UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE QUÍMICA DE SÃO CARLOS

Pedro Henrique Oliveira Amorim

CARACTERIZAÇÃO TÉRMICA E ESTUDO DE POLIMORFISMO DE
FÁRMACOS ANTI-HIPERTENSIVOS DA CLASSE
DOS β -BLOQUEADORES: NADOLOL E ATENOLOL

São Carlos 2012

Pedro Henrique Oliveira Amorim

CARACTERIZAÇÃO TÉRMICA E ESTUDO DE POLIMORFISMO DE
FÁRMACOS ANTI-HIPERTENSIVOS DA CLASSE
DOS β -BLOQUEADORES: NADOLOL E ATENOLOL

Dissertação apresentada ao Instituto de
Química de São Carlos da
Universidade de São Paulo, como parte
dos requisitos para a obtenção do título
de Mestre em Ciências (Química).

Área de concentração: Química
Analítica e Inorgânica

Exemplar revisado

O exemplar original encontra-se em
acervo reservado na Biblioteca do IQSC-USP

Orientador: Prof. Dr. Éder Tadeu Gomes Cavalheiro

São Carlos 2012

Dedicatória

Ao Deus da minha vida, Senhor e Salvador Jesus Cristo

Aos meus pais Zezé e Amorim

À minha amada noiva Marla Bruna

*Aos meus irmãos Dane e Herbert, meu cunhado Fábio e sobrinhas Isa e
Duda*

A toda minha família, tios e primos, e em especial:

Voinha, Almerinda Souza Andrade (in memoniam).

Agradecimentos

Este trabalho representou para mim não apenas um processo de especialização acadêmica, mas principalmente um processo de vida, em todos os sentidos.

A Deus, pois mesmo sem merecer, deu-me a grata oportunidade de cursar o mestrado, deu-me força e coragem para não desistir, deu-me ânimo, cercou-me de amigos, e em todos os momentos esteve comigo, não tenho palavras para agradecer, serei eternamente grato Senhor por tanto amor!

Aos meus pais, Maria José e José Amorim, que muito embora não tivessem as oportunidades que tenho tido, sempre lutaram para me proporcionar o melhor. Esta vitória é de vocês também, amo vocês!

À minha amada, a minha princesa, à minha metade, o meu amor, Marla Bruna Melo de Menezes, não dá para descrever tudo o que você é para mim, mas quero agradecer por estar do meu lado em todos os momentos, por sofrer junto comigo em cada angústia, cada lágrima, por acreditar em mim, por sempre me confortar e me dar coragem para não desistir, eu te amo muito meu amor!

Aos queridos irmãos da Igreja Adventista de Placafor em Salvador/BA, do Colégio e Central de São Carlos, pelas orações, carinho e amor.

Aos meus amigos e queridos colegas da família LATEQS, não só por toda a ajuda neste trabalho, mas principalmente pela amizade, carinho e amor com os quais me receberam e trataram durante todo este tempo que passamos juntos. Não gostaria de citar nomes para não cometer injustiça, mas preciso dizer: muito

obrigado a todos vocês, nunca vou esquecer as risadas, vou levá-los sempre no coração!

A todos os mestres, e funcionários do IQSC, que de alguma forma contribuíram para a minha formação durante o mestrado. Não poderia deixar também de agradecer ao professor Dr. Allan Riga, pelo apoio e carinho no início do trabalho, ao professor Dr. Gilberto Chierice pelo acolhimento e atenção, e ao professor Dr. Massao Ianoshiro pela assistência e solicitude.

À CAPES, CNPq, Pró-Reitoria da USP e FAPESP pelo apoio financeiro e estrutura.

Não poderia deixar de agradecer imensamente ao meu orientador, professor Dr. Éder Tadeu Cavalheiro. Lembro-me quando cheguei á USP meio perdido, estava visitando os professores para conhecê-los e decidir por qual pesquisa trabalhar, quando fui carinhosamente recebido e acolhido no grupo, muito obrigado por toda orientação, carinho e amizade.

Resumo

Amorim, P. H. O. **Caracterização térmica e estudo de polimorfismo de fármacos anti-hipertensivos da classe dos β -bloqueadores: nadolol e atenolol**. 2012. 95f. Dissertação de mestrado – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2012.

Dois anti-hipertensivos da classe dos β -bloqueadores, o nadolol ((2*R*, 3*S*)-5-[2-hidroxi-3-(*terc*-butilamino)-propoxi]tetralin-2,3-diol) e o atenolol ((*R*,*S*)-2-[4-[2-hidroxi-3-(1-isopropilamino)-propoxi]fenil]acetamida) foram submetidos à análise térmica para caracterização de seus mecanismos de decomposição e o primeiro submetido a estudos sobre polimorfismo. Após fusão em 129,6 °C ($\Delta H_{fus} = 157,3 \text{ J g}^{-1}$; $\Delta S_{fus} = 1,18 \text{ J } ^\circ\text{C}^{-1} \text{ g}^{-1}$), a decomposição do nadolol ocorreu em uma única etapa entre 183,7-404,7 °C, com liberação de *terc*-butil amina e vários fragmento da molécula. Estudos cinéticos baseados em método isoconversional mostraram $E_a = 101,4 \pm 0,1 \text{ kJ mol}^{-1}$ fator pré-exponencial de Arrhenius $\log A = 8,53 \pm 0,02 \text{ min}^{-1}$. No caso do atenolol, a fusão apresentou-se em 153,1 °C ($\Delta H_{fus} = 142,5 \text{ J g}^{-1}$; $\Delta S_{fus} = 0,92 \text{ J } ^\circ\text{C}^{-1} \text{ g}^{-1}$), seguida pela decomposição em uma única etapa entre 191,8-900,0 °C, na qual ocorre a liberação de amônia, formando um dímero e as isopropilaminas das extremidades. Seguem-se amônia, isopropanol, gás carbônico e água. Estudos cinéticos baseados em método isoconversional mostraram $E_a = 102 \pm 3 \text{ kJ mol}^{-1}$ fator pré-exponencial $\log A = 9,2 \pm 0,3 \text{ min}^{-1}$. Estudos de polimorfismo do nadolol mostraram que o composto pode ser separado em pelo menos duas de suas formas enantiomórficas por cristalização e que aglomerados cristalinos podem ser obtidos, variando-se o sistema solvente e a temperatura de cristalização.

Abstract

Amorim, P. H. O. **Thermal characterization and polymorphism studies of β -blockers antihypertensive drugs: nadolol and atenolol**. 2012. 95f. Dissertação de mestrado – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2012.

Two β -blocker antihypertensives nadolol ((2*R*, 3*S*)-5-[2-hidroxy-3-(*terc*-butilamine)-propoxy]tetralin-2,3-diol) and atenolol ((*R,S*)-2-[4-[2-hidroxy-3-(1-isopropylamine)-propoxy]phenyl]acetamide) were submitted to thermal analysis in order to characterize their decomposition mechanisms and the first was also subject of a polymorphism investigations. After melting at 129,6 °C ($\Delta H_{fus} = 157,3 \text{ J g}^{-1}$; $\Delta S_{fus} = 1,18 \text{ J } ^\circ\text{C}^{-1} \text{ g}^{-1}$), the decomposition of nadolol took place in a single step beetwen 183,7-404,7 °C, with release of *terc*-butyl amine and several fragments of the molecule. Kinetic studies based on the isoconversional method reveled an activation energy $E_a = 101,4 \pm 0,1 \text{ kJ mol}^{-1}$ and a pre-exponential factor $\log A = 8,53 \pm 0,02 \text{ min}^{-1}$. In atenolol case the melting was detected at 153,1 °C ($\Delta H_{fus} = 142,5 \text{ J g}^{-1}$; $\Delta S_{fus} = 0,92 \text{ J } ^\circ\text{C}^{-1} \text{ g}^{-1}$), followed by decomposition in a single step between 191,8-900,0 °C, in which a dimmer is formed after release of ammonia and the isopropylamines in the edges of the molecules. Then ammonia, isporpyl alcohol, carbonic gas and water were released. Kinetic studies by the isoconversional method showed activation energy $E_a = 102 \pm 3 \text{ kJ mol}^{-1}$ and exponential pre-factor $\log A = 9,2 \pm 0,3 \text{ min}^{-1}$ for the solid state thermal decomposition reaction. Polymorphism studies for nadolol revealed that at least two enantiomeric forms of the compound can be isolated in, by varying the solvent and the temperature of crystallization.

Lista de Figuras

Figura 1.1 - Fórmula geral dos agentes β -bloqueadores.....	17
Figura 1.2 - Fórmula estrutural plana do nadolol.....	18
Figura 1.3 - Fórmula estrutural plana do atenolol.....	19
Figura 1.4 - Gráfico da energia livre de Gibbs e entalpia em função da temperatura absoluta para dois polimorfos A e B e suas respectivas fases líquidas. S é a entropia para a) sistema enantiotrópico, b) monotrópico. ^{18,15}	24
Figura 1.5 – Estruturas moleculares dos estereoisômeros do nadolol: I (2R,3S,2'R-nadolol, ou abreviado RSR-nadolol); II (2S,3R,2'S-nadolol ou abreviado SRS-nadolol); III (2S,3R,2'R-nadolol ou abreviado SRR-nadolol) e IV (2R,3S, 2'S-nadolol ou abreviado RSS-nadolol).	26
Figura 3.1 – Tubos de ensaio com as soluções a serem cristalizadas.....	41
Figura 4.1 - Curvas TG/DTG-DTA para o nadolol. Condições: massa de amostra 5.0 mg, suporte de amostra em α -alumina, razão de aquecimento $10^{\circ}\text{C min}^{-1}$, atmosfera dinâmica de N_2 , vazão de 100 mL min^{-1}	45
Figura 4.2 - Curvas TG/DTG-DTA para o nadolol. Condições: massa de amostra 5.0 mg, suporte de amostra em α -alumina, razão de aquecimento $10^{\circ}\text{C min}^{-1}$, atmosfera de ar sintético, vazão de 100 mL min^{-1}	46
Figura 4.3 – Curva DSC do nadolol com ciclo de aquecimento-resfriamento-aquecimento. Condições: massa de amostra 4,0 mg, suporte de amostra em alumínio tampado e com furo central, razão de aquecimento $10^{\circ}\text{C min}^{-1}$, atmosfera dinâmica de N_2 , vazão de 50 mL min^{-1}	47
Figura 4.4 - Gráfico de Gram-Schmidt para a decomposição do nadolol em atmosfera de N_2	49
Figura 4.5 - Espectros FTIR no estado gasoso dos compostos de decomposição do nadolol.....	51
Figura 4.6 – Espectros FTIR em fase gasoso da terc-butilamina e isopropanol. Bandas do terc-butilamina: 2966, 1625, 1471; 1371, 1235, 807 cm^{-1} ; Bandas do isopropanol: 3656, 2976, 2893, 1464, 1382, 1249, 1146 cm^{-1}	52
Figura 4.7 – Mecanismo proposto para a decomposição do nadolol.	53
Figura 4.8 – Curvas TG para o nadolol em cinco razões de aquecimento. Condições: massa de amostra 5,0 mg, suporte de amostra em α -alumina, atmosfera dinâmica de N_2 , vazão de 100 mL min^{-1}	54

Figura 4.9 – Relação entre a energia de ativação E_a e a fração conversional α do processo de decomposição térmica do nadolol. No destaque a região de maior estabilidade, entre 27,5-45,0%.....	57
Figura 4.10 - Curvas TG/DTG-DTA para o atenolol. Condições: massa de amostra 5.0 mg, suporte de amostra em α -alumina, razão de aquecimento $10^{\circ}\text{C min}^{-1}$, atmosfera dinâmica de N_2 , vazão de 100 mL min^{-1}	58
Figura 4.11 - Curvas TG/DTG-DTA para o atenolol. Condições: massa de amostra 5.0 mg, suporte de amostra em α -alumina, razão de aquecimento $10^{\circ}\text{C min}^{-1}$, atmosfera de ar sintético, vazão de 100 mL min^{-1}	59
Figura 4.12 – Curva DSC do atenolol com ciclo de aquecimento-resfriamento-aquecimento. Condições: massa de amostra 4,0 mg, suporte de amostra em alumínio com furo central, razão de aquecimento $10^{\circ}\text{C min}^{-1}$, atmosfera dinâmica de N_2 , vazão de 50 mL min^{-1}	61
Figura 4.13 - Reação de dimerização com formação da imida durante a fusão do atenolol, conforme referência 15.	63
Figura 4.14 - Gráfico de Gram-Schmidt.	64
Figura 4.15 - Espectros FTIR gerados na decomposição do atenolol.....	65
Figura 4.16 – Espectros FTIR em fase gasoso do isopropanol, isopropilamina e da amônia. Bandas do isopropanol: 3656, 2976, 2893, 1464, 1382, 1249 e 1.146 cm^{-1} ; Bandas da isopropilamina: 2967, 1621, 1466, 1378, 1363 e 783; Bandas da amônia: 3333, 1624, 963, 929, 625 cm^{-1}	66
Figura 4.17 - Mecanismo proposto para a decomposição do atenolol.	67
Figura 4.18 – Curvas TG para o atenolol em cinco razões de aquecimento. Condições: massa de amostra 5,0 mg, suporte de amostra de α -alumina aberta, atmosfera dinâmica de N_2 a 100 mL min^{-1}	68
Figura 4.19 – Relação entre a energia de ativação E_a e a fração conversional α do processo de decomposição térmica do atenolol. No detalhe o intervalo usado no cálculo da energia de ativação.	70
Figura 4.20 – Curva de monitoramento da temperatura da geladeira.	71
Figura 4.21 – Micrografias OM e imagens MEV das amostras classificadas como formas aciculares ou agulhas.	74
Figura 4.22 – Micrografias OM e imagens MEV das amostras classificadas como placas irregulares.	75

Figura 4.23 – Micrografias OM e imagens MEV das amostras classificadas como grumos.	76
Figura 4.24 – Micrografias OM e imagens MEV das amostras não classificadas em nenhuma forma.	77
Figura 4.25 – Difractogramas de raios X das amostras sólidas selecionadas e da amostra nadolol teste NT.	80
Figura 4.26 – Curvas DSC das amostras sólidas obtidas. As identificações são de acordo com a Tabela 4.5. Condições: massa de amostra 4,0 mg, suporte de amostra em alumínio com furo central, razão de aquecimento $10^{\circ} \text{C min}^{-1}$, atmosfera dinâmica de N_2 , vazão de 50 mL min^{-1}	83

Lista de Tabelas

Tabela 1.1 - Fármacos β -bloqueadores mais conhecidos e utilizados	16
Tabela 2.1 - Lista de solventes comumente utilizados em cristalizações.....	37
Tabela 4.1 - Dados obtidos da curva DSC do nadolol.....	48
Tabela 4.2 - Valores da fração conversional (α), energia de ativação (E_a), fator pré-exponencial ($\log A$) e do quociente E_a/RT , obtidos a partir da análise cinética da decomposição do nadolol.....	56
Tabela 4.3 - Dados obtidos da curva DSC do atenolol.....	62
Tabela 4.4 - Valores da fração conversional (α), energia de ativação (E_a), fator exponencial ($\log A$) e do quociente E_a/RT obtidos a partir da análise cinética da decomposição do atenolol.....	69
Tabela 4.5 - Amostras de nadolol obtidas na investigação do polimorfismo.	72
Tabela 4.6 – Relação das amostras e as características morfológicas observadas.	73
Tabela 4.7 – Relação dos picos observados nas curvas DSC	84
Tabela 4.8 - Rotação ótica das espécies selecionadas.....	87

Sumário

Resumo.....	6
Abstract.....	7
Lista de Figuras.....	8
Lista de tabelas.....	11
1. INTRODUÇÃO	14
1.1 Hipertensão Arterial Sistêmica (HAS)	14
1.2 Anti-hipertensivos β -bloqueadores	15
1.2.1 Nadolol	18
1.2.2 Atenolol.....	19
1.3 Polimorfismo	19
1.3.1 Conceitos.....	19
1.3.2 Aspectos Regulamentais	21
1.3.3 Aspectos Termodinâmicos	23
2. FUNDAMENTOS TEÓRICOS	27
2.1 Análise térmica e caracterização de fármacos.....	27
2.1.1 Termogravimetria TG/ DTG	28
2.1.2 Estudo cinético	29
2.1.3 Análise Térmica Diferencial (DTA).....	31
2.1.4 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)	32
2.2 Métodos de difração de raios X.....	33
2.3 Nucleação e crescimento de cristais	35
2.4 Cristalização mediada por solventes.....	36
3. PARTE EXPERIMENTAL	39
3.1 Materiais e métodos	39
3.1.1 Fármacos.....	39
3.1.2 Sistemas Solventes	39
3.1.3 Obtenção dos cristais de nadolol.....	40
3.1.4 Microscopia Ótica (OM) e Microscopia Eletrônica de Varredura (SEM)	41
3.1.5 Termogravimetria e Análise Térmica Diferencial Simultânea (TG/DTG-DTA)	42

3.1.6	Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)	42
3.1.7	Difratometria de raios X de pó (XRPD)	43
3.1.8	Polarimetria	43
4.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	44
4.1	Caracterização Térmica do Nadolol	44
4.1.1	Termogravimetria, Termogravimetria Derivada e Análise Térmica Diferencial TG/DTG-DTA	44
4.1.2	Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)	47
4.1.3	Caracterização dos Voláteis	49
4.1.4	Estudo Cinético de Decomposição do Nadolol	53
4.2	Caracterização Térmica do Atenolol	57
4.2.1	Termogravimetria-Termogravimetria Derivada-Análise de Temperatura Diferencial (TG/DTG-DTA)	57
4.2.2	Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)	60
4.2.3	Caracterização dos Voláteis	62
4.2.4	Estudo Cinético de Decomposição do Atenolol	67
4.3	Investigação do polimorfismo: nadolol	70
4.3.1	Análise morfológica - OM/SEM	73
4.3.2	Difratometria de raios X de pó (XRPD)	79
4.3.3	TG/DTG-DTA	81
4.3.4	Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)	82
4.3.5	Estudo Polarimétrico	86
5.	CONCLUSÃO GERAL	88
6.	REFERÊNCIAS	90

1. INTRODUÇÃO

1.1 Hipertensão Arterial Sistêmica (HAS)

A hipertensão arterial sistêmica (HAS) é considerada um dos maiores problemas de saúde pública devido à sua relevância como grande fator de risco para doenças cardiovasculares. Pesquisas realizadas pela Organização Mundial de Saúde (OMS) mostraram que a alta pressão sanguínea é causa primária ou secundária de aproximadamente 50% de todas as doenças cardiovasculares no mundo.¹

No Brasil, estima-se que 25% da população adulta seja hipertensa, o que representa cerca de 30 milhões de brasileiros. Quando se fala em idosos, mais da metade apresenta a doença. Estes fatos assemelham-se aos de países desenvolvidos, nos quais a hipertensão constitui verdadeira epidemia. Aliado a isso, está o fato de que em 90% dos casos, a hipertensão não tem cura. Atualmente, os medicamentos mais utilizados no tratamento da hipertensão arterial no Brasil são à base de atenolol, maleato de enalapril, captopril, cloridrato de propranolol e hidroclorotiazida.¹

Considerada uma “doença silenciosa”, a hipertensão, na maioria dos casos, não apresenta quaisquer sintomas no paciente. Quando estes ocorrem, são vagos e comuns a outras doenças, tais como dor de cabeça, tonteira, cansaço, enjôos, falta de ar e sangramento nasal. Ela é definida como uma disfunção vascular, caracterizada por uma pressão arterial igual ou superior a 140 e 90 mmHg, sistólica e diastólica, respectivamente.^{1,2}

Segundo um conceito médico mais atual, a hipertensão arterial (HA) não pode ser considerada somente uma condição clínica, na qual os valores tensionais estão acima de valores preestabelecidos, mas, sim, como um contexto sindrômico, que envolve alterações hemodinâmicas, tróficas e metabólicas. Tais fatores provocam elevação da pressão sanguínea, dislipidemias, resistência insulínica, obesidade, microalbuminúria, aumento da atividade dos fatores de coagulação e hipertrofia da função diastólica do ventrículo esquerdo.^{2,3}

O tratamento da hipertensão envolve um controle permanente, que consiste em hábitos saudáveis de alimentação, exercícios físicos e controle medicamentoso. No caso do controle medicamentoso, existem várias classes de fármacos utilizados em formulações usadas no controle da hipertensão, dentre estas classes estão os β -bloqueadores, considerados modernos, seguros e com baixos efeitos colaterais.^{2,3}

1.2 Anti-hipertensivos β -bloqueadores

Compreende-se por inibidores do sistema simpático, anteriormente denominados simpatolíticos, os fármacos que inibem a transmissão adrenérgica, em qualquer ponto, desde o sistema nervoso central até a célula efetora localizada na periferia. Esses compostos podem ser classificados de acordo com o local onde ocorre a inibição do sistema simpático. Assim, há os que agem essencialmente no sistema nervoso central, os agonistas dos receptores α_2 , os bloqueadores dos receptores adrenérgicos nos gânglios (ganglioplégicos) e neurônios pós-ganglionares, os que bloqueiam o fluxo simpático essencialmente na periferia, e finalmente os antagonistas dos receptores beta (ou β -bloqueadores), que agem tanto no sistema nervoso central como na periferia.⁴

Os agentes bloqueadores β -adrenérgicos, ou β -bloqueadores tornaram-se conhecidos em fins da década de 1950, quando Powell e Staler verificaram que o dicloroisoproterenol bloqueava as propriedades miocárdio-estimulantes da isoprenalina. Da modificação molecular deste composto, não usado por razão de alta toxicidade, foram obtidos o pronetalol (1962) e o propranolol (1964), dentre outros. Os fármacos desta classe mais amplamente utilizados estão relacionados na Tabela 1.1.

Tabela 1.1 - Fármacos β -bloqueadores mais conhecidos e utilizados

Fármacos	Ação (receptor)	Estrutura
Acebutolol	β_1
Atenolol	β_1
Caverdilol	NS*
Esmolol	β_1
Labetolol	NS
Metoprolol	β_1
Nadolol	NS
Pindolol	NS
Propranolol	NS
Timolol	NS

*Não-seletivo, que age em ambos receptores.

Os agentes β -bloqueadores são ariletanolaminas e ariloxipropanolaminas e podem ser representados pela fórmula geral indicada na Figura 1.1. O grupo R pode ser outro anel aromático ou outros substituintes adequados, de forma a possibilitar a ocorrência de interações hidrofóbicas, ou outras com o sítio receptor; enquanto R' pode ser H ou CH₃. Em suma, a porção farmacofórica dos agentes β -bloqueadores consiste em um sistema aromático substituído (A) ligado diretamente ou através de ponte metilênica à porção α -hidroxietilamínica (B) e um resíduo alquílico substituído no grupo amino (C).⁵

Figura 1.1 - Fórmula geral dos agentes β -bloqueadores.

O mecanismo de ação dos bloqueadores β -adrenérgicos ocorre pelo bloqueio dos receptores beta-adrenérgicos β_1 e β_2 , presentes nas paredes celulares dos músculos lisos cardiovasculares. Esta classe de antihipertensivos reduz a pressão arterial pela diminuição do débito cardíaco, inibindo de modo reversível a ligação da noradrenalina a seus receptores, promovendo a vasodilatação.^{6,7,8}

Os β -bloqueadores representam um dos grupos de fármacos mais importantes e mais prescritos, devido ao fato de que as doenças cardiovasculares estão entre as maiores causas de mortalidade mundial. Os β -bloqueadores têm sido amplamente recomendados como medicamentos de primeira linha no tratamento da hipertensão arterial, no entanto existem discussões sobre a eficácia destes fármacos, relacionada à predisposição genética de cada indivíduo em responder ao tratamento.⁹

Neste trabalho foram investigados dois dos principais representantes dessa classe de fármacos, o *nadolol* e o *atenolol*, devido ao seu elevado uso em nosso país.

1.2.1 Nadolol

O nadolol (NR), (2*R*, 3*S*)5-[2-hidroxi-3-(terc-butilamino)-propoxi] tetralin-2,3-diol, é um antihipertensivo, pertencente á classe dos β -bloqueadores, não seletivo de primeira geração, com igual afinidade pelos receptores β_1 e β_2 . Sua fórmula empírica é $C_{17}H_{27}NO_4$ e sua massa molar é de $309,4 \text{ g mol}^{-1}$. Apresenta-se como um pó branco cristalino, com ponto de fusão na faixa de $124\text{-}136^\circ\text{C}$.¹⁰

O nadolol apresenta em sua estrutura química (FIGURA 1.2) três estereocentros, sendo capaz de apresentar oito diferentes estereoisômeros. No entanto, os dois grupamentos hidroxila no anel ciclohexano são fixos na configuração *cis*, o que elimina quatro estereoisômeros. Este medicamento é comercializado como uma mistura equimolar dos quatro estereoisômeros, designados como racemato A e B.¹¹

O nadolol se distingue dos demais de sua classe por ter uma meia-vida considerada longa, de 12 a 24 horas e pode ser usado no tratamento da hipertensão e da angina de peito.

Figura 1.2 - Fórmula estrutural plana do nadolol.

1.2.2 Atenolol

O atenolol (*RS*)-2-[4-[2-hidroxi-3-(1-isopropilamino)propoxi]fenil]acetamida também é um antihipertensivo β -bloqueador, de segunda geração, porém, ao contrário do nadolol, possui ação seletiva aos receptores β_1 . Sua fórmula empírica é $C_{14}H_{22}N_2O_3$ e sua massa molar é $266,3 \text{ g mol}^{-1}$. Apresenta-se como um pó branco cristalino, com ponto de fusão na faixa de $150\text{-}152^\circ\text{C}$.¹⁰

Sua estrutura, comportamento térmico, propriedades espectroscópicas e avaliação das propriedades relacionadas com a fabricação de comprimidos já foram bastante estudados.^{12,13,14,15}

Figura 1.3 - Fórmula estrutural plana do atenolol

1.3 Polimorfismo

1.3.1 Conceitos

McCrone definiu um polimorfo como:

*“Uma fase sólida cristalina de um dado composto, resultante da possibilidade de pelo menos dois arranjos moleculares diferentes no estado sólido ”.*¹⁶

No contexto da cristalografia, o primeiro uso do termo *polimorfismo* é consensualmente creditado a Mitscherlich (1822, 1823), que reconheceu estruturas cristalinas diferentes de um mesmo composto em vários tipos de sais arsenatos e fosfatos.¹⁷

Polimorfismo, de acordo com Brittain:

“É a habilidade de uma substância em apresentar-se de diferentes formas cristalinas”.

Este fenômeno se relaciona com a conformação ou o arranjo das moléculas no retículo cristalino. Estas formas cristalinas são chamadas formas polimorfas, modificações cristalinas, ou, simplesmente, polimorfos. Apresentam comportamentos diferentes no estado sólido.

O exemplo mais conhecido de polimorfismo é o caso do carbono, o qual existe na forma de grafite, diamante, fulereno e grafeno.¹⁸ Além deste exemplo, vale citar os casos do enxofre ortorrômbico e monoclinico, e dióxido de titânio rutilo e anatase, bastante conhecidos.

A designação *pseudopolimorfismo* aplica-se a hidratos e solvatos, e sua presença deve ser identificada, uma vez que a maioria dos polimorfos pode ser obtida mudando-se o solvente de recristalização. Durante o processo de cristalização de uma substância, é possível que moléculas de solvente sejam retidas no retículo cristalino. Se o solvente for água, a substância resultante é denominada *hidrato*. Quando outros solventes, que não a água, estão presentes no retículo cristalino, a substância é denominada *solvato*. Essa captura de uma molécula de solvente acontece, muitas vezes, em uma razão molar exata em relação à substância cristalizada. Assim, é possível que ocorram diferentes graus de hidratação.¹⁹

Solventes típicos que induzem mudanças polimórficas são: água, metanol, acetona, clorofórmio, *n*-propanol, isopropanol, *n*-butanol, tolueno, benzeno, entre outros, e suas misturas e diferentes proporções.²⁰

Por outro lado, moléculas que apresentam cadeia carbônica flexível do tipo -R-CH₂-CH₂-CH₂-R são capazes de apresentar diferentes conformações, formando diferentes polimorfos conformacionais. Muitos fármacos no estado sólido podem existir também como amorfos, os quais apresentam desordem no arranjo das moléculas e, devido às suas propriedades distintas, são algumas vezes designados como polimorfos. No entanto, ao contrário dos polimorfos verdadeiros, não são cristalinos.

Em suma, o polimorfismo pode se originar de fatores de empacotamento ou conformação moleculares no retículo cristalino.

Quando se trata de fármacos, a investigação das propriedades no estado sólido constitui uma importante etapa na pré-formulação e controle de qualidade dos medicamentos, pois a administração por via oral em formulações sólidas é, em geral, mais conveniente, segura e econômica, logo, a mais comum.²¹

A principal consideração, neste caso é que a mudança ou diferença de comportamento dos sólidos pode levar à ineficácia terapêutica ou, no mínimo, da diminuição da *biodisponibilidade* de um determinado fármaco, dependendo da forma polimórfica usada na formulação.

A seguir apresenta-se uma abordagem mais detalhada deste fenômeno.

1.3.2 Aspectos Regulamentais

A maioria dos sólidos de interesse farmacêutico exibe polimorfismo, ou seja, a habilidade de existir como duas ou mais formas cristalinas, com diferentes arranjos e/ou conformações das moléculas no retículo cristalino, além das amorfas e, conseqüentemente, diferem quanto às propriedades físico-químicas.²² Em uma citação bem conhecida, MacCrone²³ retrata o trabalho empenhado neste assunto:

“O número de formas conhecidas para um dado composto é proporcional ao tempo e dinheiro investidos em pesquisa e desenvolvimento de tal composto”

Uma vez que a eficácia terapêutica dos medicamentos está diretamente relacionada a estas propriedades, que constituem um fator chave no desenvolvimento de dosagens farmacológicas apropriadas, o monitoramento de tais propriedades é, de fato, uma preocupação da indústria farmacêutica.²⁴

A prova disso é que o comitê do órgão de harmonização internacional, ICH (International Conference on Harmonization), constituído por representantes de órgãos governamentais de regulamentação da União Europeia, Japão, Estados Unidos e representantes da indústria farmacêutica, estabeleceu protocolos para o controle da qualidade dos insumos farmacêuticos, que são publicados como guias ou leis em diversos países.²⁵

O guia publicado pela agência americana Food and Drug Administration - FDA (ICH Q6A, 1999) - relata que a ausência de especificações para parâmetros de qualidade, limite de solvente residual, polimorfismo e presença de enantiômeros devem ser justificadas. São estabelecidos, ainda, os critérios para caracterizar a forma polimorfa e o grau de criticidade em relação ao produto final. As técnicas indicadas nesta caracterização são: difração de raios X, análise térmica, microscópicas e espectroscópicas²⁶.

O interesse farmacêutico em polimorfos surgiu com o trabalho de Aguiar *et al.* (1967). Os estudos realizados com um fármaco antibiótico palmitato de cloranfenicol, demonstraram que as diferentes formas polimórficas apresentavam velocidade de dissolução e graus de absorção biológicos diferentes.²⁷ O polimorfismo é o responsável pelas diferenças nas propriedades físico-químicas dos polimorfos como, solubilidade, ponto de fusão, densidade, dureza, configuração do cristal, propriedades ópticas e elétricas e pressão de vapor.

Desta forma, os fármacos, no estado sólido podem apresentar diferentes formas cristalinas com características distintas de dissolução, ocasionando alterações na biodisponibilidade. Nos fármacos pouco solúveis, a velocidade de dissolução dos polimorfos é o fator limitante da sua absorção.²⁸

O problema mais famoso enfrentado pela indústria farmacêutica e relacionado com polimorfismo foi o caso *ritonavir*. Comercializado em 1996 com o nome de Norvir®, este fármaco antiviral era produzido na forma de suspensão oral e cápsulas gelatinosas, ambas as formulações contendo solução hidro/alcoólica de

ritonavir. Apenas uma forma cristalina (Forma I) havia sido identificada durante todo o desenvolvimento do composto e processo de pré-formulação, sendo produzidos 240 lotes de cápsulas de Norvir[®] sem problemas de estabilidade. No entanto, em meados de 1998, algumas capsulas falharam nos testes de dissolução e quando os componentes das capsulas foram submetidos à análise por difração de raios X, ficou evidente a formação de uma nova forma cristalina (Forma II), mais estável e muito menos solúvel que a Forma I ²⁹.

Desde então, inúmeros estudos caracterizaram a ocorrência do fenômeno de polimorfismo com vários fármacos, como é o caso da carbamazepina,³⁰ ibuprofeno,³¹ ranitidina,³² entre outros.

1.3.3 Aspectos Termodinâmicos

Do ponto de vista termodinâmico, há dois tipos principais de pares polimórficos, um é o chamado par enantiotrópico e o outro monotrópico. A Figura 1.4 apresenta os gráficos da energia livre de Gibbs e entalpia a pressão constante, em função da temperatura absoluta, para um sistema consistindo de dois polimorfos A e B e suas respectivas fases líquidas.

No par monotrópico uma forma é metaestável em relação à outra em temperaturas abaixo de seus pontos de fusão T_{LA} , e T_{LB} , enquanto que, no par enantiotrópico, se observa uma transição reversível a uma temperatura definida como temperatura de transição T_t , no ponto em que as curvas da energia livre de Gibbs se cruzam antes dos pontos de fusão. ^{18,33}

Figura 1.4 - Gráfico da energia livre de Gibbs e entalpia em função da temperatura absoluta para dois polímeros A e B e suas respectivas fases líquidas. S é a entropia para a) sistema enantiotrópico, b) monotrópico.^{18,15}

O processo de transformação de uma forma cristalina (ou polímorfo) em outra é chamado de *transição de fase*, a qual pode ocorrer tanto durante o processo de fabricação, como na estocagem de medicamentos. Em muitos sistemas, uma forma menos estável do sólido pode transforma-se em outra mais estável, sobretudo sob influência do calor, manipulação, umidade, dentre outros fatores³⁴.

Este fato exige um bom entendimento do processo de cristalização do fármaco e do seu comportamento na estocagem, sendo necessário um conhecimento preciso da estabilidade termodinâmica e o relacionamento entre diferentes fases sólidas de um fármaco, uma vez que várias fases sólidas podem coexistir.

Um aspecto importante a se considerar nos estudos de polimorfismo de espécies orgânicas é a *quiralidade* das moléculas.

A *quiralidade* de uma substância se origina da assimetria de um determinado átomo de carbono (centro quiral ou estereocentro), ou seja, quando o átomo de carbono está ligado a diferentes grupos. Cada membro de um par de moléculas de uma substância com átomos de carbono assimétricos é chamado *enantiômero*, ou seja, isômeros que são imagens especulares não superponíveis entre si.³⁵

Soluções de substâncias deste tipo apresentam a habilidade de desviar a luz polarizada para lados opostos, fato este que permite sua caracterização. Uma mistura equimolar de dois enantiômeros gera uma mistura racêmica, que não apresenta desvio da luz polarizada.

O número de centros assimétricos, n , em uma substância gera 2^n *diastereoisômeros*, que são isômeros gerados por moléculas que apresentam mais de um centro assimétrico, e que não são imagens especulares entre si.

Em termos de polimorfismo, a estreita relação entre as diferentes formas sólidas de um composto quiral e suas estruturas cristalinas deve ser investigada para um melhor entendimento do sistema molecular.

Entretanto, diferenças cristalográficas entre enantiômeros e diastereoisômeros não se encaixam na definição de polimorfismo, pois as diferentes formas sólidas são, na verdade, substâncias assimétricas ou suas misturas.

Segundo Brittain¹⁸, as formas sólidas que são geradas pelos enantiômeros, devem-se destacar os:

- 1 *Conglomerados*: Se caracterizam pela presença de um único enantiômero na cela unitária da estrutura cristalina, mesmo quando o sólido é obtido de uma por cristalização de uma mistura racêmica e/ou parcialmente resolvida. Podem ser separados por cristalização direta;
- 2 *Racematos verdadeiros*: São caracterizados pela presença equimolar de cada enantiômero na cela unitária da estrutura cristalina, com grupo centro simétrico necessariamente diferente dos enantiômeros individuais. Não podem ser separados por cristalização direta.

As propriedades físico-químicas dos sólidos heteroquirais são diferentes daquelas dos sólidos homoquirais, como por exemplo, a temperatura de fusão. Portanto, quiralidade associada à cristalografia provoca diferenças nas propriedades físico-químicas dos sólidos.

No caso do nadolol, essa isomeria espacial pode levar à formação de diferentes formas sólidas, como será visto na sessão dos resultados e discussão.

Como já foi dito, os estereoisômeros (diastereoisômeros) do nadolol se originam de três centros quirais presentes na molécula, gerando $2^3 = 8$

estereoisômeros. Entretanto, como discutem Wang e Ching¹¹, os dois grupamentos hidroxila presentes no anel ciclohexano estão fixos na configuração *cis*, o que, de fato, gera quatro estereoisômeros, apresentados na Figura 1.5.

Figura 1.5 – Estruturas moleculares dos estereoisômeros do nadolol: I (2R,3S,2'R-nadolol, ou abreviado RSR-nadolol); II (2S,3R,2'S-nadolol ou abreviado SRS-nadolol); III (2S,3R,2'R-nadolol ou abreviado SRR-nadolol) e IV (2R,3S, 2'S-nadolol ou abreviado RSS-nadolol).

Dadas às propriedades físico-químicas diferentes que podem ser observadas a partir da isomeria espacial do nadolol, esse estudo se justifica para tentar contribuir no entendimento dessas propriedades.

Sendo assim, considerando a importância da Hipertensão Arterial Sistêmica no Brasil e no mundo, o uso frequente do nadolol e atenolol no tratamento dessa desordem e a importância do estudo de polimorfismo de fármacos, este trabalho apresenta uma investigação do comportamento térmico destes dois fármacos e uma avaliação da existência de possíveis formas polimórficas, no caso do nadolol.

2. FUNDAMENTOS TEÓRICOS

2.1 Análise térmica e caracterização de fármacos

Vários estudos relacionados à aplicação da termogravimetria (TG) e calorimetria exploratória diferencial (DSC) na caracterização, avaliação de pureza, compatibilidade de formulação farmacêutica, identificação de polimorfismo, estabilidade e decomposição térmica de fármacos e medicamentos encontram-se descritos na literatura.

A definição de Análise Térmica, segundo Mackenzie e a Confederação Internacional de Análise Térmica e Calorimetria (ICTAC) é:

“Um grupo de técnicas nas quais uma propriedade física de uma substância e/ou seus produtos de reação é medida como função da temperatura, enquanto a substância é submetida a um programa controlado de temperatura”. ^{36,37}

Esta definição implica que para uma técnica térmica ser considerada como termoanalítica, três critérios devem ser satisfeitos:

- 1- uma propriedade física tem que ser medida;
- 2- a medida deve ser expressa (direta ou indiretamente) como função da temperatura;
- 3- a medida tem que ser feita sob um programa controlado de temperatura.³⁸

As técnicas de análise térmica permitem determinar características térmicas de materiais puros ou em mistura, medindo suas propriedades, como ponto de fusão, ebulição, vaporização, dessolvatação, transições de estado, degradação química, cristalização e decomposição oxidativa. Estes eventos térmicos podem ser de natureza endotérmica (fusão, ebulição, sublimação, dessolvatação, transições no estado sólido, degradação química etc.) ou exotérmica (cristalização, oxidação, decomposição oxidativa etc.). ¹⁸

É importante observar que as técnicas termoanalíticas são complementares entre si no que diz respeito à avaliação de comportamento térmico dos materiais.

As técnicas termoanalíticas mais usadas nas investigações que envolvem o estudo do comportamento térmico de fármacos e suas formulações são a termogravimetria e termogravimetria derivada (TG/DTG), a calorimetria exploratória diferencial (DSC) e a análise térmica diferencial (DTA).

2.1.1 Termogravimetria TG/ DTG

A TG é utilizada para medir a variação de massa em função da temperatura sob uma atmosfera controlada usando uma programação de aquecimento. Para fins farmacêuticos, seu uso é descrito na caracterização, determinação de pureza e de umidade, identificação de *pseudopolimorfismo*, na avaliação da estabilidade de fármacos e medicamentos e em estudos de cinética de degradação.

A termogravimetria pode ser utilizada para fazer análises quantitativas em diversos tipos de amostras tais como materiais inorgânicos e polímeros. Dentre os fenômenos físicos detectados por esta técnica podem se destacar a vaporização, sublimação, adsorção, dessorção e absorção. Em relação aos fenômenos químicos pode-se destacar quimissorção, dessolvatação, decomposição e desidratação.³⁷

Na termogravimetria, a massa da amostra (m), é continuamente registrada como função da temperatura (T) ou tempo (t):

$$m = f(T \text{ ou } t) \quad 2.1$$

portanto, nas curvas TG, os desníveis em relação ao eixo das ordenadas correspondem às variações de massa ocorridas na amostra e permitem obter dados que podem ser utilizados com finalidades quantitativas.

Na termogravimetria derivada (DTG), a derivada primeira da curva TG (dm/dt) é registrada em função da temperatura ou tempo.

$$dm/dt = f(T \text{ ou } t) \quad 2.2$$

Portanto neste método são obtidas curvas que correspondem à derivada primeira da curva TG, as quais os degraus são substituídos por picos que delimitam áreas proporcionais às alterações de massa apresentadas pela amostra, facilitando a diferenciação das temperaturas de início (Ti) e fim (Tf) do evento térmico, principalmente em casos de eventos concomitantes e sobrepostos.³⁸

2.1.2 Estudo cinético

A cinética de degradação térmica é utilizada para avaliação da estabilidade de fármacos e formulações farmacêuticas.²⁵

Há vários procedimentos para o estudo cinético em análise térmica, com muita controvérsia, sendo assim, o método adequado deve ser escolhido em cada caso. Recentemente a ICTAC, por meio de seu grupo de estudo em cinética em análise térmica, publicou um guia para orientação neste tipo de estudo.³⁹

O método isoconversional de Flynn-Wall-Ozawa permite o cálculo da energia de ativação, E_a e do fator pré-exponencial de Arrhenius, $\log A$, a partir das curvas termogravimétricas (TG) ou de calorimetria exploratória diferencial (DSC).

Em cinética de estado sólido, a concentração molar dos reagentes é frequentemente substituída pela chamada fração conversional α ,

$$\alpha = \frac{(m_t - m_f)}{(m_\infty - m_f)} \quad 2.3$$

em que m é a massa da substância (para efeito de dados termogravimétricos), bem como, qualquer outra propriedade física escolhida para representar o sistema sob investigação. Os subscritos correspondem à massa no tempo t , no tempo inicial $t = 0$ e no tempo final $t = \infty$, envolvidos no evento térmico em estudo.^{40,41}

A equação da velocidade para processos no estado sólido pode ser expressa através de uma equação simples de cinética diferencial:

$$\frac{d\alpha}{dt} = A \exp\left(-\frac{E}{RT}\right) f(\alpha) \quad 2.4$$

na qual **A** é o fator pré-exponencial de Arrhenius; **Ea** é a energia d ativação; **R** é a constante universal dos gases e **f(α)** é uma expressão algébrica do modelo cinético em função da fração conversional **α** ($0 \leq \alpha \leq 1$). Os parâmetros de Arrhenius são independentes da temperatura **T** e da fração conversional **α**. Em métodos não isotérmicos, nas quais se emprega uma razão de aquecimento constante $\beta = dT/dt$, este novo termo é inserido na equação 2.2 que passa a ser:

$$\frac{d\alpha}{dt} = \frac{A}{\beta} \exp\left(-\frac{E}{RT}\right) f(\alpha) \quad 2.5$$

A análise cinética, por meio de métodos isoconversionais, parte do princípio que a velocidade de uma reação a uma determinada fração de conversão é função somente da temperatura. O método isoconversional de Flynn-Wall-Ozawa.^{42,43}

Para avaliação dos parâmetros cinéticos usa a forma integral da Equação 2.5, obtendo-se:

$$g(\alpha) = \frac{A}{\beta} \int_0^T \exp\left(-\frac{E}{RT}\right) dT = \frac{AE}{\beta R} p(x) \quad 2.6$$

em que $x = (E/RT)$. Para $p(x)$, dentro do intervalo $20 \leq x \leq 60$, pode-se usar a aproximação proposta por Doyle⁴⁴ na temperatura integral:

$$\log p(x) \cong -2,315 - 0,4567x \quad 2.7$$

pela substituição da Equação 2.5 na Equação 2.4, e alguns arranjos obtém-se:

$$\log g(\alpha) \cong \log \frac{AE}{R} - \log \beta - 2,315 - 0,457 \frac{E}{RT} \quad 2.8$$

logo, da relação entre $\log \beta$ vs. $1/T$, a inclinação da reta fornece a energia de ativação para valores fixos de conversão α , por meio de experimentos realizados a diferentes razões de aquecimento, testando a constância de E_a em relação α e T . O fator pré-exponencial pode ser avaliado considerando que a reação é de primeira ordem, sendo definido como:

$$A = \frac{\beta E}{RT_m^2} \exp \left(\frac{E}{RT_m^2} \right) \quad 2.9$$

2.1.3 Análise Térmica Diferencial (DTA)

A análise térmica diferencial é uma técnica termoanalítica na qual a diferença de temperatura entre uma amostra e um material inerte de referência é monitorada, enquanto este conjunto (amostra e referência) é submetido a uma programação de temperatura a uma razão definida. As mudanças de temperatura na amostra são devido às transições entálpicas de natureza endotérmica e exotérmica, ou seja, reações que causam mudança de fase como fusão, ebulição, sublimação; transições entre fases cristalinas e/ou amorfas, reações de desidratação, decomposição e etc.

A aplicabilidade da técnica DTA no estudo de polimorfos e solvatos está relacionada com a capacidade de fornecer informações a cerca de transições de fase, que ocorrem em função da temperatura e sua aplicação mais difundida é o estudo da estabilidade de formas polimórficas.¹⁸

2.1.4 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

A DSC é utilizada para medir a diferença de fluxo de calor entre uma substância e um material de referência, em função de uma programação de temperatura (aquecimento e/ou resfriamento). Na área farmacêutica é utilizada na caracterização do comportamento térmico, determinação da pureza de fármacos, estudos de compatibilidade entre os constituintes da formulação e identificação de polimorfismo com determinação das entalpias de cada forma cristalina.⁴⁵

É a técnica termoanalítica na qual se mede a diferença de energia emanada ou absorvida por uma amostra em relação a um material de referência, termicamente inerte em função da temperatura, enquanto a amostra e a referência são submetidas a uma programação controlada de temperatura. Este método quantifica a perda ou ganho de calor resultante das mudanças físicas e químicas ocorridas na amostra em função da temperatura programada.

Há dois modos de medir essas variáveis por DSC:

1. *DSC com Compensação de Potência*: arranjo no qual a referência e amostra são mantidas na mesma temperatura, através de aquecedores elétricos individuais. A potência dissipada pelos aquecedores é relacionada com a energia envolvida no processo endotérmico ou exotérmico.
2. *DSC com Fluxo de Calor*: o arranjo mais simples é aquele no qual a amostra e a referência, contidas em seus respectivos suportes de amostra, são colocadas sobre um disco de metal. A troca de calor entre o forno e a amostra ocorre preferencialmente pelo disco.

Transições cristalinas, fusão, evaporação e sublimação são mudanças de estado óbvias que podem ser quantificadas pelo DSC.

O DSC permite determinações quantitativas, estando a área dos picos relacionada com a energia envolvida no processo, sendo utilizados padrões para calibração do equipamento.⁴⁶

As curvas DSC possibilitam a determinação de transformações no estado sólido e, no estudo do polimorfismo, podem apresentar três perfis diferentes, de acordo com Giron. Consideremos duas formas sólidas A e B, sendo A de menor ponto de fusão e B de maior ponto de fusão, os perfis são:

Tipo 1 - a transição ocorre antes do ponto de fusão da forma B, e aparece como um pico exotérmico para sistemas monotrópicos ou endotérmicos para sistemas enantiotrópicos;

Tipo 2 - após fusão da forma A, cristais da forma B crescem dando lugar à fusão da mesma, representada por um pico exotérmico. Este perfil pode corresponder a um sistema monotrópico ou enantiotrópico;

Tipo 3 - cada forma cristalina apresenta seu próprio pico de fusão, não havendo nenhuma conversão entre elas. Além dessas correlações, é possível também obter informações sobre a ocorrência de hidratos e solvatos.⁴⁷

2.2 Métodos de difração de raios X

Estruturas cristalinas geralmente são determinadas pelas técnicas cristalográficas de difração de raios X. Estas técnicas se baseiam no fato de as distâncias interatômicas nos cristais são da mesma ordem de grandeza do comprimento de onda da radiação X (1 Å ou 100 pm), logo os cristais atuam como uma rede de difração tridimensional para o feixe de raios X. Os dados de difração resultantes podem ser interpretados, de acordo com as posições precisas dos átomos na estrutura cristalina, definindo distâncias interatômicas e ângulos.⁴⁸

As técnicas cristalográficas de difração de raios X, tanto de monocristal como de pó são as técnicas estruturais mais apropriadas na caracterização de polimorfos, solvatos etc. A análise visual de um cristal revela a existência de faces bem definidas, e como este tipo de planaridade não é comum na natureza, é fácil deduzir que a morfologia de um cristal é uma consequência de sua estrutura interior. Na verdade, a forma do cristal a nível microscópico depende criticamente do arranjo estrutural de átomos ou moléculas, e a maneira como estes se arranjam é um fator não tão óbvio que controla a formação do cristal.¹⁸

Os raios X são produzidos quando partículas carregadas com alta energia colidem com átomos da matéria. Os elétrons perdem velocidade ou param por colisões e parte de energia perdida é convertida em radiação eletromagnética.⁴⁹

Cristais com estruturas repetidas regularmente são capazes de difratar radiação com comprimento de onda na mesma ordem de grandeza ao da separação

interatômica. Diante desta observação, Laue em 1912 sugeriu que os átomos de um cristal poderiam se comportar como uma rede de difração tridimensional para os raios X. A condição para que se observe a difração de um feixe de raios X por um cristal é dada pela lei de Bragg:

$$n\lambda = 2d \sin\theta \quad 2.10$$

onde n é um número inteiro, d é a distância entre os plano paralelos, λ é o comprimento de onda do raio X e onde θ é o ângulo de incidência dos raios X, medido entre o feixe incidente e os planos cristalinos.

A posição dos feixes difratados depende da unidade repetitiva da estrutura do cristal e do comprimento de onda do feixe incidente, portanto não há duas substâncias que tenham o mesmo modelo de difração, sendo único para cada cristal.

Apesar de a resolução da estrutura cristalina proveniente de análise de raios X de monocristal proporcionar um entendimento elementar da estrutura do sólido polimórfico, a exigência de cristais de tamanho adequado e a complexidade inerente à análise, fazem com que esta técnica torne-se inviável em análises de rotina.

Durante a síntese, a maioria das substâncias de interesse farmacêutico é obtida na forma de pó microcristalino, o que torna a aplicação da técnica de pó mais adequada.⁵⁰

Um das mais importantes utilidades da difração de raios X de pó (XRPD) na caracterização de fármacos é sua aplicação na determinação primária da identidade polimórfica ou pseudopolimórfica, uma vez que polimorfos e solvatos são o resultado de fenômenos puramente cristalográficos. Sendo assim, representa um método essencial na determinação desse fenômeno.⁵¹

A regulamentação de 1995 da farmacopeia americana (*USP 23/NF 18*) no Capítulo Geral concernente à técnica de difração de raios X preconiza que a identidade polimórfica é estabelecida se o ângulo de espalhamento dos 10 picos de difração mais intensos obtidos de um determinado analito concorde numa faixa de $\pm 0,20$ a 2θ graus com os do material de referência e se as intensidades relativas dessas difrações não variem mais do que 20%. Mais tarde, nas *USP 24/NF 19* a regra concernente à intensidade relativa foi removida, estabelecendo que tais

intensidades devam variar consideravelmente entre amostras e materiais de referencia.⁵¹

Portanto, para a determinação da ocorrência de polimorfismo a partir de difratometria de raios X deve-se comparar os difratogramas obtido da substância padrão e do teste, e o valor de 2θ (onde ocorre o sinal) é mais importante que a intensidade do sinal, uma vez que 2θ mostra a inclinação do plano cristalino, enquanto que a intensidade mostra a distância entre os planos do cristal, assim, qualquer sinal diferente dos valores de 2θ entre as amostras analisadas pode evidenciar polimorfismo, já que para o estudo de polimorfismo a informação determinante para sua identificação é a forma do cristal.¹⁸

2.3 Nucleação e crescimento de cristais

O processo de formação de uma fase sólida em solução pode ser considerado como resultado de dois eventos separados: 1 - dissolução da fase sólida inicial; e 2 - nucleação/crescimento da fase sólida estável final⁵².

Técnicas de cristalização baseadas em solventes são as mais comumente usadas na investigação de polimorfismo, pelo fato de permitir a variação da energia interfacial soluto-solvente, da taxa de supersaturação β e temperatura, principais parâmetros da nucleação.⁵²

A supersaturação é a força motriz da nucleação/crescimento dos cristais, e é definida como a diferença entre os potenciais químicos das moléculas do soluto no estado supersaturado (μ) e saturado (μ_s), respectivamente. Esta diferença pode ser expressa como:

$$\Delta\mu = \mu - \mu_s = k T \ln \beta \quad 2.11$$

onde k é a constante de Boltzmann e T é a temperatura. Considerando as atividades como iguais às concentrações molares, β pode ser escrito como:

$$\beta = \frac{C_i}{C_s} \quad 2.12$$

na qual β é a taxa de supersaturação, C_i é concentração do soluto em solução e C_s a concentração de saturação ou de equilíbrio. Logo, se $\beta > 1$, os cristais crescem; se $\beta < 1$, os cristais dissolvem; e se $\beta = 1$, os cristais e a solução estão em equilíbrio.⁵²

2.4 Cristalização mediada por solventes

A evaporação lenta de solvente de uma solução saturada é um método bastante usual na produção de cristais, logo, largamente utilizado pela indústria farmacêutica na investigação de fenômeno do polimorfismo em fármacos.⁵²

Soluções saturadas ou próximas da saturação são filtradas para remover a maioria dos núcleos e, em seguida, mantidas sem perturbação por um período de tempo razoável. A taxa de evaporação pode ser ajustada através da cobertura da solução com folha de alumínio ou Parafilm[®], contendo alguns furos pequenos.

Para que um solvente seja útil para fins de recristalização, a solubilidade do soluto nesse solvente deve ser na ordem de 5-200 mg mL⁻¹ em temperatura ambiente. Se a solubilidade for superior a 200 mg mL⁻¹, a viscosidade da solução torna-se alta resultando em um produto vítreo. Um teste preliminar bastante útil pode ser realizado adicionando algumas gotas de solvente (5-10) a 25-50 mg de amostra. Se todo o sólido se dissolver, o solvente não será útil para fins de recristalização. Semelhantemente, solventes muito viscosos, ou com baixas pressões de vapor (tal como glicerol ou dimetilsulfóxido) devem se evitados por dificultarem o processo de cristalização, além da filtração e lavagem. Exemplos de solventes rotineiramente utilizados para fins de cristalização estão listados na Tabela 2.1

Tabela 2.1 - Lista de solventes comumente utilizados em cristalizações

Solvente	Ponto de ebulição / °C
Dimetilformamida	153
Ácido acético	118
Água	100
1-propanol	97
2-propanol	83
Acetonitrila	82
2-butanona	80
Acetato de etila	77
Etanol	78
Éter isopropílico	68
Hexano	69
Metanol	65
Acetona	57
Cloreto de metileno	40
Éter dietílico	35

Levando em conta o que foi dito até aqui sobre a escolha dos solventes, algumas características devem ser consideradas:

1. O solvente deve solubilizar a quente, uma quantidade de sólido consideravelmente maior que aquela solubilizada a frio, isto é, próximo ao ponto de ebulição deve solubilizar o máximo possível de sólido e apenas uma pequena quantidade à temperatura ambiente ou um pouco abaixo desta;
2. O solvente deve solubilizar, facilmente a frio, a maioria das impurezas, pois estas ficarão retidas na solução quando a substância de interesse se cristalizar. Se algumas impurezas em pequena quantidade não forem solúveis, nem a frio nem a quente, serão separadas na primeira filtração feita a quente onde o fármaco foi solubilizado;

3. O solvente não deve reagir quimicamente com o sólido a purificar, ou seja, deve ser quimicamente inerte;
4. O solvente deve apresentar um ponto de ebulição relativamente baixo, ou pressão de vapor alta, para que possa ser facilmente removido da substância recristalizada. A polaridade do solvente deve ser semelhante à do soluto, considerando a constante dielétrica dos solventes. Em igualdade de circunstâncias a escolha do solvente deve ser feita atendendo a fatores como facilidade de manipulação, inflamabilidade, toxicidade e custo.⁵³

3. PARTE EXPERIMENTAL

3.1 Materiais e métodos

3.1.1 Fármacos

Os fármacos utilizados neste estudo foram o nadolol, para o qual foi realizado um estudo do comportamento térmico e polimorfismo, e o atenolol, para o qual foi realizado um estudo do comportamento térmico. Ambos foram de grau farmacêutico (pureza estimada > 98%), fornecidos pela Purifarma. As amostras se apresentam como pó cristalino, de cor branca e finamente dividido.

3.1.2 Sistemas Solventes

Na investigação do polimorfismo, foram obtidos cristais de nadolol usando o método da cristalização mediada por solvente, pela evaporação lenta de uma solução saturada ou próxima da saturação.

Os solventes, ou misturas de solventes, utilizados nesta investigação foram todos de grau HPLC e a água utilizada nas misturas foi purificada em um sistema de purificação Barnstead Easy Pure Rodi®. Foram testados diversos solventes e misturas, porém, o critério de escolha obedeceu aos requisitos de solubilidade moderada a frio, pressão de vapor relativamente alta e moléculas não muito grandes. Para tanto, os solventes/misturas de solventes foram escolhidos com base em testes simples de solubilidade em bancada.

Uma listagem dos solventes e misturas usadas neste trabalho é apresentada a seguir:

Solventes Puros

1. Acetonitrila
2. Etanol
3. Metanol

Misturas de solventes

1. Acetonitrila/água 1:1(v/v)
2. Acetonitrila/etanol 4:1 (v/v)
3. Etanol/água 1:1 (v/v)
4. Etanol/acetona 4:1(v/v)

3.1.3 Obtenção dos cristais de nadolol

Soluções $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ de nadolol em cada um dos solventes/mituras foram preparadas e mantidas sob refluxo durante aproximadamente 90 minutos. Após o refluxo as soluções foram diretamente transferidas para tubos de ensaio de 100 mm de comprimento e 10 mm de diâmetro interno, que foram selados com Parafilm® com pequenos furos para desacelerar a evaporação, como mostra a Figura 3.1. As soluções foram mantidas em repouso a 1 ± 2 ; 20 ± 2 , 40 ± 1 °C, em geladeira, temperatura ambiente em armário fechado ao abrigo de luz e estufa, respectivamente, até a formação dos cristais. Os sólidos foram cuidadosamente retirados da fase líquida, tendo cuidado para que não houvesse uma possível mistura com a fase sólida que se forma nas paredes do tubo.

Figura 3.1 – Tubos de ensaio com as soluções a serem cristalizadas.

3.1.4 Microscopia Ótica (OM) e Microscopia Eletrônica de Varredura (SEM)

As micrografias óticas (OM) foram obtidas em um microscópio ótico Olympus, modelo GX51, controlado pelo software analySIS 5.1 Olympus. As imagens foram obtidas nas magnificações de 5x e 10x, com o objetivo de fazer uma triagem inicial de possíveis formas cristalinas diferentes.

A morfologia dos cristais obtidos foi avaliada por microscopia eletrônica de varredura (SEM) em um microscópio LEO, modelo 440, com o detector operando com feixe de elétrons de 20 kV. As amostras foram cobertas com uma camada de ouro de aproximadamente 20 nm em um metalizador Coating System BAL-TEC MED 020 e mantidas em dessecador até o momento da análise. As imagens foram obtidas nas magnificações de 100x, 500x e 1000x.

3.1.5 Termogravimetria e Análise Térmica Diferencial Simultânea (TG/DTG-DTA)

As curvas TG/DTG e DTA foram obtidas em um módulo simultâneo TG-DTA Q Series SDT Q 600, gerenciado pelo software *Thermal Advantage for Q10 Series*, ambos da TA Instruments. As condições empregadas foram: massa de amostra em torno de 5,0 mg, suporte de amostra aberto em α -alumina, razão de aquecimento de $10^{\circ}\text{C min}^{-1}$, atmosfera dinâmica de N_2 e ar sintético, com vazão de 100 mL min^{-1} .

No estudo cinético de decomposição foi usado no tratamento dos dados o software *TA Advantage Specialty Library*[®], versão 1.4, b 4.0.18 da TA Instruments.

Na caracterização dos produtos voláteis de decomposição foi utilizado um espectrômetro FTIR *Nicolet iS10* (Thermo Scientific) acoplado a um TGA/SDTA 851 Mettler Toledo. As condições empregadas foram as mesmas anteriores, com exceção da massa que foi em torno de 10 mg.

3.1.6 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

As curvas DSC foram obtidas em um Módulo Calorimétrico Diferencial Q10, gerenciado pelo software *Thermal Advantage for Q10 Series*, da TA Instruments. A célula do equipamento foi previamente calibrada para temperatura e entalpia utilizando Índio metálico com 99,999% de pureza ($T_{\text{fusão}} = 156,6^{\circ}\text{C}$; $\Delta H_{\text{fusão}} = 28,7\text{ J g}^{-1}$), de acordo com procedimento recomendado pelo fabricante. As condições empregadas foram: massa de amostra em torno de 4,0 mg, suporte de amostra em alumínio, tampado e com furo central, razão de aquecimento $10^{\circ}\text{C min}^{-1}$, atmosfera dinâmica de N_2 , com vazão de 50 mL min^{-1} .

3.1.7 Difractometria de raios X de pó (XRPD)

Na obtenção dos dados pelo método de pó, foi utilizado um difratômetro da marca Rigaku Rotaflex, modelo RU 200B, nas seguintes condições: anodo de cobre (Cu K α , λ = 1,542 Å); voltagem de 50 kV; corrente de 100 mA; varredura com passo de 0,02° 2 θ ; velocidade de varredura de 2° min⁻¹.

3.1.8 Polarimetria

As medidas polarimétricas foram efetuadas em um polarímetro Perkin Elmer modelo 241, usando soluções de 9 mg ml⁻¹ das amostras em que supostos compostos puros foram obtidos, a uma temperatura de 19°C.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Caracterização Térmica do Nadolol

4.1.1 *Termogravimetria, Termogravimetria Derivada e Análise Térmica Diferencial TG/DTG-DTA*

No estudo do comportamento térmico, uma amostra comercial do nadolol foi analisada por TG/DTG e DTA, sendo as curvas apresentadas na Figura 4.1.

Sob as condições de análise utilizadas neste trabalho, o nadolol é termicamente estável até 196,2°C, temperatura a partir da qual se inicia um único estágio de decomposição, que se estende até 353,0 °C, não apresentando resíduo significativo no suporte da amostra nesta temperatura e até 700.°C.

A curva DTG apresenta um pico em 318,9 °C, quando ocorre a taxa máxima de decomposição.

Próximo à fusão e pouco antes da decomposição, a curva DTG apresentou pequenos distúrbios, decorrentes da acomodação da amostra na fusão e no início da degradação, respectivamente.

A curva DTA apresenta dois picos endotérmicos em 128,0 e 321,0 °C, atribuídos à fusão e decomposição, respectivamente. A razão pela qual os picos são endotérmicos se refere à atmosfera inerte de N₂.

Figura 4.1 - Curvas TG/DTG-DTA para o nadolol. Condições: massa de amostra 5.0 mg, suporte de amostra em α -alumina, razão de aquecimento $10^{\circ}\text{C min}^{-1}$, atmosfera dinâmica de N_2 , vazão de 100 mL min^{-1} .

De acordo com o Merk Index ¹⁰, o nadolol funde entre $124\text{-}136^{\circ}\text{C}$, o que está de acordo com o observado no presente estudo.

Ainda na análise por TG/DTG-DTA, também foram obtidas curvas termoanalíticas em atmosfera oxidante de ar sintético, as quais são apresentadas na Figura 4.2.

A curva TG obtida em ar, diferentemente da curva obtida em N_2 , apresentou duas etapas de perda de massa, a primeira entre $183,7$ e $404,7^{\circ}\text{C}$ com $\Delta m = 90,9\%$; e a segunda perda entre $404,7^{\circ}\text{C}$ até o final da análise com $\Delta m = 8,1\%$, sem resíduo significativo ao final na análise. Observa-se, assim, que, em atmosfera oxidante, o nadolol começa a se decompor em uma temperatura mais baixa, comparada com a curva em atmosfera de N_2 . A elucidação destas perdas ficou evidente pelos dois picos da curva DTG.

Figura 4.2 - Curvas TG/DTG-DTA para o nadolol. Condições: massa de amostra 5.0 mg, suporte de amostra em α -alumina, razão de aquecimento $10^{\circ}\text{C min}^{-1}$, atmosfera de ar sintético, vazão de 100 mL min^{-1} .

A curva DTA apresentou três picos, o primeiro endotérmico em $129,3^{\circ}\text{C}$ atribuído a fusão. O segundo e o terceiro picos exotérmicos em $312,9^{\circ}\text{C}$ e em $497,2^{\circ}\text{C}$, respectivamente, foram atribuídos à decomposição do nadolol. Esta mudança no perfil da curva DTA em ar, quando comparado com a curva em N_2 se deve à degradação do material carbonizado em meio oxidante.

4.1.2 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

A amostra de nadolol também foi analisada por DSC, em uma programação de aquecimento-resfriamento-aquecimento, entre 0° e 170°C, considerando que segundo os dados obtidos na curva TG, a amostra é estável neste intervalo de temperatura. A Figura 4.3 apresenta as curvas DSC, destacando cada uma das etapas do ciclo.

Durante o primeiro aquecimento, um evento endotérmico atribuído à fusão é observado em 129,6 °C (t_{onset}) como um único pico agudo, o que sugere elevado grau de pureza para a amostra, também concordando com os dados do Merk Index¹⁰. A pequena diferença da temperatura de pico de fusão observada na curva DSC em relação ao DTA, se deve às condições experimentais utilizadas em cada técnica.

Figura 4.3 – Curva DSC do nadolol com ciclo de aquecimento-resfriamento-aquecimento. Condições: massa de amostra 4,0 mg, suporte de amostra em alumínio tampado e com furo central, razão de aquecimento 10 ° C min⁻¹, atmosfera dinâmica de N₂, vazão de 50 mL min⁻¹.

A entalpia associada ao processo de fusão foi de $157,3 \text{ J g}^{-1}$. Considerando este valor de ΔH , é possível determinar a entropia do processo no pico do evento de fusão, admitindo que $\Delta G = 0$, pois há equilíbrio entre as fases sólida e líquida. Assim: $\Delta S = \Delta H/T_{\text{pico}} = 1,18 \text{ J } ^\circ\text{C}^{-1} \text{ g}^{-1}$.

Não foi observado nenhum evento de recristalização durante a curva de resfriamento do nadolol, apenas uma alteração na linha base característica de processo de transição vítrea, a qual ocorre nas temperaturas $T_g = 45,0^\circ\text{C}$ (onset) ou $42,9^\circ\text{C}$ (mid point) sugerindo que o fármaco tenha se tornado um sólido amorfo, e justificando a ausência de um novo pico de fusão.

Durante o segundo aquecimento observou-se novo desvio da linha base em $42,9,0^\circ\text{C}$ (onset) e $46,0^\circ\text{C}$ (mid point), também referente à transição vítrea, na qual o sólido amorfo passa de um regime mais rígido para um menos rígido de mobilidade das moléculas. Não foi observado nenhum evento endotérmico de fusão durante esta etapa. A Tabela 4.1 apresenta os dados termodinâmicos obtidos da análise por DSC.

Tabela 4.1 - Dados obtidos da curva DSC do nadolol.

Curva	Evento	Parâmetro	Valor
1º aquecimento	Fusão	$T_{\text{fusão}} / ^\circ\text{C} (t_{\text{onset}})$	129,6
		$\Delta H_{\text{fusão}} / \text{J g}^{-1}$	157,3
		$\Delta S_{\text{fusão}} / \text{J } ^\circ\text{C}^{-1} \text{ g}^{-1}$	1,18
1º resfriamento	Transição vítrea	$T_{\text{onset}} / ^\circ\text{C}$	45,0
		$T_{\text{mid point}} / ^\circ\text{C}$	42,9
2º aquecimento	Transição vítrea	$T_{\text{onset}} / ^\circ\text{C}$	42,9
		$T_{\text{mid point}} / ^\circ\text{C}$	46,0

4.1.3 Caracterização dos Voláteis

O estudo dos voláteis gerados pela decomposição do nadolol foi realizado usando a termogravimetria acoplada ao infravermelho (TG-FTIR). A amostra em estudo foi novamente analisada por TG nas mesmas condições apresentadas na Figura 4.1. Os gases gerados na decomposição foram diretamente coletados para o analisador FTIR, utilizando N₂ como gás de arraste.

De acordo com o gráfico de Gram-Schmidt, (Figura 4.4), o qual relaciona a intensidade do sinal pelo tempo de análise, referente ao volume de voláteis que chegam ao detector, foi possível observar dois picos bem definidos a 31,5 e a 43,7 minutos de análise, indicando a detecção dos produtos na decomposição do nadolol.

Figura 4.4 - Gráfico de Gram-Schmidt para a decomposição do nadolol em atmosfera de N₂.

Supondo uma razão de aquecimento constante de $10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ e uma temperatura inicial ambiente, próxima de $20\text{ }^{\circ}\text{C}$, estes tempos correspondem a aproximadamente $335\text{ }^{\circ}\text{C}$ e $457\text{ }^{\circ}\text{C}$, respectivamente, ou seja, em concordância com o que foi observado na curva TG, quando a decomposição do nadolol ocorreu entre $196,2$ e $353,0\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Os espectros FTIR dos voláteis (Figura 4.5) aos 31 e 36 minutos ($320,0$ e $371,0^{\circ}\text{C}$, respectivamente) de análise, mostraram picos aproximadamente em 2960 , 2800 , 1630 , 1500 , 1380 , 1260 , 800 cm^{-1} .

Já aos 44 minutos ($451,2^{\circ}\text{C}$), observam-se vários picos sugerindo uma mistura de compostos detectados, como terc-butilamina, com evidências da presença de isopropanol (3061 , 3023 , 1463 , 1311 , 1235 , 1108 , 1045 cm^{-1}), além de fenóis e anéis aromáticos (1717 , 1679 cm^{-1}).

Não há como afirmar categoricamente, mas há fortes evidências de que a decomposição se dá com perda de isopropanol e demais fragmentos da molécula a partir de $451\text{ }^{\circ}\text{C}$, ou aos 44 minutos de análise.

Figura 4.5 - Espectros FTIR no estado gasoso dos compostos de decomposição do nadolol

A Figura 4.6 apresenta os espectros da terc-butilamina e do isopropanol na fase gasosa, segundo o banco de dados Nicolet TGA Vapor Phase e EPA Vapor Phase, contidos no software Omnic 8.0 da Thermo Scientific. Os espectros apresentam a localização das bandas características para efeito de comparação com as bandas obtidas experimentalmente.

Figura 4.6 – Espectros FTIR em fase gasoso da terc-butilamina e isopropanol. Bandas do terc-butilamina: 2966, 1625, 1471; 1371, 1235, 807 cm^{-1} ; Bandas do isopropanol: 3656, 2976, 2893, 1464, 1382, 1249, 1146 cm^{-1} .

Na Figura 4.7 é apresentado um mecanismo de decomposição térmica do nadolol, com base nas curvas TG/DTG-DTA, DSC e nos espectros FTIR dos voláteis gerados na sua decomposição.

Figura 4.7 – Mecanismo proposto para a decomposição do nadolol.

4.1.4 Estudo Cinético de Decomposição do Nadolol

No estudo da cinética de decomposição do nadolol foi empregado o método isoconversional não isotérmico, proposto por Flynn, Wall e Ozawa ^{41,42} para avaliação dos parâmetros cinéticos.

Para tanto, foram obtidas curvas TG em atmosfera de N₂ e nas razões de aquecimento de 2,5; 5,0; 7,5; 10,0 e 12,5 °C min⁻¹, apresentadas na Figura 4.8. O intervalo de temperatura analisado se refere à decomposição do nadolol, segundo os dados da curva TG/DTG, entre 196,2 e 353,0 °C.

Figura 4.8 – Curvas TG para o nadolol em cinco razões de aquecimento. Condições: massa de amostra 5,0 mg, suporte de amostra em α -alumina, atmosfera dinâmica de N_2 , vazão de 100 mL min⁻¹.

A Tabela 4.2 apresenta os dados termodinâmicos obtidos do método cinético aplicado no estudo usando o software citado na seção 3.1.5. Os valores de E_a e $\log A$ não variam significativamente, no intervalo $27,5\% < \alpha < 45,0\%$ apresentando desvio padrão de 0,1 e 0,02% em relação à média do intervalo.

Na Figura 4.9 pode-se acompanhar a variação da energia de ativação com a fração conversional entre os valores de 5 e 70%. Observa-se que a energia de ativação cresce até se estabilizar entre os valores de 27 e 45% de conversão, quando volta a cair menos bruscamente.

Como se trata de uma decomposição em uma única etapa, a variação na energia de ativação se deve a processos concomitantes ocorrendo durante este processo.

Esta etapa inicial na qual há estabilização da energia de ativação concorda com a saída da terc-butilamina, segundo a análise dos voláteis liberados na decomposição do nadolol, descrita anteriormente.

Resultados e Discussão

O valor médio calculado da energia de ativação no intervalo de conversão examinado (entre 27,5-45,0%) foi de $101,4 \pm 0,1 \text{ KJ mol}^{-1}$ e o fator pré-exponencial de Arrhenius obtido foi $\log A = 8,53 \pm 0,02 \text{ m}^{-1}$.

Tabela 4.2 - Valores da fração conversional (α), energia de ativação (E_a), fator pré-exponencial ($\log A$) e do quociente E_a/RT , obtidos a partir da análise cinética da decomposição do nadolol

α / %	E_a / kJ mol ⁻¹	Log A / min ⁻¹	E_a/RT
20,0	100,8	8,42	25,76
22,5	101,0	8,45	25,78
25,0	101,2	8,48	25,78
27,5	101,3	8,49	25,81
30,0	101,4	8,51	25,81
32,5	101,4	8,52	25,78
35,0	101,5	8,54	25,78
37,5	101,5	8,55	25,76
40,0	101,4	8,55	25,71
42,5	101,4	8,56	25,73
45,0	101,3	8,55	25,68
47,5	101,1	8,55	25,66
50,0	101,2	8,56	25,63
52,5	101,2	8,56	25,63
55,0	100,9	8,56	25,61
57,5	100,8	8,56	25,61
60,0	100,8	8,57	25,56
62,5	100,7	8,57	25,53
65,0	100,7	8,58	25,76
67,5	100,5	8,58	25,78
70,0	100,4	8,58	25,78
Média* $\pm$ (sd)**	101,4 $\pm$ (0,1)	8,53 $\pm$ (0,02)	25,76 $\pm$ (0,04)

*média para todo o intervalo 27,5-45%. **sd = desvio padrão;

Figura 4.9 – Relação entre a energia de ativação E_a e a fração conversional α do processo de decomposição térmica do nadolol. No destaque a região de maior estabilidade, entre 27,5-45,0%.

4.2 Caracterização Térmica do Atenolol

4.2.1 Termogravimetria-Termogravimetria Derivada-Análise de Temperatura Diferencial (TG/DTG-DTA)

Para o estudo do comportamento térmico do atenolol, uma amostra usada em formulações farmacêuticas foi analisada por TG/DTG e DTA. A Figura 4.10 apresenta as curvas obtidas em atmosfera de N_2 e na razão de aquecimento de $10,0^\circ\text{C min}^{-1}$.

Segundo a curva TG, o atenolol é termicamente estável até 191,8 °C, temperatura a partir da qual se inicia a decomposição, que se estende até 900 °C, com um resíduo de 17,2% (0,89 mg) no suporte da amostra ao final da análise.

Por sua vez a curva DTG sugere a decomposição em três etapas:

Etapa 1 - 191,8-301,8 °C, com $\Delta m = 25,2\%$;

Etapa 2 - 301,8-454,1 °C, com $\Delta m = 48,9\%$;

Etapa 3 - 454,1-800,0 °C, com $\Delta m = 8,4\%$.

A curva DTA apresentou um pequeno pico a 55,6 °C atribuído a materiais voláteis presentes na amostra.. Em seguida pode-se observar um pico endotérmico de fusão a 152,6 °C e outros dois picos alargados, sendo o primeiro endotérmico a 283,3 °C e o segundo exotérmico a 342,1 °C, ambos atribuídos à decomposição da amostra.

Figura 4.10 - Curvas TG/DTG-DTA para o atenolol. Condições: massa de amostra 5.0 mg, suporte de amostra em α -alumina, razão de aquecimento $10^{\circ}\text{C min}^{-1}$, atmosfera dinâmica de N_2 , vazão de 100 mL min^{-1} .

Ainda na análise por TG/DTG-DTA, foram obtidas curvas nas mesmas condições da Figura 4.7, porém em atmosfera de ar sintético, representadas na **Figura 4.11**.

Observa-se que a curva TG apresentou um padrão de decomposição diferente, quando comparado com a curva em atmosfera de N₂, com duas perdas de massa definidas. Nota-se que o atenolol inicia a decomposição em uma temperatura mais baixa (173,7 °C), se comparado com o ensaio sob atmosfera inerte de N₂.

A curva DTG sugere duas perdas de massa, sendo que o primeiro pico sugere que a primeira etapa de decomposição englobe ao menos três eventos concomitantes.

As curvas DTA, além do pico atribuído à fusão em 152,3 °C apresentaram dois picos exotérmicos atribuídos à decomposição, um em 321,2 °C e o outro em 527,13 °C, indicando que a decomposição sob atmosfera oxidante envolve queima de material carbonizado.

Figura 4.11 - Curvas TG/DTG-DTA para o atenolol. Condições: massa de amostra 5.0 mg, suporte de amostra em α -alumina, razão de aquecimento 10°C min⁻¹, atmosfera de ar sintético, vazão de 100 mL min⁻¹.

4.2.2 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

A amostra de atenolol também foi analisada por DSC, sendo realizado um experimento de aquecimento-resfriamento-aquecimento entre 0° e 180°C, considerando que, segundo os dados obtidos da curva TG, a amostra é estável neste intervalo de temperatura. A Figura 4.12 apresenta as curvas DSC destacando cada uma das três etapas do ciclo.

Durante o primeiro aquecimento, um evento endotérmico atribuído à fusão foi observado como um único pico agudo a 153,1 °C (t_{onset}), o que também sugere um alto grau de pureza. Durante o resfriamento observou-se um pico exotérmico a 142,7 °C (t_{onset}), atribuído à cristalização do líquido fundido. Durante o reaquecimento observou-se novamente o pico endotérmico a 151,4 °C (t_{onset}), atribuído à fusão do sólido cristalizado. Estes dados acerca do processo de fusão do atenolol concordam com o Merk Index (152 – 154 °C)¹⁰ e a literatura.^{12,15}

O fato de este pico ser mais alargado do que no primeiro aquecimento, e os diferentes valores das entalpias e entropias de fusão (Tabela 4.3) sugerem um grau de cristalização diferente imposto pelas condições da análise, porém sem evidência de transformações de fase.

Figura 4.12 – Curva DSC do atenolol com ciclo de aquecimento-resfriamento-aquecimento. Condições: massa de amostra 4,0 mg, suporte de amostra em alumínio com furo central, razão de aquecimento $10^{\circ}\text{C min}^{-1}$, atmosfera dinâmica de N_2 , vazão de 50 mL min^{-1} .

Tabela 4.3 - Dados obtidos da curva DSC do atenolol

Curva	Evento	Parâmetro	Valor
1º aquecimento	Fusão	$T_{\text{fusão}} / ^\circ\text{C}$ (t onset)	153,1
		$\Delta H_{\text{fusão}} / \text{J g}^{-1}$	142,5
		$\Delta S_{\text{fusão}} / \text{J } ^\circ\text{C}^{-1} \text{ g}^{-1}$	0,92
1º resfriamento	Cristalização	$T_{\text{Crist}} / ^\circ\text{C}$ (t onset)	142,7
		$\Delta H_{\text{crist}} / \text{J g}^{-1}$	123,1
		$\Delta S_{\text{crist}} / \text{J } ^\circ\text{C}^{-1} \text{ g}^{-1}$	0,85
2º aquecimento	Fusão	$T_{\text{fusão}} / ^\circ\text{C}$ (t onset)	151,4
		$\Delta H_{\text{fusão}} / \text{J g}^{-1}$	123,0
		$\Delta S_{\text{fusão}} / \text{J } ^\circ\text{C}^{-1} \text{ g}^{-1}$	0,80

4.2.3 Caracterização dos Voláteis

O estudo dos voláteis gerados pela decomposição do atenolol foi realizado pela termogravimetria acoplada ao infravermelho (TG-FTIR). A amostra em estudo foi novamente analisada por TG nas mesmas condições apresentadas na Figura 4.7, enquanto os gases gerados na decomposição foram diretamente coletados para o analisador FTIR, utilizando N_2 como gás de arraste.

De acordo com os estudos realizados por Castro,¹⁵ que buscou a caracterização do atenolol no estado sólido, durante a fusão o grupamento amida do atenolol é convertido em uma imida, liberando amônia e dando origem a um dímero, a partir do qual se inicia o processo de decomposição (Figura 4.13). Este fato pode ajudar a entender os possíveis compostos que são gerados durante a decomposição, bem como relacioná-los com os resultados obtidos pela análise TG-FTIR.

Figura 4.13 - Reação de dimerização com formação da imida durante a fusão do atenolol, conforme referência 15.

De acordo com o gráfico de Gram-Schmidt (Figura 4.14), o qual relaciona a intensidade do sinal pelo tempo de análise, referente ao volume de voláteis que chegam ao detector, foi possível observar três picos definidos a 28,1; a 29,8 e 31,6 minutos, além de um ombro a 25,0 minutos.

Estes valores concordam com os intervalos de tempo e temperatura, nos quais ocorrem as principais perdas de massa apresentadas na Figura 4.7, e correspondem respectivamente a 301 °C, 318 °C e 336 °C, considerando uma razão de aquecimento de 10 °C min⁻¹ e uma temperatura ambiente em torno de 20 °C.

Figura 4.14 - Gráfico de Gram-Schmidt.

Uma análise mais cuidadosa com base nos espectros FTIR dos voláteis entre 17 e 31 minutos (195 e 335°C) apresentados na Figura 4.15, revela a saída de amônia (963 e 929 cm^{-1}), seguida de sua mistura com isopropilamina (2967 e 783 cm^{-1}), isso sugere que a decomposição ocorre com a formação do dímero, mas, também com a liberação das aminas terminais, o que resultaria em uma perda de 25,2% (calculado = 25,4%), melhorando as observações previamente descritas por Castro.¹⁵

A Figura 4.16 apresenta os espectros do isopropanol, isopropilamina e amônia em fase gasosa, segundo o banco de dados EPA Vapor Phase, contidos no software Omnic 8.0 da Thermo Scientific. Os espectros apresentam a localização das bandas características para efeito de comparação com as bandas obtidas experimentalmente.

Figura 4.15 - Espectros FTIR gerados na decomposição do atenolol.

A Figura 4.17 apresenta um mecanismo para o comportamento térmico do atenolol, com base nas curvas TG/DTG-DTA, DSC e nos espectros FTIR dos voláteis gerados na decomposição do atenolol.

Figura 4.16 – Espectros FTIR em fase gasoso do isopropanol, isopropilamina e da amônia. Bandas do isopropanol: 3656, 2976, 2893, 1464, 1382, 1249 e 1.146 cm^{-1} ; Bandas da isopropilamina: 2967, 1621, 1466, 1378, 1363 e 783; Bandas da amônia: 3333, 1624, 963, 929, 625 cm^{-1} .

Figura 4.17 - Mecanismo proposto para a decomposição do atenolol.

4.2.4 Estudo Cinético de Decomposição do Atenolol

No estudo da cinética de decomposição do atenolol foi empregado o método isoconversional não isotérmico, proposto por Flynn, Wall e Ozawa ^{41,42} para avaliação dos parâmetros cinéticos. A exemplo do nadolol foram obtidas curvas TG em atmosfera de N_2 e nas razões de aquecimento de 2,5; 5,0; 7,5; 10,0 e 12,5 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$, apresentadas na Figura 4.18. O intervalo de temperatura usado no estudo compreende a primeira etapa de decomposição definida na curva DTG (191,8-301,8 $^{\circ}\text{C}$), na qual a curva TG indica uma perda de massa de 25,2%.

O tratamento dos dados foi feito usando o software TA Advantage Specialty Library, versão 1.4, Build 4.0.18 da TA Instruments.

Figura 4.18 – Curvas TG para o atenolol em cinco razões de aquecimento. Condições: massa de amostra 5,0 mg, suporte de amostra de α -alumina aberta, atmosfera dinâmica de N_2 a 100 mL min⁻¹.

A Tabela 4.4 apresenta os resultados obtidos entre 7,5 e 60 % de conversão, a partir do método cinético aplicado neste estudo.

Na Figura 4.19 pode-se acompanhar a variação da energia de ativação com a fração conversional entre os valores de 0 e 60%. Observa-se que a energia de ativação cresce em todo o intervalo, apresentando uma leve estabilização entre os valores de 10,0 e 25,0% de conversão, intervalo escolhido para o cálculo da energia de ativação após uma análise estatística, que consistiu no método iterativo de obtenção do intervalo de menor desvio padrão, dentro do intervalo de melhor estabilização. É possível que, neste intervalo, os parâmetros determinados se relacionem exclusivamente com a primeira etapa, enquanto que acima dele ($\alpha > 25\%$) pode haver influencia da segunda etapa, identificada na curva DTG.

Resultados e Discussão

O valor médio calculado para a energia de ativação, no intervalo de conversão no qual houve estabilização estatística entre 10,0-25,0% foi de $99 \pm 1 \text{ kJ mol}^{-1}$ e o fator pré-exponencial de Arrhenius sendo $\log A = 9,0 \pm 0,2 \text{ min}^{-1}$.

Tabela 4.4 - Valores da fração conversional (α), energia de ativação (E_a), fator exponencial ($\log A$) e do quociente E_a/RT obtidos a partir da análise cinética da decomposição do atenolol.

$\alpha / \%$	$E_a / \text{kJ mol}^{-1}$	$\log A / \text{min}^{-1}$	E/RT
7,5	97,2	8,76	22,35
10,0	98,3	8,86	22,60
12,5	98,5	8,87	22,65
15,5	98,7	8,88	22,69
17,5	99,2	8,92	22,81
20,0	99,6	8,96	22,90
22,5	100,3	9,02	23,06
25,0	101,2	9,11	23,27
27,5	102,0	9,18	23,45
30,0	102,2	9,19	23,50
32,5	102,5	9,23	23,57
35,0	103,1	9,28	23,71
37,5	103,5	9,32	23,80
40,0	104,0	9,37	23,91
42,5	104,4	9,41	24,00
45,0	105,0	9,46	24,14
47,5	105,7	9,53	24,30
50,0	106,1	9,57	24,40
52,5	106,7	9,63	24,53
55,0	107,2	9,67	24,65
57,5	107,8	9,74	24,79
60,0	108,5	9,81	24,95
Média* $\pm$ (sd)*	99 ± 1	$9,0 \pm 0,2$	$22,9 \pm 0,2$

* média para todo o intervalo, 10-25%. **sd = desvio padrão

Figura 4.19 – Relação entre a energia de ativação E_a e a fração conversional α do processo de decomposição térmica do atenolol. No detalhe o intervalo usado no cálculo da energia de ativação.

4.3 Investigação do polimorfismo: nadolol

Na investigação do polimorfismo, foram obtidos cristais de nadolol segundo o método descrito na seção 3.1.2.

Inicialmente, foi feita uma aferição da temperatura da geladeira usada para a recristalização a frio, o que foi realizado com o auxílio de um termopar, a Figura 4.20 apresenta a curva de monitoramento.

Figura 4.20 – Curva de monitoramento da temperatura da geladeira.

Uma vez que a geladeira foi reservada exclusivamente para este trabalho a porta não foi aberta frequentemente durante o período de cristalização. Assim, com base nos resultados apresentados na Figura 4.20, pode-se considerar que as amostras permaneceram a uma temperatura de $0,78 \pm 0,07$ °C ($n=16$) durante a cristalização.

Após cristalização, foram obtidas 18 amostras na fase sólida a partir de metanol, etanol, acetonitrila e misturas desses solventes entre si, com água e acetona, nas quais o fármaco se mostrou solúvel em condições apropriadas para a formação de cristais. Três soluções não resultaram em cristais. A Tabela 4.5 resume todos os sólidos obtidos e as respectivas condições empregadas.

Tabela 4.5 - Amostras de nadolol obtidas na investigação do polimorfismo.

Amostras*	Sistemas solventes	Condições
NT(Nadolol teste)	-	-
1A	Etanol	Geladeira a $0,78 \pm 0,07^{\circ}\text{C}$
2A**	Etanol/água 1:1 (v/v)	Geladeira a $0,78 \pm 0,07^{\circ}\text{C}$
3A**	Etanol/acetona 4:1 (v/v)	Geladeira a $0,78 \pm 0,07^{\circ}\text{C}$
4A	Acetonitrila	Geladeira a $0,78 \pm 0,07^{\circ}\text{C}$
5A**	Acetonitrila/água 1:1 (v/v)	Geladeira a $0,78 \pm 0,07^{\circ}\text{C}$
6A	Acetonitrila/etanol 4:1 (v/v)	Geladeira a $0,78 \pm 0,07^{\circ}\text{C}$
7A	Metanol	Geladeira a $0,78 \pm 0,07^{\circ}\text{C}$
1B	Etanol	Ambiente a $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$
2B	Etanol/água 1:1 (v/v)	Ambiente a $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$
3B	Etanol/acetona 4:1 (v/v)	Ambiente a $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$
4B	Acetonitrila	Ambiente a $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$
5B	Acetonitrila/água 1:1 (v/v)	Ambiente a $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$
6B	Acetonitrila/etanol 4:1 (v/v)	Ambiente a $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$
7B	Metanol	Ambiente a $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$
1C	Etanol	Estufa a $40 \pm 1^{\circ}\text{C}$
2C	Etanol/água 1:1 (v/v)	Estufa a $40 \pm 1^{\circ}\text{C}$
3C	Etanol/acetona 4:1 (v/v)	Estufa a $40 \pm 1^{\circ}\text{C}$
4C	Acetonitrila	Estufa a $40 \pm 1^{\circ}\text{C}$
5C	Acetonitrila/água 1:1 (v/v)	Estufa a $40 \pm 1^{\circ}\text{C}$
6C	Acetonitrila/etanol 4:1 (v/v)	Estufa a $40 \pm 1^{\circ}\text{C}$
7C	Metanol	Estufa a $40 \pm 1^{\circ}\text{C}$

* Nas identificações o número representa o sistema solvente e a letra a condição empregada.

** Amostras que não resultaram em cristais

4.3.1 Análise morfológica - OM/SEM

Após a obtenção dos cristais, eles foram analisados quanto à sua morfologia usando microscopia ótica (OM) e eletrônica de varredura (SEM), com o objetivo realizar uma triagem inicial dos prováveis polimorfos, em comparação com as imagens da amostra nadolol teste.

As amostras foram agrupadas de acordo com sua morfologia, em uma primeira abordagem, como apresentado na Tabela 4.6.

Tabela 4.6 – Relação das amostras e as características morfológicas observadas.

Característica morfológica	Amostras
Agulhas (forma acicular)	4A, 4B, 4C, 6B e 6C
Placas	1B, 1C, 2B, 3B, 3C, 5C e 6A
Grumos	1A, 5B, 7A e 7B
Formas não definidas	7C, 2C e NT

As Figuras 4.21 a 4.24 apresentam as micrografias de OM e SEM dos sólidos obtidos, de acordo com as identificações da Tabela 4.5 e agrupados pela classificação da Tabela 4.6.

Figura 4.21 – Micrografias OM e imagens MEV das amostras classificadas como formas aciculares ou agulhas.

Figura 4.22 – Micrografias OM e imagens MEV das amostras classificadas como placas irregulares.

Figura 4.23 – Micrografias OM e imagens MEV das amostras classificadas como grumos.

Figura 4.24 – Micrografias OM e imagens MEV das amostras não classificadas em nenhuma forma.

Os resultados apresentados na Tabela 4.6 e nas Figuras 4.21 a 4.24 sugerem a presença de diferentes estruturas cristalinas originadas dos processos de cristalização nos diferentes solventes e temperaturas.

Entretanto, a confirmação dessas observações e análise de pureza dos sólidos necessita de técnicas complementares cujos resultados serão apresentados nas próximas seções.

Com base no aspecto cristalino e melhor definição das formas, foram selecionadas dez amostras para uma análise mais apurada por difração de raios X.

4.3.2 Difratometria de raios X de pó (XRPD)

Na segunda etapa da avaliação das formas sólidas de nadolol, algumas foram submetidas à análise por difração de raios X pelo método do pó, uma vez que não se formaram monocristais, razão pela qual não foi possível realizar uma caracterização estrutural dos mesmos.

As amostras selecionadas por meio da análise morfológica foram: 2(B e C), 4 (A, B e C), 5(B e C) e 6 (A, B e C), que poderiam representar diferentes polimorfos, racematos ou misturas de conglomerados cristalinos.

Os difratogramas obtidos são apresentados na Figura 4.25, os quais foram agrupados de acordo com a semelhança espectral, sendo o difratograma da amostra nadolol teste NT, apresentado para comparação.

Foram considerados semelhantes os difratogramas das formas:

- i) 4A e 6C
- ii) 2C, 5B, 6A, e, aparentemente, a forma de referência

Não apresentaram semelhança:

- i) 2B, 4B, 4C, 5C e 6B

Esta falta de semelhança parece relacionada com a presença de picos de mais de uma forma nos difratogramas. Talvez pelas misturas das diferentes formas sólidas obtidas, o que torna difícil definir se tratam-se de polimorfos, racematos ou misturas de conglomerados cristalinos.

Deve-se considerar que o nadolol apresenta quatro formas enantioméricas, que se unem nos chamados racematos A e B, de acordo com WANG e CHING ¹¹. Esses racematos poderiam justificar as misturas de formas observadas nos difratogramas, pois poderiam estar presentes em mais de uma forma cristalina, gerando sinais que se misturam nestes difratogramas, e que também podem ser vistas nas micrografias óticas e eletrônicas de varredura apresentadas anteriormente.

Figura 4.25 – Difrátogramas de raios X das amostras sólidas selecionadas e da amostra nadolol teste NT.

Apesar de que não se pode descartar a presença de formas puras cristalizadas a partir das diferentes condições de cristalização utilizadas neste trabalho, dado o elevado número de possíveis formas enantiomérica originadas na estrutura do nadolol, seria mais plausível crer na presença de racematos ou conglomerados, do que em polimorfos.

Assim, misturas podem ser sugeridas pelo difratogramas da forma 5C, que na região de 2Θ entre 5 e 8° apresentam picos que se parecem com aqueles das formas 2C, 2B e 4C.

Por outro lado há difratogramas com características peculiares como aqueles das formas 2B, 5B, 6B, que apresentam dois picos em 2Θ igual a 7,5° e um pico exclusivo em 29,5°; picos duplos em 10° e 12,5° e picos duplos em 9°, respectivamente.

Portanto, novas informações são necessárias para avaliar a pureza das formas sólidas obtidas, como será visto a seguir pelas curvas termoanalíticas obtidas, principalmente com a calorimetria exploratória diferencial.

4.3.3 TG/DTG-DTA

Dando continuidade à caracterização das amostras selecionadas pela morfologia e pela difração de raios X, o comportamento térmico das mesmas foi estudado por TG/DTG e DTA.

O comportamento térmico das amostras foi muito semelhante ao da substância de referência, já descrito na sessão correspondente ao estudo do comportamento térmico. Os perfis de perda de massa das curvas TG/DTG foram idênticos, apresentando uma única etapa de decomposição. Para todas as amostras, as curvas DTA apresentaram dois picos endotérmicos, atribuídos à fusão e decomposição, respectivamente.

Os resultados obtidos nesta análise demonstraram que não houve formação de solvatos nas estruturas obtidas.

4.3.4 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

As amostras também foram caracterizadas por DSC em regime de aquecimento-resfriamento-aquecimento. As principais diferenças entre as curvas DSC para as formas sólidas selecionadas a partir das micrografias foram observadas apenas durante o primeiro aquecimento.

O resfriamento e a segunda curva de aquecimento, também mostram perfis semelhantes ao que foi visto na curva da substância de referência, ou seja, uma transição vítrea por volta de 45 °C, tanto no resfriamento, quanto no aquecimento.

Para maior clareza, optou-se por apresentar apenas as curvas referentes ao primeiro aquecimento, as quais podem ser vistas na Figura 4.26.

As curvas apresentam picos endotérmicos atribuídos à(s) fusão(ões) das diferentes formas sólidas obtidas nos processos de cristalização. Essas formas poderiam ser polimorfos, racematos puros ou aglomerados cristalinos dos diferentes enantiômeros, porém como já foi comentado na discussão dos resultados de difração de raios X, crê-se na maior probabilidade da presença dos últimos.

A Tabela 4.7 apresenta uma compilação dos picos de fusão observados durante o primeiro aquecimento das formas sólidas obtidas neste trabalho.

Figura 4.26 – Curvas DSC das amostras sólidas obtidas. As identificações são de acordo com a Tabela 4.5. Condições: massa de amostra 4,0 mg, suporte de amostra em alumínio com furo central, razão de aquecimento 10 ° C min⁻¹, atmosfera dinâmica de N₂, vazão de 50 mL min⁻¹.

Da observação das curvas (Fig. 4.26) e dos dados compilados na Tabela 4.7, há cinco picos de fusão distribuídos entre as amostras.

O pico em 133,0 °C, só foi observado na amostra NR, referente à substância comercial de referência, que se trata de um racemato, de acordo com a literatura.¹¹

Já o pico em 137,5 ± 0,5 °C foi observado nas amostras 4A, 4B, 4C e 5B, sendo claramente pronunciado nas amostras provenientes de acetonitrila (4), nas três condições de temperatura de cristalização (A, B e C). Entretanto, na amostra mistura acetonitrila/água 1:1 (v/v) (5), em temperatura ambiente (B), o pico de fusão foi muito pouco evidente, mas presente.

A presença de cristais na forma de placas nas micrografias da sessão 4.3.1, poderia estar relacionada a esta forma.

Tabela 4.7 – Relação dos picos observados nas curvas DSC

Amostras	Temperatura picos DSC / °C				
	1	2	3	4	5
NT	133,0*				
2B			141,9	150,9	
2C			139,7	151,1	
6C			139,4	151,2	
6B			143,7		153,8
4C		137,1		149,0	
4A		137,4	140,6		
4B		138,2	140,0		
5C			142,1	150,1	
6A					154,3
5B		137,2	140,7	151,4	
Média ± sd	133,0	137,5 ± 0,5	141 ± 2	150,6 ± 0,9	154,0 ± 0,3

*Observado apenas para o NT

Considerando que o mesmo surge em associação a outros picos, pode-se supor que se trata de um conglomerado, com propriedades diferentes, conforme descreve Britain.¹⁸

Observações semelhantes podem ser descritas para o pico em 141 ± 2 °C. Este pico foi aquele que se apresentou com maior frequência nas amostras selecionadas para análise por DSC, estando presente em oito delas. Sua presença é bem marcada em 2B, 2C e 4B, menos evidente em 6B e 6C e muito pouco pronunciada em 5B e 5C. Em 4A sua presença pode ser claramente observada, mas pouco resolvida em relação ao pico seguinte em torno de 150 °C. Sugere-se a presença de um novo conglomerado. Isso é coerente com a presença de cristais na forma prismática observados nas micrografias SEM, apresentadas na sessão 4.3.1.

O segundo pico, mais frequente nas amostras, foi aquele que se apresenta em 151 ± 2 °C, o qual está presente em seis amostras. Este pico surge de forma intensa nas amostras 2B, 2C, 5B e 6C e menos intensa na amostra 4C e 5C. Inclusive se poderia afirmar que esta é a forma majoritária presente em 5B, sendo praticamente única. Essa forma seria relacionada com as formas grumosas, presentes nas imagens SEM.

O último pico a ser discutido é aquele observado nas amostras obtidas em acetonitrila/etanol 4:1 (v/v) nas temperaturas da geladeira e ambiente (respectivamente 6A e 6B), na temperatura média $154,0 \pm 0,3$ °C. Na amostra 6A, ele é o único evento térmico e na imagem SEM apresenta-se como forma de placas. Já a amostra 6B, na qual predomina estruturas na forma de agulhas, é possível visualizar placas, assim como a amostra 6C.

Infelizmente, não foi possível correlacionar os dados com as estruturas de raios X, exceto para aquelas em que a mistura é menos evidente. Porém não se deve descartar a possibilidade da mistura racêmica estar presente, mesmo quando se tem apenas um evento de fusão.

Assim, das curvas DSC associadas, principalmente, às imagens SEM pode-se afirmar que foi possível obter formas praticamente puras nas amostras 5B (acetonitrila/água 1:1 (v/v), temperatura ambiente) e 6A (acetonitrila/etanol 1:1 (v/v), geladeira). Entretanto, com os resultados disponíveis neste trabalho, não possível concluir se se tratam de polimorfos ou racematos/conglomerados, sendo a segunda hipótese a mais viável.

4.3.5 Estudo Polarimétrico

Medidas polarimétricas foram realizadas com as amostras NT, 4C, 5B e 6A, nas quais, aparentemente, há apenas um pico DSC. A Tabela 4.8 apresenta os resultados obtidos para a rotação ótica dos sólidos obtidos. Os valores de rotação ótica foram calculados segundo a Equação 4.1, que permite obter a sua rotação específica,

$$[\alpha]_D^T = \frac{\alpha}{c l} \quad 4.1$$

sendo $[\alpha]_D^T$, a rotação específica, α a rotação medida, C a concentração ($9,0 \times 10^{-3} \text{ g mL}^{-1}$) e l é o caminho ótico percorrido na solução (1 dm). T se refere à temperatura do experimento (19°C) e D o comprimento de onda da luz usada, neste caso a linha D do sódio, $\lambda = 589 \text{ nm}$.^{54,55,56}

Tabela 4.8 - Rotação ótica das espécies selecionadas

Amostra	α	$[\alpha]_D^{19}$
NT	-0,009	- 1,00
4C	-0,013	- 1,44
5B	-0,016	- 1,78
6A	0	0

As amostras 4C, 5B mostram desvio negativo da luz polarizada, o que sugere a presença de composto levogiros (desvio no sentido anti-horário). Os valores são qualitativos e, nesses casos, fica evidente a presença de enantiômeros e não de misturas racêmicas nesses casos, o que poderia inclusive sugerir uma forma de preparação destes compostos. Já a amostra 6A não apresentou desvio da luz e mostrou ser uma mistura racêmica, enquanto a amostra nadolol teste, NT, também desviou a luz no sentido negativo, revelando a presença de enantiômeros e não de mistura racêmica, como prevê a literatura.¹¹

Nas demais amostras há fortes evidências da presença de conglomerados que se alternam entre si nas amostras, dependendo das condições de cristalização.

5. CONCLUSÃO GERAL

Neste trabalho foram realizados estudos do comportamento térmico de dois fármacos antihipertensivos da classe dos β -bloqueadores, de uso frequente no Brasil, o nadolol e o atenolol, além de estudos das formas cristalinas do nadolol.

Da caracterização térmica do nadolol foi possível concluir que o mesmo apresenta um evento de fusão, seguido da decomposição térmica em uma única etapa, na qual evoluem *terc*-butilamina e isopropanol, seguidos de frações dos demais fragmentos da molécula, em atmosfera de nitrogênio.

Curvas de aquecimento-resfriamento, em intervalo de temperatura precedente à decomposição não apresentaram evidências da cristalização do fármaco fundido, tendo sido possível medir a temperatura, entalpia e entropia deste processo de fusão.

Estudos da cinética de decomposição sólida foram realizados tendo revelado os valores de energia de ativação e fator pré-exponencial de Arrhenius para o processo de decomposição do nadolol.

A caracterização térmica do atenolol revelou que o fármaco funde e se decompõe na fase líquida gerando uma estrutura dimérica com liberação de amônia e isopropilamina, o que não havia sido reportado adequadamente em estudos anteriores. A forma dimérica se decompõe na sequência liberando amônia, isopropanol, gás carbônico e água, em atmosfera de nitrogênio.

Curvas de aquecimento-resfriamento, em intervalo de temperatura precedente à decomposição revelaram que o fármaco cristaliza no resfriamento e volta a fundir, tendo sido possível medir a temperatura, entalpia e entropia deste processo de fusão/cristalização.

Estudos da cinética de decomposição sólida foram realizados tendo revelado os valores de energia de ativação e fator pré-exponencial de Arrhenius para o processo de decomposição do atenolol.

Conclusão Geral

Os cristais de nadolol obtidos pelo método da cristalização a partir de soluções supersaturadas do fármaco, com diferentes solventes e sistemas solventes em temperatura sub-ambiente, ambiente e sobre-ambiente, foram caracterizados por microscopia ótica e eletrônica de varredura, difração de raios X pelo método do pó e calorimetria exploratória diferencial.

Nos solventes e sistemas solventes usados neste trabalho foi possível verificar a presença de duas formas puras, provavelmente racematos e várias misturas de conglomerados cristalinos, além da substância de referência, NT, obtidas em acetonitrila/água 1:1 (v/v) (5B), na temperatura ambiente e acetonitrila/etanol 4:1 (v/v) (6B) em geladeira. Isso sugere este método como procedimento de preparação destas formas em fase pura.

Sugestões de trabalhos futuros

1. Não foi possível concluir efetivamente quanto à presença de racematos ou conglomerados cristalinos, nem tampouco promover um estudo das estruturas de monocristais, porém estes estudos são sugeridos para a continuidade dos trabalhos, o que levaria a uma elucidação mais completa dos processo de cristalização deste importante fármaco antihipertensivo.
2. Separar mecanicamente os cristais presentes em fase majoritária, quando viável e, caracterizá-los por técnicas como polarimetria, difratometria de raios X e ressonância nuclear magnética. Eventualmente, separações por cromatografia quiral na modalidade preparativa, também seria uma alternativa para estes trabalhos.
3. Estender os estudos a outros fármacos antihipertensivos, da classe dos betabloqueadores, como o atenolol.

6. REFERÊNCIAS

-
- 1 SOCIEDADE BRASILEIRA DE HIPERTENSÃO ARTERIAL. Disponível em: <www.sbh.org.br/imprensa/anti_hipertensivos.pdf>. Acesso em: 10 mar. 2012.
- 2 NOBRE, F.; LIMA, N.K.C. Hipertensão arterial: conceito, classificação e critérios diagnósticos. In: CHAGAS, A.C.P.; LAURINDO, F.R.M.; FRANCISCO PINTO, I.M. **Manual de cardiologia SOCESP**. São Paulo: Editora Atheneu, 2000. p. 150-152.
- 3 MANO, R. **Manual de hipertensão arterial**. Disponível em: <www.manuaisdecardiologia.com>. Acesso em: 10 mar. 2012.
- 4 TAVARES, A.; PLAVNIK, F. L. Inibidores do sistema simpático. **HiperAtivo**, v. 5, n. 2, p. 91-96, 1998.
- 5 KORALKOVAS, A.; BURCKHALTER, H. J. **Química farmacêutica**. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 1982. p. 335-343.
- 6 GILMAN'S, G. **Manual of pharmacology and therapeutics**. New York: McGraw Hill, 2008. v. 26, p. 158-159.
- 7 GARCÍA DEL POZO, J.; RAMOS SEVILLANO, E.; ABAJO, F. J. DE; MATEOS CAMPOS, R. Use of antihypertensive drugs in Spain (1995-2001). **Revista Española de Cardiología**, v. 57, n. 3, p. 241-9, 2004.
- 8 SINGH, A. K.; KEDOR-HACKMANN, É. R. M.; INÊS, M.; MIRITELLO, R. Cromatografia líquida com fase quiral aplicada na separação enantiomérica de fármacos cardiovasculares. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 42, n. 4, p. 14, 2006.
- 9 WANNMACHER, L. **Rediscutindo o uso de betabloqueadores na hipertensão**. Disponível em: <http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/v4n6_betabloqueadores.pdf>. Acesso em: 10 mar. 2012.
- 10 THE Merck index: an encyclopedia of chemicals, drugs and biological. 12th ed. Whitehouse Station: Merck, 1996. p.1394.

-
- 11 WANG, X.; CHING, C. B. Chiral separation of β -blocker drug nadolol by HPLC – A kinetic and equilibrium study. **Journal of Separation Science**, v. 30, n. 3, p. 333-343, 2007.
- 12 CASTRO, R. A. E.; CANOTILHO, J.; BARBOSA, R. M.; SILVA, M. R.; BEJA, A. M.; PAIXÃO, J. A.; REDINHA, J.S. Conformational isomorphism of organic crystals: racemic and homochiral atenolol. **Crystal Growth & Design**, v. 7, n. 3, p. 1-5, 2007.
- 13 PYRAMIDES, G.; ROBINSON, J. W.; ZITO, S.W. The combined use of DSC and TGA for the thermal analysis of atenolol tablets. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 13, n. 2, p. 103-110, 1995.
- 14 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. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 100, p. 423-429, 2010.
- 15 CASTRO, R. A. E. **Antagonistas adrenérgicos selectivos beta 1: estrutura do atenolol**. 2006. 180f. Tese (Doutorado em Química Farmacêutica) – Faculdade de Farmácia, Universidade de Coimbra, Coimbra, 2006.
- 16 McCURONE, W. C. **Polymorphism in physics and chemistry of the organic solid state**. New York: Wiley Interscience, 1965. v.2, p. 726-767.
- 17 BERNSTEIN, J. **Polymorphism in molecular crystals**. Oxford: Clarendon Press, 2002. p. 2-17.
- 18 BRITTAIN, H. G. **Polymorphism in pharmaceutical solids**. New York: Marcel Dekker, 1999. p. 461.
- 19 GIRON, D. Contribution of thermal methods and related techniques to the rational development of pharmaceuticals. **Pharmaceutical Science and Technology Today**, v. 1, n. 5, p. 191-199, 1998.
- 20 GIRON, D. Monitoring of polymorphism -from detection to quantification. **Engineering in Life Science**, v. 3, p. 103-112, 2003.

21 GIRON, D. Investigations of polymorphism and pseudo-polymorphism in pharmaceuticals by combined thermoanalytical techniques. **Journal of Thermal Analysis**, v. 64, p. 37-60, 2001.

22 CHADHA, R.; ARORA, P.; KAUR, R.; SAINI, A.; SINGLA, M.L.; JOAIN, D.S. Characterization of solvatomorphs of methotrexate using thermoanalytical and other techniques. **Acta Pharmaceutica**, v. 59, n. 3, p. 245-57, 2009.

23 MCCRONE, W. C. **Physics and chemistry of the organic solid state**. New York: Interscience Publishers, 1965. v. 2, p. 725-767.

24 HALEBLIAN, J.; MCCRONE, W. Pharmaceutical sciences pharmaceutical applications of polymorphism. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 58, n. 8, p. 911-929, 1969.

25 OLIVEIRA, M. A. D. Análise térmica aplicada a fármacos e formulações farmacêuticas na indústria farmacêutica. **Química Nova**, v. 34, n. 7, p. 1224-1230, 2011.

26 INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION. Harmonized Tripartite guideline, Specifications: test procedures and acceptance criteria for new drug substances and new drug products: chemical substances Q6A. Japan: ICH Steering Committee, 1999. p. 8-9.

27 AGUIAR, A J.; KRC, J.; KINKEL, A W.; SAMYN, J. C. Effect of polymorphism on the absorption of chloramphenicol from chloramphenicol palmitate. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 56, n. 7, p. 847-53, 1967.

28 BRANDÃO, A. L. A. Influência do polimorfismo na farmacotécnica de cápsulas no setor magistral. **Revista Racine**, v. 91, n. 1969, p. 1-28, 2003.

29 BAUER, J.; SPANTON, S.; HENRY, R.; QUICK, J.; DZIKI, W.; PORTER, W.; MORRIS, J. Ritonavir: an extraordinary example of conformational polymorphism. **Pharmaceutical Research**, v. 18, n. 6, p. 859-66, 2001.

30 MARIETTE, M. J. L.; MINO, R. C.; ANTONIE, P.; LOTTER, J. G. V. Physicochemical properties and X ray structural studies of the trigonal polymorph of carbamazepine. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 76, n. 9, p. 744-752, 1987.

31 RASENACK, N.; MÜLLER, B. B. W. Properties of Ibuprofen crystallized under various conditions: a comparative study. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 28, 1077–1089, 2002.

32 ARMAS, C. N. D. E.; PEETERS, O. M.; BLATON, N; GYSEGHEM, E.V.; MARTENS, J.; HALE, G.V.; MOOTER, G.V.D. Solid state characterization and crystal structure from X-Ray powder diffraction of two polymorphic forms of ranitidine base. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 98, n. 1, p. 146-158, 2009.

33 GIRON, D. Investigations of polymorphism and pseudo-polymorphism in pharmaceuticals by combined thermoanalytical techniques. **Journal of Thermal Analysis**, v. 64, p. 37-60, 2001.

34 NEWMAN, A. W.; BYRN, S. R. Solid-state analysis of the active pharmaceutical ingredient in drug products. **Drug Discovery Today**, v. 8, n. 19, p. 898-905, 2003.

35 ALLINGER, N.L. **Química orgânica**. 2. ed. Rio de Janeiro: Livros Técnicos e Científicos, 1976. p. 256.

36 MACKENZIE, R.C. Nomenclature in thermal-analysis. 4. **Thermochimica Acta**, v. 28, p.1,1979.

37 WENDLANDT, W.W. **Thermal analysis**. 3rd. New York: John Wiley Interscience, 1986. p. 848 .

38 IONASHIRO, M. **Giolito- fundamentos da termogravimetria, análise térmica diferencial e calorimetria exploratória diferencial**. Araraquara: Editora Giz, 2004. p. 94.

39 VYAZOVKIN, S.; BURNHAM, A. K.; CRIADO, J. M.; PÉREZ-MAQUEDA, L.A.; POPESCU, C.; SBIRRAZZOULI, N.. ICTAC Kinetics committee recommendations for performing kinetic computations on thermal analysis data. **Thermochimica Acta**, v. 520, n. 1-2, p. 1-19, 2011.

40 NUNES, R. S. **Estudo do comportamento térmico de alguns aditivos alimentares por TG/DTG, DTA e DSC**. 2009. 140f. Tese (Doutorado em Química Analítica)-Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2009.

41 OZAWA, T. A new method of analyzing thermogravimetric data. **Bulletin of Chemical Society of Japan**, v. 38, n. 11, p. 1881-1886, 1965.

42 FLYNN, J. H.; WALL, L. A. General treatment of the thermogravimetry of polymers. **Journal of Research of the National Bureau of Standards, Section A: Physics and Chemistry**, v. 70A, n. 6, p. 487-523, 1966

43 GUINESI, L. S.; RIBEIRO, C. A.; CRESPI, M. S.; SANTOS, A. F.; CAPELA, M. V. Titanium (IV)– edta complex kinetics of thermal decomposition by non-isothermal procedures. **Journal of Thermal Analysis**, v. 85, p. 301-307, 2006.

44 DOYLE, C. D. Estimating isothermal life from thermogravimetric data. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 6, n. 24, p. 639-642, 1962.

45 OLIVEIRA, M. A. D. Análise térmica aplicada a fármacos e formulações farmacêuticas na indústria farmacêutica. **Química Nova**, v. 34, n. 7, p. 1224-1230, 2011.

46 CAVALHEIRO, É. T. G. Influência de alguns parâmetros experimentais nos resultados de análises calorimétricas diferenciais - DSC. **Química Nova**, v. 25, n. 5, p. 849-855, 2002.

47 GIRON, D. Thermal analysis and calorimetric methods in characterization of polymorphs and solvates. **Thermochimica Acta**, v. 248, n. 94, p. 1-59, 1995.

48 LESLEY, E.; SMART, E. A. M. **Solid state chemistry**- an introduction. 3rd ed. London: CRQ, 2005. p. 507.

49 WEST, A.R. **Solid state chemistry and its applications**. New York: John Wiley, 1989. p. 265.

50 BRITAIN, H. G. **Polymorphism in pharmaceutical solids**. 2nd ed. New Jersey: Informa Healthcare, 2009. p. 654

51 BRITAIN, H. G. X-ray diffraction III: pharmaceutical applications. **Spectroscopy**, v. 16, p. 14-18, 2001.

52 MANGIN, D.; PUEL, F.; VEESLER, S. Polymorphism in processes of crystallization in solution: a practical review abstract. **Organic Process Research & Development**, v. 13, n. 6, p. 1241-1253, 2009.

53 GU, C. H.; YOUNG, V.; GRANT, D. J. Polymorph screening: influence of solvents on the rate of solvent-mediated polymorphic transformation. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 90, n. 11, p. 1878-90, 2001.

54 SAXON C.; BRINDLEY, S.; JERVIS, N.; JONES, G.R.; MORGAN, E.D.; RAMSDEN, C.A. The world's first "pastarimeter": an analogous demonstration of polarimetry using pasta fusilli. **Journal of Chemical. Education**, v. 79, p.1214, 2002.

55 WILLARD H.H.; MERRIT, L.L.; AND DEAN, J.A. **Instrumental methods of analysis**. 5th edit. New York: Prentice Hall International, 1989. p.158.

56 BOLETIN Informativo. Disponível em:
<http://www.spq.pt/boletim/docs./boletimSPQ_096_072_11.pdf>. Acesso em: 10 maio 2012.