infravermelho do Captopril (Figura 31 e Figura 32) apresentam algumas frequências características do fármaco. Os picos em 2981 e 2949 cm^{-1} são atribuídos à vibração do estiramento assimétrico do CH_3 e CH_2 , e o pico em 2877 cm^{-1} é referente ao estiramento simétrico do CH_3 . O pico em 2567 cm^{-1} indica a presença do grupo SH. Os picos em 1747 e 1591 cm^{-1} são atribuídos à vibração de estiramento C=O da carbonila e da banda amida, respectivamente. Os picos em 1469 e 1385 cm^{-1} estão relacionados com a vibração da flexão assimétrica e simétrica do CH_3 . Os picos entre 1228 e 1200 cm^{-1} correspondem às vibrações de estiramento do C-O e CN respectivamente⁴⁸.

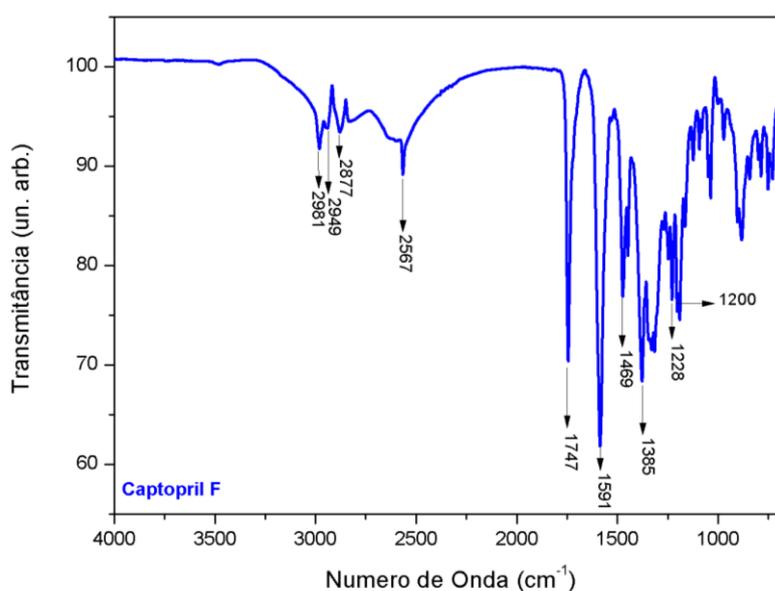


FIGURA 31: ESPECTRO FTIR DO CAPTOPRIL F, OBTIDO COM RESOLUÇÃO DE 4 cm^{-1} NA REGIÃO DE 4000 A 650 cm^{-1} .

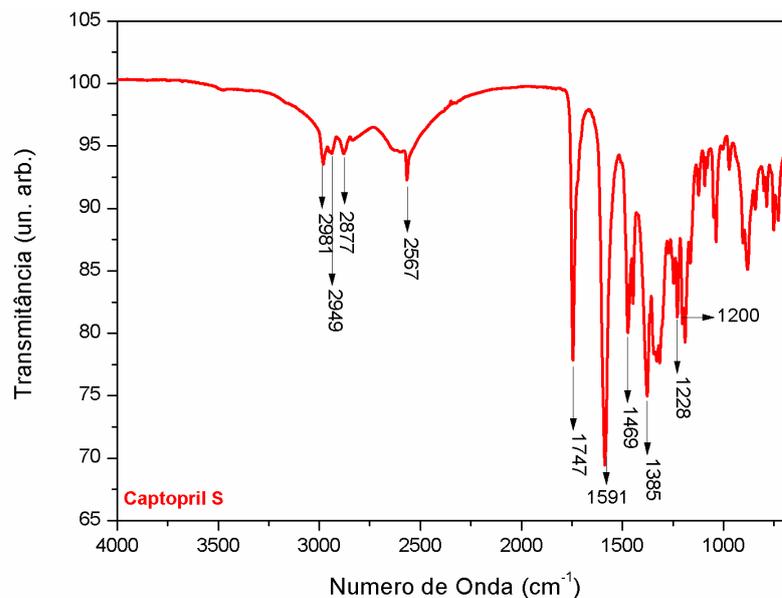


FIGURA 32: ESPECTRO FTIR DO CAPTOPRIL S, OBTIDO COM RESOLUÇÃO DE 4CM⁻¹ NA REGIÃO DE 4000 A 650 CM⁻¹.

4.1.3 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA

A Figura 33 apresenta as imagens de MEV do princípio ativo Captopril bem como a predição de estrutura do fármaco utilizando o algoritmo BFDH (Bravais, Friedel, Donnay and Harker)⁹⁷⁻⁹⁹. A morfologia do cristal utilizando o BFDH é uma aproximação com base nas informações geométricas cristalográficas encontradas no cristal utilizando o BFDH é uma aproximação com base nas informações geométricas cristalográficas encontradas no arquivo CIF. Para uma dada estrutura, o algoritmo BFDH irá prever o hábito ou forma do cristal utilizando informações da cela unitária e operadores de simetria. Podemos notar em ambas amostras uma morfologia similar em formato retangular irregular. Próximo dos grãos maiores nota-se pequenos agregados. A imagem da predição morfológica corrobora com os dados encontrados nas micrografias.

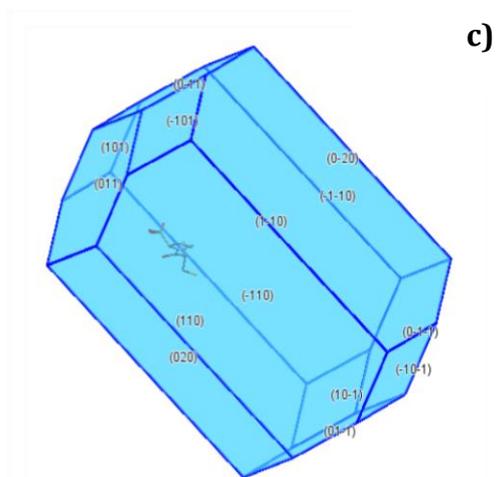
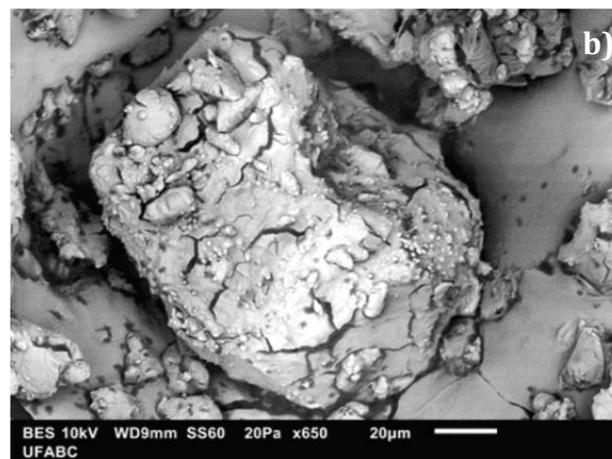
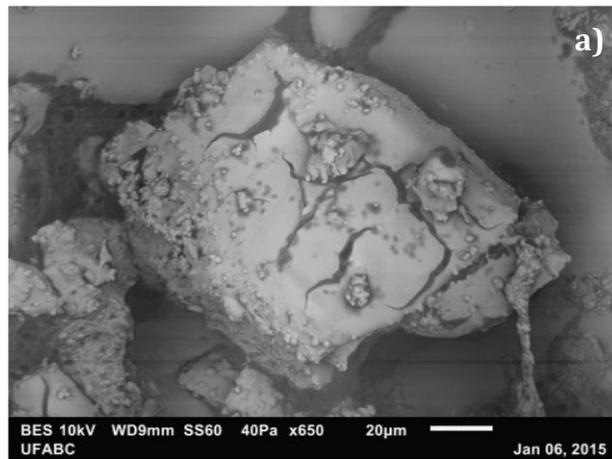


FIGURA 33: MICROGRAFIAS DAS AMOSTRAS DO FÁRMACO CAPTOPRIL: F (A) E S (B); PREDIÇÃO DA MORFOLOGIA DO CAPTOPRIL PELO MODELO BFDH⁹⁷⁻⁹⁹ UTILIZANDO O ARQUIVO CIF MCPRPL (C) E O SOFTWARE MERCURY®.

4.1.4 ANÁLISE TÉRMICA

A Figura 34 e a Figura 35 apresentam as curvas de TG/DTG e DSC da amostra de Captopril da farmácia F. Analisando as curvas na Figura 34 é possível verificar que o Captopril da farmácia F é termicamente estável até aproximadamente 98,91 °C; após esta temperatura inicia-se o processo de decomposição térmica do material em três eventos que podem ser vistos pela curva da DTG. O primeiro evento ocorre em 264,27 °C (DTG), com perda de massa de $\Delta m = 80,86\%$; o segundo e terceiro eventos ocorrem em 344,63 °C e 405,56 °C (DTG), respectivamente, com perda de massa $\Delta m = 15,84\%$. Estes dois eventos estão sobrepostos na curva da TG, dificultado o cálculo individual de perda de massa. Ainda, pode-se observar que ao final do experimento houve um teor de resíduo de aproximadamente 3,30%. Podemos ainda verificar um pequeno evento endotérmico em 105,06 °C, possivelmente devido ao início da fusão do princípio ativo, evento este que não ocorre perda de massa.

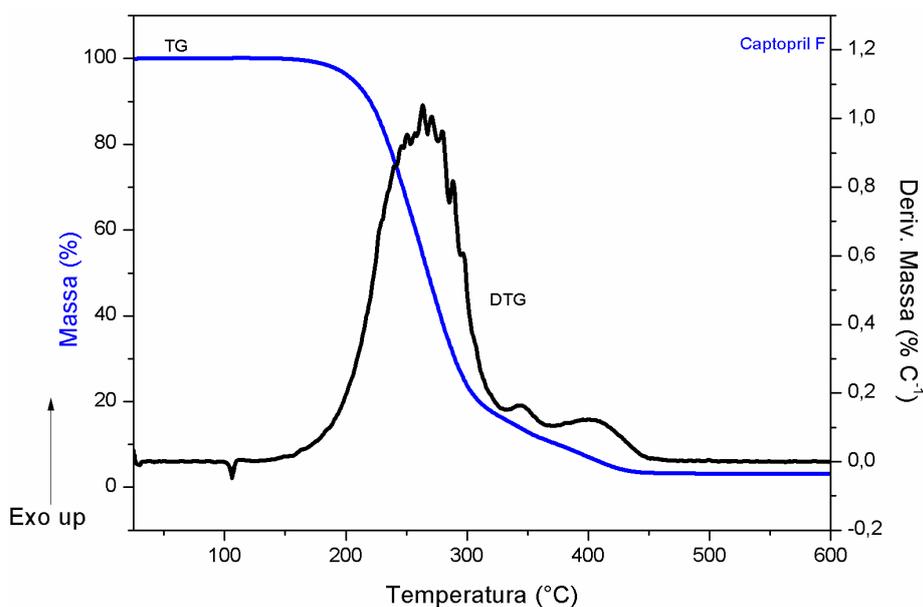


FIGURA 34: CURVA TG/DTG DA AMOSTRA DE CAPTOPRIL F, OBTIDA A 10°C.MIN⁻¹, SOB ATMOSFERA DINÂMICA DE N₂ (100ML.MIN⁻¹), COM MASSA DA AMOSTRA DE APROXIMADAMENTE 3 MG.

Na curva de DSC da amostra de Captopril F (Figura 35) foi observado um evento endotérmico em 109,07 °C (T_{pico}), na amostra realizada em 2013, e em 107,47°C (T_{pico}), na amostra realizada em 2015. Ambos os eventos são referentes à fusão do Captopril. Possivelmente, este deslocamento no ponto de fusão do princípio ativo das amostras realizadas em 2013 e 2015 deve-se ao fato de haver uma pequena fração do dissulfeto de Captopril presente na segunda amostra.

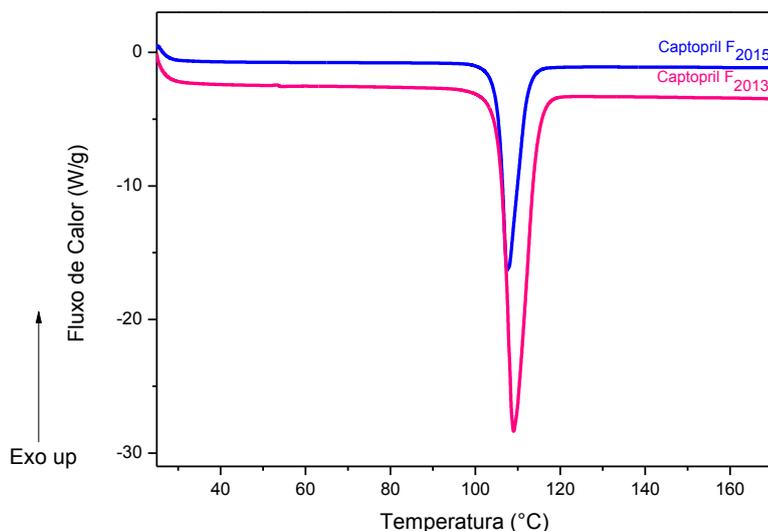


FIGURA 35: CURVA DSC DA AMOSTRA DE CAPTOPRIL F (2015 EM AZUL E 2013 EM ROSA), OBTIDA A $10^{\circ}\text{C}\cdot\text{MIN}^{-1}$, SOB ATMOSFERA DINÂMICA DE N_2 ($50\text{ML}\cdot\text{MIN}^{-1}$) COM MASSA DA AMOSTRA DE APROXIMADAMENTE 3 MG.

A Tabela 9 e a Tabela 10 exemplificam as temperaturas iniciais e finais de cada evento térmico, identificados nas curvas de TG/DTG e DSC da amostra de Captopril F.

TABELA 9: DADOS TERMOANALÍTICOS OBTIDOS POR TG/DTG DA AMOSTRA DE CAPTOPRIL DA FARMÁCIA F

	$T_{\text{onset}} (^{\circ}\text{C})$	$T_{\text{endset}} (^{\circ}\text{C})$	Δm (%)
<i>Evento 1</i>	185,29	306,52	80,86
<i>Evento 2-3</i>	308,52	433,39	15,84

TABELA 10: DADOS TERMOANALÍTICOS OBTIDOS POR DSC DA AMOSTRA DE CAPTOPRIL DA FARMÁCIA F

<i>Amostras</i>	$T_{\text{onset}} (^{\circ}\text{C})$	$T_{\text{pico}} (^{\circ}\text{C})$	ΔH (kJ mol^{-1})	<i>Pureza</i> (%)	<i>Ponto de fusão</i> ($^{\circ}\text{C}$)
<i>F</i> 2013	105,95	109,07	26,95	99,42	107,82
<i>F</i> 2015	105,31	107,47	31,07	99,62	106,28
<i>Literatura</i> ⁴⁸	105,93	108,26	27,70	-	106,00

A Figura 36 e a Figura 37 representam as curvas de TG/DTG e DSC, respectivamente, da amostra de Captopril proveniente da farmácia S. Analisando a Figura 36 é possível verificar que o Captopril S é termicamente estável até aproximadamente $94,78^{\circ}\text{C}$. Após essa

temperatura, quatro eventos térmicos relacionados à decomposição térmica da amostra são observados. O primeiro evento em 111,20 °C (DTG) provavelmente refere-se à evaporação de algum solvente presente na amostra, porém em pequena quantidade, por isso houve apenas um pequeno deslocamento na linha de base da curva de TG, não ocorrendo perda de massa significativa. O segundo e o terceiro eventos ocorrem em 243,46 °C e 271,67 °C (DTG), respectivamente, e eles aparecem sobrepostos na curva de TG, não sendo possível separar as perdas de massas para cada um dos eventos – em conjunto possuem perda de massa de $\Delta m = 87\%$. O último evento ocorre em 374,47 °C (DTG), com perda de massa de $\Delta m = 13\%$. Para esta amostra não houve resíduo.

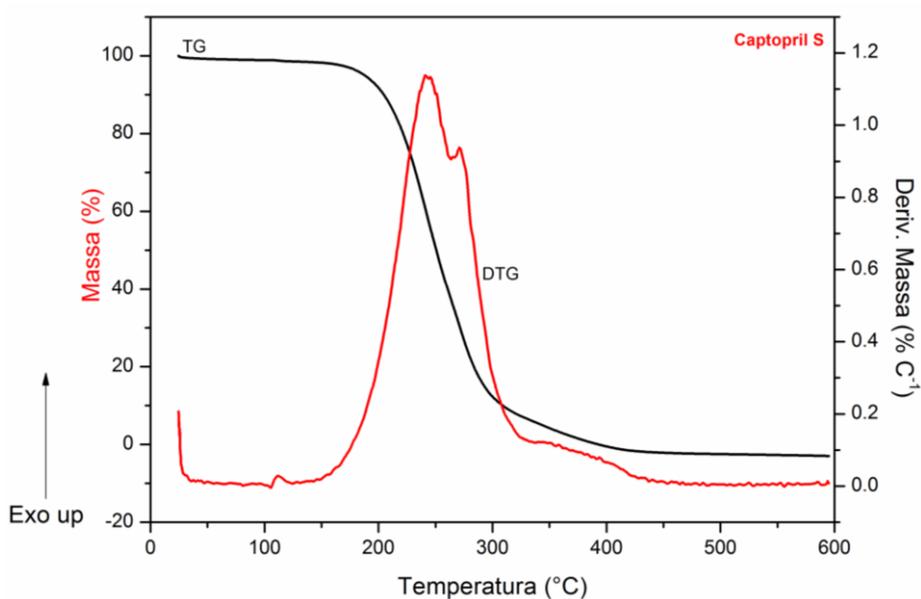


FIGURA 36: CURVA TG/DTG DA AMOSTRA DE CAPTOPRIL S, OBTIDA A 10 °C.MIN⁻¹, SOB ATMOSFERA DINÂMICA DE N₂ (100ML.MIN⁻¹), COM MASSA DA AMOSTRA DE APROXIMADAMENTE 3 MG.

Na curva de DSC da amostra de Captopril da farmácia S foi observado um evento endotérmico em 107,24 °C (T_{pico}), para a medida realizada em 2015, e em 108,12 °C (T_{pico}), para a medida realizada em 2013.

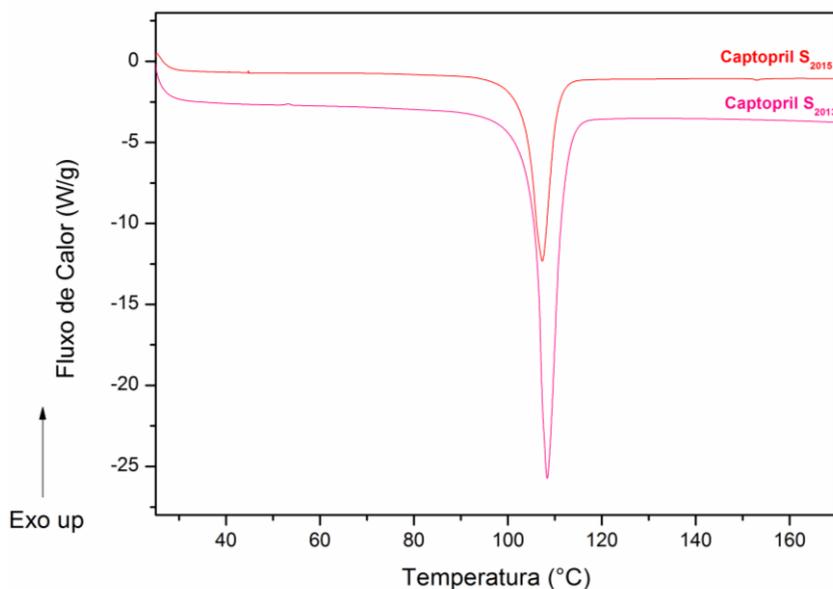


FIGURA 37: CURVA DE DSC DA AMOSTRA DE CAPTOPRIL S (2015 EM VERMELHO E 2013 EM ROSA), OBTIDA A $10^{\circ}\text{C}\cdot\text{MIN}^{-1}$, SOB ATMOSFERA DINÂMICA DE N_2 ($50\text{ML}\cdot\text{MIN}^{-1}$) COM MASSA DA AMOSTRA DE APROXIMADAMENTE 3 MG.

As tabelas 11 e 12 exemplificam as temperaturas iniciais e finais de cada evento térmico demonstrados nas curvas de TG/DTG e DSC da amostra de Captopril S.

TABELA 11: DADOS TERMOANALÍTICOS OBTIDOS POR TG/DTG DA AMOSTRA DE CAPTOPRIL DA FARMÁCIA S

	T_{onset} ($^{\circ}\text{C}$)	T_{endset} ($^{\circ}\text{C}$)	Δm (%)
<i>Evento 1</i>	185,29	306,52	80,86
<i>Evento 2-3</i>	308,52	433,39	15,84

TABELA 12: DADOS TERMOANALÍTICOS OBTIDOS POR DSC DA AMOSTRA DE CAPTOPRIL DA FARMÁCIA S

<i>Amostras</i>	T_{onset} ($^{\circ}\text{C}$)	T_{pico} ($^{\circ}\text{C}$)	ΔH (kJ mol^{-1})	<i>Pureza</i> (%)	<i>Ponto de fusão</i> ($^{\circ}\text{C}$)
<i>S₂₀₁₃</i>	85,20	109,07	26,95	99,42	107,82
<i>S₂₀₁₅</i>	103,65	107,31	24,79	98,46	106,93
<i>Literatura⁴⁸</i>	105,93	108,26	27,70	-	106,00

Assim como no caso anterior, possivelmente este deslocamento no ponto de fusão para o Captopril nas medidas realizadas em 2013 e 2015 deve-se ao fato do Captopril, na segunda

amostra, ter degradado. Este fato corrobora com as informações obtidas nas medidas de DRXP realizadas e do refinamento de Rietveld, que demonstraram que para ambas as amostras, após 2 anos de armazenamento, houve degradação.

4.2 MALEATO DE ENALAPRIL

4.2.1 DIFRAÇÃO DE RAIOS X POR POLICRISTAIS

Para o Maleato de Enalapril são reportados na base de dados do *Cambridge Structural Database* (CSD) três arquivos CIF's, sendo estes: DIVHOF (grupo espacial $P2_1$ - monoclinico), DIVHOF01 (grupo espacial $P2_1$ - monoclinico) e DIVHOF02 (grupo espacial $P2_12_12_1$ - ortorrômbico), sendo o último o que melhor se ajustou aos difratogramas observados.

Serão apresentados os resultados do princípio ativo Maleato de Enalapril das farmácias de manipulação F e S. Para este fármaco, foi realizada uma análise adicional sobre a influência da luz em amostras de princípio ativo para estudar se a incidência de radiação poderia induzir transição polimórfica no fármaco. Na literatura há relatos de transição polimórficas para o Maleato de Enalapril em solução¹⁰⁰⁻¹⁰². O intuito de realizar o estudo sobre fotodegradação do Maleato de Enalapril é saber se ocorre o mesmo fenômeno em estado sólido. As amostras irradiadas foram separadas da seguinte forma: controle (sem exposição à luz), 24 h, 48 h, 72 h, 96 h, 168 h e 240 h. A exposição à luz das amostras foi realizada no Laboratório de Desenvolvimento e Inovação Farmacotécnica, coordenado pelo prof. Dr. Humberto Gomes Ferraz, na Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo (USP). A câmara foi desenvolvida no próprio laboratório do Prof. Ferraz e permite um controle de temperatura com estabilidade de ± 1 °C.

Na Figura 38 são apresentados os difratogramas do fármaco Maleato de Enalapril das duas farmácias de manipulação. Na Figura 39 e na Figura 40 são mostrados os difratogramas de raios X do princípio ativo de cada farmácia com os arquivos CIF's encontrados no banco de dados do CSD. O arquivo que apresenta um melhor modelo teórico é o DIVHOF02 e será utilizado como arquivo de entrada para todos os refinamentos de Rietveld.

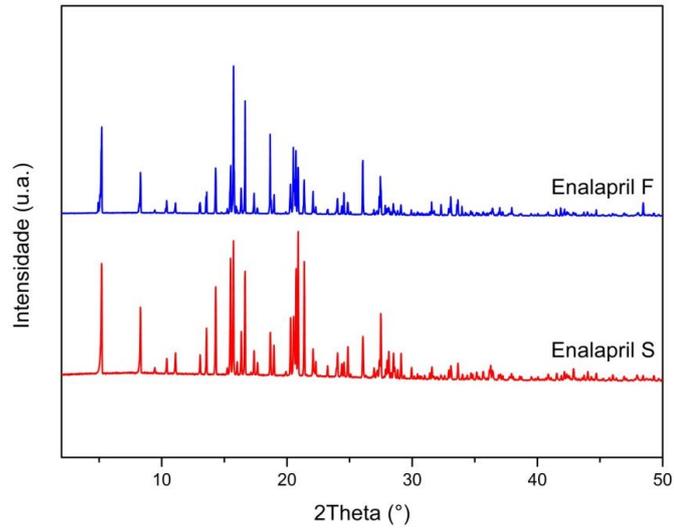


FIGURA 38: DIFRATOGRAMAS DE RAIOS X (NORMALIZADOS) DO FÁRMACO MALEATO DE ENALAPRIL DE DUAS FARMÁCIAS DE MANIPULAÇÃO: “F” E “S”.

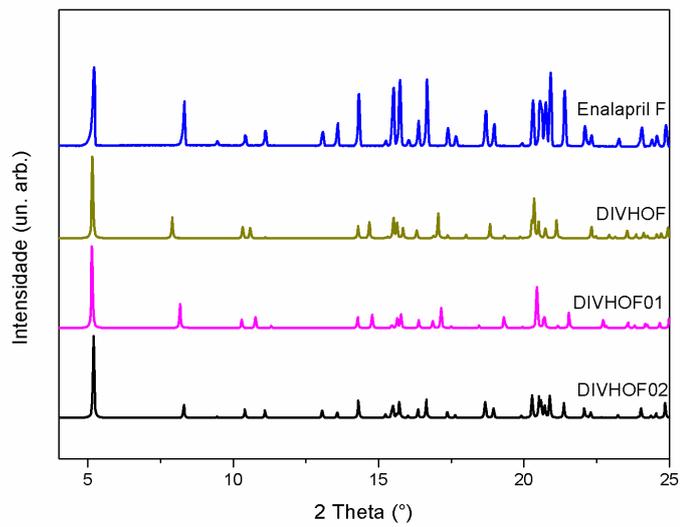


FIGURA 39: DIFRATOGRAMAS DE RAIOS X (NORMALIZADOS) DO FÁRMACO MALEATO DE ENALAPRIL F, COMPARADOS COM AS FICHAS DEPOSITADAS NO CSD.

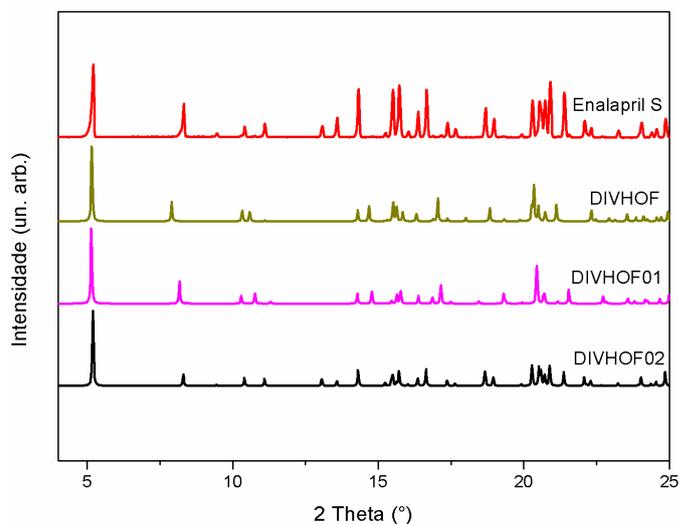


FIGURA 40: DIFRATOGRAMAS DE RAIOS X (NORMALIZADOS) DO FÁRMACO MALEATO DE ENALAPRIL S, COMPARADOS COM AS FICHAS DEPOSITADAS NO CSD.

A Tabela 13 apresenta as informações cristalográficas dos arquivos CIFs referente ao fármaco Maleato de Enalapril como parâmetros de rede, volume, grupo espacial e sistema cristalino.

TABELA 13: INFORMAÇÕES CRISTALOGRÁFICAS DO MALEATO DE ENALAPRIL

	<i>DIVHOF</i>	<i>DIVHOF01</i>	<i>DIVHOF02</i>
<i>a</i> (Å)	17,838(4)	11,224(4)	33,990(<1)
<i>b</i> (Å)	6,640(2)	6,645(2)	11,211(<1)
<i>c</i> (Å)	11,649(3)	17,824(5)	6,642(<1)
α (°)	90	90	90
β (°)	106,29(2)	105,52(3)	90
γ (°)	90	90	90
<i>Volume</i>	1324,37	1280,90	2530,96
<i>Grupo Espacial</i>	<i>P</i> 2 ₁	<i>P</i> 2 ₁	<i>P</i> 2 ₁ 2 ₁ 2 ₁
<i>Sistema Cristalino</i>	Monoclínico	Monoclínico	Ortorrômico

Na Figura 41 e na Figura 42 estão apresentados os gráficos de Rietveld para as amostras dos princípios ativos das farmácias F e S. Podemos perceber que, para ambas as amostras, os

difratogramas observado e calculado foram sobrepostos satisfatoriamente, indicando que o modelo estrutural considerado é o correto.

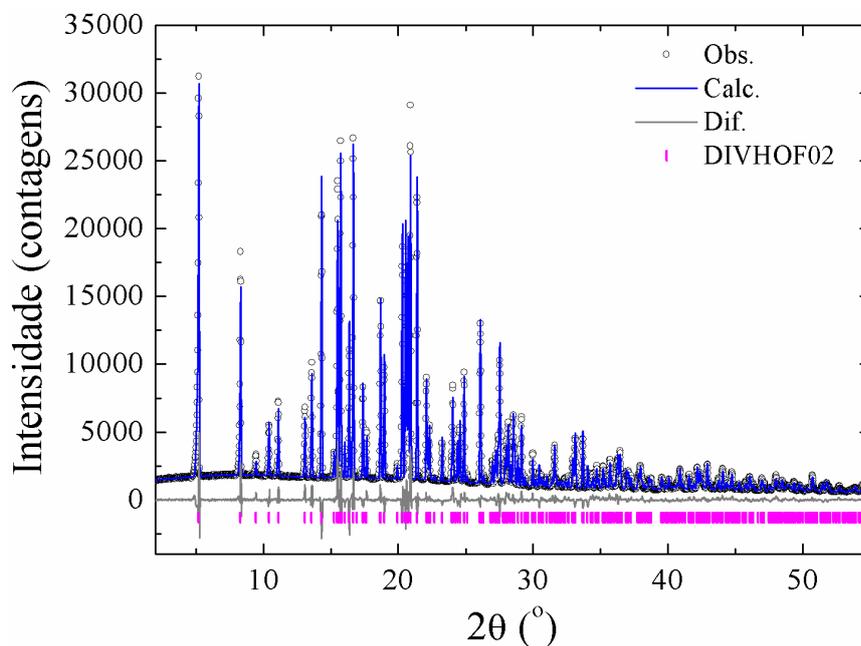


FIGURA 41 REFINAMENTO DE RIETVELD DO MALEATO DE ENALAPRIL F, ONDE O PADRÃO CALCULADO ESTÁ REPRESENTADO PELA LINHA AZUL, O PADRÃO OBSERVADO PELOS CÍRCULOS PRETO, A DIFERENÇA ENTRE OS PADRÕES OBSERVADO E CALCULADO PELA LINHA CINZA E AS POSIÇÕES DOS PICOS DE BRAGG PELAS BARRAS EM ROSA. $R_{WP} = 8,096\%$; $R_{EXP} = 2,282\%$; $R_{BRAGG} = 5,628\%$; $X^2 = 3,548$.

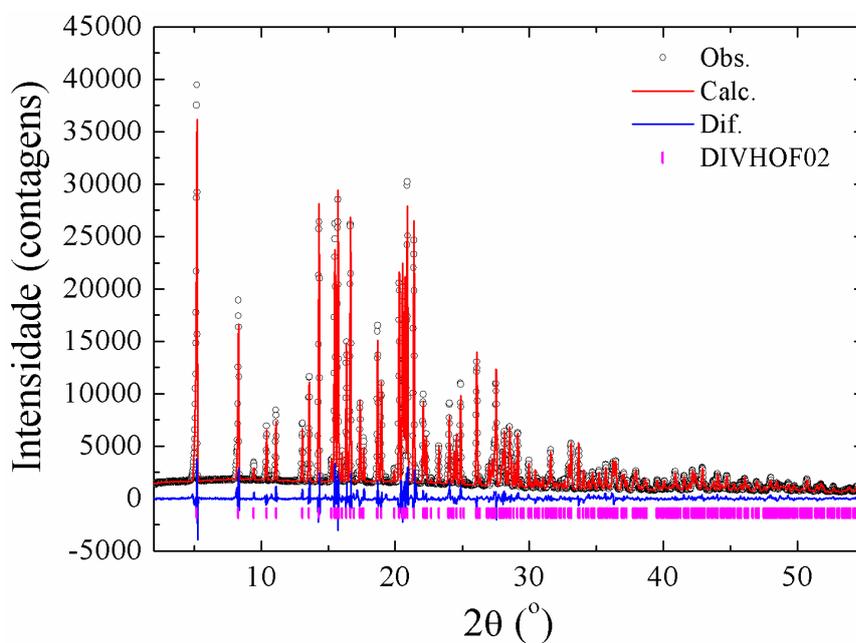


FIGURA 42: REFINAMENTO DE RIETVELD DO MALEATO DE ENALAPRIL S, ONDE O PADRÃO CALCULADO ESTÁ REPRESENTADO PELA LINHA VERMELHA, O PADRÃO OBSERVADO PELOS CÍRCULOS EM PRETO, A DIFERENÇA ENTRE OS PADRÕES OBSERVADO E CALCULADO PELA LINHA AZUL E AS POSIÇÕES DOS PICOS DE BRAGG PELAS BARRAS EM ROSA. $R_{WP} = 8,507\%$; $R_{EXP} = 2,194\%$; $R_{BRAGG} = 4,291\%$; $X^2 = 3,867$.

Da Figura 43 até a Figura 49 são apresentados os gráficos de Rietveld das amostras que foram irradiadas em diferentes intervalos de tempo, mantendo-se constante a potência da radiação. Utilizando como base a amostra Controle, e comparando os difratogramas com as amostras irradiadas em diferentes tempos, não é possível notar diferença nos difratogramas, sendo possível concluir que a radiação não ocasionou transformação polimórfica nas amostras. Para o refinamento de Rietveld foi utilizado o mesmo arquivo CIF das amostras das farmácias de manipulação. Como é reportado na literatura que após certo tempo estocado o princípio ativo pode sofrer degradação, foram realizadas novas medidas de difração de raios X a fim de detectar possíveis produtos de degradação do fármaco Maleato de Enalapril, mas os difratogramas mantiveram o mesmo padrão.

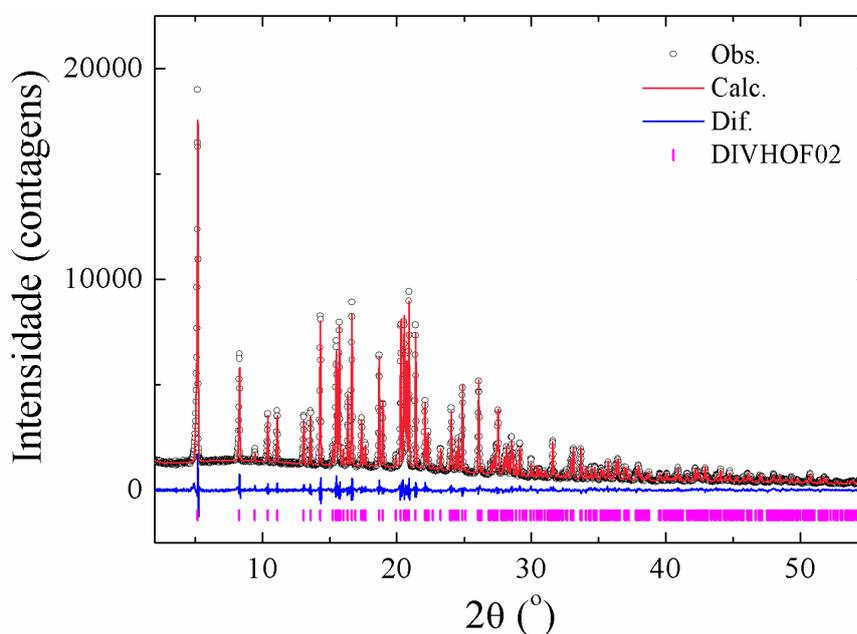


FIGURA 43: REFINAMENTO DE RIETVELD DA AMOSTRA CONTROLE, ONDE O PADRÃO CALCULADO ESTÁ REPRESENTADO PELA LINHA VERMELHA, O PADRÃO OBSERVADO PELOS CÍRCULOS EM PRETO, A DIFERENÇA ENTRE OS PADRÕES OBSERVADO E CALCULADO PELA LINHA AZUL E AS POSIÇÕES DOS PICOS DE BRAGG PELAS BARRAS EM ROSA. $R_{WP} = 5,500\%$; $R_{EXP} = 3,086\%$; $R_{BRAGG} = 1,980\%$; $X^2 = 1,782$.

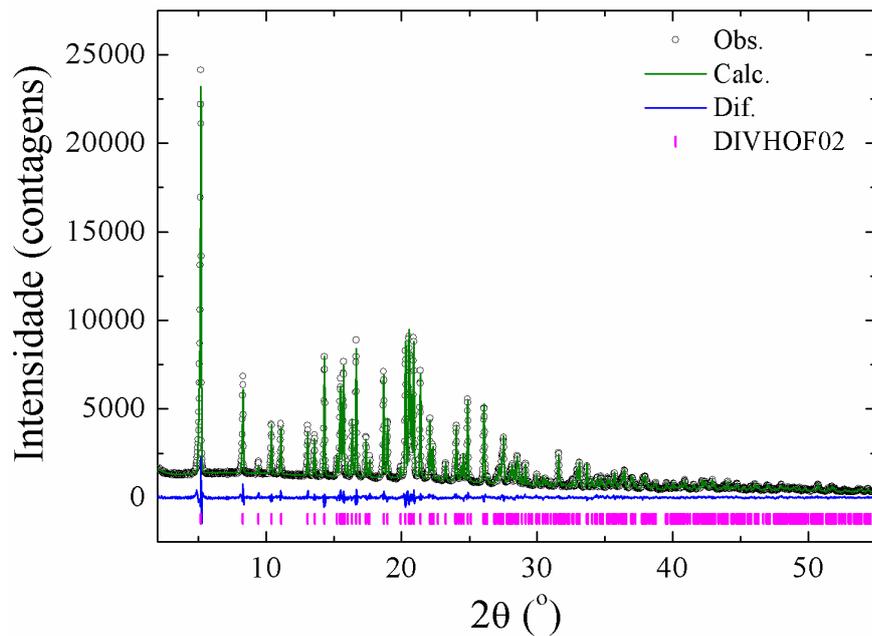


FIGURA 44: REFINAMENTO DE RIETVELD DA AMOSTRA 24H, ONDE O PADRÃO CALCULADO ESTÁ REPRESENTADO PELA LINHA VERDE, O PADRÃO OBSERVADO PELOS CÍRCULOS EM PRETO, A DIFERENÇA ENTRE OS PADRÕES OBSERVADO E CALCULADO PELA LINHA AZUL E AS POSIÇÕES DOS PICOS DE BRAGG PELAS BARRAS EM ROSA. $R_{WP} = 4,947\%$; $R_{EXP} = 2,962$; $R_{BRAGG} = 1,704$; $X^2 = 1,670$.

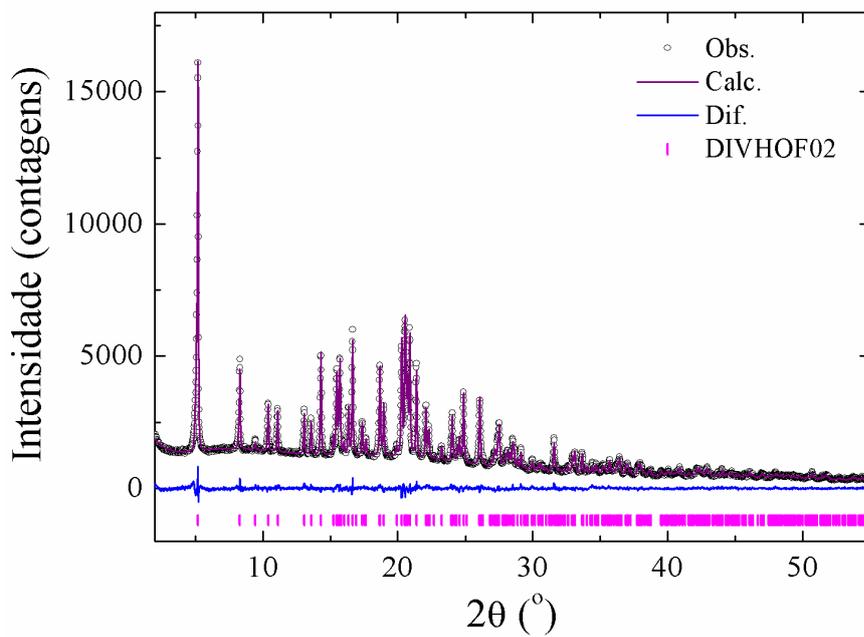


FIGURA 45: REFINAMENTO DE RIETVELD DA AMOSTRA 48H, ONDE O PADRÃO CALCULADO ESTÁ REPRESENTADO PELA LINHA LILÁS, O PADRÃO OBSERVADO PELOS CÍRCULOS EM PRETO, A DIFERENÇA ENTRE OS PADRÕES OBSERVADO E CALCULADO PELA LINHA AZUL E AS POSIÇÕES DOS PICOS DE BRAGG PELAS BARRAS EM ROSA. $R_{WP} = 3,759$; $R_{EXP} = 3,022$; $R_{BRAGG} = 1,483$; $X^2 = 1,244$.

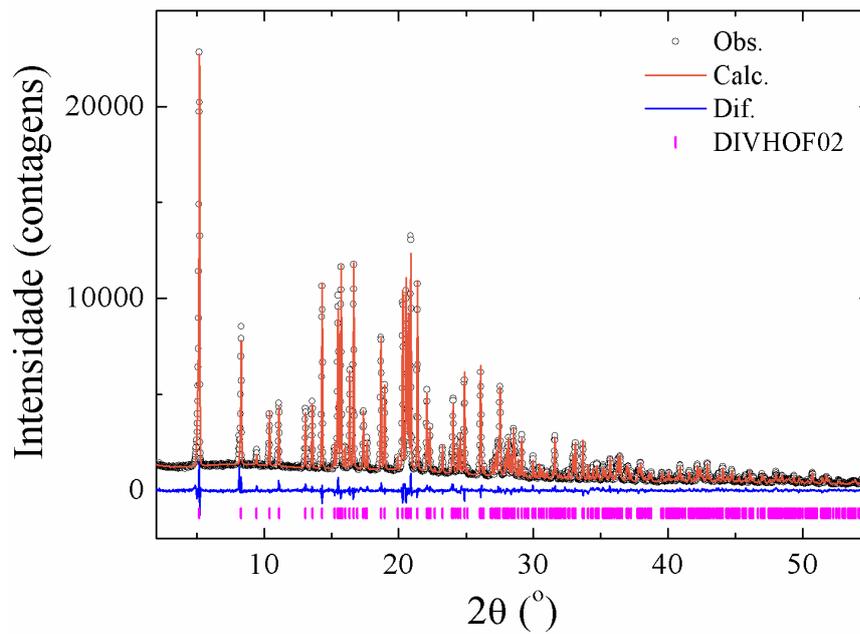


FIGURA 46: REFINAMENTO DE RIETVELD DA AMOSTRA 72H, ONDE O PADRÃO CALCULADO ESTÁ REPRESENTADO PELA LINHA LARANJA, O PADRÃO OBSERVADO PELOS CÍRCULOS EM PRETO, A DIFERENÇA ENTRE OS PADRÕES OBSERVADO E CALCULADO PELA LINHA AZUL E AS POSIÇÕES DOS PICOS DE BRAGG PELAS BARRAS EM ROSA. $R_{WP} = 5,185$; $R_{EXP} = 2,938$; $R_{BRAGG} = 2,557$; $X^2 = 1,765$.

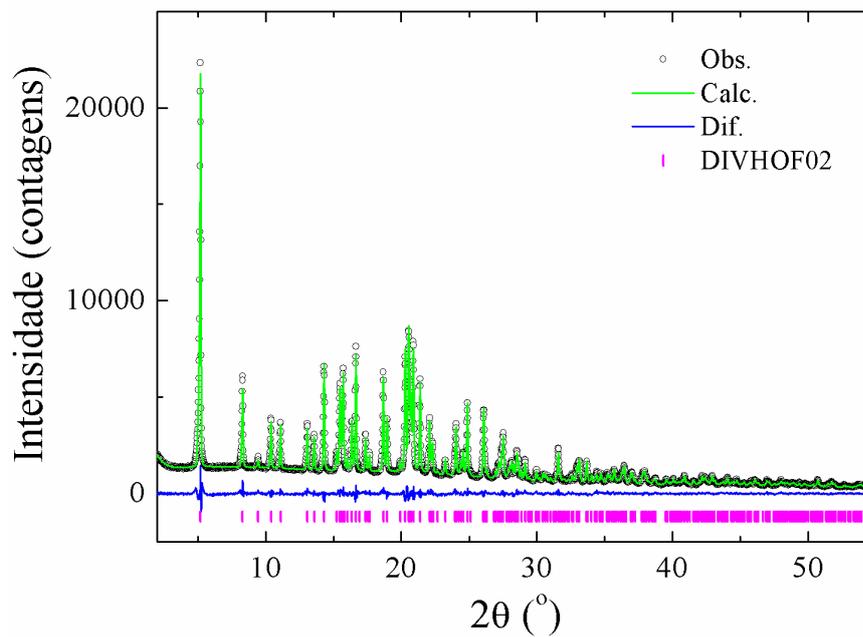


FIGURA 47: REFINAMENTO DE RIETVELD DA AMOSTRA 96H, ONDE O PADRÃO CALCULADO ESTÁ REPRESENTADO PELA LINHA VERDE, O PADRÃO OBSERVADO PELOS CÍRCULOS EM PRETO, A DIFERENÇA ENTRE OS PADRÕES OBSERVADO E CALCULADO PELA LINHA AZUL E AS POSIÇÕES DOS PICOS DE BRAGG PELAS BARRAS EM ROSA. $R_{WP} = 4,529$; $R_{EXP} = 2,947$; $R_{BRAGG} = 1,577$; $X^2 = 1,537$.

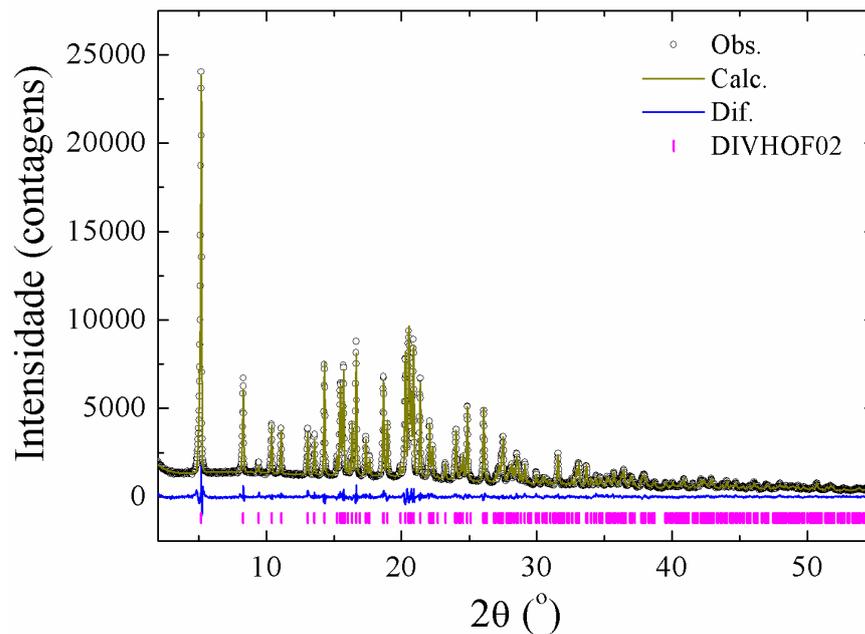


FIGURA 48: REFINAMENTO DE RIETVELD DA AMOSTRA 168H, ONDE O PADRÃO CALCULADO ESTÁ REPRESENTADO PELA LINHA VERDE ESCURO, O PADRÃO OBSERVADO PELOS CÍRCULOS EM PRETO, A DIFERENÇA ENTRE OS PADRÕES OBSERVADO E CALCULADO PELA LINHA AZUL E AS POSIÇÕES DOS PICOS DE BRAGG PELAS BARRAS EM ROSA. $R_{WP} = 4,713$; $R_{EXP} = 2,884$; $R_{BRAGG} = 1,663$; $X^2 = 1,634$.

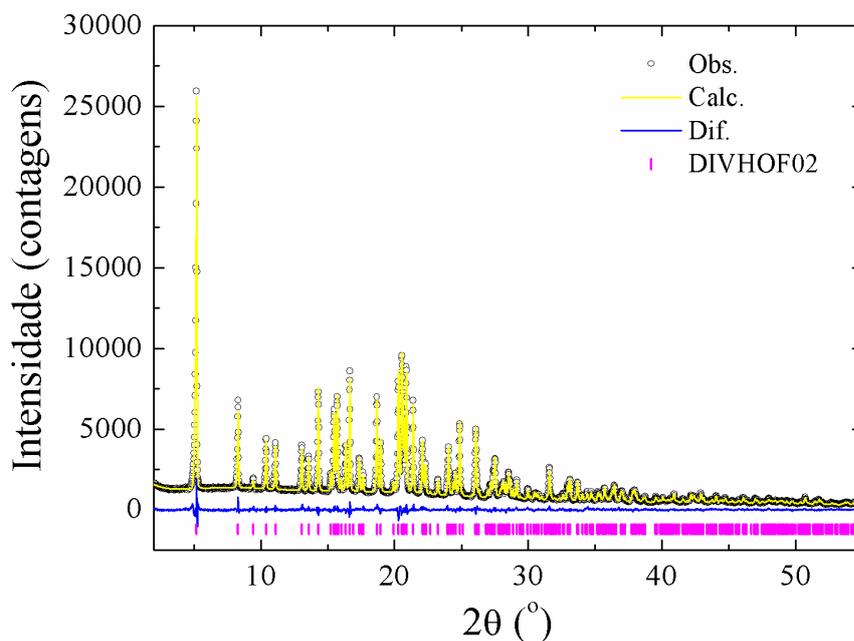


FIGURA 49: REFINAMENTO DE RIETVELD DA AMOSTRA 240H, ONDE O PADRÃO CALCULADO ESTÁ REPRESENTADO PELA LINHA AMARELA, O PADRÃO OBSERVADO PELOS CÍRCULOS EM PRETO, A DIFERENÇA ENTRE OS PADRÕES OBSERVADO E CALCULADO PELA LINHA AZUL E AS POSIÇÕES DOS PICOS DE BRAGG PELAS BARRAS EM ROSA. $R_{WP} = 4,488$; $R_{EXP} = 2,957$; $R_{BRAGG} = 1,813$; $X^2 = 1,518$.

Podemos notar em todos os refinamentos de Rietveld que as amostras irradiadas não apresentaram mudanças na estrutura cristalina tendo um ajuste visual satisfatório bem como por meio dos índices R de cada um dos refinamentos.

O medicamento Maleato de Enalapril é comercializado em comprimidos revestidos de 5 mg, 10 mg e 20 mg. Neste trabalho foi utilizada a composição de 10 mg. O medicamento de referência é o Enalamed[®], comercializado pelo Grupo CIMED. Foram adquiridos também os medicamentos similar, que é comercializado como Renitec[®], do laboratório Merck Sharp & Dohme (MSD), e o genérico, da Teuto. Abaixo são apresentados os medicamentos: referência (R), genérico (G) e similar (S), na forma de comprimido, com a informação dos excipientes que constam em suas bulas.

TABELA 13: EXCIPIENTES DOS MEDICAMENTOS REFERÊNCIA (R), GENÉRICO (G) E SIMILAR (S) DO MEDICAMENTO MALEATO DE ENALAPRIL

<i>Excipientes</i>	<i>Maleato de Enalapril R</i>	<i>Maleato de Enalapril G</i>	<i>Maleato de Enalapril S</i>
<i>bicarbonato de sódio</i>	X	X	
<i>estearato de magnésio</i>	X	X	X
<i>croscarmelose sódica</i>	X	X	
<i>lactose</i>	X	X	X
<i>amido de milho</i>			X
<i>dióxido de silício</i>	X	X	
<i>celulose microcristalina</i>	X	X	
<i>carbonato ácido de sódio</i>			X
<i>crospovidona</i>		X	

A Figura 50 mostra o gráfico de Rietveld para o medicamento de referência. Foram incluídos no refinamento os arquivos CIF correspondentes à lactose, celulose microcristalina e ao bicarbonato de sódio. Nota-se que o refinamento foi satisfatório, podendo ser corroborado pela Tabela 14 onde são indicados os índices estatísticos R para o refinamento. É importante salientar que com o uso da difração de raios X por policristais aliada ao refinamento de Rietveld podemos inferir que o princípio ativo está presente no medicamento analisado, com ~20,80(61)% e a lactose é o excipiente cristalino que aparece em maior proporção com ~65,40(96)% e o bicarbonato com ~13,80(42)%.

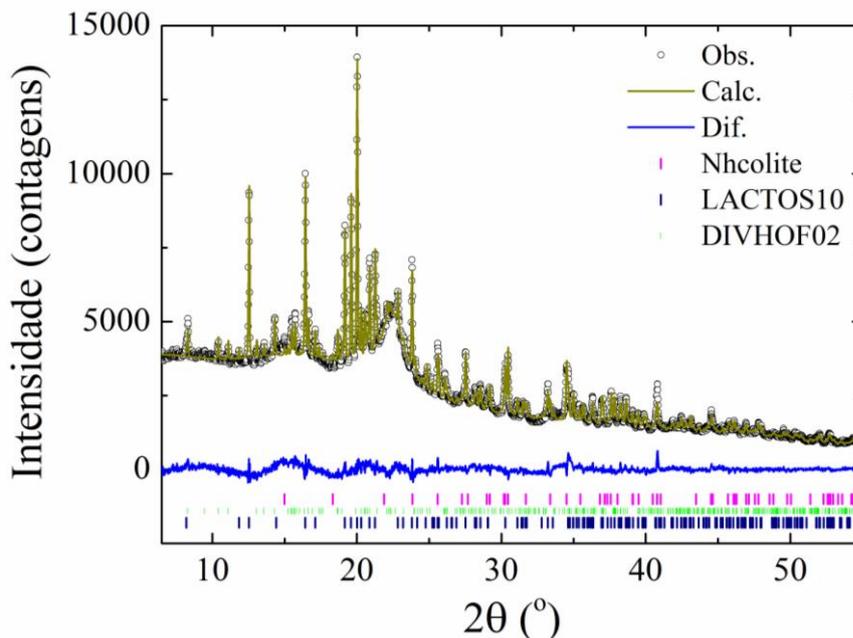


FIGURA 50: REFINAMENTO DE RIETVELD DO MEDICAMENTO MALEATO DE ENALAPRIL REFERÊNCIA DA CIMED, ONDE O PADRÃO CALCULADO ESTÁ REPRESENTADO PELA LINHA VERDE, O PADRÃO OBSERVADO PELOS CÍRCULOS EM PRETO, A DIFERENÇA ENTRE OS PADRÕES OBSERVADO E CALCULADO PELA LINHA AZUL E AS POSIÇÕES DOS PICOS DE BRAGG PELAS BARRAS: IFA (VERDE), BICARBONATO (ROSA) E LACTOSE (AZUL).

TABELA 14: ÍNDICES DE QUALIDADE DO MEDICAMENTO REFERÊNCIA GRUPO CIMED

	R_{wp}	R_{exp}	R_{Bragg}	χ^2
<i>DIVHOF02</i>	3,074	1,966	1,120	1,564
<i>Nihcolite</i>	3,074	1,966	2,124	1,564
<i>LACTOS10</i>	3,074	1,966	1,135	1,564

A Figura 51 mostra o gráfico de Rietveld para o medicamento genérico. Foram incluídos no refinamento os arquivos CIF correspondentes à lactose e ao bicarbonato de sódio. Podemos inferir por meio do refinamento de Rietveld que o princípio ativo referente ao Maleato de Enalapril está presente no medicamento analisado com ~5,17(28)% e, assim como na análise do medicamento anterior, a fase que aparece majoritariamente é a referente à lactose com ~93,07(35)% e por último o bicarbonato de sódio com ~1,76(1,5)%. A Tabela 15 apresenta os índices estatísticos R bem como o valor do χ^2 provenientes do refinamento.

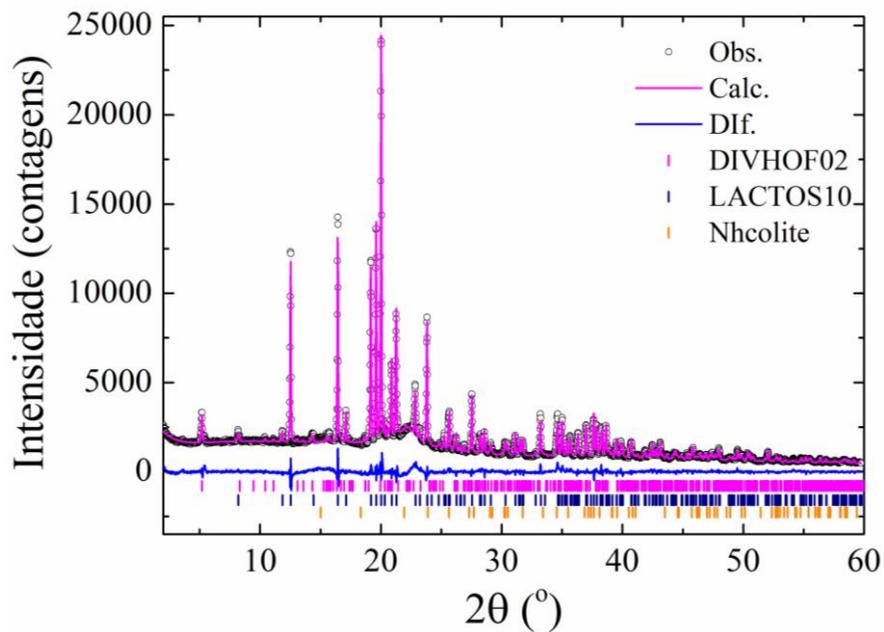


FIGURA 51: REFINAMENTO DE RIETVELD DO MEDICAMENTO MALEATO DE ENALAPRIL GENÉRICO DA TEUTO, ONDE O PADRÃO CALCULADO ESTÁ REPRESENTADO PELA LINHA LILÁS, O PADRÃO OBSERVADO PELOS CÍRCULOS EM PRETO, A DIFERENÇA ENTRE OS PADRÕES OBSERVADO E CALCULADO PELA LINHA AZUL E AS POSIÇÕES DOS PICOS DE BRAGG PELAS BARRAS: IFA (ROSA), LACTOSE (AZUL) E BICARBONATO (LARANJA).

TABELA 15: ÍNDICES DE QUALIDADE DO MEDICAMENTO GENÉRICO TEUTO

	R_{wp}	R_{exp}	R_{Bragg}	χ^2
<i>DIVHOF02</i>	7,976	2,576	3,680	3,096
<i>LACTOS10</i>	7,976	2,576	3,173	3,096
<i>Nhcolite</i>	7,976	2,576	3,950	3,096

A Figura 52 apresenta o gráfico de Rietveld do medicamento Maleato de Enalapril similar proveniente do Laboratório MSD. No refinamento de Rietveld foram incluídos, além do arquivo referente ao IFA, o arquivo CIF da lactose, sendo este excipiente cristalino componente majoritário do medicamento com ~90,10(44)%. Os resultados apresentados na Tabela 16 indicam que o refinamento foi satisfatório e que o princípio ativo está presente no medicamento analisado com ~9,90(44)%.

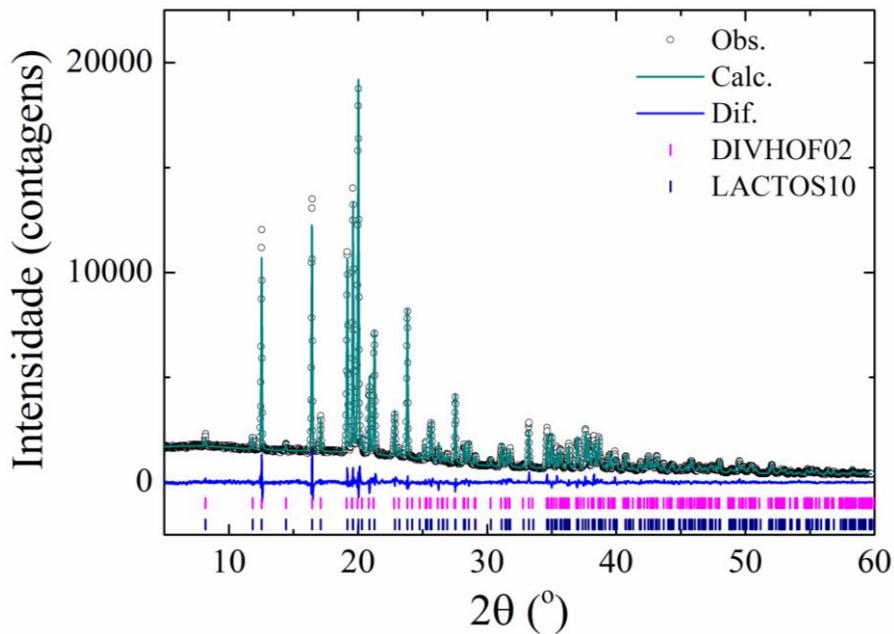


FIGURA 52: REFINAMENTO DE RIETVELD DO MEDICAMENTO MALEATO DE ENALAPRIL SIMILAR MSD, ONDE O PADRÃO CALCULADO ESTÁ REPRESENTADO PELA LINHA VERDE, O PADRÃO OBSERVADO PELOS CÍRCULOS EM PRETO, A DIFERENÇA ENTRE OS PADRÕES OBSERVADO E CALCULADO PELA LINHA AZUL E AS POSIÇÕES DOS PICOS DE BRAGG PELAS BARRAS: IFA (ROSA) E LACTOSE (AZUL).

TABELA 16: ÍNDICES DE QUALIDADE DO MEDICAMENTO SIMILAR MSD

	R_{wp}	R_{exp}	R_{Bragg}	χ^2
<i>DIVHOF02</i>	4,934	2,822	1,866	1,749
<i>LACTOS10</i>	4,934	2,822	1,956	1,749

4.2.2 ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER

A técnica de espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier foi utilizada para verificar, por meio das bandas de absorção do fármaco, se existiam diferenças entre as amostras estudadas das farmácias de manipulação F e S, respectivamente. Para as amostras de Maleato de Enalapril irradiadas, a finalidade foi realizar uma comparação entre a amostra controle e as demais para estudar se houve mudanças nas bandas de absorção dos fármacos podendo ser um indício de diferentes formas polimórficas ou geração de produtos de degradação oriundas da incidência de luz. As Figuras 53 e 54 apresentam os espectros FTIR da amostra de Maleato de Enalapril das farmácias de manipulação F e S.

As bandas intensas em 751 cm^{-1} e 874 cm^{-1} são atribuídas à deformação angular fora do plano das ligações C-H do anel. Em 1189 cm^{-1} ocorre o estiramento O-C-C do éster. Em 1221 cm^{-1} , a banda é atribuída ao estiramento da ligação O-C-C de acetatos, enquanto que em 1304 cm^{-1} a banda é atribuída às vibrações de deformação axial C-O presente no espectro dos ácidos carboxílicos. Em 356 cm^{-1} ocorre a flexão da ligação C-H e estiramento simétrico dos íons carboxilato COO^- . A banda de absorção observada em 1378 cm^{-1} origina-se da deformação angular simétrica das ligações C-H do grupamento metila. Em 1444 cm^{-1} ocorre a flexão da ligação C-H, enquanto que a vibração em 1498 cm^{-1} se refere ao estiramento C=C-C do anel aromático e do estiramento C-O-O do maleato. A vibração em 1577 cm^{-1} é atribuída ao estiramento assimétrico dos íons carboxilato COO^- . Em 1644 cm^{-1} a vibração ocorre devido ao estiramento da amida terciária. Em 1741 cm^{-1} ocorre o estiramento C=O dos grupos carbonila. A vibração em 2879 cm^{-1} é devida ao estiramento simétrico da ligação C-H. Em 2983 cm^{-1} ocorre o estiramento assimétrico C-H, enquanto que em 3029 cm^{-1} há o estiramento C-H do anel aromático e por fim, a vibração em 3211 cm^{-1} é atribuída ao estiramento N-H. Os dados obtidos para as amostras estão de acordo com os resultados reportados na literatura¹⁰³.

Da Figura 53 à Figura 80 são apresentados os espectros de FTIR das amostras irradiadas de Maleato de Enalapril. A Figura 53 apresenta o espectro de FTIR do Maleato de Enalapril controle. A partir deste espectro foram feitas comparações com os demais a fim de identificar possíveis mudanças nas bandas de absorção e estudar o efeito da incidência de luz nas amostras em estado sólido do fármaco. A Figura 80 está representada em um intervalo de $1500\text{-}650\text{ cm}^{-1}$ para melhor comparação entre os espectros com diferentes tempos de irradiação.

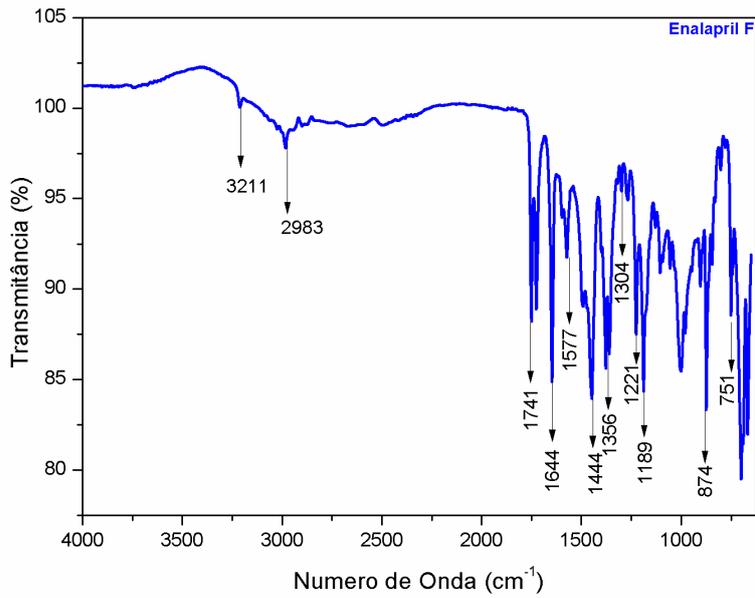


FIGURA 53: ESPECTRO FTIR PARA O MALEATO DE ENALAPRIL F, OBTIDO COM RESOLUÇÃO DE 4cm^{-1} NA REGIÃO DE 1500 A 650cm^{-1} , ONDE AS PRINCIPAIS BANDAS DE ABSORÇÃO QUE CARACTERIZAM O FÁRMACO ESTÃO DESTACADAS POR SUAS RESPECTIVAS FREQUÊNCIAS.

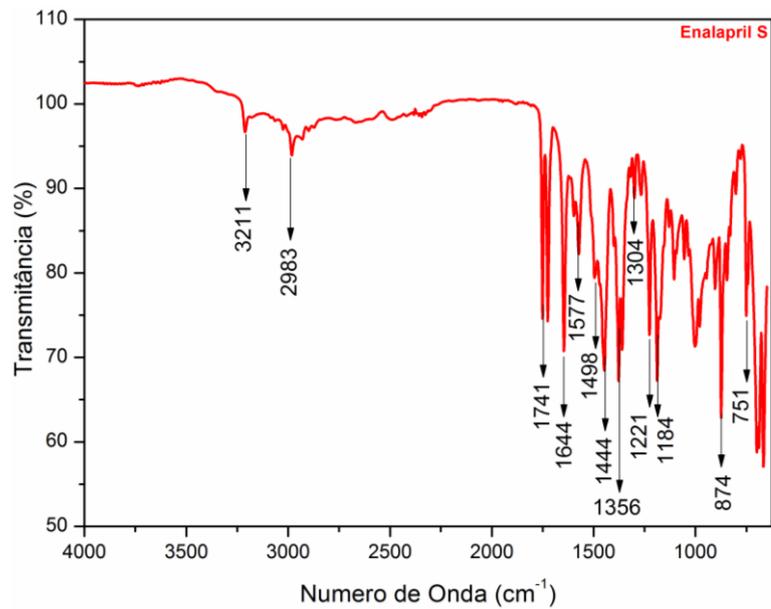


FIGURA 54: ESPECTRO FTIR PARA O MALEATO DE ENALAPRIL S, OBTIDO COM RESOLUÇÃO DE 4cm^{-1} NA REGIÃO DE 1500 A 650cm^{-1} , ONDE AS PRINCIPAIS BANDAS DE ABSORÇÃO QUE CARACTERIZAM O FÁRMACO ESTÃO DESTACADAS POR SUAS RESPECTIVAS FREQUÊNCIAS.

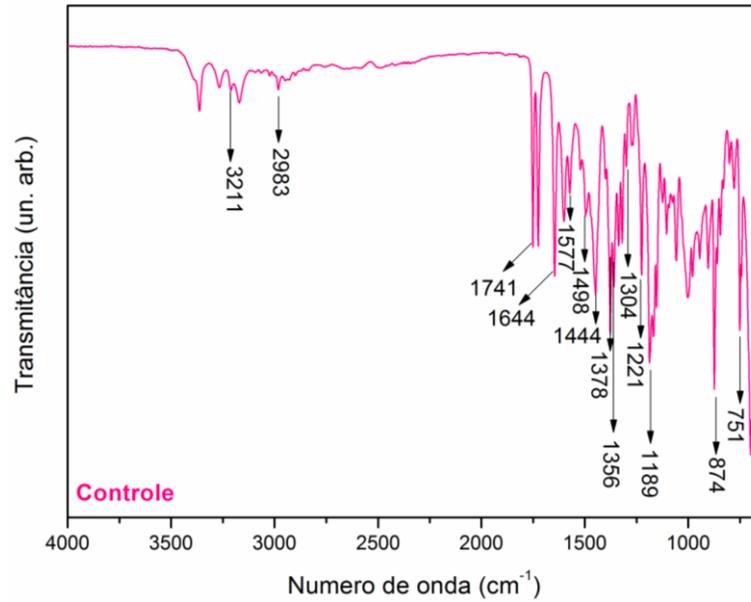


FIGURA 55: ESPECTRO FTIR PARA O MALEATO DE ENALAPRIL CONTROLE, OBTIDO COM RESOLUÇÃO DE 4cm^{-1} NA REGIÃO DE 4000 A 650cm^{-1} , ONDE AS PRINCIPAIS BANDAS DE ABSORÇÃO QUE CARACTERIZAM O FÁRMACO ESTÃO DESTACADAS POR SUAS RESPECTIVAS FREQUÊNCIAS.

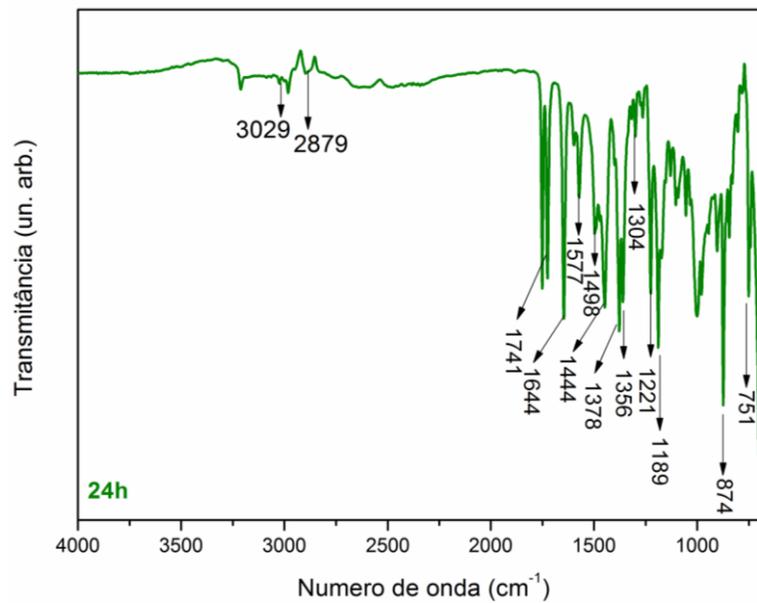


FIGURA 56: ESPECTRO FTIR PARA O MALEATO DE ENALAPRIL 24H, OBTIDO COM RESOLUÇÃO DE 4cm^{-1} NA REGIÃO DE 4000 A 650cm^{-1} , ONDE AS PRINCIPAIS BANDAS DE ABSORÇÃO QUE CARACTERIZAM O FÁRMACO ESTÃO DESTACADAS POR SUAS RESPECTIVAS FREQUÊNCIAS.

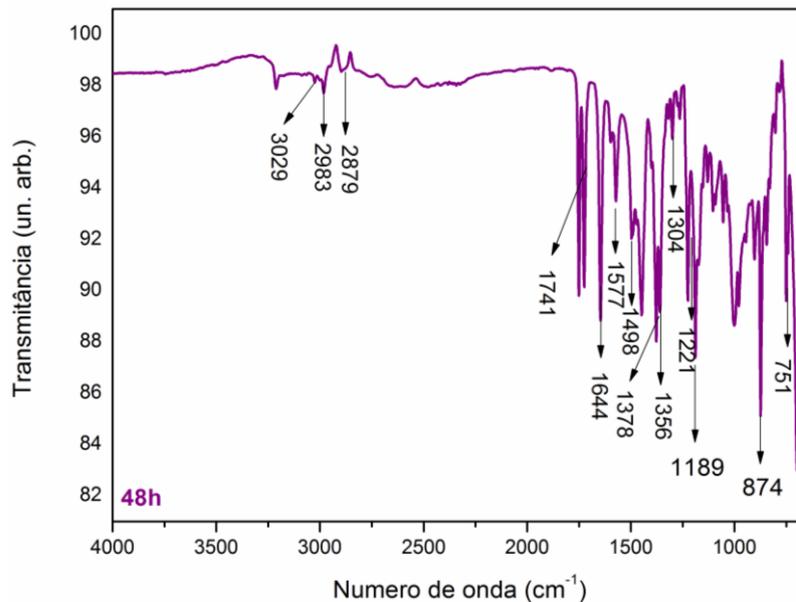


FIGURA 57: ESPECTRO FTIR PARA O MALEATO DE ENALAPRIL 48H, OBTIDO COM RESOLUÇÃO DE 4cm^{-1} NA REGIÃO DE 4000 A 650cm^{-1} , ONDE AS PRINCIPAIS BANDAS DE ABSORÇÃO QUE CARACTERIZAM O FÁRMACO ESTÃO DESTACADAS POR SUAS RESPECTIVAS FREQUÊNCIAS.

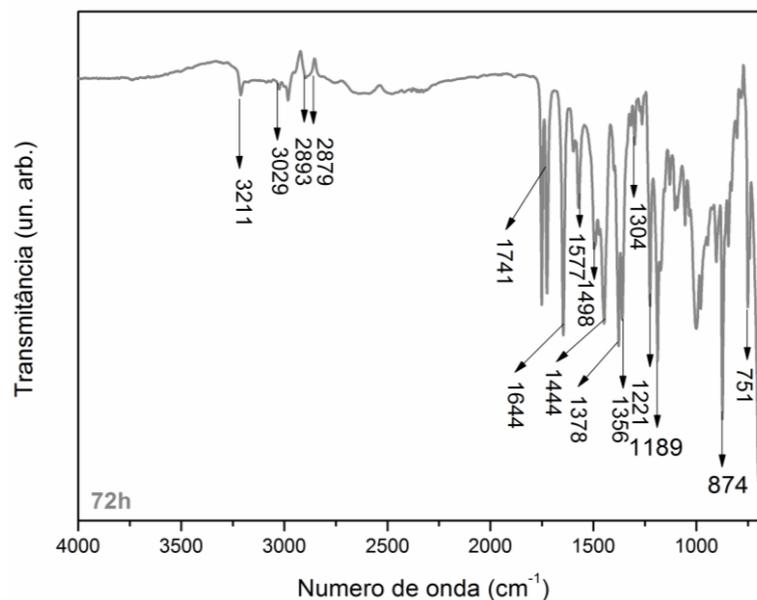


FIGURA 58: ESPECTRO FTIR PARA O MALEATO DE ENALAPRIL 72H, OBTIDO COM RESOLUÇÃO DE 4cm^{-1} NA REGIÃO DE 4000 A 650cm^{-1} , ONDE AS PRINCIPAIS BANDAS DE ABSORÇÃO QUE CARACTERIZAM O FÁRMACO ESTÃO DESTACADAS POR SUAS RESPECTIVAS FREQUÊNCIAS.

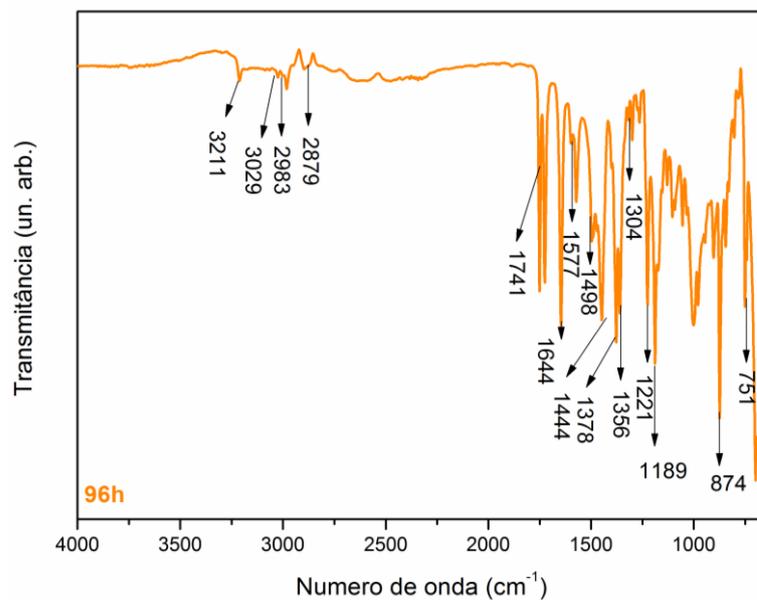


FIGURA 59: ESPECTRO FTIR PARA O MALEATO DE ENALAPRIL 96H, OBTIDO COM RESOLUÇÃO DE 4cm^{-1} NA REGIÃO DE 4000 A 650cm^{-1} , ONDE AS PRINCIPAIS BANDAS DE ABSORÇÃO QUE CARACTERIZAM O FÁRMACO ESTÃO DESTACADAS POR SUAS RESPECTIVAS FREQUÊNCIAS.

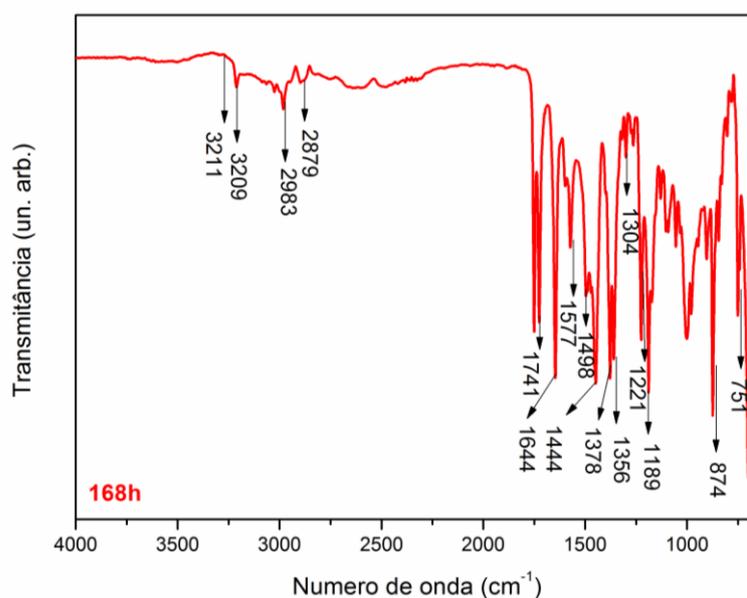


FIGURA 60: ESPECTRO FTIR PARA O MALEATO DE ENALAPRIL 168H, OBTIDO COM RESOLUÇÃO DE 4cm^{-1} NA REGIÃO DE 4000 A 650cm^{-1} , ONDE AS PRINCIPAIS BANDAS DE ABSORÇÃO QUE CARACTERIZAM O FÁRMACO ESTÃO DESTACADAS POR SUAS RESPECTIVAS FREQUÊNCIAS.

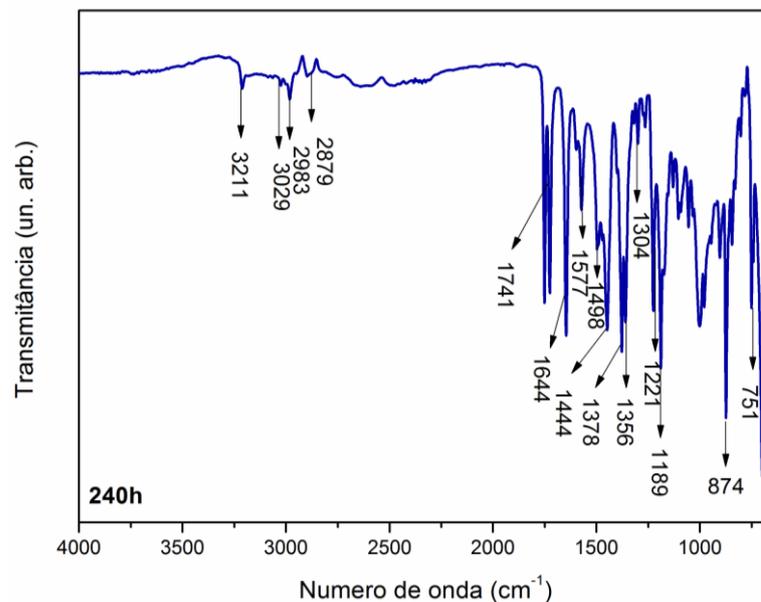


FIGURA 61: ESPECTRO FTIR PARA O MALEATO DE ENALAPRIL 240H, OBTIDO COM RESOLUÇÃO DE 4cm^{-1} NA REGIÃO DE 4000 A 650cm^{-1} , ONDE AS PRINCIPAIS BANDAS DE ABSORÇÃO QUE CARACTERIZAM O FÁRMACO ESTÃO DESTACADAS POR SUAS RESPECTIVAS FREQUÊNCIAS.

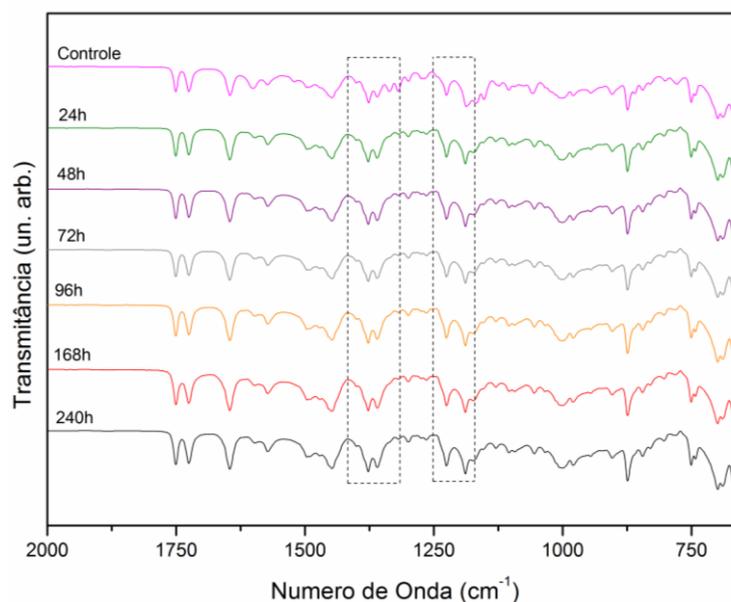


Figura 62: Espectro FTIR para o maleato de enalapril irradiado, obtido com resolução de 4cm^{-1} , na região de 1500 a 650cm^{-1} , para melhor comparação entre as amostras.

Na literatura¹⁰³ é reportado que o Maleato de Enalapril pode ser facilmente transformado em dicetopiperazina de enalapril (DKP) por meio de ciclização intramolecular em solução

aquosa ou estado sólido. A etapa fundamental é um ataque em um grupo carboxílico por uma amina secundária no interior da estrutura do enalapril através de uma reação de substituição nucleofílica alifática intramolecular¹⁰⁴. Para evitar a formação de DKP, um potencial agente cancerígeno, o enalapril é comercializado na forma de sal de maleato para reduzir a capacidade de ataque do nitrogênio em seu grupo amina. Partindo do que foi descrito anteriormente, é de grande importância a identificação dos produtos de degradação do IFA estudado.

Podemos verificar que não houve mudanças nos espectros de FTIR tanto das amostras das farmácias de manipulação como nas amostras irradiadas. O efeito da luz sobre a amostra em estado sólido dos fármacos não produziu produtos de degradação provenientes do Maleato de Enalapril. A partir do exposto, podemos inferir que os espectros de FTIR apresentados para o fármaco Maleato de Enalapril complementam os resultados obtidos por difração de raios X por policristais juntamente com o refinamento de Rietveld.

4.2.3 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA

Na Figura 80 são apresentadas as micrografias, obtidas ao microscópio eletrônico de varredura, do Maleato de Enalapril de ambas as farmácias de manipulação. Pode ser visto que o fármaco apresenta cristais retangulares irregulares e de tamanhos variados. Estas imagens são semelhantes com as capturadas por Zoppi e colaboradores¹⁰⁵. Para a predição da morfologia do cristal foi utilizado o algoritmo BFDH⁹⁷⁻⁹⁹ que prevê o hábito cristalino utilizando como arquivo de entrada a ficha cristalográfica do fármaco (CIF). Nota-se que a imagem da predição morfológica corrobora com as micrografias encontradas.

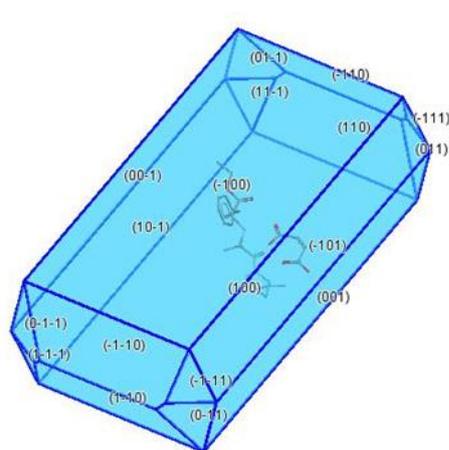
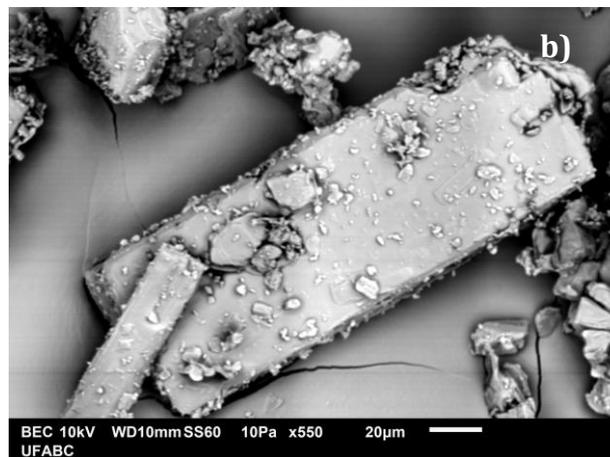
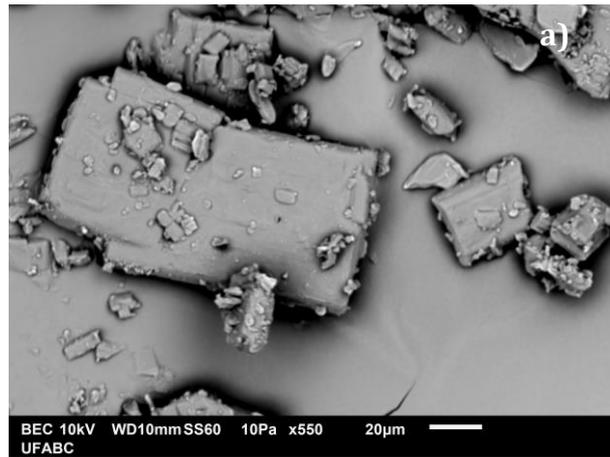


FIGURA 63: MICROGRAFIAS DAS AMOSTRAS DO FÁRMACO MALEATO DE ENALAPRIL: F (A) E S (B); PREDIÇÃO DA MORFOLOGIA DO MALEATO DE ENALAPRIL PELO MÉTODO BFH⁹⁷⁻⁹⁹ UTILIZANDO O ARQUIVO CIF DIVHOF02 (C).

4.2.4 ANÁLISE TÉRMICA

As curvas termoanalíticas do Maleato de Enalapril são apresentadas na Figura 64 e na Figura 65. A curva de TG/DTG mostra que o Maleato de Enalapril é termicamente estável até aproximadamente 143,92 °C e apresenta uma considerável perda de massa entre 143-324 °C. A decomposição térmica da amostra ocorre em duas etapas: o primeiro evento, em 165,98 °C (DTG), com perda de massa $\Delta m = 24,74\%$, e o segundo evento, em 309,40 °C (DTG), com perda de massa de $\Delta m = 75,26\%$, não havendo resíduo ao final do experimento.

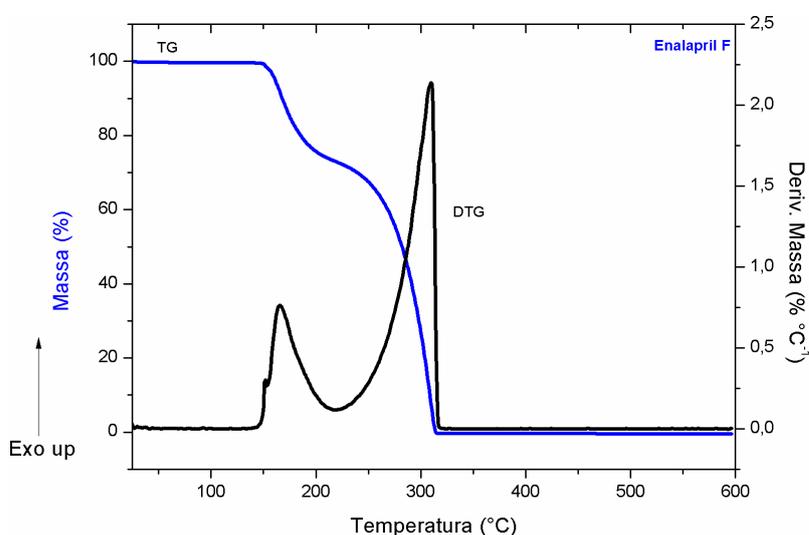


FIGURA 64: CURVA TG/DTG DA AMOSTRA DE MALEATO DE ENALAPRIL F, OBTIDAS A 10 °C.MIN⁻¹, SOB ATMOSFERA DINÂMICA DE N₂ (100ML.MIN⁻¹), COM MASSA DA AMOSTRA DE APROXIMADAMENTE 3 MG.

O evento endotérmico presente na curva de DSC é relacionado à fusão do fármaco em 153,62 °C (T_{pico}), seguido por outra ocorrência endotérmica parcialmente sobreposta devido à decomposição térmica. Na Tabela 17 e na Tabela 18 são exemplificados os valores dos eventos térmicos identificados nas curvas de DSC e TG/DTG¹⁰⁶.

A análise de pureza utilizando DSC só pode ser aplicada para amostras que apresentam intervalos de fusão normal e sem fenômenos adicionais que se sobrepõem com a fusão, tais como evaporação de impurezas, polimorfismo e decomposição química, como ocorre na amostra estudada. Por esta razão não foram realizados cálculos de pureza por DSC.

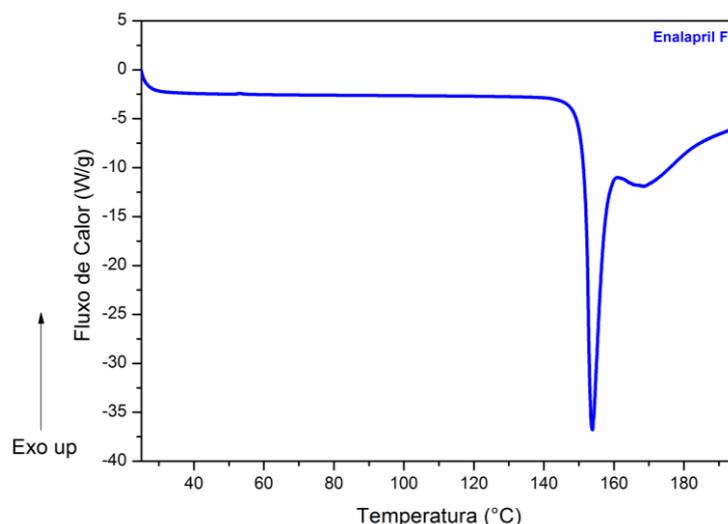


FIGURA 65: CURVA DE DSC DA AMOSTRA DE MALEATO DE ENALAPRIL F, OBTIDA A 10 °C.MIN⁻¹, SOB ATMOSFERA DINÂMICA DE N₂ (50ML.MIN⁻¹) COM MASSA DA AMOSTRA DE APROXIMADAMENTE 3 MG.

TABELA 17: DADOS TERMOANALÍTICOS OBTIDOS POR TG/DTG DA AMOSTRA DE MALEATO DE ENALAPRIL DA FARMÁCIA F

	T_{onset} (°C)	T_{pico} (°C)	T_{endset} (°C)	Δm (%)
<i>Evento 1</i>	150,81	165,98	195,32	24,74
<i>Evento 2</i>	243,71	309,40	312,79	75,26

TABELA 18: DADOS TERMOANALÍTICOS OBTIDOS POR DSC DA AMOSTRA DE MALEATO DE ENALAPRIL F

<i>Amostras</i>	T_{onset} (°C)	T_{pico} (°C)	ΔH (kJ/mol)	<i>Temperatura de fusão</i> (°C)
<i>F</i>	151,79	153,62	56,86	152,09
<i>Literatura</i> ⁵⁸	150,22	152,22	59,10	-

Vale ressaltar que estes resultados estão em concordância com aqueles reportados na literatura^{105, 106}. A decomposição térmica do Maleato de Enalapril começa com uma perda de massa de uma molécula do ácido maleico junto com uma molécula de água, que é eliminada por meio de uma reação de ciclização intramolecular da molécula de enalapril que leva a formação do Enalapril de dicetopiperazina. É reportado na literatura^{58, 107} que a via de degradação do Maleato de Enalapril é dependente do pH. Enquanto o Enalapril de dicetopiperazina é o principal produto de degradação formado quando o Maleato de Enalapril não é misturado com qualquer excipiente, ou quando o Maleato de Enalapril está em uma matriz

ácida, o enalaprilato é o principal produto de degradação formado quando o Maleato de Enalapril está em uma matriz básica.

Na Figura 66 e na Figura 67 são apresentadas as curvas termoanalíticas TG/DTG e DSC da amostra de Maleato de Enalapril da farmácia S. Na Figura 66 nota-se que a amostra é termicamente estável até aproximadamente 134,89 °C. Após essa temperatura inicia-se o processo de decomposição térmica do fármaco em dois eventos. O primeiro ocorre em 163,98 °C (DTG), com perda de massa de $\Delta m = 24,41\%$ e o segundo evento ocorre em 309,40 °C (DTG), com perda de massa de $\Delta m = 74,64\%$, com um resíduo ao final do experimento de $\Delta m_{\text{resíduo}} = 0,95\%$.

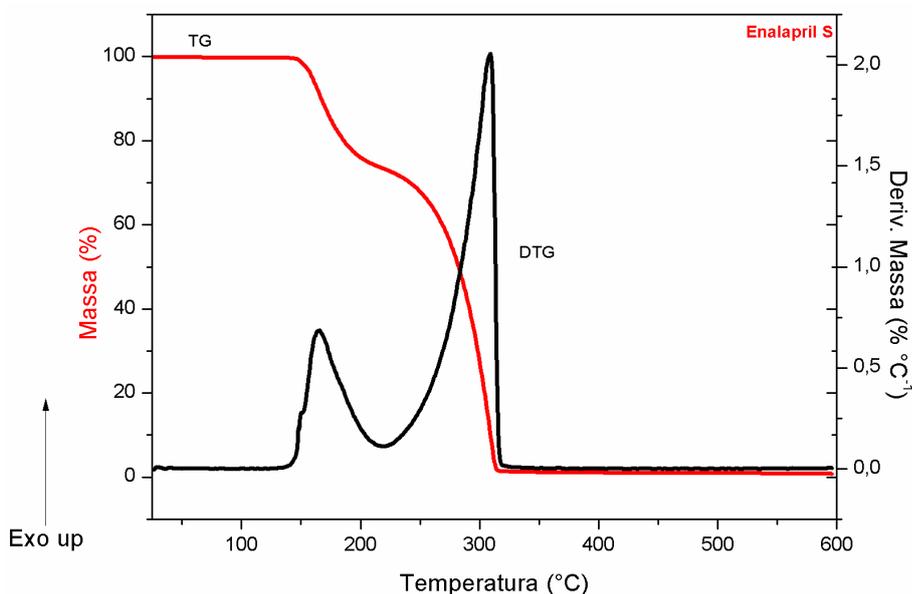


FIGURA 66: CURVA TG/DTG DA AMOSTRA DE MALEATO DE ENALAPRIL S, OBTIDA A 10 °C.MIN⁻¹, SOB ATMOSFERA DINÂMICA DE N₂ (100 ML.MIN⁻¹), COM MASSA DA AMOSTRA DE APROXIMADAMENTE 3 MG.

Na curva de DSC para o fármaco Maleato de Enalapril S foi observado um evento endotérmico em 151,40 °C (T_{pico}) referente à fusão do fármaco. Na Tabela 19 e na Tabela 20 são apresentados os dados obtidos das curvas de TG/DTG e DSC. Assim como na amostra anterior, o pico de fusão do IFA é seguido por outro evento endotérmico devido ao início da decomposição térmica e também não foi calculada a porcentagem de pureza para esta amostra.

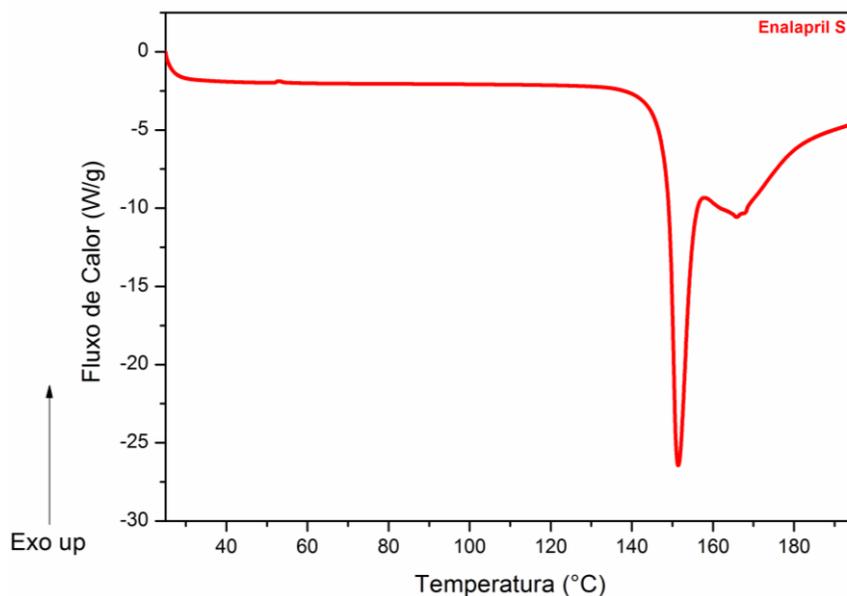


FIGURA 67: CURVA DE DSC DA AMOSTRA DE MALEATO DE ENALAPRIL F, OBTIDA A $10\text{ }^{\circ}\text{C}.\text{MIN}^{-1}$, SOB ATMOSFERA DINÂMICA DE N_2 ($50\text{ML}.\text{MIN}^{-1}$) COM MASSA DA AMOSTRA DE APROXIMADAMENTE 3 MG.

TABELA 19: DADOS TERMOANALÍTICOS OBTIDOS POR TG/DTG DA AMOSTRA DE MALEATO DE ENALAPRIL DA FARMÁCIA S

	T_{onset} ($^{\circ}\text{C}$)	T_{pico} ($^{\circ}\text{C}$)	T_{endset} ($^{\circ}\text{C}$)	Δm (%)
<i>Evento 1</i>	151,07	163,98	187,17	24,41
<i>Evento 2</i>	232,18	309,40	314,54	74,64

TABELA 20: DADOS TERMOANALÍTICOS OBTIDOS POR DSC DA AMOSTRA DE MALEATO DE ENALAPRIL S

<i>Amostras</i>	T_{onset} ($^{\circ}\text{C}$)	T_{pico} ($^{\circ}\text{C}$)	ΔH (kJ/mol)	<i>Temperatura de fusão</i> ($^{\circ}\text{C}$)
<i>S</i>	149,10	151,40	41,75	150,08
<i>Literatura</i> ⁵⁸	150,22	152,22	59,10	-

Foram realizadas medidas de DSC para o princípio ativo Maleato de Enalapril irradiado e os resultados são apresentados na Figura 68 e na Tabela 21. Nota-se que os valores para o ponto de fusão são relativamente próximos para todas as amostras irradiadas bem como a T_{onset} . Conclui-se, desta forma, que a incidência de luz para o princípio não ocasionou transição polimórfica e estes dados corroboram com os resultados encontrados nas medidas realizadas utilizando difração de raios X por policristais e FTIR.

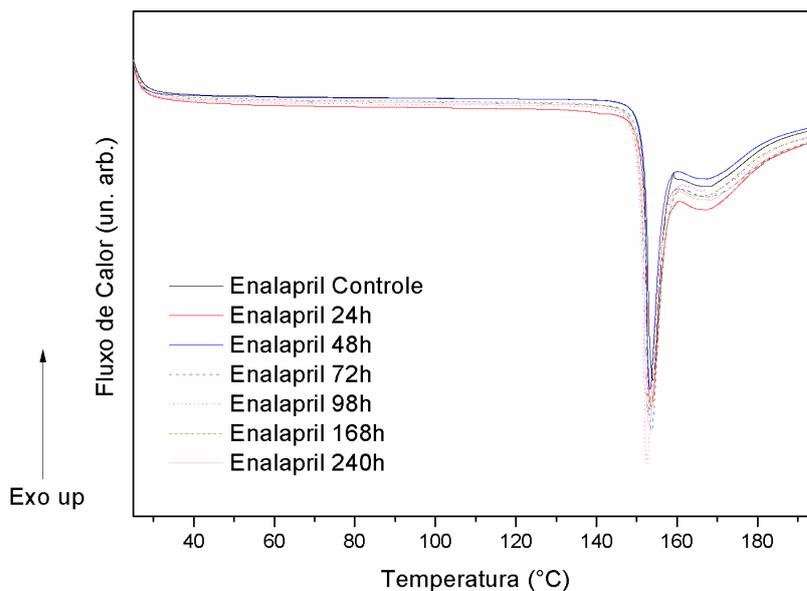


FIGURA 68: CURVA DSC DA AMOSTRA DE MALEATO DE ENALAPRIL IRRADIADO, OBTIDA A $10\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{MIN}^{-1}$, SOB ATMOSFERA DINÂMICA DE N_2 ($50\text{ ML}\cdot\text{MIN}^{-1}$) COM MASSA DA AMOSTRA DE APROXIMADAMENTE 3 MG.

TABELA 21: DADOS TERMOANALÍTICOS OBTIDOS POR DSC DA AMOSTRA DE ENALAPRIL IRRADIADA

<i>Amostras Maleato de Enalapril</i>	T_{onset} ($^{\circ}\text{C}$)	T_{pico} ($^{\circ}\text{C}$)	ΔH (kJ/mol)	<i>Temperatura de fusão</i> ($^{\circ}\text{C}$)
<i>Controle</i>	152,17	153,95	43,40	152,29
<i>24h</i>	152,16	153,50	51,99	152,07
<i>48h</i>	151,97	153,29	46,19	151,96
<i>72h</i>	151,84	153,72	53,70	151,85
<i>96h</i>	151,25	152,38	58,46	150,72
<i>168h</i>	151,34	152,87	52,09	151,42
<i>240h</i>	151,49	152,99	58,67	151,44

4.3 ATENOLOL

4.3.1 DIFRAÇÃO DE RAIOS X POR POLICRISTAIS

Na molécula do Atenolol há a presença de um carbono quiral conferindo à mesma a possibilidade de se apresentar em duas formas enantioméricas, formando compostos que possuem diferentes atividades ópticas. Duas estruturas cristalinas do Atenolol são conhecidas: a mistura racêmica (R,S)-atenolol e a forma pura do enantiômero S-atenolol³⁰. A mistura racêmica é a forma encontrada em comprimidos comerciais. O (R,S)-atenolol cristaliza-se no grupo espacial centrossimétrico $C2/c$ (monoclínico) e o S-atenolol no grupo não centrossimétrico $C2$ (monoclínico). O enantiômero S-atenolol é a forma ativa, responsável pela ação anti-hipertensiva³⁰. A Figura 69 apresenta os difratogramas do fármaco Atenolol das duas farmácias de manipulação, F e S, sendo evidenciada grande semelhança entre ambas. Porém, próximo a 17° (2θ), no difratograma da amostra da farmácia S aparecem dois picos, sendo que no difratograma da amostra F aparece somente um, com baixa intensidade. Podemos, num primeiro momento, atribuir a diferença nas intensidades à preparação da amostra, que poderia ter causado efeitos de orientação preferencial dos cristalitos.

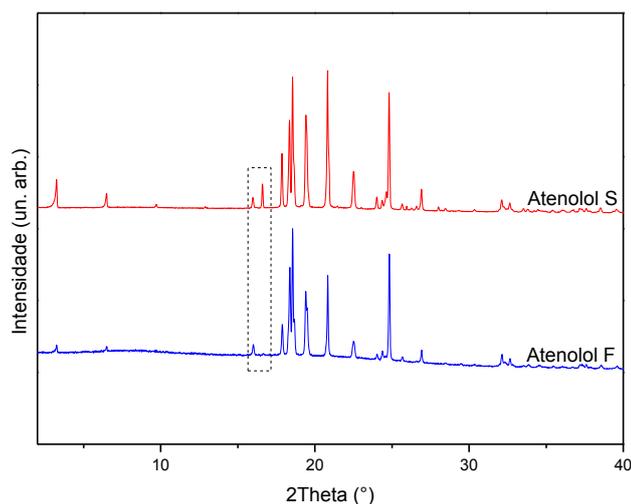


FIGURA 69: DIFRATOGRAMAS DE RAIOS X DO FÁRMACO ATENOLOL PROVENIENTE DE DUAS FARMÁCIAS DE MANIPULAÇÃO, IDENTIFICADAS COMO “F” E “S”. A REGIÃO EM DESTAQUE ILUSTRA AS DIFERENÇAS MAIS MARCANTES ENTRE OS DIFRATOGRAMAS.

Na Figura 70 e na Figura 71 podem ser vistos os difratogramas do fármaco Atenolol das farmácias F e S, com os respectivos arquivos CIFs (*Crystallography Information Framework*) disponíveis no banco de dados do CSD. Fazendo primeiramente uma análise visual, podemos

notar que o arquivo que melhor representa o difratograma observado é o CEZVIN³⁰. Foi realizado o refinamento de Rietveld utilizando ambos os arquivos CIFs, porém o que melhor se ajustou tanto visualmente quanto no que se refere aos índices estatísticos de qualidade do ajuste foi o arquivo CEZVIN. Assim, para ambas as amostras de Atenolol esta ficha foi utilizada como arquivo de entrada nos refinamentos de Rietveld.

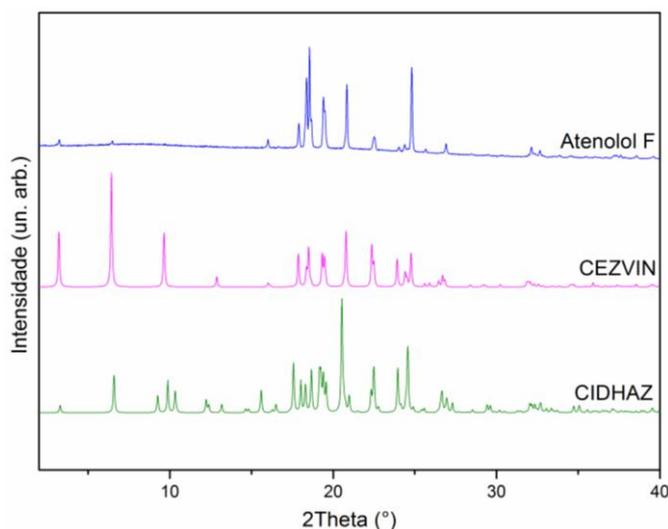


FIGURA 70: DIFRATOGRAMA DE RAIOS X (NORMALIZADOS) DO FÁRMACO ATENOLOL DA FARMÁCIA F, OBTIDOS NO MODO DE TRANSMISSÃO, COM PASSO DE 1,05° E TEMPO DE INTEGRAÇÃO DE 60 SEG/PASSO, NA FAIXA ANGULAR DE 2°-60°, COMPARADOS COM OS DOIS ARQUIVOS CIFs REFERENTES AO ATENOLOL.

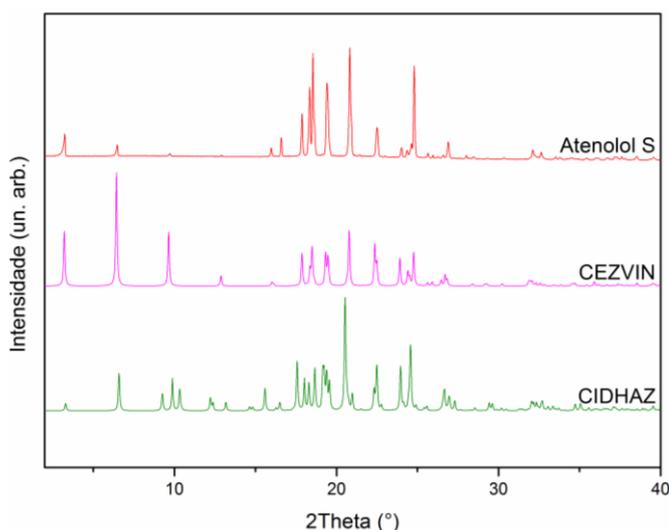


FIGURA 71: DIFRATOGRAMA DE RAIOS X (NORMALIZADOS) DO FÁRMACO ATENOLOL DA FARMÁCIA S, OBTIDOS NO MODO DE TRANSMISSÃO, COM PASSO DE 1,05° E TEMPO DE INTEGRAÇÃO DE 60 SEG/PASSO, NA FAIXA ANGULAR DE 2°-60°, COMPARADOS COM OS DOIS ARQUIVOS CIFs REFERENTES AO ATENOLOL.

A partir da matéria-prima, o (R,S)-Atenolol, com pureza de 99,76% e o S(-)-Atenolol, com pureza de 99%, ambos adquiridos comercialmente, monocristais dos IFAs foram obtidos

por evaporação lenta utilizando uma mistura de solventes (etanol e água) por De Castro e colaboradores³⁰. Eles realizaram a determinação da estrutura cristalina dos dois enantiômeros e os valores dos parâmetros de rede, grupo espacial e sistema cristalino podem ser encontrados na Tabela 22.

TABELA 22: INFORMAÇÕES CRISTALOGRÁFICAS DO ATENOLOL (CIF)

	<i>CEZVIN</i>	<i>CIDHAZ</i>	<i>CEZVIN modificado</i>
<i>a</i> (Å)	55,830(30)	54,430(30)	55,479
<i>b</i> (Å)	5,559(3)	5,712(3)	5,5794
<i>c</i> (Å)	9,734(2)	9,676(2)	9,7239
α (°)	90	90	90
β (°)	100,04	99,51	100,268
γ (°)	90	90	90
<i>Volume</i> (Å ³)	2974,75	2966,97	2961,70
<i>Grupo Espacial</i>	<i>C2/c</i>	<i>C2</i>	<i>C2/c</i>
<i>Sistema Cristalino</i>	Monoclínico	Monoclínico	Monoclínico

Os autores notaram que as ligações de hidrogênio criadas pelo grupo amida e fenil originam uma estrutura bastante organizada a partir do C(1) até o C(9), tanto para a forma cristalina racêmica como para a homoquiral. Ambos os cristais exibem conformações moleculares distintas a partir do Carbono C(9) da molécula no grupo isopropil terminal. Estas moléculas, até certo ponto, apresentam desordens em sua estrutura. Duas diferentes conformações moleculares são identificadas para o (R,S)-Atenolol e três diferentes conformações foram encontradas para o S-Atenolol. Estas desordens mantiveram-se mesmo após o relaxamento da estrutura utilizando simulação computacional (Hartree-Fock).

A Figura 72 mostra o gráfico de Rietveld da amostra do fármaco para a farmácia S. Nota-se que alguns picos não se ajustam ao difratograma calculado (as diferenças estão marcadas com uma seta).

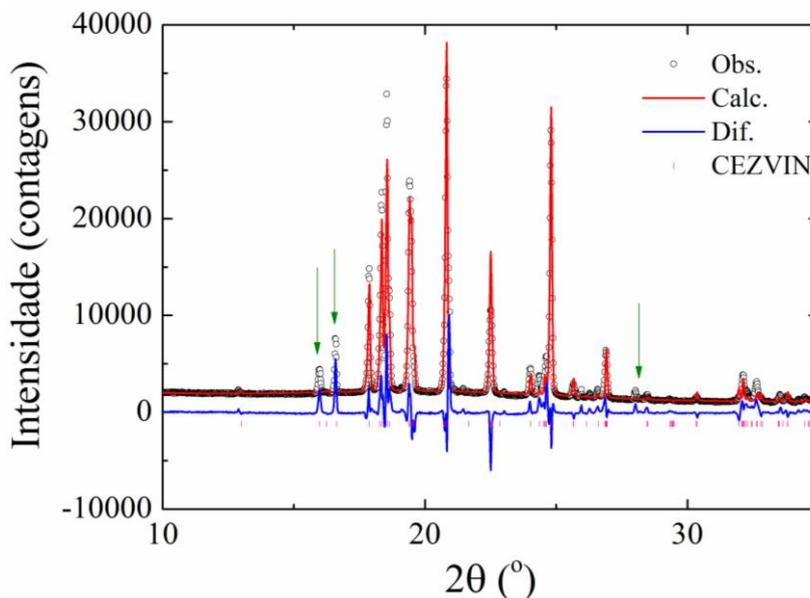


FIGURA 72: GRÁFICO DE RIETVELD DO FÁRMACO ATENOLOL (S). CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS: $1,05^\circ$ (2θ), TEMPO DE INTEGRAÇÃO 60 SEG/PASSO. A LINHA EM VERMELHO É O DIFRATOGRAMA CALCULADO, OS CÍRCULOS EM PRETO O DIFRATOGRAMA OBSERVADO E A LINHA EM AZUL REPRESENTA A DIFERENÇA ENTRE AMBOS. AS BARRAS VERTICAIS EM ROSA MOSTRAM OS PICOS DE BRAGG. $R_{WP} = 15,877$; $R_{EXP} = 2,480$; $R_{BRAGG} = 8,749$; $X^2 = 6,401$.

Como reportado na literatura³⁰, mesmo após realizado o relaxamento da molécula utilizando modelagem molecular, ainda haviam algumas desordens na estrutura para ambos os arquivos. Desta forma, foi realizado no arquivo CIF CEZVIN algumas modificações a fim de diminuir estas desordens. Para isso, foram refinadas as coordenadas fracionárias dos átomos e foram inseridas restrições nas distâncias e nos ângulos dos átomos que estavam desordenados. Após estas etapas, foi gerado um novo arquivo CIF sem estas desordens. A Figura 73 representa as moléculas sobrepostas dos dois arquivos: em cinza está representada a molécula gerada por meio do arquivo CEZVIN disponível no banco de dados do CSD e em amarelo a molécula gerada a partir das modificações realizadas. Os pontos cinza representam as desordens contidas na molécula. Nota-se que eles não estão presentes na molécula modificada. As estruturas foram geradas a partir do software Mercury.

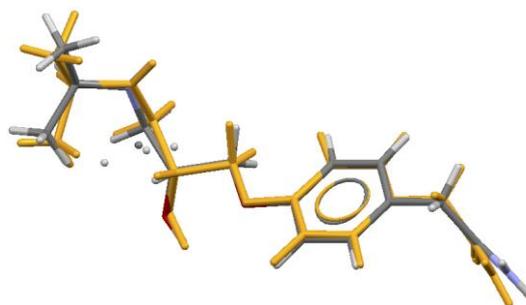


FIGURA 73: COMPARAÇÃO ENTRE AS MOLÉCULAS GERADAS NO MERCURY PARA A FICHA CEZVIN E PARA O ARQUIVO MODIFICADO.

A Figura 74 apresenta o gráfico de Rietveld utilizando como arquivo de entrada o CIF gerado com as modificações. É possível perceber que o refinamento melhorou, porém não foram ajustados todos os picos. Assim, utilizou-se o software Search-Match[®] para tentar identificar os picos que não foram ajustados.

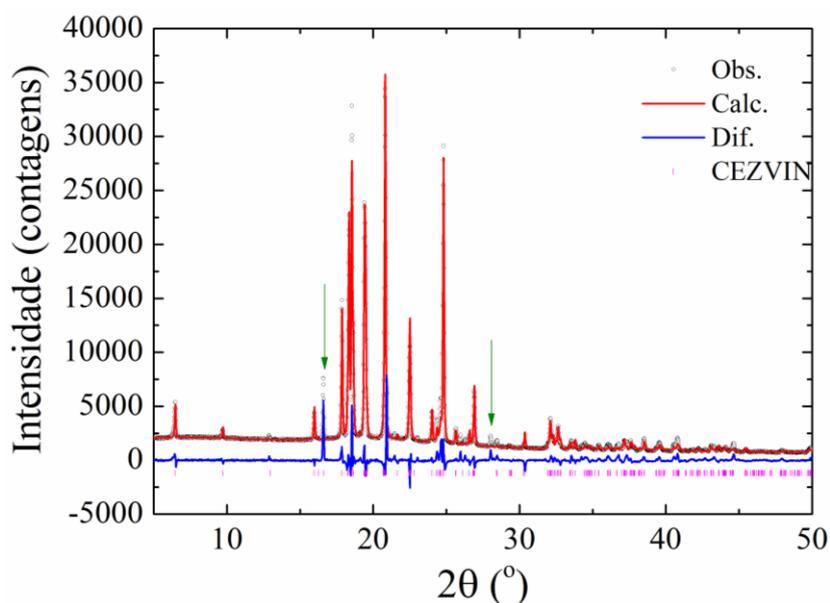


FIGURA 74: GRÁFICO DE RIETVELD DO FÁRMACO ATENOLOL (S). CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS: 1,05 °(2θ), TEMPO DE INTEGRAÇÃO 60 SEG/PASSO. A LINHA EM VERMELHO É O DIFRATOGRAMA CALCULADO, OS CÍRCULOS EM PRETO O DIFRATOGRAMA OBSERVADO E AS LINHAS EM AZUL SÃO AS DIFERENÇAS ENTRE AMBOS, AS BARRAS MOSTRAM OS PICOS DE BRAGG. $R_{WP} = 9,101$; $R_{EXP} = 2,473$; $R_{BRAGG} = 3,131$; $X^2 = 3,681$.

O software, que utiliza uma base comercial do PDF-2 (*Powder Diffraction File*), identificou os picos anteriormente não ajustados como sendo da Hidroclorotiazida. Assim, foi incluído no refinamento o arquivo CIF HCSBTZ referente à Hidroclorotiazida e, finalmente, os picos foram ajustados de forma satisfatória, como pode ser visto na Figura 75 e por meio dos índices estatísticos de qualidade. Pelo método de Rietveld foi possível determinar que a quantidade do princípio Hidroclorotiazida presente na amostra foi de 6,29(55)% e do Atenolol foi de 93,71(55)%.

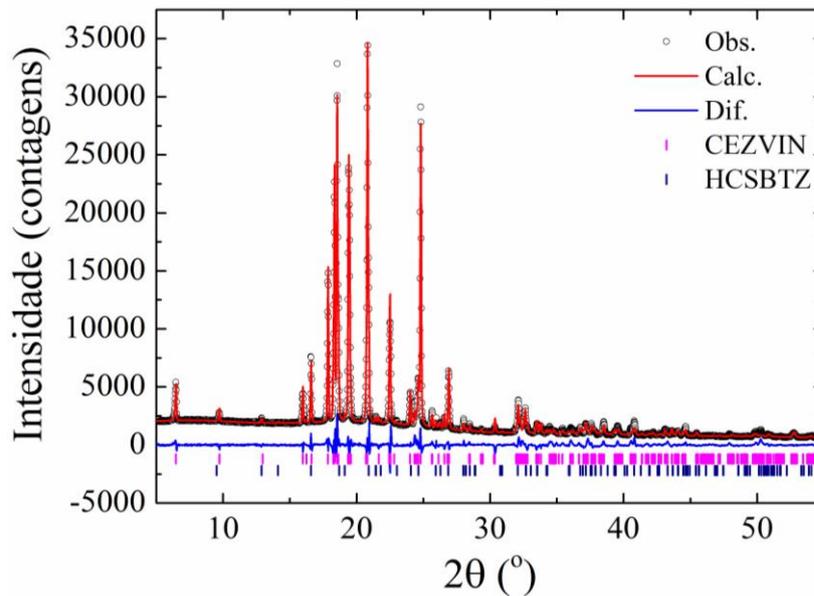


FIGURA 75: GRÁFICO DE RIETVELD DO FÁRMACO ATENOLOL (S). CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS: 1.05° (2θ), TEMPO DE INTEGRAÇÃO 60 SEG/PASSO. A LINHA EM VERMELHO É O DIFRATOGRAMA CALCULADO, OS CÍRCULOS EM PRETO O DIFRATOGRAMA OBSERVADO E AS LINHAS EM AZUL SÃO AS DIFERENÇAS ENTRE AMBOS, AS BARRAS MOSTRAM OS PICOS DE BRAGG. $R_{WP} = 5,075$; $R_{EXP} = 2,468$; $R_{BRAGG-ATENOLOL} = 2,198$; $R_{BRAGG-HIDROCLOROTIAZIDA} = 2,160$ $X^2 = 2,056$.

Para o fármaco Atenolol da farmácia F foi realizado o refinamento de Rietveld utilizando como o arquivo de entrada o CIDHAZ, o CEZVIN e o CEZVIN modificado. Assim como para a amostra S, o que melhor se ajustou foi o arquivo CEZVIN modificado, sendo o mesmo apresentado na Figura 76.

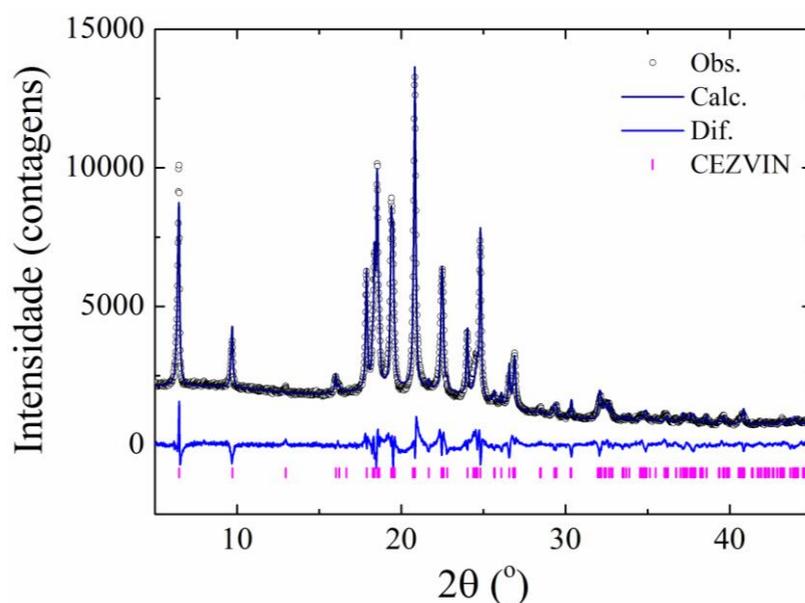


FIGURA 76: GRÁFICO DE RIETVELD DO FÁRMACO ATENOLOL (F). CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS: 1.05° (2θ), TEMPO DE INTEGRAÇÃO 60 SEG/PASSO. A LINHA EM AZUL É O DIFRATOGRAMA CALCULADO, OS CÍRCULOS

EM PRETO O DIFRATOGRAMA OBSERVADO E AS LINHAS EM AZUL SÃO AS DIFERENÇAS ENTRE AMBOS, AS BARRAS MOSTRAM OS PICOS DE BRAGG ATENOLOL (F). $R_{WP} = 5,209$; $R_{EXP} = 2,496$; $R_{BRAGG} = 1,966$; $X^2 = 2,087$.

Por meio do refinamento de Rietveld é possível inferir que a amostra da farmácia F é, de fato, referente ao fármaco Atenolol. Foi observado que os dados das medidas do Atenolol, de ambas as farmácias de manipulação, apresentaram diferenças significativas no refinamento de Rietveld, como pode ser visto nos difratogramas anteriores. Foram realizadas medidas de difração de raios X por policristais das amostras como recebida, triturada e peneirada após trituração, porém aqui só estão sendo apresentados os resultados da amostra medida como recebida de ambas as farmácias, visto que não houve alteração significativa dos perfis de difração em todas as medidas.

Na Tabela 23 são apresentados os excipientes encontrados nos medicamentos Atenolol 25 mg referência (R), adquirido da AstraZeneca, genérico (G) da Medley e o similar (S), com o nome comercial Ablok[®], da BIOLAB, respectivamente.

TABELA 23: EXCIPIENTES DOS MEDICAMENTOS REFERÊNCIA (R), GENÉRICO (G) E SIMILAR (S) DO MEDICAMENTO ATENOLOL

<i>Excipientes</i>	<i>Atenolol R</i>	<i>Atenolol G</i>	<i>Atenolol S</i>
<i>estearato de magnésio</i>	X	X	X
<i>gelatina</i>	X	X	
<i>amidoglicolato de sódio</i>		X	
<i>amido</i>		X	X
<i>carbonato de magnésio</i>	X	X	
<i>amido de milho</i>	X		
<i>crospovidona</i>			X
<i>celulose microcristalina</i>			X
<i>dióxido de silício coloidal</i>			X

<i>laurilsulfato de sódio</i>	X	X	X
<i>óxido de ferro vermelho</i>			X

Na Figura 77 está apresentado o gráfico de Rietveld para o medicamento Atenolol genérico da Medley. Foi inserido, além do arquivo de entrada CEZVIN, o arquivo CIF referente ao excipiente carbonato de magnésio pesado que é a fase que aparece em maior quantidade ~63,80(35)% e o insumo farmacêutico ativo com ~36,20(35)%.

Tabela 24 estão indicados os valores estatísticos (χ^2 e índices R) encontrados após o refinamento de Rietveld, para o IFA e para os excipientes.

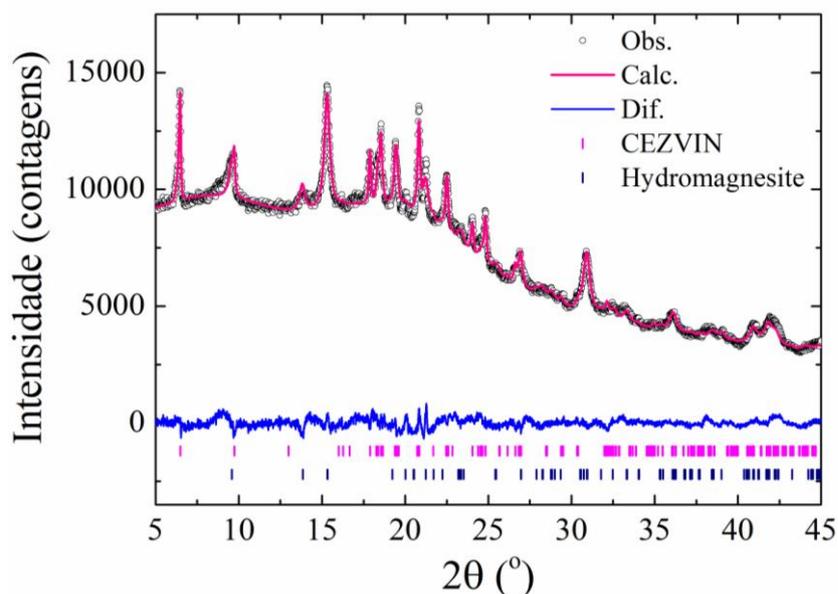


FIGURA 77: GRÁFICO DE RIETVELD DO MEDICAMENTO ATENOLOL GENÉRICO MEDLEY, ONDE O PADRÃO CALCULADO ESTÁ REPRESENTADO PELA LINHA ROSA, O PADRÃO OBSERVADO PELOS CÍRCULOS EM PRETA, A DIFERENÇA ENTRE OS PADRÕES OBSERVADO E CALCULADO PELA LINHA CINZA E AS POSIÇÕES DOS PICOS DE BRAGG PELAS BARRAS VERTICAIS: IFA (ROSA) E O CARBONATO DE MAGNÉSIO PESADO (AZUL).

TABELA 24: ÍNDICES DE QUALIDADE DO MEDICAMENTO GENÉRICO MEDLEY

	R_{wp}	R_{exp}	R_{Bragg}	χ^2
<i>CEZVIN</i>	2,271	1,265	0,386	1,795
<i>Hydromagnesite</i>	2,271	1,265	0,558	1,795

Na Figura 78 está apresentado o gráfico de Rietveld do medicamento Atenolol referência. Para o refinamento de Rietveld foram utilizados como arquivos de entrada os CIFs referentes ao princípio ativo e ao excipiente carbonato de magnésio pesado. É possível perceber que a fase predominante é atribuída ao princípio ativo. Na Tabela 25 podem ser vistos os índices estatísticos obtidos ao final do refinamento. Por meio destes valores podemos perceber que o modelo teórico se ajusta de forma satisfatória ao observado experimentalmente. Realizando a quantificação de fases de princípio ativo e excipiente, foi possível determinar que ~71,92(34)% é referente ao carbonato de magnésio e ~28,08(34)% refere-se ao Atenolol.

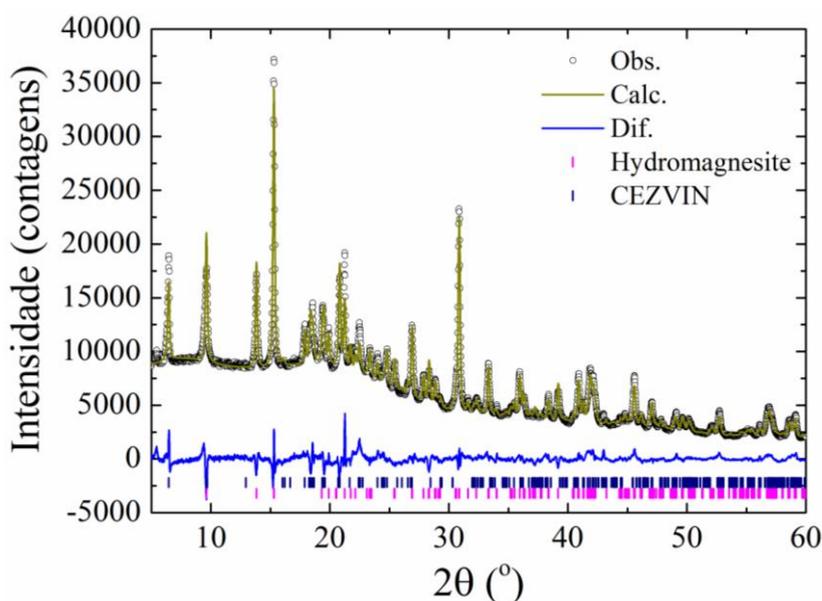


FIGURA 78: GRÁFICO DE RIETVELD DO MEDICAMENTO ATENOLOL REFERÊNCIA ASTRAZENECA, ONDE O PADRÃO CALCULADO ESTÁ REPRESENTADO PELA LINHA VERDE, O PADRÃO OBSERVADO PELOS CÍRCULOS EM PRETO, A DIFERENÇA ENTRE OS PADRÕES OBSERVADO E CALCULADO PELA LINHA AZUL E AS POSIÇÕES DOS PICOS DE BRAGG PELAS BARRAS VERTICAIS: IFA (AZUL) E O CARBONATO DE MAGNÉSIO PESADO (ROSA).

TABELA 25: ÍNDICES DE QUALIDADE DO MEDICAMENTO REFERÊNCIA ASTRAZENECA

	R_{wp}	R_{exp}	R_{Bragg}	χ^2
<i>CEZVIN</i>	3,534	1,236	1,726	2,860
<i>Hydromagnesite</i>	3,534	1,236	1,141	2,860

A Figura 79 apresenta o difratograma do medicamento Atenolol similar. Para este refinamento foi utilizado como arquivos de entrada os CIF's referente ao princípio ativo e ao excipiente celulose microcristalina que é a fase cristalina que aparece em maior proporção.

Podemos notar que para este difratograma aparecem picos largos e não há linearidade na linha de base, este fato deve-se provavelmente a grande quantidade de excipientes amorfo presente na formulação deste medicamento, que pode ser visto por meio da tabela 26. Os índices estatísticos R e o χ^2 podem ser acompanhados na Tabela 26, percebe-se que houve um ajuste satisfatório entre o difratograma calculado e observado.

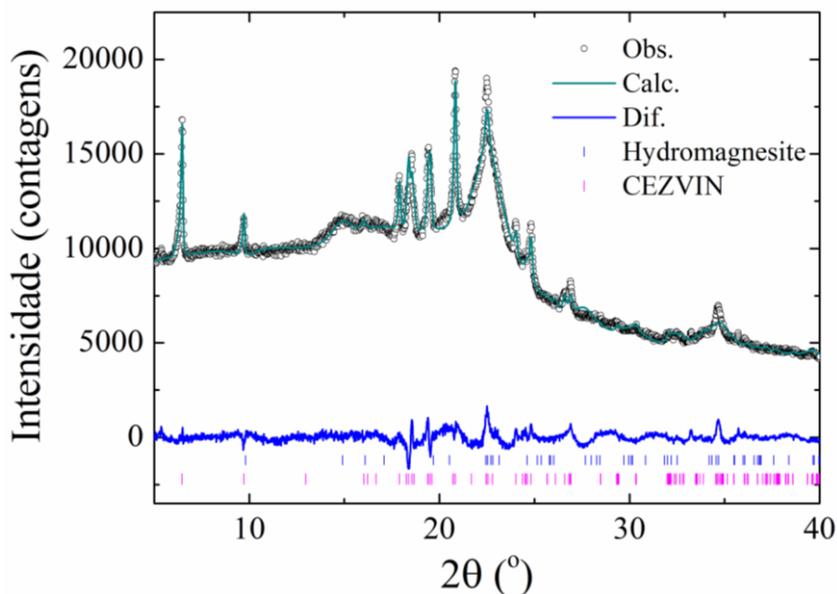


FIGURA 79: REFINAMENTO DE RIETVELD DO MEDICAMENTO ATENOLOL SIMILAR (ABLOK) BIOLAB, ONDE O PADRÃO CALCULADO ESTÁ REPRESENTADO PELA LINHA LARANJA, O PADRÃO OBSERVADO PELOS CÍRCULOS EM PRETO, A DIFERENÇA ENTRE OS PADRÕES OBSERVADO E CALCULADO PELA LINHA CINZA E AS POSIÇÕES DOS PICOS DE BRAGG PELAS BARRAS VERTICAIS: IFA (AZUL) E CELULOSE (PRETO).

TABELA 26: ÍNDICES DE QUALIDADE DO MEDICAMENTO SIMILAR ABLOK BIOLAB

	R_{wp}	R_{exp}	R_{Bragg}	χ^2
<i>CEZVIN</i>	2,174	1,193	1,440	1,822
<i>Hydromagnesite</i>	2,174	1,193	0,101	1,822

Pode-se concluir que os medicamentos genérico, referência e similar utilizados neste trabalho possuíam o IFA na composição do medicamento.

4.3.2 ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER

Os espectros de infravermelho com transformada de Fourier, apresentados na Figura 80 e na Figura 81, do Atenolol provenientes das farmácias F e S, respectivamente, apresentam as bandas características inerentes aos diferentes grupos funcionais do fármaco. A banda em 3356 cm^{-1} origina-se devido às vibrações de estiramento O-H e as vibrações de deformação axial de N-H, enquanto as vibrações que aparecem em 3164 cm^{-1} são devidas às vibrações de estiramento C-H do anel aromático presentes no espectro do Atenolol. As bandas de absorção que ocorrem em 2963 e 2924 cm^{-1} referem-se às vibrações de estiramento alifático C-H. Pode ser evidenciada uma banda intensa em 1634 cm^{-1} , originada das vibrações de valência C=O (banda amida I), e em 1583 cm^{-1} atribuída às vibrações do estiramento do anel aromático C=C. A banda em 1516 cm^{-1} origina-se da deformação angular de N-H (banda amida II) ¹⁰⁸. A banda de deformação axial de C-N, das amidas primárias, ocorre em 1417 cm^{-1} . As bandas características observadas nos espectros de álcoois são oriundas da deformação axial de O-H e de C-O. Essas vibrações são sensíveis à ligação de hidrogênio. Os modos de deformação axial C-O e os de deformação angular O-H unem-se com vibrações de grupos adjacentes. Em 1237 cm^{-1} ocorrem vibrações de deformação axial de C-O de álcoois gerando uma banda intensa. O modo de deformação axial de C-O, encontrado no espectro, é acoplado com a vibração de deformação axial C-C adjacente ¹⁰⁹. As bandas em 1180 e 1092 cm^{-1} referem-se às vibrações de deformação axial do sistema C-O-C (éteres alifáticos). Da mesma forma que ocorre com os álcoois C-O, as bandas de deformação axial dos éteres C-O-C envolvem o acoplamento de outras vibrações da molécula.

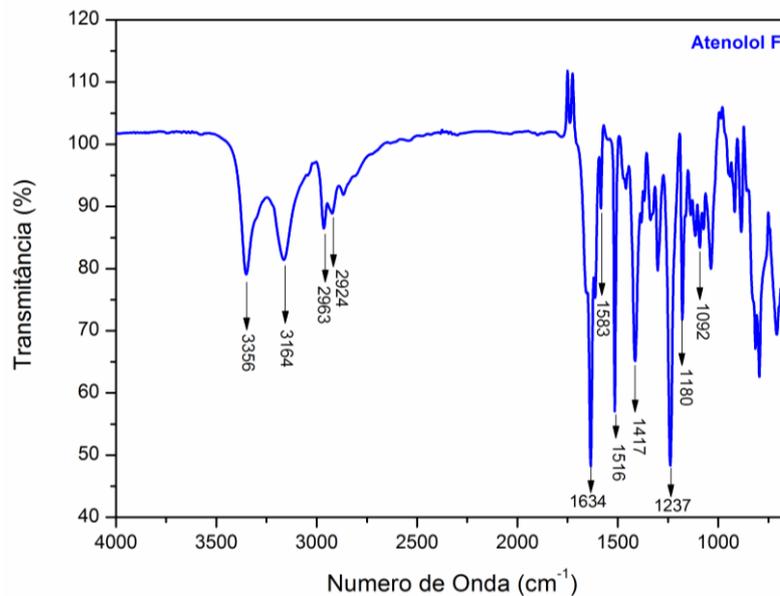


FIGURA 80: ESPECTRO FTIR PARA O ATENOLOL DA FARMÁCIA F, OBTIDO COM RESOLUÇÃO DE 4cm^{-1} NA REGIÃO DE 4000 A 650cm^{-1} , ONDE AS PRINCIPAIS BANDAS DE ABSORÇÃO QUE CARACTERIZAM O FÁRMACO ESTÃO DESTACADAS POR SUAS RESPECTIVAS FREQUÊNCIAS.

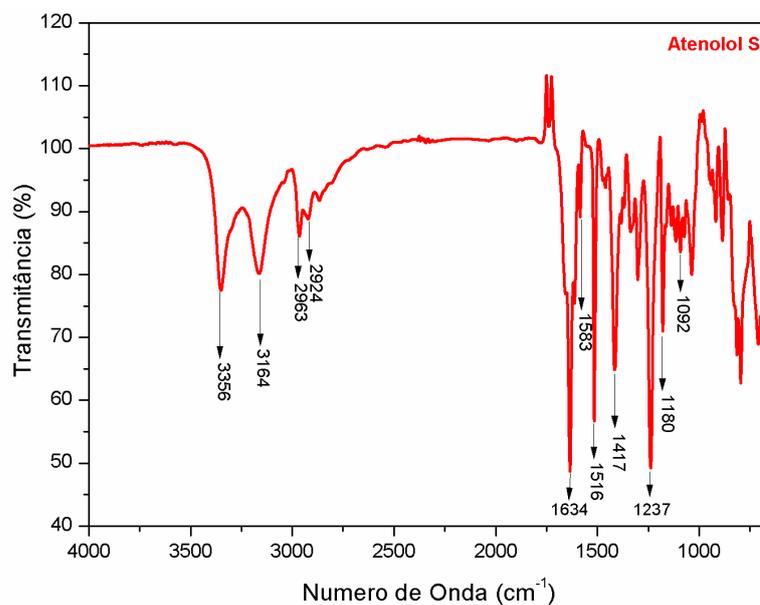
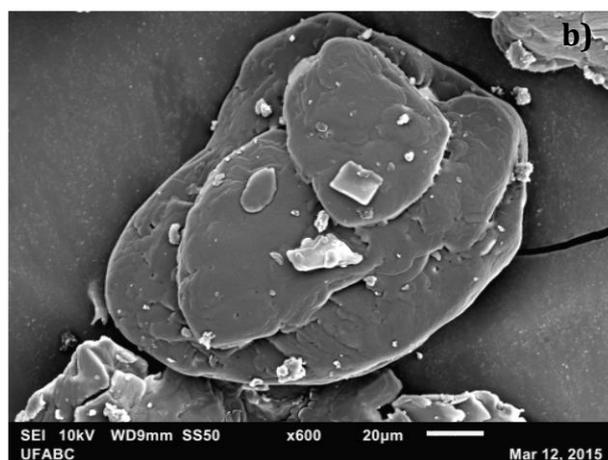
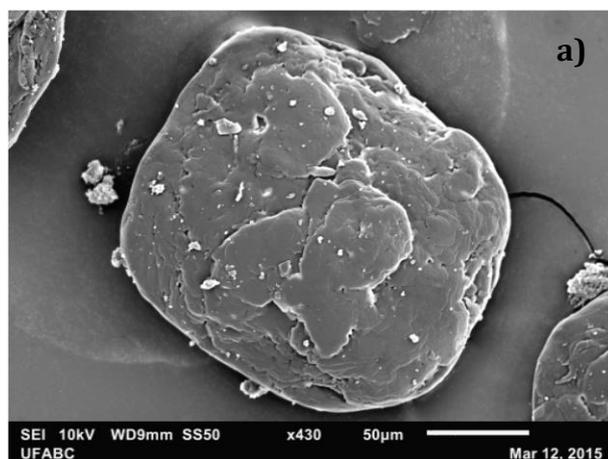


FIGURA 81: ESPECTRO FTIR PARA O ATENOLOL DA FARMÁCIA S, OBTIDO COM RESOLUÇÃO DE 4cm^{-1} NA REGIÃO DE 4000 A 650cm^{-1} , ONDE AS PRINCIPAIS BANDAS DE ABSORÇÃO QUE CARACTERIZAM O FÁRMACO ESTÃO DESTACADAS POR SUAS RESPECTIVAS FREQUÊNCIAS.

As informações obtidas por meio dos espectros FTIR corroboram com os resultados obtidos por meio da técnica de DRXP, auxiliando na caracterização do fármaco e permitindo inferir que para ambas as amostras não ocorre polimorfismo e os valores encontrados para as vibrações características estão de acordo com a literatura^{29, 108}.

4.3.3 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA

As morfologias dos cristais da amostra de Atenolol, de ambas farmácias de manipulação, são irregulares em forma de placas, com polidispersão no tamanho das partículas. Estas imagens são semelhantes com as capturadas por ¹¹⁰ e Marini³⁵ em dois diferentes artigos. As análises de MEV vêm complementar as informações obtidas por DRXP e FTIR. Entretanto, apenas com esta técnica, não é possível afirmar em qual forma se encontra a amostra, visto que ambas são semelhantes em sua morfologia. O hábito cristalino do enantiômero é muito semelhante ao da mistura racêmica, como descrito na literatura. Para a predição da morfologia do cristal foi utilizado o algoritmo BFDH⁹⁷⁻⁹⁹ que prevê o hábito cristalino, nota-se que a imagem da predição morfológica corrobora com os dados encontrados nas micrografias.



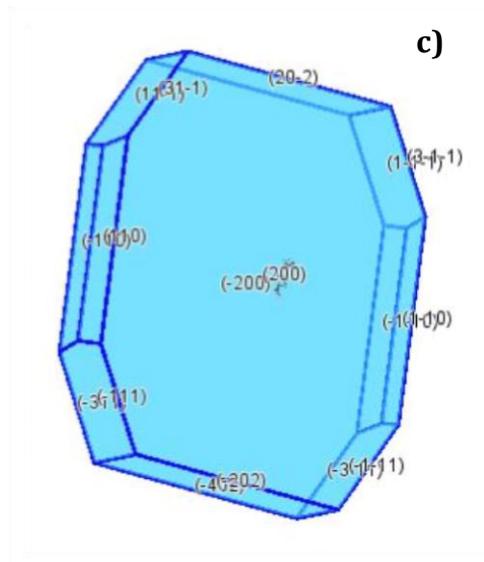


FIGURA 82: MICROGRAFIAS DAS AMOSTRAS DO FÁRMACO ATENOLOL: F (A) E S (B); PREDIÇÃO DA MORFOLOGIA DO ATENOLOL PELO ALGORITMO BFDH⁹⁷⁻⁹⁹ UTILIZANDO O ARQUIVO CIF CEZVIN (C).

4.3.4 ANÁLISE TÉRMICA

O estudo do comportamento térmico do Atenolol foi realizado com o uso das técnicas de TG/DTG e DSC. A Figura 83 e a Figura 84 apresentam as curvas termoanalíticas da amostra de Atenolol proveniente da farmácia F. Por meio da curva apresentada na Figura 83 é possível verificar que a amostra F é termicamente estável até 208,60 °C, temperatura a partir da qual inicia-se o processo de decomposição em dois eventos, como pode ser visto por meio da curva da DTG. Em 152,94 °C, na curva da DTG, aparece um pequeno pico exotérmico, provavelmente devido à presença de materiais voláteis na amostra. Apesar da curva de DTG sugerir a decomposição da amostra em duas etapas, fica difícil separá-las para quantificar a perda de massa referente a cada uma delas, então será apresentada a perda de massa total referente aos dois eventos que aparecem sobrepostos. O primeiro evento ocorre em 291 °C (DTG) e o segundo evento em 341,25 °C (DTG), com perda de massa $\Delta m = 86,29\%$. Podemos observar que no final do experimento houve um teor de resíduo de $\Delta m_{\text{resíduo}} = 13,71\%$ referente à massa da amostra que não degradou.

Na curva de DSC da amostra de Atenolol da farmácia F (Figura 84) foi observado um pequeno evento endotérmico em 54,47 °C provavelmente devido à vibrações no momento da

aquisição dos dados uma vez que não há perda de massa sendo observada nas medidas de TG. Em 155,82 °C (T_{pico}) ocorre um segundo evento endotérmico referente à fusão do princípio ativo. Estes valores encontrados corroboram com os dados encontrados na literatura ^{108,109}.

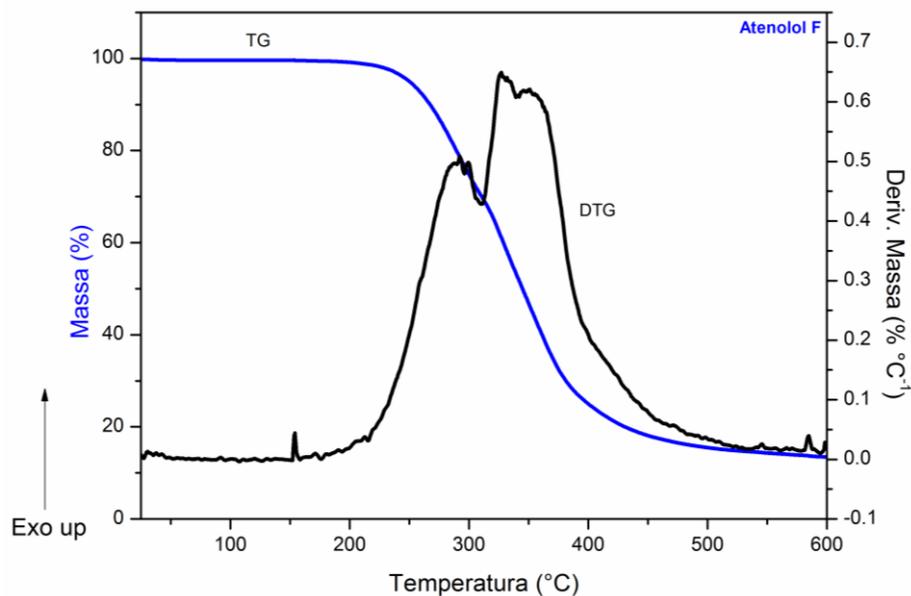


FIGURA 83: CURVA TG/DTG DA AMOSTRA DE ATENOLOL F, OBTIDA A 10 °C.MIN⁻¹, SOB ATMOSFERA DINÂMICA DE N₂ (100 ML.MIN⁻¹), COM MASSA DA AMOSTRA DE APROXIMADAMENTE 3 MG.

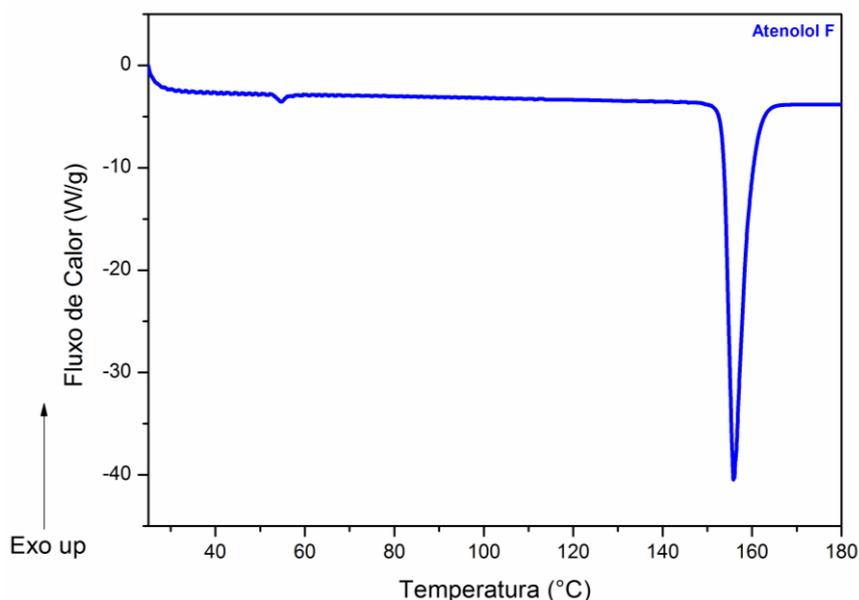


FIGURA 84: CURVA DSC DA AMOSTRA DE ATENOLOL F, OBTIDA A 10 °C.MIN⁻¹, SOB ATMOSFERA DINÂMICA DE N₂ (50 ML.MIN⁻¹) COM MASSA DA AMOSTRA DE APROXIMADAMENTE 3 MG.

Na Tabela 27 e na Tabela 28 estão sintetizadas as principais informações encontradas por meio das curvas de TG/DTG e DSC.

TABELA 27: DADOS TERMOANALÍTICOS OBTIDOS POR TG/DTG DA AMOSTRA DE ATENOLOL DA FARMÁCIA F

	T_{onset} (°C)	T_{endset} (°C)	Δm (%)
Eventos 1-2	233,18	445,30	86,29

TABELA 28: DADOS TERMOANALÍTICOS OBTIDOS POR DSC DA AMOSTRA DE ATENOLOL DA FARMÁCIA F

Amostras	T_{onset} (°C)	T_{pico} (°C)	ΔH (kJ mol ⁻¹)	Pureza (%)	Ponto de fusão (°C)
F	153,56	155,82	41,92	99,97	153,65
Literatura ¹¹¹	146,00	154,36	-	-	-

Na Figura 85 e na Figura 86 são apresentadas as curvas de TG/DTG e DSC da amostra do fármaco Atenolol proveniente da farmácia S. Por meio da curva de TG é possível inferir que o fármaco é termicamente estável até 206,14 °C. Após esta temperatura dá-se início ao processo de decomposição do material em duas etapas. Porém, as curvas tanto da TG como da DTG

encontram-se sobrepostas, dificultando a separação dos eventos e a quantificação de perda de massa individualmente. Considerando como um único evento, este ocorre por volta de 330,28 °C (DTG), com perda de massa de $\Delta m = 88,51\%$, sobrando um resíduo de $\Delta m_{\text{resíduo}} = 11,49\%$.

A Figura 86 ilustra a curva de DSC da amostra de Atenolol da farmácia S. Em 153,47 °C (T_{pico}) ocorre um evento endotérmico referente à fusão do princípio ativo. Nota-se que a curva de DSC para o Atenolol S encontra-se mais alargada, indicando que a amostra está com uma pureza menor em relação a amostra do Atenolol F. Estas informações corroboram com os dados de difração de raios X por policristais onde foram encontrados alguns picos na amostra “S” que não puderam ser refinados utilizando apenas o arquivo CIF referente ao fármaco. Os picos não encontrados foram atribuídos à presença de Hidroclorotiazida juntamente com o Atenolol. Não foi possível identificar na curva de DSC um pico referente à fusão da Hidroclorotiazida porque este IFA tem seu ponto de fusão aproximadamente entre 265-273 °C e como regra do equipamento utilizado, não é permitido realizar análises de DSC próximo de sua temperatura de degradação, então foi necessário que a medida fosse realizada até 180 °C. Porém, se compararmos as curvas de TG/DTG das duas farmácias, nota-se que para a amostra da farmácia F o segundo evento endotérmico possui dois picos sobrepostos, mas com certa definição, ao contrário da curva de TG/DTG da amostra da farmácia S, onde a curva aparece com um formato indefinido possivelmente devido à degradação de ambos os insumos farmacologicamente ativos.

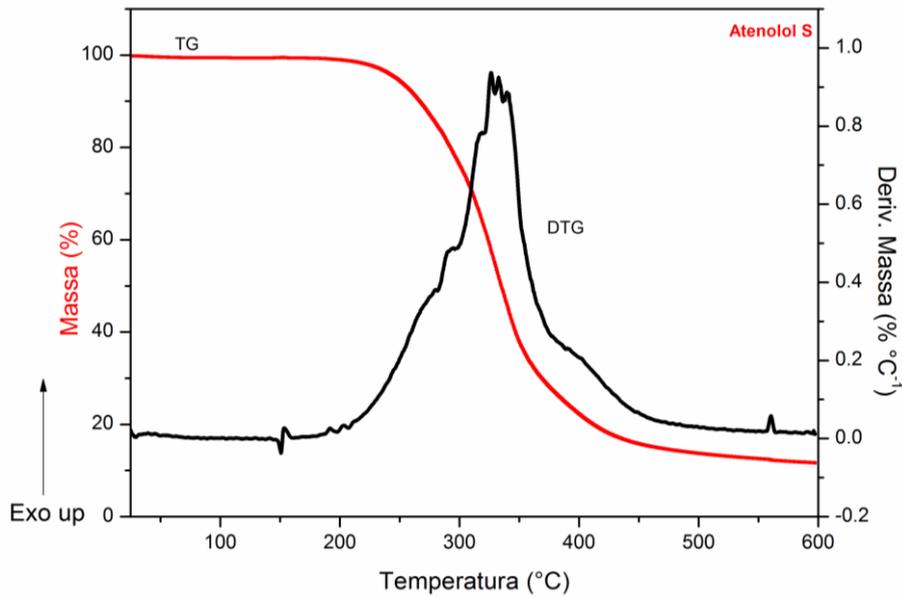


FIGURA 85: CURVA TG/DTG DA AMOSTRA DE ATENOLOL S, OBTIDA A 10 °C·MIN⁻¹, SOB ATMOSFERA DINÂMICA DE N₂ (100 ML·MIN⁻¹), COM MASSA DA AMOSTRA DE APROXIMADAMENTE 3 MG.

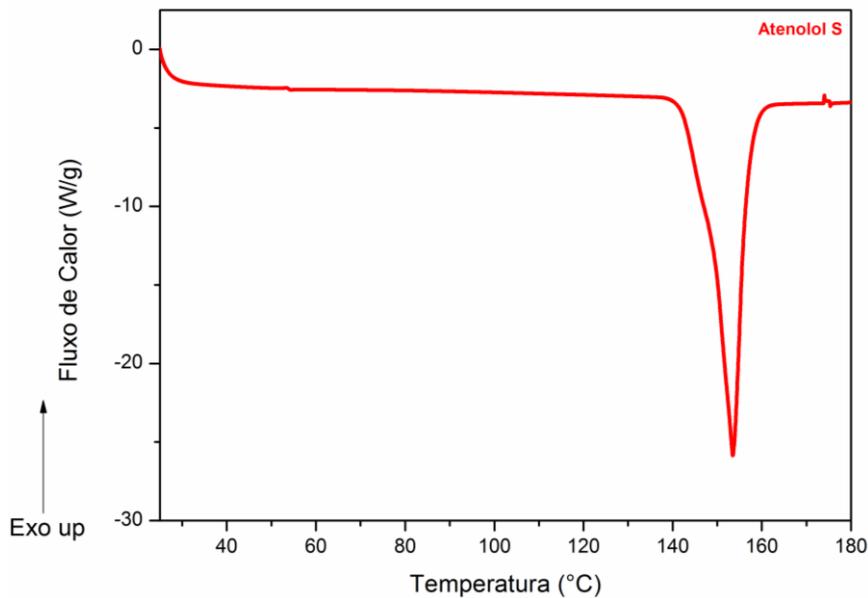


FIGURA 86: CURVA DSC DA AMOSTRA DE ATENOLOL S, OBTIDA A 10 °C·MIN⁻¹, SOB ATMOSFERA DINÂMICA DE N₂ (50 ML·MIN⁻¹) COM MASSA DA AMOSTRA DE APROXIMADAMENTE 3 MG.

Na Tabela 29 e na Tabela 30 estão sintetizadas as principais informações encontradas por meio das curvas de TG/DTG e DSC.

TABELA 29: DADOS TERMOANALÍTICOS OBTIDOS POR TG/DTG DA AMOSTRA DE ATENOLOL DA FARMÁCIA S.

	$T_{onset} (^{\circ}C)$	$T_{endset} (^{\circ}C)$	$\Delta m (%)$
<i>Eventos 1-2</i>	223,45	467,08	88,51

TABELA 30: DADOS TERMOANALÍTICOS OBTIDOS POR DSC DA AMOSTRA DE ATENOLOL DA FARMÁCIA S.

<i>Amostras</i>	$T_{onset} (^{\circ}C)$	$T_{pico} (^{\circ}C)$	$\Delta H (kJ mol^{-1})$	<i>Pureza (%)</i>	<i>Ponto de fusão (^{\circ}C)</i>
<i>S</i>	146,88	153,47	43,37	94,53	153,85
<i>Literatura¹¹¹</i>	146,00	154,36	-	-	-

Na literatura podemos encontrar uma grande diversidade de entalpias e temperaturas de fusão. Esta variação pode ter como origem a existência de várias formas cristalinas. O ponto de fusão do Atenolol encontra-se entre 146-148 °C. Desta forma, a amostra que mais se aproxima do valor esperado é a da farmácia S¹¹⁰. Porém, há relatos em que o ponto de fusão para o Atenolol pode ser encontrado com valores superiores, em torno de 153,2 °C¹¹¹.

4.4 CLORIDRATO DE PROPRANOLOL

4.4.1 DIFRAÇÃO DE RAIOS X POR POLICRISTAIS

São reportados, no banco de dados do CSD, quatro diferentes arquivos CIFs para o fármaco Cloridrato de Propranolol: FIDGAB (grupo espacial $P2_1$), PROPDD (grupo espacial $P2_1$), PROPDL01 (grupo espacial $P2_1/c$) e PROPDL10 (grupo espacial $P2_1/n$). Para os refinamentos de Rietveld foram testados todos os arquivos CIFs, sendo que os arquivos FIDGAB e PROPDL10 foram os que resultaram num melhor acordo com os dados experimentais. Foi escolhido o arquivo FIDGAB pois, visualmente, além dos parâmetros estatísticos que indicam um bom refinamento, este arquivo apresentou uma ótima sobreposição entre os difratogramas calculado e observado. Na Figura 87 são apresentados os difratogramas

do fármaco Cloridrato de Propranolol das amostras provenientes de duas farmácias de manipulação, F e S respectivamente, ilustrando grande semelhança entre ambas.

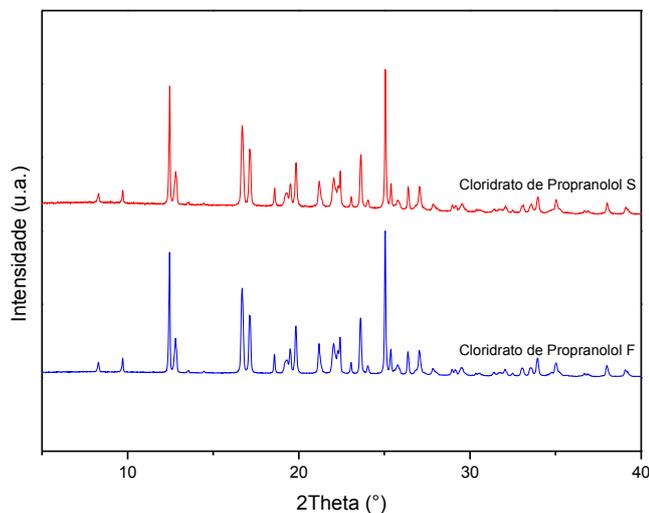


FIGURA 87: DIFRATOGRAMAS DE RAIOS X (NORMALIZADOS) DO FÁRMACO CLORIDRATO DE PROPRANOLOL PROVENIENTE DE DUAS FARMÁCIAS DE MANIPULAÇÃO, IDENTIFICADAS COMO “F” E “S”.

Na Figura 88 estão ilustrados o difratograma do fármaco Cloridrato de Propranolol da farmácia F e os quatro arquivos CIFs encontrados no banco de dados do CSD. A partir de uma análise visual, percebemos que o arquivo que melhor representa o fármaco estudado é o FIDGAB, como mencionado anteriormente, e este será escolhido como arquivo de entrada para a realização do refinamento de Rietveld.

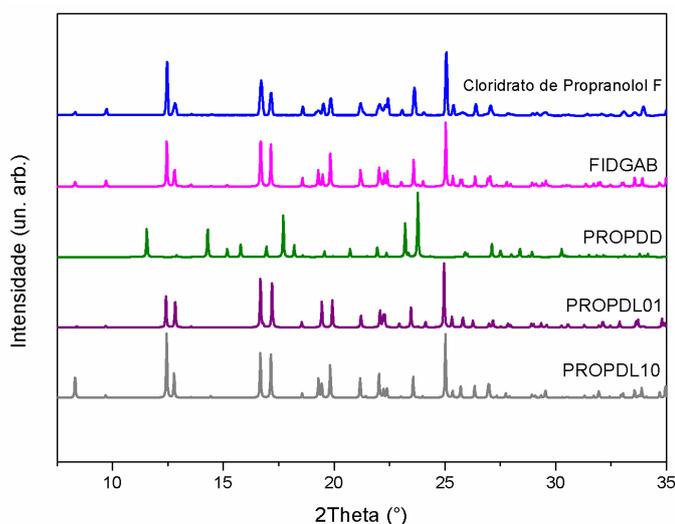


FIGURA 88: DIFRATOGRAMA DE RAIOS X (NORMALIZADOS) DO FÁRMACO CLORIDRATO DE PROPRANOLOL DA FARMÁCIA F, OBTIDOS NO MODO TRANSMISSÃO, COM PASSO DE 1,05° E TEMPO DE INTEGRAÇÃO DE 60

SEG/PASSO, NA FAIXA ANGULAR DE 2°-60°, COMPARADOS COM OS QUATRO ARQUIVOS CIFs ENCONTRADOS NA BASE DE DADOS DO CSD.

A mesma análise foi realizada para o fármaco Cloridrato de Propranolol da farmácia S (Figura 89), resultando na mesma escolha do arquivo CIF para o refinamento da estrutura cristalina.

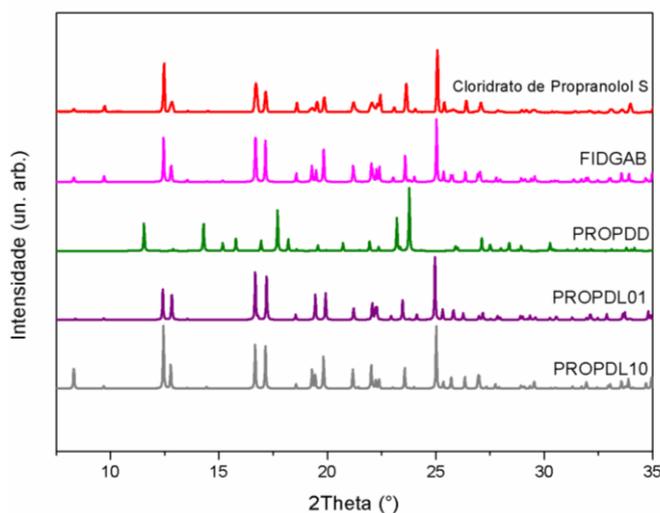


FIGURA 89: DIFRATOGRAMA DE RAIOS X (NORMALIZADOS) DO FÁRMACO CLORIDRATO DE PROPRANOLOL DA FARMÁCIA S, OBTIDOS NO MODO TRANSMISSÃO, COM PASSO DE 1,05° E TEMPO DE INTEGRAÇÃO DE 60 SEG/PASSO, NA FAIXA ANGULAR DE 2°-60°, COMPARADOS COM OS QUATRO ARQUIVOS CIFs ENCONTRADOS NA BASE DE DADOS DO CSD.

Na Figura 90 e na Figura 91 são apresentados os gráficos de Rietveld para as amostras de Cloridrato de Propranolol. Podemos notar, tanto visualmente como por meio dos índices de qualidade do ajuste (índices R e χ^2), que foram obtidos bons resultados para o refinamento, indicando que o modelo teórico está adequado com nosso resultado experimental. Na Tabela 31 são indica as informações cristalográficas como parâmetros de rede, volume, grupo espacial e sistema cristalino para os arquivos CIFs referente ao Cloridrato de Propranolol.

TABELA 31: INFORMAÇÕES CRISTALOGRAFICAS DO CLORIDRATO DE PROPRANOLOL (CIF)

	<i>FIDGAB</i>	<i>PROPDD</i>	<i>PROPDL01</i>	<i>PROPDL10</i>
<i>a</i> (Å)	13,979(7)	12,430(60)	13,931	14,017(2)
<i>b</i> (Å)	8,279(9)	9,740(60)	8,327	8,285(1)
<i>c</i> (Å)	14,020(8)	6,880(90)	18,240	14,005(1)
α (°)	90	90	90	90
β (°)	98,86(5)	94	130,81	98,76(2)

γ (°)	90	90	90	90
Volume (Å ³)	1603,20	830,92	1601,49	1607,44
Sistema Cristalino	Monoclínico	Monoclínico	Monoclínico	Monoclínico
Grupo Espacial	$P2_1$	$P2_1$	$P2_1/c$	$P2_1/n$

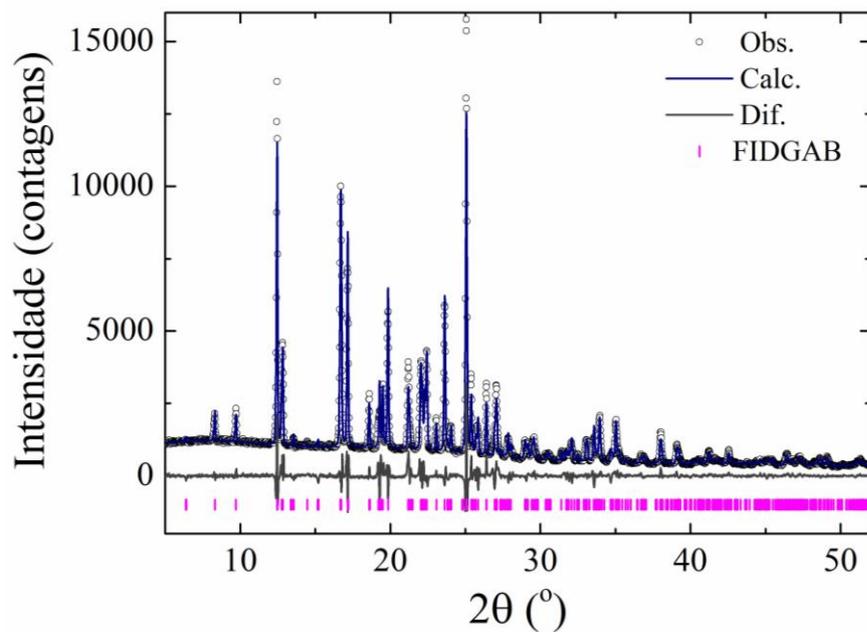


FIGURA 90: GRÁFICO DE RIETVELD DO FÁRMACO CLORIDRATO DE PROPRANOLOL (F) TRITURADO. CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS: 105° (2θ), TEMPO DE INTEGRAÇÃO 60 SEG/PASSO. A LINHA EM AZUL É O DIFRATOGRAMA CALCULADO, OS CÍRCULOS EM PRETO O DIFRATOGRAMA OBSERVADO E AS LINHAS EM CINZA SÃO AS DIFERENÇAS ENTRE AMBOS, AS BARRAS MOSTRAM OS PICOS DE BRAGG. $R_{WP} = 7,966\%$; $R_{EXP} = 3,097\%$; $R_{BRAGG} = 3,583\%$; $\chi^2 = 2,572$.

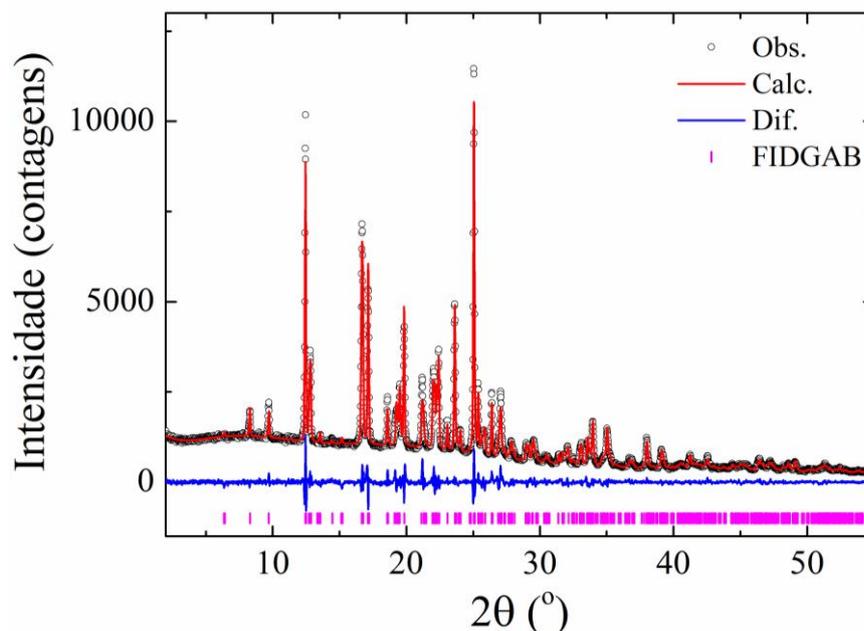


FIGURA 91: GRÁFICO DE RIETVELD DO FÁRMACO CLORIDRATO DE PROPRANOLOL (S) TRITURADO. CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS: 1.05° (2θ), TEMPO DE INTEGRAÇÃO 60 SEG/PASSO. A LINHA EM AZUL É O DIFRATOGRAMA CALCULADO, OS CÍRCULOS EM PRETO O DIFRATOGRAMA OBSERVADO E AS LINHAS EM CINZA SÃO AS DIFERENÇAS ENTRE AMBOS, AS BARRAS MOSTRAM OS PICOS DE BRAGG. $R_{WP} = 5,807\%$; $R_{EXP} = 3,322\%$; $R_{BRAGG} = 1,759\%$; $X^2 = 1,748$.

O medicamento Cloridrato de Propranolol é comercializado em comprimidos revestidos de 10 mg, 40 mg e 80 mg. Neste trabalho foi utilizada a composição de 40 mg. O medicamento de referência é o Inderal[®], comercializado pela AstraZeneca. Foram adquiridos também os medicamentos similar, que é comercializado como PROPRAMED[®], do laboratório GRUPO CIMED e o genérico da Teuto. Abaixo é apresentada a tabela contendo os medicamentos: referência (R), genérico (G) e similar (S), na forma de comprimidos que foram analisados, com a informação dos excipientes que constam em suas bulas.

TABELA 32: EXCIPIENTES DOS MEDICAMENTOS REFERÊNCIA (R), GENÉRICO (G) E SIMILAR (S) DO MEDICAMENTO CLORIDRATO DE PROPRANOLOL

Excipientes	Cloridrato de Propranolol R	Cloridrato de Propranolol G	Cloridrato de Propranolol S
povidona			
estearato de magnésio	X		X
croscarmelose sódica			X
lactose monoidratada	X		

<i>lactose</i>		X
<i>gelatina</i>	X	
<i>amido de milho</i>		X
<i>amido</i>		X
<i>manitol</i>		X
<i>celulose microcristalina</i>	X	X
<i>dióxido de silício coloidal</i>		X
<i>talco</i>		X
<i>álcool etílico</i>		X

Na Figura 92 é apresentado o gráfico de Rietveld para o medicamento Cloridrato de Propranolol referência. Foram utilizados como arquivos de entrada para o Refinamento de Rietveld o CIF referente ao princípio ativo e o CIF referente à lactose. Tanto visualmente como pelos índices estatísticos apresentados na

Tabela 33 é possível notar que houve um ajuste adequado entre os difratogramas observado e calculado. Realizando a quantificação de fases cristalinas é possível saber que a fase majoritária é referente ao excipiente lactose com ~82,15(44)% em massa, seguido do insumo farmacologicamente ativo correspondendo a ~17,85(44)%.

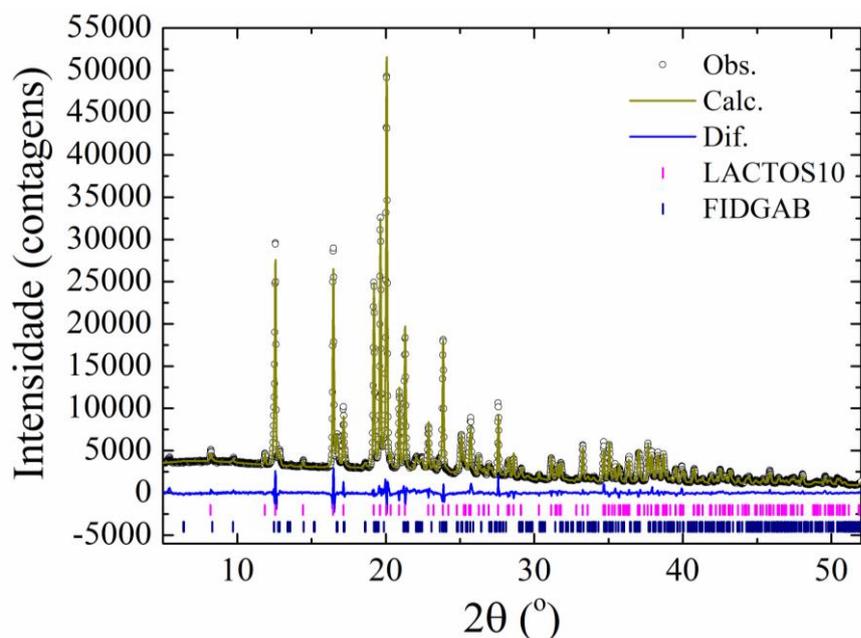


FIGURA 92: REFINAMENTO DE RIETVELD DO MEDICAMENTO CLORIDRATO DE PROPRANOLOL REFERÊNCIA DA ASTRAZENECA (INDERAL), ONDE O PADRÃO CALCULADO ESTÁ REPRESENTADO PELA LINHA VERDE, O PADRÃO OBSERVADO PELOS CÍRCULOS EM PRETO, A DIFERENÇA ENTRE OS PADRÕES OBSERVADO E CALCULADO PELA LINHA AZUL E AS POSIÇÕES DOS PICOS DE BRAGG PELAS BARRAS: IFA(AZUL) E A LACTOSE (ROSA).

TABELA 33: ÍNDICES DE QUALIDADE DO MEDICAMENTO REFERÊNCIA ASTRAZENECA

	R_{wp}	R_{exp}	R_{Bragg}	χ^2
<i>FIDGAB</i>	5,107	1,880	2,086	2,716
<i>LACTOS10</i>	5,107	1,880	2,123	2,716

O refinamento de Rietveld para a amostra de Cloridrato de Propranolol genérico é apresentado na Figura 93. Para este medicamento foram utilizados como arquivos de entrada o CIF referente ao princípio ativo e os CIFs referente aos excipientes manitol e talco. Por meio da quantificação de fases cristalinas, percebe-se que a fase que apresenta maior quantidade é referente ao manitol 79,41(59)%, seguida pelo princípio ativo que representa ~17,59(59)%. Embora em pequena quantidade, foi necessário considerar o talco para que alguns picos se ajustassem de forma satisfatória, correspondendo ~3,00(59)%. Na Tabela 34 são apresentados os índices estatísticos encontrados ao final do refinamento. Podemos concluir que houve um ajuste aceitável entre o difratograma experimental e teórico.

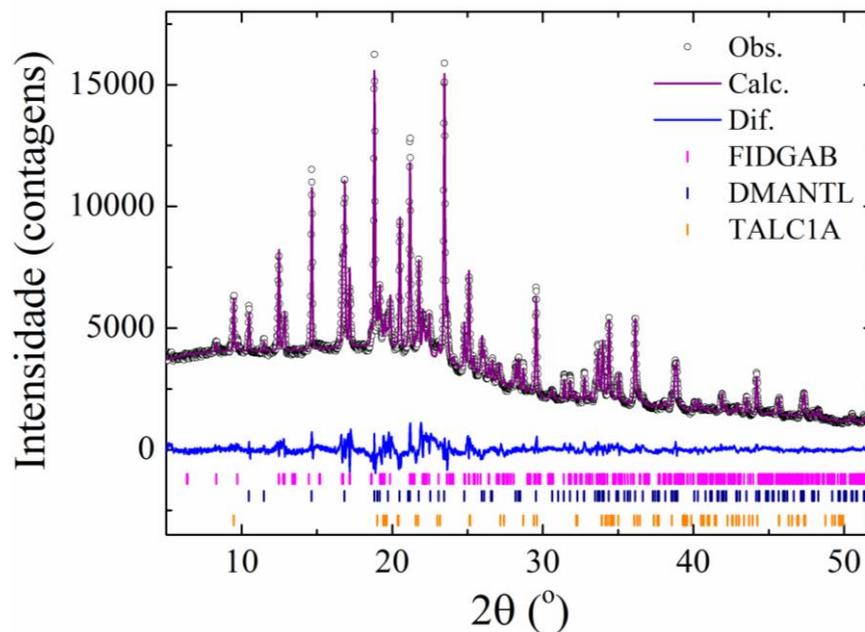


FIGURA 93: REFINAMENTO DE RIETVELD DO MEDICAMENTO CLORIDRATO DE PROPRANOLOL GENÉRICO DA TEUTO, ONDE O PADRÃO CALCULADO ESTÁ REPRESENTADO PELA LINHA LILÁS, O PADRÃO OBSERVADO PELOS CÍRCULOS EM PRETO, A DIFERENÇA ENTRE OS PADRÕES OBSERVADO E CALCULADO PELA LINHA AZUL E AS POSIÇÕES DOS PICOS DE BRAGG PELAS BARRAS: IFA (ROSA), MANITOL (AZUL) E TALCO (LARANJA).

TABELA 34: ÍNDICES DE QUALIDADE DO MEDICAMENTO GENÉRICO TEUTO

	R_{wp}	R_{exp}	R_{Bragg}	χ^2
<i>FIDGAB</i>	3,305	1,845	1,354	1,791
<i>DMANTL</i>	3,305	1,845	1,988	1,791
<i>TALC 1A</i>	3,305	1,845	2,976	1,791

A Figura 94 mostra o gráfico de Rietveld para a amostra de Cloridrato de Propranolol similar. Para esta amostra os arquivos de entrada utilizados para o refinamento de Rietveld foram o dióxido de silício, princípio ativo e lactose. A Tabela 33 apresenta os valores encontrados após o refinamento de Rietveld. A fase cristalina prevalecente é referente ao dióxido de silício com ~61,95(70)%, seguida pela lactose com ~23,05(70)% e IFA com ~15,00(35)%. Visualmente, alguns picos e intensidades não foram ajustadas, porém o intuito da realização deste refinamento é verificar se o princípio ativo está presente no medicamento, o que pode ser comprovado por meio da quantificação de fases em que aparece o IFA com ~15%.

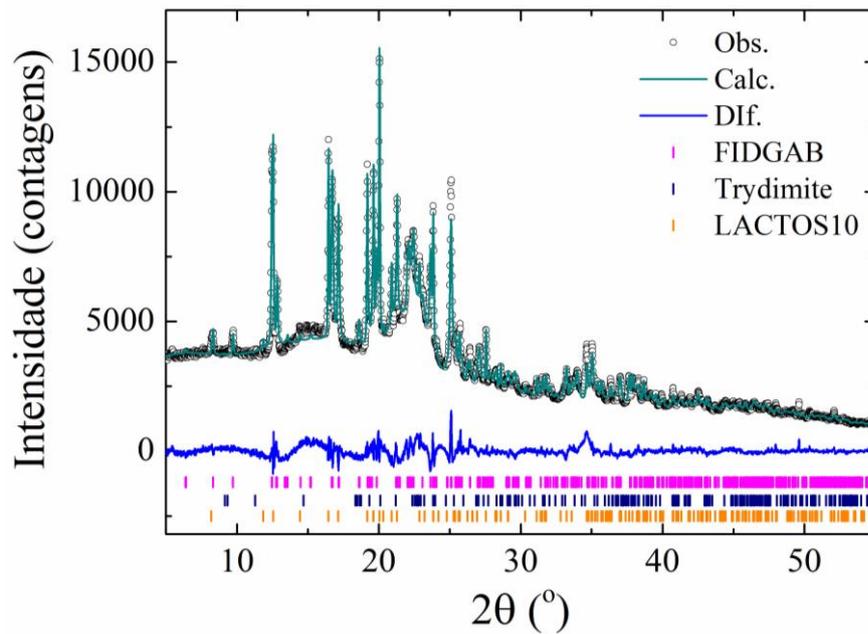


FIGURA 94: REFINAMENTO DE RIETVELD DO MEDICAMENTO CLORIDRATO DE PROPRANOLOL SIMILAR DO GRUPO CIMED (PROPRAMED), ONDE O PADRÃO CALCULADO ESTÁ REPRESENTADO PELA LINHA VERDE, O PADRÃO OBSERVADO PELOS CÍRCULOS EM PRETO, A DIFERENÇA ENTRE OS PADRÕES OBSERVADO E CALCULADO PELA LINHA AZUL E AS POSIÇÕES DOS PICOS DE BRAGG PELAS BARRAS: IFA (ROSA), DIÓXIDO DE SILÍCIO (AZUL) E LACTOSE (LARANJA).

TABELA 35: ÍNDICES DE QUALIDADE DO MEDICAMENTO SIMILAR CIMED

	R_{wp}	R_{exp}	R_{Bragg}	χ^2
<i>FIDGAB</i>	4,092	1,799	1,622	2,275
<i>Tridymite</i>	4,092	1,799	0,495	2,275
<i>LACTOS10</i>	4,092	1,799	1,233	2,275

4.4.2 ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER

O Cloridrato de Propranolol apresenta alguns grupos funcionais presentes em sua estrutura como amina secundária, éter, álcool secundário e naftaleno, por exemplo. Em 3280 cm^{-1} ocorre a vibração de estiramento da hidroxila. A vibração em 1590 cm^{-1} é atribuída à deformação angular simétrica no plano de N-H.

As aminas alifáticas secundárias apresentam bandas de absorção da ligação C-N não conjugada em 1235 cm^{-1} e 1030 cm^{-1} . Estas bandas são originárias da deformação axial do grupo C-N e estão acopladas com a deformação axial das ligações adjacentes da molécula. A banda correspondente à deformação angular simétrica no plano de N-H pode ser observada em 1580 cm^{-1} .

Em 1105 cm^{-1} ocorre uma banda intensa que é devida à deformação axial assimétrica de C-O-C. O espectro referente ao grupo alquil-aril-éteres mostra uma banda de deformação axial assimétrica de C-O-C em 1270 cm^{-1} , com a deformação axial simétrica aparecendo em 1030 cm^{-1} .

A vibração de deformação axial de C-O de álcoois é encontrada em 1235 cm^{-1} . Essa deformação acopla-se com a vibração de deformação axial do C-C adjacente. A vibração de deformação angular no plano da ligação O-H ocorre em 1330 cm^{-1} . Tanto em álcoois primários como em secundários, a deformação angular no plano de O-H acopla-se com as vibrações de deformação angular simétrica fora do plano de C-H, gerando duas bandas de absorção, uma em torno de 1448 cm^{-1} e outra em 1330 cm^{-1} . No caso do grupo naftaleno α -substituído, a banda correspondente aparece em 800 cm^{-1} . Para este mesmo grupo, as vibrações de deformação angular fora do plano de C-H ocorrem em 900 cm^{-1} e 670 cm^{-1} ^{112, 113}. Na Figura 95 e na Figura 96 são apresentados os espectros de infravermelho do Cloridrato de Propranolol das amostras das farmácias F e S, respectivamente. Os valores para as vibrações dos grupos presentes na estrutura química do fármacos estão de acordo com os relatados na literatura para ambas as amostras⁹³.

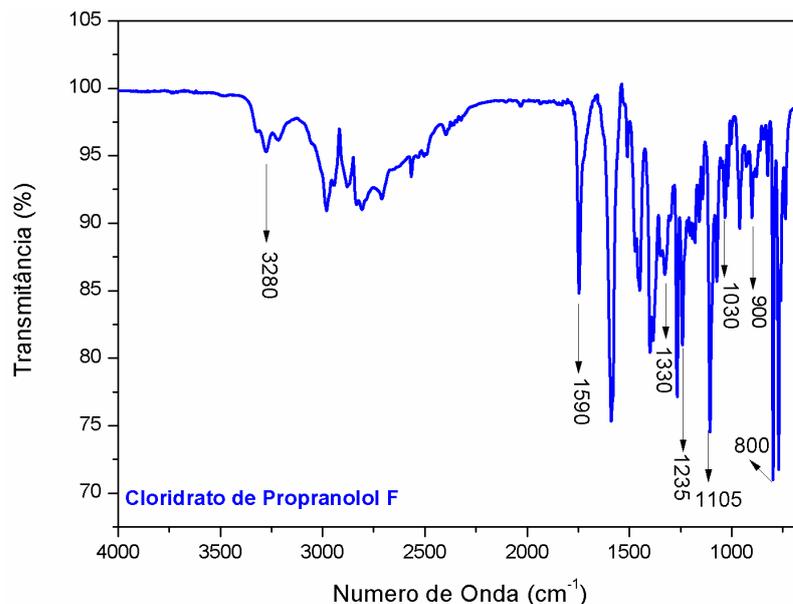


FIGURA 95: ESPECTRO FTIR PARA O CLORIDRATO DE PROPRANOLOL DA FARMÁCIA F, OBTIDO COM RESOLUÇÃO DE 4 cm^{-1} NA REGIÃO DE 4000 A 650 cm^{-1} , ONDE AS PRINCIPAIS BANDAS DE ABSORÇÃO QUE CARACTERIZAM O FÁRMACO ESTÃO DESTACADAS POR SUAS RESPECTIVAS FREQUÊNCIAS.

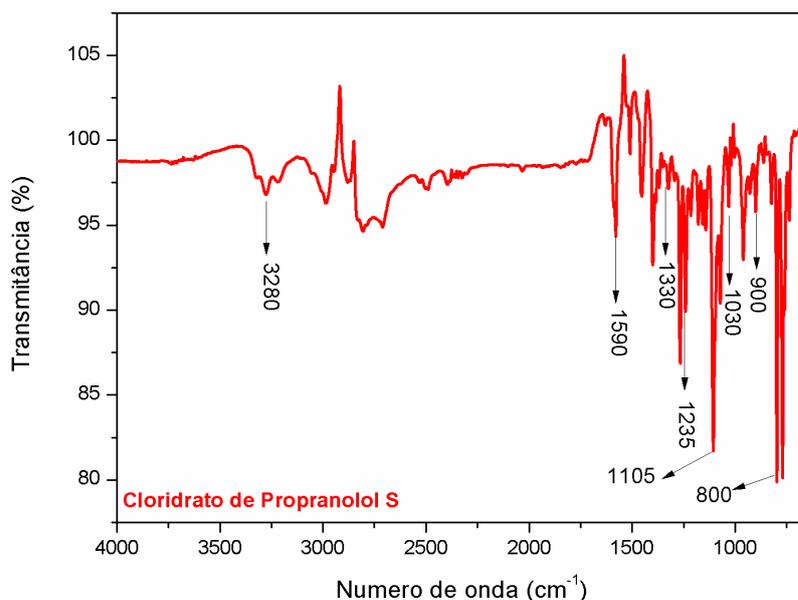


FIGURA 96: ESPECTRO FTIR PARA O CLORIDRATO DE PROPRANOLOL DA FARMÁCIA S, OBTIDO COM RESOLUÇÃO DE 4 cm^{-1} NA REGIÃO DE 4000 A 650 cm^{-1} , ONDE AS PRINCIPAIS BANDAS DE ABSORÇÃO QUE CARACTERIZAM O FÁRMACO ESTÃO DESTACADAS POR SUAS RESPECTIVAS FREQUÊNCIAS.

Um estudo realizado por Bartolomei e colaboradores²⁵ apresentou as diferenças entre os espectros de FTIR para a Forma I e para a Forma II (farmacologicamente ativa) do Cloridrato de Propranolol. Apesar das sutis diferenças entre os espectros é possível identificar as diferenças entre elas na região de *finger print* do espectro. A diferença mais pronunciada é um duplo pico por volta de 1600 cm^{-1} para a Forma II, sendo que para a Forma I aparece um único pico alargado. Por meio da comparação entre os espectros é possível identificar picos que estão

presentes em uma forma e ausentes em outra. Assim esta técnica torna-se eficiente para a caracterização e identificação de modificações cristalinas.

Comparando os espectros de FTIR juntamente com os resultados encontrados por meio da técnica de DRXP podemos concluir que as amostras possuem o IFA estudado.

4.4.3 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA

A Figura 97 apresenta as imagens de MEV do princípio ativo Cloridrato de Propranolol bem como a predição da morfologia cristalina do fármaco utilizando o algoritmo BFDH (Bravais, Friedel, Donnay and Harker)⁹⁷⁻⁹⁹. A morfologia do cristal utilizando o BFDH é uma aproximação com base nas informações geométricas e cristalográficas encontradas no arquivo CIF e para este fármaco foi utilizado o FIDGAB. A distribuição do tamanho das partículas do IFA é variada, tendo partículas menores de 14 μm e outras de $\sim 40 \mu\text{m}$. Tanto a predição da morfologia gerada pelo algoritmo BFDH como os artigos reportados na literatura¹¹⁰²⁵ corroboram para confirmar que esta amostra é o Cloridrato de Propranolol.

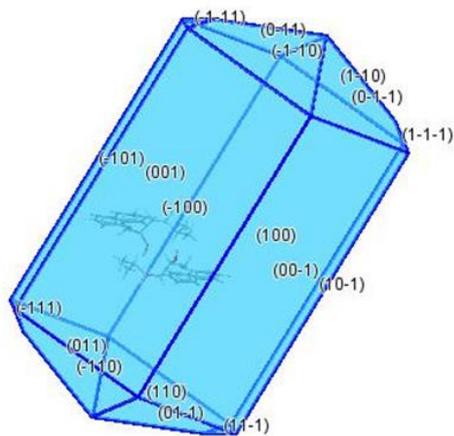
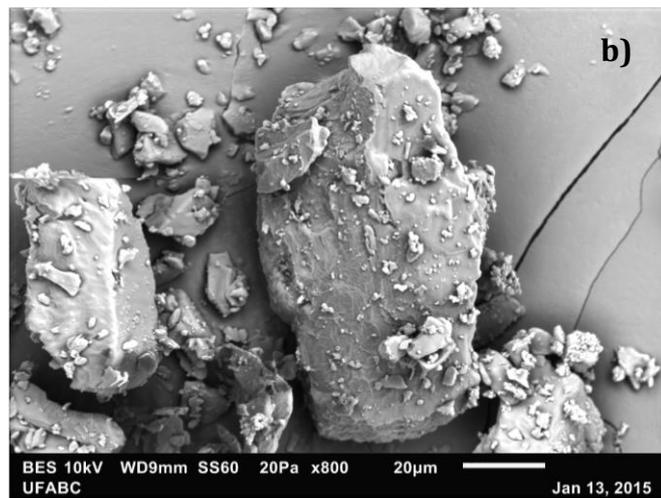
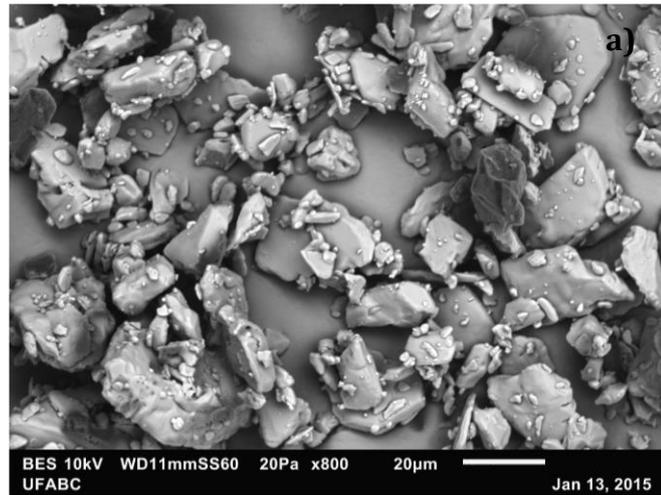


FIGURA 97: MICROGRAFIAS DAS AMOSTRAS DO FÁRMACO CLORIDRATO DE PROPRANOLOL: F (A) E S (B); PREDIÇÃO DA MORFOLOGIA DO CLORIDRATO DE PROPRANOLOL PELO BFDH UTILIZANDO O ARQUIVO CIF FIDGAB (C).

4.4.4 ANÁLISE TÉRMICA

Na Figura 98 e na Figura 99 são mostradas as curvas de TG/DTG da amostra de Cloridrato de Propranolol da farmácia F. Podemos verificar na Figura 98 que o fármaco é termicamente estável até por volta de 219 °C. Para temperaturas mais altas, inicia-se a degradação do IFA. Este processo de decomposição térmica ocorre em uma única etapa, que pode ser vista por meio da curva de TG, havendo uma perda de massa de $\Delta m = 100\%$. Os picos presentes na curva de DTG correspondem à temperatura em que a reação está acontecendo mais rapidamente (T_{pico}) que para o caso do fármaco estudado foi de 302 °C.

Já na curva de DSC da amostra de Cloridrato de Propranolol F, apresentada na Figura 99, pode ser observado um único evento endotérmico em 163,72 °C (T_{pico}) referente à fusão do princípio ativo.

Na Tabela 36 e na Tabela 37 estão exemplificadas as temperaturas iniciais e finais de cada evento térmico demonstrados nas curvas de TG/DTG e DSC da amostra de Cloridrato de Propranolol F e estes resultados estão de acordo com os encontrados na literatura^{25, 93}.

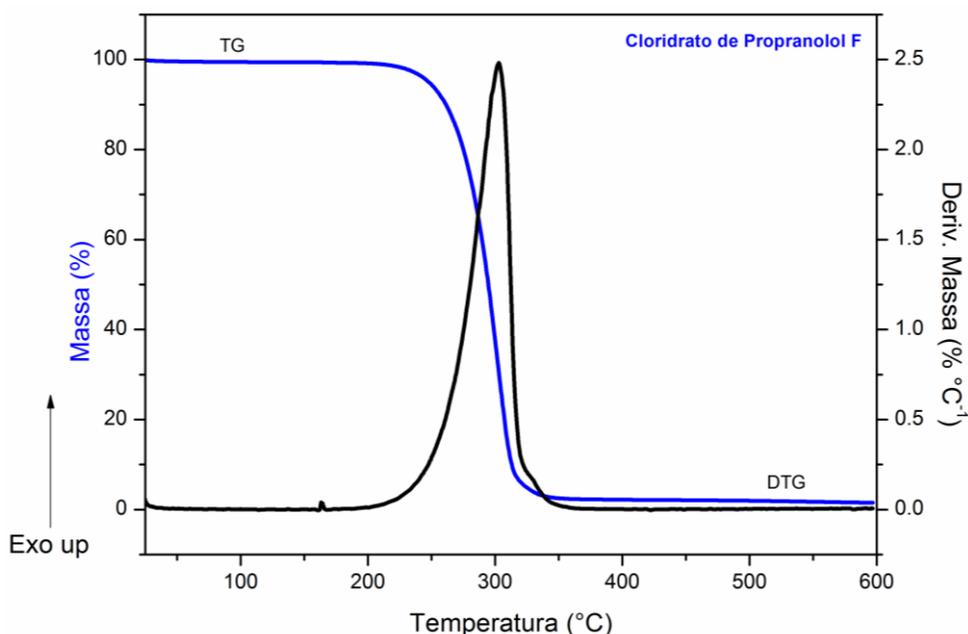


FIGURA 98: CURVA TG/DTG DA AMOSTRA DE CLORIDRATO DE PROPRANOLOL F, OBTIDA A 10°C.MIN⁻¹, SOB ATMOSFERA DINÂMICA DE N₂ (100ML.MIN⁻¹), COM MASSA DA AMOSTRA DE APROXIMADAMENTE 3 MG.

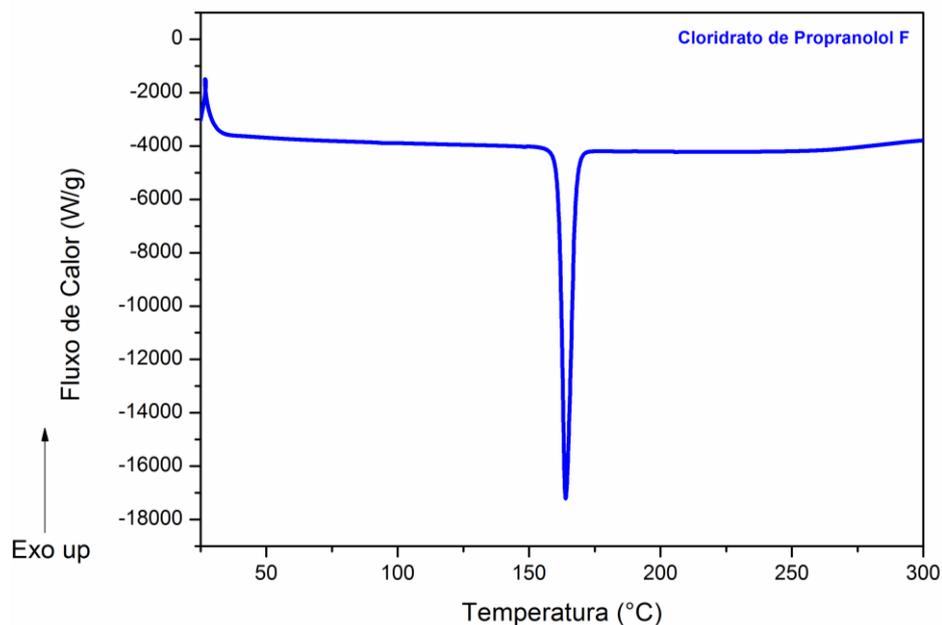


FIGURA 99: CURVA DE DSC DA AMOSTRA DE CLORIDRATO DE PROPRANOLOL F, OBTIDA A $10^{\circ}\text{C}.\text{MIN}^{-1}$, SOB ATMOSFERA DINÂMICA DE N_2 ($50\text{ML}.\text{MIN}^{-1}$) COM MASSA DA AMOSTRA DE APROXIMADAMENTE 3 MG.

TABELA 36: DADOS TERMOANALÍTICOS OBTIDOS POR TG/DTG DA AMOSTRA DE CLORIDRATO DE PROPRANOLOL DA FARMÁCIA F

	$T_{\text{onset}} (^{\circ}\text{C})$	$T_{\text{endset}} (^{\circ}\text{C})$	Δm (%)
<i>Evento 1</i>	236,82	325,32	100

TABELA 37: DADOS TERMOANALÍTICOS OBTIDOS POR DSC DA AMOSTRA DE CLORIDRATO DE PROPRANOLOL DA FARMÁCIA F

<i>Amostras</i>	$T_{\text{onset}} (^{\circ}\text{C})$	$T_{\text{pico}} (^{\circ}\text{C})$	ΔH (kJ mol^{-1})	<i>Pureza</i> (%)	<i>Ponto de fusão</i> ($^{\circ}\text{C}$)
<i>F</i>	155,50	163,72	35,72	99,86	162,20
<i>Lit. Forma I</i> ⁹³	163,03	166,05	31,36	-	-
<i>Lit. Forma II</i> ⁹³	161,80	163,62	36,15	-	-

Na Figura 100 e na Figura 101 são apresentadas as curvas de TG/DTG e DSC da amostra de Cloridrato de Propranolol proveniente da farmácia S. Na curva de TG, pode-se observar que não há perda de massa até aproximadamente 205°C . De acordo com a curva DTG, o Cloridrato de Propranolol S apresenta perda de massa em uma única etapa entre 205°C e 325°C , correspondendo a 100% associada ao pico endotérmico em $301,63^{\circ}\text{C}$ (DTG).

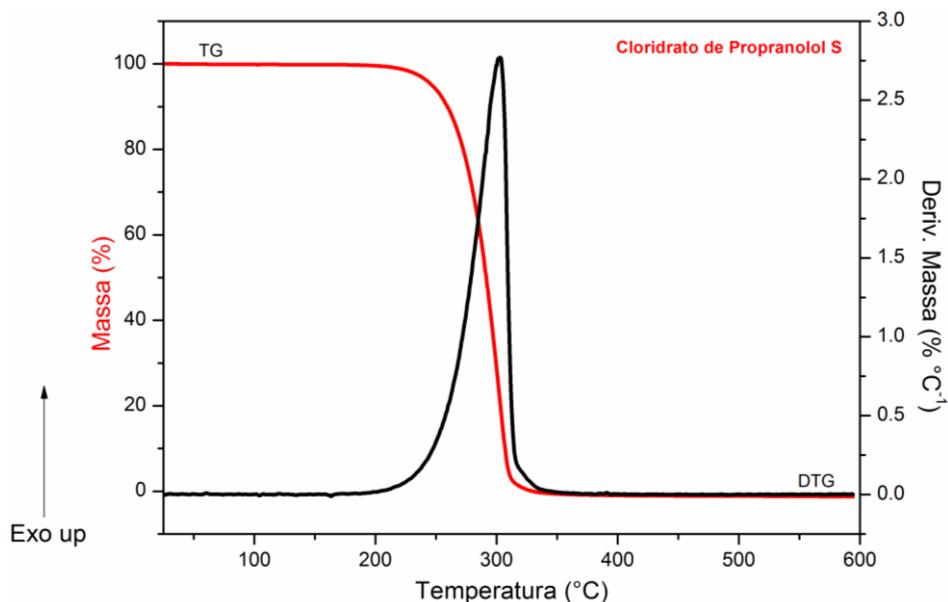


FIGURA 100: CURVA TG/DTG DA AMOSTRA DE CLORIDRATO DE PROPRANOLOL S, OBTIDA A $10\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{MIN}^{-1}$, SOB ATMOSFERA DINÂMICA DE N_2 ($100\text{ ML}\cdot\text{MIN}^{-1}$), COM MASSA DA AMOSTRA DE APROXIMADAMENTE 3 MG.

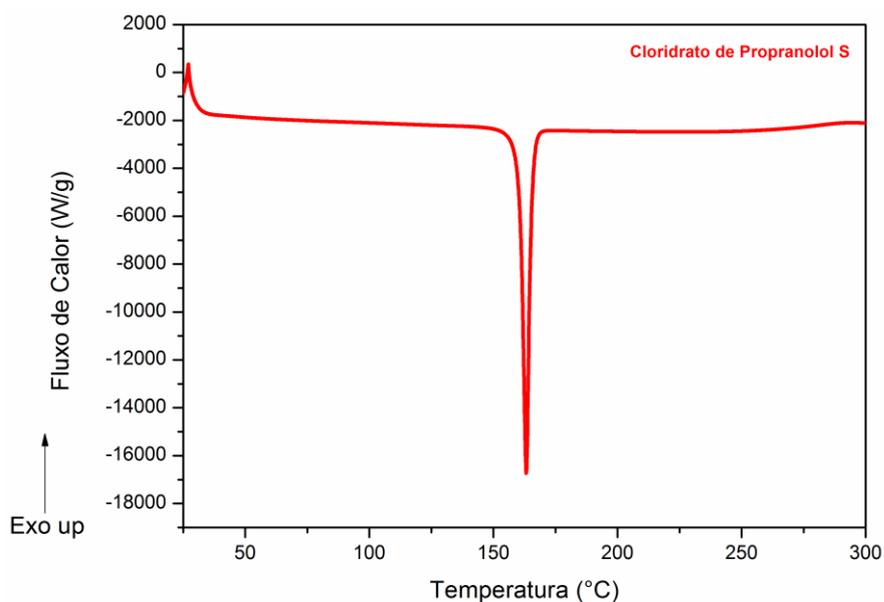


FIGURA 101: CURVA DE DSC DA AMOSTRA DE CLORIDRATO DE PROPRANOLOL S, OBTIDA A $10\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{MIN}^{-1}$, SOB ATMOSFERA DINÂMICA DE N_2 ($50\text{ ML}\cdot\text{MIN}^{-1}$) COM MASSA DA AMOSTRA DE APROXIMADAMENTE 3 MG.

Na curva de DSC da amostra de Cloridrato de Propranolol da farmácia S foi observado um evento endotérmico em $163\text{ }^{\circ}\text{C}$ (T_{pico}) referente à fusão do princípio ativo. Na Tabela 38 e na Tabela 39 são exemplificadas as temperaturas iniciais e finais de cada evento térmico demonstrados nas curvas de TG/DTG e DSC da amostra de Cloridrato de Propranolol S.

TABELA 38: DADOS TERMOANALÍTICOS OBTIDOS POR TG/DTG DA AMOSTRA DE CLORIDRATO DE PROPRANOLOL DA FARMÁCIA S

	T_{onset} (°C)	T_{endset} (°C)	Δm (%)
<i>Evento 1</i>	229,54	319,18	100

TABELA 39: DADOS TERMOANALÍTICOS OBTIDOS POR DSC DA AMOSTRA DE CLORIDRATO DE PROPRANOLOL DA FARMÁCIA S

<i>Amostras</i>	T_{onset} (°C)	T_{pico} (°C)	ΔH (kJ mol ⁻¹)	<i>Pureza</i> (%)	<i>Ponto de fusão</i> (°C)
<i>S</i>	152,62	163,00	32,74	99,59	161,90
<i>Lit. Forma I⁹³</i>	163,03	166,05	31,36	-	-
<i>Lit. Forma II⁹³</i>	161,80	163,62	36,15	-	-

4.5 HIDROCLOROTIAZIDA

4.5.1 DIFRAÇÃO DE RAIOS X POR POLICRISTAIS

O fármaco Hidroclorotiazida possui, reportados na literatura, cinco arquivos CIFs no banco de dados do CSD: HCSBTZ (grupo espacial $P2_1$), HCSBTZ01 (grupo espacial $P2_1/c$), HCSBTZ02 (grupo espacial $P2_1/c$), HCSBTZ03 (grupo espacial $P2_1$) e HCSBTZ04 (grupo espacial $P2_1/c$). Para o refinamento de Rietveld foram testados todos os arquivos, sendo escolhido o HCSBTZ, pois foi o que melhor se ajustou tanto visualmente como foi o que apresentou melhores parâmetros estatísticos. Na Figura 102 são apresentados os difratogramas normalizados das duas farmácias de manipulação. Não são observadas diferenças visuais entre os mesmos.

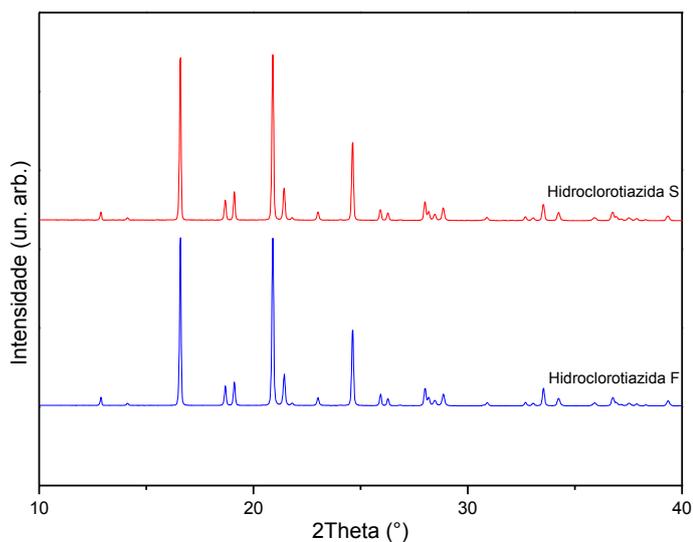


FIGURA 102: DIFRATOGRAMAS DE RAIOS X (NORMALIZADOS) DO FÁRMACO HIDROCLOROTIAZIDA PROVENIENTE DE DUAS FARMÁCIAS DE MANIPULAÇÃO, IDENTIFICADAS COMO “F” E “S”.

Na Figura 103 e na Figura 104 são mostrados os difratogramas das farmácias de manipulação juntamente com os cinco arquivos CIFs reportados na literatura (normalizados). Na Tabela 40 são apresentadas as informações cristalográficas contidas nas fichas.

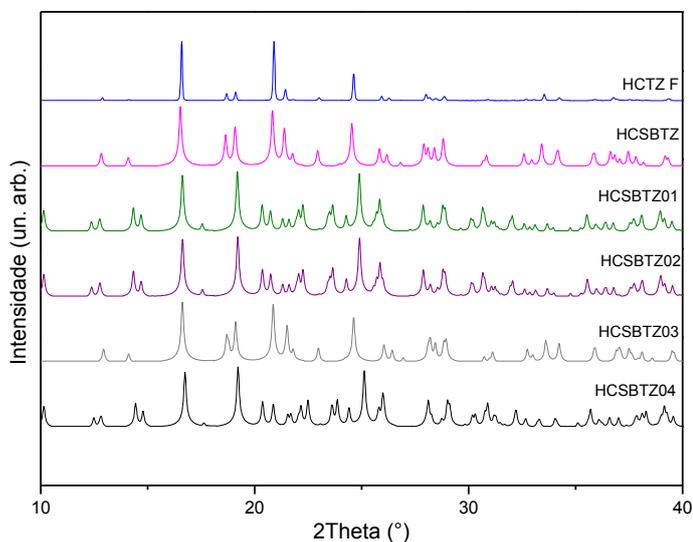


FIGURA 103: DIFRATOGRAMA DE RAIOS X (NORMALIZADOS) DO FÁRMACO HIDROCLOROTIAZIDA DA FARMÁCIA F, OBTIDOS NO MODO DE TRANSMISSÃO, COM PASSO DE 1,05° E TEMPO DE INTEGRAÇÃO DE 60 SEG/PASSO, NA FAIXA ANGULAR DE 2°-60°(2 θ), COMPARADOS COM OS CINCO ARQUIVOS ENCONTRADOS NO BANCO DE DADOS.

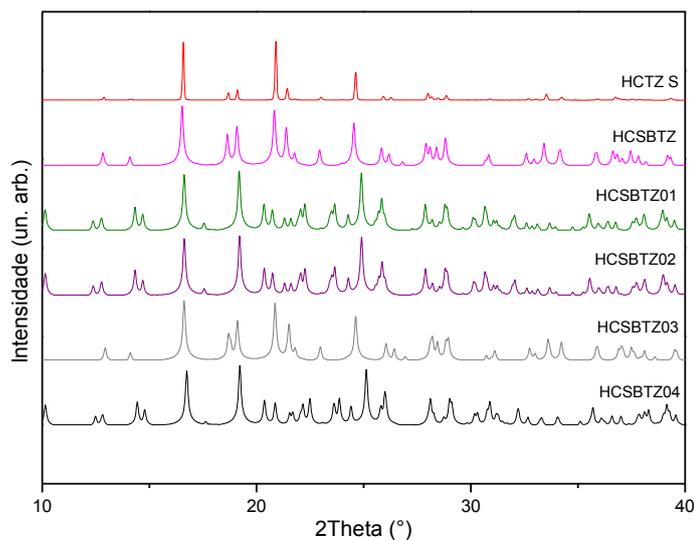


FIGURA 104 :DIFRATOGRAMA DE RAIOS X (NORMALIZADOS) DO FÁRMACO HIDROCLOROTIAZIDA DA FARMÁCIA S, OBTIDOS NO MODO DE TRANSMISSÃO, COM PASSO DE 1,05° E TEMPO DE INTEGRAÇÃO DE 60 SEG/PASSO, NA FAIXA ANGULAR DE 2°-60°(2 θ), COMPARADOS COM OS CINCO ARQUIVOS ENCONTRADOS NO BANCO DE DADOS.

TABELA 40: INFORMAÇÕES CRISTALOGRÁFICAS DA HIDROCLOROTIAZIDA (CIF)

	<i>HCSBTZ</i>	<i>HCSBTZ01</i>	<i>HCSBTZ02</i>	<i>HCSBTZ03</i>	<i>HCSBTZ04</i>
<i>a</i> (Å)	7.419(6)	9.488(<1)	9.486(<1)	7.340(<1)	9.469(<1)
<i>b</i> (Å)	8.521(3)	8.333(<1)	8.332(<1)	8.508(<1)	8.242(<1)
<i>c</i> (Å)	10.003(2)	15.131 (<1)	15.120(<1)	9.964(<1)	15.064(<1)
α (°)	90	90	90	90	90
β (°)	111.72	113.21	113.24	111.33	113.06
γ (°)	90	90	90	90	90
Volume (Å ³)	587.467	1099.591	1098.094	579.613	1081.651
Grupo Espacial	<i>P</i> ₂ ₁	<i>P</i> ₂ ₁ / <i>c</i>	<i>P</i> ₂ ₁ / <i>c</i>	<i>P</i> ₂ ₁	<i>P</i> ₂ ₁ / <i>c</i>
Sistema Cristalino	Monoclínico	Monoclínico	Monoclínico	Monoclínico	Monoclínico

Na Figura 105 e na Figura 106 são apresentados os difratogramas das amostras de Hidroclorotiazida das farmácias de manipulação, F e S. Foram realizadas medidas com as

amostras “como recebidas”, trituradas e peneiradas. Os resultados apresentados nesta Tese referem-se às amostras trituradas pois foram as que obtivemos melhores resultados.

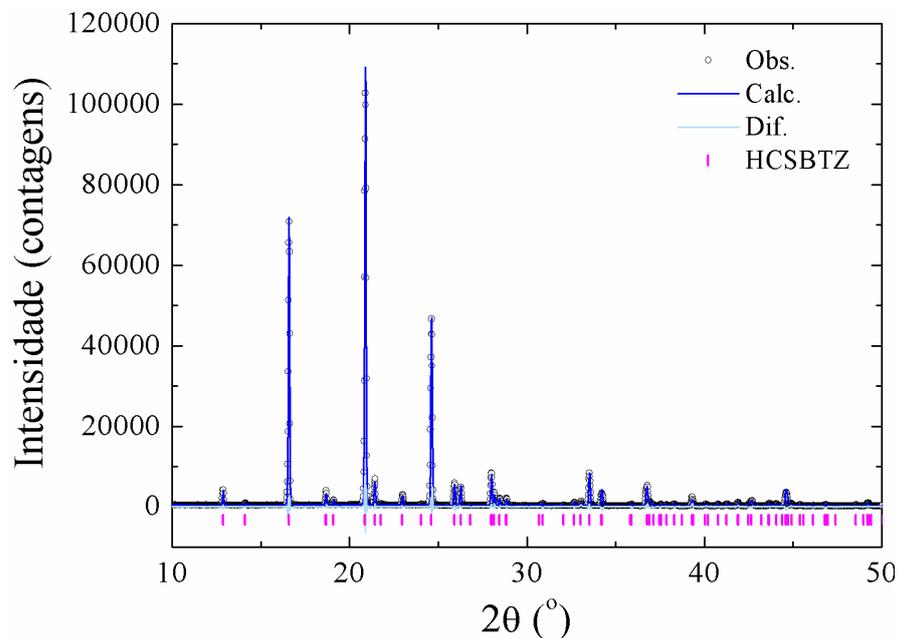


FIGURA 105: DIFRATOGRAMA DE RAIOS X DO FÁRMACO HIDROCLOROTIAZIDA (F) TRITURADA, OBTIDOS NO MODO DE TRANSMISSÃO, COM PASSO DE 1,05° E TEMPO DE INTEGRAÇÃO DE 60 SEG/PASSO, NA FAIXA ANGULAR DE 2°-60°. A LINHA EM AZUL REPRESENTA O DIFRATOGRAMA CALCULADO E OS CÍRCULOS EM PRETO O DIFRATOGRAMA OBSERVADO, AS BARRAS VERTICAIS EM AZUL REPRESENTAM OS PICOS DE BRAGG. $R_{WP} = 6,489\%$; $R_{EXP} = 3,851\%$; $R_{BRAGG} = 2,017\%$; $X^2 = 1,685$.

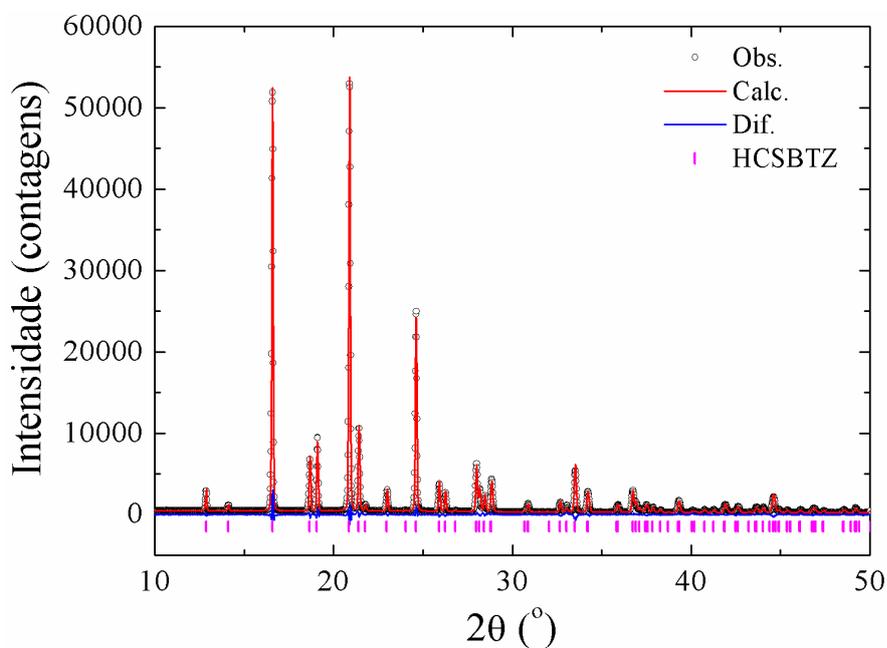


FIGURA 106: DIFRATOGRAMA DE RAIOS X DO FÁRMACO HIDROCLOROTIAZIDA (S) TRITURADA, OBTIDOS NO MODO DE TRANSMISSÃO, COM PASSO DE 1,05° E TEMPO DE INTEGRAÇÃO DE 60 SEG/PASSO, NA FAIXA ANGULAR DE 2°-60°. A LINHA EM VERMELHO REPRESENTA O DIFRATOGRAMA CALCULADO E OS CÍRCULOS

EM PRETO O DIFRATOGRAMA OBSERVADO, AS BARRAS VERTICAIS EM AZUL REPRESENTAM OS PICOS DE BRAGG $R_{WP} = 5,324\%$; $R_{EXP} = 3,493\%$; $R_{BRAGG} = 1,687\%$; $X^2 = 1,524$.

A forma utilizada no princípio ativo farmacêutico é a Forma I⁵² com grupo espacial P2₁. Podemos assim concluir que a forma cristalina encontrada nas amostras, de fato, é a forma farmacêuticamente ativa. Na Tabela 41 são apresentados os medicamentos anti-hipertensivos Hidroclorotiazida referência (R), genérico (G) e similar (S), contendo 25 mg de componente ativo, bem como os excipientes encontrados em suas formulações.

TABELA 41: EXCIPIENTES DOS MEDICAMENTOS REFERÊNCIA (R), GENÉRICO (G) E SIMILAR (S) DO MEDICAMENTO HIDROCLOROTIAZIDA

*Furp: Fundação para o remédio popular

<i>Excipientes</i>	<i>HCTZ R</i>	<i>HCTZ G</i>	<i>HCTZ S</i>	<i>HCTZ FURP*</i>
<i>estearato de magnésio</i>	X		X	X
<i>lactose monoidratada</i>	X		X	
<i>amido pré-gelatinizado</i>			X	
<i>amido</i>	X			
<i>celulose microcristalina</i>			X	X
<i>croscarmelose sódica</i>				X
<i>dióxido de silício</i>				X

A Figura 107 mostra o gráfico de Rietveld para o medicamento Hidroclorotiazida referência do laboratório Sanofi-Aventis. Como arquivos de entrada foram utilizados o referente ao IFA e ao excipiente lactose. Com o refinamento de Rietveld foi realizada a quantificação de fases cristalinas, sendo aquele referente à lactose encontrada em maior quantidade ~72% (0,26) na formulação farmacêutica. Pela análise do gráfico de Rietveld e das informações ilustradas na Tabela 42 podemos inferir que o refinamento foi satisfatório.

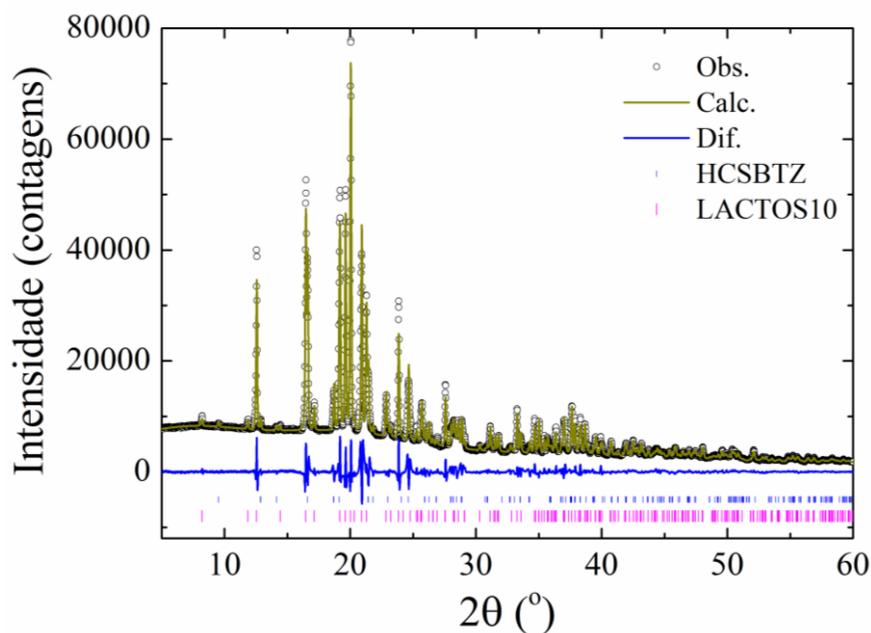


FIGURA 107: REFINAMENTO DE RIETVELD DO MEDICAMENTO HIDROCLOROTIAZIDA (CLORANA) REFERÊNCIA – SANOFI AVENTIS, ONDE O PADRÃO CALCULADO ESTÁ REPRESENTADO PELA LINHA VERDE, O PADRÃO OBSERVADO PELOS CÍRCULOS PRETOS, A DIFERENÇA ENTRE OS PADRÕES, OBSERVADO E CALCULADO PELA LINHA AZUL E AS POSIÇÕES DOS PICOS DE BRAGG PELAS BARRAS: IFA (AZUL) E LACTOSE (ROSA).

TABELA 42: ÍNDICES DE QUALIDADE DO MEDICAMENTO HIDROCLOROTIAZIDA REFERÊNCIA (CLORANA) – SANOFIAVENTIS

	R_{wp}	R_{exp}	R_{Bragg}	χ^2
<i>HCSBTZ</i>	4,796	1,261	1,118	3,804
<i>LACTOS10</i>	4,796	1,261	1,437	3,804

Na Figura 108 está mostrado o gráfico de Rietveld para o medicamento Hidroclorotiazida genérico do laboratório Germed. Assim como para a amostra de Hidroclorotiazida referência, o medicamento genérico também apresenta maior quantidade de fase cristalina referente ao excipiente lactose com ~72,35 (0,57)% seguido do princípio ativo ~27,65 (0,64)% .Nota-se, tanto pelo gráfico como pelos índices estatísticos apresentados na Tabela 43, que o refinamento de Rietveld foi satisfatório.

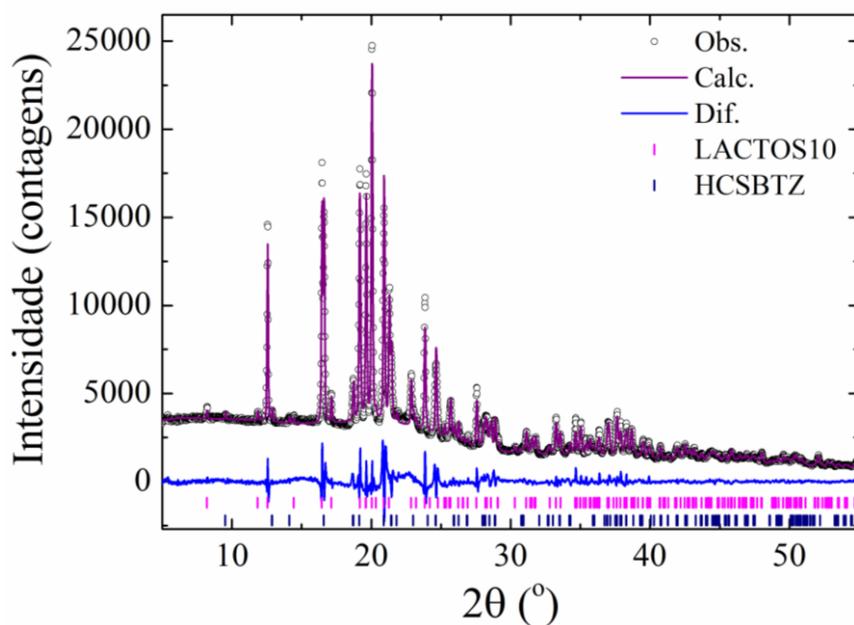


FIGURA 108: REFINAMENTO DE RIETVELD DO MEDICAMENTO HIDROCLOROTIAZIDA GENÉRICO - GERMED, ONDE O PADRÃO CALCULADO ESTÁ REPRESENTADO PELA LINHA LILÁS, O PADRÃO OBSERVADO PELOS CÍRCULOS EM PRETO, A DIFERENÇA ENTRE OS PADRÕES, OBSERVADO E CALCULADO PELA LINHA AZUL E AS POSIÇÕES DOS PICOS DE BRAGG PELAS BARRAS: IFA (AZUL) E LACTOSE (ROSA).

TABELA 43: ÍNDICES DE QUALIDADE DO MEDICAMENTO HIDROCLOROTIAZIDA GENÉRICO – GERMED

	R_{wp}	R_{exp}	R_{Bragg}	χ^2
<i>HCSBTZ</i>	4,979	1,930	0,961	2,580
<i>LACTOS10</i>	4,979	1,930	1,350	2,580

O gráfico de Rietveld para o medicamento Hidroclorotiazida similar é apresentado na Figura 109 onde foram utilizados como arquivos de entrada o CIF referente ao princípio ativo e aos excipientes manitol e talco, sendo o manitol a fase cristalina em maior quantidade presente na amostra com ~73,10(0,79)%. Na Tabela 44 são apresentados os índices estatísticos que indicam que o refinamento de Rietveld foi satisfatório, além do bom ajuste visual entre os difratogramas observado e o teórico.

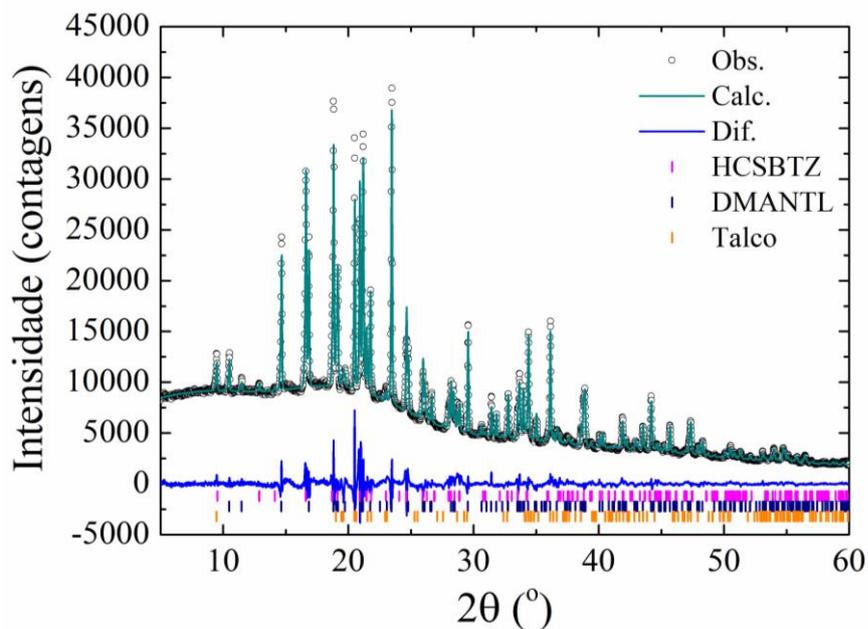


FIGURA 109: REFINAMENTO DE RIETVELD DO MEDICAMENTO HIDROCLOROTIAZIDA (DIURIX) SIMILAR – TEUTO, ONDE O PADRÃO CALCULADO ESTÁ REPRESENTADO PELA LINHA VERDE, O PADRÃO OBSERVADO PELOS CÍRCULOS EM PRETO, A DIFERENÇA ENTRE OS PADRÕES, OBSERVADO E CALCULADO PELA LINHA AZUL E AS POSIÇÕES DOS PICOS DE BRAGG PELAS BARRAS: IFA (ROSA), MANITOL (AZUL) E TALCO (LARANJA).

TABELA 44: ÍNDICES DE QUALIDADE DO MEDICAMENTO HIDROCLOROTIAZIDA SIMILAR – TEUTO

	R_{wp}	R_{exp}	R_{Bragg}	χ^2
<i>HCSBTZ</i>	4,270	1,219	0,984	3,502
<i>DMANTL</i>	4,270	1,219	2,596	3,502
<i>TalcoIA</i>	4,270	1,219	2,840	3,502

A amostra de Hidroclorotiazida proveniente de uma Unidade Básica de Saúde da cidade de São Paulo, bairro da Freguesia do Ó, foi gentilmente doada por um paciente. Este medicamento é fabricado pela Fundação do Remédio Popular (FURP) e o gráfico de Rietveld para esta amostra é apresentado na Figura 110. Além do arquivo referente ao princípio ativo também foi utilizado como arquivo de entrada o referente ao dióxido de silício. Este excipiente cristalino é o que encontra se em maior quantidade no medicamento. Na Tabela 45 são indicados os índices estatísticos obtidos ao final do refinamento.

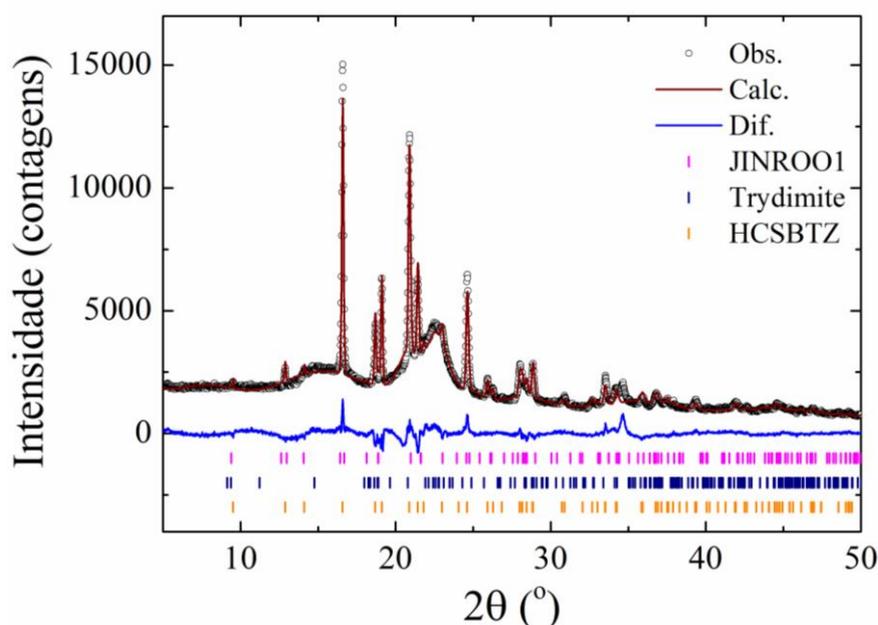


FIGURA 110: REFINAMENTO DE RIETVELD DO MEDICAMENTO HIDROCLOROTIAZIDA FURP, ONDE O PADRÃO CALCULADO ESTÁ REPRESENTADO PELA LINHA MARROM, O PADRÃO OBSERVADO PELOS CÍRCULOS EM PRETO, A DIFERENÇA ENTRE OS PADRÕES OBSERVADO E CALCULADO PELA LINHA AZUL E AS POSIÇÕES DOS PICOS DE BRAGG PELAS BARRAS: IFA (LARANJA) E O DIÓXIDO DE SILÍCIO (AZUL).

TABELA 45: ÍNDICES DE QUALIDADE DO MEDICAMENTO HIDROCLOROTIAZIDA FURP

	R_{wp}	R_{exp}	R_{Bragg}	χ^2
<i>HCSBTZ</i>	4,093	2,445	0,858	1,674
<i>Tridymite</i>	4,093	2,445	0,610	1,674

4.5.2 ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER

Na Figura 111 e na Figura 112 são apresentados os espectros FTIR da Hidroclorotiazida das farmácias F e S, respectivamente. O grupo sulfonamida absorve em 3265 cm^{-1} . O grupo sulfona apresenta bandas de absorção em $1319,73\text{ cm}^{-1}$ e em $1148,60\text{ cm}^{-1}$, originadas, respectivamente, das deformações axiais assimétrica e simétrica do grupo SO_2 . A banda em $747,30\text{ cm}^{-1}$ é atribuída à vibração de flexão envolvendo os grupos NH e NH_2 . Podemos encontrar na região de baixas frequências as bandas mais importantes sobre a estrutura de compostos aromáticos^{114, 115}. Encontramos, em $856,70\text{ cm}^{-1}$, uma banda proveniente da deformação angular fora do plano das ligações C-H do anel. As bandas de deformação angular no plano aparecem em $1056,67\text{ cm}^{-1}$. Observam-se, ainda, vibrações de esqueleto em 1595 cm^{-1}

¹ e em 1464 cm^{-1} , que envolvem a deformação axial das ligações carbono-carbono do anel. A banda em $2950,44\text{ cm}^{-1}$ é atribuída à deformação axial de C-H do anel aromático⁶³.

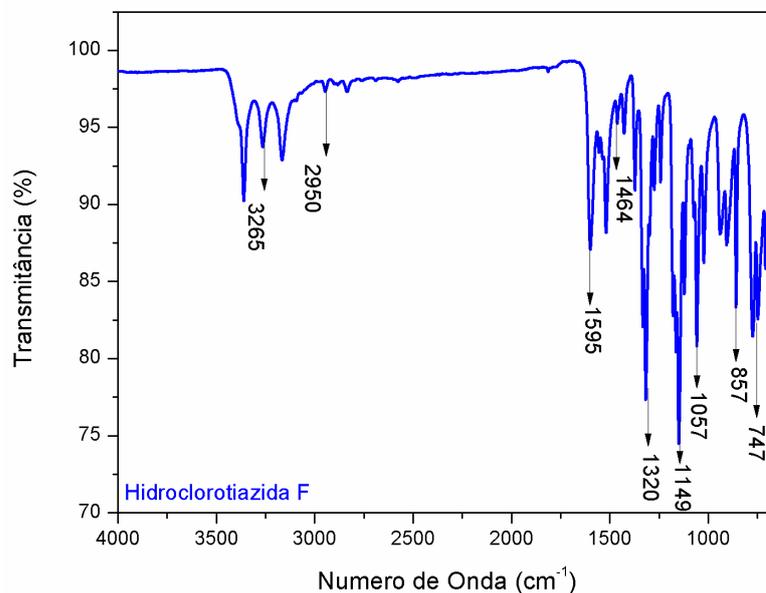


FIGURA 111: ESPECTRO FTIR PARA A HIDROCLOROTIAZIDA DA FARMÁCIA F, OBTIDO COM RESOLUÇÃO DE 4 cm^{-1} NA REGIÃO DE $4000\text{ A }650\text{ cm}^{-1}$, ONDE AS PRINCIPAIS BANDAS DE ABSORÇÃO QUE CARACTERIZAM O FÁRMACO ESTÃO DESTACADAS POR SUAS RESPECTIVAS FREQUÊNCIAS.

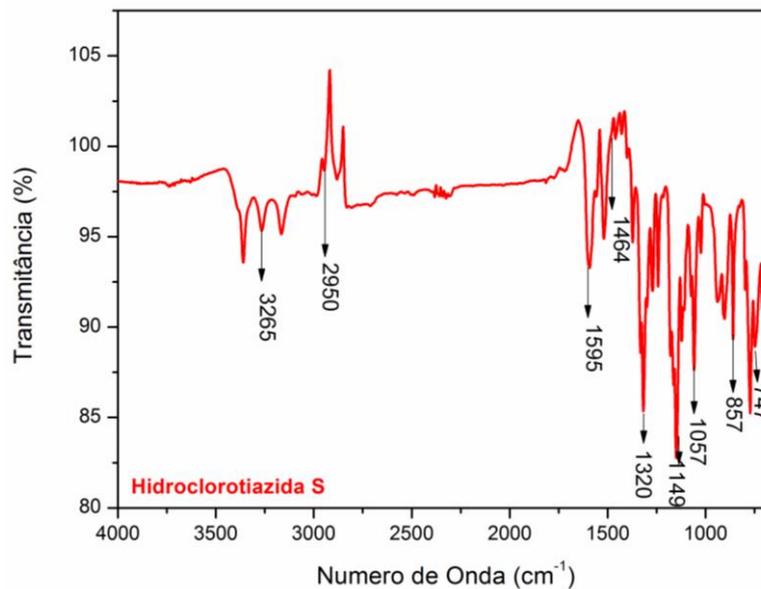
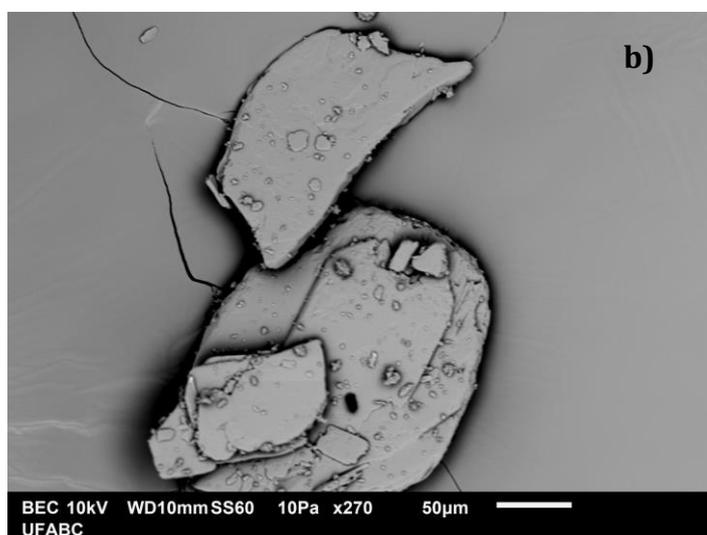
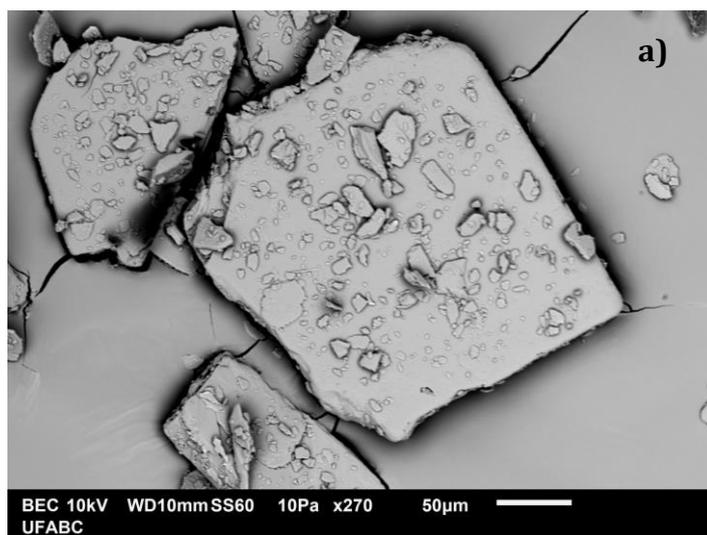


FIGURA 112: ESPECTRO FTIR PARA A HIDROCLOROTIAZIDA DA FARMÁCIA S, OBTIDO COM RESOLUÇÃO DE 4 cm^{-1} NA REGIÃO DE $4000\text{ A }650\text{ cm}^{-1}$, ONDE AS PRINCIPAIS BANDAS DE ABSORÇÃO QUE CARACTERIZAM O FÁRMACO ESTÃO DESTACADAS POR SUAS RESPECTIVAS FREQUÊNCIAS.

4.5.3 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA

Na Figura 113 podem ser vistas as micrografias dos cristais do princípio ativo Hidroclorotiazida. Nota-se que as amostras possuem morfologias em forma de placas, com grandes variedades de tamanhos, sendo as maiores em torno de 200 μm . A predição de morfologia do cristal foi realizada utilizando o algoritmo BFDH⁹⁷⁻⁹⁹ e as informações cristalográficas obtidas foram referentes ao CIF de entrada HCSBTZ.



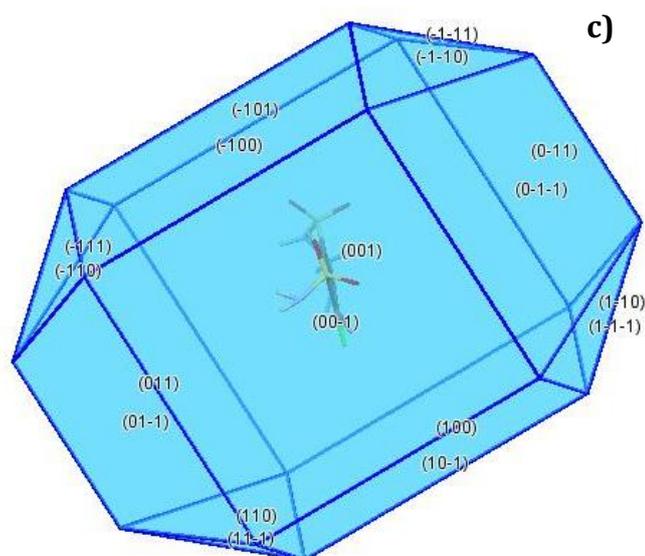


FIGURA 113: MICROGRAFIAS DAS AMOSTRAS DO FÁRMACO HIDROCLOROTIAZIDA: F (A) E S (B) PREDIÇÃO DA MORFOLOGIA DA HIDROCLOROTIAZIDA PELO ALGORITMO BFDH⁹⁷⁻⁹⁹ UTILIZANDO O ARQUIVO CIF HCSBTZ (C).

Por meio da figura gerada no Mercury referente a predição da morfologia, percebe-se que o arquivo de entrada utilizado foi o correto, pois a imagem (c) assim como as micrografias apresentam um formato de placa.

4.5.4 ANÁLISE TÉRMICA

Na Figura 114 é apresentada a curva de TG/DTG da amostra de Hidroclorotiazida proveniente da farmácia F. Para esta amostra não foi possível calcular os pontos onde a Hidroclorotiazida é termicamente estável e em qual temperatura ocorre o processo de degradação térmica.

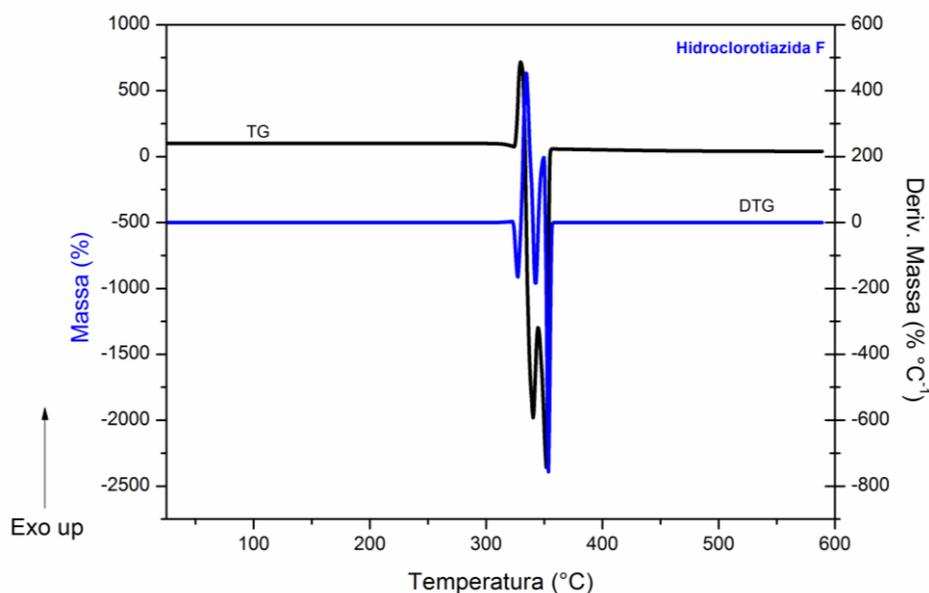


FIGURA 114: CURVA TG/DTG DA AMOSTRA DE HIDROCLOROTIAZIDA F, OBTIDA A $10\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{MIN}^{-1}$ DE $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ A $600\text{ }^{\circ}\text{C}$, SOB ATMOSFERA DINÂMICA DE N_2 ($100\text{ ML}\cdot\text{MIN}^{-1}$), COM MASSA DA AMOSTRA DE APROXIMADAMENTE $5,20\text{ MG}$.

Na Figura 115 é apresentada a curva de DSC para a amostra de Hidroclorotiazida proveniente da F. É possível identificar um evento endotérmico em $271,97\text{ }^{\circ}\text{C}$ (T_{pico}) referente à fusão da amostra. Na Tabela 46 estão ilustradas as temperaturas iniciais e finais de cada evento térmico mostrados na curva de DSC da amostra de Hidroclorotiazida F.

TABELA 46: DADOS TERMOANALÍTICOS OBTIDOS POR DSC DA AMOSTRA DE HIDROCLOROTIAZIDA DA FARMÁCIA F

Amostras	$T_{\text{onset}}\text{ (}^{\circ}\text{C)}$	$T_{\text{pico}}\text{ (}^{\circ}\text{C)}$	$\Delta H\text{ (kJ mol}^{-1}\text{)}$
F	268,17	272,30	35,12
Literatura ⁵⁴	269,49	274,00	29,16

Para este fármaco não foi possível determinar a porcentagem de pureza por DSC porque ocorreu um pico exotérmico ($26,90\text{ }^{\circ}\text{C}$) antes do pico de fusão. Entre $281,75\text{ }^{\circ}\text{C}$ e $343,62\text{ }^{\circ}\text{C}$ ocorreu um evento exotérmico referente à decomposição térmica do princípio ativo. Na literatura¹ este evento ocorre por volta de $315\text{ }^{\circ}\text{C}$.

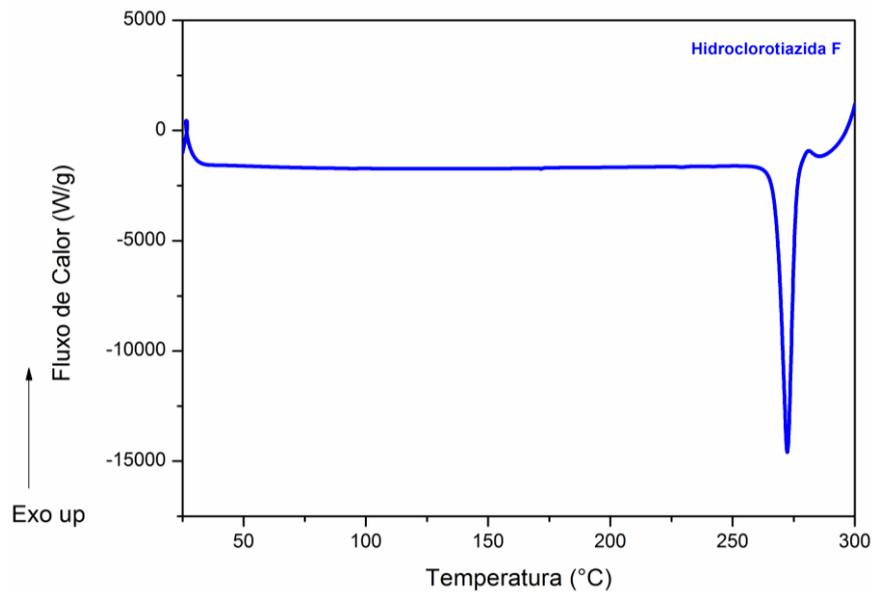


FIGURA 115: CURVA DE DSC DA AMOSTRA DE HIDROCLOROTIAZIDA F , OBTIDA A 10 °C.MIN⁻¹ DE 25 °C A 350 °C, SOB ATMOSFERA DINÂMICA DE N₂ (50 ML.MIN⁻¹) COM MASSA DA AMOSTRA DE APROXIMADAMENTE 3,80 MG.

Na Figura 116 e na Figura 117 estão representadas as curvas de TG/DTG e DSC, respectivamente, da amostra de Hidroclorotiazida proveniente da farmácia S. É possível verificar na Figura 116 que a Hidroclorotiazida é termicamente estável até aproximadamente 290,47 °C. Acima desta temperatura é possível observar dois eventos referente à perda de massa sobrepostos na curva de TG. O primeiro evento endotérmico ocorre em 322,82 °C (DTG) e o segundo em 418,22 °C (DTG), com perda de massa total para estes dois eventos de $\Delta m = 62,25\%$ e um resíduo de 37,75% que não foi decomposto até a temperatura de 600 °C.

Na Figura 117 é apresentada a curva de DSC para a amostra de Hidroclorotiazida proveniente da farmácia F. É possível identificar um evento endotérmico em 271,70 °C (T_{pico}) referente à fusão da amostra. Na Tabela 47 e na Tabela 48 são exemplificadas as temperaturas iniciais e finais de cada evento térmico visto na curva de DSC da amostra de Hidroclorotiazida S.

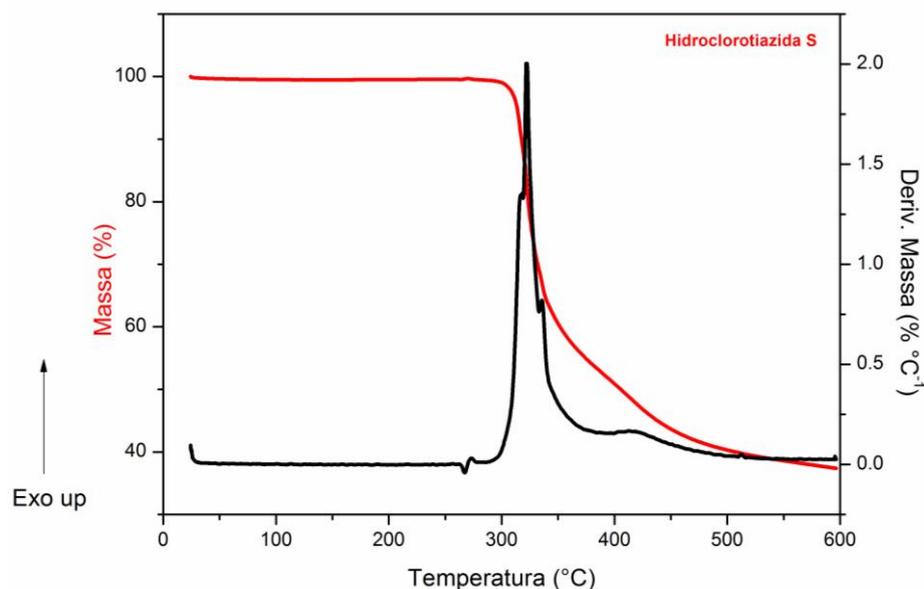


FIGURA 116: CURVA TG/DTG DA AMOSTRA DE HIDROCLOROTIAZIDA S, OBTIDA A $10\text{ }^{\circ}\text{C}.\text{MIN}^{-1}$ DE $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ A $600\text{ }^{\circ}\text{C}$, SOB ATMOSFERA DINÂMICA DE N_2 ($100\text{ ML}.\text{MIN}^{-1}$), COM MASSA DA AMOSTRA DE APROXIMADAMENTE $3,30\text{ MG}$.

TABELA 47: DADOS TERMOANALÍTICOS OBTIDOS POR TG/DTG DA AMOSTRA DE HIDROCLOROTIAZIDA DA FARMÁCIA S

	$T_{\text{onset}} (^{\circ}\text{C})$	$T_{\text{endset}} (^{\circ}\text{C})$	$\Delta m (\%)$
Evento 1-2	302,00	505,35	62,25

TABELA 48: DADOS TERMOANALÍTICOS OBTIDOS POR DSC DA AMOSTRA DE HIDROCLOROTIAZIDA DA FARMÁCIA S

Amostras	$T_{\text{onset}} (^{\circ}\text{C})$	$T_{\text{pico}} (^{\circ}\text{C})$	$\Delta H (\text{kJ mol}^{-1})$
S	266,88	271,70	35.71
Literatura ⁵⁴	269,49	274,00	29.16

Assim como para a Hidroclorotiazida da farmácia F, para este fármaco não foi possível determinar a porcentagem de pureza por DSC porque ocorreu um pico exotérmico ($26,90\text{ }^{\circ}\text{C}$) antes do pico de fusão. O terceiro evento observado na curva de DSC é referente a um pico exotérmico que ocorre entre $286,37\text{ }^{\circ}\text{C}$ e $345,59\text{ }^{\circ}\text{C}$, atribuído à decomposição da amostra. Esta informação corrobora com os valores encontrados na curva de TG/DTG.

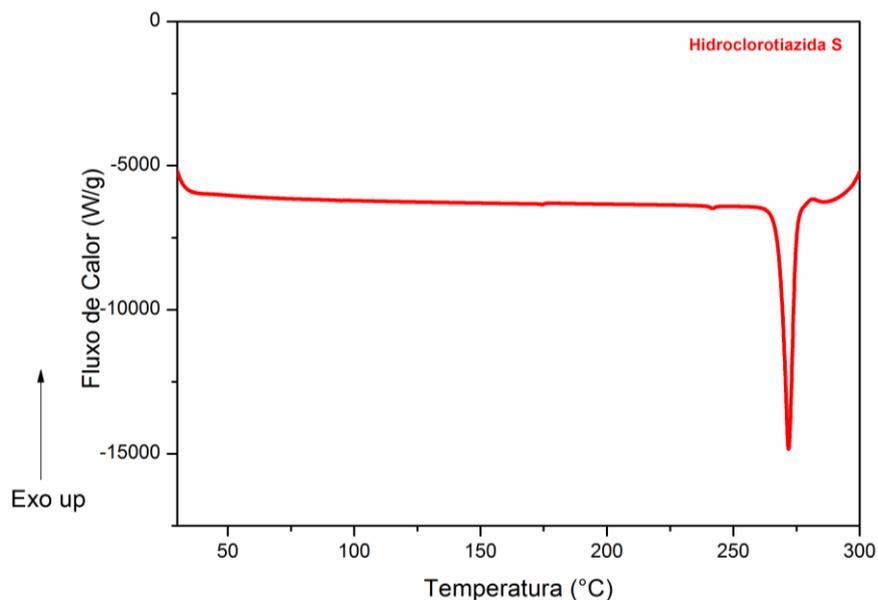


FIGURA 117: CURVA DE DSC DA AMOSTRA DE HIDROCLOROTIAZIDA S , OBTIDA A $10\text{ }^{\circ}\text{C}.\text{MIN}^{-1}$ DE $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ A $350\text{ }^{\circ}\text{C}$, SOB ATMOSFERA DINÂMICA DE N_2 ($50\text{ ML}.\text{MIN}^{-1}$) COM MASSA DA AMOSTRA DE APROXIMADAMENTE 2,05 MG.

4.6 LOSARTANA POTÁSSICA

4.6.1 DIFRAÇÃO DE RAIOS X POR POLICRISTAIS

Para o fármaco Losartana Potássica, diversas formas polimórficas foram patenteadas¹¹⁶. Entretanto, somente três diferentes formas cristalinas possuem sua estrutura determinada e estão reportadas na literatura^{62, 117, 118}. Duas modificações são relatadas por Raghavan⁶³ utilizando espectroscopia e Wu⁶⁴ estudou o comportamento térmico da Losartana (Forma I e II) utilizando calorimetria exploratória diferencial.

Daniel-Fernández e colaboradores⁶² publicaram em 2002 o artigo “*Losartan Potassium, a non-peptide agent for the treatment of arterial hypertension*” reportando a determinação da estrutura cristalina da Losartana Potássica a partir de monocristais obtidos através da evaporação lenta do solvente, com um ânion da molécula de Losartana e um cátion de potássio na unidade assimétrica. Esta molécula cristalizou-se no grupo espacial $P2_1/c$ (monoclínico), porém para este trabalho foi mencionado que vários átomos da molécula de Losartana possuíam desordens. Esta forma cristalina é a farmacologicamente ativa e é a que deve estar presente nos

medicamentos. Em 2004, Goldberg e Tessler¹¹⁹ publicaram: “*Losartan, an antihypertensive drug*” a determinação de estrutura da Losartana na forma ácida. Anteriormente, Okazaki e Fernandez⁶² já haviam determinado a estrutura para esta molécula, porém as estruturas abrangiam somente as formas solvatadas (em etanol) ou na forma de sal de potássio. Neste trabalho, foi observada uma conformação global das moléculas muito similar ao trabalho reportado referente à Losartana Potássica, porém nesta determinação de estrutura os átomos estão perfeitamente ordenados sem as desordens presentes no trabalho de Fernandez⁶². Os autores encontraram que essa molécula cristalizou em um sistema cristalino monoclinico com grupo espacial $P2_1/$. A forma hidratada da Losartana Potássica foi reportada na literatura por Xiu-Rong Hu no trabalho “*Losartan Potassium 3.5-hydrate, a new crystalline form*”¹¹⁷. A molécula $\cdot 61.2H_2O$ é composta por dois ânions de Losartana, dois cátions de potássio e sete moléculas de água.

Os arquivos provenientes da determinação de estrutura das duas formas polimórficas Forma I e II e da forma hidratada são reportados no CSD: a Losartana (OCAHAC e grupo espacial $P2_1/n$)¹¹⁹, Losartana Potássica (MOPHAA e grupo espacial $P2_1/c$)⁶² e a forma hidratada contendo 3.5 mols de água (KASNIC e grupo espacial $Pbca$)¹¹⁷.

Na Figura 118 são apresentados os difratogramas das duas farmácias de manipulação, F e S, respectivamente, e uma amostra doada por uma indústria farmacêutica que será chamada de MX. Analisando visualmente as três amostras, podemos notar grande diferença entre as elas, principalmente comparando as amostras MX com as da farmácia F e S. Na Figura 119 são mostrados os gráficos referente aos arquivos CIFs reportados no banco de dados do CSD das duas modificações polimórficas e da forma hidratada. O refinamento de Rietveld foi realizado para todos os arquivos disponíveis, entretanto, podemos perceber que a amostra MX possui grande similaridade com a ficha MOPHAA referente à Losartana Potássica anidra, já as amostras das farmácias F e S assemelham-se a ficha KASNIC que é a forma hidratada.

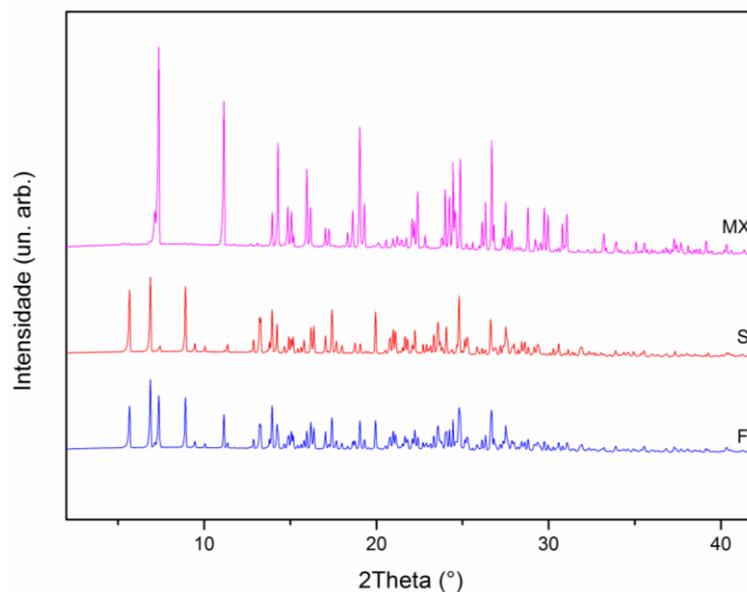


FIGURA 118: DIFRATOGRAMAS DE RAIOS X DO FÁRMACO LOSARTANA POTÁSSICA DE DUAS FARMÁCIAS DE MANIPULAÇÃO: “F” E “S” E DE UMA INDUSTRÍA FARMACÊUTICA MX, OBTIDOS NA FAIXA ANGULAR DE 2° A 60°(2 θ), COM PASSO ANGULAR DE 1,05° E TEMPO DE INTEGRAÇÃO DE 300 S A CADA 1,05°.

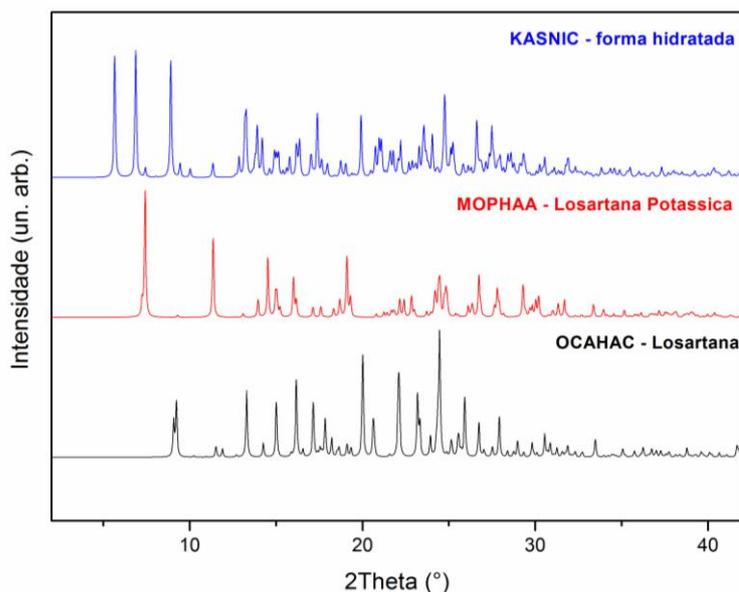


FIGURA 119: DIFRATOGRAMAS DE RAIOS X DOS TRÊS ARQUIVOS CIF S REPORTADOS NA LITERATURA PARA O FÁRMACO LOSARTANA, LOSARTANA POTÁSSICA E LOSARTANA POTÁSSICA HIDRATADA.

Na Tabela 49 são mostradas as informações cristalográficas como parâmetros de rede, volume, grupo espacial e sistema cristalino para as fichas encontradas no CSD referente ao fármaco estudado e que serão utilizadas como arquivo de entrada na realização do refinamento de Rietveld.

TABELA 49: INFORMAÇÕES CRISTALOGRÁFICAS DA LOSARTANA

	<i>KASNIC</i>	<i>MOPHAA</i>	<i>OCAHAC</i>
<i>a</i>	13,139(<1)	15,572(<1)	10,300(<1)
<i>b</i>	25,689(<1)	7,498(<1)	11,792(<1)
<i>c</i>	31,182(<1)	24,264(<1)	17,584(<1)
<i>α</i>	90	90	90
<i>β</i>	90	128.50	101.27
<i>γ</i>	90	90	90
<i>Volume</i>	10524,574	2217,158	2094,533
<i>Grupo Espacial</i>	<i>Pbca</i>	<i>P21/c</i>	<i>P21/n</i>
<i>Sistema Cristalino</i>	<i>Ortorrômico</i>	<i>Monoclínico</i>	<i>Monoclínico</i>

Na Figura 118 é apresentado o gráfico de Rietveld para a amostra de Losartana Potássica referente à farmácia F. A primeira tentativa para realizar o refinamento foi utilizar como arquivo de entrada a ficha MOPHAA uma vez que esta é a que reporta o fármaco analisado, porém o refinamento não foi satisfatório. O segundo passo foi tentar outras fichas como a forma ácida OCAHAC e a forma hidratada, e mais uma vez não foram obtidos resultados satisfatórios. Do Carmo e colaboradores¹²⁰ fizeram um estudo de fármacos anti-hipertensivos – entre eles a Losartana Potássica – utilizando associações de medicamentos bem como o princípio ativo. Neste trabalho os autores notaram que, a princípio, o padrão de difração de raios X de uma amostra apresentava grande similaridade com a estrutura determinada por Fernandez⁶². Entretanto, após um ano de estocagem, a fase referente à forma hidratada também estava presente na amostra. Eles fizeram uso do método de Rietveld para realizar um estudo de quantificação de fase e encontraram 79,5% da fase ortorrômica e 20,5% da fase monoclinica. Os autores também destacam que não houve tratamento térmico da amostra que se manteve armazenada em temperatura ambiente durante o período de um ano. Este fato é interessante pois segundo Raghavan⁶³, a Losartana Potássica muda de fase somente quando aquecida a 255 °C.

Foram realizadas medidas de difração de raios X nas amostras nos anos de 2012, 2013, 2014 e 2015 e não houve mudanças em seu perfil de difração. A amostra escolhida para ser apresentada na Tese foi realizada em 2015 com um tempo por passo maior para aumentar a estatística de contagem e melhorar a definição dos picos.

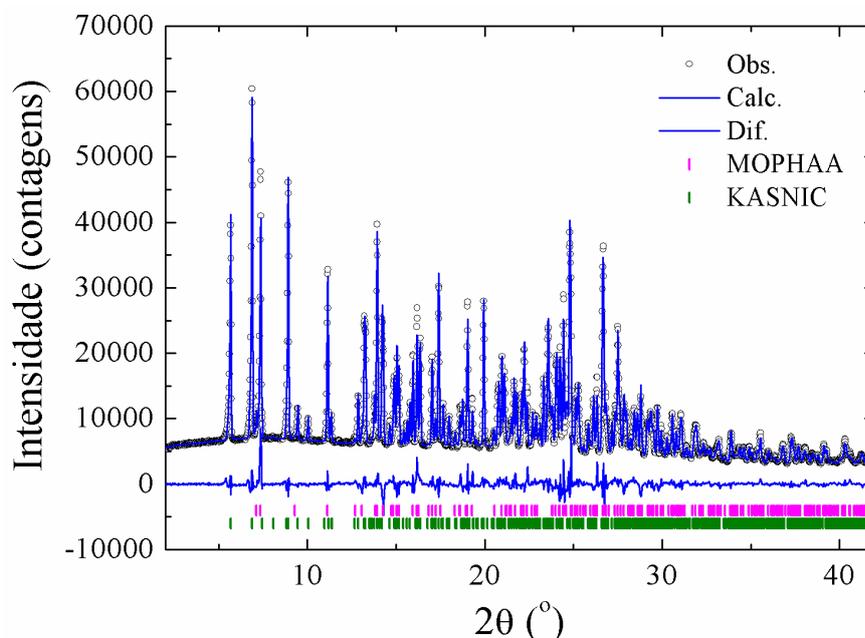


FIGURA 118: REFINAMENTO DE RIETVELD PARA A AMOSTRA LOSARTANA POTÁSSICA F, EM QUE O PADRÃO CALCULADO ESTÁ REPRESENTADO POR LINHAS AZUIS, O PADRÃO OBSERVADO PELOS CÍRCULOS EM PRETO, A DIFERENÇA ENTRE OS PADRÕES OBSERVADO E CALCULADO PELA LINHA AZUL. FOI UTILIZADO UM PASSO DE $1,05^\circ$ EM 2θ E UM TEMPO DE INTEGRAÇÃO DE 300 S POR PASSO. AS BARRAS VERTICAIS REPRESENTAM OS PICOS DE BRAGG: KASNIC(VERDE) E MOPHAA(ROSA).

Podemos notar que, utilizando os dois arquivos de entrada, o refinamento de Rietveld torna-se satisfatório, havendo uma boa concordância entre os difratogramas observado e calculado. Os índices estatísticos, R, para este refinamento são: $R_{wp} = 5,007\%$, $R_{exp} = 1,256\%$, $\chi^2 = 3,986$, $R_{Bragg} = 2,206\%$ (KASNIC) e $R_{Bragg} = 5,600\%$ (MOPHAA). Para esta amostra houve $\sim 71,06$ (0,53)% referente à fase hidratada e $\sim 28,94$ (0,53)% referente à forma anidra.

Na Figura 120 é apresentado o gráfico de Rietveld para a amostra de Losartana Potássica proveniente da farmácia S. Entretanto, para esta amostra, a forma encontrada foi majoritariamente a hidratada $\sim 99,05$ (0,32)%. Uma pequena quantidade da forma anidra foi encontrada, correspondendo a $\sim 0,95$ (0,32)%, porém foi necessário incluir esta fase, mesmo que em pequena proporção, para que alguns picos se ajustem. As condições experimentais foram iguais às do fármaco anterior e os índices referentes ao ajuste são: $R_{wp} = 3,330\%$, $R_{exp} = 1,269\%$, $\chi^2 = 2,624$, $R_{Bragg} = 2,051\%$ (KASNIC) e $R_{Bragg} = 1,777\%$ (MOPHAA).

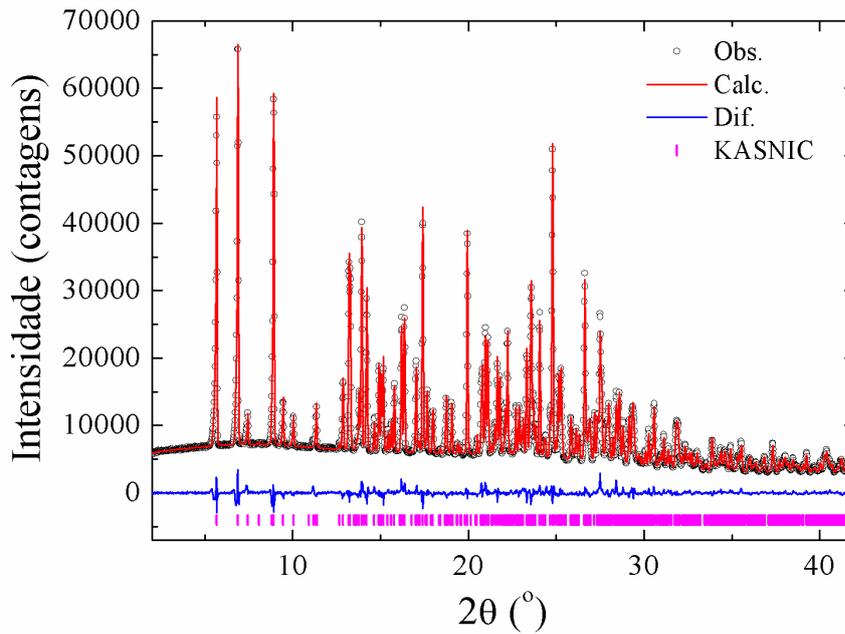


FIGURA 120: REFINAMENTO DE RIETVELD PARA A AMOSTRA LOSARTANA POTÁSSICA S, EM QUE O PADRÃO CALCULADO ESTÁ REPRESENTADO POR LINHAS VERMELHAS, O PADRÃO OBSERVADO PELOS CÍRCULOS EM PRETO, A DIFERENÇA ENTRE OS PADRÕES OBSERVADO E CALCULADO PELA LINHA AZUL. FOI UTILIZADO UM PASSO DE $1,05^\circ$ EM 2θ E UM TEMPO DE INTEGRAÇÃO DE 300 S POR PASSO. AS BARRAS VERTICAIS REPRESENTAM OS PICOS DE BRAGG.

Na tentativa de retirar a água presente na amostra da farmácia S foi utilizado um concentrador a vácuo modelo *Concentrator Plus* da Eppendorf® utilizando a função de dessecação e centrifugação a 60°C por 30 minutos. Este equipamento está localizado no Laboratório de Biologia Celular e Molecular, L502-3, sob responsabilidade da Prof^a. Dr^a. Marcella Milazzotto. Os difratogramas das amostras antes e depois da centrifugação estão apresentadas na Figura 121, notando-se grande diferença entre ambas.

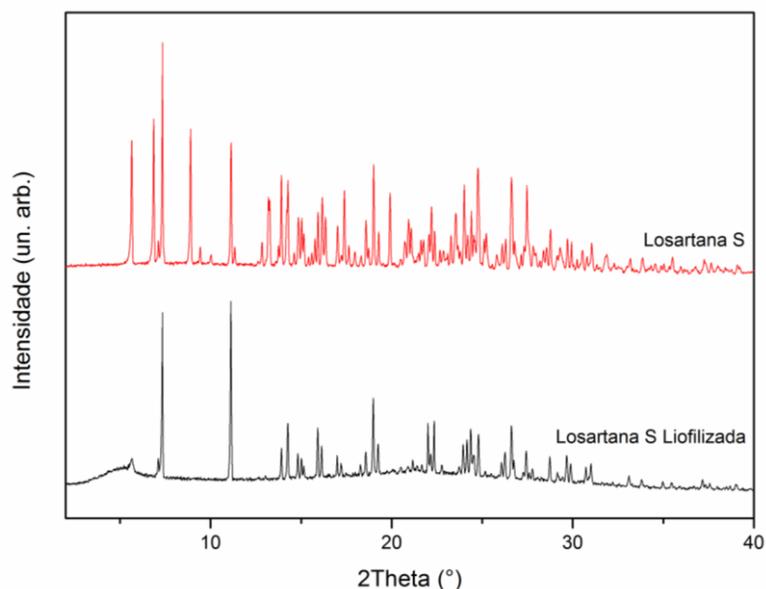


FIGURA 121: COMPARAÇÃO ENTRE A LOSARTANA POTÁSSICA S ANTES (VERMELHO) E DEPOIS (PRETO) DE LIOFILIZAR. A ÚNICA DIFERENÇA NA AQUISIÇÃO DOS DADOS PARA A AMOSTRA LIOFILIZADA É QUE FOI UTILIZADO UM TEMPO MENOR DE INTEGRAÇÃO, 60 S POR PASSO.

Na Figura 122 é apresentado o difratograma da amostra da farmácia S após o processo de retirada de água. Podemos notar que este procedimento embora tenha retirado grande quantidade de água não foi eficiente para deixar a amostra somente com a forma anidra. Uma pequena porcentagem da fase hidratada encontra-se presente na amostra e houve, neste processo, a formação de um halo em aproximadamente 5° (2θ). O primeiro pico, de baixa intensidade, refere-se à fase hidratada. Então, após o procedimento descrito acima, estão presentes na amostra $\sim 3,64$ (0,75) % em massa da fase ortorrômbica e $\sim 96,36$ (0,90)% da fase monoclinica e os parâmetros estatísticos encontrados foram: $R_{wp} = 6,897\%$, $R_{exp} = 3,954\%$, $\chi^2 = 1,745$, $R_{Bragg} = 7,058\%$ (KASNIC) e $R_{Bragg} = 4,836\%$ (MOPHAA).

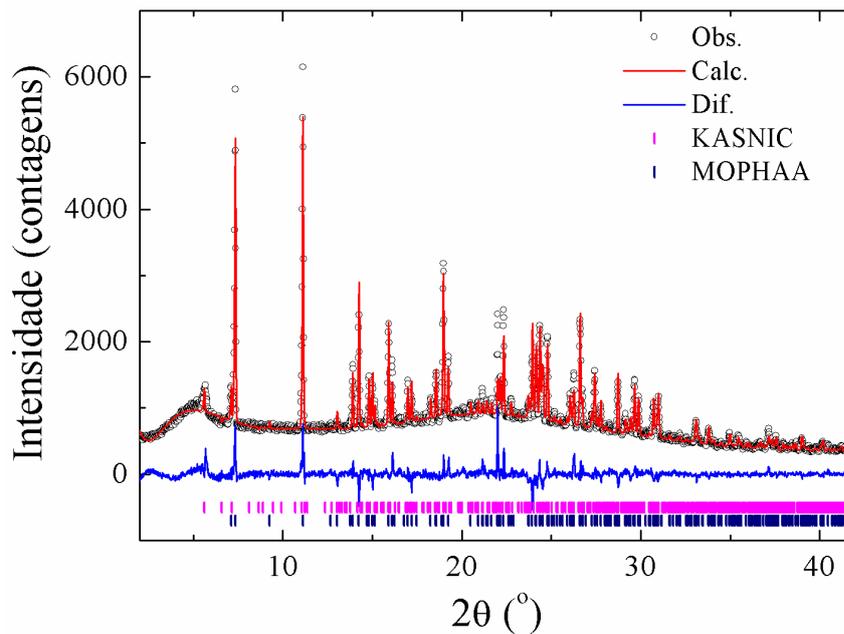


FIGURA 122: REFINAMENTO DE RIETVELD PARA A AMOSTRA LOSARTANA POTÁSSICA S-LIOFILIZADA, EM QUE O PADRÃO CALCULADO ESTÁ REPRESENTADO POR LINHAS VERMELHAS, O PADRÃO OBSERVADO POR CÍRCULOS EM PRETO, A DIFERENÇA ENTRE OS PADRÕES OBSERVADO E CALCULADO PELA LINHA AZUL. FOI UTILIZADO UM PASSO DE 1,05° EM 2θ E UM TEMPO DE INTEGRAÇÃO DE 60 S POR PASSO. AS BARRAS VERTICAIS REPRESENTAM OS PICOS DE BRAGG: MOPHAA(AZUL) E KASNIC(ROSA)

Para a amostra doada pela indústria farmacêutica, foram realizados os mesmos procedimentos das amostras anteriores e o gráfico de Rietveld pode ser visto na Figura 123. Após o refinamento de Rietveld e a quantificação de fases, pode-se notar que a predominância é referente à fase monoclinica com ~97,33 (0,28) %, e uma pequena fração de apenas ~2,67 (0,28) % da fase ortorrômbica. Os índices estatísticos para este refinamento são: $R_{wp} = 7.946\%$, $R_{exp} = 1,028\%$, $\chi^2 = 7,729$, $R_{Bragg} = 4,798\%$ (KASNIC) e $R_{Bragg} = 6,620\%$ (MOPHAA). Visualmente, o ajuste da curva experimental com o modelo teórico foi satisfatório. Entretanto, ao analisarmos os valores finais encontrados após o término do refinamento, percebe-se que o valor para o χ^2 está muito alto, uma vez que este índice deve estar o mais próximo de 1,0, o que mostra que nada mais pode ser melhorado e que os perfis calculado e observado se ajustam de forma satisfatória. Fazendo uma ampliação do gráfico de Rietveld (Figura 124) notamos alguns problemas de assimetria, diferenças de intensidades e alguns picos que estão presentes na amostra e ausente em ambos os modelos teóricos.

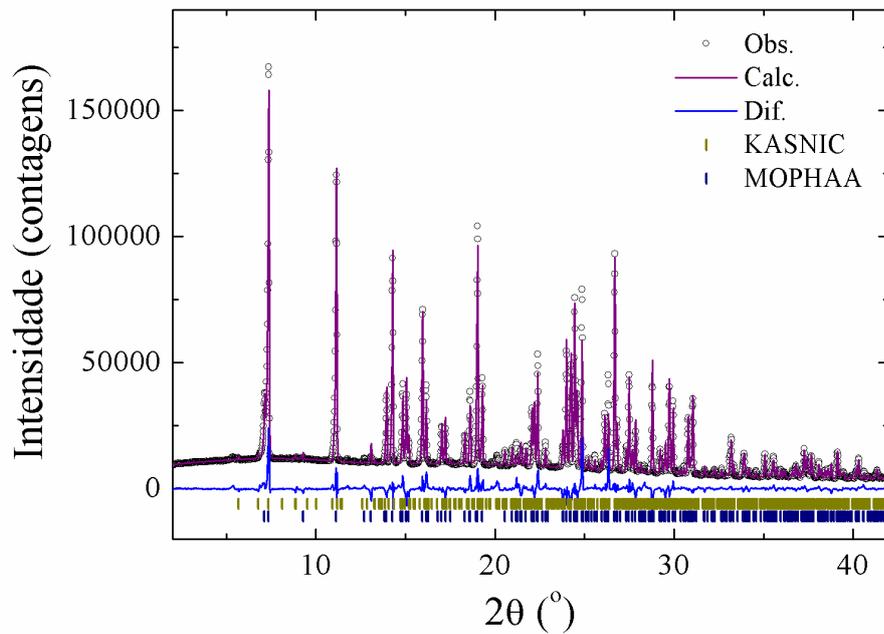


FIGURA 123: REFINAMENTO DE RIETVELD PARA A AMOSTRA LOSARTANA POTÁSSICA MX, EM QUE O PADRÃO CALCULADO ESTÁ REPRESENTADO POR LINHAS ROSA, O PADRÃO OBSERVADO PELOS CÍRCULOS EM PRETO, A DIFERENÇA ENTRE OS PADRÕES OBSERVADO E CALCULADO PELA LINHA CINZA. FOI UTILIZADO UM PASSO DE 1,05° EM 2 θ E UM TEMPO DE INTEGRAÇÃO DE 300 S POR PASSO. AS BARRAS VERTICAIS REPRESENTAM OS PICOS DE BRAGG: MOPHAA (AZUL) E KASNIC(VERDE).

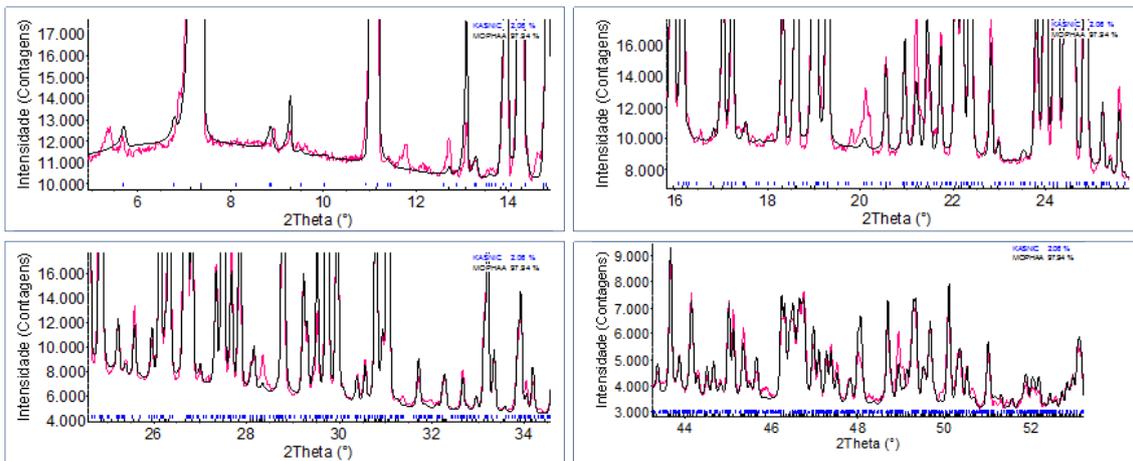


FIGURA 124: AMPLIAÇÃO DO GRÁFICO DE RIETVELD PARA MELHOR VISUALIZAÇÃO DAS DIFERENÇAS ENTRE OS DIFRATOGRAMAS OBSERVADO E CALCULADO.

Como alternativa, tentou-se inserir no arquivo de entrada o CIF referente à forma ácida da Losartana, porém o resultado não foi satisfatório. Na Figura 124 podemos verificar a presença de alguns picos em aproximadamente 5°, 11,5°, 16,5°, 20° e 46° que não pertencem a nenhuma das fases ortorrômbica ou monoclinica.

Com o objetivo de tentar encontrar uma nova forma polimórfica da Losartana, foram realizados experimentos de recristalização a partir do princípio ativo adquirido da farmácia F,

utilizando diferentes solventes. Amostras de 5 mg foram solubilizadas em 5 mL de solvente. Os solventes empregados nas recristalizações foram: álcool isopropílico, acetato de etila e uma mistura 1:1 de álcool isopropílico e água. Após evaporação lenta do solvente, os cristais obtidos foram analisados por difração de raios X por policristais e os resultados encontram-se na Figura 125, na Figura 126 e na Figura 127. Para todas as amostras recristalizadas foram utilizados como arquivos de entrada tanto a forma hidratada como a forma de sal. Nos três casos estudados, somente a fase monoclinica estava presente. Comparando as amostras da farmácia F antes da recristalização, onde havia presença da forma hidratada, pode-se inferir que ao evaporar o solvente no fármaco solubilizado, a água presente na amostra também é eliminada.

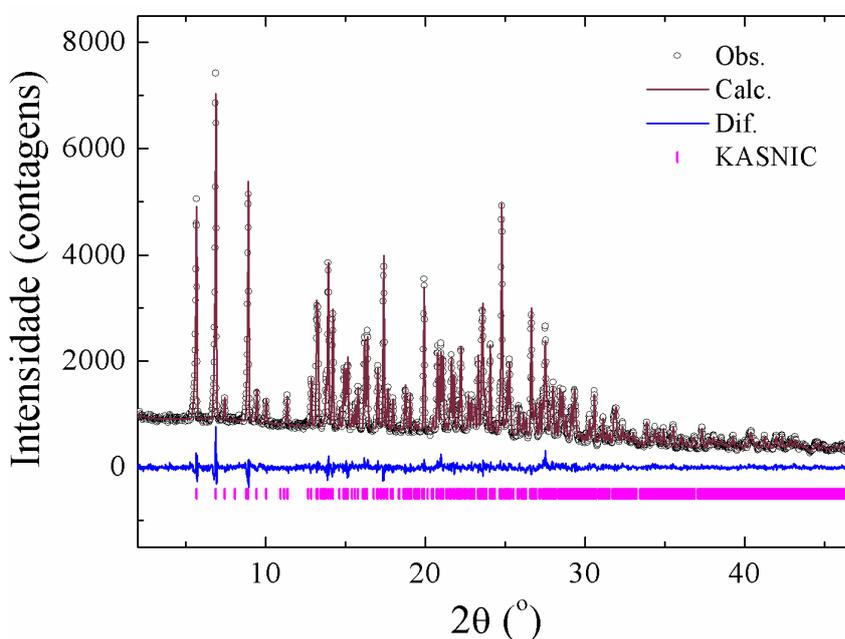


FIGURA 125: GRÁFICO DE RIETVELD DA LOSARTANA POTÁSSICA F RECRISTALIZADA COM ÁLCOOL ISOPROPÍLICO. CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS: $1,05^\circ$ (2θ), TEMPO DE INTEGRAÇÃO 60 S/PASSO. A LINHA EM LARANJA É O DIFRATOGRAMA CALCULADO, OS CÍRCULOS EM PRETO O DIFRATOGRAMA OBSERVADO E AS LINHAS EM CINZA SÃO AS DIFERENÇAS ENTRE AMBOS, AS BARRAS MOSTRAM OS PICOS DE BRAGG. $R_{WP} = 4,496\%$; $R_{EXP} = 3,682\%$; $X^2 = 1,221$; $R_{BRAGG} = 1,900\%$ (KASNIC).

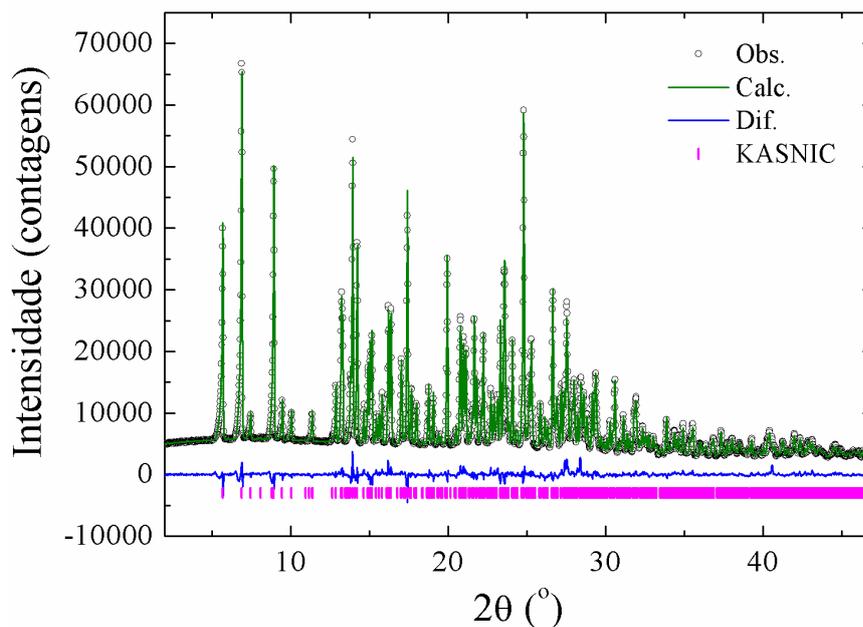


FIGURA 126: GRÁFICO DE RIETVELD DA LOSARTANA POTÁSSICA F RECRISTALIZADA COM ACETATO DE ETILA. CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS: 1.05° (2θ), TEMPO DE INTEGRAÇÃO 60 SEG/PASSO. A LINHA EM VERDE É O DIFRATOGRAMA CALCULADO, OS CÍRCULOS EM PRETO O DIFRATOGRAMA OBSERVADO E AS LINHAS EM AZUL SÃO AS DIFERENÇAS ENTRE AMBOS, AS BARRAS MOSTRAM OS PICOS DE BRAGG. $R_{WP}= 3,997$; $R_{EXP}=1,292$; $X^2=3,094$; $R_{BRAGG}= 2,589$ (KASNIC).

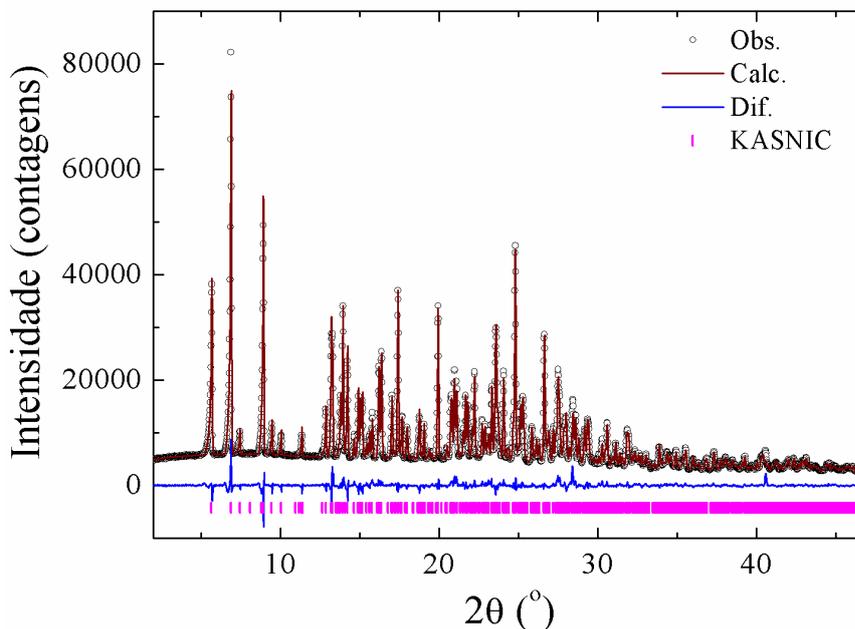


FIGURA 127: GRÁFICO DE RIETVELD DA LOSARTANA POTÁSSICA F RECRISTALIZADA COM ÁLCOOL ISOPROPÍLICO E ÁGUA (1:1). CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS: 1.05° (2θ), TEMPO DE INTEGRAÇÃO 60 SEG/PASSO. A LINHA EM CINZA É O DIFRATOGRAMA CALCULADO, OS CÍRCULOS EM PRETO O DIFRATOGRAMA OBSERVADO E AS LINHAS EM AZUL SÃO AS DIFERENÇAS ENTRE AMBOS, AS BARRAS MOSTRAM OS PICOS DE BRAGG. $R_{WP}= 4,477$; $R_{EXP}=1,303$; $X^2=3,435$; $R_{BRAGG}= 2,696$ (KASNIC).

O medicamento Losartana Potássica é comercializado em comprimidos revestidos de 25 mg, 50 mg e 100 mg. Neste trabalho foi utilizada a composição de 50 mg com 30 comprimidos revestidos em cada embalagem. O medicamento referência é o Cozaar[®],

comercializado pela MERCK SHARP & DOHME (MSD). Foram adquiridos também o Aradois® Losartana Potássica similar, do laboratório BIOLAB SANUS e o genérico da Medley. Na Tabela 50 são apresentados os medicamentos: referência (R), genérico (G) e similar (S), na forma de comprimidos, com a informação dos excipientes que constam em suas bulas.

TABELA 50: EXCIPIENTES DOS MEDICAMENTOS REFERÊNCIA (R), GENÉRICO (G) E SIMILAR (S) DO MEDICAMENTO LOSARTANA POTÁSSICA

<i>Excipientes</i>	<i>Losartana Potássica R</i>	<i>Losartana Potássica G</i>	<i>Losartana Potássica S</i>
<i>amido pré gelatinizado</i>	X		
<i>estearato de magnésio</i>	X	X	X
<i>croscarmelose sódica</i>		X	
<i>lactose monoidratada</i>	X	X	
<i>lactose</i>			X
<i>hiprolose</i>	X		
<i>amido</i>		X	
<i>amidoglicolato de sódio</i>			X
<i>polissorbato 80</i>		X	
<i>dióxido de titânio</i>		X	X
<i>celulose microcristalina</i>	X		
<i>celulose</i>			X
<i>etilcelulose</i>			X
<i>dióxido de silício</i>		X	
<i>dióxido de silício coloidal</i>			X
<i>macrogol</i>		X	X
<i>hipromelose</i>	X	X	X
<i>óxido de ferro amarelo</i>			X

Na Figura 128 é apresentado o gráfico de Rietveld para o medicamento Losartana produzida no laboratório MSD. A partir das informações contidas na bula do medicamento foi realizado um refinamento de Rietveld para a quantificação de fases do princípio ativo e dos excipientes presentes na amostra. Podemos notar que a fase majoritária se refere ao excipiente

lactose monoidratada, correspondendo a ~65,35 (0,81) % do total. A estrutura cristalina do princípio ativo presente no medicamento é a monoclinica $P2_1/c$, correspondendo a ~34,65 (0,81)%. Vale ressaltar que não são somente estes excipientes que estão presentes no medicamento. Entretanto, os demais são excipientes amorfos e não contribuem com picos de difração. Para este procedimento não foi calculada a fração de fase amorfa presente no medicamento. Na Tabela 51 são apresentados os índices estatísticos referentes ao refinamento do medicamento. Podemos notar que houve um ajuste satisfatório entre os difratogramas observado e calculado.

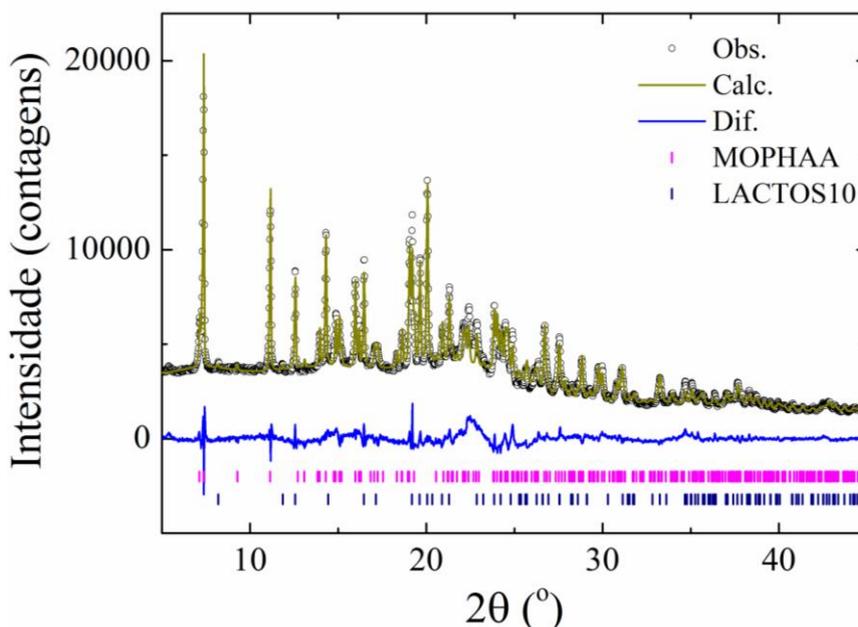


FIGURA 128: GRÁFICO DE RIETVELD DO MEDICAMENTO LOSARTANA POTÁSSICA REFERÊNCIA - MERCK SHARP & DOHME (MSD), ONDE O PADRÃO CALCULADO ESTÁ REPRESENTADO PELA LINHA VERDE, O PADRÃO OBSERVADO PELOS CÍRCULOS EM PRETO, A DIFERENÇA ENTRE OS PADRÕES OBSERVADO E CALCULADO PELA LINHA AZUL E AS POSIÇÕES DOS PICOS DE BRAGG PELAS BARRAS VERTICAIS: IFA(ROSA) E LACTOSE(AZUL).

TABELA 51: ÍNDICES DE QUALIDADE DO MEDICAMENTO LOSARTANA POTÁSSICA REFERÊNCIA – MSD

	R_{wp}	R_{exp}	R_{Bragg}	χ^2
MOPHAA	3,254	1,867	1,756	1,743
LACTOS10	3,254	1,867	1,234	1,743

Para o medicamento Losartana Potássica genérico, oriundo da Medley, os arquivos de entrada utilizados foram os mesmos do caso anterior e, tanto visualmente como por meio dos índices estatísticos, (Tabela 52) conclui-se que o ajuste foi aceitável. Na Figura 129, entre 20°

e 25° (2θ), percebe-se a formação de dois halos nas três amostras de medicamentos analisados, provavelmente devido à presença de excipientes amorfos utilizados na formulação do medicamento. A contribuição em massa do insumo farmacêuticamente ativo é de $\sim 37,56$ (0,75) %, da lactose, excipiente que aparece em maior proporção é $\sim 45,14$ (0,86)% e da celulose microcristalina é $\sim 17,30$ (0,95)%.

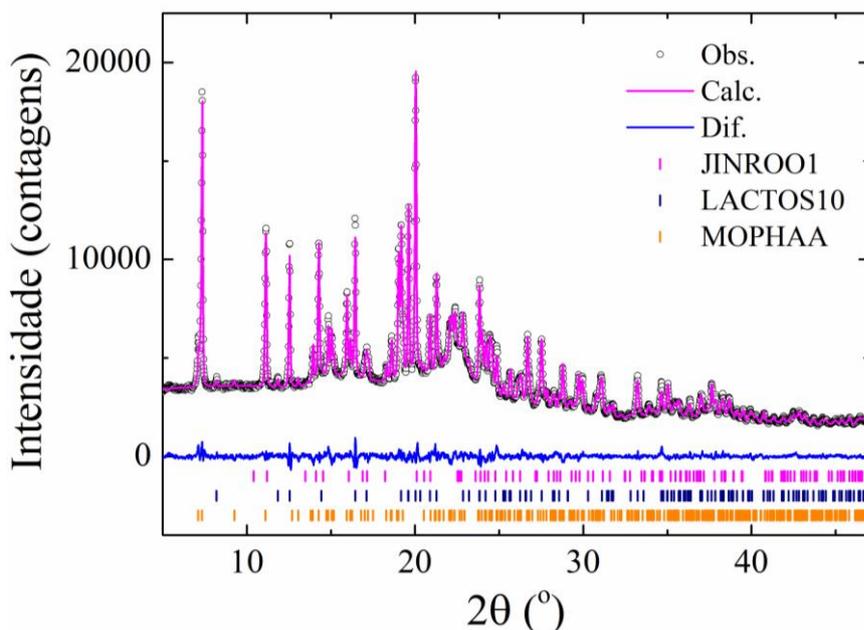


FIGURA 129: GRÁFICO DE RIETVELD DO MEDICAMENTO LOSARTANA POTÁSSICA GENÉRICO – MEDLEY, ONDE O PADRÃO CALCULADO ESTÁ REPRESENTADO PELA LINHA ROSA, O PADRÃO OBSERVADO PELOS CÍRCULOS EM PRETO, A DIFERENÇA ENTRE OS PADRÕES OBSERVADO E CALCULADO PELA LINHA CINZA E AS POSIÇÕES DOS PICOS DE BRAGG PELAS BARRAS VERTICAIS: IFA (AZUL), LACTOSE (PRETO) E CELULOSE (VERDE).

TABELA 52: ÍNDICES DE QUALIDADE DO MEDICAMENTO LOSARTANA POTÁSSICA GENÉRICO – MEDLEY

	R_{wp}	R_{exp}	R_{Bragg}	χ^2
<i>MOPHAA</i>	2,930	1,796	1,486	1,632
<i>LACTOS10</i>	2,930	1,796	0,787	1,632
<i>JINROO1</i>	2,930	1,796	0,185	1,632

Assim como para os outros medicamentos, para realizar a quantificação de fases da Losartana Similar foram utilizados como arquivos de entrada os mesmos que nos casos anteriores. Para o medicamento Losartana Potássica similar, o excipiente lactose é o que se

encontra em maior proporção com ~ 50,13 (0,94)%, seguido do princípio ativo correspondendo a ~40,45 (0,83)% e depois a celulose com ~9,42 (0,13)%. Uma diferença entre o medicamento similar para os demais pode ser vista na Tabela 50 onde estão listados os excipientes utilizados na fabricação dos medicamentos. Nota-se que para o medicamento similar a bula indica de forma diferente os excipientes lactose (não diz que é monoidratada) e celulose (não é microcristalina), porém os mesmos arquivos de entrada utilizados nos medicamentos anteriores ajustam de forma aceitável para o medicamento Losartana similar. É interessante mencionar que no artigo “*The Rietveld Method as a Tool to Quantify the Amorphous Amount of Microcrystalline Cellulose*”⁹⁴, os autores comentam que a ficha JINROO1 para a celulose nativa é a forma polimórfica utilizada para os excipientes.

Para todos os medicamentos de Losartana que foram analisados, a forma polimórfica encontrada é a forma farmacologicamente ativa descrita por Fernandez⁶² e a fase majoritária presente nos medicamentos refere-se à lactose monoidratada.

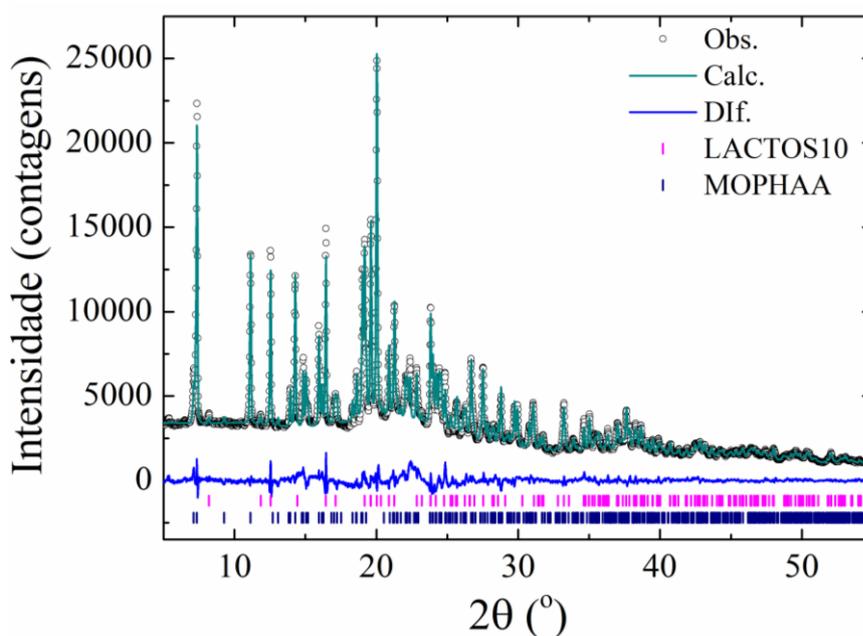


FIGURA 130: GRÁFICO DE RIETVELD DO MEDICAMENTO LOSARTANA POTÁSSICA SIMILAR – BIOLAB SANUS, ONDE O PADRÃO CALCULADO ESTÁ REPRESENTADO PELA LINHA VERDE, O PADRÃO OBSERVADO PELOS CÍRCULOS EM PRETO, A DIFERENÇA ENTRE OS PADRÕES OBSERVADO E CALCULADO PELA LINHA AZUL E AS POSIÇÕES DOS PICOS DE BRAGG PELAS BARRAS VERTICAIS: IFA (AZUL) E LACTOSE (ROSA).

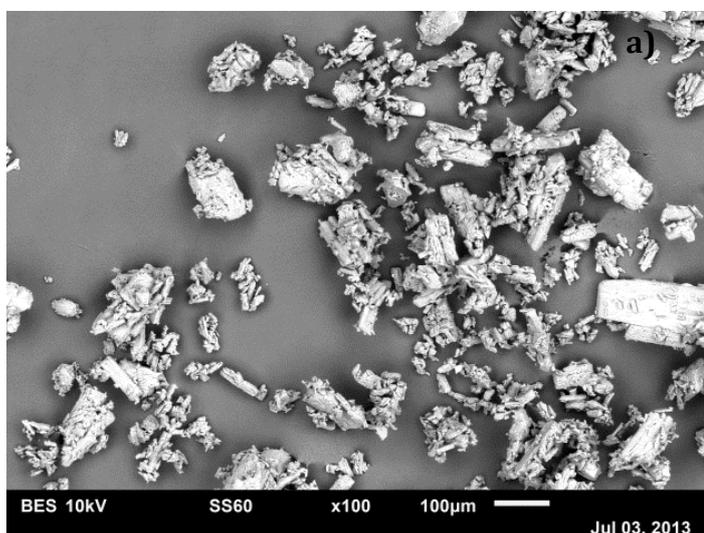
TABELA 53: ÍNDICES DE QUALIDADE DO MEDICAMENTO LOSARTANA POTÁSSICA SIMILAR - BIOLAB

	R_{wp}	R_{exp}	R_{Bragg}	χ^2
MOPHAA	2,988	1,796	1,583	1,664

<i>LACTOS10</i>	2,988	1,796	0,882	1,664
<i>JINROO1</i>	2,988	1,796	0,281	1,664

4.6.2 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA

Na Figura 131 são apresentadas as micrografias do fármaco Losartana Potássica das farmácias F e S e da amostra doada pela indústria farmacêutica. Ambas as amostras possuem cristais muito parecidos, com grande variação de tamanhos e alguns com forma retangular e outros com formas irregulares, porém todos formam pequenos agregados. Na Figura 131(c-d) é mostrada a predição da morfologia produzida a partir dos arquivos CIFs referentes à Losartana utilizando o algoritmo BFDH⁹⁷⁻⁹⁹. Nas amostras analisadas foi encontrado por meio dos difratogramas de difração de raios X por policristais utilizando o refinamento de Rietveld mistura de fases das formas anidra e hidratada da Losartana. Este fato, possivelmente, contribuiu para a heterogeneidade dos grãos apresentados nas micrografias.



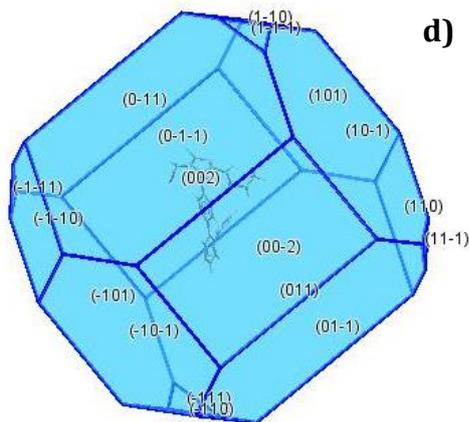
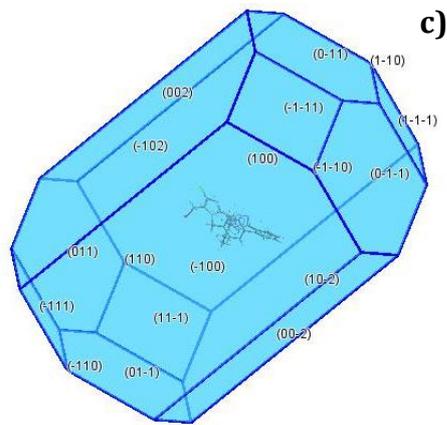
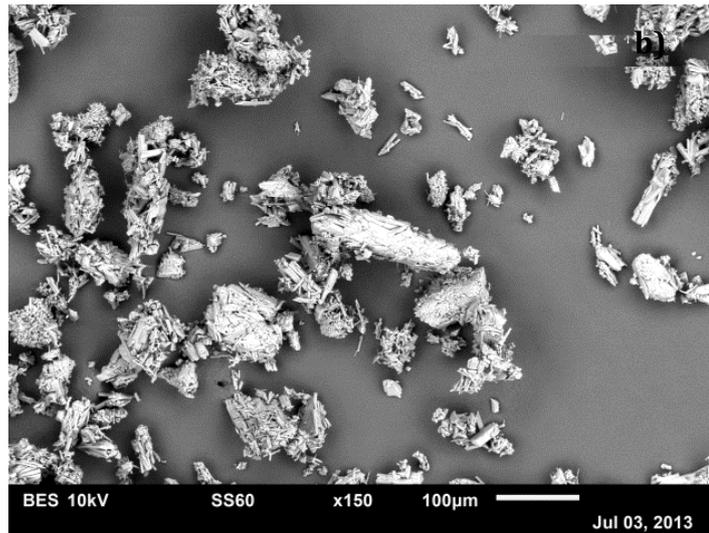


FIGURA 131: MICROGRAFIAS DAS AMOSTRAS DO FÁRMACO LOSARTANA POTÁSSICA: F (A) E S (B), PREDIÇÃO DA MORFOLOGIA DA LOSARTANA PELO BFDH UTILIZANDO O ARQUIVO CIF MOPHAA (C), OCAHAC (D) E KASNIC (D).

4.6.3 ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER

Os espectros de absorção para a Losartana das farmácias F e S e da indústria MX estão apresentados da Figura 132 à Figura 137. Podemos notar que em 3500-3000 cm^{-1} aparecem algumas diferenças entre os gráficos. Os espectros serão apresentados separadamente para indicação das vibrações características e depois serão colocados juntos (Figura 138) para facilitar a comparação entre eles.

No trabalho “*A Spectroscopic Investigation of Losartan Polymorphs*”, Raghavan e colaboradores⁶³ discorrem sobre as diferenças entre as forma I e II nos espectros de FTIR mostrando algumas diferenças entre eles que podem contribuir para diferenciar uma forma da outra. Os autores também fizeram um estudo utilizando análise térmica em que as informações serão utilizadas no próximo tópico.

Raghavan⁶³ comenta que os espectros de FTIR das duas formas polimórficas possuem características muito similares, porém existem diferenças discerníveis entre as formas. Por meio do refinamento de Rietveld foi possível concluir que a amostra da farmácia F apresentou a presença de duas fases: a anidra e a hidratada; a amostra S apresentou a fase hidratada predominante, ao contrário da amostra MX, onde a prevalência foi da fase anidra.

A Figura 132 apresenta o espectro de FTIR para a Losartana Potássica proveniente da farmácia F e na Figura 133 o espectro está restringido ao intervalo entre 1700-650 cm^{-1} para melhor visualização das bandas características do fármaco.

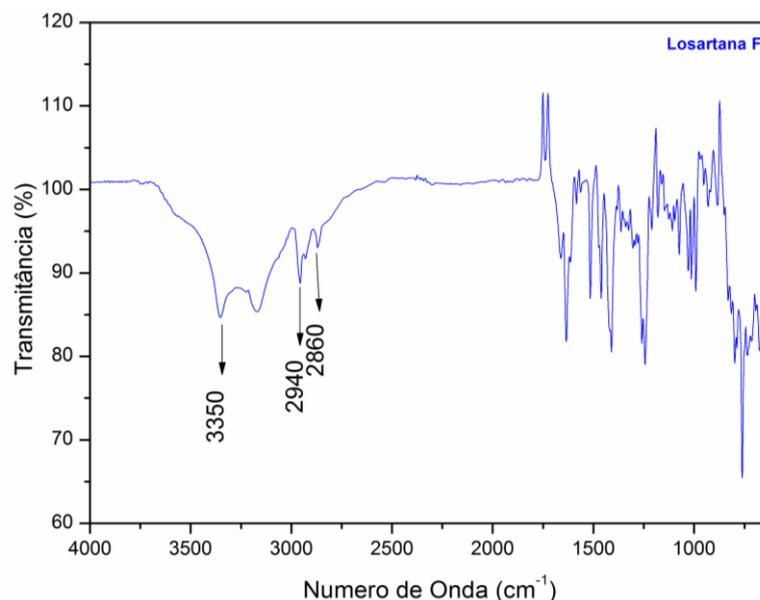


FIGURA 132: ESPECTRO FTIR PARA A LOSARTA POTÁSSICA F, OBTIDA COM RESOLUÇÃO DE 4 cm^{-1} NA REGIÃO DE 4000-650 cm^{-1} , ONDE AS PRINCIPAIS BANDAS DE ABSORÇÃO QUE CARACTERIZAM O FÁRMACO ESTÃO DESTACADAS.

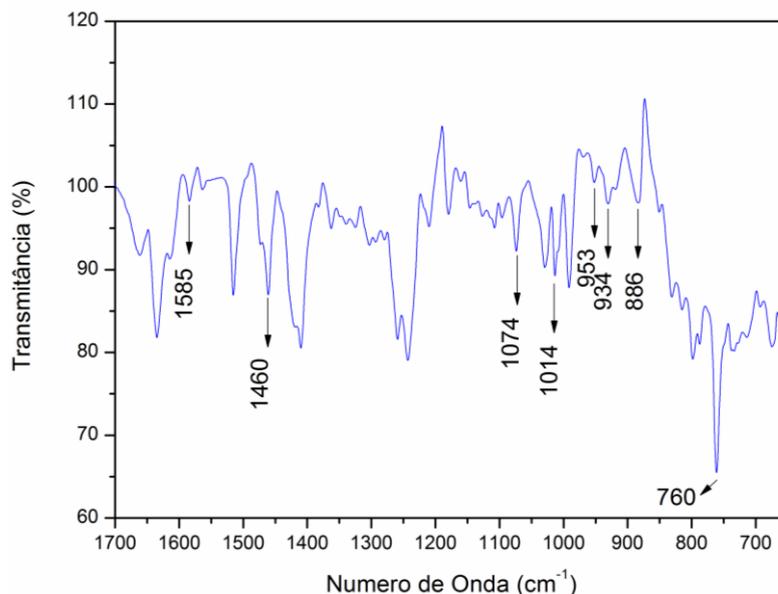


FIGURA 133: ESPECTRO FTIR PARA A LOSARTA POTÁSSICA F, OBTIDA COM RESOLUÇÃO DE 4 cm^{-1} NA REGIÃO DE 1700-650 cm^{-1} , ONDE AS PRINCIPAIS BANDAS DE ABSORÇÃO QUE CARACTERIZAM O FÁRMACO ESTÃO DESTACADAS.

As vibrações de absorção que ocorrem em 886 cm^{-1} , 934 cm^{-1} e 953 cm^{-1} são atribuídas a vibração do anel imidazólico referente à Forma I. A banda em 1074 cm^{-1} refere-se à deformação angular no plano das ligações C-H do anel aromático. Observam-se ainda vibrações de esqueleto em 1585 cm^{-1} e em 1460 cm^{-1} que envolvem a deformação axial das ligações carbono-carbono do anel. As vibrações de deformação angular fora do plano de C-H são bandas frequentemente intensas e no espectro da Losartana uma delas aparece em 760 cm^{-1} . As

vibrações de deformação axial de C-O de álcoois produzem uma banda em 1014 cm^{-1} . A vibração em 3350 cm^{-1} é atribuída à deformação axial de O-H na ligação de hidrogênio intermolecular. Por fim, as bandas que ocorrem em 2940 cm^{-1} e 2860 cm^{-1} são atribuídas à deformação axial de C-H (metileno).

Em relação ao espectro da farmácia F, aquele referente à farmácia S possui poucas diferenças em relação às bandas de absorção características da Losartana, apenas em dois valores $886 \rightarrow 876\text{ cm}^{-1}$ e em $1585 \rightarrow 1575\text{ cm}^{-1}$.

A Figura 134 apresenta o espectro de FTIR para a amostra de Losartana da farmácia S e na Figura 135 o intervalo visualizado está reduzido para melhor separação dos picos. As vibrações características da molécula encontram-se destacadas.

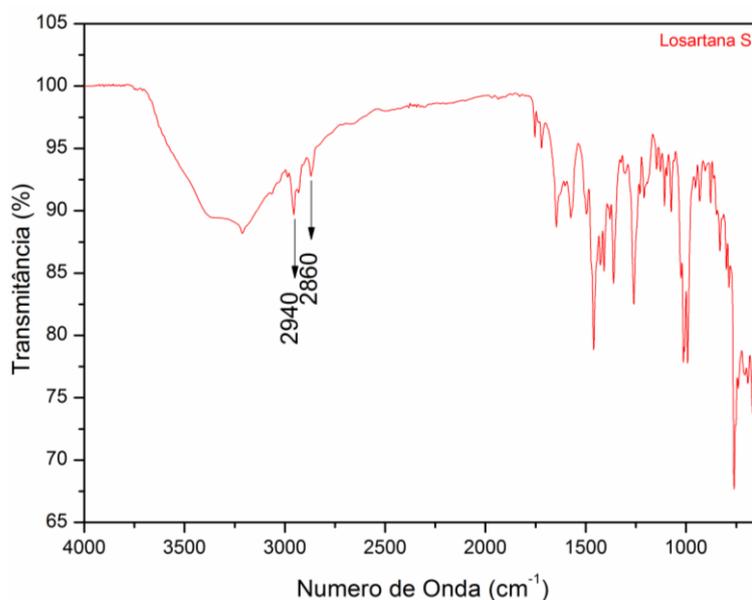


FIGURA 134: ESPECTRO FTIR PARA A LOSARTA POTÁSSICA S, OBTIDA COM RESOLUÇÃO DE 4 cm^{-1} NA REGIÃO DE $4000\text{-}650\text{ cm}^{-1}$, ONDE AS PRINCIPAIS BANDAS DE ABSORÇÃO QUE CARACTERIZAM O FÁRMACO ESTÃO DESTACADAS.

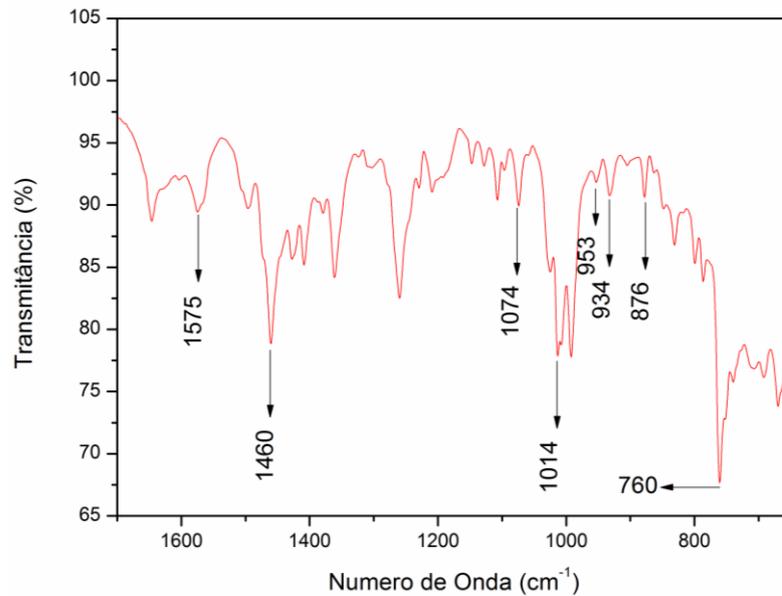


FIGURA 135: ESPECTRO FTIR PARA A LOSARTA POTÁSSICA S, OBTIDA COM RESOLUÇÃO DE 4cm^{-1} NA REGIÃO DE $1700\text{-}650\text{ cm}^{-1}$, ONDE AS PRINCIPAIS BANDAS DE ABSORÇÃO QUE CARACTERIZAM O FÁRMACO ESTÃO DESTACADAS.

Na Figura 136 e na Figura 137 são apresentados os espectros de FTIR da amostra de Losartana proveniente da indústria MX sendo que na Figura 137 foi feita uma ampliação para melhor discernimento dos picos. Em comparação com o espectro das amostras anteriores, para a MX a única vibração que ficou ligeiramente deslocada foi em $1014 \rightarrow 1005\text{cm}^{-1}$.

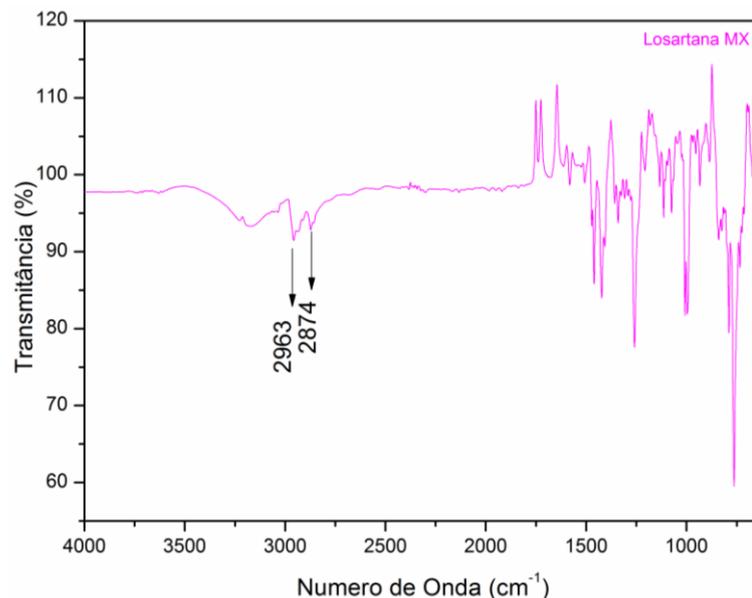


FIGURA 136: ESPECTRO FTIR PARA A LOSARTA POTÁSSICA MX, OBTIDA COM RESOLUÇÃO DE 4 cm^{-1} NA REGIÃO DE $4000\text{-}650\text{ cm}^{-1}$, ONDE AS PRINCIPAIS BANDAS DE ABSORÇÃO QUE CARACTERIZAM O FÁRMACO ESTÃO DESTACADAS.

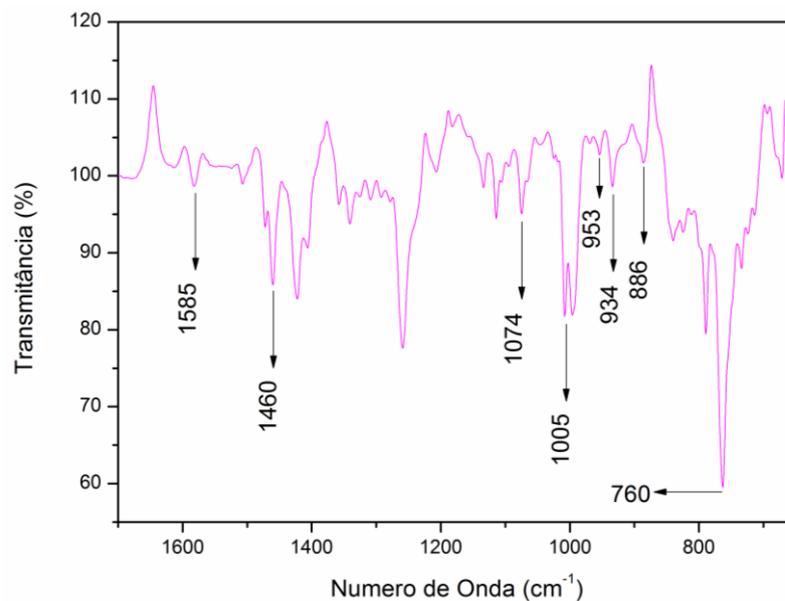


FIGURA 137: ESPECTRO FTIR PARA A LOSARTA POTÁSSICA MX, OBTIDA COM RESOLUÇÃO DE 4 cm^{-1} NA REGIÃO DE 1700-650 cm^{-1} , ONDE AS PRINCIPAIS BANDAS DE ABSORÇÃO QUE CARACTERIZAM O FÁRMACO ESTÃO DESTACADAS.

Embora as vibrações características do fármaco encontrem-se de acordo com a literatura^{63, 64}, podemos notar na Figura 138 que há grande diferença entre os espectros. Os asteriscos mostram os picos característicos da molécula que foram identificados anteriormente, embora estejam próximos um dos outros, nota-se que em alguns existe diferença na forma e intensidade dos picos. As informações obtidas nos espectros de FTIR corroboram com os dados analisados por difração de raios X onde foi visto que as três amostras de Losartana estudadas apresentam diferentes proporções de fases anidra e hidratada. Embora a espectroscopia não ajude a quantificar a porcentagem de cada fase presente na amostra, uma vez que está sendo realizado um estudo qualitativo, ela nos auxilia a identificar que as três amostras são diferentes, algumas diferenças entre os espectros estão ressaltadas por meio das elipses na Figura 138.

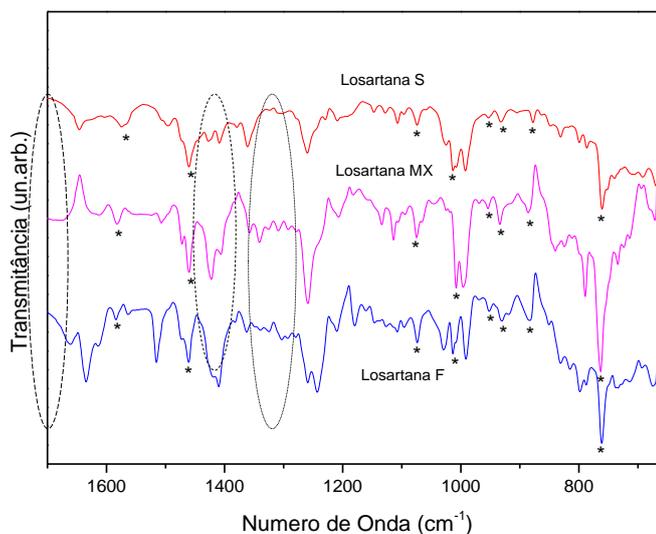


FIGURA 138: COMPARAÇÃO ENTRE OS ESPECTROS FTIR DA LOSARTA POTÁSSICA F, S E MX, RESPECTIVAMENTE.

4.6.4 ANÁLISE TÉRMICA

A Losartana Potássica é um agente anti-hipertensivo administrado oralmente e segundo Raghavan⁶³ há duas formas enantiotrópicas polimórficas conhecidas. A temperatura ambiente a Forma I é termodinamicamente estável e é a forma encontrada em medicamentos já a Forma II é mais estável a altas temperaturas.

Quando a Losartana é cristalizada em solução (geralmente em uma mistura de solventes contendo ciclohexano, isopropanol e água), somente a forma anidra (Forma I) é observada. Wu e Raghavan^{63, 64} em diferentes artigos discutiram a respeito do comportamento térmico da Losartana Potássica utilizando a técnica de calorimetria exploratória diferencial. Raghavan⁶³ utilizou o DSC para, a partir da Forma I da Losartana, produzir a Forma II aquecendo o fármaco até 255 °C com uma taxa de aquecimento de 10 °C.min⁻¹. Eles notaram que a curva de DSC para o experimento realizado apresentava um pequeno pico endotérmico em 229,5 °C (T_{onset}) e um outro evento endotérmico referente à fusão em 273,2 °C (T_{onset}). Os autores notaram que o pico endotérmico menor não aparecia quando as amostras eram aquecidas até 255 °C. Eles identificaram a amostra antes do aquecimento como sendo a Forma I e depois do aquecimento

a Forma II, corroborando com as informações de análise térmica. Eles notaram que haviam diferenças no padrão de difração de raios X indicando que havia mudado a estrutura cristalina do material. Diante destes fatos, eles concluíram que o pico endotérmico menor corresponde a uma transição polimórfica enantiotrópica. O pico endotérmico maior é atribuído à fusão do polimorfo estável a altas temperaturas.

Os polimorfos baseados em suas propriedades termodinâmicas são classificados em enantiotrópicos ou monotrópicos. No sistema enantiotrópico, a transição reversível entre dois polimorfos (passam da forma metaestável para a forma estável) é possível a uma temperatura de transição definida, localizada abaixo da temperatura de fusão da molécula. Já nos sistemas monotrópicos, nenhuma transição polimórfica é observada entre os polimorfos abaixo da temperatura de fusão². O polimorfo estável a baixa temperatura (até a temperatura de transição) foi designado como sendo a Forma I e o polimorfo estável a altas temperaturas como sendo a Forma II. Wu, Gerard e Hussain⁶⁴ chegaram a conclusões parecidas em seu trabalho publicado no mesmo ano que Raghavan⁶³, porém eles se aprofundaram no estudo do comportamento térmico do fármaco enquanto os outros autores fizeram um estudo sistematizado utilizando técnicas espectroscópicas. Na curva de DSC, os autores encontraram um pequeno pico endotérmico em torno de 230-250 °C, seguido por um notável evento endotérmico em 276 °C, representando a fusão seguida de decomposição térmica do fármaco. Eles notaram nas curvas de TG uma insignificante perda de massa entre 30 a 265 °C, indicando que o pequeno evento endotérmico ocorrido em 240 °C não está relacionado ao solvente, uma vez que foi realizada uma recristalização seguida de aquecimento para se chegar à Forma II da Losartana. Assim como os outros autores, Wu e colaboradores⁶⁴ chegaram à conclusão de que este pequeno pico endotérmico caracteriza uma transição polimórfica enantiotrópica. Vale ressaltar que este pico encontrado variou de lote para lote e de corrida para corrida para as amostras que foram analisadas. Desta forma, os autores concluíram que a transformação enantiotrópica ocorre antes da fusão da forma I, e a forma II apresenta decomposição imediatamente após a fusão. Essas informações serão úteis para a interpretação das curvas obtidas no DSC e TG obtidas nesse trabalho de tese.

Na Figura 139 e na Figura 140 são apresentadas as curvas de TG/DTG e DSC da Losartana F, respectivamente. Analisando a Figura 139 verifica-se que a Losartana F apresenta, inicialmente, dois eventos consecutivos: o primeiro em 31,71 °C (DTG) e o segundo em 74,72 °C (DTG), com perda de massa para os dois eventos de aproximadamente $\Delta m = 6,81\%$ referente

à perda de água. Tal informação foi obtida, de maneira equivalente, com o refinamento de Rietveld. Com a quantificação de fases foi verificado que 72,19% referia-se à forma hidratada e 27,81% à forma anidra. Logo, era esperada essa perda de massa referente à evaporação de água presente na amostra. Após este evento, a Losartana permanece termicamente estável até aproximadamente 262,64 °C. Após esta temperatura ocorrem mais três eventos térmicos relacionados à fusão da amostra (possivelmente das duas fases) e posterior decomposição, como pode ser observado na Figura 139. Ao final do experimento, em 600 °C, a amostra ainda não havia sido totalmente decomposta, havendo no final um teor de resíduo de $\Delta m = 39\%$.

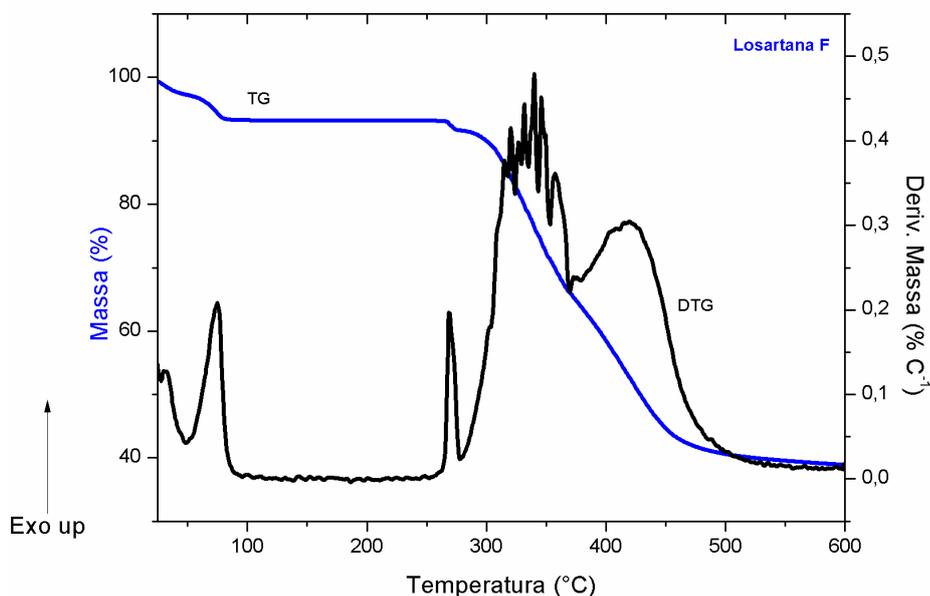


FIGURA 139: CURVAS TG/DTG DA LOSARTANA POTÁSSICA F OBTIDAS EM ATMOSFERA DE N_2 (VAZÃO: 100 $ML \cdot MIN^{-1}$), RAZÃO DE AQUECIMENTO DE $10 \text{ } ^\circ C \cdot MIN^{-1}$ E MASSA DA AMOSTRA DE 5 MG.

Na Figura 140 podemos ver a ocorrência de 4 eventos endotérmicos referentes à Losartana. O primeiro evento ocorre em $64,19 \text{ } ^\circ C$ (T_{pico}) provavelmente devido à perda de água da amostra. Como comentado anteriormente, para esta amostra, está presente uma quantidade considerada da fase hidratada. Podemos ainda notar dois eventos endotérmicos presentes na curva de DSC: o primeiro pico ocorre em $172,63 \text{ } ^\circ C$ e o segundo em $202,68 \text{ } ^\circ C$. Segundo a literatura, a mudança de fase ocorre em torno de $235 \text{ } ^\circ C$. Porém, como inicialmente a amostra não está pura, como pode ser comprovado por meio das informações obtidas nos difratogramas de DRXP, possivelmente pode ter ocasionado um deslocamento na temperatura onde ocorreria a transformação enantiotrópica. O pico em $172,63 \text{ } ^\circ C$ pode ser explicado como sendo a fusão da fase monoclinica que é a que se encontra em menor quantidade. Após este possível deslocamento na temperatura, correspondente à transição de fase, pode ser visto um pico

endotérmico em 272,38 °C referente à fusão da Forma II da Losartana Potássica, seguida do início do processo de decomposição da amostra.

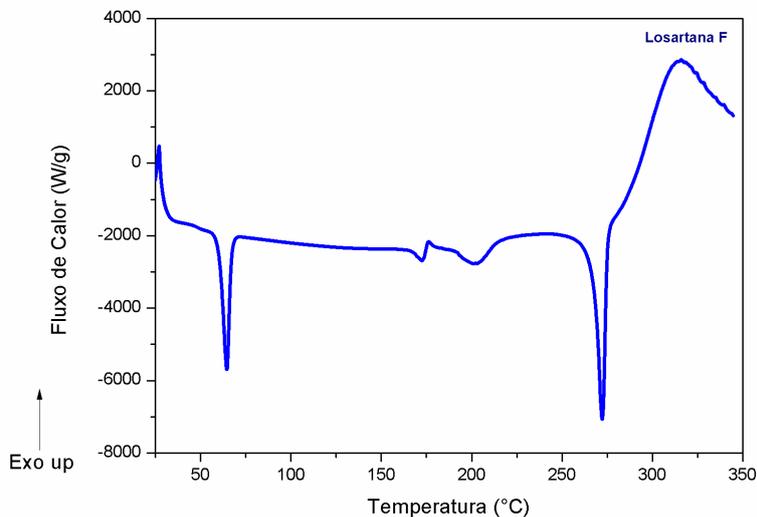


FIGURA 140: CURVA DE DSC DA AMOSTRA DE LOSARTANA POTÁSSICA F SOB ATMOSFERA DINÂMICA DE N₂(VAZÃO: 50 ML.MIN⁻¹) E RAZÃO DE AQUECIMENTO DE 10 °C.MIN⁻¹.

Tabela 55 são apresentadas as informações sistematizadas referentes aos eventos térmicos obtidos nas curvas de TG/DTG e DSC.

TABELA 54: DADOS TERMOANALÍTICOS OBTIDOS POR TG/DTG DA AMOSTRA DE LOSARTANA POTÁSSICA DA FARMÁCIA F

<i>Amostras</i>	<i>T_{onset} (°C)</i>	<i>T_{endset} (°C)</i>	<i>Δm (%)</i>
<i>Losartana F (1° evento)</i>	20,68	46,64	2,90
<i>Losartana F (2° evento)</i>	54,66	79,98	3,91
<i>Losartana F (3° evento)</i>	266,28	295,61	1,64
<i>Losartana F (4° evento)</i>	299,50	482,28	52,48

TABELA 55: DADOS TERMOANALÍTICOS OBTIDOS POR DSC DA AMOSTRA DE LOSARTANA POTÁSSICA F

<i>Amostras</i>	<i>T_{onset} (°C)</i>	<i>T_{pico} (°C)</i>	<i>ΔH (kJ mol⁻¹)</i>
<i>Losartana F (1° evento)</i>	55,4	64,6	46,9
<i>Losartana F (2° evento)</i>	165,5	168,7	7,07
<i>Losartana F (3° evento)</i>	189,4	201,2	16,7

Na Figura 141 são apresentadas as curvas de TG/DTG para a amostra de Losartana proveniente da farmácia S. Podem ser evidenciados 3 eventos térmicos a partir da curva de DTG. O primeiro evento ocorre em 78,35 °C (DTG), com perda de massa de aproximadamente $\Delta m = 14,25\%$ referente à evaporação de água presente na amostra. Dois eventos que aparecem sobrepostos na curva de TG ocorrem em 331,47 °C (DTG) seguido pelo outro evento em 421,10 °C (DTG). Conjuntamente, houve uma perda de massa de aproximadamente $\Delta m = 57,22\%$ e no final do experimento houve um resíduo de aproximadamente $\Delta m_{\text{resíduo}} = 28,53\%$.

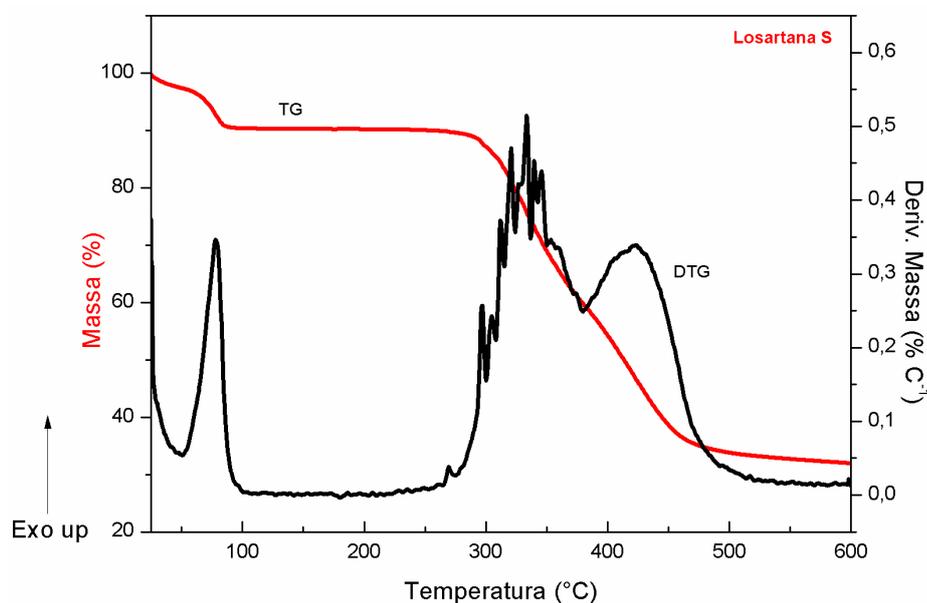


FIGURA 141: CURVAS TG/DTG DA LOSARTANA POTÁSSICA S OBTIDAS EM ATMOSFERA DE N₂ (VAZÃO: 100 ML.MIN⁻¹), RAZÃO DE AQUECIMENTO DE 10 °C.MIN⁻¹ E MASSA DA AMOSTRA DE 5 MG.

Na Figura 142 é apresentada a curva de DSC referente à Losartana S podendo ser evidenciados dois eventos endotérmicos. O primeiro evento encontra-se em 67,44 °C (T_{pico}) referente à perda de água presente na amostra. Este evento pode ser corroborado com as curvas de TG/DTG. O segundo evento ocorre em 204,54 °C (T_{pico}). Este é um pico de fusão da Forma I seguido do início da degradação da amostra. Neste caso não foi evidenciada transição polimórfica para esta amostra uma vez que deveria haver a fusão da Forma II por volta de 276 °C. Na Tabela 56 e na Tabela 57 são apresentadas as informações sobre os eventos térmicos obtidos a partir das curvas de TG/DTG e DSC.

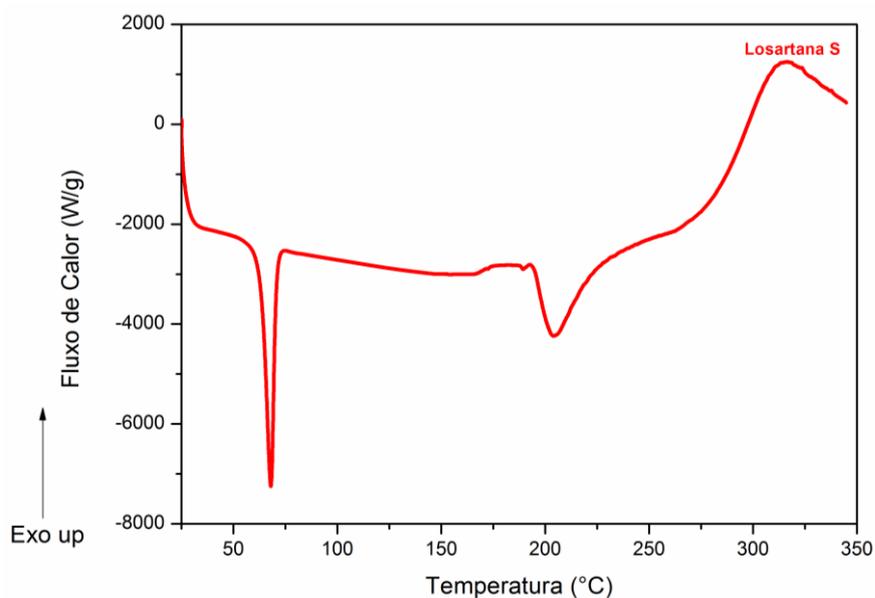


FIGURA 142: CURVA DE DSC DA AMOSTRA DE LOSARTANA POTÁSSICA S SOB ATMOSFERA DINÂMICA DE N₂ (VAZÃO: 50ML.MIN⁻¹) E RAZÃO DE AQUECIMENTO DE 10 °C.MIN⁻¹.

TABELA 56: DADOS TERMOANALÍTICOS OBTIDOS POR TG/DTG DA AMOSTRA DE LOSARTANA POTÁSSICA S

	T_{onset} (°C)	T_{pico} (°C)	ΔH (J/g)
<i>Losartana S (1° evento)</i>	54,4	68,1	67,7
<i>Losartana S (2° evento)</i>	192,0	204,0	71,5

TABELA 57: DADOS TERMOANALÍTICOS OBTIDOS POR TG/DTG DA AMOSTRA DE LOSARTANA POTÁSSICA DA FARMÁCIA S

	T_{onset} (°C)	T_{endset} (°C)	Δm (%)
<i>Losartana S (1° evento)</i>	24,32	84,50	14,25
<i>Losartana S (2° e 3° evento)</i>	289,72	477,64	57,22

Na Figura 143 e na Figura 144 são apresentadas as curvas referentes ao experimento de TG/DTG e DSC da amostra de Losartana Potássica doada pela indústria. A partir da curva de TG podemos notar que a amostra é termicamente estável até aproximadamente 283,57 °C seguida de 3 eventos endotérmicos que aparecem sobrepostos na curva de TG. Os eventos em

326,58 °C, 354,78 °C e em 418,72 °C (DTG) apresentaram conjuntamente uma perda de massa de $\Delta m = 61,37\%$ havendo ao final do experimento um resíduo equivalente a $\Delta m_{\text{resíduo}} = 38,63\%$. Para esta amostra não foi identificada perda de água na curva de TG, corroborando com as informações obtidas por meio da difração de raios X por policristais onde ficou evidenciada que esta amostra é anidra.

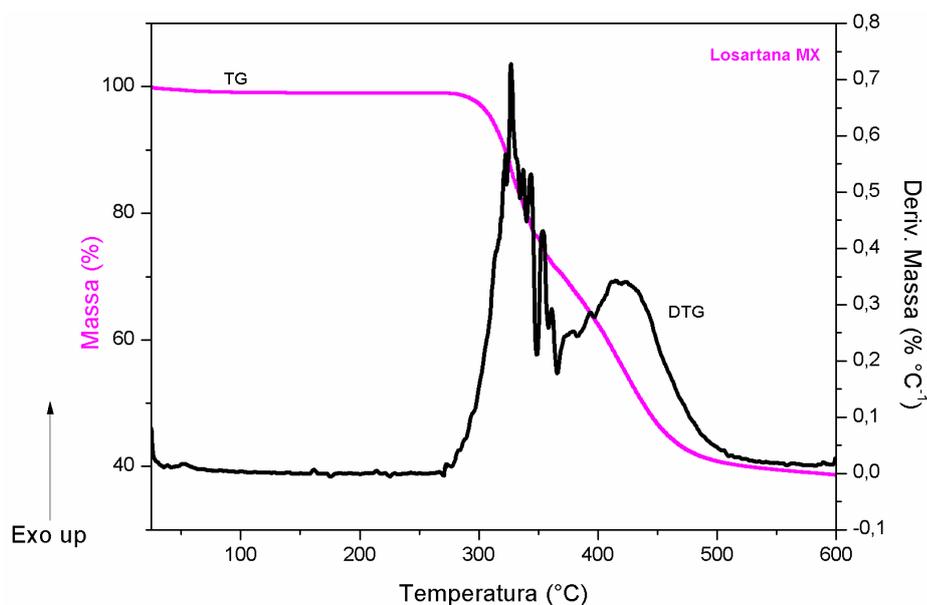


FIGURA 143: CURVAS TG/DTG DA LOSARTANA POTÁSSICA MX OBTIDAS EM ATMOSFERA DE N_2 (VAZÃO: 100 $ML \cdot MIN^{-1}$), RAZÃO DE AQUECIMENTO DE $10^\circ C \cdot MIN^{-1}$ E MASSA DA AMOSTRA DE 5 MG.

Na Figura 144 é apresentada a curva DSC para a amostra de Losartana Potássica proveniente da indústria farmacêutica. São observados dois eventos endotérmicos, onde o primeiro ocorre em $234,28^\circ C$ provavelmente devido à transição polimórfica enantiotrópica da Forma I para a Forma II, seguida pelo segundo evento em $268^\circ C$, atribuído à fusão da Forma II, seguida de decomposição térmica da amostra. Na Tabela 58 e na Tabela 59 estão sistematizados os eventos térmicos evidenciados nas curvas de TG/DTG e DSC.

TABELA 58: DADOS TERMOANALÍTICOS OBTIDOS POR TG/DTG DA AMOSTRA DE LOSARTANA POTÁSSICA MX

	$T_{\text{onset}} (^\circ C)$	$T_{\text{endset}} (^\circ C)$	$\Delta m (\%)$
Losartana MX	289,91	500,52	61,37

Na Figura 145 são apresentadas as curvas DSC das 3 amostras de Losartana Potássica a fim de compararmos as diferenças entre as amostras.

TABELA 59: DADOS TERMOANALÍTICOS OBTIDOS POR TG/DTG DA AMOSTRA DE LOSARTANA POTÁSSICA MX

	T_{onset} (°C)	T_{pico} (°C)	ΔH (J/g)
<i>Losartana MX (1° evento)</i>	227,73	234,5	9,56
<i>Losartana MX (2° evento)</i>	252,81	268,7	94,6

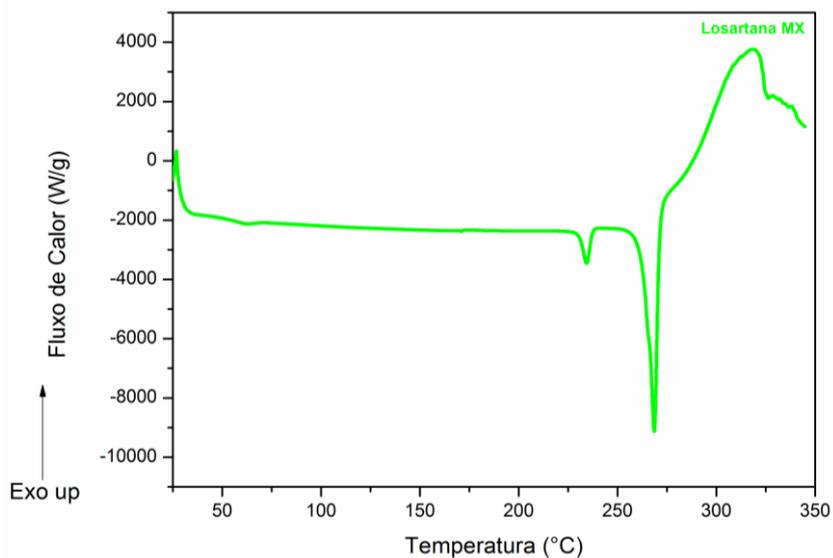


FIGURA 144: CURVA DSC DA AMOSTRA DE LOSARTANA POTÁSSICA MX SOB ATMOSFERA DINÂMICA DE N₂ (VAZÃO: 50 ML.MIN⁻¹) E RAZÃO DE AQUECIMENTO DE 10 °C.MIN⁻¹.

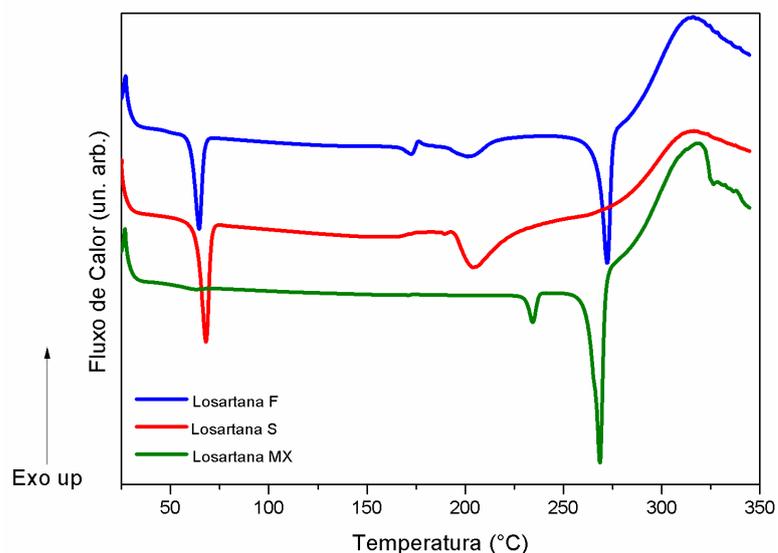


FIGURA 145: COMPARAÇÃO DAS CURVAS DSC DAS AMOSTRAS DE LOSARTANA POTÁSSICA F, S E MX SOB ATMOSFERA DINÂMICA DE N₂ (VAZÃO: 50 ML.MIN⁻¹) E RAZÃO DE AQUECIMENTO DE 10 °C.MIN⁻¹.

Não foi possível determinar o grau de pureza por DSC para as amostras de Losartana Potássica das farmácias F, S e MX porque antes do material fundir houve outros eventos envolvidos como perda de água (amostras F e S) e mudança de fase da amostra MX.

4.7 LASSBIO – 1289

Embora vários tratamentos eficazes para hipertensão estejam disponíveis, novas terapias para reduzir e controlar a pressão arterial elevada e reduzir os fatores de risco cardiovasculares associados ainda são necessários. Neste contexto, algumas *N*-acilidrazonas (NAH), derivadas do safrol, foram sintetizadas no LASSBio[®] (Laboratório de Avaliação e Síntese de Substâncias Bioativas) e foram encontradas moléculas que promovem a vasodilatação intensa e atividade anti-hipertensiva.

O LASSBio-294 foi descrito¹²¹ como um potente agente inotrópico cardíaco ($IC_{50} = 74 \mu M$) com propriedades vasodilatadoras. Vários derivados do LASSBio-294 foram sintetizados em um esforço para identificar novos candidatos a fármacos com atividade vasodilatadora seletiva. Neste contexto, foi planejado e sintetizado o LASSBio-785 por meio da introdução do grupo metil ligado ao nitrogênio da amida do radical de NAH do LASSBio-294, apresentando uma melhora significativa nas propriedades vasodilatadoras ($IC_{50} = 10,2 \mu M$), sendo sete vezes mais potente que o LASSBio-294¹²².

O LASSBio-1289 foi concebido a partir do composto protótipo do LASSBio-294 através da utilização da estratégia de química medicinal de substituição bioisostérica dos anéis aromáticos^{121, 123}. Além disso, a *N*-metilação do grupo NAH foi utilizada para melhorar o perfil vasodilatador do composto protótipo por meio da indução de mudanças conformacionais (Figura 146)¹²².

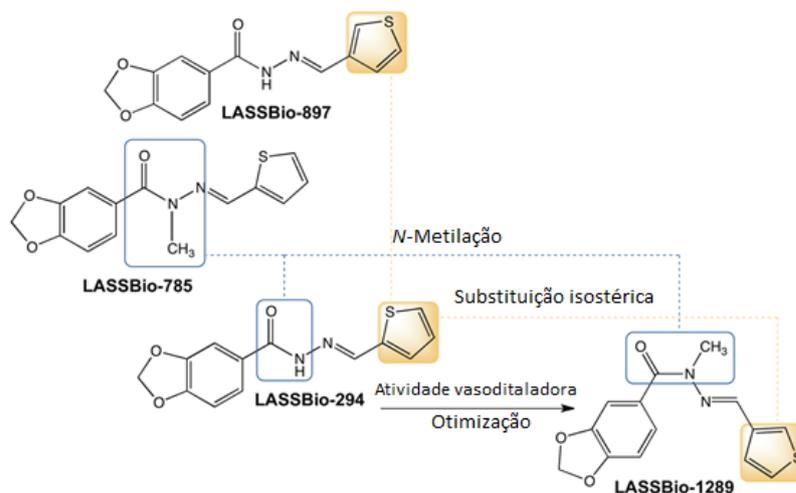


FIGURA 146: DERIVADOS NAH DE LASSBIO-294, NOVOS CANDIDATOS A FÁRMACOS COM PROPRIEDADES VASODILATADORAS.

O LASSBio-1289 é um composto inovador, sem similaridade estrutural com as três principais classes de antagonistas dos canais de cálcio. Este novo derivado de NAH é 25 vezes mais potente¹²⁴ do que o composto protótipo LASSBio-294 em promover o relaxamento da aorta. Este aumento na potência pode ser devido a mudanças estruturais, tais como a *N*-metilação e a substituição isostérica do 2-tienil pelo anel 3-tienilo. Além disso, o LASSBio-1289 foi 90 vezes mais potente que o precursor LASSBio-897 nas aortas de ratos espontaneamente hipertensos (SHR)¹²².

Muitos fatores estão envolvidos na tarefa de descrever a relação entre a estrutura química e a atividade farmacológica de um protótipo a novo fármaco. Entre estes fatores, o estudo da estrutura em nível atômico pode ser incluído. Uma vez que derivados de NAH não formam cristais adequados para difração de raios X por monocristais, a metodologia de determinação da estrutura por difração de raios X por policristais tem sido empregada como uma técnica capaz de definir a configuração relativa dos compostos, que está diretamente relacionada com a atividade biológica.

4.7.1 INDEXAÇÃO

Os dados de difração de raios X por policristais foram utilizados para indexar as vinte primeiras reflexões do padrão de difração utilizando o software *Topas-Academic* v.5¹²⁵. A

região compreendida entre as 20 reflexões foi ajustada, obtendo-se os seguintes valores para o grupo espacial monoclinico ($P2_1/c$): $a = 14,5062 \text{ \AA}$, $b = 12,1341 \text{ \AA}$, $c = 7,5483 \text{ \AA}$, $\beta = 91,113^\circ$, $V = 1328,399 \text{ \AA}^3$ e $Gof = 90,08^{122}$. Em seguida, foi feito um refinamento de Pawley para confirmar o grupo espacial escolhido bem como os parâmetros da cela unitária. Os valores dos parâmetros da cela unitária, bem como os fatores R^{126} e o indicador de qualidade do ajuste, encontrados após o refinamento foram: $a = 14,5108(4) \text{ \AA}$, $b = 12,1373(3) \text{ \AA}$, $c = 7,5499(1) \text{ \AA}$, $\beta = 91,110(1)^\circ$, $V = 1329,45(6) \text{ \AA}^3$, $R_{wp} = 3.836 \%$, $R_{exp} = 3.592 \%$ e $\chi^2 = 1,068$.

4.7.2 DETERMINAÇÃO DA ESTRUTURA E REFINAMENTO DE RIETVELD

O processo de determinação estrutural foi realizado com base em procedimentos anteriores realizados por Ferreira e colaboradores¹²⁷⁻¹²⁹, a fim de obter a estrutura cristalina final. Os valores encontrados por meio do programa *Topas-Academic* v.5, foram utilizados em conjunto com a estrutura química do LASSBio-1289 (Figura 147). O processo de determinação da estrutura cristalina foi realizado por meio de um algoritmo de “*simulated annealing*”^{130, 131} implementado no programa DASH¹³². Vinte corridas (em um total de $2,00 \times 10^7$ movimentos) do processo de “*simulated annealing*” foram otimizadas globalmente e o melhor resultado foi, então, considerado no refinamento de Rietveld da estrutura^{133, 134}. Durante o processo de “*simulated annealing*” todos os valores possíveis (por exemplo: posições e orientações moleculares, bem como quaisquer ângulos de torção flexíveis) foram permitidos variar. O *background* foi ajustado utilizando 20 termos do polinômio de Chebyshev e a assimetria dos picos foi ajustada utilizando o modelo de Cheary e Coelho para divergência axial^{135, 136}. O perfil dos picos foi modelado através da abordagem “*Double-Voigt*”¹³⁷ com o perfil anisotrópico dos picos ajustado utilizando harmônicos esféricos bem como a orientação preferencial dos cristais. O comprimento das ligações, ângulos e planaridade dos anéis foram restringidos utilizando os valores médios obtidos no *Mogul Cambridge Structural Database System*¹³⁸.

Deslocamentos atômicos isotrópicos (B_{iso}) foram restringidos para que todos os átomos não hidrogenoides tivessem o mesmo valor. Os átomos de hidrogênio foram adicionados considerando a geometria orbital utilizando o *Software Mercury* e os valores de B_{iso} foram limitados para valores de 1,2 vezes maior em relação aos valores de B_{iso} ao qual seus átomos

estão ligados. Por outro lado, as coordenadas fracionárias foram refinadas utilizando uma macro implementada no programa *Topas-Academic*, que limita as distâncias entre o hidrogênio e os átomos vizinhos. Inicialmente, as coordenadas fracionárias foram inseridas com os valores obtidos no *Mercury*. Em seguida, tendo a média dos valores das distâncias de ligação encontrados no *Mercury* (C–H = 0,96 Å, N–H = 0,87 Å e O–H = 0,99 Å), o refinamento foi realizado, proporcionando as coordenadas atômicas finais de todos os átomos. Os valores refinados finais para os parâmetros da cela unitária, após o refinamento de Rietveld foram: $a = 14,5118(3)$ Å, $b = 12,1374(2)$ Å, $c = 7,5498(1)$ Å, $\beta = 91,113(1)^\circ$, $V = 1329,53(4)$ Å³, $Z = 4$, $Z' = 1$ e $\rho_{\text{calc}} = 1,44042(4)$ g cm⁻³. O indicador de qualidade do ajuste bem como os valores dos fatores R são: $\chi^2 = 1,274$, $R_{\text{Bragg}} = 1,697\%$, $R_{\text{wp}} = 4,842\%$, $R_{\text{exp}} = 3,802\%$. Na Figura 147 é apresentado o gráfico de Rietveld¹³⁹.

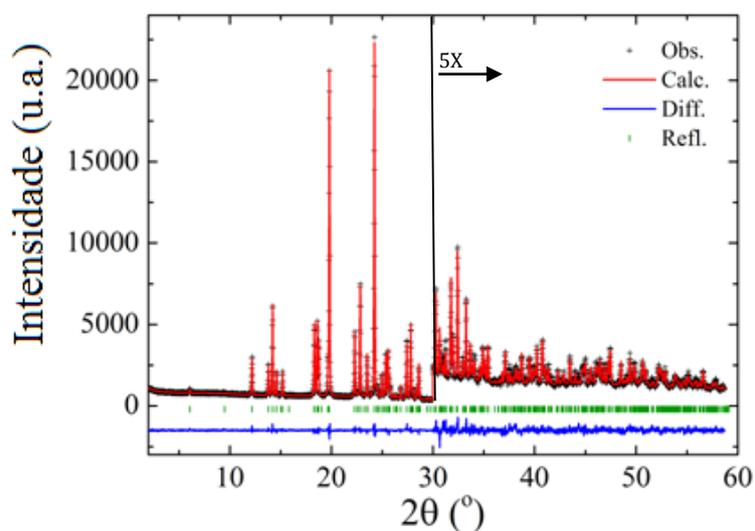


FIGURA 147: GRÁFICO DE RIETVELD DO LASSBIO-1289. AS CRUZES PRETAS REPRESENTAM OS DADOS OBSERVADOS, A LINHA VERMELHA REPRESENTA O PADRÃO CALCULADO, A LINHA AZUL MOSTRA A DIFERENÇA ENTRE OS PADRÕES OBSERVADOS E CALCULADOS E AS BARRAS VERTICAIS VERDES INDICAM AS POSIÇÕES PERMITIDAS DOS PICOS CONSIDERANDO OS PARÂMETROS DA CÉLULA UNITÁRIA E O GRUPO ESPACIAL. A REGIÃO A PARTIR DE 30° FOI AMPLIADA POR UM FATOR DE 5X PARA MELHOR VISUALIZAÇÃO DOS PICOS DE BRAGG.

4.7.3. DESCRIÇÃO DA ESTRUTURA

Os dados do cristal, bem como detalhes da determinação da estrutura, são apresentados na Tabela 60. Parâmetros estruturais atômicos obtidos após o refinamento de Rietveld estão apresentados na Tabela 61. Distâncias e ângulos de ligação são mostrados na Tabela 62 e na

Tabela 63, respectivamente. A estrutura cristalina do composto LASSBio-1289 consiste em quatro unidades por cela unitária ($Z = 4$), acomodando uma molécula na unidade assimétrica ($Z' = 1$), e é apresentada na Figura 148¹³⁹.

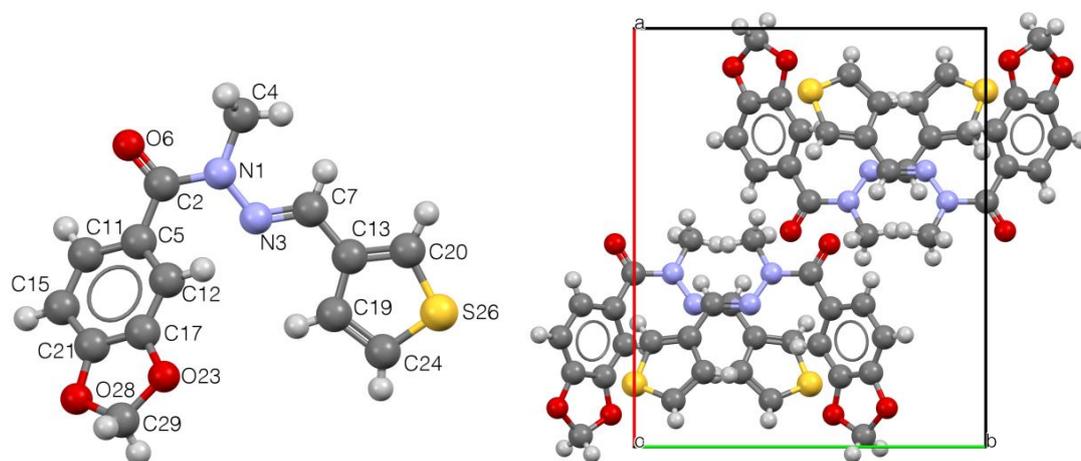
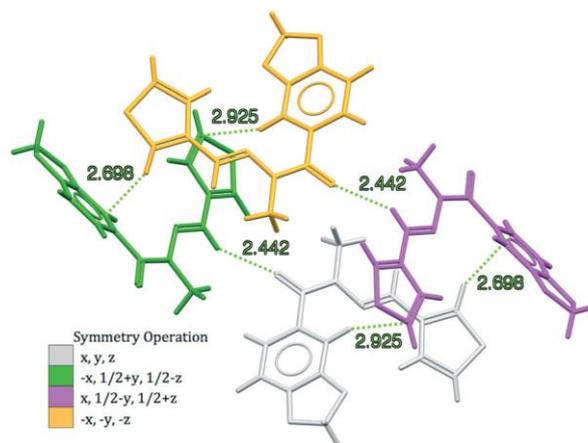
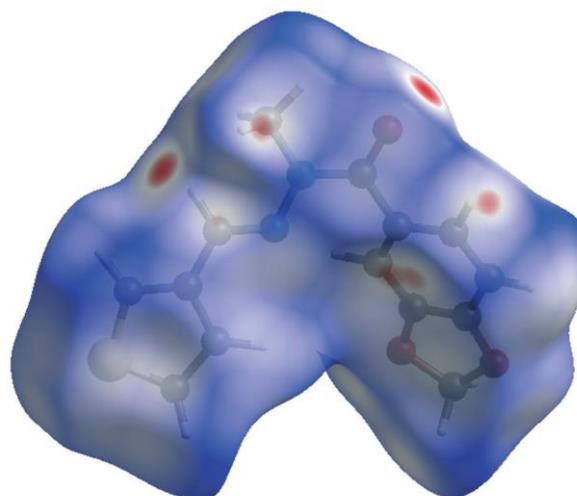


FIGURA 148: ESTRUTURA CRISTALINA DO COMPOSTO LASSBIO-1289, INDICANDO TODOS OS ÁTOMOS NÃO HIDROGENOIDES COMO ESFERAS. AS ESFERAS CINZAS REPRESENTAM OS ÁTOMOS DE HIDROGÊNIO (NÃO MARCADOS). ABAIXO ESTÁ PRESENTE A CELA UNITÁRIA DO LASSBIO-1289, AO LONGO DO EIXO C, COM $Z = 4$.

O efeito de metilação levou à perda de um doador na ligação de hidrogênio. Assim, nenhuma ligação de hidrogênio foi observada. Além disso, foram observadas algumas interações possíveis como as dipolo-dipolo (contatos curto C–H...O). Essas interações envolvem a função amida e o hidrogênio da imina do composto da NAH (com distância de 2,454 Å). Foram observadas, também, algumas possíveis interações não covalentes entre os anéis aromáticos, onde a geometria tridimensional predominante corresponde à forma-T (do inglês, *T-shaped* ou *edge-to-face*) entre o hidrogênio do anel tiofenilo e o anel 1,3-benzodioxola (2,746 Å) e entre o hidrogênio presente na posição 2 do anel 1,3-benzodioxola e o anel tiofenilo (2,946 Å). Estas interações não polares parecem contribuir para a organização da molécula na cela unitária, especialmente devido à ausência de interações fortes, como apresentado na Figura 149¹³⁹.



(a)



(b)

FIGURA 149: REPRESENTAÇÃO DA CELA UNITÁRIA DO LASSBIO-1289 EXIBINDO ALGUMAS INTERAÇÕES NÃO COVALENTES QUE PARECEM CONTRIBUIR PARA A ORGANIZAÇÃO DO ARRANJO ESPACIAL. DISTÂNCIAS MEDIDAS (Å) SÃO DESTACADAS EM LINHAS VERDES-PONTILHADAS.

TABELA 60. DETALHES DO REFINAMENTO DE RIETVELD DA ESTRUTURA CRISTALINA DO LASSBIO-1289

Fórmula química	C ₁₄ H ₁₂ N ₂ O ₃ S
Peso molecular (g mol ⁻¹)	
Sistema Cristalino	Monoclínico
Grupo espacial	<i>P</i> 2 ₁ / <i>c</i> (No. 14)
<i>a</i> , <i>b</i> , <i>c</i> (Å)	14,5118(3), 12,1374(2), 7,5498(1)
β (°)	91,113(1)
Volume (Å ³)	1329,53(4)
<i>Z</i> , <i>Z'</i>	4, 1
ρ_{calc} (g cm ⁻³)	1,44039(5)
T (K)	298
<i>Coleta de dados</i>	
Difratômetro	STADI P
Monocromador	Ge(111)
Comprimento de onda (Å)	1,54056
2 θ faixa (°)	2-60
Passo angular (°)	1,05
Tempo por passo (s)	60
<i>Refinamento</i>	
Número de pontos coletados	3780
Número de reflexões contribuintes	368
Número de restrições	53
Número de parâmetros refinados	101
<i>R</i> _{exp} (%)	3,802
<i>R</i> _{wp} (%)	4,842
<i>R</i> _{Bragg} (%)	1,697
χ^2	1,274

TABELA 61. COORDENADAS FRACIONÁRIAS E PARÂMETROS DE DESLOCAMENTO ISOTRÓPICO EQUIVALENTE ($U_{\text{ISO}} = B_{\text{ISO}}/8I^2$) DE TODOS OS ÁTOMOS DA ESTRUTURA CRISTALINA DO LASSBIO-1289

Átomo	x/a	y/b	z/c	B _{iso} (Å ²)
N(1)	0,4142(10)	0,3906(13)	0,2439(18)	3,85(13)
C(2)	0,4135(12)	0,5026(18)	0,206(2)	3,85(13)
N(3)	0,3405(9)	0,3285(11)	0,1848(15)	3,85(13)
C(4)	0,4957(10)	0,3394(10)	0,3329(15)	3,85(13)
C(5)	0,3303(16)	0,5582(18)	0,130(3)	3,85(13)
O(6)	0,4843(7)	0,5557(7)	0,2247(13)	3,85(13)
C(7)	0,3405(13)	0,2234(14)	0,2119(17)	3,85(13)
C(11)	0,3390(11)	0,6523(18)	0,028(2)	3,85(13)
C(12)	0,2437(16)	0,5268(15)	0,1869(19)	3,85(13)
C(13)	0,2607(16)	0,1572(14)	0,161(2)	3,85(13)
C(15)	0,2617(17)	0,7114(12)	-0,0289(17)	3,85(13)

C(17)	0,1679(14)	0,586(2)	0,129(3)	3,85(13)
C(19)	0,1784(13)	0,1978(13)	0,076(2)	3,85(13)
C(20)	0,2507(10)	0,0493(14)	0,2083(15)	3,85(13)
C(21)	0,1768(15)	0,6730(19)	0,019(3)	3,85(13)
O(23)	0,0768(10)	0,5662(9)	0,1626(11)	3,85(13)
C(24)	0,1110(12)	0,1124(14)	0,0397(15)	3,85(13)
S(26)	0,1496(4)	0,0015(4)	0,1368(6)	3,85(13)
O(28)	0,0925(10)	0,7188(8)	0,0200(12)	3,85(13)
C(29)	0,0257(11)	0,6524(15)	0,0733(18)	3,85(13)
H(8)	0,4736(10)	0,3134(10)	0,4337(15)	4,62(16)
H(9)	0,5383(10)	0,3992(10)	0,3495(15)	4,62(16)
H(10)	0,5159(10)	0,2847(10)	0,2494(15)	4,62(16)
H(14)	0,3900(13)	0,1909(14)	0,2801(17)	4,62(16)
H(16)	0,3982(11)	0,6740(18)	-0,015(2)	4,62(16)
H(18)	0,2385(16)	0,4668(15)	0,2688(19)	4,62(16)
H(22)	0,2671(17)	0,7690(12)	0,1153(17)	4,62(16)
H(25)	0,1712(13)	0,2725(13)	0,039(2)	4,62(16)
H(27)	0,2921(10)	0,0127(14)	0,2911(15)	4,62(16)
H(30)	0,0608(12)	0,1184(14)	0,0438(15)	4,62(16)
H(32)	0,0037(11)	0,6987(15)	0,1584(18)	4,62(16)
H(31)	0,0185(11)	0,6203(15)	0,0067(18)	4,62(16)

TABELA 62. ALGUNS COMPRIMENTOS DE LIGAÇÕES SELECIONADOS PARA A ESTRUTURA DO LASSBIO-1289

Ligações	Comprimentos (Å)
N(1) – C(2)	1,39(3)
N(1) – N(3)	1,38(2)
N(1) – C(4)	1,49(2)
C(2) – C(5)	1,49(3)

C(2) – O(6)	1,22(2)
N(3) – C(7)	1,29(2)
C(5) – C(11)	1,38(3)
C(5) – C(12)	1,39(3)
C(7) – C(13)	1,46(3)
C(11) – C(15)	1,39(3)
C(12) – C(17)	1,38(3)
C(13) – C(19)	1,43(3)
C(13) – C(20)	1,37(2)
C(15) – C(21)	1,37(3)
C(17) – C(21)	1,35(3)
C(17) – O(23)	1,37(3)
C(19) – C(24)	1,45(2)
C(20) – S(26)	1,66(2)
C(21) – O(28)	1,37(3)
O(23) – C(29)	1,44(2)
C(24) – S(26)	1,63(2)
O(28) – C(29)	1,45(2)

TABELA 63. ALGUNS ÂNGULOS DE LIGAÇÕES SELECIONADOS PARA A ESTRUTURA DO LASSBIO-1289

Ligações	Ângulos (°)
C(2) – N(1) – N(3)	118(1)
C(2) – N(1) – C(4)	120(1)
N(3) – N(1) – C(4)	122(1)
N1 – C(2) – C(5)	122(2)
N1 – C(2) – O(6)	119(2)
C5 – C(2) – O(6)	119(2)
N1 – N(3) – C(7)	119(1)

C2 – C(5) – C(11)	120(2)
C2 – C(5) – C(12)	119(2)
C11 – C(5) – C(12)	119(2)
N3 – C(7) – C(13)	120(1)
C5 – C11 – C(15)	121(2)
C5 – C(12) – C(17)	119(2)
C7 – C(13) – C(19)	126(2)
C7 – C(13) – C(20)	123(2)
C19 – C(13) – C(20)	111(2)
C11 – C(15) – C(21)	118(2)
C12 – C(17) – C(21)	121(2)
C12 – C(17) – O(23)	128(2)
C21 – C(17) – O(23)	111(2)
C13 – C(19) – C(24)	113(1)
C13 – C(20) – S(26)	110(1)
C15 – C(21) – C(17)	122(2)
C15 – C(21) – O(28)	127(2)
C17 – C(21) – O(28)	111(2)
C17 – O(23) – C(29)	106(1)
C19 – C(24) – S(26)	106(1)
C20 – S(26) – C(24)	98.7(8)
C21 – O(28) – C(29)	106(1)
O23 – C(29) – O(28)	107(1)

Na Figura 150 é apresentado o espectro de FTIR do LASSBio-1289. O dioxalano exibe dois picos de média intensidade em 939 cm^{-1} e 1117 cm^{-1} e um outro, de baixa intensidade, em 2888 cm^{-1} . As bandas de absorção C=O das amidas são encontradas em números de onda maiores do que os observados para a carbonila devido ao efeito de ressonância. A amida primária apresenta uma banda intensa em 1650 cm^{-1} . A absorção do grupo C=O ocorre entre

1680 cm^{-1} e 1630 cm^{-1} . As bandas mais importantes, proporcionando assim mais informações a respeito de compostos aromáticos, são encontradas nas regiões de baixas frequências, onde se pode observar a vibração em 751 cm^{-1} . Esta banda intensa surge devido à deformação angular das ligações C-H fora do plano do anel. A deformação angular das ligações no plano aparece em 1045 cm^{-1} . As vibrações observadas em 1600-1585 cm^{-1} e 1500-1400 cm^{-1} , envolvem a deformação axial das ligações C-C do anel. A vibração em 1250 cm^{-1} é atribuída à ligação não conjugada C-N (amina alifática primária). Esta banda possui baixa-média intensidade, proveniente da deformação axial do grupo C-N e é acoplada com a deformação axial das ligações adjacentes da molécula.

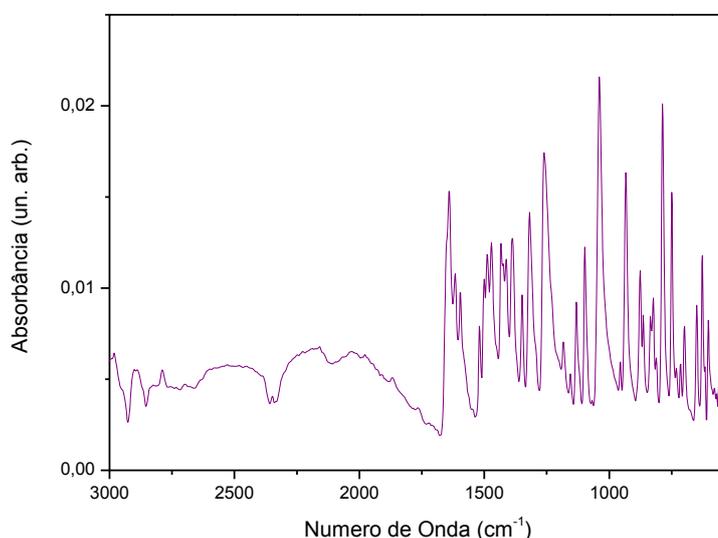


FIGURA 150: ESPECTRO DE FTIR DO LASSBIO-1289, OBTIDO COM RESOLUÇÃO DE 4 cm^{-1} NA REGIÃO DE 3000-650 cm^{-1} , ONDE AS PRINCIPAIS BANDAS DE ABSORÇÃO QUE CARACTERIZAM O FÁRMACO ESTÃO DESTACADAS.

Na Figura 151 é apresentada a imagem de alguns cristais de LASSBio-1289, exibindo formato de agulha e superfícies relativamente planas. Em geral, os cristais apresentam espessura acima de 10 μm e são alongados. A predição da morfologia (Figura 152) foi realizada utilizando o algoritmo BFDH⁹⁷⁻⁹⁹ que utiliza as informações cristalográficas da molécula. Comparando as imagens obtidas no MEV com a predição da estrutura pode-se concluir que houve um ajuste aceitável entre ambos.

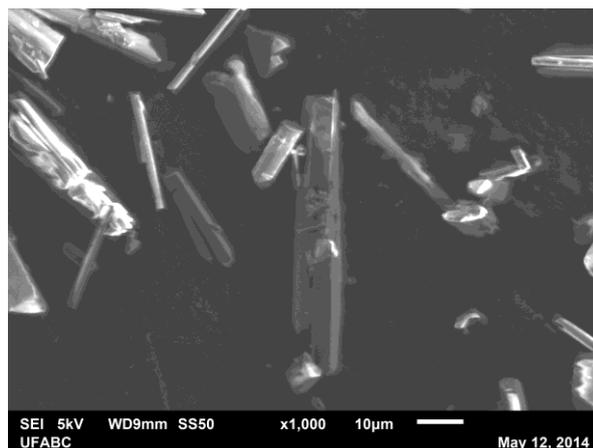


FIGURA 151: IMAGEM DA MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA DOS CRISTAIS DE LASSBIO-1289. OS CRISTAIS EXIBEM FORMATO DE AGULHA E SUPERFÍCIES RELATIVAMENTE PLANAS.

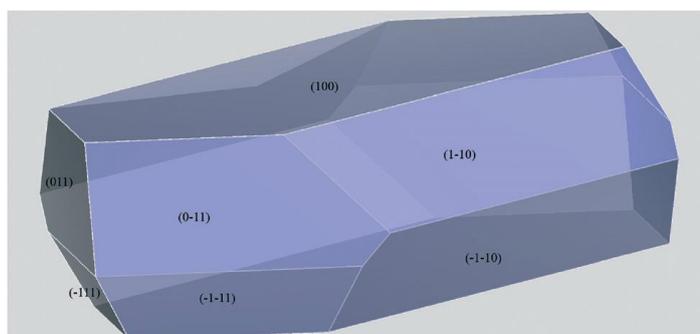


FIGURA 152: PREDIÇÃO DA MORFOLOGIA DO CRISTAL PARA O LASSBIO-1289. OS ÍNDICES DE MILLER SÃO REPORTADOS NAS FACES;

5. CONCLUSÕES

A solubilidade está diretamente relacionada com o fenômeno de polimorfismo, uma vez que a forma cristalina utilizada para a fabricação do medicamento pode influenciar drasticamente na biodisponibilidade e a eficácia do fármaco. Desta forma pode ser notada a importância em realizar a caracterização em estado sólido dos princípios ativos.

Nas amostras estudadas proveniente de duas diferentes farmácias de manipulação foram encontrados o produto de degradação do Captopril: o dissulfeto de Captopril, após 2 anos guardados. Notou-se que a quantidade presente do produto de degradação aumentou proporcionalmente com o passar do tempo. Desta forma, para as duas amostras, foram realizadas medidas de difração de raios X por policristais nos anos de 2012, 2013, 2014 e 2015. Em 2012 as amostras estavam intactas e não havia presença do produto de degradação. Na

amostra da farmácia F, somente no ano de 2014 a amostra começou a sofrer degradação e após a quantificação de fases pelo método de Rietveld foi constatado que 3,50(21)% refere-se ao dissulfeto de Captopril. Para a amostra da farmácia S, foi encontrado nas medidas realizadas em 2013 um teor de 3,3(1,8)% de dissulfeto de Captopril de 6,2(1,8)% em 2014. Segundo a Anvisa, o limite máximo permitido de dissulfeto de Captopril presente em IFAs é de 3%, desta forma ambos os princípios ativos seriam reprovados em testes de qualidade.

Para as amostras de Maleato de Enalapril provenientes das farmácias de manipulação não houve mudanças na estrutura cristalina de ambas amostras podendo ser comprovada por meio da difração de raios X por policristais. Foi realizado um estudo para induzir a fotodegradação do princípio ativo incidindo luz por diferentes intervalos de tempos. Após realizado a caracterização estrutural por diferentes técnicas destas amostras foi constatado que não houve modificações estruturais e o IFA permaneceu intacto.

O difratograma da amostra de Atenolol oriunda da farmácia S apresentou alguns picos que não pertenciam ao IFA, após a utilização do software MATCH![®] pode ser constatado havia indícios da presença de Hidroclorotiazida como contaminação do Atenolol. Desta forma, procedeu-se com o refinamento de Rietveld utilizando como arquivos de entrada as fichas cristalográficas tanto do Atenolol como da Hidroclorotiazida, e realizando a quantificação de fases pelo TOPAS Academic V.4[®] foi possível determinar ~6,30(60)% de Hidroclorotiazida presente na amostra de Atenolol.

Os princípios ativos Cloridrato de Propranolol e Hidroclorotiazida de ambas farmácias de manipulação não apresentaram presenças de polimorfos nas amostras estudadas e nem impurezas.

As amostras de Losartana Potássica apresentaram diferenças significativas nas três amostras estudadas. Na amostra de Losartana Potássica proveniente da farmácia F foi encontrado ~71,06(53)% da forma hidratada e ~28,94(53)% da forma de sal. Já para a amostra proveniente da farmácia S, a fase que se apresenta majoritariamente é a forma hidratada, com ~99,05(32)% referente a parte hidratada e ~0,95(32)% referente a forma de sal. Tivemos como hipótese, a água presente na amostra S estar superficialmente sendo facilmente retirada após o processo de liofilização. Desta forma, após a realização do processo de liofilização foi realizado uma medida de DRXP e a quantificação de fases pelo método de Rietveld. Este procedimento retirou boa parte da água presente na amostra, porém o procedimento não foi eficiente para deixar somente a fase anidra. Assim, após a quantificação de fases foi encontrado ~3,6(2,0)% da fase hidratada e ~96,4(2,0)% da fase anidra. Uma amostra do IFA da Losartana Potássica foi doada

por uma indústria farmacêutica, e para esta amostra foi encontrado majoritariamente a fase anidra ~97,33(28)% e uma pequena fração da fase hidratada 2,67(28)%.

Com o objetivo de tentar encontrar novas formas polimórficas para a Losartana Potássica, foi realizada recristalizações do IFA com diferentes solventes. Os solventes empregados nas recristalizações foram: álcool isopropílico, acetato de etila e uma mistura 1:1 de álcool isopropílico e água. O princípio ativo utilizado para a realização deste experimento foram os adquiridos da farmácia F. Os cristais obtidos após a recristalização lenta do solvente foram analisados por DRXP e realizado o refinamento de Rietveld. Para todas as amostras somente a fase monoclinica estava presente. Comparando a amostra da farmácia F antes e depois da recristalização foi possível verificar que ao evaporar o solvente no fármaco solubilizado a água presente na amostra também é eliminada.

Para todos os medicamentos adquiridos por meio de drogarias demonstraram, por meio da técnica de difração de Raios X por policristais aliado ao método de Rietveld, apresentarem a forma cristalina farmacologicamente ativa.

A determinação da estrutura cristalina do candidato a novo fármaco anti-hipertensivo LASSBio-1289 foi realizada tendo como grupo espacial $P2_1/c$ e o sistema cristalino monoclinico.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. J. M. A. Hernández; E. A. Valdés; M. Paz; Torres, J. H., Experimental and Theoretical Study of the Conformational Analysis of Hydrochlorotiazide. *Journal of Molecular Structure* **2006**, 786, 1-8.
2. Bernstein, J., *Polymorphism in Molecular Crystals*. 1° ed.; Oxford University Press: New York, 2002.
3. (FDA), F. a. D. A. Guidance for Industry ANDAs: Pharmaceutical Solid Polymorphism. Chemistry, Manufacturing, and Controls Information. <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/Guidances/UCM072866.pdf> (25/05),
4. D. P. Elder; R. Holm; Diego, H. L., Use of Pharmaceutical Salts and Cocrystals to Address the Issue of Poor Solubility. *International Journal of Pharmaceutics* **2012**, 453, (1), 88-100.
5. R. K. Khankari; D. J. W. Grant, Pharmaceutical Hydrates. *Thermochimica Acta* **1995**, 248, 61-79.
6. P. Vishweshwar; J. A. McMahon; J. A. Bis; Zaworotko, M. J., Pharmaceutical Co-Crystal. *Journal of Pharmaceutical Sciences* **2006**, 95, (3), 499-516.
7. (WHO), W. H. O. A global brief on hypertension. Silent killer, global public health crisis. http://www.who.int/cardiovascular_diseases/publications/global_brief_hypertension/en/ (25/05),
8. J. Halebian; McCrone, W., Pharmaceutical Applications of Polymorphism. *Journal of Pharmaceutical Sciences* **1969**, 58, (911-929).
9. J. Aaltonen; K. C. Gordon; C. J. Strachan; Rades, T., Perspectives in the Use of Spectroscopy to Characterise Pharmaceutical Solids. *International Journal of Pharmaceutics* **2008**, 364, (2), 159-169.
10. M. R. M. P. de Aguiar; A. L. Germal; R. A. S. S. Gil, Caracterização de Polimorfismo em Fármacos por Ressonância Magnética Nuclear no Estado Sólido. *Química Nova* **1999**, 22, (4), 553-564.
11. Oliveira, M. A. d.; Yoshida, M. I.; Gomes, E. C. d. L., Análise Térmica Aplicada a Fármacos e Formulações Farmacêuticas na Indústria Farmacêutica. *Química Nova* **2011**, 34, (7), 1224-1230.
12. A. L. Gillon; N. Feeder; R. J. Davey; Storey, R., Hydration in Molecular Crystals - A Cambridge Structural Database Analysis. *Crystal Growth & Design* **2003**, 3, (5), 663-673.
13. B. C. Hancock; Zografi, G., Characteristics and Significance of the Amorphous State in Pharmaceutical System. *Journal of Pharmaceutical Sciences* **1997**, 86, (1), 1-12.
14. R. J. Davey; N. Blagden; G. D. Potts; Docherty, R., Polymorphism in Molecular Crystals: Stabilization of a Metastable Form by Conformational Mimicry. *Journal of the American Chemical Society* **1997**, 119, (7), 1767-1772.
15. N. Blagden; R. J. Davey; R. Rowe; Roberts, R., Disappearing Polymorphs and the Role of Reaction by-Products: the case of sulphathiazole. *International Journal of Pharmaceutics* **1998**, 172, 169-177.
16. Yu, L., Amorphous Pharmaceutical Solids: Preparation, Characterization and Stabilization. *Advanced Drug Delivery Reviews* **2001**, 48, (1), 27-42.

17. A. M. Kaushal; P. Gupta; Bansal, A. K., Amorphous Drug Delivery Systems: Molecular Aspects, Design and Performance. *Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems* **2004**, 21, (3), 133-193.
18. B. C. Hancock; Parks, M., What is the True Solubility Advantage for Amorphous Pharmaceuticals? *Pharmaceutical Research* **2000**, 17, (4), 397-404.
19. G. L. Amidon; H. Lennernas; V. P. Shah; Crison, J. R., A Theoretical Basis for a Biopharmaceutic Drug Classification: The Correlation of *in Vitro* Drug Product Dissolution and *in Vivo* Bioavailability. *Pharmaceutical Research* **1995**, 12, (3), 413-420.
20. P. Kahela; R. Aaltonen; E. Lewing; M. Antilla; Kristoffersson, E., Pharmacokinetics and Dissolution of Two Crystalline Forms of Carbamazepine. *International Journal of Pharmaceutics* **1983**, 14, 103-112.
21. M. C. Meyer; A. B. Straughn; E. J. Jarvi; G. C. Wood; F. R. Pelsor; Shah, V. P., The Bioinequivalence of Carbamazepine Tablets with a History of Clinical Failures. *Pharmaceutical Research* **1992**, 9, (12), 1612-1616.
22. S. J. Chemburkar; J. Bauer; K. Deming; H. Spiwek; K. Patel; J. Morris; R. Henry; S. Spanton; W. Dziki; W. Porter; J. Quick; P. Bauer; J. Donaubaue; B. A. Narayanan; M. Soldani; D. Riley; McFarland, K., Dealing with the Impact of Ritonavir Polymorphs on the Late Stages of Bulk Drug Process Development. *Organic Process Research & Development* **2000**, 4, (5), 413-417.
23. P. Di Martino; A-M. G. Hermann; P. Conflant; M. Drache; Guyot, J.-C., A New Pure Paracetamol for Direct Compression: The Orthorhombic Form. *International Journal of Pharmaceutics* **1996**, 128, (1), 1-8.
24. G. Nichols; Frampton, C. S., Physicochemical Characterization of the Orthorhombic Polymorph of Paracetamol Crystallized from Solution. *Journal of Pharmaceutical Sciences* **1998**, 87, (6), 684-693.
25. M. Bartolomei; P. Bertocchi; M. Cotta Ramusino; Signoretti, E. C., Thermal Studies on the Polymorphic Modifications of (R,S) Propranolol Hydrochloride. *Thermochimica Acta* **1998**, 321, 43-52.
26. Thomas, G., Química Medicinal: Uma Introdução. In Koogan, G., Ed. Rio de Janeiro, 2003.
27. S. R. Chemburkar; J. Bauer; K. Deming; H. Spiwek; K. Patel; J. Morris; R. Henry; S. Spanton; W. Dziki; W. Porter; J. Quick; P. Bauer; J. Donaubaue; B. A. Narayanan; M. Soldani; D. Riley; McFarland, K., Dealing with the Impact of Ritonavir Polymorphs on the Late Stages of Bulk Drug Process Development. *Organic Process Research & Development* **2000**, 4, (5), 413-417.
28. A. S. Portela; A. A. F. Leal; R. P. B. Werner; M. O. S. Simões; Medeiros, A. C. D., Políticas Públicas de Medicamentos: Trajetórias e Desafios. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada* **2010**, 31, (1), 9-14.
29. C. Ayala; M. R. Brunetto; F. Ovalles; Galignani, M., Determination of Atenolol in Pharmaceutical Dosages by Fourier Transform Infrared Spectrometry (FTIR). *Revista Técnica de la Facultad de Ingeniería Universidad del Zulia* **2009**, 32, (3), 238-248.
30. R. A. E. De Castro; J. Canotilho; R. M. Barbosa; M. R. Silva; A. M. Beja; J. A. Paixão; Redinha, J. S., Conformational Isomorphism of Organic Crystals: Racemic and Homochiral Atenolol. *Crystal Growth & Design* **2007**, 7, (3), 496-500.
31. A. A. Pearson; T. E. Gaffney; T. Walle; Privitera, P. J., A stereoselective central hypotensive action of atenolol. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* **1989**, 250, 103-114.

32. Lima, V. L. E., Os fármacos e a quiralidade: uma breve abordagem. *Química Nova* **1997**, 20, 657-663.
33. S. T. B. Salvi; S. G. Antonio; Paiva-Santos, C. O., Atenolol characterization in solid formulations available in Brazilian market. *Powder Diffraction* **2013**, 28, (S2), 448.
34. C. R. Craig; Stitzel, R. E., *Farmacologia Moderna com Aplicações Clínicas*. 6 ed.; Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, 2011.
35. A. Marini; V. Berbenni; M. Pegoretti; G. Bruni; P. Cofrancesco; C. Sinistri; Villa, M., Drug-Excipient Compatibility Studies by Physico-Chemical Techniques: The Case of Atenolol. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry* **2003**, 73, 547-561.
36. (WADA), W. A.-d. A., The World Anti-doping Code. The 2014 Prohibited List-International Standard. *Lausanne, Switzerland, 2013* **2014**.
37. R. Ficarra; P. Ficarra; M. R. Di Bella; D. Raneri; S. Tommasini; M. L. Calabrò; M. C. Gamberini; Rustichelli, C., Study of β -blockers/ β -cyclodextrins Inclusion Complex by NMR, DSC, X-ray and SEM Investigation. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* **2000**, 23, 33-40.
38. M. Moneghini; A. Carcano; G. Zingone; Perissutti, B., Studies in dissolution enhancement of atenolol. Part I. *International Journal of Pharmaceutics* **1998**, 175, 177-183.
39. Shanks, R. G., The Peripheral Vascular Effects of Propranolol and Related Compounds. *British Journal of Pharmacology and Chemotherapy* **1967**, 29, (2), 204-217.
40. A. A. Bredikhin; Z. A. Bredikhina; A. T. Gubaidullin; D. B. Krivolapov; Litvinov, I. A., Rational Approach to a Conglomerate-Forming Propranolol Derivative: Pointed Modifications of the Crystal Structure. *Mendeleev Communications* **2004**, 14, 268-270.
41. A. A. Bredikhin; D. V. Savel; Z. A. Bredikhina; A. T. Gubaidullin; Litvinov, I. A., Crystallization of Chiral Compounds. Propranolol: Free Base and Hydrochloride. *Russian Chemical Bulletin, International Edition* **2003**, 52, (4), 853-861.
42. Lima, V. L. E., Os Fármacos e a Quiralidade: Uma breve Abordagem. *Química Nova* **2007**, 20, (6), 657-663.
43. P. Y. Barrans; Cotrait, M., Conformations Cristallines d'Adrénolytiques β -bloquants: Propranolol et Álprenolol. *Acta Crystallographica Section B: Structural Crystallography and Crystal Chemistry* **1973**, B29, 1264.
44. P. M. Gadret; M. Goursolle; J. M. Leger; Colleter, J. C., Structure Cristalline du Chlorhydrate de Propranolol Dextrogyre. *Acta Crystallographica Section B: Structural Crystallography and Crystal Chemistry* **1975**, B31, 1938.
45. H. L. Ammon; D. B. Howe; W. D. Erhardt; A. Balsamo; B. Macchia; F. Macchia; Keefe, W. E., The crystal structures of dichloroisoproterenol and propranolol hydrochloride. *Acta Crystallographica Section B: Structural Crystallography and Crystal Chemistry* **1977**, B33, 21-29
46. H.P. Hang; M.M. Dale; J. M. Ritter; R.J. Flower, *Farmacologia*. Elsevier: Rio de Janeiro, 2007.
47. S. Cavalu; S. C. Pinzaru; Chis, V., Captopril Adsorption to Silver Nanostructures. *Romanian Journal of Biophysics* **2007**, 17, (3), 195-203.

48. H. K. Stulzer; P. O. Rodrigues; T. M. Cardoso; J. S. R. Matos; Silva, M. A. S., Compatibility Studies Between Captopril and Pharmaceutical Excipients Used in Tablets Formulations. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry* **2008**, 91, (1), 323-328.
49. S. V. S. Mariappan; Rabenstein, D. L., Kinetics and Thermodynamics of cis-trans Isomerization of Captopril and Related Compounds. *The Journal of Organic Chemistry* **1992**, 57, (24), 6675-6678.
50. M. Fujinaga; James, M. N. G., SQ 14,225:1-(D-3-mercapto-2-methylpropionyl)-L-proline. *Acta Crystallographica Section B: Structural Crystallography and Crystal Chemistry* **1980**, B36, (12), 3196-3199.
51. J. Bojarska; W. Maniukiewicz; A. Fruzinski; L. Sieron; Remko, M., Captopril and its dimer captopril disulfide: comparative structural and conformational studies. *Acta Crystallographica Section C: Structural Chemistry* **2015**, C71, 199-203.
52. P. L. Dupont; Dideberg, O., Structure Cristalline de l'Hydrochlorothiazide, C₇H₈CIN₃O₄S₂. *Acta Crystallographica Section B* **1972**, 28, 2340-2347.
53. A. Florence; A. Johnston; P. Fernandes; K. Shankland; H. N. E. Stevens; S. Osmundsen; Mullen, A. B., Powder Study of Hydrochlorothiazide Form II. *Acta Crystallographica Section E* **2005**, 61, 2798-2800.
54. A. Saini; R. Chadha; A. Gupta; P. Singh; S. Bhandari; S. Khullar; S. Mandal; Jain, D. S., New conformational polymorph of hydrochlorothiazide with improved solubility. *Pharmaceutical Development and Technology* **2015**, 20, 1-8.
55. M. A. S. Pires; R. A. S. dos Santos; Sinisterra, R. D., Pharmaceutical composition of Hydrochlorothiazide: β -cyclodextrin: preparation by three different methods, physico-chemical characterization and *In Vivo* diuretic activity evaluation *Molecules* **2011**, 16, 4482-4499.
56. Précigoux, G.; Geofre, S.; Leroy, F., *N*-(1-Ethoxycarbonyl-3-phenylpropyl)-L-alanyl-L-prolinium-Hydrogen Maleate (1/1), Enalapril (MK-421). *Acta Crystallographica Section C: Structural Chemistry* **1986**, C42, 1022-1024.
57. M. L. Oliva; L. L. Sombra; R. A. Olsina; Masi, A. N., A New Florescent Assay for Enalapril Maleate. *Journal Of Fluorescence* **2005**, 15, (5), 723-728.
58. M. M. Al-Omari; M. K. Abdelah; A. A. Badwan; Jaber, A. M., Effect of the drug-matrix on the stability of enalapril maleate in tablet formulations. *Journal of Pharmaceutical & Biomedical Analysis* **2001**, 25, 895-902.
59. M. De Diego; G. Godoy; S. Mennickent; Godoy, R., Chemical stability of enalapril maleate drug substance and tablets by a stability-indicating liquido chromatographic method. *Química Nova* **2011**, 34, (3), 450-454.
60. Y. In; M. Shibata; M. Doi; T. Ishida; M. Inoue; Y. Sasaki, S. M., Conformational similarities of angiotensin-converting enzyme inhibitors: X-ray crystal structures. *Journal of Chemical Society, Chemical Communications* **1986**, (6), 473-474.
61. Y. H. Kiang; A. Huq; P. W. Stephens; Xu, W., Structure determination of Enalapril Maleate Form II from high-resolution X-ray powder diffraction data. *Journal of Pharmaceutical Sciences* **2003**, 92, (9), 1844-1853.
62. D. Fernandez; D. Vega; J. A. Ellena; Echeverria, G., Losartan Potassium, a Non-Peptide Agent for the Treatment of Arterial Hypertension. *Acta Crystallographica Section C* **2002**, 58, 418-420.

63. K. Raghavan; A. Dwivedi; G. C. Campbell Jr.; E. Johnston; D. Levorse; J. MacCauley; Hussain, M., A Spectroscopic Investigation of Losartan Polymorphs. *Pharmaceutical Research* **1993**, 10, (6), 900-904.
64. L. S. Wu; C. Gerard; Hussain, M. A., Thermal Analysis and Solution Calorimetry Studies on Losartan Polymorphs. *Pharmaceutical Research* **1993**, 10, (12).
65. J. J. V. McMurray; J. Österfren; K. Swedberg; C. B. Granger; P. Held; E. L. Michelson; B. Olofsson; S. Yusuf; D. Phil; Pfeffer, M. A., Effects of candesartan in patients with chronic heart failure and reduced left-ventricular systolic function taking angiotensin-converting-enzyme inhibitors: the CHARM-Added trial. *The Lancet* **2003**, 362, (9386), 767-771.
66. Okuno, E., Efeitos biológicos das radiações ionizantes. Acidente radiológico de Goiânia. *Estudos Avançados* **2013**, 27, (77), 185-199.
67. Bragg, W. H., The Reflection of X-rays by Crystals. *Proceedings of the Royal Society of London* **1913**, 89, (610), 246-248.
68. Bragg, W. H., The nature of γ and X-ray. *Nature* **1908**, 78, 270-271.
69. Bragg, W. H., The consequence of the corpuscular hypothesis of the γ and X-rays, and the range of β rays. *Philosophical Magazines. Series 6* **1910**, 20, (117), 385-416.
70. W. Friedrich; P. Knipping; Laue, M. v., Interferenz-Erscheinungen bei Röntgenstrahler. *Sitzungsberichte der Mathematisch-Physikalischen Classe der Königlich-Bayerischen Akademie der Wissenschaften zu München* **1912**, 303.
71. Bragg, W. L., The structure of some crystals as indicated by their diffraction of X-rays. *Proceedings A. The Royal Society* **1913**, 610, (A89), 248-277.
72. Waseda, Y.; Matsubara, E.; Shinoda, K., *X-Ray Diffraction Crystallography. Introduction, Examples and Solved Problems*. Springer: New York, 2011.
73. Authier, A., *Early Days of X-ray Crystallography*. 1^o ed.; Oxford University Press: 2013; p 456.
74. Antonio, S. G. Aplicação da difração de raios X por policristais e do método de Rietveld de refinamento de estruturas cristalinas no estudo de polimorfos cristalinos de fármacos. Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho - UNESP, Araraquara, 2010.
75. Alves, W. A., *Química Supramolecular e Nanotecnologia*. Atheneu: São Paulo, 2014; Vol. 10, p 556.
76. Toby, B. H., R factors in Rietveld analysis: How good is good enough? *Powder Diffraction* **2006**, 21, (1), 67-70.
77. R. J. Hill; Howard, C. J., Quantitative phase analysis from neutron powder diffraction data using the Rietveld method. *Journal of Applied Crystallography* **1987**, 20, (6), 467-474.
78. A. L. Ibiapino; R. C. Seiceira; A. P. Junior; A. C. Trindade; Ferreira, F. F., Structural Characterization of Form I of Anhydrous Rifampicin. *CrystEngComm* **2014**, 16, 8555-8562.
79. Giron, D., Applications of thermal analysis and coupled techniques in pharmaceutical industry. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry* **2002**, 68, 335-357.
80. Khattab, F. I., Thermal analysis of pharmaceutical compounds. V. The use of differential scanning calorimetry in the analysis of certain pharmaceuticals. *Thermochimica Acta* **1983**, 61, 253-268.

81. D. P Elder; R. Holm; Diego, H. L., Use of pharmaceutical salts and cocrystals to address the issue of poor solubility. *International Journal of Pharmaceutics* **2012**, 453, (1), 88-110.
82. A. J. Smith; P. Kavuru; L. Wojtas; M. J. Zaworotko; Shytle, R. D., Cocrystals of Quercetin with improved solubility and oral bioavailability. *Molecular Pharmaceutics* **2011**, 8, 1867-1876.
83. Veiga, M. D.; Cadorniga, R.; Lozano, R., Thermal Study of Prednisolone Polymorphs. *Thermochimica Acta* **1985**, 96, 111-115.
84. Prado, V. M. d.; Seiceira, R. C.; Junior, A. P.; Filho, T. A.; Alves, W. A.; Rocha, A. R.; Ferreira, F. F., Elucidating the crystal structure of the antimalarial drug (\pm) - mefloquine hydrochloride: a tetragonal hydrated species. *Journal of Applied Crystallography* **2014**, 47, 1380-1386.
85. Lucas, E. F.; Soares, B. G.; Monteiro, E., *Caracterização de Polímeros. Determinação de Peso Molecular e Análise Térmica*. e-papers: Rio de Janeiro, 2001; p 366.
86. A. A. van Dooren; Müller, B. W., Purity determinations of drugs with differential scanning calorimetry (DSC) - a critical review. *International Journal of Pharmaceutics* **1984**, 20, 217-233.
87. ASTM E 928-03. Standard Test Method for Purity by Differential Scanning Calorimetry. In West Conshohocken, 2003.
88. S. Mathkar; S. Kumar; A. Bystol; K. Olawoore; D. Min; R. Markovich; Rustum, A., The use of differential scanning calorimetry for the purity verification of pharmaceutical reference standards. *Journal of Pharmaceutical & Biomedical Analysis* **2009**, 49, 627-631.
89. Mannheimer, W. A., *Microscopia de Materiais. Uma Introdução*. e-papers: Rio de Janeiro, 2002; p 221.
90. B. A. Dedavid; C. I. Gomes; Machado, G., Microscopia eletrônica de varredura : aplicações e preparação de amostras. Materiais poliméricos, metálicos e semicondutores In EDIPUCRS: Porto Alegre, 2007; p 60.
91. J. Bauer; S. Spanton; R. Henry; J. Quick; W. Dziki; W. Porter; Morris, J., Ritonavir: an extraordinary example of conformational polymorphism. *Pharmaceutical Research* **2001**, 18, (6), 859-866.
92. M. Gallignani; Brunetto, M. R., Infrared Detection in Flow Analysis - Developments and Trends (Review). *Talanta* **2004**, 64, 1127-1146.
93. M. Bartolomei; P. Bertocchi; M. C. Ramusino; N. Santucci; Valvo, L., Physico-chemical Characterisation of the Modifications I and II of (R,S) Propranolol Hydrochloride: Solubility and Dissolution Studies. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* **1999**, 21, 299-309.
94. L. P. De Figueiredo; Ferreira, F. F., The Rietveld method as a tool to quantify the amorphous amount of microcrystalline cellulose. *Journal of Pharmaceutical Sciences* **2014**, 103, 1394-1399.
95. *Farmacopéia Brasileira*. 4^o ed.; Atheneu: São Paulo, 2002; Vol. pt.2.
96. R. C. P. Azevedo; G. P. Ribeiro; Araújo, M. B. d., Desenvolvimento e validação do ensaio de dissolução para captopril em cápsulas magistrais por CLA. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences* **2008**, 44, (2), 261-269.
97. Bravais, A., *Études cristallographiques*. Gauthier-Villars: Paris, 1866.
98. Friedel, G., Etudes sur la loi de Bravais. *Bulletin de la Société Française de Minéralogie et de Crystallographie* **1907**, 30, 326-455.

99. J. D. H. Donnay; Harker, D., A new law of crystal morphology extending the law of Bravais. *American Mineralogist* **1937**, 22, 446-467.
100. K. A. Connors; G. L. Amidon; Stela, V. J., *Chemical Stability of Pharmaceuticals*. John Wiley & Sons: New York, 1986.
101. Tonnesen, H. H., *Photostability of drugs and drug formulations*. 2° ed.; CRC Press: Boca Raton, 2004; p 405.
102. Hibbert, M., Shedding light on stability testing, Effect of light on pharmaceuticals. *Manufacturing Chemist* **1991**, 62, 32-33.
103. S. L. Wang; S. Y. Lin; Cheng, W. T., Eudragit E accelerated the diketopiperazine formation of enalapril maleate determined by thermal FTIR microspectroscopic technique. *Pharmaceutical Research* **2004**, 21, (11), 2127-2132.
104. S. L. Wang; S. Y. Lin; Chen, T. F., Reaction kinetics of solid-state cyclization of Enalapril Maleate investigated by isothermal FT-IR microscopic system. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* **2001**, 49, (4), 402-406.
105. A. Zoppi; C. Garnero; Y. G. Linck; A. K. Chattah; G. A. Monti; Longhi, M. R., Enalapril: β -CD Complex: Stability Enhancement in Solid State. *Carbohydrate Polymers* **2011**, 86, 716-721.
106. R. L. O Rezende; M. I. R. M. Santoro; Matos, J. R., Stability and compatibility study on enalapril maleate using thermoanalytical techniques. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry* **2008**, 93, (3), 881-886.
107. S. P. Bhardwarj; Singh, S., Study of forced degradation behavior of enalapril maleate by LC and LC-MS and development of a validated stability-indicating assay method. *Journal of Pharmaceutical & Biomedical Analysis* **2008**, 46, 113-120.
108. V. Nikolic; L. Nikolic; M. Stankovic; A. Kapor; M. Popsavin; Cvetkovic, D., A Molecular Inclusion Complex of Atenolol with 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin; the Production and Characterization Thereof. *Journal of the Serbian Chemical Society*. **2007**, 72, ((8-9)), 737-746.
109. R. C. Mundargi; N. B. Shelke; V. R. Babu; P. Patel; V. Rangaswamy; Aminabhavi, T. M., Novel Thermo-Responsive Semi-Interpenetrating Network Microspheres of Gellan Gum-Poly(*N*-isopropylacrylamide) for Controlled Release of Atenolol. *Journal of Applied Polymer Science* **2010**, 116, 1832-1841.
110. B. Marciniak; M. Ogrodowczyk; B. Czajka; Hofman, M., The Influence of Radiation Sterilisation on Some β -blockers in the Solid State. *Thermochimica Acta* **2011**, 514, 10-15.
111. G. Pyramides; J. W. Robinson; Zito, S. W., The Combined use of DSC and TGA for the Thermal Analysis of Atenolol Tablets. *Journal of Pharmaceutical & Biomedical Analysis* **1995**, 13, (2), 103-110.
112. Takka, S., Propranolol Hydrochloride-anionic Polymer Binding Interaction. *Il Farmaco* **2003**, 58, 1051-1056.
113. K. Chaturvedi; S. Umadevi; Vaghani, S., Floating Matrix Dosage Form for Propranolol Hydrochloride Based on Gas Formation Technique: Development and *In Vitro* Evaluation. *Scientia Pharmaceutica* **2010**, 78, 927-939.
114. D. A. Skoog; F. J. Holler; Nieman, T. A., *Princípios de Análise Instrumental*. 5° ed.; Bookman: São Paulo, 2002.
115. R. M. Silverstein; F. X. Webster; Kiemle, D. J., *Identificação espectrométrica de compostos orgânicos*. LTC: Rio de Janeiro, 2007; p 490.

116. S. Palakodaty; A. Kordikowski; J. Zhang; L. S. Daintree; S. Duddu; A. R. Kulger; H. Snyder; D. L. Ballesteros; N. Palepu; Eldon, M. A. Stable non crystalline formulation comprising losartan. 20 junho, 2006, 2006.
117. X. R. Hu; Y. W. Wang; Gu, J. M., Losartan potassium 3.5-hydrate, a new crystalline form. *Acta Crystallographica Section E: Structure Reports* **2005**, E61, 1686-1688.
118. L. Sieron; B. Nagaraj; B. Prabhuswamy; H. S. Yathirajan; P. Nagaraja; Narasegowda, R. S.; Gaonkar, S. L., Trityl Losartan. *Crystal Structure Communications* **2004**, C60, 821-823.
119. L. Tessler; Goldberg, I., Losartan, an antihypertensive drug. *Acta Crystallographica Section E: Structure Reports* **2004**, 60, (10), 1830-1832.
120. W. R. Do Carmo; F. F. Ferreira; Diniz, R., Phase quantification of antihypertensive drugs - Chlorthalidone, Hydrochlorothiazide, Losartan and combinations, Losartan/Chlorthalidone and Losartan/ Hydrochlorothiazide - by the Rietveld method. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* **2014**, 88, 152-156.
121. R. T. Sudo; G. Zapata-Sudo; Barreiro, E. J., The new compound, LASSBio 294, increases the contractility of intact and saponin-skinned cardiac muscle from Wistar rats. *British Journal of Pharmacology* **2001**, 134, (3), 603-613.
122. Coelho, A. A., Indexing of Powder Diffraction Patterns by Iterative use of Singular Value Decomposition. *Journal of Applied Crystallography* **2003**, 36, 86-95.
123. L. M. Lima; Barreiro, E. J., Bioisosterism: A useful strategy for molecular modification and drug design. *Current Medicinal Chemistry* **2005**, 12, (1), 23-49.
124. S. L. Pereira; A. E. Kummerle; C. A. M. Fraga; E. J. Barreiro; R. T. Sudo; Zapata-Sudo, G., Vasodilator and antihypertensive effects of a novel *N*-acylhydrazone derivative mediated by the inhibition of L-type Ca²⁺ channels. *Fundamental & Clinical Pharmacology* **2014**, 28, (1), 29-41.
125. Coelho, A. *Topas Academic v. 5*, Birsbane: Australia, 2012.
126. Toby, B. H., R factors in Rietveld Analysis: How good is good enough? *Powder Diffraction* **2006**, 21, 67-70.
127. F. F. Ferreira; A. C. Antonio; P. C. P. Rosa; Paiva-Santos, C. O., Crystal structure determination of mebendazole form A using high-resolution synchrotron X-ray powder diffraction data. *Journal of Pharmaceutical Sciences* **2010**, 99, 1734-1744.
128. F. F. Ferreira; A. C. Trindade; S. G. Antonio; Paiva-Santos, C. O., Crystal structure of propylthiouracil determined using high-resolution synchrotron X-ray powder diffraction. *CrystEngComm* **2011**, 13, 5474-5479.
129. A. Gomez; S. G. Antonio; G. L. B. de Araujo; F. F. Ferreira; Paiva-Santos, C. O., Crystal structure of isotibolone: a major degradation product of tibolone. *CrystEngComm* **2012**, 14, 2826-2830.
130. E. H. L. Aarts; Korst, J., *Simulated Annealing and Boltzmann Machines: a Stochastic Approach to Combinatorial Optimization and Neural Computing*. 2nd ed.; John Wiley & Sons: Chichester, UK, 1991.
131. P. J. M. Van Laarhoven; Aarts, E. H. L., *Simulated Annealing: Theory and Applications*. 4th ed.; Kluwer Academic Publishers: Dordrecht, Holland, 1992.
132. W. I. F. David; K. Shankland; J. Van de Streek; E. Pidcock; W. D. S. Motherwell; Cole, J. C., DASH: a Program for Crystal Structure Determination from Powder Diffraction Data. *Journal of Applied Crystallography* **2006**, 39, 910-915.

133. Rietveld, H. M., Line Profiles of Neutron Powder-Diffraction Peaks for Structure Refinement. *Acta Crystallographica* **1967**, 22, 151-152.
134. Rietveld, H. M., A Profile Refinement Method for Nuclear and Magnetic Structures. *Journal of Applied Crystallography* **1969**, 2, 65-71.
135. R. W. Cheary; Coelho, A. A., Axial divergence in a conventional X-ray powder diffractometer. I. Theoretical Foundations. *Journal of Applied Crystallography* **1998**, 31, 851-861.
136. R. W. Cheary; Coelho, A. A., Axial divergence in a conventional X-ray powder diffractometer. II. Realization and evaluation in a fundamental-parameter profile fitting procedure. *Journal of Applied Crystallography* **1998**, 31, 862-868.
137. Balzar, D., X-ray diffraction line broadening: modeling and applications to high- T_c superconductors. *Journal of Research of the National Institute of Standards and Technology* **1993**, 98, (3), 321-353.
138. I. J. Bruno; J. C. Cole; M. Kessler; J. Luo; W. D. S. Motherwell; L. H. Purkis; B. R. Simth; R. Taylor; R. I. Copper; S. E. Harris; Orpen, A. G., Retrieval of crystallographically-derived molecular geometry information. *Journal of Chemical Information and Modeling* **2004**, 44, (6), 2133-2144.
139. J. A. P. Sato; F. N. Costa; M. D. Da Rocha; E. J. Barreiro; C. A. M. Fraga; F. Punzo; Ferreira, F. F., Structural characterization of LASSBio-1289: a new vasoactive *N*-methyl-*N*-acylhydrazone derivative. *CrystEngComm* **2015**, 17, 165-173.