UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE QUÍMICA DE SÃO CARLOS
DEPARTAMENTO DE FÍSICO QUÍMICA MOLECULAR

Estudo do comportamento térmico de anti-hipertensivos

***β*-bloqueadores: labetalol e metoprolol**

Mariani Armagni Ciciliati

São Carlos

2019

MARIANI ARMAGNI CICILIATI

Estudo do comportamento térmico de anti-hipertensivos
***β*-bloqueadores: labetalol e metoprolol**

Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química do Instituto de Química de São Carlos da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Ciências.

Área de concentração: Química Analítica e Inorgânica.

Orientador: Prof. Dr. Éder Tadeu Gomes Cavalheiro

São Carlos

2019

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Assinatura:
Data: 21/01/2020

Ficha Catalográfica elaborada pela Seção de Referência e Atendimento ao Usuário do SBI/IQSC

Ciciliati, Mariani Armagnan

Estudo do comportamento térmico de anti-hipertensivos 'Beta'-
bloqueadores: labetalol e metoprolol / Mariani Armagnan Ciciliati. — São Carlos,
2019.
126 f.

Tese (Doutorado em Química Analítica e Inorgânica) — Instituto de Química
de São Carlos / Universidade de São Paulo, 2019.
Edição revisada

Orientador: Prof. Dr. Éder Tadeu Gomes Cavalheiro

1. Química Analítica. 2. Análise térmica. 3. Anti-hipertensivos. 4. Beta-
bloqueadores. 5. Polimorfismo. I. Título.

Sonia Alves - CRB: 4280/8

*Se nada ficar destas
páginas, algo, pelo menos,
esperamos que permaneça:
nossa confiança no povo.
Nossa fé nos homens e na
criação de um mundo em
que seja menos difícil
amar.”*

Paulo Freire

Dedicatória

À minha família,

*A todos aqueles que em vida rezaram e torceram por mim
e hoje me protegem lá de cima,*

E a todos que sempre me incentivaram a ser eu mesma.

Agradecimentos

À Deus e Nossa Senhora, pelas inúmeras bênçãos e proteção.

À minha mãe, minha grande incentivadora, que sempre foi meu grande exemplo. À mulher mais incrível que eu já conheci. Devido à sua força e coragem pude realizar meus sonhos.

À minha irmã Maristelli, minha companheira e primeira amiga.

À minha irmã caçula Maria Paula (*in memorian*), que em vida foi minha grande motivação. Seu amor sempre ressonará em minha alma.

Ao meu pai (*in memorian*), pessoa que molda minha personalidade até hoje. Um exemplo de pai dedicado. Sua alegria, que me faz tanta falta, nunca será esquecida.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Éder Tadeu Gomes Cavaleiro, por ter me recebido em São Carlos, pelos ensinamentos, especialmente sobre análise térmica, e toda paciência durante esses anos.

Ao Prof. Dr. Ricardo A. E. de Castro e a Profa. Dra. Maria Ermelinda Eusébio, professores da Universidade de Coimbra, que aceitaram me orientar durante o doutorado sanduíche. Seus exemplos de humildade, alegria e sabedoria jamais serão esquecidos por mim.

Aos demais professores da Universidade de Coimbra. Prof. Dr. João Canotilho, Profa. Dra. Teresa Maria e à Profa. Dra. Manuela Ramos, que gentilmente fez todas as análises de raios X de monocristal. Ao colega de laboratório, João Baptista. Obrigada pelo acolhimento, ajuda e boas conversas durante minha estadia em Portugal.

Aos professores que aceitaram participar da banca e contribuir com meu trabalho.

À Dra. Rosa Simencio Otero, pelas correções e contribuições na tese.

Ao Prof. Dr. Javier Ellena por toda ajuda com a discussão de raios X.

Ao Prof. Dr. Carlos Montanari e ao aluno de doutorado Pedro Jataí, pelas análises de HPLC-MS.

Aos meus avós (*in memoriam*), dos quais sinto imensa saudade e cuidaram de mim a vida toda.

À minha família, em especial à tia Sueli e Cida, por todas as orações e presença forte em minha vida.

Aos amigos que fiz em São Carlos, que sem dúvida foram a melhor parte nessa jornada. Em especial:

À Marina Baccarin, pela grande amizade construída ao longo desses anos de convívio no laboratório. Obrigada pelo companheirismo, ajuda e pelo convite para ser madrinha de seu casamento.

Ao Lucas Martoni, uma das pessoas mais boas e incríveis que tive a oportunidade de conhecer. Sua amizade e companhia aquece meu coração.

À Jany Hellen Ferreira de Jesus, pela contribuição científica e por sempre me fazer repensar sobre minhas certezas.

Aos demais amigos, incluindo companheiros de laboratório, que tornaram meus dias felizes: Hellen, Ricardo, Caio, Marco, Isabela, Rafael, Isabele, Larissa e José Luiz.

Aos amigos distantes, mas que nunca serão esquecidos: Marcela, Aline, Laís, Bruna, Thais, Lidianne e Nathalia.

A todas as pessoas do meu grupo de oração (GOU).

Às técnicas do LATEQS, Dra Priscila Cervini e Dra Ana Paula Garcia, pela ajuda ao longo dos anos.

Aos técnicos e funcionários, especialmente da Pós-Graduação do Instituto de Química e do Instituto de Física de São Carlos pelos serviços prestados.

À Universidade de São Paulo, à CAPES pela bolsa e demais agências de fomento, CNPq e FAPESP.

RESUMO

O comportamento térmico de dois fármacos anti-hipertensivos da classe dos β -bloqueadores, o cloridrato de labetalol e o tartarato de metoprolol e sua base livre foram investigados. O cloridrato de labetalol fundiu a $T_{fus} = 189,2\text{ }^{\circ}\text{C}$ e, logo em seguida, se decompôs liberando água na 1ª etapa de perda de massa, seguido de ácido isociânico e água na 2ª etapa e, logo depois metilbenzeno, na 3ª etapa de perda de massa. O mecanismo proposto para a degradação desse fármaco foi corroborado tanto pelas técnicas termoanalíticas, quanto pela caracterização dos intermediários por GC-MS. Já os estudos do tartarato de metoprolol revelaram que este fundiu-se a $T_{fus} = 121,7\text{ }^{\circ}\text{C}$ e se decompôs em duas etapas de perda de massa, liberando na primeira delas seu contra íon, ácido tartárico, o qual, por sua vez, se decompôs em água, dióxido e monóxido de carbono. Em seguida, durante a decomposição, o fármaco liberou dimetil éter, sofreu uma dimerização e finalmente se decompôs em isocianato de propila, dióxido de carbono, amônia e 1-etoxi-4-metilbenzeno. Esse mecanismo foi proposto com base nos resultados das técnicas termoanalíticas e na análise por HPLC-MS do intermediário coletado a $290\text{ }^{\circ}\text{C}$. Adicionalmente, foi feita a caracterização térmica da base do metoprolol. Os estudos indicaram que a forma comercial, Forma I, fundiu-se a $T_{fus} = 51,1\text{ }^{\circ}\text{C}$, e recrystalizou-se durante o resfriamento, dando origem a um polimorfo posteriormente chamado de Forma II, que fundiu a $T_{fus} = 36,3\text{ }^{\circ}\text{C}$. Trata-se do primeiro polimorfo da base de metoprolol descrito na literatura. Além das técnicas termoanalíticas, os polimorfos foram caracterizados por Difractometria de raios X de pó (XRPD) e Espectroscopia na Região do Infravermelho (FTIR) que, em conjunto, indicaram que a relação entre as duas formas é monotrópica, sendo a Forma II a metaestável. Paralelamente, a estrutura cristalina da base foi determinada por Difractometria de raios X de monocristal (SXRD). Além disso, outras formas sólidas do metoprolol foram estudadas, resultando na síntese de um novo sal utilizando a base e o ácido nicotínico. A estrutura cristalina do nicotinato de metoprolol foi resolvida e seu comportamento térmico foi estudado, revelando que o novo sal pode ser um potencial candidato a novas formulações farmacêuticas.

ABSTRACT

The thermal behavior of two β -blocker antihypertensive drugs, labetalol hydrochloride and metoprolol tartrate, as well as the metoprolol free base, was investigated. In labetalol hydrochloride studies, it was found that the drug melted at $T_{fus} = 189.2$ °C and then it promptly decomposed releasing water, isocyanic acid and methylbenzene, in the subsequent steps of mass loss, respectively. The proposed mechanism for the degradation of labetalol hydrochloride was corroborated by both thermoanalytical techniques and the characterization of intermediates using GC-MS. Regarding of metoprolol tartrate, the studies revealed that it melted at $T_{fus} = 121.7$ °C and decomposed in two stages of mass loss, releasing tartaric acid in the first step, its counter ion, which decomposes in water, carbon monoxide and carbon dioxide. During the decomposition, metoprolol releases dimethylether, makes a dimer, and then it decomposes in propyl isocyanate, carbon dioxide, ammonia and 1-ethoxy-4-methylbenzene. This mechanism was proposed based on the results of thermoanalytical techniques and HPLC-MS analysis of the intermediate collected at 290 °C. Additionally, the thermal characterization of the metoprolol base was performed. The studies indicated that the commercial form, Form I, melted at $T_{fus} = 51.1$ °C and then recrystallized on cooling in a new polymorphic form, which melted at $T_{fus} = 36.3$ °C, named as Form II, which was the first polymorph described in the literature for the metoprolol base. In addition to thermoanalytical techniques, the polymorphs were characterized by powder X-ray diffraction (XRPD) and infrared spectroscopy (FTIR), which indicated that the relationship between the two forms is monotropic, with Form II being the metastable one. At the same time, the crystal structure of the base was determined by single crystal X-ray diffraction (SXRD). Besides that, an investigation of new solid forms of metoprolol has been performed, which involved the synthesis of a new salt using metoprolol and nicotinic acid. The crystal structure of metoprolol nicotinate was solved and its thermal behavior was also studied, revealing that the new salt may be a potential candidate for new pharmaceutical formulations.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Panorama geral da história dos β -bloqueadores adrenérgicos.	24
Figura 2. Fórmula estrutural do cloridrato de labetalol.	26
Figura 3. Fórmula estrutural do tartarato de metoprolol.	27
Figura 4. Fórmula estrutural do ácido nicotínico.	28
Figura 5. Diferentes formas sólidas encontradas para um API.	28
Figura 6. Dependência da entalpia (H) e energia livre de Gibbs (G) em relação à temperatura, à pressão constante, para fases (a) enantiotrópicas e (b) monotrópicas.	31
Figura 7. Representação da síntese do nicotinato de metoprolol.	39
Figura 8. Curvas TG/DTG (a,c) e DTA (b,d) do cloridrato de labetalol. Massa de amostra de 7,0 mg ($\pm 0,1$ mg), em (a,b) N ₂ e (c,d) ar seco, com $\beta = 10$ °C min ⁻¹	47
Figura 9. Curvas DSC do cloridrato de labetalol sob atmosfera de nitrogênio, massa de amostra de 4,0 mg ($\pm 0,1$ mg) e $\beta = 10$ °C min ⁻¹ em suporte de amostra de alumínio.	49
Figura 10. Imagens obtidas por PLTM durante o aquecimento cloridrato de labetalol, com magnificação de 200x e $\beta = 5$ ° min ⁻¹	50
Figura 11. Gráfico Gram-Schmidt dos gases evolvidos durante a decomposição do cloridrato de labetalol.	51
Figura 12. Espectros FTIR dos gases evolvidos durante a decomposição do cloridrato de labetalol em diferentes tempos de análise, em comparação com os espectros da base de dados.	52
Figura 13. (a) Cromatograma do resíduo coletado a 230 °C na decomposição do cloridrato de labetalol e (b-i) espectros de massa de cada um dos picos separados de acordo com o tempo de retenção.	54
Figura 14. Mecanismo proposto para o comportamento térmico do cloridrato de labetalol.	57
Figura 15. Curvas TG/DTG (a,c) e DTA (b,d) do tartarato de metoprolol. Massa de amostra de 4,0 mg ($\pm 0,1$ mg), em atmosfera de (a,b) N ₂ e (c,d) ar seco, $\beta = 10$ °C min ⁻¹	61
Figura 16. Curvas DSC do tartarato de metoprolol sob atmosfera de N ₂ , massa de amostra de 4,0 mg ($\pm 0,1$ mg), $\beta = 10$ °C min ⁻¹ em suporte de amostra de alumínio.	63
Figura 17. Imagens obtidas por PLTM durante o aquecimento do tartarato de metoprolol, com magnificação de 200x, e $\beta = 10$ °C min ⁻¹	64
Figura 18. Gráfico Gram-Schmidt dos gases evolvidos durante a decomposição do tartarato de metoprolol.	65
Figura 19. Espectros FTIR dos gases evolvidos durante a decomposição (a) do tartarato de metoprolol em diferentes tempos de análise, (b) do ácido tartárico aos 23,3 min e (c) em comparação com espectros retirados da base de dados.	66

Figura 20. (a) Cromatograma para o resíduo coletado a 290 °C na decomposição do tartarato de metoprolol e (b-j) espectros de massa dos picos separados de acordo com os tempos de retenção.	70
Figura 21. Estrutura sugerida para possível associação entre as moléculas de metoprolol, gerando um dímero de massa molar 446,31 g mol ⁻¹	71
Figura 22. Mecanismo proposto para a decomposição do tartarato de metoprolol em atmosfera de N ₂	73
Figura 23. (a) Representação tipo ORTEP com elipsóides térmicos com 50% de probabilidade da unidade assimétrica do S-metoprolol. Os átomos de hidrogênio foram omitidos para maior clareza. (b) duas moléculas de metoprolol conectadas por ligações de hidrogênio e (c) empacotamento das moléculas de metoprolol na cela unitária visto ao longo do eixo <i>b</i>	77
Figura 24. Comparação entre os Difrátogramas de raios X de pó do metoprolol. (a) Difrátograma experimental da forma comercial; (b) difratograma de pó calculado a partir da estrutura cristalina obtida por SXRD a 293 K e (c) Difrátograma calculado a partir da estrutura cristalina obtida por SXRD a 100 K por Rossi <i>et al.</i>	79
Figura 25. Sobreposição das moléculas de metoprolol obtidas a partir das estruturas cristalinas obtidas por SXRD a 100 K (CCDC 1882466) e a 293 K (CCDC 1883843). Os átomos de hidrogênio foram omitidos para melhor clareza.	79
Figura 26. Curvas TG/DTG (a,c) e DTA (b,d) do metoprolol. Massa de amostra de 3,0 mg (± 0,1 mg), em atmosfera de (a,b) N ₂ e (c,d) ar seco, com $\beta = 10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$	81
Figura 27. Curva TG do metoprolol base, com massa de amostra de 0,99 mg, em atmosfera de ar seco (50 mL min ⁻¹), aquecido até 150 °C a 10 °C min ⁻¹ e depois mantido em uma isoterma durante 100 min, em suporte de amostra aberto de α -alumina.	82
Figura 28. (a) Material sublimado no tubo de ensaio após o metoprolol ser aquecido a 150 °C e deixado por 100 min em isoterma e depois 2h em repouso e espectros FTIR/ATR em (b) do metoprolol base comercial e (c) do sólido coletado nas paredes do tubo de ensaio.	83
Figura 29. Curvas DSC do metoprolol sob atmosfera de N ₂ . Massa de amostra de 1,5 mg (± 0,2 mg), com $\beta = 10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$, em suporte de amostra de alumínio hermético.	84
Figura 30. Curvas DSC do metoprolol sob atmosfera de N ₂ , massa de amostra de 1,5 mg (± 0,5 mg), com $ \beta = 10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ e diferentes razões de resfriamento.	85
Figura 31. Imagens obtidas por PLTM durante o aquecimento em (a) metoprolol, Forma I (b) amostra recristalizada depois da fusão, com $ \beta = 10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ e 200x de magnificação.	86
Figura 32. Difrátogramas de raios X de pó das duas formas polimórficas do metoprolol base.	87

Figura 33. Espectros FTIR/ATR do metoprolol base Forma I e II.	88
Figura 34. (a) Representação tipo ORTEP com elipsóides térmicos a 50% de probabilidade do ânion nicotinato e cátion metoprolol; (b) quatro íons unidos por ligações de hidrogênio e (c) empacotamento das moléculas de nicotinato de metoprolol visto ao longo do eixo <i>b</i> . Os átomos de hidrogênio foram omitidos para maior clareza.....	91
Figura 35. Curvas TG/DTG (a,c) e DTA (b,d) do nicotinato de metoprolol. Massa de amostra de 3,0 mg ($\pm 0,1$ mg), em atmosfera de (a,b) N ₂ e (c,d) ar seco, com $\beta = 10$ °C min ⁻¹	94
Figura 36. Curvas DSC do nicotinato metoprolol sob atmosfera de N ₂ , massa de amostra de 1,5 mg ($\pm 0,2$ mg), $ \beta = 10$ °C min ⁻¹ , em suporte de amostra de alumínio hermético.	96
Figura 37. Imagens obtidas por PLTM do nicotinato de metoprolol obtidas durante (a-c) o 1° aquecimento e (d-f) durante o 2° aquecimento, com $\beta = 5$ °C min ⁻¹ e 100x de magnificação.....	97
Figura 38. Espectros FTIR do ácido nicotínico, metoprolol e nicotinato de metoprolol em (a) no intervalo de 4000-400 cm ⁻¹ e (b) 2000-400 cm ⁻¹	98

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Fármacos β -bloqueadores mais conhecidos e utilizados	25
Tabela 2. Lista das principais propriedades e características que podem diferir entre polimorfos.....	30
Tabela 3. Eventos propostos, intervalos de temperatura, perdas de massa e picos DTA obtidos durante o aquecimento do cloridrato de labetalol sob atmosfera de N ₂ e ar	48
Tabela 4. Comparação das bandas que aparecem no espectro FTIR dos gases envolvidos na decomposição do cloridrato de labetalol aos 35,5 min de análise (355 °C) com aquelas descritas e atribuídas nos espectros da base de dados.....	53
Tabela 5. Atribuição dos principais picos obtidos na análise do produto do cloridrato de labetalol aquecido a 230 °C por GC-MS	55
Tabela 6. Eventos propostos, intervalos de temperatura, perda de massa e picos DTA obtidos durante o aquecimento do tartarato de metoprolol sob atmosfera de N ₂ e ar.....	62
Tabela 7. Comparação das bandas presentes no espectro FTIR dos gases envolvidos na decomposição do tartarato de metoprolol aos 20,9 e 28,1 min de análise (229 e 301 °C) e do ácido tartárico aos 23,3 min (253 °C), em comparação com espectros da base de dados	68
Tabela 8. Resultados da análise de HPLC-MS do resíduo obtido no aquecimento até 290 °C do tartarato de metoprolol: tempos de retenção e m/z para cada pico no TIC, e proposição de formula molecular e massa molar para os picos mais intensos dos espectros de massa.....	71
Tabela 9. Ângulos de torção selecionados para o (R,S)-metoprolol / °.....	78
Tabela 10. Geometria das ligações de hidrogênio do (R,S)-metoprolol (Å / °).....	78
Tabela 11. Dados obtidos nas curvas DSC do metoprolol base, com $ \beta = 10 \text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$	84
Tabela 12. Tentativa de atribuição das bandas FTIR/ATR observadas nos espectros da Forma I e II do metoprolol base.....	89
Tabela 13. Geometria das ligações de hidrogênio do nicotinato de metoprolol (Å / °).....	92
Tabela 14. Eventos observados, intervalos de temperatura, perda de massa e picos DTA obtidos durante o aquecimento do nicotinato de metoprolol sob atmosfera de N ₂ e ar	95
Tabela 15. Dados obtidos nas curvas DSC do nicotinato de metoprolol, com $ \beta = 10 \text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$	96

LISTA DE ABREVIATURAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
API	Ingrediente Farmacêutico Ativo (do inglês: <i>Active Pharmaceutical Ingredient</i>)
ATR	Reflexão Total Atenuada (do inglês: <i>Attenuated Total Reflectance</i>)
CCDC	Base de dados cristalográficos da Cambridge (Do inglês <i>Cambridge Crystallographic Data Centre</i>)
DFT	Do inglês: <i>Density Functional Theory</i>
DSC	Calorimetria Exploratória Diferencial (do inglês: <i>Differential Scanning Calorimetry</i>)
DTA	Análise Térmica Diferencial (do inglês: <i>Differential Thermal Analysis</i>)
DTG	Termogravimetria Derivada (do inglês: <i>Derivative Thermogravimetry</i>)
EGA	Análise dos Gases Evolvidos (do inglês: <i>Evolved Gas Analysis</i>)
FDA	Do inglês <i>Food and Drug Administration</i>
FTIR	Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho (do inglês: <i>Fourier Transform Infrared Spectroscopy</i>)
GC-MS	Cromatografia Gasosa Acoplada à Espectrometria de Massas (do inglês: <i>Gas Chromatography Coupled with Mass Spectrometry</i>)
HAS	Hipertensão arterial sistêmica
HPLC	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (do inglês: <i>High Performance Liquid Chromatography</i>)
ICTAC	Confederação Internacional de Análise Térmica e Calorimetria (do inglês <i>International Confederation of Thermal Analysis and Calorimetry</i>)
LAG	Moagem Assistida por Líquido (do inglês: <i>Liquid Assisted Grinding</i>)
LATEQS	Laboratório de Análise Térmica, Eletroanalítica e Química de Soluções
Met base	Metoprolol base
Nico-met	Nicotinato de metoprolol
NMR	Ressonância Magnética Nuclear (do inglês: <i>Nuclear Magnetic Resonance</i>)
OMS	Organização Mundial da Saúde
PLTM	Termomicroscopia com Luz Polarizada (do inglês: <i>Polarized Light Thermomicroscopy</i>)

SUS	Sistema único de saúde
SXRD	Difratometria de raios X de monocristal (do inglês: <i>single X-ray Diffraction</i>)
TG	Termogravimetria (do inglês: <i>Thermogravimetry</i>)
TG-FTIR	Termogravimetria Acoplada à Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho (do inglês: <i>Thermogravimetry coupled to Fourier Transform Infrared Spectroscopy</i>)
TIC	Cromatograma de íons totais (do inglês: <i>Total Ion Chromatogram</i>)
USP	Farmacopéia Americana (do inglês: <i>United States Pharmacopeia</i>)
UV-Vis	Espectroscopia de Absorção na região do Ultravioleta-Visível
WHO	Organização Mundial da Saúde (do inglês: <i>World Health Organization</i>)
XRPD	Difratometria de raios X de pó (do inglês: <i>X-ray Powder Diffraction</i>)

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 Introdução	21
1 INTRODUÇÃO	22
1.1 β -bloqueadores adrenérgicos	22
1.1.1 Labetalol	26
1.1.2 Metoprolol	27
1.2 Ácido nicotínico	27
1.3 Formas sólidas	28
1.4 Descarte de fármacos no Brasil	29
1.5 Polimorfismo	29
1.6 Considerações sobre análise térmica e suas aplicações em fármacos	32
1.6.1 Termogravimetria (TG)	33
1.6.2 Análise Térmica Diferencial (DTA)	33
1.6.3 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)	33
1.7 Estudos térmicos sobre os β -bloqueadores	34
1.8 OBJETIVOS	37
1.8.1 Objetivos gerais	37
1.8.2 Objetivos específicos	37
CAPÍTULO 2 Materiais e métodos	38
2 MATERIAIS E MÉTODOS	39
2.1 Reagentes	39
2.2 Preparação do nicotinato de metoprolol	39
2.3 Recristalização para análise por Difractometria de raios X de monocristal	39
2.4 Experimento de isoterma no tubo de ensaio	40
2.5 Caracterização	40
2.5.1 Termogravimetria e Análise Térmica Diferencial Simultânea	40
2.5.2 Calorimetria Exploratória Diferencial	41
2.5.3 Termomicroscopia com Luz Polarizada / Microscopia <i>Hot Stage</i>	41
2.5.4 Análise dos gases evoluídos por Termogravimetria acoplada à Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho	42
2.5.5 Difractometria de raios X de monocristal	42
2.5.6 Difractometria de raios X de pó	42
2.5.7 Espectroscopia vibracional na região do infravermelho	43

2.5.8 Espectro teórico vibracional na região do infravermelho	43
2.5.9 Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas	43
2.5.10 Cromatografia Líquida de alta Eficiência acoplada à Espectroscopia de Massas	43
C A P Í T U L O 3 Estudos termooanalíticos do cloridrato de labetalol	45
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	46
3.1 Termogravimetria e Análise Térmica Diferencial	46
3.2 Calorimetria Exploratória Diferencial	49
3.3 Termomicroscopia com Luz Polarizada	50
3.4 Análise dos gases evoluídos utilizando Termogravimetria acoplada à Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho	50
3.5 Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas	53
3.6 Mecanismo	56
3.7 CONCLUSÕES PARCIAIS	58
C A P Í T U L O 4 Estudos termooanalíticos do tartarato de metoprolol	59
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	60
4.1 Termogravimetria e Análise Térmica Diferencial	60
4.2 Calorimetria Exploratória Diferencial	63
4.3 Termomicroscopia com Luz Polarizada	64
4.4 Análise dos gases evoluídos utilizando Termogravimetria acoplada à Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho	64
4.5 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada à Espectrometria de Massas	69
4.6 Mecanismo	72
4.7 CONCLUSÕES PARCIAIS	74
C A P Í T U L O 5 Estudos termooanalíticos e de novas formas sólidas do metoprolol base livre	75
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	76
5.1 Caracterização do metoprolol base	76
5.1.1 Determinação da estrutura cristalina do metoprolol por Difractometria de raios X de monocristal	76
5.1.2 Termogravimetria e Análise Térmica Diferencial	79
5.1.3 Calorimetria Exploratória Diferencial	83
5.1.4 Termomicroscopia com Luz Polarizada	85
5.1.5 Difractometria de raios X de pó	86

5.1.6 Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho	87
5.2 SAL DE NICOTINATO DE METOPROLOL	89
5.2.1 Determinação da estrutura cristalina do metoprolol por Difratomia de raios X de monocristal.....	90
5.2.2 Termogravimetria e Análise Térmica Diferencial	93
5.2.3 Calorimetria Exploratória Diferencial	95
5.2.4 Termomicroscopia com Luz Polarizada.....	96
5.2.5 Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho	97
5.3 CONCLUSÕES PARCIAIS	99
CONSIDERAÇÕES FINAIS	100
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	101
APÊNDICE A	111
APÊNDICE B	112
APÊNDICE C	114
APÊNDICE D	115
APÊNDICE E	116
APÊNDICE F	117
APÊNDICE G	118
APÊNDICE H	122
APÊNDICE I.....	123
APÊNDICE J.....	124
APÊNDICE K	125
ANEXO A.....	126

APRESENTAÇÃO

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), a hipertensão arterial sistêmica (HAS) é responsável pela morte e baixa qualidade de vida de grande parte da população. A cada ano que passa, o número de pessoas acometidas por esta doença é significativamente maior, principalmente em países subdesenvolvidos. Diversos fatores ambientais, sociais, e pré-disposição genética estão envolvidos na causa da HAS. Por este motivo, alguns anti-hipertensivos estão na lista de medicamentos mais vendidos do mundo, incluindo o β -bloqueador utilizado nesse trabalho, o metoprolol.

Os β -bloqueadores são uma classe muito popular de anti-hipertensivos. Desenvolvidos na década de 60, esses fármacos revolucionaram o tratamento de doenças cardíacas na época, o que rendeu ao farmacêutico James Black um Prêmio Nobel de medicina em 1988. Ainda hoje essa classe de anti-hipertensivos está dentro das principais indicações médicas para controle da HAS e problemas relacionados ao coração.

O comportamento térmico de fármacos é um assunto amplamente discutido em livros, artigos e conferências científicas, mostrando-se um tema muito relevante de pesquisa. Neste sentido, as técnicas termoanalíticas permitem o estudo de formulações comerciais e identificação de formas sólidas ainda não descritas. A caracterização térmica fornece informações sobre umidade, polimorfismo, pureza, resíduos, intermediários, dentre outras, sendo indicada por diversas farmacopéias para análises de fármacos. Entretanto, no que concerne à pesquisa do mecanismo do comportamento térmico, poucos estudos são descritos na literatura, o que leva à motivação do presente trabalho, visando também o enfoque ambiental e possíveis alterações polimórficas durante o armazenamento do fármaco.

O Laboratório de Análise Térmica, Eletroanalítica e Química de Soluções (LATEQS) vem desenvolvendo estudos com β -bloqueadores desde 2005, sendo que o primeiro fármaco dessa classe a ser estudado foi o atenolol. Os trabalhos do grupo englobam tanto estudos de análise térmica quanto de Eletroanalítica, e foram motivados pela importância desses fármacos, além do aumento do seu consumo pela sociedade contemporânea.

Além disso, houve ainda o estudo do comportamento térmico da base de metoprolol, e também foi possível o desenvolvimento da obtenção de um novo sal,

proveniente da combinação entre o metoprolol e o ácido nicotínico, que visou contribuir para o problema do baixo ponto de fusão do fármaco, que dificulta seu processamento.

CAPÍTULO 1

Introdução

1 INTRODUÇÃO

A Hipertensão Arterial Sistêmica (HAS) é uma condição clínica caracterizada por níveis elevados e sustentados de pressão arterial [1]. De acordo com a *The American Heart Association* [2], na última década, a taxa de mortalidade devido à HAS aumentou 7,6%, tornando-se a maior causa de morte no mundo devido aos diversos tipos de cardiopatias.

No Brasil, o Ministério da Saúde registrou que a HAS atingiu 1 em cada 4 adultos no país, chegando a uma média de 388 mortes por dia. Este fato resulta no aumento de problemas socioeconômicos e sobrecarrega o sistema de saúde pública, o que demonstra a necessidade da prevenção e controle de tal doença. Em 2016, foram registrados mais de 980 mil procedimentos de internação ambulatorial no Sistema Único de Saúde (SUS), gerando o custo de 61,1 milhões de reais [3].

Algumas modificações no estilo de vida têm se mostrado efetivas para o controle da hipertensão, como o aumento da atividade física, a redução do peso, redução da ingestão de sódio, uma dieta rica em frutas e vegetais e diminuição do consumo de álcool. O controle medicamentoso torna-se necessário quando essas mudanças não são suficientes. Os medicamentos mais utilizados para o controle da hipertensão são os diuréticos, os bloqueadores dos canais de cálcio, os inibidores adrenérgicos (α e β bloqueadores), inibidores da enzima conversora de angiotensina e bloqueadores do receptor AT_1 [1, 4].

1.1 β -bloqueadores adrenérgicos

Os β -bloqueadores são uma classe de fármacos anti-hipertensivos que atuam no bloqueio dos receptores β -adrenérgicos. O desenvolvimento dos β -bloqueadores teve início na década de 50, no entanto, eles se tornaram populares somente durante a década de 60, uma vez que provocavam menos efeitos colaterais do que os outros anti-hipertensivos utilizados na época [5]. O desenvolvimento do primeiro β -bloqueador de sucesso, o propranolol, rendeu ao farmacêutico James Black o prêmio Nobel de Medicina em 1988, e sua descoberta revolucionou a indústria farmacêutica, sendo considerada uma das mais importantes contribuições para a medicina clínica e farmacologia do século XX, na qual o fármaco foi planejado para sua ação como Ingrediente Farmacêutico Ativo (API) [6, 7].

Além dos β -bloqueadores serem utilizados no tratamento da HAS, eles também podem ser usados no controle de outras doenças, como hipertireoidismo, ansiedade, enxaqueca, entre outros [8].

Existem três classes de β -bloqueadores: os que bloqueiam os receptores β_1 e β_2 de forma não específica (não seletivos), aqueles que bloqueiam preferencialmente os receptores β_1 (cardiosseletivos) e os β -bloqueadores que apresentam antagonismo α_1 . A principal diferença entre os medicamentos dessa classe está na lipossolubilidade, efeitos vaso dilatadores e seletividade em relação aos receptores β -adrenérgicos [5].

A Figura 1 apresenta um breve panorama sobre a história dos β -bloqueadores e a Tabela 1 apresenta os principais fármacos dentro dessa classe, destacando as referências dos que já foram estudados pelo LATEQS. Neste trabalho, somente serão abordados os β -bloqueadores labetalol e metoprolol.

Figura 1. Panorama geral da história dos β -bloqueadores adrenérgicos. Adaptado de [7, 9, 10].

Tabela 1. Fármacos β -bloqueadores mais conhecidos e utilizados

Nome genérico	Seletividade	Estrutura	Referência*
Acebutolol	β_1		[11]
Atenolol*	β_1		
Bisoprolol	β_1		
Betaxolol	β_1		[12]
Carteolol	Não seletivo		
Carvedilol*	Não seletivo / α_1		
Esmolol	β_1		[13]
Labetalol*	Não seletivo / α_1		
Metoprolol*	β_1		
Nadolol*	Não seletivo		[11]
Nebivolol	β_1		
Oxprenolol	Não seletivo		
Penbutolol	Não seletivo		continua

(continuação)

Nome genérico	Seletividade	Estrutura	Referência*
Propranolol*	Não seletivo		[16]
Pindolol	Não seletivo
Sotalol	Não seletivo
Timolol	Não seletivo

Fonte: Adaptado de Agustian *et al.* [17]. *Estudados pelo LATEQS

1.1.1 Labetalol

O cloridrato de labetalol [(*R,S*)-2-hidroxi-5-(1-hidroxi-2-((4-fenilbutan-2-il)amino)etil)benzamida], Figura 2, é um agente anti-hipertensivo que apresenta atividade antagonista competitiva dos receptores adrenérgicos α_1 e β_1 . Sua molécula tem dois átomos de carbono quirais e, conseqüentemente, quatro estereoisômeros. A formulação utilizada clinicamente é uma mistura de proporções iguais dos quatro estereoisômeros (*R,R*; *R,S*; *S,S* e *S,R*), na qual o isômero (*S,R*) é responsável pela maior parte do bloqueio α_1 enquanto que a maior parte do bloqueio β é atribuída ao isômero (*R,R*), também conhecido como dilevalol. As formas (*S,S*) e (*R,S*) são inativas [18, 19]. Entretanto, apesar de ser uma mistura, o labetalol bloqueia predominantemente os receptores β , na razão de 3:1 de β em relação aos receptores α [8].

Figura 2. Fórmula estrutural do cloridrato de labetalol. Fonte: própria autora.

O uso do labetalol é indicado desde a década de 70 no tratamento da hipertensão, inclusive durante a gravidez. De forma intravenosa, ele é um dos fármacos mais empregados nas emergências hipertensivas devido ao seu bloqueio α e β , e também é muito utilizado para controlar a pressão arterial durante a anestesia. Além disso, por possuir bloqueio concomitante α e β -adrenérgicos, o labetalol previne a taquicardia, observada no uso da maioria dos antagonistas α [8, 20].

1.1.2 Metoprolol

O metoprolol [Ácido (*R,S*)-2,3-dihidroxiбутanedióico; 1-[4 (2-metoxietil)fenoxi]-3-(propan-2-ilamino)propan-2-ol], Figura 3, além de ser utilizado para tratar hipertensão, também é usado no tratamento de outros problemas cardíacos como *angina pectoris*, insuficiência cardíaca e na prevenção de ataques cardíacos [21, 22]. Foi o primeiro β -bloqueador admitido para uso clínico nos Estados Unidos [23, 24] e está incluso como uma alternativa ao bisoprolol no documento *Model Lists of Essential Medicines* produzido pela Organização Mundial da Saúde (WHO) [25], além de ser recomendado pelo *American College of Cardiology* como uma das principais opções na classe dos β -bloqueadores, especialmente para tratar hipertensão associada à insuficiência cardíaca [26].

Devido ao baixo ponto de fusão, ($T \approx 51\text{ }^{\circ}\text{C}$), a base de metoprolol é comercializada como sal de tartarato, succinato ou fumarato, os quais se diferem principalmente na forma de liberação. A ação do metoprolol se deve à presença do enantiômero *S*, responsável pelo bloqueio β -adrenérgico [27].

Figura 3. Fórmula estrutural do tartarato de metoprolol. Fonte: Própria autora.

1.2 Ácido nicotínico

O ácido nicotínico [Ácido 3-carboxilpiridina], também chamado de niacina ou vitamina B3, é uma vitamina solúvel em água e essencial para o ser humano [28].

Além da sua utilização enquanto vitamina, o ácido nicotínico é também comercializado como medicamento com atuação no controle dos níveis de colesterol [29]. Foi o primeiro composto a contribuir efetivamente para a redução de eventos cardiovasculares e diminuir a mortalidade em pacientes com histórico de ataque cardíaco [30, 31]. A deficiência de ácido nicotínico, cujas principais fontes são proteínas de origem animal, pode causar uma anomalia chamada pelagra, que consiste em um problema que causa dermatite, distúrbios gastrointestinais e degeneração neurológica [28]. A fórmula estrutural do ácido nicotínico está apresentada a seguir, na Figura 4.

Figura 4. Fórmula estrutural do ácido nicotínico. Fonte: Própria autora.

Devido a essas características, esse composto pode se tornar um bom candidato na preparação de novas formulações farmacêuticas envolvendo os β -bloqueadores.

1.3 Formas sólidas

Um aspecto importante do desenvolvimento de novos medicamentos é a determinação de qual a forma sólida do API deve ser selecionada, já que cada forma poderá apresentar propriedades distintas, o que influencia no processamento e na liberação do medicamento no organismo, por exemplo [32]. Cerca de 80 a 90% dos compostos orgânicos podem existir em diferentes formas sólidas como polimorfos, solvatos, sais ou cocrystal [33], como ilustra a Figura 5.

Figura 5. Diferentes formas sólidas encontradas para um API. Adaptado de Duggirala *et al.* [34].

Aproximadamente metade das moléculas ativas (a base dos fármacos), são comercializadas na forma de sal, já que usualmente os sais apresentam maior solubilidade em água e biodisponibilidade maior do que a molécula original não ionizada. Além dessas propriedades, existem diversas outras que podem ser favorecidas pela formação de um sal adequado: estabilidade da fase sólida (controle de polimorfismo), materiais amorfos podem se tornar cristalinos, aumento do ponto de fusão, melhora da higroscopicidade, estabilidade na presença de excipientes, estabilidade térmica, e combinação de princípios farmacológicos [35].

1.4 Descarte de fármacos no Brasil

No Brasil, os resíduos de medicamentos são considerados resíduos químicos. A resolução nº 222 de 2018 da ANVISA, dispõe sobre o descarte adequado de resíduos dos serviços da saúde no Brasil. De acordo com a resolução, os resíduos de produtos e insumos farmacêuticos (Categoria B) devem ser descartados em aterros de resíduos perigosos [36].

Em 2009 a ANVISA alterou a resolução nº44 que passou a permitir a participação de farmácias em coletas de resíduos domiciliares. Entretanto, sabe-se que grande parte do descarte de medicamentos é feito no lixo comum ou na rede de esgoto. Estima-se que no Brasil, o descarte de medicamentos envolva entre 10,3 e 19,8 mil toneladas por ano [37]. Isso apresenta um grande perigo, pois esse descarte inadequado pode contaminar os recursos hídricos e o meio ambiente. Uma das preocupações é que resíduos comuns são usualmente incinerados, o que pode gerar gases tóxicos durante a decomposição desse descarte, que ao ser levado pelo vento, contamina diversas áreas.

Apesar dessas resoluções vigentes no Brasil, a população não tem conhecimento do que fazer em relação aos medicamentos vencidos e sua maneira correta de descarte, sendo necessário, portanto, maior divulgação do assunto.

1.5 Polimorfismo

A importância da pesquisa de pré-formulação farmacêutica foi sinalizada na década de 1990 devido, principalmente, ao problema envolvendo o polimorfismo do

principal medicamento utilizado no tratamento da HIV, o Ritonavir (Norvir®), que naquela época era o medicamento mais vendido no mundo [34, 38].

A definição corrente de polimorfismo é *a habilidade de um composto em se cristalizar em duas ou mais formas com diferentes arranjos ou conformações das moléculas na rede cristalina* [39]. Entretanto, a agência reguladora americana para alimentos e fármacos (*Food and Drug Administration*, FDA) define polimorfismo de uma maneira mais geral, incluindo diferentes formas cristalinas, amorfas, hidratos e solvatos [40]. Nesse trabalho, o termo polimorfo ou polimorfismo é usado para se referir a uma determinada estrutura cristalina.

Aproximadamente 80% dos fármacos comercializados podem exibir polimorfismo sob as condições experimentais adequadas [33]. Segundo McCrone [41] “o número de polimorfos encontrados para determinado composto é proporcional ao tempo e recursos empregados na pesquisa dele”. De maneira geral, toda substância tem um ou mais potencial polimorfo, desde que as condições externas sejam ajustadas de tal modo que o polimorfo possa ser encontrado [42, 43].

Devido à estrutura cristalina diferente, os polimorfos podem apresentar propriedades diferentes, entre as quais citam-se: ponto de fusão, estabilidade, solubilidade e biodisponibilidade, tornando o tema muito importante para o desenvolvimento e controle de qualidade de fármacos pela indústria farmacêutica [43-45], como discutido acima. A Tabela 2 exemplifica as principais propriedades que podem se diferir entre os polimorfos.

Tabela 2. Lista das principais propriedades e características que podem diferir entre polimorfos

Propriedade	Características
Empacotamento	Higroscopicidade; condutividade; densidade; índice de refração
Termodinâmicas	Temperatura de fusão e sublimação; entalpia; capacidade calorífica; entropia; energia livre e potencial químico; pressão de vapor e solubilidade
Espectroscópicas	Transições eletrônicas (UV-Vis), vibracionais (FTIR e Raman)
Mecânicas	Compactabilidade, dureza; resistência
Cinéticas	Constante de dissolução, estabilidade

Fonte: Adaptado de Brittain [46].

Se em um sistema, à pressão constante, um polimorfo é estável em uma determinada temperatura, enquanto o outro polimorfo é estável em uma temperatura diferente, esse sistema é chamado enantiotrópico. Para esse tipo de sistema, uma transição reversível pode ser observada a uma dada temperatura, na qual as curvas de energia livre de Gibbs se cruzam antes que o ponto de fusão seja alcançado, como ilustra a Figura 6(a) [46, 47].

Figura 6. Dependência da entalpia (H) e energia livre de Gibbs (G) em relação à temperatura, à pressão constante, para fases (a) enantiotrópicas e (b) monotrópicas. Fonte: Adaptado de Brittain [47].

Entretanto, às vezes apenas um dos polimorfos é estável em todas as temperaturas abaixo do ponto de fusão. Nesse caso é dito que o sistema de duas fases sólidas é monotrópico, Figura 6(b). Para um sistema monotrópico as curvas de energia livre de Gibbs não se cruzam, portanto, nenhuma transição reversível pode ser observada antes do ponto de fusão. Nesse sistema, a fase de maior energia livre de Gibbs, ou seja, a mais instável, é chamada de fase metaestável, e ela se transforma a uma taxa imperceptível na fase estável. Sendo assim, a fase metaestável, mesmo termodinamicamente instável, pode existir por questões cinéticas [46, 47].

Para compreender e ilustrar melhor os sistemas enantiotrópicos e monotrópicos, Burger e Ramberger desenvolveram leis que facilitam a identificação do tipo de polimorfismo presente entre determinadas formas [48, 49]. As de maior aplicação são as leis de calor de transição e lei de calor de fusão. A lei de calor de transição indica que se uma transição endotérmica é observada, as duas formas são

enantiotrópicas. Da mesma maneira, se uma transição exotérmica é observada, os polimorfos são monotrópicos. Já a lei do calor de fusão afirma que se o polimorfo com maior temperatura de fusão tem a menor entalpia, as duas formas são enantiotrópicas. Por outro lado, se o polimorfo com maior temperatura de fusão tem a maior entalpia, a relação entre as formas é monotrópica. Da mesma maneira, existem ainda outras leis referentes à entropia de fusão, densidade, espectroscopia de infravermelho e estabilidade [39, 47].

Há inúmeros métodos para a obtenção de polimorfos [50], entre eles destaca-se a recristalização por solvente [51], cristalização a partir do material fundido [52], e sublimação [53]. O processo de formação de um polimorfo envolve nucleação e crescimento dos cristais, mas é difícil prever qual polimorfo se formará. De acordo com a regra de Ostwald “*Law of Stages*” [43, 54], durante a cristalização a partir do material fundido, o sólido formado primeiramente é o menos estável dos polimorfos (com maior Energia livre de Gibbs), pois a taxa de nucleação da fase metaestável é muitas vezes maior do que da fase estável. Entretanto, a taxa de nucleação de dois polimorfos depende de vários fatores como temperatura, tensão interfacial e supersaturação [43].

Como citado anteriormente, a busca e caracterização de novas formas sólidas é um tema relevante no estudo de fármacos, uma vez que esse comportamento se reflete diretamente na ação farmacológica do composto. Dentre diversos fármacos conhecidos, que apresentam diferentes formas sólidas pode-se citar a dipirona [55], paracetamol [56], ibuprofeno [57], dentre outros.

1.6 Considerações sobre análise térmica e suas aplicações em fármacos

A análise térmica é definida pela Confederação Internacional de Análise Térmica e Calorimetria (ICTAC) como:

*“O estudo da relação entre uma propriedade da amostra e sua temperatura, enquanto a amostra é aquecida ou resfriada de maneira controlada.”*¹ [58, 59].

A análise térmica engloba um conjunto de técnicas com princípios diferentes e consequentemente aplicações diferentes. As principais técnicas serão discutidas brevemente a seguir.

¹ Tradução livre.

1.6.1 Termogravimetria (TG)

A Termogravimetria é uma técnica na qual a massa da amostra é medida em função do tempo e/ou temperatura, em uma atmosfera específica e controlada [60]. Por meio dessa técnica é possível estudar a decomposição térmica de diversas substâncias como polímeros, alimentos e minerais, além de avaliar a estabilidade térmica e também acompanhar o andamento de eventos de desidratação, oxidação, combustão, entre outras [60-62].

1.6.2 Análise Térmica Diferencial (DTA)

A Análise Térmica Diferencial (DTA) é uma técnica de medição contínua de temperaturas da amostra e de um material de referência inerte, à medida que ambos são aquecidos ou resfriados em um forno. Chama-se de medidas diferenciais, pois é registrada a diferença entre a temperatura da referência T_r e a temperatura da amostra T_a , ou seja, $(T_a - T_r = \Delta T)$, em função da temperatura ou do tempo [61].

1.6.3 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

A Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) mede a diferença de energia absorvida ou liberada de uma substância e um material de referência, termicamente inerte, em função da temperatura ou tempo, sob um programa de temperatura controlado. Existem duas modalidades nessa técnica: Calorimetria Exploratória Diferencial com compensação de potência, na qual a diferença de potência elétrica entre os aquecedores individuais é medido, e a Calorimetria Exploratória Diferencial com fluxo de calor, na qual a diferença na razão do fluxo de calor entre um aquecedor único e a amostra e referência é medido [59, 61].

Por meio das curvas DSC é possível observar eventos relacionados à fusão, cristalização e transições sólido-sólido, tornando o DSC uma das técnicas mais utilizadas na detecção e caracterização inicial de novas formas sólidas, que permite ainda a determinação da relação entre polimorfos, como descrito anteriormente pelas regras de calor de fusão de Burger e Ramberger [63, 64].

As aplicações das técnicas termoanalíticas na indústria farmacêutica têm sido discutidas há anos [65-67]. Esses estudos incluem formulações farmacêuticas e interação no estado sólido [68, 69], estabilidade e degradação térmica [16, 70], pureza [71] polimorfismo [72, 73], dentre outras [74].

Há ainda a possibilidade do uso de técnicas termoanalíticas acopladas às técnicas espectroscópicas, capazes de promover a identificação de substâncias voláteis e intermediários provenientes da degradação térmica, como por exemplo, Termogravimetria Acoplada à Espectrometria de Massas (TG-MS) ou à Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho (TG-FTIR), tornando a caracterização por análise térmica ainda mais completa e versátil.

Diversas farmacopéias citam aplicações das técnicas termoanalíticas, como o estudo da pureza de fármacos e padrões e o estudo de compatibilidade fármaco-excipientes [75-77]. Em destaque, a farmacopeia brasileira, que além de indicar a termogravimetria para análise de perda de massa, apresenta uma sessão na qual explica os conceitos da análise térmica, descrevendo as técnicas de TG e DSC [78].

1.7 Estudos térmicos sobre os β -bloqueadores

Há vários trabalhos descritos na literatura que utilizam técnicas termoanalíticas para caracterização de fármacos, como apresentam as revisões de Giron [74, 79]. No entanto, o que será apresentado é um breve compilado dos principais estudos aplicados à classe dos β -bloqueadores dos últimos dez anos.

Canotilho *et al.* [80] estudaram a recristalização do atenolol, pindolol e betaxolol após sua fusão, por meio de medidas de DSC e Termomicroscopia de Luz Polarizada (PLTM). Eles constataram que a estrutura cristalina que se forma durante o resfriamento após a fusão depende da natureza, da força das ligações, interações intermoleculares, da flexibilidade da cadeia e da maneira como o material funde. Eles também observaram que o atenolol teve um maior grau de cristalinidade que os demais. Posteriormente o mesmo grupo publicou um trabalho no qual descrevem novas formas polimórficas do betaxolol a partir da recristalização do fundido [52].

Wesolowski *et al.* [81], estudaram a compatibilidade do atenolol com diversos excipientes, dentre eles lactose, metilcelulose e β -ciclodextrina utilizando TG e DSC. Nas curvas DSC as alterações são apontadas por mudança nos eventos térmicos, eliminação ou surgimento de picos endotérmico-exotérmicos, e as curvas TG fornecem resultados importantes sobre as misturas físicas. Como conclusão, algumas das substâncias testadas se mostraram incompatíveis e o resultado obtido pelas técnicas termoanalíticas foi confirmado por outras técnicas, como FTIR e Difractometria de raios X de pó (XRPD).

Amorim *et al.* [11], estudaram o comportamento térmico do atenolol e nadolol. Eles observaram que não houve evidências de transformações polimórficas dentre os fármacos, no entanto, o atenolol se recristaliza durante o resfriamento. Pelas análises de TG-FTIR dos gases envolvidos eles constataram que o nadolol se decompõe liberando *terc*-butilamina e isopropanol, e o atenolol se dimeriza após perder amônia, liberando na sequência 2-isopropilamina.

Skotnicki *et al.* [82] pesquisaram a compatibilidade entre bisoprolol-valsartan em diferentes proporções, utilizando DSC, XRPD e Ressonância Magnética Nuclear (NMR). Eles concluíram que os fármacos interagem de forma irreversível, o que pode causar problemas em formulações farmacêuticas, e atribuíram isso aos grupos carboxilas presentes na estrutura do valsartan que reagem com a amina presente na estrutura do bisoprolol. Eles também observaram que uma pequena quantidade de valsartan ($\geq 10\%$) afeta consideravelmente a estrutura cristalina do bisoprolol, e que o DSC é uma técnica mais sensível para verificar esse tipo de modificação do que as demais utilizadas no trabalho.

Gallo *et al.* [12] investigaram a cinética e o mecanismo de decomposição térmica por TG-FTIR do carvedilol. Eles propuseram que o fármaco se decompõe liberando 2-metoxifenol e amônia, seguida da decomposição completa, que libera dióxido de carbono e água. Paralelamente, Silva *et al.* [83], avaliaram a estabilidade do carvedilol com excipientes lipídicos para possível aplicação em liberação controlada de fármacos. Entre os materiais testados estão o ácido esteárico, ácido palmítico e ácido oleico. Por meio das curvas TG e DSC foi possível determinar a estabilidade das misturas que em alguns casos foi menor que a do fármaco isolado.

Ambrozini *et al.* [16] estudaram o comportamento térmico do propranolol. Os resultados apontaram que o fármaco funde em 163,9 °C e se decompõe em uma única etapa de perda de massa entre 200-370 °C. As curvas DSC mostraram que o fármaco apresenta uma cristalização em 125 °C no segundo ciclo de aquecimento, seguida de uma fusão em uma temperatura semelhante à anterior. Utilizando as técnicas termoanalíticas em conjunto eles propuseram que o propranolol se decompõe em 1-naftol, isopropilamina, isopropanol e ácido clorídrico.

Mengqing *et al.* [84], encontraram uma nova forma polimórfica, Forma II, do succinato de metoprolol, a partir da recristalização em metanol. Eles caracterizaram a Forma II por DSC e Difractometria de raios X (XRPD) e verificaram por meio das curvas DSC que o ponto de fusão da Forma II é 126 °C, sendo que o da Forma I, já

conhecida, é 138 °C. Foram realizados diversos testes e constatou-se que a Forma II é metaestável, mais solúvel em água e leva aproximadamente 14 semanas para se converter completamente à Forma I, quando mantida a 40 °C.

Detrich *et al.* [85], estudaram três novas formas sólidas do fumarato de bisoprolol: dois polimorfos, denominados de Forma I e II e um hidrato. A forma I foi obtida em um processo que envolve a síntese e recristalização do sal em acetona e a Forma II foi obtida por agitação da Forma I durante 96 h, também em acetona. O hidrato foi obtido partindo das formas anidras armazenadas em ambiente úmido. Pelas análises de DSC verificou-se que a Forma I, $T_{fus} = 101,5$ °C, pode ser obtida a partir da fusão-recristalização da Forma II, $T_{fus} = 96,6$ °C, e que a relação entre os polimorfos é enantiotrópica. As curvas TG indicaram que a água do hidrato pode ser removida em uma isoterma a 80 °C e que a proporção molar entre a base, fumarato e água é de 2:1:1. Ao mesmo tempo, os testes de solubilidades realizados pelos autores mostraram que todas as formas são solúveis em água.

1.8 OBJETIVOS

1.8.1 Objetivos gerais

Estudar o comportamento térmico e eventuais novas formas sólidas dos fármacos anti-hipertensivos da classe dos β -bloqueadores: cloridrato de labetalol, tartarato de metoprolol e sua base livre, e propor um mecanismo para a degradação térmica dos sais.

1.8.2 Objetivos específicos

Capítulo 3

Estudar o comportamento térmico do cloridrato de labetalol utilizando as técnicas termoanalíticas TG/DTG/DTA, DSC, TG-FTIR e termomicroscopia, assim como técnicas complementares como GC-MS;

Propor um mecanismo para o comportamento térmico do cloridrato de labetalol.

Capítulo 4

Estudar o comportamento térmico do tartarato de metoprolol utilizando as técnicas termoanalíticas TG/DTG/DTA, DSC, TG-FTIR e termomicroscopia, assim como técnicas complementares como HPLC-MS;

Propor um mecanismo para o comportamento térmico do tartarato de metoprolol.

Capítulo 5

Estudar o comportamento térmico e novas formas sólidas da base livre do metoprolol utilizando TG/DTG/DTA, DSC e termomicroscopia, além de técnicas complementares como Difractometria de raios X de pó e FTIR;

Determinar a estrutura cristalina da base utilizando Difractometria de raios X de monocristal;

Realizar a síntese e caracterização de um novo sal combinando o metoprolol com ácido nicotínico.

CAPÍTULO 2

Materiais e métodos

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Reagentes

O cloridrato de labetalol ($C_{19}H_{24}N_2O_3 \cdot HCl$) e o tartarato de metoprolol ($C_{15}H_{25}NO_3 \cdot \frac{1}{2} C_4H_6O_6$) foram obtidos da Sigma ($\geq 98\%$) e antes das análises de TG/DTA e DSC eles foram previamente aquecidos na termobalança até $80\text{ }^{\circ}\text{C}$ para eliminação de possíveis voláteis. A mistura racêmica de metoprolol ($C_{15}H_{25}NO_3$) foi obtida da Toronto Research Chemicals (98%) e o ácido nicotínico ($\geq 99.5\%$) da Sigma e ambos foram usados como recebidos. Dentre os solventes utilizados, o acetato de etila (98%) foi obtido da Fisher, o metanol ($> 99,8\%$) é da Fluka e o *n*-butanol ($\geq 99,7\%$) da Merck.

2.2 Preparação do nicotinato de metoprolol

O sal foi sintetizado utilizando o método de Moagem Assistida por Líquido (LAG), Figura 7. Um total de 50 mg (metoprolol + ácido nicotínico 1:1 mol/mol) foi moído em um moinho de bolas MM400 (Retsch) por 30 min à uma frequência de 15 Hz. A moagem dos sólidos foi feita dentro de um jarro de aço de 10 mL com duas bolas de aço com diâmetro de 7 mm cada, ao qual foi adicionado 10 μL de etanol seco.

Figura 7. Representação da síntese do nicotinato de metoprolol.

2.3 Recristalização para análise por Difratometria de raios X de monocristal

Os cristais de metoprolol base foram obtidos por recristalização em acetato de etila. Inicialmente foi feita uma solução saturada da base no solvente, e esta foi mantida a uma temperatura de $\approx 4\text{ }^{\circ}\text{C}$ em um refrigerador, dentro de um recipiente fechado, até que houvesse o crescimento dos cristais, o que levou

aproximadamente uma semana. Após isso, a solução foi filtrada a vácuo, a frio, utilizando o mesmo solvente, para que os cristais pudessem ser coletados e levados para análise.

Os cristais do sal de nicotinato de metoprolol obtidos a partir da moagem também foram cristalizados a partir de uma solução saturada em uma mistura de solventes: *n*-butanol+metanol (2:1 v/v). A solução supersaturada foi armazenada à $\approx 20\text{ }^{\circ}\text{C}$ em um frasco fechado, por uma semana, até o crescimento dos cristais. Posteriormente o frasco foi aberto para evaporação lenta do solvente por mais uma semana.

2.4 Aquecimento isotérmico no tubo de ensaio

Com o intuito de verificar se o metoprolol base evaporava, foram feitos experimentos na termobalança e no tubo de ensaio para a coleta do material para caracterização. Dessa maneira, a amostra de metoprolol foi colocada em um tubo de ensaio tampado com papel filme, que foi aquecido em banho de glicerina sob um agitador/aquecedor magnético (IKA[®] RH Basic 1) até aproximadamente $150\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 100 minutos. Após isso, deixou-se o tubo em repouso a temperatura ambiente por aproximadamente 2 horas, até que houvesse a sublimação do gás dentro do tubo. Em seguida, o material depositado no tubo foi recolhido e analisado por FTIR/ATR.

2.5 Caracterização

2.5.1 Termogravimetria e Análise Térmica Diferencial Simultânea

As curvas TG/DTG/DTA foram obtidas em um módulo SDT Q-600 (TA Instruments), com massa que variou entre as amostras de 3,0 a 7,0 mg, com precisão de ($\pm 0,1\text{ mg}$), em atmosfera dinâmica de N_2 ou ar seco (vazão de 50 mL min^{-1}) com razão de aquecimento (β) de $10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$, em suporte de amostra aberto de α -alumina para o cloridrato de labetalol e o metoprolol base e porta amostra fechado para o tartarato de metoprolol.

Já a curva TG para o experimento da isoterma do metoprolol base foi feita em atmosfera de ar seco (vazão de 50 mL min^{-1}) com $\beta = 10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$, massa de amostra de 0,99 mg e suporte aberto de α -alumina. O material foi aquecido até $150\text{ }^{\circ}\text{C}$ na termobalança e depois mantido em uma isoterma durante 100 minutos nas mesmas condições.

2.5.2 Calorimetria Exploratória Diferencial

As curvas DSC foram registradas em um módulo Q-10 (TA Instruments), sob atmosfera dinâmica de N₂ (vazão de 50 mL min⁻¹) e razão aquecimento (β) de 10 °C min⁻¹. Para o cloridrato de labetalol e o tartarato de metoprolol utilizou-se massa de amostra de 4,0 mg ($\pm$ 0,1 mg) em suporte amostra de alumínio com furo central na tampa. Já em relação ao metoprolol base e o nicotinato de metoprolol a massa de amostra foi de 1,5 mg ($\pm$ 0,2 mg) em porta amostra hermético de alumínio. A calibração foi feita com índio (99.99+ %), de acordo com as instruções do fabricante.

As curvas da Figura 30 foram obtidas em um DSC por compensação de potência, DSC7 (PerkinElmer), com resfriamento intracooler à -8 °C [etilenoglicol/água, 1:1 (v/v), mistura resfriamento], usando massa de amostra de 1,5 mg ($\pm$ 0,5 mg) em suporte de amostra hermético de alumínio de 10 μ L. A atmosfera utilizada foi de N₂ (vazão de 20 mL min⁻¹) com β = 10 °C min⁻¹. A calibração da temperatura foi feita com bifenil e cafeína, enquanto utilizou-se o índio para calibração da entalpia.

2.5.3 Termomicroscopia com Luz Polarizada / Microscopia *Hot Stage*

Para o cloridrato de labetalol e o nicotinato de metoprolol, a PLTM foi realizada utilizando um *Hot Stage* HS82 (Mettler Toledo) acoplado a um microscópio BX51 (Olympus) equipado com uma câmera digital SC30 (Olympus). A amostra foi aquecida da temperatura ambiente até 225 °C com razão de aquecimento de 10 °C min⁻¹. Para intervalos de temperatura no qual desidratação, fusão ou alguma transição cristalina pudesse estar presente (80-120 °C e 170-225 °C), foi empregada razão de aquecimento de 5 °C min⁻¹.

Já para o tartarato de metoprolol e o metoprolol base as medidas foram feitas em um *Hot Stage* DSC600 (Linkam), acoplado a um microscópio DMRB (Leica) com uma câmera de vídeo CCD-IRIS/RGB (Sony) em um suporte de vidro de 7 mm. As imagens foram obtidas combinando o uso de luz polarizada e compensadores de onda, com magnificação de 200x. Para a análise das imagens foi utilizado o software Real Time Video Measurement System (Linkam).

2.5.4 Análise dos gases evoluídos por Termogravimetria acoplada à Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho

A caracterização dos gases evoluídos foi feita utilizando o módulo SDT Q600 (TA Instruments), acoplado ao espectrômetro iS10 FTIR (Nicolet). A linha de transferência consiste em um tubo de aço inoxidável de 1200 mm de comprimento e 3 mm de diâmetro interno, aquecida à temperatura constante de 225 °C e purgada com nitrogênio. A cela do compartimento do detector foi aquecida a 250 °C. As medidas foram feitas com razão de aquecimento de 10 °C min⁻¹, sob atmosfera dinâmica de nitrogênio (vazão de 60 mL min⁻¹), usando massa da amostra de aproximadamente 13,0 mg em suporte de amostra de α -alumina.

2.5.5 Difractometria de raios X de monocristal

A determinação da estrutura cristalina do metoprolol base e do nicotinato de metoprolol foi feita utilizando SXR. Para isso, um difratômetro Kappa Apex II CCD (Bruker-Nonius) com radiação de Mo (Mo K α monocromada por grafite, (λ = 0,71073 Å) foi utilizado. Os monocristais apresentaram uma deterioração significativa quando expostos aos raios X à temperatura ambiente. Os métodos diretos foram utilizados para resolver as estruturas utilizando o programa SHELXS 97. O refinamento foi feito utilizando o método dos mínimos quadrados de matriz completa com o programa SHELXL-97 [54] e as diferenças entre os fatores de estrutura observados e calculados, em F^2 , foram minimizadas. Os átomos não hidrogenóides foram refinados anisotropicamente. Os átomos de H foram colocados em posições ideais, calculados e refinados com fatores térmicos isotrópicos. Os átomos de H dos grupos OH e NH foram localizados por síntese de Fourier e refinados como grupos rígidos, utilizando restrições DFIX.

2.5.6 Difractometria de raios X de pó

As amostras foram caracterizadas por Difractometria de raios X de pó utilizando dois equipamentos: um difratômetro de pó MiniFlex 600 (Rigaku) com um detector D/teX-Ultra e um difratômetro de pó ENRAF–NONIUS (Bruker) equipado com um detector CPS120 (INEL), no qual o porta amostra consistia em capilares de vidro com 0,5 mm diâmetro que eram preenchidos com o pó. Em ambos os casos radiação de Cu (λ = 1,5406 Å) foi utilizada e ambos os equipamentos foram calibrados com silício.

2.5.7 Espectroscopia vibracional na região do infravermelho

O espectro das amostras foi registrado à temperatura ambiente em um IR300 FTIR (Thermo Nicolet) utilizando um acessório Smart Orbit ATR. Os espectros foram feitos com resolução de 2 cm^{-1} utilizando 64 varreduras.

2.5.8 Espectro vibracional na região do infravermelho teórico

O espectro teórico/calculado de FTIR para a molécula de metoprolol foi utilizado para a atribuição das bandas do espectro da amostra comercial. A conformação inicial utilizada foi a da molécula extraída da estrutura cristalina [CCDC = 1883843]. Os cálculos foram realizados utilizando a *density functional theory* (DFT) com o funcional híbrido RB3LYP e o conjunto 6-311G++(d, p). Todos os cálculos foram feitos utilizando o programa GAUSSIAN 03W e os resultados foram analisados no programa GAUSSVIEW.

2.5.9 Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas

Os intermediários de degradação térmica do cloridrato de labetalol foram analisados por GC-MS. O cloridrato de labetalol foi aquecido na termobalança até $230\text{ }^{\circ}\text{C}$, onde foi feita a coleta do material. O sólido recolhido foi solubilizado em metanol (grau massas) e submetido à análise GC-MS em um cromatógrafo a gás (Shimadzu) acoplado a um espectrômetro de massas GCMS-QP2010 (Ultra), com temperatura do injetor e de interface de $230\text{ }^{\circ}\text{C}$, utilizando uma coluna SH-RTX-5MS de $30\text{ m} \times 0,25\text{ mm}$ (Shimadzu) com fase estacionária de $0,25\text{ }\mu\text{m}$ de espessura composta por 5% difenil/95% dimetil polissiloxano, com fluxo de gás nitrogênio de $1,8\text{ mL min}^{-1}$, e rampa de aquecimento de $2\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ até $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ e depois de $20\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ até $230\text{ }^{\circ}\text{C}$.

2.5.10 Cromatografia Líquida de alta Eficiência acoplada à Espectroscopia de Massas

Os intermediários sólidos da decomposição do tartarato de metoprolol foram caracterizados por HPLC-MS. O fármaco foi aquecido na termobalança até $290\text{ }^{\circ}\text{C}$ nas mesmas condições descritas nos experimentos de TG. O material foi recolhido, solubilizado em metanol ($20\text{ }\mu\text{g mL}^{-1}$) e injetado em um sistema HPLC (Shimadzu) acoplado a um espectrômetro de massas do tipo Íon Trap (Brucker). Uma coluna C18 de $2,7\text{ }\mu\text{m}$ (Cortecs[®] 2,1x100mm, Waters) foi utilizada na análise.

A fase móvel consistia em (A) água e 0,1% (v/v) de ácido fórmico e (B) acetonitrila e 0,1% (v/v) de ácido fórmico, com vazão de 0,25 mL min⁻¹. A análise de massas foi realizada em um espectrômetro de massas com ionização do tipo electrospray (ESI) em um modo positivo. A aquisição dos dados foi feita no intervalo de m/z 80-800 no cromatograma.

CAPÍTULO 3

Estudos termoanalíticos do cloridrato de labetalol

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Termogravimetria e Análise Térmica Diferencial

As curvas TG/DTG/DTA do cloridrato de labetalol sob atmosfera de N₂ e ar estão apresentadas na Figura 8. De acordo com essas curvas o labetalol se mostrou termicamente estável até 176 °C sob as condições utilizadas, em ambas as atmosferas, e se decompôs após fundir. Em atmosfera de ar, um evento adicional foi observado nas curvas DTG e DTA a 550 °C, associado à combustão do material carbonizado.

A Tabela 3 sumariza os dados quantitativos referentes às curvas TG, tais como perdas de massa, intervalo referentes às temperaturas dos picos, e temperatura dos picos DTA observados.

Sob atmosfera de N₂, foi observada a liberação de água na 1ª etapa de perda de massa, seguida da liberação de ácido isociânico e água na 2ª etapa e metilbenzeno na 3ª etapa, até finalmente formar um resíduo carbonizado que se decompõe lentamente, sem completar a decomposição até 1000 °C. Em ar observam-se os mesmos eventos, porém surge um evento de combustão do material carbonizado em torno de 470 °C. A atribuição de tais eventos será discutida posteriormente durante a apresentação dos resultados da análise dos gases evolvidos (EGA) por TG-FTIR, no qual foi possível caracterizar os produtos gasosos.

Nas curvas DTA foi possível observar picos endotérmicos em 191,5 °C (Fig. 8 (b), N₂) e 191,2 °C (Fig. 8(d), ar) que são relacionados à fusão do fármaco, seguidos de picos endotérmicos/exotérmicos relacionados à decomposição da amostra, em concordância com os eventos observados nas curvas TG/DTG. De acordo com a literatura [86], o cloridrato de labetalol funde entre 180-190 °C, o que está em concordância com o observado neste trabalho.

Figura 8. Curvas TG/DTG (a,c) e DTA (b,d) do cloridrato de labetalol. Massa de amostra de 7,0 mg ($\pm 0,1$ mg), em (a,b) N_2 e (c,d) ar seco, com $\beta = 10 ^\circ C min^{-1}$.

Tabela 3. Eventos propostos, intervalos de temperatura, perdas de massa e picos DTA obtidos durante o aquecimento do cloridrato de labetalol sob atmosfera de N₂ e ar

Eventos atribuídos	Interv. temp. / °C	TG		DTA
		Perda de massa / %		T _{pico} / °C
		TG	Calculado	

Nitrogênio				
C ₁₉ H ₂₄ N ₂ O ₃ • HCl _(s) → C ₁₉ H ₂₂ N ₂ O ₂ • HCl _(l)				191,5
C ₁₉ H ₂₄ N ₂ O ₃ • HCl _(l) → C ₁₉ H ₂₂ N ₂ O ₂ • HCl _(l) + H ₂ O _(g)	176,7-204,6	5,0	4,9	191,8 (endo)*
C ₁₉ H ₂₂ N ₂ O ₂ • HCl _(l) → C ₁₈ H ₂₁ N • HCl _(l) + HNCO _(g) + H ₂ O _(g)	204,6-260,3	16,6	16,7	252,1 (endo)
C ₁₈ H ₂₁ N • HCl _(l) → C ₁₁ H ₁₇ N • HCl _(l) + C ₇ H _{8(g)}	260,3-310,4	26,8	25,6	293,8 (endo)
C ₁₁ H ₁₇ N • HCl _(l) → resíduo carbonizado	310,4-491,0	20,0	-	574,2 (endo)
C ₁₁ H ₁₇ N • HCl _(l) → pirólise do resíduo carbonizado	491,0-1000	8,9	-	
Resíduo	1000	22,7	-	

Ar				
C ₁₉ H ₂₄ N ₂ O ₃ • HCl _(s) → C ₁₉ H ₂₂ N ₂ O ₂ • HCl _(l)				191,2
C ₁₉ H ₂₄ N ₂ O ₃ • HCl _(s) → C ₁₉ H ₂₂ N ₂ O ₂ • HCl _(l) + H ₂ O _(g)	176,2-199,8	4,9	4,9	191,3 (endo)
C ₁₉ H ₂₂ N ₂ O ₂ • HCl _(l) → C ₁₈ H ₂₁ N • HCl _(l) + HNCO _(g) + H ₂ O _(g)	199,8-266,0	16,7	16,7	233,1 (endo)
C ₁₈ H ₂₁ N • HCl _(l) → C ₁₁ H ₁₇ N • HCl _(l) + C ₇ H _{8(g)}	266,0-310,5	25,6	25,6	287,2 (endo)
C ₁₁ H ₁₇ N • HCl _(l) → resíduo carbonizado	310,5-473,1	14,8	-	550,7 (exo)
C ₁₁ H ₁₇ N • HCl _(l) → combustão material carbonizado	473,1-1000	37,2	-	
Resíduo	1000	0,8		

*exo – exotérmico; endo – endotérmico

3.2 Calorimetria Exploratória Diferencial

As curvas DSC do clodridrato de labetalol foram obtidas sob atmosfera dinâmica de nitrogênio, no modo de aquecimento-resfriamento-aquecimento, como apresenta a Figura 9.

Durante o primeiro aquecimento foi possível observar um evento endotérmico com $T_{onset} = 189,2\text{ }^{\circ}\text{C}$, atribuído à fusão do fármaco, seguido de um evento exotérmico, provavelmente devido à decomposição da amostra, uma vez que as curvas TG revelaram perdas de massa nessa temperatura. Este resultado está de acordo com o estudo feito por Mathkar *et al.*, 2009 [87] que utilizaram DSC para verificar a pureza de padrões farmacêuticos, dentre eles o cloridrato de labetalol. Eles observaram um perfil semelhante na curva DSC e atribuíram esse evento à decomposição do fármaco logo após sua fusão.

Durante o resfriamento e segundo aquecimento foi observado um desvio da linha base entre 40-120 $^{\circ}\text{C}$, característico de transições vítreas, sem evidências de recristalização em ambos os ciclos.

Figura 9. Curvas DSC do cloridrato de labetalol sob atmosfera de nitrogênio, massa de amostra de 4,0 mg ($\pm 0,1$ mg) e $\beta = 10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ em suporte de amostra de alumínio.

3.3 Termomicroscopia com Luz Polarizada

As imagens obtidas por PLTM, Figura 10, corroboraram o que foi observado nas curvas DTA e DSC, confirmando que o cloridrato de labetalol funde em aproximadamente 189 °C. A Figura 10(f) (209 °C) apresenta uma magnificação da imagem do líquido que se encontra no centro da figura a 200 °C, no qual claramente é possível observar a presença de bolhas de gás, atribuídas à liberação de água, que está associada à perda de massa observada nas curvas TG.

Figura 10. Imagens obtidas por PLTM durante o aquecimento cloridrato de labetalol, com magnificação de 200x e $\beta = 5^\circ \text{ min}^{-1}$.

3.4 Análise dos gases evolvidos utilizando Termogravimetria acoplada à Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho

O estudo dos gases evolvidos durante a decomposição térmica do cloridrato de labetalol foi feito utilizando termogravimetria acoplada a espectroscopia vibracional na região do infravermelho.

A Figura 11 apresenta o gráfico de Gram-Schmidt, que relaciona a intensidade do sinal de absorbância no infravermelho com tempo de análise, referente ao volume de voláteis que chegam ao detector. De acordo com o gráfico, o pico mais intenso ocorreu aos 33,5 min, que corresponde à temperatura de 355 °C. A temperatura é calculada pela equação:

$$T = T_i + \beta t \quad (1)$$

Na qual T é a temperatura do evento; T_i é a temperatura do início da medida; β é a razão de aquecimento e t o tempo de análise.

Esses valores estão em concordância com os observados nas curvas TG/DTG para o maior intervalo de perda de massa.

Figura 11. Gráfico Gram-Schmidt dos gases evoluídos durante a decomposição do cloridrato de labetalol.

A interpretação dos espectros foi feita com o auxílio das bases de dados Nicolet TGA Vapor Phase[®] e EPA Vapor Phase[®], contidos no software Omnic[®] 8.0 da Thermo Scientific e a base de dados NIST [88, 89].

A Figura 12 apresenta os espectros FTIR dos gases evoluídos na decomposição do cloridrato de labetalol, coletados em diferentes tempos de análise, em comparação com os espectros da base de dados. A banda em 670 cm^{-1} no espectro ao início da análise (0 min) se deve ao dióxido de carbono residual na linha. No espectro aos 25,0 min (270 °C) foi possível observar a evolução de água e o surgimento de bandas de pequena intensidade na região de 2920 e 2875 cm^{-1} , como ilustra a área destacada em azul. Aos 28,4 min (304 °C) essas bandas se tornam mais intensas, enquanto outras surgem em 3077 , 3033 , 2930 , 2876 , 2378 , 2280 cm^{-1} e 730 cm^{-1} . Finalmente, após 33,5 min (355 °C) novas bandas aparecem em 962 e 930 cm^{-1} , enquanto as observadas anteriormente se tornam mais intensas.

Figura 12. Espectros FTIR dos gases evolvidos durante a decomposição do cloridrato de labetalol em diferentes tempos de análise, em comparação com os espectros da base de dados.

Na Tabela 4 é apresentada uma proposta de atribuição dessas bandas por comparação com as informações da base de dados, pela qual se pode concluir que os compostos evolvidos são água, dióxido de carbono, amônia, metilbenzeno e ácido isociânico. A decomposição do ácido isociânico, na linha, gera amônia e dióxido de carbono, como reportado previamente [90, 91].

Tabela 4. Comparação das bandas que aparecem no espectro FTIR dos gases evoluídos na decomposição do cloridrato de labetalol aos 35,5 min de análise (355 °C) com aquelas descritas e atribuídas nos espectros da base de dados

Clor. labetalol 33,5 min (355 °C) (Número de onda / cm ⁻¹)	Base de dados (Número de onda / cm ⁻¹)	Atribuição*
	Amônia	
967	966	N-H**
932	931	
	Dióxido de carbono	
2378	2364	$\nu(\text{O}=\text{C}=\text{O})_{\text{assimétrico}}$
703	698	
	Metilbenzeno	
3071	3078	$\nu(\text{=C-H})_{\text{sp}}^2$
3033	3039	
2930	2938	C-H**
2876	2885	
739	730	$\delta(\text{=C-H})_{\text{fora do plano}}$
700	695	
	Ácido isociânico	
2280	2278	$\nu(\text{-N}=\text{C}=\text{O})$
718	716	

*Fonte: PAVIA, et al., 2014 [92]; **modo vibracional não identificado

Durante a decomposição do cloridrato de oxitetraciclina foi observada a saída de HCl na primeira etapa de perda de massa do fármaco, assim como para o cloridrato de fluoxetina [90, 93]. Entretanto, percebe-se que o comportamento não foi o mesmo para o cloridrato de labetalol, já que não foi observada a evolução desse gás nos dados de TG-FTIR. Esse resultado foi confirmado posteriormente pela análise dos intermediários por GC-MS.

3.5 Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas

A análise por GC-MS contribuiu para identificar os intermediários da decomposição do cloridrato de labetalol. Para isso, o fármaco foi aquecido na termobalança até 230 °C e o resíduo coletado e caracterizado por GC-MS. Os resultados obtidos na análise estão apresentados na Figura 13.

Figura 13. (a) Cromatograma do resíduo coletado a 230 °C na decomposição do clodidrato de labetalol e (b-i) espectros de massa de cada um dos picos separados de acordo com o tempo de retenção.

Analisando o cromatograma, Figura 13(a), nota-se que este apresentou oito picos com seus respectivos tempos de retenção. A presença desse relativo elevado número de substâncias pode ser atribuída ao fato de que a decomposição ocorre em eventos sucessivos, de acordo com as curvas DTG (Figura 8(a,c)), e mesmo quando se trata de um único evento, este pode ser complexo e com múltiplas reações, como sinaliza as 2° derivadas das curvas DTG (Apêndice C). Dessa maneira, a 230 °C espera-se encontrar produtos provenientes não somente da primeira etapa de decomposição, mas também da segunda e terceira. A Tabela 5 sumariza os resultados obtidos pela análise de GC-MS.

Tabela 5. Atribuição dos principais picos obtidos na análise do produto do cloridrato de labetalol aquecido a 230 °C por GC-MS

Tempo de retenção / min	m/z	Atribuição	Referência / Base de dados NIST MS n°
(b) 6,14	132	3-butenilbenzeno	232267 CAS: 768-56-9
(c,d) 6,55, 6,77	132	(2-metil-1-propil)benzeno (<i>cis, trans</i>)	160886 CAS: 768-49-0
(e) 9,51	168	(4-clorobutil)benzeno	114686 CAS: 4830-93-7
(f) 11,43	149	3-amino-1-fenilbutano	236590 CAS: 22374-89-6
(g) 13,62	151	2-hidroxi-5-metilbenzamida	*
(h) 17,31	-	Não identificado	-
(i) 19,69	175	4-fenil-N-vinilbutan-2-amina	*

*atribuído de acordo com o perfil de fragmentação

As atribuições acima foram feitas em comparação com espectros de massa contidos na base de dados NIST [89] ou pela análise do perfil de fragmentação obtido a partir do íon molecular em cada espectro.

De acordo com os dados obtidos no cromatograma, o pico mais intenso tem tempo de retenção de $t_R = 11,43$ min, identificado como 3-amino-1-fenilbutano ($m/z = 149$) [89]. Os picos aos $t_R = 6,14$; $6,55$; $6,77$ min foram atribuídos aos compostos 3-butenilbenzeno ($m/z = 132$) e (2-metil-1-propil)benzeno ($m/z = 132$) *cis* e *trans*, respectivamente. Apesar de apresentarem a mesma massa, a atribuição de cada um foi feita de acordo com a fragmentação e a comparação entre os espectros da base de dados. O pico aos $t_R = 9,51$ min foi atribuído ao composto 4-clorobutilbenzeno ($m/z = 168$).

Os outros dois picos em $t_R = 13,6$ e $19,6$ min foram atribuídos à presença dos compostos 2-hidroxi-5-metilbenzamida ($m/z = 151$) e 4-fenil-N-vinilbutan-2-amina ($m/z = 175$) respectivamente, e foram propostos com base no perfil de fragmentação e considerando a molécula original de cloridrato de labetalol. O pico em $t_R = 17,3$ min não pode ser atribuído com segurança.

A presença do composto 4-clorobutilbenzeno corrobora a proposição de que não há saída de HCl até 230°C . Uma vez que a m/z e o espectro de massa na Figura 13(i) sugere a presença de um composto contendo uma dupla ligação no carbono que era ligado à hidroxila, pode-se confirmar que, de fato, houve uma desidratação pela perda de $-\text{OH}$ e formação de uma dupla ligação que elimina água, semelhante a uma desidratação intramolecular de álcoois, como proposto nas curvas TG e na termomicroscopia.

Dessa forma, de acordo com o observado no cromatograma, pode-se concluir que as substâncias em maior proporção no resíduo são 3-amino-1-fenilbutano e 4-fenil-N-vinilbutan-2-amina, devido à intensidade dos picos, o que indica que a molécula do cloridrato de labetalol se fragmenta depois da desidratação em ambos os lados da dupla ligação, mas preferencialmente no lado da amina.

3.6 Mecanismo

De acordo com os resultados observados nas curvas TG/DTG/DTA e DSC, além do espectro FTIR dos gases evolidos na decomposição do cloridrato de

labetalol e os resultados de GC-MS, foi proposto um mecanismo para o comportamento térmico do fármaco, que está apresentado na Figura 14.

Figura 14. Mecanismo proposto para o comportamento térmico do cloridrato de labetalol.

3.7 CONCLUSÕES PARCIAIS

As curvas TG/DTG/DTA, juntamente com a análise por TG-FTIR revelaram que o cloridrato de labetalol se decompõe em 176 °C após fundir, liberando água na primeira etapa de perda de massa, seguido da liberação de outra molécula de água juntamente com ácido isociânico na segunda etapa, o qual se decompõe em amônia e dióxido de carbono e libera metilbenzeno na terceira etapa de perda de massa, produzindo um resíduo carbonizado que se degrada em nitrogênio ou sofre combustão em ar. Esses resultados foram confirmados na análise por GC-MS, pela qual foi possível identificar alguns intermediários e contribuir para a proposta do mecanismo de degradação do fármaco. As curvas DSC apresentaram um evento endotérmico durante o primeiro aquecimento aos $T_{fus} = 189,2$ °C atribuído à fusão da amostra, assim como o observado na termomicroscopia. Nenhuma recristalização pode ser observada nos outros ciclos, apenas uma transição vítrea, indicando que o sólido se tornou menos cristalino.

CAPÍTULO 4

Estudos termoanalíticos do tartarato de metoprolol

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Termogravimetria e Análise Térmica Diferencial

As curvas TG/DTG/DTA do tartarato de metoprolol estão apresentadas na Figura 15. De acordo com as curvas, Figura 15 (a,c), o tartarato de metoprolol foi estável até 155 °C, nas condições utilizadas, em atmosfera de N₂ e ar.

Sob atmosfera de N₂, o tartarato de metoprolol se decompôs em duas etapas de perdas de massa, liberando ácido tartárico na 1ª etapa, que se decompõe em água, monóxido de carbono e dióxido de carbono. Na 2ª etapa houve liberação de dimetil éter, isocianato de propila, dióxido de carbono, amônia (provavelmente provenientes da decomposição do isocianato), e 1-etoxi-4-metilbenzeno. Em ar foram observados os mesmos eventos, porém com uma etapa adicional devido à combustão do material carbonizado. Os sinais observados em 122-123 °C nas curvas DTG, provavelmente são devidos à acomodação da amostra durante o processo de fusão. Os compostos atribuídos durante as etapas de decomposição foram sugeridos de acordo com as perdas de massa e análise dos gases evoluídos (EVA) por TG-FTIR, a qual será discutida posteriormente.

As curvas DTA, Figura 15 (b, d), apresentaram um pico endotérmico intenso relativo à fusão da amostra em $T_{onset} = 123,4$ °C e 124,2 °C (N₂ e ar respectivamente), semelhante ao ponto de fusão reportado na literatura para esse sal [94]. Os outros picos endotérmicos e exotérmicos foram relacionados à decomposição da amostra, de acordo com o observado nas curvas TG/DTG. Em ar, um evento exotérmico adicional foi observado durante a decomposição da amostra, associado à combustão do material carbonizado. A Tabela 6 sumariza os resultados obtidos nas curvas TG/DTG/DTA.

Figura 15. Curvas TG/DTG (a,c) e DTA (b,d) do tartarato de metoprolol. Massa de amostra de 4,0 mg ($\pm 0,1$ mg), em atmosfera de (a,b) N_2 e (c,d) ar seco, $\beta = 10$ $^{\circ}C$ min^{-1} .

Tabela 6. Eventos propostos, intervalos de temperatura, perda de massa e picos DTA obtidos durante o aquecimento do tartarato de metoprolol sob atmosfera de N₂ e ar

Eventos atribuídos	TG			DTA
	Interv. temp. / °C	Perda de massa / %		T _{pico} / °C
		Exp.	Calc.	
Nitrogênio				
C ₁₅ H ₂₅ NO ₃ • C ₄ H ₆ O _{6(s)} → C ₁₅ H ₂₅ NO ₃ • C ₄ H ₆ O _{6(l)}	-	-	-	123,4 (endo)
C ₁₅ H ₂₅ NO ₃ • C ₄ H ₆ O _{6(l)} → C ₁₅ H ₂₅ NO _{3(l)} + CO _{2(g)} + CO _(g) + H ₂ O _(g)	155,4 – 232,0	21,7	21,9	215,9 (endo)
C ₁₅ H ₂₅ NO _{3(l)} → C ₂ H ₆ O _(g) + C ₄ H ₇ NO _(g) + C ₉ H ₁₂ O _(g)	232,0-652,6	77,2	78,1	290,6 (endo)
Resíduo	1000	0,7	-	-
Ar				
C ₁₅ H ₂₅ NO ₃ • C ₄ H ₆ O _{6(s)} → C ₁₅ H ₂₅ NO ₃ • C ₄ H ₆ O _{6(l)}	-	-	-	124,2 (endo)
C ₁₅ H ₂₅ NO ₃ • C ₄ H ₆ O _{6(s)} → C ₁₅ H ₂₅ NO _{3(l)} + CO _{2(g)} + CO _(g) + H ₂ O _(g)	152,6-229,1	22,1	21,9	212,2 (endo)
C ₁₅ H ₂₅ NO _{3(l)} → C ₂ H ₆ O _(g) + C ₄ H ₇ NO _(g) + C ₉ H ₁₂ O _(g)	229,1-444,7	72,2	78,1	282,1 (endo),
Combustão do material carbonizado	444,7-1000	6,1	-	524,1 (exo)
Resíduo	1000	0,3	-	-

*endo – endotérmico; exo – exotérmico

4.2 Calorimetria Exploratória Diferencial

As curvas DSC do tartarato de metoprolol foram obtidas em modo de aquecimento-resfriamento-aquecimento em atmosfera de N₂, como apresenta a Figura 16.

No primeiro aquecimento foi possível observar um evento endotérmico em $T_{onset} = 121,7\text{ }^{\circ}\text{C}$, que foi atribuído à fusão da amostra ($\Delta_{fus}H = 35,9\text{ kJ mol}^{-1}$ e $\Delta_{fus}S = 90,9\text{ J K}^{-1}\text{ mol}^{-1}$) [95].

Nenhum outro evento endotérmico ou exotérmico foi observado nas curvas. Entretanto, houve um desvio da linha base de -10 a 40 °C no resfriamento e segundo aquecimento, característico de transições vítreas, sugerindo que o sólido se tornou não cristalino. Os resultados apresentados aqui estão em concordância com o observado em trabalhos anteriores [27, 96].

Figura 16. Curvas DSC do tartarato de metoprolol sob atmosfera de N₂, massa de amostra de 4,0 mg ($\pm 0,1$ mg), $\beta = 10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ em suporte de amostra de alumínio.

De acordo com Paolli *et al.* [27] o tartarato de metoprolol leva de quatro a seis dias para recrystalizar a temperatura ambiente. Entretanto, os testes feitos neste trabalho indicaram que a 50 °C o fármaco se recrystaliza após um dia. Embora Ragnarsoon e Sjogren [97] indiquem que o tartarato de metoprolol apresente um

polimorfo que funde em aproximadamente 118 °C, nas condições utilizadas neste trabalho não foi observado polimorfismo referente ao sal, embora tentativas para encontrar a forma descrita tenham sido feitas.

4.3 Termomicroscopia com Luz Polarizada

As imagens de termomicroscopia dos cristais de tartarato de metoprolol, Figura 17, permitiram observar o processo de fusão dos cristais, que se inicia em torno de 120 °C e se completa aos 124 °C, corroborando os resultados observados na curvas DSC.

Figura 17. Imagens obtidas por PLTM durante o aquecimento do tartarato de metoprolol, com magnificação de 200x, e $\beta = 10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$.

4.4 Análise dos gases evoluídos utilizando Termogravimetria acoplada à Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho

Os resultados para a análise EVA durante a decomposição térmica do tartarato de metoprolol utilizando TG-FTIR são apresentados nas Figura 18 e 19. Novamente, a interpretação dos espectros foi feita com o auxílio das bases de dados Nicolet TGA Vapor Phase[®] e EPA Vapor Phase[®], contidos no software Omnic[®] 8.0 da Thermo Scientific e a base de dados NIST [88, 89].

De acordo com o gráfico de Gram-Schmidt, Figura 18, a evolução dos gases começou a partir dos 16 min (180 °C), apresentando dois picos de intensidade máxima aos 20,9 min (229 °C) e aos 28,1 min (301 °C), que estão de acordo com as duas etapas de perda de massa observadas nas curvas TG/DTG. As temperaturas foram calculadas de acordo com a Equação 1, apresentada no capítulo anterior.

Figura 18. Gráfico Gram-Schmidt dos gases evolidos durante a decomposição do tartarato de metoprolol.

A Figura 19(a) apresenta os espectros dos gases evolidos na decomposição do tartarato de metoprolol em diferentes tempos de análise. Aos 20,9 min (229 °C) bandas intensas na região de 2373 e 2296 cm^{-1} podem ser observadas, as quais perdem intensidade aos 23,9 min (259 °C), concomitantemente ao aparecimento de diversas bandas na região de 2980, 2934, 2877, 2264, 1242, 1177, 1123, 969, 930 e 827 cm^{-1} ; que se tornam mais intensas aos 28,1 min (301 °C).

De acordo com as curvas TG, a primeira etapa de decomposição do fármaco tem uma perda de massa de 21,7%, estequiometricamente equivalente à saída de ácido tartárico ($\Delta_{\text{mcalc}} = 21,9\%$), como proposto na Tabela 6. Essa proposta pode ser confirmada pela comparação do espectro dos gases evolidos do tartarato de metoprolol aos 20,9 min, com o espectro de decomposição durante o aquecimento do ácido tartárico coletado aos 23,3 min (253 °C), o qual está apresentado na Figura 19(b). Nesse caso também foi feita a comparação do espectro de decomposição do ácido tartárico com espectros teóricos, que sugerem a saída de dióxido de carbono, monóxido de carbono e água durante sua decomposição.

Figura 19. Espectros FTIR dos gases evoluídos durante a decomposição (a) do tartarato de metoprolol em diferentes tempos de análise, (b) do ácido tartárico aos 23,3 min e (c) em comparação com espectros retirados da base de dados.

A decomposição do ácido tartárico já foi discutida por Fukami *et al.* [98], que propuseram que os ácidos *L* e *D*-tartárico se decompõem em 166 °C em atmosfera de N₂, e sugerem que a perda de massa, de acordo com os cálculos estequiométricos, se deve à saída de água e monóxido de carbono, em temperatura semelhante à observada nesse trabalho. Entretanto, nos resultados apresentados acima, além da liberação de dióxido de carbono e água, também foi observada a saída de monóxido de carbono (bandas na região de 2180 e 2112 cm⁻¹) nas análises de TG-FTIR.

Em sequência, a comparação do espectro dos gases evolvidos do fármaco aos 28,1 min com espectros da base de dados sugere a saída de dióxido de carbono (2365 e 657 cm⁻¹), amônia (969 e 930 cm⁻¹), dimetil éter (3013-2830 cm⁻¹), 1-etoxi-4-metilbenzeno (3030-2880; 1240-1110 e 823 cm⁻¹) e isocianato de propila (2269 e 2182 cm⁻¹). A Tabela 7 apresenta a comparação das principais bandas entre os compostos propostos. A presença amônia pode ser atribuída à saída de isocianato de propila, que provavelmente se decompõe em amônia e dióxido de carbono, semelhante ao ácido isociânico, como previamente reportado [90, 91].

Tabela 7. Comparação das bandas presentes no espectro FTIR dos gases envolvidos na decomposição do tartarato de metoprolol aos 20,9 e 28,1 min de análise (229 e 301 °C) e do ácido tartárico aos 23,3 min (253 °C), em comparação com espectros da base de dados

Metoprolol (Número de onda / cm ⁻¹)	Base de dados (Número de onda / cm ⁻¹)	Atribuição*
20,9 min (229 °C)	Produto da decomposição do ácido tartárico aos 23,3 min (253 °C)	
2385	2387	v(O=C=O) _{assimétrico} C≡O
2359	2361	
2332	2332	
2308	2308	
2385	2387	
28,1 min (301 °C)	Isocianato de propila	
2271	2269	-N=C=O**
2184	2182	
28,1 min (301 °C)	Dióxido de carbono	
2350	2365	v(O=C=O) _{assimétrico}
671	675	
28,1 min (301 °C)	Amônia	
969	969	N-H**
930	930	
28,1 min (301 °C)	Dimetil éter	
3032	3013	v(C-H)
2985	2977	
2931	2931	
2831	2837	v(C-O)
1177	1179	
1121	1123	
28,1 min (301 °C)	1-etoxi-4-metilbenzeno	
3087	3081	v(=C-H) _{sp} ² C-H**
2989	2995	
2935	2944	
1242	1244	v(C-O) δ(C-H) fora do plano
1177	1172	
1123	1117	
827	823	

*Fonte: PAVIA, et al., 2014 [92]; **modo vibracional não identificado

4.5 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada à Espectrometria de Massas

A composição dos intermediários formados durante a decomposição do tartarato de metoprolol foi avaliada por HPLC-MS. Para isso, o fármaco foi aquecido na termobalança até 290 °C e o material sólido proveniente foi coletado, solubilizado e injetado no cromatógrafo líquido. O cromatograma e os espectros de massas de cada um dos picos separados de acordo com o tempo de retenção estão apresentados na Figura 20.

De acordo com o observado na Figura 20(a), o cromatograma apresentou diversos picos, sendo os mais intensos observados nos tempos de retenção de 31, 20 e 22 min.

A elucidação dos compostos separados no cromatograma, Figura 20, não pôde ser feita, uma vez que não há perfil de fragmentação para comparação com a base de dados. Entretanto, fica evidente que o primeiro pico observado no cromatograma aos $t_R = 19,6\text{-}20,0$ min, Figura 20(b) é a própria molécula de metoprolol ($MM = 267,36 \text{ g mol}^{-1}$).

A Tabela 8 apresenta os tempos de retenção dos picos mais intensos do cromatograma e uma proposta de fórmula molecular, com sua respectiva massa molar, para cada espectro de massa obtido. Quando o espectro apresentou mais de um pico, o escolhido foi mais intenso.

Figura 20. (a) Cromatograma para o resíduo coletado a 290 °C na decomposição do tartarato de metoprolol e (b-j) espectros de massa dos picos separados de acordo com os tempos de retenção.

Tabela 8. Resultados da análise de HPLC-MS do resíduo obtido no aquecimento até 290 °C do tartarato de metoprolol: tempos de retenção e m/z para cada pico no TIC, e proposição de fórmula molecular e massa molar para os picos mais intensos dos espectros de massa

Tempo de retenção / min	m/z (M+1)	Para o pico mais intenso	
		Fórmula molecular proposta	Massa molar / g mol^{-1}
(b) 19,6-20,0	268,18	$\text{C}_{15}\text{H}_{25}\text{O}_3\text{N}$	267,36
(c) 22,5-22,8	340,24*	$\text{C}_{20}\text{H}_{21}\text{O}_4\text{N}$	339,39
(d) 31,0-31,8	417,31*	$\text{C}_{24}\text{H}_{36}\text{O}_4\text{N}_2$	416,56
(e) 37,1-38,1	470,76; 376,2	$\text{C}_{18}\text{H}_{17}\text{O}_3\text{N}$	295,34
	350,13; 318,19		
	296,21*		
(f) 40,2-40,7	368,24	$\text{C}_{22}\text{H}_{25}\text{O}_4\text{N}$	367,42
(g) 46,8-47,6	543,30, 485,30*	$\text{C}_{29}\text{H}_{44}\text{O}_4\text{N}_2$	484,64
(h) 51,3-51,9	465,32	$\text{C}_{28}\text{H}_{36}\text{O}_4\text{N}_2$	464,57
(i) 55,9-56,4	497,30; 439,29*	$\text{C}_{26}\text{H}_{34}\text{O}_4\text{N}_2$	438,53
(j) 56,8-57,4	467,29*; 445,30	$\text{C}_{28}\text{H}_{38}\text{O}_4\text{N}_2$	466,58

*picos mais intensos

Com exceção do pico (b), todos os outros íons moleculares detectados nos espectros de massa apresentaram massa molar maior que o próprio metoprolol, sugerindo que pode haver uma interação intermolecular na fase líquida, resultando em dímeros ou associações entre moléculas durante a decomposição do fármaco. O último cromatograma (j) apresentou um pico com m/z (M+1) de 445,30 g mol^{-1} , no qual foi atribuído a uma associação dimérica na qual os grupos éter terminais são liberados. A Figura 21 apresenta uma tentativa de elucidação da estrutura do dímero, com massa molar próxima à da encontrada no espectro de massas.

Figura 21. Estrutura sugerida para possível associação entre as moléculas de metoprolol, gerando um dímero de massa molar 446,31 g mol^{-1} .

A saída do grupo éter está de acordo com o detectado na análise de TG-FTIR, entretanto, a estrutura não está resolvida, uma vez que não se pode determinar com exatidão onde ocorre a interação.

A m/z relacionada aos outros picos dos demais espectros de massa às vezes é ainda maior, sugerindo uma sucessiva agregação das moléculas na fase líquida durante o processo de decomposição térmica, enquanto partes da molécula são liberadas. A presença de um grande número de compostos devido aos diversos picos no cromatograma pode ser explicada considerando que a curva TG (Figura 15) uma vez que depois da liberação do contra íon (tartarato), a decomposição ocorre em uma etapa de perda de massa rápida, na qual a amostra original e subprodutos de degradação coexistem. Também é importante considerar que o intermediário foi coletado a 290 °C, temperatura em que 2ª etapa de composição estava em curso.

Algumas evidências suportam a proposta de formação da associação dimérica. A Farmacopéia Americana (USP) apresenta alguns compostos, chamados de impurezas, que podem estar presentes na formulação do tartarato de metoprolol comercializado, advindos provavelmente da síntese do composto, e dentro das quais existem alguns dímeros formados a partir da molécula original [99, 100]. Além disso, a determinação da estrutura cristalina do metoprolol base, que será apresentada durante o Capítulo 5, indicou que as moléculas estão conectadas entre si por fortes ligações de hidrogênio do tipo N-H...O ou O-H....N.

4.6 Mecanismo

De acordo com os resultados obtidos por TG/DTG/DTA e DSC, pela análise dos gases evolvidos por TG-FTIR e os dados de HPLC-MS foi proposto um mecanismo para o comportamento térmico do tartarato de metoprolol, como apresenta a Figura 22.

Figura 22. Mecanismo proposto para a decomposição do tartarato de metoprolol em atmosfera de N_2 .

4.7 CONCLUSÕES PARCIAIS

As curvas TG/DTG/DTA e TG-FTIR revelaram que o tartarato de metoprolol se decompõe em 152-155 °C, liberando ácido tartárico na primeira etapa de perda de massa, o qual, por sua vez, se decompõe em dióxido de carbono, monóxido de carbono e água. Na segunda etapa, os resultados indicaram que o metoprolol libera dimetil éter, passa por uma dimerização, e em seguida se decompõe em isocianato de propila, dióxido de carbono, amônia, provenientes da decomposição do isocianato, e 1-etoxi-4-metilbenzeno. As curvas DSC mostraram que o fármaco funde a $T_{fus} = 121,7$ °C e que não houve recristalização nas condições utilizadas, resultados que estão em concordância com o observado na termomicroscopia. A análise de HPLC-MS sugeriu uma interação intermolecular, devido ao fato de que os compostos encontrados nos espectros de massa apresentavam massa molecular maior do que a da própria molécula original, sugerindo uma possível polimerização à medida que o metoprolol se decompõe.

CAPÍTULO 5

Estudos termoanalíticos e de novas formas
sólidas do metoprolol base livre

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Caracterização do metoprolol base

5.1.1 Determinação da estrutura cristalina do metoprolol por Difractometria de raios X de monocristal

Os estudos do metoprolol na forma de base livre se iniciaram a partir da determinação da estrutura cristalina da amostra comercial por Difractometria de raios X de monocristal, a qual foi posteriormente chamada de Forma I (CCDC 1883843). As informações relativas à determinação estrutural do metoprolol a temperatura de 293 K estão apresentadas no Apêndice D.

A Figura 23 apresenta os resultados obtidos por SXR. De acordo com os quais, o metoprolol se cristaliza em um grupo espacial monoclinico $P2_1/c$, com os enantiômeros *R* e *S* relacionados por um centro de inversão. Cada cela unitária contém quatro moléculas relacionadas por simetria, e na maior cadeia ligada ao anel (C1, O1, C7), a molécula exibe uma conformação estendida, principalmente *trans*. Já no outro braço, o C13 compartilha o plano fenil, mas a ligação C13-C14 é praticamente perpendicular ao anel, como visto pelos ângulos de torção de 99,3 (5)° na Tabela 9, conformação já identificada nos sais de metoprolol por Paoli *et al.* [27]. O Apêndice E contém as tabelas com todos os ângulos de torção selecionados.

Quando se observa a Figura 23(c), nota-se que as ligações de hidrogênio unem as moléculas em fitas diméricas ao longo do eixo cristalográfico *b*, em um padrão similar ao observado no betaxolol, outro fármaco da classe dos β -bloqueadores [52]. A Tabela 10 apresenta as geometrias das ligações de hidrogênio para o metoprolol base.

É interessante notar que, de acordo com os resultados acima, na estrutura supramolecular, as moléculas de metoprolol estão ligadas entre si por ligações de hidrogênio, formando dímeros, além das fitas. Isso pode ser uma evidência que confirma que o mecanismo proposto para a decomposição térmica do tartarato de metoprolol, baseado na formação de dímeros, está correto. O Apêndice F apresenta uma representação da molécula de metoprolol, com as respectivas forças das ligações intermoleculares envolvidas.

Figura 23. (a) Representação tipo ORTEP com elipsóides térmicos com 50% de probabilidade da unidade assimétrica do S-metoprolol. Os átomos de hidrogênio foram omitidos para maior clareza. (b) duas moléculas de metoprolol conectadas por ligações de hidrogênio e (c) empacotamento das moléculas de metoprolol na cela unitária visto ao longo do eixo *b*.

Tabela 9. Ângulos de torção selecionados para o (R,S)-metoprolol / °

Ligação	Angulo de torção / °
C2-C1-O1-C7	2,9(6)
C1-O1-C7-C8	178,2(3)
O1-C7-C8-C9	-163,1(3)
C14-C13-C4-C3	99,3(5)

Tabela 10. Geometria das ligações de hidrogênio do (R,S)-metoprolol (Å / °)

Ligação	D...A	H...A	Ângulo da ligação	Operação de simetria
O2-H2...N1 ⁱⁱ	2,824	1,944	165,9(19)	ii: -x,1-y,-z
N1-H1...O2 ⁱ	3,207	2,475	138,7(14)	i: -x,-y,-z

A Figura 24 apresenta a comparação entre o difratograma de pó experimental do metoprolol base e o difratograma calculado a partir da estrutura cristalina obtida a partir do experimento de SXRD a 293 K. De acordo com os resultados, ambos os difratogramas se mostraram semelhantes, indicando que o cristal pelo qual foi determinado a estrutura cristalina do metoprolol é representativo para o resto do composto, e que aparentemente, ele não apresenta impurezas nem fases diferentes.

Concomitantemente a este trabalho, Rossi *et al.* [101] determinaram a estrutura do metoprolol a 100 K. A comparação entre o difratograma simulado de pó obtido por Rossi também pode ser vista na Figura 24, na qual foi possível observar que os mesmos exibem poucas diferenças, confirmando o metoprolol não apresenta transições de fases visíveis em ambas às temperaturas. A Figura 25 apresenta uma sobreposição entre as moléculas, na qual mostra que ambas são semelhantes, corroborando que a expansão/contração anisotrópica da cela unitária sugerida por Rossi se deve a mudanças no empacotamento.

Para complementar os resultados, também foram feitas Análises da Superfícies de Hirshfeld, e estas estão apresentadas no Apêndice H.

Figura 24. Comparação entre os Difratomogramas de raios X de pó do metoprolol. (a) Difrátograma experimental da forma comercial; (b) difratograma de pó calculado a partir da estrutura cristalina obtida por SXRD a 293 K e (c) Difrátograma calculado a partir da estrutura cristalina obtida por SXRD a 100 K por Rossi *et al.* [101].

Figura 25. Sobreposição das moléculas de metoprolol obtidas a partir das estruturas cristalinas obtidas por SXRD a 100 K (CCDC 1882466) e a 293 K (CCDC 1883843). Estrutura a 100 K retirada de Rossi *et al.* [101]. Os átomos de hidrogênio foram omitidos para melhor clareza.

5.1.2 Termogravimetria e Análise Térmica Diferencial

Em seguida, o comportamento térmico do metoprolol base começou a ser estudado por TG/DTG/DTA, como apresenta a Figura 26. De acordo com as curvas,

o metoprolol foi estável até 128 °C em N₂ e 137 °C em ar, temperaturas nas quais começa uma perda de massa em uma única etapa, que praticamente não deixa resíduos ao final da análise. Essa perda de massa variou entre 102,3 e 247,3 °C em N₂ com $\Delta_m = 99,1\%$ e entre 125,0 e 272,9 °C em ar com $\Delta_m = 100\%$, resultados corroborados pelas curvas DTG.

A comparação dos resultados acima com a literatura não pode ser feita, uma vez que os mesmos são inéditos.

As curvas DTA revelaram dois picos endotérmicos agudos em 53,1 e 235,9 °C em N₂ e 53,2 e 247,2 °C em ar, que foram relacionados com a fusão e perda de massa da amostra, respectivamente.

Entretanto, o perfil agudo dos processos de perda de massa nas curvas DTA sugere que esse evento não seria referente à decomposição, mas a possível evaporação da amostra, nas condições utilizadas nesse trabalho. Para tentar elucidar a natureza desses eventos foi feito um experimento na termobalança, no qual o metoprolol foi aquecido a 10 °C min⁻¹ até 150 °C em atmosfera de ar, e posteriormente mantido em uma isoterma de 100 min na mesma temperatura. A Figura 27 apresenta os resultados obtidos para o experimento.

Figura 26. Curvas TG/DTG (a,c) e DTA (b,d) do metoprolol. Massa de amostra de 3,0 mg ($\pm 0,1$ mg), em atmosfera de (a,b) N_2 e (c,d) ar seco, com $\beta = 10$ °C min⁻¹.

Figura 27. Curva TG do metoprolol base, com massa de amostra de 0,99 mg, em atmosfera de ar seco (50 mL min^{-1}), aquecido até $150 \text{ }^{\circ}\text{C}$ a $10 \text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ e depois mantido em uma isoterma durante 100 min, em suporte de amostra aberto de α -alumina.

De acordo com a curva TG no modo isotérmico, observa-se que há uma perda de massa de $\Delta_m = 98\%$ após os 78 minutos, demonstrando que sob uma condição constante de temperatura o metoprolol evapora a aproximadamente $0,8 \text{ mg h}^{-1}$.

Além disso, um experimento semelhante foi realizado em um tubo de ensaio, para que pudesse haver a coleta do material para caracterização de FTIR/ATR, como apresenta a Figura 28.

Figura 28. (a) Material sublimado no tubo de ensaio após o metoprolol ser aquecido a 150 °C e deixado por 100 min em isoterma e depois 2h em repouso e espectros FTIR/ATR em (b) do metoprolol base comercial e (c) do sólido coletado nas paredes do tubo de ensaio.

De acordo com a comparação entre o espectro do sólido recolhido no tubo com o da base de metoprolol comercial, verifica-se que estes são iguais, evidenciando que se o metoprolol for mantido a temperatura constante, nesse caso de até 150 °C, o fármaco fundido evapora. Esse comportamento foi diferente do observado no tartarato de metoprolol, que se decompõe em 155 °C, como discutido no capítulo anterior.

5.1.3 Calorimetria Exploratória Diferencial

Dando prosseguimento ao estudo do comportamento térmico do metoprolol, a Figura 29 apresenta as curvas de DSC na forma de ciclos de aquecimento-resfriamento-aquecimento.

Durante o primeiro aquecimento, observa-se um evento endotérmico em $T_{onset} = 51,1$ °C relacionado à fusão da forma comercial, chamada de Forma I. Esse resultado está de acordo com o observado por Rossi *et al.* [101]. Durante o resfriamento, observou-se um evento exotérmico devido à recristalização da amostra em $T_{onset} = 8,6$ °C, utilizando a razão de resfriamento de 10 °C min⁻¹. O subsequente aquecimento permitiu a identificação de uma nova fase polimórfica, Forma II, que funde em uma temperatura inferior à Forma I, em $T_{onset} = 36,3$ °C. A Tabela 11 sumariza os resultados obtidos nas curvas DSC.

A nomenclatura da Forma I e Forma II foi adotada por conveniência, sendo a Forma I a comercial e que funde em um ponto de fusão mais alto e a nova forma polimórfica encontrada é a Forma II, com ponto de fusão inferior.

Figura 29. Curvas DSC do metoprolol sob atmosfera de N₂. Massa de amostra de 1,5 mg ($\pm 0,2$ mg), com $\beta = 10$ °C min⁻¹, em suporte de amostra de alumínio hermético.

Tabela 11. Dados obtidos nas curvas DSC do metoprolol base, com $|\beta| = 10$ °C min⁻¹

Ciclo	Evento	$T_{onset} / ^\circ\text{C}$	$\Delta_{fus}H / \text{kJ mol}^{-1}$	$\Delta_{fus}S / \text{J K}^{-1} \text{mol}^{-1}$
1 ° aquec.	Fusão Forma I	$51,1 \pm 0,2$	$+34,2 \pm 1,3$	$+105,0 \pm 3,9$
1° resf.	Cristalização	$8,6 \pm 0,1$	$-19,3 \pm 1,8$	$-72,2 \pm 5,9$
2° aquec.	Fusão Forma II	$36,3 \pm 0,2$	$+24,2 \pm 0,8$	$+77,2 \pm 2,0$

*com n=3 para o cálculo do desvio padrão

Diversos experimentos com razões de resfriamento diferentes foram realizados com o intuito de verificar o comportamento do novo polimorfo. De acordo com esses resultados, a Forma II sempre é obtida depois que a Forma I se funde e é resfriada. Curvas ilustrativas dos experimentos realizados estão apresentadas na Figura 30.

Figura 30. Curvas DSC do metoprolol sob atmosfera de N_2 , massa de amostra de 1,5 mg ($\pm 0,5$ mg), com $|\beta| = 10\text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$ e diferentes razões de resfriamento.

Conforme observado na Figura 30, pode-se verificar que conforme a razão de resfriamento aumenta, a temperatura de recristalização também aumenta e o pico torna-se mais intenso e alargado. Esse fenômeno, já discutido previamente por Wendlandt [62] e Bernal *et al.* [102], dentre outros, acontece devido ao fato de que quanto maior é a razão de aquecimento da amostra, maior é a temperatura em que a transição é detectada, pois a amostra tem menos tempo para absorver o calor e entrar em equilíbrio térmico.

5.1.4 Termomicroscopia com Luz Polarizada

As análises de PLTM ajudaram a elucidar o comportamento da nova forma polimórfica encontrada, como apresenta a Figura 31. Na Figura 31(a), pode se observar o processo de fusão da forma comercial, Forma I, que começa em torno de $50\text{ }^\circ\text{C}$ e aos $52,8\text{ }^\circ\text{C}$ já está completo. Na sequência, Figura 31(b), tem-se outra amostra que já foi fundida e resfriada de maneira controlada e já passou pelo processo de recristalização. Na sequência, observa-se a fusão da amostra em uma temperatura diferente do primeiro aquecimento, aos $34,1\text{ }^\circ\text{C}$, sinalizado pela mudança de coloração devido à passagem dos cristais do estado sólido para o

líquido. Como já observado nas curvas DSC, se trata da fusão da Forma II. Concomitantemente, a amostra começa a recristalizar na Forma I, que funde aos 50 °C, como já visto na Figura 31(a).

Figura 31. Imagens obtidas por PLTM durante o aquecimento em (a) metoprolol, Forma I (b) amostra recristalizada depois da fusão, com $|\beta| = 10 \text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ e 200x de magnificação.

De acordo com os valores de entalpia de fusão obtidos por DSC, os dados observados na termomicroscopia, e as leis de Burger e Ramberger [48, 49] pode-se afirmar que ambos os polimorfos têm uma relação monotrópica, sendo a Forma I a forma estável e a Forma II a metaestável.

5.1.5 Difratometria de raios X de pó

A Difratometria de raios X de pó contribuiu para confirmar os resultados já observados pelas técnicas termoanalíticas. A Figura 32 apresenta os difratogramas de pó de raios X da Forma I e II, nos quais a diferença entre ambas as formas fica evidente. A Forma II pura foi obtida aquecendo a Forma I no equipamento de raios X da Rigaku, seguida de um resfriamento rápido no refrigerador (-20 °C).

Figura 32. Difratogramas de raios X de pó das duas formas polimórficas do metoprolol base.

5.1.6 Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho

Embora Brittain e Fetice [103] tenham apresentado o espectro FTIR do metoprolol base em sua patente, nenhuma atribuição de bandas foi feita. Sendo assim, inicialmente foi obtido o espectro teórico da molécula de metoprolol (Apêndice J), pelo qual foi possível fazer comparação com os espectros experimentais e realizar a atribuição das bandas. Além disso, os espectros da Forma I e II também foram obtidos e comparados entre si, como apresenta a Figura 33.

Comparando os espectros FTIR/ATR das duas formas polimórficas, pode-se observar que eles apresentam diferenças consideráveis na forma das bandas, e que também há o deslocamento de algumas bandas, melhor observado nas figuras expandidas, Figura 33(a,b).

Uma atenção especial deve ser dada aos modos vibracionais dos grupos que participam das ligações de hidrogênio. O alongamento N-H na Forma I apresenta um *blue shift* de $(\nu_{\text{N-H}}) = 3298 \text{ cm}^{-1}$ para $(\nu_{\text{N-H}}) = 3311 \text{ cm}^{-1}$ na Forma II. O oposto foi observado no estiramento envolvendo as ligações de O-H, no qual para a Forma I apareceu em $(\nu_{\text{O}_2\text{-H}}) = 3105 \text{ cm}^{-1}$ e para a Forma II se deslocou para os $(\nu_{\text{O}_2\text{-H}}) = 3075 \text{ cm}^{-1}$ (esses valores foram obtidos pela deconvolução das bandas de O-H). Isso sugere que a força das ligações é diferente, o que indica que as estruturas são diferentes ou há interações diferentes. A Tabela 12 apresenta as atribuições das bandas das duas formas polimórficas.

Figura 33. Espectros FTIR/ATR do metoprolol base Forma I e II.

Tabela 12. Tentativa de atribuição das bandas FTIR/ATR observadas nos espectros da Forma I e II do metoprolol base

Metoprolol Forma I	Metoprolol Forma II	Atribuições*
3298	3311	$\nu(\text{N-H})$
3105	3075	$\nu(\text{O}_2\text{-H})$
2966	2965	$\nu(\text{C-H})$
2906	2921	
2862	2863	
2838	2839	
2826	2827	
2806	2810	
1610	1612	$\nu(\text{C=C})_{\text{anel}}$
1583	1581	$\delta(\text{N-H})$
1512	1511	$\nu(\text{C=C})_{\text{anel}}$
1245	1241	$\nu(\text{C}_1\text{-O}_1)$
1176	1176	$\delta(\text{C-H})_{\text{anel no plano}}$
1108	1105	$\nu(\text{C}_{15}\text{-O}_3\text{-C}_{14})$
1105	1108	$\nu(\text{C}_7\text{-O}_1)$
809	809	$\delta(\text{C-H})_{\text{anel fora do plano}}$
596	608	$\delta(\text{N-H})$
561	542	$\delta(\text{O}_2\text{-H})$
538	518	

*Atribuições feitas em comparação com o espectro teórico da molécula (Apêndice J)

De acordo com as regras empíricas de infravermelho de Burguer e Ramberger [48, 49], o polimorfo com o valor de frequência mais alto para a primeira banda do espectro é a forma metaestável. Neste caso, a Forma II ($\nu\text{N-H}$) = 3311 cm^{-1} , que está de acordo com os resultados obtidos nas curvas DSC.

5.2 SAL DE NICOTINATO DE METOPROLOL

Durante os estudos com o metoprolol base houve uma pesquisa em busca de novas formas cristalinas, com ênfase em cocristais farmacêuticos ou novos sais, que pudessem ser alternativas aos compostos já comercializados. Como apresentado na introdução e observado nos resultados, o metoprolol base apresenta um ponto de fusão relativamente baixo. Somado a isso, os resultados apresentados anteriormente indicaram a presença de uma nova forma polimórfica originada a

partir da fusão e cristalização da forma comercial. Sendo assim, a comercialização do metoprolol na forma de sal se torna necessária para ultrapassar esses problemas.

Dentro dessa perspectiva, diversos co-formadores foram utilizados levando em consideração os heterosintons entre eles e o metoprolol [104] e a patente de Brittain e Fellice [103] que descreve um cocrystal entre o metoprolol e a *L*-teanina. O primeiro grupo de co-formadores foi escolhido pela possibilidade de formação de ligações de hidrogênio entre os compostos, e também por potenciais benefícios que a associação entre eles poderia trazer: *L*-glutamina – aminoácido, nicotinamida e ácido nicotínico – vitaminas, timina e uracil – bases nitrogenadas. Além desses, outros co-formadores foram selecionados, pois apresentavam uma estrutura similar aos do primeiro grupo: succinamida, benzamida e isonicotinamida. Por último, o 4,4-bipiridil foi testado devido à sua alta capacidade para formar cocristais. A estrutura dos co-formadores está detalhada no Apêndice K.

De todos esses co-formadores, nas condições utilizadas – descritas no Capítulo 2, apenas o ácido nicotínico se associou ao metoprolol, formando um sal, o qual teve a estrutura resolvida por SXR, como apresentam os resultados a seguir. Sabe-se que a seleção do sal começa pela diferença de pK_a entre as substâncias, usualmente com o pK_a do ácido sendo duas unidades menor do que o da base [35]. Nesse sentido, o ácido nicotínico (pK_a 2,19 e 4,86) [28] se torna um bom candidato, já que o pK_a do metoprolol é 9,5 [105]. Os demais resultados não serão apresentados, pois não se mostraram satisfatórios.

Os contra íons utilizados comercialmente para o metoprolol - ácido tartárico, fumárico e succínico - são aditivos alimentares [106, 107] e por isso, além do aumento no ponto de fusão, não proporcionam demais benefícios à fórmula. A utilização do ácido nicotínico como contra íon pode gerar melhora das propriedades físicas e químicas proporcionadas pelo sal, e também adiciona uma vitamina à sua formulação.

5.2.1 Determinação da estrutura cristalina do metoprolol por Difractometria de raios X de monocristal

A estrutura do novo sal sintetizado foi determinada por SXR (CCDC 1900590). A tabela que sumariza as informações relativas à determinação estrutural está apresentada do Apêndice D.

De acordo com os resultados das análises de SXR, o nicotinato de metoprolol cristaliza no sistema cristalino triclinico com grupo espacial P-1. Além disso, existe uma transferência de um átomo de hidrogênio do grupo carboxílico do ácido nicotínico para o grupo amônia do metoprolol, característico de sais, como apresenta a Figura 34(a).

Figura 34. (a) Representação tipo ORTEP com elipsóides térmicos a 50% de probabilidade do ânion nicotinato e cátion metoprolol; (b) quatro íons unidos por ligações de hidrogênio e (c) empacotamento das moléculas de nicotinato de metoprolol visto ao longo do eixo *b*. Os átomos de hidrogênio foram omitidos para maior clareza.

A unidade assimétrica é formada por um par de moléculas e existem duas unidades assimétricas por cela unitária. O átomo de nitrogênio compartilha ambos os hidrogênios com dois grupos carboxilatos de ácidos nicotínicos diferentes, enquanto o átomo de hidrogênio da hidroxila também é compartilhado entre os átomos de oxigênio do ácido nicotínico e do metoprolol, como mostra a Tabela 13. Essas ligações de hidrogênio juntam quatro íons, como apresenta a Figura 34(b), e provavelmente são a causa do aumento do ponto de fusão do sal em relação à base. O empacotamento ao longo do eixo *b* é apresentado na Figura 34(c). De acordo com os resultados, não existem espaços acessíveis a solventes.

Tabela 13. Geometria das ligações de hidrogênio do nicotinato de metoprolol (Å / °)

Ligação	D...A	H...A	Ângulo da ligação	Operações de simetria
O2-H2...N1 ⁱⁱ	2,824	1,944	165,9(19)	ii: -x,1-y,-z
N1-H1...O2 ⁱ	3,207	2,475	138,7(14)	i: -x,-y,-z

O Apêndice F apresenta uma figura com o comprimento e a força das ligações intermoleculares do sal.

As estruturas cristalinas dos sais comercializados de metoprolol já foram determinadas e comparadas entre si. O succinato de metoprolol (CCDC 738262) foi descrito por Bartolucci, *et al.* [108], e comparado com os sais de tartarato e fumarato de metoprolol por Paoli, *et al.* [27] e Rossi *et. al.* [109], respectivamente (CCDC 1425892 e 1859786). De acordo com os estudos, eles constataram que a forma geral adotada pelo cátion de metoprolol é análoga entre os sais de fumarato e succinato e que as ligações de hidrogênio que unem a estrutura cristalina dos três sais são muito semelhantes.

No sal de nicotinato de metoprolol, as moléculas de metoprolol se desviam da conformação *all-trans*, mostrando um arranjo mais dobrado (*trans-trans-gauche*), o que é corroborado pelos ângulos de torção, no Apêndice E. Essas cadeias dobradas já foram observadas de maneira semelhante nos sais de metoprolol citados anteriormente. Ao todo na CCDC são descritas cinco formas sólidas para o metoprolol. Três para seus sais com tartarato, succinato e fumarato e outras duas para a base livre, obtidas em diferentes temperaturas e descritas anteriormente no texto.

As figuras das Superfícies de Hirshfeld para o nicotinato de metoprolol estão apresentadas no Apêndice I.

5.2.2 Termogravimetria e Análise Térmica Diferencial

O comportamento térmico do nicotinato de metoprolol foi estudado por TG/DTA e DSC e Termomicroscopia.

A Figura 35 apresenta as curvas TG/DTG/DTA para o sal em atmosfera de N₂ e ar. De acordo com as curvas TG, Figura 35(a,c), o nicotinato de metoprolol foi termicamente estável até 138 °C em N₂ e 143 °C em ar, quando se decompôs em duas etapas concomitantes de perda de massa. Os sinais observados em 127 °C nas curvas DTG provavelmente foram devido à acomodação da amostra durante o processo de fusão.

As curvas DTA, Figura 35(b,d), apresentaram um pico endotérmico intenso em 128 °C, em ambas as atmosferas, referentes à fusão do sal, temperatura muito semelhante ao sal comercializado de tartarato de metoprolol (123-124 °C).

Em N₂ foram observados mais três picos endotérmicos devido à decomposição e pirólise do material carbonizado. Em ar houve dois picos endotérmicos referentes à decomposição do sal e um pico exotérmico devido à combustão do material carbonizado. A Tabela 14 sumariza as informações obtidas nas curvas TG/DTG/DTA e apresenta os intervalos de perda de massa e picos DTA dos eventos observados.

Figura 35. Curvas TG/DTG (a,c) e DTA (b,d) do nicotinato de metoprolol. Massa de amostra de 3,0 mg ($\pm 0,1$ mg), em atmosfera de (a,b) N_2 e (c,d) ar seco, com $\beta = 10^\circ C\ min^{-1}$.

Tabela 14. Eventos observados, intervalos de temperatura, perda de massa e picos DTA obtidos durante o aquecimento do nicotinato de metoprolol sob atmosfera de N₂ e ar

Eventos	Interv. temp. / °C	Perda de massa / %	DTA T _{pico} / °C
Nitrogênio			
$C_{15}H_{25}NO_3 \cdot C_6H_5NO_2 (s) \rightarrow C_{15}H_{25}NO_3 \cdot C_6H_5NO_2 (l)$	-	-	128,1 (endo)
1° etapa	143,3-263,5	82,4	240,8 (endo)
2° etapa	263,5-324,0	13,5	295,3 (endo)
Pirólise resíduo carbonizado	324,0-800	0,2	594,0 (endo)
Resíduo	1000	1,0	-
Ar			
$C_{15}H_{25}NO_3 \cdot C_6H_5NO_2 (s) \rightarrow C_{15}H_{25}NO_3 \cdot C_6H_5NO_2 (l)$	-	-	128,1 (endo)
1° etapa	138,7-265,7	82,1	237,8 (endo)
2° etapa	265,7-345,9	14,4	286,9 (endo)
Combustão do material carbonizado	345,9-800	1,8	475,2 (exo)
Resíduo	1000	1,3	-

*endo - endotérmico; exo - exotérmico

5.2.3 Calorimetria Exploratória Diferencial

As curvas DSC para o nicotinato de metoprolol em um modo de aquecimento-resfriamento-aquecimento estão apresentadas na Figura 36.

Observa-se que durante o 1° aquecimento houve um evento endotérmico em $T_{onset} = 125,6$ °C relativo à fusão da amostra. Durante o resfriamento não foi observado nenhum evento, entretanto, durante o 2° aquecimento observou-se um pico exotérmico em $T_{onset} = 46,9$ °C associado a uma cristalização a frio, seguido de um novo evento endotérmico em $T_{onset} = 124,8$ °C devido à fusão da mesma forma sólida. A Tabela 15 apresenta os dados obtidos a partir das curvas DSC.

Figura 36. Curvas DSC do nicotinato de metoprolol sob atmosfera de N_2 , massa de amostra de 1,5 mg ($\pm 0,2$ mg), $|\beta| = 10 \text{ } ^\circ\text{C min}^{-1}$, em suporte de amostra de alumínio hermético.

Tabela 15. Dados obtidos nas curvas DSC do nicotinato de metoprolol, com $|\beta| = 10 \text{ } ^\circ\text{C min}^{-1}$

Ciclo	Evento	Temperatura / $^\circ\text{C}$	$\Delta_{fus}H / \text{kJ mol}^{-1}$	$\Delta_{fus}S / \text{J K}^{-1} \text{mol}^{-1}$
1º aquec.	Fusão	$125,6 \pm 0,7$	$+56,7 \pm 3,3$	$+141,5 \pm 8,7$
2º aquec.	Cristalização a frio	$46,9 \pm 0,2$	$-32,0 \pm 3,6$	$-98,1 \pm 10,9$
2º aquec.	Fusão	$124,8 \pm 0,2$	$+49,9 \pm 3,5$	$+124,4 \pm 9,0$

*com $n=3$ para o cálculo do desvio padrão

Após a cristalização do sal durante o 2º aquecimento foi feita a coleta do material para análise de XRPD, mas os resultados indicaram que se tratava da mesma fase.

5.2.4 Termomicroscopia com Luz Polarizada

As imagens obtidas a partir da termomicroscopia contribuíram para elucidar o comportamento reversível de fusão e cristalização a frio do nicotinato de metoprolol, como apresenta a Figura 37.

Observa-se que durante o primeiro aquecimento o composto funde em aproximadamente $126 \text{ } ^\circ\text{C}$, processo que está completo aos $128 \text{ } ^\circ\text{C}$. Sua cristalização se inicia somente durante o segundo aquecimento, assim como observado nas

curvas DSC, por volta de 31 °C. Aos 62 °C a recristalização já está completa e em 128 °C verifica-se novamente a fusão da mesma forma sólida.

Figura 37. Imagens obtidas por PLTM do nicotinato de metoprolol obtidas durante (a-c) o 1° aquecimento e (d-f) durante o 2° aquecimento, com $\beta = 5\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ e 100x de magnificação.

5.2.5 Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho

A Figura 38 apresenta os espectros de FTIR do nicotinato de metoprolol em comparação com seus precursores.

A formação do sal é evidenciada pelo desaparecimento de bandas na região de $1900/2400\text{ cm}^{-1}$, características de ligações de hidrogênio entre o ácido carboxílico e a piridina presentes na estrutura do ácido nicotínico [110, 111]. Adicionalmente, duas bandas referentes ao estiramento $\nu(\text{COO}^-)$ em 1554 e 1377 cm^{-1} são observadas no espectro no sal, ao invés da banda em 1700 cm^{-1} , típica do estiramento C=O em ácidos carboxílicos. Além disso, a banda na região 3298 cm^{-1} do metoprolol, referente ao estiramento $\nu(\text{N-H})$, muda para a região de $3100\text{-}2700\text{ cm}^{-1}$, característica de aminas secundárias protonadas [92]. Ainda no espectro do metoprolol, observa-se que o estiramento $\nu(\text{O-H})$ tem um *blue shift* de 3105 cm^{-1} para 3155 cm^{-1} , indicando que a ligação O-H é mais forte no sal.

Figura 38. Espectros FTIR do ácido nicotínico, metoprolol e nicotinato de metoprolol em (a) no intervalo de 4000-400 cm^{-1} e (b) 2000-400 cm^{-1} .

O comportamento reversível da fusão com a cristalização a frio do nicotinato de metoprolol, aliado ao benefício da associação com uma vitamina podem ser úteis para uma nova formulação farmacêutica. A dose recomendada de tartarato de metoprolol varia entre 50-100 mg (40-80 mg de metoprolol) [26] e, levando em consideração que 40 mg de metoprolol correspondem a 18 mg (1:1) de ácido nicotínico, a dosagem mínima de vitamina B3 recomendada para um adulto diariamente seria suprida juntamente com a administração do fármaco [100].

5.3 CONCLUSÕES PARCIAIS

Pela primeira vez foi desenvolvida uma investigação sobre novas formas sólidas do metoprolol base. Durante esses estudos, uma nova forma polimórfica foi detectada durante a cristalização a partir do fundido, nomeada de Forma II ($T_{fus} = 36,3 \pm 0,2 \text{ }^{\circ}\text{C}$), a qual apresentou uma relação monotrópica com a forma comercial, Forma I ($T_{fus} = 51,1 \pm 0,2 \text{ }^{\circ}\text{C}$). O fato de que o novo polimorfo pode ser obtido a partir da cristalização do fundido, e levando em consideração o ponto de fusão relativamente baixo da forma comercial, sinalizam que as amostras sólidas de metoprolol podem ter suas características físico-químicas alteradas se as condições corretas de armazenamento não forem providenciadas. A análise de termomicroscopia contribuiu para observar o comportamento das formas sólidas do fármaco. Além disso, as análises de TG/DTA revelaram que o metoprolol, sob as condições utilizadas, evapora. Também foi feita a determinação da estrutura cristalina da base, que cristaliza em um sistema cristalino monoclinico com grupo espacial $P2_1/c$. Observou-se também que as moléculas estão unidas por fortes ligações de hidrogênio formando fitas ao longo do eixo b .

Em relação à pesquisa de novas formas sólidas multicomponentes do metoprolol, nas condições utilizadas, somente o ácido nicotínico interagiu com a base, formando um sal. As análises de SXRD confirmaram a formação do sal na proporção de 1:1, e revelaram que o mesmo apresentou um sistema cristalino triclinico com grupo espacial $P-1$ contendo dois pares de moléculas na cela unitária, dois cátions de metoprolol e dois ânions nicotinato, que se empacotam ao longo do eixo b . O estudo do comportamento térmico do sal mostrou que este foi estável até $140 \text{ }^{\circ}\text{C}$, fundiu em $T_{fus} = 125,6 \text{ }^{\circ}\text{C}$ e passou por uma cristalização a frio em $T_{crist} = 46,9 \text{ }^{\circ}\text{C}$ durante o segundo aquecimento. A temperatura de fusão do sal superior à da base de metoprolol, aliada à inclusão da vitamina B3, tornam o nicotinato de metoprolol um candidato promissor a novas formulações farmacêuticas.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste trabalho foi estudado o comportamento térmico de dois fármacos anti-hipertensivos da classe dos β -bloqueadores, cloridrato de labetalol e tartarato de metoprolol, que são amplamente utilizados no controle da hipertensão e outros problemas cardíacos.

Por meio dos resultados, foi possível verificar que o cloridrato de labetalol fundiu e em seguida se decompôs, liberando água, ácido isociânico, que se decompõe em amônia e dióxido de carbono, e metilbenzeno na 2ª etapa de perda de massa. Já o tartarato de metoprolol, durante o aquecimento libera seu contra íon, ácido tartárico na 1ª etapa de perda de massa, o qual por sua vez se decompôs em dióxido e monóxido de carbono e água. Em seguida, houve a liberação de dimetil éter, seguida de dimerização, e decomposição do fármaco em isocianato de propila, amônia, dióxido de carbono e 1-etoxi-4-metilbenzeno.

Além disso, também foi feito o estudo termoanalítico e espectroscópico da base de metoprolol, por meio do qual foi possível identificar, de forma inédita, uma nova fase polimórfica, que se funde a uma temperatura inferior à forma comercial, próximo da temperatura ambiente. Também, como uma alternativa aos compostos já comercializados, foi realizada a preparação de um novo sal utilizando metoprolol e ácido nicotínico, que soluciona o problema do ponto de fusão relativamente baixo da base e seu polimorfismo, e acrescenta o benefício de uma vitamina à nova formulação.

Esses estudos sinalizaram a importância do descarte correto de medicamentos, já que a decomposição dos mesmos gerou gases tóxicos (HCN, CO, C₂H₆O), e indicaram que é necessário que o manuseio e armazenamento do metoprolol deve ser controlado, para que não haja mudança na forma sólida do mesmo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 7ª DIRETRIZ Brasileira de Hipertensão Arterial. Arquivos Brasileiros de Cardiologia, São Paulo, v. 107, n. 1-83, 2016. Suplemento 3. Disponível em: http://publicacoes.cardiol.br/2014/diretrizes/2016/05_HIPERTENSAO_ARTERIAL.pdf. Acesso em: 10 jul. 2019.
- 2 HEART disease and stroke statistics - 2017 update: a report from the American Heart Association. Circulation, Dallas, v. 135, n. 10, p. e146-e603, 2017. Disponível em <https://www.ahajournals.org/doi/pdf/10.1161/CIR.0000000000000485>. Acesso em 10 julho 2019.
- 3 BRASIL. Ministério da Saúde. **Hipertensão (pressão alta)**: o que é, causas, sintomas, diagnóstico, tratamento e prevenção. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2019. Disponível em: <http://www.saude.gov.br/saude-de-a-z/hipertensao>. Acesso em: 10 jul. 2019.
- 4 MANO, R. **Manual de Hipertensão Arterial**. Rio de Janeiro, v. 1, p. 11-35, 2005.
- 5 BORTOLOTTO, L. A.; COLOMBO, F. M. C. Betabloqueadores adrenérgicos. **Rev. Bras. Hipertens.**, Ribeirão Preto, v. 16, p. 2015-220, 2009.
- 6 STAPLETON, M. P. Sir James Black and Propranolol. The role of the basic sciences in the history of cardiovascular pharmacology. **Texas Heart Inst. J.**, Houston, v. 24, p. 336-342, 1997.
- 7 BAKER, J. G.; HILL, S. J.; SUMMERS, R. J. Evolution of beta-blockers: from anti-anginal drugs to ligand-directed signalling. **Trends Pharmacol. Sci.**, Amsterdam, v. 32, p. 227-234, 2011.
- 8 TAVARES, A.; PLAVNIK, F. L. Inibidores do sistema simpático. **HiperAtivo**, Rio de Janeiro, v. 5, n. 2, p. 91-96, 1998.
- 9 FRISHMAN, W. H. Fifty Years of beta-adrenergic blockade: a golden era in clinical medicine and molecular pharmacology. **Am. J. Med.**, New York, v. 121, p. 933-4, 2008
- 10 EUROPEAN SOCIETY OF CARDIOLOGY. **2018 ESC/ESH Guidelines for the management of arterial hypertension**. London: ESC, 2018. p. 3021-3104.
- 11 AMORIM, P. H. O.; FERREIRA, A. P. G.; MACHADO, L. C. M.; CERVINI, P.; CAVALHEIRO, É. T. G. Investigation on the thermal behavior of β -blockers antihypertensives atenolol and nadolol using TG/DTG, DTA, DSC, and TG-FTIR. **J. Therm. Anal. Calorim.**, Budapest, v. 120, p. 1035-1042, 2015.

- 12 GALLO, R. C.; FERREIRA, A. P. G.; CASTRO, R. E. A.; CAVALHEIRO, E. T. G. Studying the thermal decomposition of carvedilol by coupled TG-FTIR. **J. Therm. Anal. Calorim.**, Budapest, v. 123, p. 2307-2312, 2016.
- 13 CICILIATI, M. A.; DE JESUS, J. H. F.; CAVALHEIRO, E. T. G. Investigation of the thermal behavior of Labetalol. **Thermochim. Acta**, Amsterdam, v. 668, p. 33-39, 2018.
- 14 CICILIATI, M. A.; EUSÉBIO, M. E. S.; SILVA, M. R.; CAVALHEIRO, E. T. G.; CASTRO, R. A. E. Metoprolol: solid forms of a top selling antihypertensive. **CrystEngComm**, Cambridge, v. 21, p. 4319-4328, 2019.
- 15 CICILIATI, M.; CAVALHEIRO, E. T. G., Studies of thermal behavior of metoprolol tartrate. **J. Therm. Anal. Calorim.**, Budapeste, v. 138, p.3653-3663, 2019.
- 16 AMBROZINI, B.; CERVINI, P.; CAVALHEIRO, E. T. G. Thermal behavior of the beta-blocker propranolol. **J. Therm. Anal. Calorim.**, Budapest, v. 123, p. 1013-1017, 2016.
- 17 AGUSTIAN, J.; HARUN KAMARUDDIN, A.; BHATIA, S. Single enantiomeric β -blockers - The existing technologies. **Process Biochem.**, Oxford, v. 45, p. 1587-1604, 2010.
- 18 RIVA, E.; MENNINI, T.; LATINI, R. The α - and β -adrenoceptor blocking activities of labetalol and its RR-SR (50:50) stereoisomers. **Br. J. Pharmacol.**, Oxford, v. 104, p. 823-828, 1991.
- 19 ASHOK, C. V.; SAILAJA, B.; PRAVEEN, K. A. Stability indicating reverse phase high-performance liquid chromatographic method for simultaneous estimation of labetalol and its degradation products in tablet dosage forms. **Asian J. Pharm. Clin. Res.**, Mandsaur, v. 9, p. 242-249, 2016.
- 20 KERNAGHAN, D.; MCKAY, G. Labetalol. **Pract. Diabetes**, Oxford, v. 28, p., 2011.
- 21 METOPROLOL succinate. New York: Drug.com, 2019. Disponível em: <https://www.drugs.com/monograph/metoprolol-succinate.html>. Acesso em: 16 jul. 2019.
- 22 BENFIELD, P.; CLISSOLD, S. P.; BROGDEN, R. N. Metoprolol. An updated review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic efficacy, in hypertension, ischaemic heart disease and related cardiovascular disorders. **Drugs**, Auckland, v. 31, p. 376-429, 1986.
- 23 HUANG, X.; XIE, L. S. Q.; LIN, X. Y.; SU, B. Detection of Metoprolol in Human Biofluids and Pharmaceuticals via Ion-Transfer Voltammetry at the Nanoscopic Liquid/Liquid Interface Array. **Anal. Chem.**, Washington, DC, v. 89, p. 945-951, 2017.

- 24 KOCH-WESER, J. Metoprolol. **N. Engl. J. Med.**, Waltham, v. 301, p. 698-703, 1979.
- 25 WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Model Lists of Essential Medicines**. Geneva: WHO, 2017. Disponível em: <https://www.who.int/medicines/publications/essentialmedicines/en/>. Acesso em: 16 jul. 2017.
- 26 AMERICAN COLLEGE OF CARDIOLOGY. **Guideline for the prevention, detection, evaluation, and management of high blood pressure in adults**. Washington, DC: ACC, 2017. Disponível em: https://www.acc.org/~media/Non-Clinical/Files-PDFs-Excel-MS-Word-etc/Guidelines/2017/Guidelines_Made_Simple_2017_HBP.pdf. Acesso em: 16 jul. 2019.
- 27 PAOLI, P.; ROSSI, P.; MACEDI, E.; IENCO, A.; CHELAZZI, L.; BARTOLUCCI, G. L.; BRUNI, B. Similar but different: the case of metoprolol tartrate and succinate salts. **Cryst. Growth Des.**, Washington, DC, v. 16, p. 789-799, 2016.
- 28 GONÇALVES, E. M.; JOSEPH, A.; CONCEIÇÃO, A. C. L.; MINAS DA PIEDADE, M. E. Potentiometric titration study of the temperature and ionic strength dependence of the acidity constants of nicotinic acid (niacin). **J. Chem. Eng. Data**, Washington, DC, v. 56, p. 2964-2970, 2011.
- 29 CARLSON, L. A. Nicotinic acid: the broad-spectrum lipid drug. A 50th anniversary review. **J. Intern. Med**, Chichester, v. 258, p. 94-114, 2005.
- 30 CANNER, P. L.; BERGE, K. G.; WENGER, N. K.; STAMLER, J.; FRIEDMAN, L.; PRINEAS, R. J.; FRIEDEWALD, W. Fifteen year mortality in coronary drug project patients: long-term benefit with niacin. **J. Am. Coll. Cardiol**, San Diego, v. 8, p. 1245-1255, 1986.
- 31 CLOFIBRATE and niacin in coronary heart disease. **JAMA**, Chicago, v. 231, n.4, p. 360-381, 1975.
- 32 AITIPAMULA, S.; BANERJEE, R.; BANSAL, A. K.; BIRADHA, K.; CHENEY, M. L.; CHOUDHURY, A. R.; DESIRAJU, G. R.; DIKUNDWAR, A. G.; DUBEY, R.; DUGGIRALA, N.; GHOGALE, P. P.; GHOSH, S.; GOSWAMI, P. K.; GOUD, N. R.; JETTI, R. R. K. R.; KARPINSKI, P.; KAUSHIK, P.; KUMAR, D.; KUMAR, V.; MOULTON, B.; MUKHERJEE, A.; MUKHERJEE, G.; MYERSON, A. S.; PURI, V.; RAMANAN, A.; RAJAMANNAR, T.; REDDY, C. M.; RODRIGUEZ-HORNEDO, N.; ROGERS, R. D.; ROW, T. N. G.; SANPHUI, P.; SHAN, N.; SHETE, G.; SINGH, A.; SUN, C. C.; SWIFT, J. A.; THAIMATTAM, R.; THAKUR, T. S.; KUMAR THAPER, R.; THOMAS, S. P.; TOTHADI, S.; VANGALA, V. R.; VARIANKAVAL, N.; VISHWESHWAR, P.; WEYNA, D. R.; ZAWOROTKO, M. J. Polymorphs, Salts, and Cocrystals: What's in a Name? **Cryst. Growth Des.**, Washington, DC, v. 12, p. 2147-2152, 2012.

- 33 GRUNENBERG, A.; HENCK, J. O.; SIESLER, H. W. Theoretical derivation and practical application of energy/temperature diagrams as an instrument in preformulation studies of polymorphic drug substances. **J. Pharm. Sci**, New York, v. 129, p. 147-158, 1996.
- 34 DUGGIRALA, N. K.; PERRY, M. L.; ALMARSSON, O.; ZAWOROTKO, M. J. Pharmaceutical cocrystals: along the path to improved medicines. **Chem. Commun.**, Cambridge, v. 52, p. 640-655, 2016.
- 35 STAHL, P. H.; SUTTER, B. Salt selection. *In*: HILFIKER, E., ed. **Polymorphism in the pharmaceutical industry**. Weinheim: Wiley-VCH, 2006. p. 323.
- 36 BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução da diretoria colegiada - RDC nº 222, de 28 de março de 2018. **Diário Oficial da União**, Brasília, nº 61, 29 de março de 2018.
- 37 PHARMACIA BRASILEIRA. Brasília, Conselho Federal de Farmácia, n 87, 2013. Disponível em [http://www.cff.org.br/sistemas/geral/revista/pdf/139/revista_web_\(1\).pdf](http://www.cff.org.br/sistemas/geral/revista/pdf/139/revista_web_(1).pdf). Acesso em: 16 jul. 2019.
- 38 BAUCR, J. F.; SALEKI-GERHARDT, A. **New crystalline polymorph of Ritonavir used for treating HIV infection**. US nº 6894171-B1, 2005.
- 39 HILFIKER, R.; BLATTER, F.; VON RAUMER, M. Relevance of solid-state properties for pharmaceutical products. *In*: HILFIKER, E., ed. **Polymorphism in the pharmaceutical industry**. Weinheim: Wiley-VCH, 2006. p. 1-19.
- 40 UNITED STATES FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. **Guidance for Industry: ANDAs: Pharmaceutical Solid Polymorphism**. Silver Spring: FDA, 2019. Disponível em <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/andaspharmaceutical-solid-polymorphism-chemistry-manufacturing-and-controls-information>. Acesso em: 11 out. 2019.
- 41 MCCRONE, W. C. Polymorphism. *In*: FOX, D.; LABES, M.M.; WEISSBERGER, A. **Physics and chemistry of the organic solid state**. New York: Wiley, 1965. v. 2, p. 725.
- 42 KUHNER-BRANDSTATTER, M. Polymorphie bei Arzneistoffen **Pharm. Unserer Zeit**, Eschborn, v. 4, p. 131-137, 1975.
- 43 LEE, E. H. A practical guide to pharmaceutical polymorph screening & selection. **Asian J. Pharm. Sci**, Amsterdam, v. 9, p. 163-175, 2014.
- 44 SURESH, K.; ASHE, J. S.; MATZGER, A. J. Far-infrared spectroscopy as a probe for polymorph discrimination. **J. Pharm. Sci**, New York, v. 108, p.1915-1920, 2019.

- 45 NYMAN, J.; DAY, G. M. Static and lattice vibrational energy differences between polymorphs. **CrystEngComm**, Cambridge, v. 17, p. 5154-5165, 2015.
- 46 GRANT, D. J. W. theory and origin of polymorphism in polymorphism in pharmaceutical solids. *In*: BRITTAİN, H. G. **Polymorphism in pharmaceutical solids**. New York: Marcel Dekker, 1999. v.1, p. 1-31.
- 47 BRITTAİN, H. G. Theory and principles of polymorphic systems. *In*: BRITTAİN, H. G. **Polymorphism in pharmaceutical solids**. New York: Marcel Dekker, 1999. v.1, p. 1-21.
- 48 BURGER, A.; RAMBERGER, R. On the polymorphism of pharmaceuticals and other molecular crystals. I. **Microchim. Acta**, Wien, v. 72, p. 259-271, 1979.
- 49 BURGER, A.; RAMBERGER, R. On the polymorphism of pharmaceuticals and other molecular crystals. II. **Microchim. Acta**, Wien, v. 72, p. 273-316, 1979.
- 50 GUILLORY, J. K., Generation of polymorphs, hydrates, solvates, and amorphous solids. *In*: BRITTAİN, H. G. **Polymorphism in pharmaceutical solids**. New York: Marcel Dekker, 1999. v.1, p. 183-226.
- 51 XU, L.; JI, X. Y.; JIANG, J. G.; HAN, L.; CHE, S. A.; WU, P. intergrown zeolite mww polymorphs prepared by the rapid dissolution-recrystallization route. **Chem. Mater.**, Washington, DC, v. 27, p. 7852-7860, 2015.
- 52 MARIA, T. M. R.; CASTRO, R. A. E.; SILVA, M. R.; RAMOS, M. L.; JUSTINO, L. L. G.; BURROWS, H. D.; CANOTILHO, J.; EUSEBIO, M. E. S. Polymorphism and melt crystallisation of racemic betaxolol, a beta-adrenergic antagonist drug. **J. Therm. Anal. Calorim**, Budapest, v. 111, p. 2171-2178, 2013.
- 53 HALL, V. M.; BERTKE, J. A.; SWIFT, J. A. A new polymorph of 2,6-diaminopyridine. **Acta Crystallogr., Sect. C: Struct. Chem.**, Hoboken, v. 73, p. 990-993, 2017.
- 54 BERNSTEIN, J. **Polymorphism in molecular crystals**. Oxford, Oxford University Press, 2002. 410 p.
- 55 VISHWESHWAR, P.; MCMAHON, J. A.; OLIVEIRA, M.; PETERSON, M. L.; ZAWOROTKO, M. J. The predictably elusive form ii of aspirin. **J. Am. Chem. Soc.**, Washington, v. 127, p. 16802-16803, 2005.
- 56 BEYER, T.; DAY, G. M.; PRICE, S. L. The prediction, morphology, and mechanical properties of the polymorphs of paracetamol. **J. Am. Chem. Soc.**, Washington, v. 123, p. 5086-5094, 2001.

- 57 DUDOGNON, E.; DANEDE, F.; DESCAMPS, M.; CORREIA, N. T. Evidence for a new crystalline phase of racemic ibuprofen. **Pharm. Res.**, New York, v. 25, p. 2853-2858, 2008.
- 58 GAISFORD, S. KETT, V.; HAINES, P. **Principles of thermal analysis and calorimetry**. 2. ed. London: Royal Society of Chemistry, 2016. 268 p.
- 59 TREVOR LEVER; PETER HAINES; JEAN ROUQUEROL; EDWARD L. CHARSELEY; ECKEREN, P. V.; BURLETT, D. J. ICTAC nomenclature of thermal analysis (IUPAC Recommendations 2014). **Pure Appl. Chem.**, Berlin, v. 86, p. 545-553, 2014.
- 60 HAINES, P. J. **Thermal methods of analysis: principles, applications and problems**. London: Blackie Academic & Professional, 1995. 298 p.
- 61 IONASHIRO, M. **Giolito: fundamentos da termoanálise gravimétrica, análise térmica diferencial e calorimetria exploratória diferencial**. São Paulo: Giz Editorial, 2004. 98 p.
- 62 WENDLANDT, W. W. **Thermal analysis**. 6 ed. New York: Wiley, 1986. 814 p.
- 63 CRAIG, D. Use of differential scanning calorimetry for the characterization of polymorphs. *In*: HILFIKER, E., ed. **Polymorphism in the pharmaceutical industry**. Weinheim: Wiley-VCH, 2006. p. 53.
- 64 PERRENOT, B.; WIDMANN, G. Polymorphism by differential scanning calorimetry. **Thermochim. Acta**, Amsterdam, v. 234, p. 31-39, 1994.
- 65 GIRON, D.; MONNIER, S.; MUTZ, M.; PIECHON, P.; BUSER, T.; STOWASSER, F.; SCHULZE, K.; BELLUS, M. Comparison of quantitative methods for analysis of polyphasic pharmaceuticals. **J. Therm. Anal. Calorim.**, Budapest, v. 89, p. 729-743, 2007.
- 66 SHAH, B.; KAKUMANU, V. K.; BANSAL, A. K. Analytical techniques for quantification of amorphous/crystalline phases in pharmaceutical solids. **J. Pharm. Sci.**, v. 95, p. 1641-1665, 2006.
- 67 GIRON, D. Thermal-analysis in pharmaceutical routine analysis. **Acta Pharm. Jugosl.**, Zagreb, v. 40, p. 95-157, 1990.
- 68 WESOŁOWSKI, M.; ROJEK, B. Thermogravimetric detection of incompatibilities between atenolol and excipients using multivariate techniques. **J. Therm. Anal. Calorim.**, Budapest, v. 113, p. 169-177, 2013.
- 69 LEDETI, I.; BOLINTINEANU, S.; VLASE, G.; CIRCIOBAN, D.; DEHELEAN, C.; SUTA, L. M.; CAUNII, A.; LEDETI, A.; VLASE, T.; MURARIU, M. Evaluation of solid-state thermal stability of donepezil in binary mixtures with excipients using instrumental techniques. **J. Therm. Anal. Calorim.**, Budapest, v. 130, p. 425-431, 2017.

- 70 GOLCU, A.; YUCESYOY, C.; SERIN, S. Synthesis and characterization of metal complexes of acebutolol, atenolol, and propranolol antihypertension drugs. **Synth. React. Inorg., Met.-Org., Nano-Met. Chem.**, New York, v. 34, p. 1259-1275, 2004.
- 71 KESTENS, V.; ZELENY, R.; AUCLAIR, G.; HELD, A.; ROEBBEN, G.; LINSINGER, T. P. J. Differential scanning calorimetry method for purity determination: A case study on polycyclic aromatic hydrocarbons and chloramphenicol. **Thermochim. Acta**, v. 524, p. 1-6, 2011.
- 72 KESTENS, V.; ZELENY, R.; AUCLAIR, G.; HELD, A.; ROEBBEN, G.; LINSINGER, T. P. J. Differential scanning calorimetry method for purity determination: A case study on polycyclic aromatic hydrocarbons and chloramphenicol. **Thermochim. Acta**, Amsterdam, v. 524, p. 1-6, 2011.
- 73 BARBAS, R.; PROHENS, R.; PUIGJANER, C. A new polymorph of Norfloxacin. **J. Therm. Anal. Calorim.**, Budapest, v. 89, p. 687-692, 2007.
- 74 GIRON, D. Applications of thermal analysis in the pharmaceutical industry. **J. Pharm. Biomed. Anal.**, Amsterdam, v. 4, p. 755-770, 1986.
- 75 UNITED STATES PHARMACOPOEIAL CONVENTION. The United States pharmacopeia: USP 31. Rockville: United States Pharmacopeial Convention, 2007. p. 362.
- 76 THE MINISTRY OF HEALTH, LABOUR AND WELFARE. **The japanese pharmacopeia**. 16. ed. Tokio, 2011. p. 65.
- 77 EUROPEAN DEPARTMENT FOR QUALITY OF MEDICINES. **European pharmacopoeia**. 9. ed. Strasbourg, 2013. p. 57.
- 78 ANVISA. **Farmacopeia brasileira**. 5. ed. Brasília, 2010. p. 146.
- 79 GIRON, D. Thermal-analysis in pharmaceutical routine analysis. **Acta Pharmaceut. Jugosl.**, Zagreb, v. 40, p. 95-157, 1990.
- 80 CANOTILHO, J.; CASTRO, R. A. E.; ROSADO, M. T. S.; NUNES, S. C. C.; CRUZ, M. S. C.; REDINHA, J. S. Thermal analysis and crystallization from melts. **J. Therm. Anal. Calorim.**, Budapest, v. 100, p. 423-429, 2010.
- 81 WESOLOWSKI, M.; ROJEK, B. Thermogravimetric detection of incompatibilities between atenolol and excipients using multivariate techniques. **J. Therm. Anal. Calorim.**, Budapest, v. 113, p. 169-177, 2013.
- 82 SKOTNICKI, M.; AGUILAR, J. A.; PYDA, M.; HODGKINSON, P. Bisoprolol and bisoprolol-valsartan compatibility studied by differential scanning calorimetry, nuclear magnetic resonance and x-ray powder diffractometry. **Pharm. Res.**, New York, v. 32, p. 414-429, 2015.

- 83 SILVA, L. A. D.; TEIXEIRA, F. V.; SERPA, R. C.; ESTEVES, N. L.; DOS SANTOS, R. R.; LIMA, E. M.; DA CUNHA-FILHO, M. S. S.; DE SOUZA ARAÚJO, A. A.; TAVEIRA, S. F.; MARRETO, R. N. Evaluation of carvedilol compatibility with lipid excipients for the development of lipid-based drug delivery systems. **J. Therm. Anal. Calorim.**, Budapest, v. 123, p. 2337-2344, 2016.
- 84 MENGQING ZHOU, J. A., SONG LIU, CHAOGANG WU, PINGAN LAI, HAITAO GAO, GUOQING ZHANG. A new polymorphic form of metoprolol succinate. **Pharm. Dev. Technol.**, Abingdon, v. 22, p. 58-62, 2016.
- 85 DETRICH, A.; DOMOTOR, K. J.; KATONA, M. T.; MARKOVITS, I.; LANG, J. V. Polymorphic forms of bisoprolol fumarate. **J. Therm. Anal. Calorim.**, Budapest, v. 135, p. 3043-3055, 2019.
- 86 National Center for Biotechnology Information., PubChem Compound Database; CID=3869, Disponível em: <
<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/labetalol#section=Top> >. Acesso em: 12/04/2017.
- 87 NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. **Labetalol**. Bethesda: PubChem, 2017. Disponível em:
<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/labetalol#section=Top>. Acesso em: 12 Abr. 2017.
- 88 NICOLET-THERMOSCIENTIFIC. **Omic 8.0 software**. Madison: ThermoScientific, 2018.
- 89 NATIONAL INSTITUTE OF STANDARDS AND TECHNOLOGY. **Nist mass spec data center**. Gaithersburg: NIST, 2019. Disponível em:
<https://webbook.nist.gov/chemistry/>. Acesso em: 22 jul. 2019.
- 90 CERVINI, P.; AMBROZINI, B.; MACHADO, L. C. M.; FERREIRA, A. P. G.; CAVALHEIRO, E. T. G. Thermal behavior and decomposition of oxytetracycline hydrochloride. **J. Therm. Anal. Calorim.**, Budapest, v. 121, p. 347-352, 2015.
- 91 JESUS, J. H. F. D.; FERREIRA, A. P. G.; CAVALHEIRO, E. T. G. Thermal behavior of inosine 5'-monophosphate in acidic form and as alkali and alkaline earth salts. **Food Chem.**, Amsterdam, v. 258, p. 199-205, 2018.
- 92 PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S.; VYVYAN, J. A., **Introduction to Spectroscopy**. Cengage Learning. 2014.
- 93 PINTO, B. V.; FERREIRA, A. P. G.; CAVALHEIRO, E. T. G. A mechanism proposal for fluoxetine thermal decomposition. **J. Therm. Anal. Calorim.**, Budapest, v. 130, n.3, p. 1553-1559, 2017.

- 94 PAOLI, P.; ROSSI, P.; MACEDI, E.; IENCO, A.; CHELAZZI, L.; BARTOLUCCI, G. L.; BRUNI, B. similar but different: the case of metoprolol tartrate and succinate salts. **Cryst. Growth Des.**, Washington, DC, v. 16, p. 789-799, 2016.
- 95 JAIN, A.; YALKOWSKY, S. H. Estimation of melting points of organic compounds-II. **J. Pharm. Sci.**, New York, v. 95, p. 2562-2618, 2006.
- 96 VARSHOSAZ, J.; FAGHIHIAN, H.; RASTGOO, K. Preparation and characterization of metoprolol controlled-release solid dispersions. **Drug Deliv.**, Philadelphia, v. 13, p. 295-302, 2006.
- 97 RAGNARSSON, G.; SJOGREN, J. Compressibility and tablet properties of 2 polymorphs of metoprolol tartrate. **Acta Pharm. Suec.**, Stockholm, v. 21, p. 321-330, 1984.
- 98 FUKAMI, T.; TAHARA, S.; YASUDA, C.; NAKASONE, K. Structural refinements and thermal properties of *l*(+)-tartaric, *d*(-)-tartaric, and monohydrate racemic tartaric acid. **Int J. Chem.**, Toronto, v. 8, n.2, p. 9-21, 2016.
- 99 UNITED STATES PHARMACOPEIA. **Reference standards**. Bethesda, USP, 2018. Disponível em: <http://static.usp.org/doc/referenceStandards/dailycatalog.pdf>. Acesso em: 22 set. 2018.
- 100 INSTITUTE OF MEDICINE. **Dietary reference intakes for thiamin, riboflavin, niacin, vitamin B6, folate, vitamin B12, pantothenic acid, biotin, and choline**. Washington, DC, 1998. Disponível em: <https://www.nap.edu/catalog/6015/dietary-reference-intakes-for-thiamin-riboflavin-niacin-vitamin-b6-folate-vitamin-b12-pantothenic-acid-biotin-and-choline>. Acesso em: 16 Jul. 2019.
- 101 ROSSI, P.; PAOLI, P.; CHELAZZI, L.; CONTI, L.; BENCINI, A. The solid-state structure of the [beta]-blocker metoprolol: a combined experimental and in silico investigation. **Acta Cryst. C**, Hoboken, v. 75, p. 87-96, 2019.
- 102 BERNAL, C.; COUTO, A. B.; BREVIGLIERI, S. T.; CAVALHEIRO, É. T. G. Influência de alguns parâmetros experimentais nos resultados de análises calorimétricas diferenciais - DSC. **Quím. Nova**, São Paulo, v. 25, p. 849-855, 2002.
- 103 BRITTAİN, H. G.; FETICE, P. V. **Characterization of the cocrystal products formed by metoprolol and dabigatran bases with L-theanine**. US n° 2017/0144964 A1, 2017.
- 104 SHATTOCK, T. R.; ARORA, K. K.; VISHWESHWAR, P.; ZAWOROTKO, M. J. Hierarchy of supramolecular synthons: persistent carboxylic acid-pyridine hydrogen bonds in cocrystals that also contain a hydroxyl moiety. **Cryst. Growth Des.**, Washington, DC, v. 8, p. 4533-4545, 2008.

- 105 BABIĆ, S.; HORVAT, A. J. M.; MUTAVDŽIĆ PAVLOVIĆ, D.; KAŠTELAN-MACAN, M. Determination of pKa values of active pharmaceutical ingredients. **TrAC, Trends Anal. Chem.**, Amsterdam, v. 26, p. 1043-1061, 2007.
- 106 UNITED STATES FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. **Substances Added to Food (formerly EAFUS)**. Silver Spring: FDA, 2019. Disponível em: <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/fdcc/?set=FoodSubstances&sort=Sortterm&order=ASC&startrow=1&type=basic&search=succinic>. Acesso em: 19 jul. 2019.
- 107 BARTOLUCCI, G.; BRUNI, B.; CORAN, S. A.; DI VAIRA, M. {2-Hydroxy-3-[4-(2-methoxyethyl)phenoxy]propyl}isopropylammonium hemisuccinate. **Acta Cryst. E**, Hoboken, v. 65, p. o1364-o1365, 2009.
- 108 BARTOLUCCI, G.; BRUNI, B.; CORAN, S. A.; DI VAIRA, M. {2-Hydroxy-3-[4-(2-methoxyethyl)phenoxy]propyl}isopropylammonium hemisuccinate. **Acta Cryst. E**, v. 65, p. o1364-o1365, 2009.
- 109 ROSSI, P.; PAOLI, P.; CHELAZZI, L.; CONTI, L.; BENCIN, A. Metoprolol Fumarate: Crystal Structure from Powder X-ray Diffraction Data and Comparison with the Tartrate and Succinate Salts. **Cryst. Growth Des.**, v. 18, p. 7015-7026, 2018.
- 110 VAN GENDEREN, E.; CLABBERS, M. T. B.; DAS, P. P.; STEWART, A.; NEDERLOF, I.; BARENTSEN, K. C.; PORTILLO, Q.; PANNU, N. S.; NICOLOPOULOS, S.; GRUENE, T.; ABRAHAMS, J. P. Ab initio structure determination of nanocrystals of organic pharmaceutical compounds by electron diffraction at room temperature using a Timepix quantum area direct electron detector. **Acta Crystallogr., Sect. A**, v. 72, p. 236-242, 2016.
- 111 TAKAHASHI, M.; OKAMURA, N.; DING, X. M.; SHIRAKAWA, H.; MINAMIDE, H. Intermolecular hydrogen bond stretching vibrations observed in terahertz spectra of crystalline vitamins. **Crystengcomm**, v. 20, p. 1960-1969, 2018.

APÊNDICE A

ATIVIDADES DESENVOLVIDAS DURANTE O DOUTORADO

Artigos publicados em periódicos internacionais

Thermochimica Acta 668 (2018) 33–39

Contents lists available at ScienceDirect

Thermochimica Acta

journal homepage: www.elsevier.com/locate/tca

Investigation of the thermal behavior of Labetalol

Mariani A. Ciciliati, Jany H.F. de Jesus, Éder T.G. Cavalheiro*

Departamento de Química e Física Molecular, Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, Avenida Trabalhador São-carlense, 400, PO Box 780, CEP 13560-970, São Carlos, SP, Brazil

CrystEngComm

PAPER

View Article Online
View Journal

Cite this: DOI: 10.1039/c9ce00700h

Metoprolol: solid forms of a top selling antihypertensive†

Mariani A. Ciciliati, ^a M. Ermelinda S. Eusébio, ^b Manuela Ramos Silva, ^c
Éder T. G. Cavalheiro ^a and Ricardo A. E. Castro ^{abd}

Journal of Thermal Analysis and Calorimetry (2019) 138:3653–3663
<https://doi.org/10.1007/s10973-019-08849-7>

Studies of thermal behavior of metoprolol tartrate

Mariani A. Ciciliati¹ · Éder T. G. Cavalheiro¹

Received: 26 September 2018 / Accepted: 17 September 2019 / Published online: 1 October 2019
© Akadémiai Kiadó, Budapest, Hungary 2019

-- --

APÊNDICE B

Participação e apresentação de trabalhos em congressos nacionais e internacionais

2019

- ✚ CICILIATI, M. A., EUSÉBIO, M. E. S, CASTRO, R. A. E., CAVALHEIRO, E. T. G. On the polymorphism of metoprolol free base. *2nd Journal of Thermal Analysis and Calorimetry Conference and 7th V4 (Joint Czech-Hungarian-Polish-Slovakian)*, Budapeste - Hungria
- ✚ CICILIATI, M. A., EUSÉBIO, M. E. S, SILVA, M. R., CASTRO, R. A. E., CAVALHEIRO, E. T. G. A new salt of metoprolol and nicotinic acid. *IX Simpósio de análise térmica*, Goiânia - Brasil

2018

- ✚ CICILIATI, M. A, CAVALHEIRO, E. T. G. Proposição de mecanismo para o comportamento térmico do labetalol. *XI Congresso Brasileiro de Análise Térmica e Calorimetria*, Rio de Janeiro - Brasil
- ✚ CICILIATI, M. A, CAVALHEIRO, E. T. G. Estudos termoanalíticos do tartarato de metoprolol. *XI Congresso Brasileiro de Análise Térmica e Calorimetria*, Rio de Janeiro - Brasil
- ✚ CICILIATI, M. A, CAVALHEIRO, E. T. G. Thermal analytical studies of metoprolol tartrate. *The 12th European Symposium on Thermal Analysis and Calorimetry (ESTAC12)*, Brasov - Romênia

2017

- ✚ CICILIATI, M. A, CAVALHEIRO, E. T. G. Thermal decomposition studies of labetalol by TG-FTIR. *1st Journal of Thermal Analysis and Calorimetry Conference and 6th V4 (Joint Czech-Hungarian-Polish-Slovakian)*, Budapeste – Hungria

Atividades complementares

- ✚ Doutorado sanduíche na Universidade de Coimbra de 09/2018 a 02/2019 pelo programa PDSE/CAPES;
- ✚ Estágio de Aperfeiçoamento de Ensino (PAE) de 02/2017 a 07/2017 na disciplina de Análises Quantitativas: Prática;
- ✚ Estágio de Aperfeiçoamento de Ensino (PAE) de 02/2018 a 07/2018 na disciplina de Ciências do ambiente;
- ✚ Curso extensão “Academic Oral Presentations in English”, 04/2018;

- ✚ Apresentação do seminário intitulado de *Análise térmica, aspectos fundamentais e aplicações* no IQSC-USP em 08/2017;
- ✚ Qualificação de doutorado em 11/2017;
- ✚ I Workshop de análise térmica UNIARA/ABRATEC, 2016;
- ✚ Curso de Introdução à Nanotecnologia e Nanotóxicologia, LLNANO, 2016;
- ✚ Avaliadora do Simpósio de Iniciação Científica da USP, 2016/2017.

APÊNDICE C

TG/DTG e 2ª DERIVADA DAS CURVAS DTG DOS SAIS

(a) cloridrato de labetalol em N₂, (b) cloridrato de labetalol em ar, (c) tartarato de metoprolol em N₂, (d) tartarato de metoprolol em ar.

APÊNDICE D

**DADOS CRISTALOGRAFICOS E PARÂMETROS DE REFINAMENTO
ESTRUTURAL PARA O
(R,S)-METOPROLOL E NICOTINATO DE METOPROLOL**

Fórmula empírica	$C_{15}H_{25}NO_3$	$C_{15}H_{26}NO_3^+ \cdot C_6H_4NO_2^-$
	CCDC: 1883843	CCDC: 1900590
Massa molar (g/mol)	267,36	390,47
Temperatura (K)	293(2)	293(3)
Comprimento de onda (Å)	0,71073	0,71073
Sistema cristalino	Monoclínico	Triclínico
Grupo espacial	P2 ₁ /c	P-1
Dimensões da cela unitária		
<i>a</i> (Å)	16,54(2)	8,1740(17)
<i>b</i> (Å)	5,411(7)	9,264(2)
<i>c</i> (Å)	22,054(19)	14,884(3)
α (°)	90	98,244(5)
β (°)	127,05(6)	96,622(4)
γ (°)	90	99,623(5)
Volume da cela unitária (Å ³)	1575(3)	1088,6(4)
<i>Z</i>	4	2
Densidade / g cm ⁻³	1,128	1,191
Coeficiente de absorção μ (mm ⁻¹)	0,078	0,085
<i>F</i> (0 0 0)	584	420
Intervalo de θ para coleta de dados (°)	2,3-25,3	2,3-26,1
Intervalo de índices		
<i>h</i>	-19: 19	-10: 10
<i>k</i>	-6: 6	-11: 11
<i>l</i>	-20: 26	-18: 18
Reflexões únicas	12842 / 2860	20284/4231
Completância para $\theta_{\max}$ (%)	99%	99%
Método de refinamento	F^2	F^2
Dados / restrições / parâmetros	2860 / 2 / 181	4231/0/266
Concordância sobre F^2	0,847	0,975
Índice R final [$I > 2\sigma(I)$]	0,0787 / 0,0960	0,0779/0,2109
Índices <i>R</i> (todos os dados)	0,4224 / 0,1678	0,2085/0,2763
Altura dos picos residuais / e Å ⁻³	-0,23, 0,18	-0,377/0,834

APÊNDICE E

TABELAS DOS ÂNGULOS DE TORSÃO

Ângulos de torção selecionados para o (*R,S*)-metoprolol

Ligação	Ângulo de torção / °
C2-C1-O1-C7	2,9(6)
C1-O1-C7-C8	178,2(3)
O1-C7-C8-C9	-163,1(3)
C7-C8-C9-N1	-176,1(3)
C8-C9-N1-C10	-163,5(4)
C9-N1-C10-C11	-159,5(4)
C15-O3-C14-C13	179,5(4)
O3-C14-C13-C4	-73,7(5)
C14-C13-C4-C3	99,3(5)

Ângulos de torção selecionados para o nicotinato de metoprolol

Ligação	Ângulo de torção / °
C2-C1-O1-C7	-10,3(5)
C1-O1-C7-C8	-176,0(3)
O1-C7-C8-C9	60,9(4)
C7-C8-C9-N1	-171,6(3)
C8-C9-N1-C10	-177,6(3)
C9-N1-C10-C11	173,8(3)
C15-O3-C14-C13	175,7(4)
O3-C14-C13-C4	64,6(6)
C14-C13-C4-C3	-97,7(5)

APÊNDICE F

DISTÂNCIA DAS LIGAÇÕES INTERMOLECULARES

(a) metoprolol base e (b) nicotinato de metoprolol.

APÊNDICE G

CHECKCIF

checkCIF/PLATON report**Metoprolol base**

You have not supplied any structure factors. As a result the full set of tests cannot be run.

THIS REPORT IS FOR GUIDANCE ONLY. IF USED AS PART OF A REVIEW PROCEDURE FOR PUBLICATION, IT SHOULD NOT REPLACE THE EXPERTISE OF AN EXPERIENCED CRYSTALLOGRAPHIC REFEREE.

No syntax errors found. CIF dictionary Interpreting this report

Datablock: P2₁n

Bond precision:	C-C = 0.0097 Å	Wavelength=0.71073
	a=16.54 (2)	
	alpha=90	
	293 K	
Cell:	Calculated	b=5.411 (7) c=17.90 (2)
	1575 (3)	beta=100.47 (2) gamma=90
	P 21/n	
	-P 2yn	
Temperature:		
Reported		
1575 (3)		
P21/n		
?		
Volume		
Space group		
Hall group		
Moiety formula	C15 H25 N O3	
C15 H25 N O3	C15 H25 N O3	
Sum formula	C15 H25 N O3	
Mr	267.36	
Dx, g cm ⁻³	1.128	
Z	4	
Mu (mm ⁻¹)	0.078	
F000	584.0	
F000'	584.27	
h, k, lmax	19, 6, 21	
Nref	2868	
Tmin, Tmax	0.989, 0.996	
Tmin'	0.986	
267.36		
1.127		
4		
0.077		
584.0		
19, 6, 21		
2843		
0.889, 1.000		
Correction		
method= #		
Reported T		
Limits:		
Tmin=0.889		

```

Tmax=1.000
AbsCorr = MULTI-
SCAN
Data          Theta (max)=
completeness= 25.300
0.991
R(reflections)=   wR2(reflections)=
0.0790( 584)     0.1541( 2843)
S = 0.857        Npar= 181

```

The following ALERTS were generated. Each ALERT has the format **test-name_ALERT_alert-type_alert-level**.
Click on the hyperlinks for more details of the test.

Alert level A

```

RINTA01_ALERT_3_A The value of Rint is greater than 0.25
Rint given 0.562
PLAT020_ALERT_3_A The Value of Rint is Greater Than 0.12 ..... 0.562 Report
PLAT026_ALERT_3_A Ratio Observed / Unique Reflections (too) Low .. 21% Check

```

Alert level C

```

PLAT148_ALERT_3_C s.u. on the a - Axis is (Too) Large .... 0.020 Ang.
PLAT148_ALERT_3_C s.u. on the b - Axis is (Too) Large .... 0.0070 Ang.
PLAT148_ALERT_3_C s.u. on the c - Axis is (Too) Large .... 0.020 Ang.
PLAT242_ALERT_2_C Low 'MainMol' Ueq as Compared to Neighbors of C10 Check
PLAT340_ALERT_3_C Low Bond Precision on C-C Bonds ..... 0.00967 Ang.

```

Alert level G

```

PLAT005_ALERT_5_G No Embedded Refinement Details Found in the CIF Please Do !
PLAT199_ALERT_1_G Reported _cell_measurement_temperature ..... (K) 293 Check
PLAT200_ALERT_1_G Reported _diffrn_ambient_temperature ..... (K) 293 Check
PLAT793_ALERT_4_G Model has Chirality at C8 (Centro SPGR) S Verify
PLAT899_ALERT_4_G SHELXL97 is Deprecated and Succeeded by SHELXL 2018 Note
3 ALERT level A = Most likely a serious problem - resolve or explain
0 ALERT level B = A potentially serious problem, consider carefully
5 ALERT level C = Check. Ensure it is not caused by an omission or oversight
5 ALERT level G = General information/check it is not something unexpected
2 ALERT type 1 CIF construction/syntax error, inconsistent or missing data
1 ALERT type 2 Indicator that the structure model may be wrong or deficient
7 ALERT type 3 Indicator that the structure quality may be low
2 ALERT type 4 Improvement, methodology, query or suggestion
1 ALERT type 5 Informative message, check

```

PLATON version of 17/03/2019; check.def file version of 04/03/2019

Nicotinato de metoprolol**Datablock: metnic**

Bond precision: C-C = 0.0055 Å Wavelength=0.7107 Å
 Cell: a=8.1740(17) b=9.264(2) c=14.884(3)
 alpha=98.244(5) beta=96.622(4) gamma=99.623(5)
 293 K)
 Temperature:
 Calculated
 1088.5(4) Reported
 P -1
 -P 1
 Volume
 Space group 1088.6(4)
 Hall group
 P-1
 ?
 ?
 Moiety formula
 C15 H26 N O3,
 C6 H4 N O2
 Sum formula C21 H30 N2 O5
 Mr 390.47
 Dx, g cm-3 1.191
 Z 2
 Mu (mm-1) 0.085
 F000 420.0 C21 H30 N2 O5
 F000' 420.20
 h, k, lmax 10, 11, 18
 Nref 4304
 Tmin, Tmax 0.980, 0.983
 Tmin' 0.934
 390.47
 1.191
 2
 0.085
 420.0
 10, 11, 18
 4231
 0.648, 0.745
 Correction
 method= #
 Reported T
 Limits:
 Tmin=0.648
 Tmax=0.745
 AbsCorr =
 MULTI-SCAN
 Data
 completeness= Theta (max)=
 0.983 26.060
 R(reflections) wR2(reflections)
 = 0.0779(1811) = 0.2763(4231)
 S = 0.975 Npar= 266

The following ALERTS were generated. Each ALERT has the format

test-name_ALERT_alert-type_alert-level.

Click on the hyperlinks for more details of the test.

Alert level B

PLAT097_ALERT_2_B Large Reported Max. (Positive) Residual Density 0.83 eA-3

Alert level C

DIFMX02_ALERT_1_C The maximum difference density is > 0.1*ZMAX*0.75

The relevant atom site should be identified.

PLAT026_ALERT_3_C Ratio Observed / Unique Reflections (too) Low .. 43% Check

PLAT084_ALERT_3_C High wR2 Value (i.e. > 0.25) 0.28 Report

PLAT094_ALERT_2_C Ratio of Maximum / Minimum Residual Density 2.21 Report

PLAT230_ALERT_2_C Hirshfeld Test Diff for C13 --C14 . 7.0 s.u.

PLAT244_ALERT_4_C Low 'Solvent' Ueq as Compared to Neighbors of C17 Check

PLAT340_ALERT_3_C Low Bond Precision on C-C Bonds 0.00547 Ang.

PLAT353_ALERT_3_C Long N-H (N0.87,N1.01A) N1 - H1A . 1.05 Ang.

Alert level G

PLAT005_ALERT_5_G No Embedded Refinement Details Found in the CIF Please Do !

PLAT063_ALERT_4_G Crystal Size Likely too Large for Beam Size 0.80 mm

PLAT072_ALERT_2_G SHELXL First Parameter in WGHT Unusually Large 0.15 Report

PLAT199_ALERT_1_G Reported_cell_measurement_temperature (K) 293 Check

PLAT200_ALERT_1_G Reported_diffn_ambient_temperature (K) 293 Check

PLAT793_ALERT_4_G Model has Chirality at C8 (Centro SPGR) R Verify

PLAT899_ALERT_4_G SHELXL97 is Deprecated and Succeeded by SHELXL 2018 Note

0 **ALERT level A** = Most likely a serious problem - resolve or explain

1 **ALERT level B** = A potentially serious problem, consider carefully

8 **ALERT level C** = Check. Ensure it is not caused by an omission or oversight

7 **ALERT level G** = General information/check it is not something unexpected

3 ALERT type 1 CIF construction/syntax error, inconsistent or missing data

4 ALERT type 2 Indicator that the structure model may be wrong or deficient

4 ALERT type 3 Indicator that the structure quality may be low

4 ALERT type 4 Improvement, methodology, query or suggestion

1 ALERT type 5 Informative message, check

PLATON version of 17/03/2019; check.def file version of 04/03/2019

APÊNDICE H

SUPERFÍCIES DE HIRSHFELD DO METOPROLOL BASE

Imagens obtidas a partir do Software Crystal Explorer17, utilizando a estrutura cristalina obtida por SXR.

APÊNDICE I

SUPERFÍCIES DE HIRSHFELD DO NICOTINATO DE METOPROLOL

(a,b) Superfície do ânion nicotinato no nicotinato de metoprolol, (c) Superfície do cátion metoprolol.

Imagens obtidas a partir do Software Crystal Explorer17, utilizando a estrutura cristalina obtida por SXRD.

APÊNDICE J

ESPECTRO DE FTIR TEÓRICO DO METOPROLOL BASE CALCULADO A PARTIR DA ESTRUTURA CRISTALINA OBTIDA POR SXRD

APÊNDICE K

ESTRUTURA MOLECULAR DOS COFORMADORES TESTADOS

Timina (pKa 9,7)

Uracil (pKa 9,4)

Benzamida (pKa 23,3)

Succinamida (pKa 9,5)

4-4 biperidil (pKa 9,4)

Nicotinamida (pKa 3,4)

Ácido nicotínico (pKa 2,0/4,9)

L-glutamina (pKa 9,1)

Isonicotinamida (pKa 3,7)

ANEXO A

Todas as figuras presentes nos resultados e discussão e já publicadas em artigos científicos foram feitas com autorização das editoras. Abaixo seguem as normas das mesmas, como constam nos respectivos sites e/ou licenças.

ELSEVIER

Can I include/use my article in my thesis/dissertation?

Yes. Authors can include their articles in full or in part in a thesis or dissertation for non-commercial purposes.

Fonte: <https://www.elsevier.com/about/policies/copyright/permissions>, acesso em 12/06/2019.

THE ROYAL SOCIETY OF CHEMISTRY

(...) 2. Warranties

The Owner warrants, on behalf of all the Author(s), that:

(...) The Work has not been and will not prior to publication by the RSC be published, with the exception of presentation of research in the manner listed below. Upon submission of the Work to the RSC the Author(s) must disclose any prior deposition in any repository(ies). The research may be presented ahead of publication in the following manner:

(...) item VI “as a thesis or dissertation published as part of an academic or professional qualification, in print and online”

Fonte: Licence to publish 7.0 by the The Royal Society of Chemistry, assinada pelo autor principal do artigo.