UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Programa de Pós-Graduação em Fármaco e Medicamentos
Área de Produção e Controle Farmacêuticos

Análise térmica e determinação dos parâmetros cinéticos de preparações farmacêuticas e novas especialidades de zidovudina (AZT)

Adriano Antunes de Souza Araújo

Tese para obtenção do grau de
DOUTOR

Orientador:
Prof. Dr. Jivaldo do Rosário Matos

Co-orientador:
Profa. Dra. Sílvia Storpirtis

São Paulo
2003

Ficha Catalográfica
Elaborada pela Divisão de Biblioteca e
Documentação do Conjunto das Químicas da USP.

Araújo, Adriano Antunes de Souza
A663a Análise térmica e determinação dos parâmetros cinéticos de preparações farmacêuticas e novas especialidades de zidovudina (AZT) / Adriano Antunes de Souza Araújo. -- São Paulo, 2003.
241p.

Tese (doutorado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. Departamento de Farmácia
Orientador: Matos, Jivaldo do Rosário
Co-orientador: Storpirtis, Sílvia

1. Tecnologia farmacêutica 2. Análise de medicamentos I. T. II. Matos, Jivaldo do Rosário, orientador III. Storpirtis, Sílvia, co-orientador.

615.4 CDD

Adriano Antunes de Souza Araújo

Análise térmica e determinação dos parâmetros cinéticos de preparações farmacêuticas e novas especialidades de zidovudina (AZT)

Comissão Julgadora
da
Tese para obtenção do grau de Doutor

Prof. Dr. Jivaldo do Rosário Matos
orientador/presidente

_____
Prof. Dr. Davi Pereira de Santana

_____
Prof. Dr. Fernando Luis Fertonani

_____
Prof. Dr. Roy Edward Bruns

_____
Prof. Dr. Massao Ionashiro

São Paulo, maio de 2003.

"Jamais considere seus estudos como uma obrigação, mas como uma oportunidade invejável para aprender a conhecer a influência libertadora da beleza do reino do espírito, para seu próprio prazer pessoal e para proveito da comunidade à qual seu futuro trabalho pertencer."

Albert Einstein

A Deus

Por guiar meus passos, dar-me paciência, saúde e por mostrar-me que a ciência é uma das formas mais inteligentes e sublimes de se aproximar Dele.

Aos meus pais

Ao meu pai, José Sebastião, e a minha mãe, Christiane, por dedicarem suas vidas para conceder a educação de seus filhos e nos mostrar que quem tem um sonho não cansa.

Aos meus irmãos

Ao meu irmão aviador, Christiano, pela nossa amizade, pelo incentivo e por proporcionar todas as minhas idas e vindas a Recife.

Ao meu irmão jornalista, Fabiano, pelo exemplo de dedicação ao seu trabalho e pela admiração na luta por um ideal.

À minha Avó

Dedico este trabalho à minha primeira professora, vovó Branca, por sonhar, até mais do que eu, com a realização desta tese.

Aos meus orientadores

Prof. Jivaldo Matos e **Profa. Sílvia Storpirtis**

Agradeço pela oportunidade e pela forma tão singular com que sempre me receberam. Mais importante que a orientação e confiança recebidas durante a realização deste trabalho é o nascimento da nossa amizade.

AGRADECIMENTOS

À Faculdade de Ciências Farmacêuticas e ao Instituto de Química da Universidade de São Paulo, pela oportunidade oferecida para a realização deste trabalho.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela bolsa de doutorado e auxílios concedidos (processo n° 00/03130-2).

Aos Professores doutores, Jivaldo Matos e Sílvia Storpirtis, pela orientação, incentivo, confiança e amizade durante todas as etapas da realização desta tese.

À Profa. Dra. Ida Caramico Soares por me receber e me orientar na primeira etapa deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Antonio José Alves (UFPE) por me iniciar na carreira acadêmica, incentivar em todos os momentos e viabilizar a realização de estágio de pesquisa na Universidade de Montpellier, França.

Ao Prof. Dr. Hermi Felinto de Brito pela colaboração científica, pelo aprendizado na área de espectroscopia e terras raras, além da nossa amizade ao longo desses anos.

Ao Prof. Dr. Roy Edward Bruns pelos ensinamentos na área de estatística e pela colaboração científica.

À Profa. Dra. Lílian Rothschild Carvalho e à Dra. Larisse Montero pela grande colaboração na realização dos ensaios de cromatografia líquida de alta eficiência.

Ao Instituto de Geociências da USP, em particular ao Flávio Carvalho, pela realização dos ensaios de difração de raios X, e pela amizade que criamos durante este período.

Ao Prof. Dr. Geraldo Vicentini (*in memorian*) e à doutoranda Tereza Martins pelo convívio e amizade durante estes anos.

Ao Prof. Dr. Jonas Gruber e à Dra. Rosamaria Wu Chia Li pela amizade e colaboração em diversos trabalhos.

Á Profa. Dra. Maria Amélia B. Silveira e ao doutorando Roberto Parise Filho pela amizade e colaboração acadêmica.

Aos Professores doutores, Elizabeth Igne Ferreira e Massao Ionashiro, pelas valiosas contribuições, críticas e sugestões feitas durante o exame de qualificação.

Aos Professores doutores, Alain Terol e Philippe Boudeville, do Laboratório de Química Geral e Mineral da Faculdade de Farmácia da Universidade de Montpellier, pelo estágio realizado.

À Biosintética, em particular ao Farmacêutico Alberto, por possibilitar a utilização do laboratório de controle de qualidade para a realização dos estudos de estabilidade.

Aos colegas da Farmácia do Instituto de Infectologia Emílio Ribas pela convivência de um ano de estágio voluntário.

Aos meus amigos do LATIG: Dra. Lucildes Pita, Luis, Mery, Cláudia, Floripes, Marco, Alexandre, Omara e Renato pela amizade e ajuda em diversos momentos.

Aos meus avós, tios, primos e amigos agradeço pelo incentivo, amizade e por comemorarem comigo a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

Sumário ---------- IX
Lista de Figuras ---------- XIII
Lista de Tabelas ---------- XXVI
Lista de Abreviaturas, Siglas e Símbolos ---------- XXIX
Resumo ---------- XXX
Abstract ---------- XXXI1

CAPÍTULO I – Introdução e objetivos ---------- 01
1.1 Introdução e objetivos ---------- 02
1.2 Referências bibliográficas ---------- 09

CAPÍTULO II - O HIV e a AIDS: Atualização terapêutica anti-retroviral e perspectivas da quimioterapia de combate ---------- 13
2.1. Considerações gerais sobre o HIV e a AIDS ---------- 14
2.1.1. Ciclo de Replicação do HIV em células humanas ---------- 14
2.1.2. História natural da infecção pelo HIV e formas de transmissão ---------- 16
2.1.3. Dados epidemiológicos ---------- 17
2.1.4. Tratamento Anti-retroviral ---------- 19
2.2. Aspectos gerais relacionados à zidovudina (AZT) ---------- 22
2.2.1. Nomenclatura, estrutura e demais características físico-químicas ---------- 23
2.2.2. Farmacologia ---------- 23
2.2.3. Farmacocinética ---------- 24
2.2.4. Farmacodinâmica ---------- 25
2.2.5. Contra-indicações ---------- 27
2.2.6. Efeitos colaterais e reações adversas ---------- 27
2.2.7. Toxicidade ---------- 27
2.3. Perspectivas para o tratamento anti-retroviral ---------- 28
2.4. Conclusão ---------- 29
2.5. Referências bibliográficas ---------- 29

CAPÍTULO III - Estabilidade térmica e caracterização dos produtos intermediários sólidos e voláteis da decomposição do AZT ---------- **34**

3.1. Introdução ---------- **35**

3.1.1. Análise térmica diferencial (DTA) ---------- **36**

3.1.2. Calorimetria exploratória diferencial (DSC) ---------- **36**

3.1.3. Termogravimetria (TG) / Termogravimetria derivada (DTG) ---------- **39**

3.1.4. Aplicações da análise térmica na área farmacêutica ---------- **42**

3.2. Materiais e Métodos ---------- **42**

3.3. Resultados e discussão ---------- **45**

3.3.1. Estudo termoanalítico, obtenção e caracterização dos intermediários sólidos **45**

3.3.2. Caracterização dos voláteis provenientes da decomposição térmica por TG/DTA-GC/MS ---------- **50**

3.4. Conclusão ---------- **53**

3.5. Referências Bibliográficas ---------- **54**

CAPÍTULO IV - Determinação do ponto de fusão, variação de entalpia e grau de pureza de amostras comerciais de AZT utilizando DSC ---------- **56**

4.1. Introdução ---------- **57**

4.2. Materiais e Métodos ---------- **60**

4.3. Resultados e discussão ---------- **61**

4.4. Conclusão ---------- **72**

4.5. Referências Bibliográficas ---------- **73**

CAPÍTULO V – Estudo de compatibilidade fármaco/excipiente visando ao desenvolvimento de formas farmacêuticas sólidas de AZT ---------- **75**

5.1. Introdução ---------- **76**

5.2. Materiais e Métodos ---------- **78**

5.3. Resultados e discussão ---------- **79**

5.4. Conclusão ---------- **110**

5.5. Referências Bibliográficas ---------- **110**

CAPÍTULO VI – Preparação e caracterização de complexos de AZT com terras raras e compostos de inclusão com β-ciclodextrina ---------- **114**

6.1. Considerações gerais sobre complexos de inclusão com ciclodextrinas ---------- **115**

6.1.1. Formação de complexos de inclusão com ciclodextrinas ---------- **118**

6.2. Materiais e Métodos ---------- **121**

6.2.1. Preparação das amostras ---------- **121**

6.2.2. Métodos ---------- **121**

6.3. Resultados e discussão ---------- **122**

6.4. Conclusão ---------- **126**

6.5. Referências Bibliográficas ---------- **127**

6.6. Considerações gerais sobre complexos de terras raras ---------- **129**

6.7. Materiais e Métodos ---------- **131**

6.7.1. Preparação dos complexos de terras raras ---------- **131**

6.7.2. Medidas ---------- **132**

6.8. Resultados e discussão ---------- **132**

6.9. Conclusão ---------- **136**

6.10. Referências Bibliográficas ---------- **137**

CAPÍTULO VII – Aplicação do Planejamento Fatorial 2^4 para avaliação dos fatores que influenciam no estudo cinético de decomposição térmica do AZT -------- **141**

7.1. Introdução ---------- **142**

7.2. Materiais e Métodos ---------- **145**

7.3. Resultados e discussão ---------- **146**

7.4. Conclusão ---------- **170**

7.5. Referências Bibliográficas ---------- **170**

CAPÍTULO VIII – Estudo de estabilidade por CLAE e determinação dos parâmetros cinéticos da decomposição térmica das cápsulas de AZT ---------- **173**

8.1. Introdução ---------- **174**

8.2. Materiais e Métodos ---------- **180**

8.2.1. Produto de referência e amostras comerciais ---------- **180**

8.2.2. Métodos ---------- **181**

8.3. Resultados e discussão ---------- 184
8.3.1. Dados de cromatografia líquida e estudo de estabilidade ---------- 184
8.3.2. Avaliação do peso médio dos conteúdos das cápsulas de AZT ---------- 192
8.3.3. Avaliação do perfil termoanalítico por DSC e TG/DTG ---------- 195
8.3.4. Determinação dos parâmetros cinéticos da decomposição térmica ---------- 202
8.4. Conclusão ---------- 217
8.5. Referências Bibliográficas ---------- 218

CAPÍTULO IX – Considerações Finais ---------- 221
9.1. Considerações finais ---------- 222
9.2. Referências Bibliográficas ---------- 224

CAPÍTULO X – Perspectivas futuras ---------- 226
10.1. Perspectivas futuras ---------- 227

APÊNDICE 228
Curriculum Vitae ---------- 229

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I – Introdução e Objetivos

Figura 1.1 Fluxograma inicial de trabalho ---------- **8**

CAPÍTULO II - O HIV e a AIDS: Atualização terapêutica anti-retroviral e perspectivas da quimioterapia de combate

Figura 2.1 - Ciclo de replicação do HIV ---------- **15**

Figura 2.2 - Evolução natural da infecção pelo HIV ---------- **16**

Figura 2.3 - Padrões de resposta ao tratamento anti-retroviral ---------- **21**

Figura 2.4 - Processo de replicação do DNA e mecanismo de inibição da replicação viral promovida pela zidovudina ---------- **26**

CAPÍTULO III - Estabilidade térmica e caracterização dos produtos intermediários sólidos e voláteis da decomposição do AZT

Figura 3.1 - Ilustração dos modos DSC de compensação de potência (a) e de fluxo de calor (b) ---------- **37**

Figura 3.2 - Curva DSC de uma amostra de índio metálico obtida na célula DSC de fluxo de calor, sob atmosfera dinâmica de N_2 e razão de aquecimento de 10°C min^{-1} ----- **39**

Figura 3.3 - Esquema representativo do sistema de termogravimetria (TG) ---------- **40**

Figura 3.4 - Curvas TG/DTG obtidas sob atmosfera dinâmica de ar e razão de aquecimento de 10°C.min^{-1} de uma amostra de $CaC_2O_4.H_2O$ ---------- **41**

Figura 3.5 - Representação esquemática do sistema TG/DTA-GC/MS ---------- **44**

Figura 3.6 - Curvas DSC e TG/DTG do AZT obtidas em atmosfera dinâmica de N_2 e hélio (50 mL.min^{-1}), respectivamente, e razão de aquecimento de 10°C.min^{-1} **46**

Figura 3.7 - Curvas TG e DTG (figura inserida) do AZT para obtenção dos produtos intermediários sólidos durante o processo de decomposição térmica ---------- **47**

Figure 3.8 - Espectros de absorção na região do infravermelho do AZT (a), do intermediário 1 (249°C)(b) e do intermediário 2 (357°C)(c) ---------- **48**

Figura 3.9 - Difratogramas de raios X do AZT e intermediários 1 e 2 da decomposição térmica do AZT ---------- **49**

Figura 3.10 - Curvas DSC do AZT (1), do intermediário 1 (2), da timina (substância química de referência) (3) e do intermediário 2 (4) ---------- 50

Figura 3.11 - Cromatogramas iônico total e cromatogramas de massa oriundos da decomposição térmica do AZT ---------- 51

Figura 3.12 - Espectro de massa dos voláteis liberados da decomposição térmica do AZT relativos aos picos 1 e 2 do cromatogramas iônico total, e seus respectivos espectros padrões ---------- 52

Figura 3.13 - Mecanismo de decomposição térmica do AZT ---------- 53

CAPÍTULO IV - Determinação do ponto de fusão, variação de entalpia e grau de pureza de amostras comercias de AZT utilizando DSC

Figura 4.1 - Diagrama de fases de uma mistura eutética ---------- 58

Figura 4.2 - Grráfico de linearização para a determinação da concentração de impurezas 59

Figura 4.3 - Curva DSC do AZT matéria-prima (Substância química de referência) sob atmosfera dinâmica de N_2 (50 mL.min^{-1}) e razão de aquecimento de 2°C.min^{-1} ---------- 61

Figura 4.4 - Gráfico representativo da linearização de van't Hoffs a partir da curva DSC do AZT matéria-prima (Substância química de referência) ---------- 62

Figura 4.5 - Curvas DSC do AZT (Substância química de referência) obtidas nas razões de aquecimento de 1, 2, 5, 10 e 15°C.min^{-1}, sob atmosfera dinâmica de N_2 (50 mL.min^{-1}) 63

Figura 4.6 - Curvas DSC do AZT (subst. química de referência) obtidas com diferentes massas de amostra, na razão de aquecimento de 2°C.min^{-1}, sob atmosfera dinâmica de N_2 (50 mL.min^{-1}) ---------- 64

Figura 4.7 - Curva DSC do AZT (Produto A) obtida na razão de aquecimento de 2°C.min^{-1} sob atmosfera dinâmica de N_2 (50 mL.min^{-1}) ---------- 66

Figura 4.8 - Gráfico representativo da linearização de van't Hoff a partir da curva DSC do AZT matéria-prima (Produto A) ---------- 66

Figura 4.9 - Curva DSC do AZT (Produto B) obtida na razão de aquecimento de 2°C.min^{-1} sob atmosfera dinâmica de N_2 (50 mL.min^{-1}) ---------- 67

Figura 4.10 - Gráfico representativo da linearização de van't Hoff a partir da curva DSC do AZT matéria-prima (Produto B) ---------- 67

Figura 4.11 - Curva DSC do AZT (Produto C) obtida na razão de aquecimento de $2^{o}C.min^{-1}$ sob atmosfera dinâmica de N_2 ($50\ mL.min^{-1}$) ---------- **68**

Figura 4.12 - Gráfico representativo da linearização de van't Hoff a partir da curva DSC do AZT matéria-prima (Produto C) ---------- **68**

Figura 4.13 - Curva DSC do AZT (Produto D) obtida na razão de aquecimento de $2^{o}C.min^{-1}$ sob atmosfera dinâmica de N_2 ($50\ mL.min^{-1}$) ---------- **69**

Figura 4.14 - Gráfico representativo da linearização de van't Hoff a partir da curva DSC do AZT matéria-prima (Produto D) ---------- **69**

Figura 4.15 - Curva DSC do AZT (Produto E) obtida na razão de aquecimento de $2^{o}C.min^{-1}$ sob atmosfera dinâmica de N_2 ($50\ mL.min^{-1}$) ---------- **70**

Figura 4.16 - Gráfico representativo da linearização de van't Hoff a partir da curva DSC do AZT matéria-prima (Produto E) ---------- **70**

Figura 4.17 - Curva DSC do AZT (Produto F) obtida na razão de aquecimento de $2^{o}C.min^{-1}$ sob atmosfera dinâmica de N_2 ($50\ mL.min^{-1}$) ---------- **71**

Figura 4.18 - Gráfico representativo da linearização de van't Hoff a partir da curva DSC do AZT matéria-prima (Produto F) ---------- **71**

CAPÍTULO V - Estudo de compatibilidade fármaco/excipiente visando o desenvolvimento de formas farmacêuticas sólidas de AZT

Figura 5.1 - Curvas DSC do AZT, da lactose e da mistura física (1:1 m/m), obtidas na razão de aquecimento de $10^{o}C.min^{-1}$ sob atmosfera dinâmica de N_2 ($50\ mL.min^{-1}$) -------- **80**

Figura 5.2 - Curvas TG do AZT, da lactose e da mistura física (1:1 m/m), obtidas na razão de aquecimento de $10^{o}C.min^{-1}$ sob atmosfera dinâmica de N_2 ($50\ mL.min^{-1}$) -------- **81**

Figura 5.3 - Curvas DSC da AZT, do PEG 4000 e da mistura física (1:1 m/m), obtidas na razão de aquecimento de $10^{o}C.min^{-1}$ sob atmosfera dinâmica de N_2 ($50\ mL.min^{-1}$) ---- **82**

Figura 5.4 - Curvas TG do AZT, do PEG 4000 e da mistura física (1:1 m/m), obtidas na razão de aquecimento de $10^{o}C.min^{-1}$ sob atmosfera dinâmica de N_2 ($50\ mL.min^{-1}$) -------- **82**

Figura 5.5 - Curvas DSC do AZT, do PEG 6000 e da mistura física (1:1 m/m), obtidas na razão de aquecimento de $10^{o}C.min^{-1}$ sob atmosfera dinâmica de N_2 ($50\ mL.min^{-1}$) ---- **83**

Figura 5.6 - Curvas TG do AZT, do PEG 6000 e da mistura física (1:1 m/m), obtidas na razão de aquecimento de $10^{o}C.min^{-1}$ sob atmosfera dinâmica de N_2 ($50\ mL.min^{-1}$) -------- **83**

Figura 5.7 - Curvas DSC do AZT, do PEG 20000 e da mistura física (1:1 m/m), obtidas na razão de aquecimento de $10^{o}C.min^{-1}$ sob atmosfera dinâmica de N_2 (50 $mL.min^{-1}$) ---- **84**
Figura 5.8 - Curvas TG do AZT, do PEG 20000 e da mistura física (1:1 m/m), obtidas na razão de aquecimento de $10^{o}C.min^{-1}$ sob atmosfera dinâmica de N_2 (50 $mL.min^{-1}$) ---- **84**
Figura 5.9 - Curvas DSC do AZT, do estearato de magnésio e da mistura física (1:1 m/m), obtidas na razão de aquecimento de $10^{o}C.min^{-1}$ sob atmosfera de N_2 (50 $mL.min^{-1}$) **86**
Figura 5.10 - Curvas TG do AZT, do estearato de magnésio e da mistura física (1:1 m/m), obtidas na razão de aquecimento de $10^{o}C.min^{-1}$ sob atmosfera de N_2 (50 $mL.min^{-1}$) **86**
Figura 5.11 - Curvas DSC do AZT, da β-ciclodextrina e da mistura física (1:1 m/m), obtidas na razão de aquecimento de $10^{o}C.min^{-1}$ sob atmosfera de N_2 (50 $mL.min^{-1}$) ------- **87**
Figura 5.12 - Curvas TG do AZT, da β-ciclodextrina e da mistura física (1:1 m/m), obtidas na razão de aquecimento de $10^{o}C.min^{-1}$ sob atmosfera de N_2 (50 $mL.min^{-1}$) ------- **87**
Figura 5.13 - Curvas DSC do AZT, do polyox 30 e da mistura física (1:1 m/m), obtidas na razão de aquecimento de $10^{o}C.min^{-1}$ sob atmosfera dinâmica de N_2 (50 $mL.min^{-1}$) ----- **88**
Figura 5.14 - Curvas TG do AZT, do polyox 30 e da mistura física (1:1 m/m), obtidas na razão de aquecimento de $10^{o}C.min^{-1}$ sob atmosfera dinâmica de N_2 (50 $mL.min^{-1}$) ----- **88**
Figura 5.15 - Curvas DSC do AZT, do sorbitol e da mistura física (1:1 m/m), obtidas na razão de aquecimento de $10^{o}C.min^{-1}$ sob atmosfera dinâmica de N_2 (50 $mL.min^{-1}$) -------- **89**
Figura 5.16 - Curvas TG do AZT, do sorbitol da mistura física (1:1 m/m), obtidas na razão de aquecimento de $10^{o}C.min^{-1}$ sob atmosfera dinâmica de N_2 (50 $mL.min^{-1}$) -------- **89**
Figura 5.17 - Curvas DSC do AZT, da gelatina e da mistura física (1:1 m/m), obtidas na razão de aquecimento de $10^{o}C.min^{-1}$ sob atmosfera dinâmica de N_2 (50 $mL.min^{-1}$) -------- **91**
Figura 5.18 - Curvas TG do AZT, da gelatina e da mistura física (1:1 m/m), obtidas na razão de aquecimento de $10^{o}C.min^{-1}$ sob atmosfera dinâmica de N_2 (50 $mL.min^{-1}$) -------- **91**
Figura 5.19 - Curvas DSC do AZT, do amido e da mistura física (1:1 m/m), obtidas na razão de aquecimento de $10^{o}C.min^{-1}$ sob atmosfera dinâmica de N_2 (50 $mL.min^{-1}$) -------- **92**
Figura 5.20 - Curvas TG do AZT, do amido e da mistura física (1:1 m/m), obtidas na razão de aquecimento de $10^{o}C.min^{-1}$ sob atmosfera dinâmica de N_2 (50 $mL.min^{-1}$) -------- **92**
Figura 5.21 - Curvas DSC do AZT, da goma arábica e da mistura física (1:1 m/m), obtidas na razão de aquecimento de $10^{o}C.min^{-1}$ sob atmosfera de N_2 (50 $mL.min^{-1}$) ------- **94**
Figura 5.22 - Curvas TG do AZT, da goma arábica e da mistura física (1:1 m/m), obtidas na razão de aquecimento de $10^{o}C.min^{-1}$ sob atmosfera de N_2 (50 $mL.min^{-1}$) ------- **94**

Figura 5.23 - Curvas DSC do AZT, da celulose microcristalina e da mistura física (1:1 m/m), obtidas na razão de aquecimento de $10^{o}C.min^{-1}$ sob atmosfera de N_2 (50 $mL.min^{-1}$) **95**
Figura 5.24 - Curvas TG do AZT, da celulose microcristalina e da mistura física (1:1 m/m), obtidas na razão de aquecimento de $10^{o}C.min^{-1}$ sob atmosfera de N_2 (50 $mL.min^{-1}$) **95**
Figura 5.25 - Curvas DSC do AZT, da etilcelulose e da mistura física (1:1 m/m), obtidas na razão de aquecimento de $10^{o}C.min^{-1}$ sob atmosfera dinâmica de N_2 (50 $mL.min^{-1}$) ----- **96**
Figura 5.26 - Curvas TG do AZT, da etilcelulose e da mistura física (1:1 m/m), obtidas na razão de aquecimento de $10^{o}C.min^{-1}$ sob atmosfera dinâmica de N_2 (50 $mL.min^{-1}$) ----- **96**
Figura 5.27 - Curvas DSC do AZT, da croscarmelose e da mistura física (1:1 m/m), obtidas na razão de aquecimento de $10^{o}C.min^{-1}$ sob atmosfera de N_2 (50 $mL.min^{-1}$) ------- **98**
Figura 5.28 - Curvas TG do AZT, da croscarmelose e da mistura física (1:1 m/m), obtidas na razão de aquecimento de $10^{o}C.min^{-1}$ sob atmosfera de N_2 (50 $mL.min^{-1}$) ------- **98**
Figura 5.29 - Curvas DSC do AZT, do PVP (Kolidon® 303) e da mistura física (1:1 m/m), obtidas na razão de aquecimento de $10^{o}C.min^{-1}$ sob atmosfera de N_2 (50 $mL.min^{-1}$) **99**
Figura 5.30 - Curvas TG do AZT, do PVP (Kolidon® 303) e da mistura física, obtidas na razão de aquecimento de $10^{o}C.min^{-1}$ sob atmosfera dinâmica de N_2 (50 $mL.min^{-1}$) ---- **99**
Figura 5.31 - Curvas DSC do AZT, do carbopol e da mistura física (1:1 m/m), obtidas na razão de aquecimento de $10^{o}C.min^{-1}$ sob atmosfera dinâmica de N_2 (50 $mL.min^{-1}$) ----- **101**
Figura 5.32 - Curvas TG do AZT, do carbopol e da mistura física (1:1 m/m), obtidas na razão de aquecimento de $10^{o}C.min^{-1}$ sob atmosfera dinâmica de N_2 (50 $mL.min^{-1}$) -------- **101**
Figura 5.33 - Curvas DSC do AZT, do HPMC e da mistura física (1:1 m/m), obtidas na razão de aquecimento de $10^{o}C.min^{-1}$ sob atmosfera dinâmica de N_2 (50 $mL.min^{-1}$) -------- **102**
Figura 5.34 - Curvas TG do AZT, do HPMC e da mistura física (1:1 m/m), obtidas na razão de aquecimento de $10^{o}C.min^{-1}$ sob atmosfera dinâmica de N_2 (50 $mL.min^{-1}$) -------- **102**
Figura 5.35 - Curvas DSC do AZT, do aerosil e da mistura física (1:1 m/m), obtidas na razão de aquecimento de $10^{o}C.min^{-1}$ sob atmosfera dinâmica de N_2 (50 $mL.min^{-1}$) -------- **103**
Figura 5.36 - Curvas TG do AZT, do aerosil e da mistura física (1:1 m/m), obtidas na razão de aquecimento de $10^{o}C.min^{-1}$ sob atmosfera dinâmica de N_2 (50 $mL.min^{-1}$) -------- **103**
Figura 5.37 - Curvas DSC do AZT, do talco e da mistura física (1:1 m/m), obtidas na razão de aquecimento de $10^{o}C.min^{-1}$ sob atmosfera dinâmica de N_2 (50 $mL.min^{-1}$) -------- **104**
Figura 5.38 - Curvas TG do AZT, do talco e da mistura física (1:1 m/m), obtidas na razão de aquecimento de $10^{o}C.min^{-1}$ sob atmosfera dinâmica de N_2 (50 $mL.min^{-1}$) -------- **104**

Figura 5.39 - Curvas DSC do AZT, do manitol e da mistura física (1:1 m/m), obtidas na razão de aquecimento de 10°C.min^{-1} sob atmosfera dinâmica de N_2 (50 mL.min^{-1}) -------- **106**

Figura 5.40 - Curvas TG do AZT, do manitol e da mistura física (1:1 m/m), obtidas na razão de aquecimento de 10°C.min^{-1} sob atmosfera dinâmica de N_2 (50 mL.min^{-1}) -------- **106**

Figura 5.41 - Curvas DSC do AZT, do amido glicolato sódico e da mistura física (1:1 m/m), obtidas na razão de aquecimento de 10°C.min^{-1} sob atmosfera de N_2 (50 mL.min^{-1}) **107**

Figura 5.42 - Curvas TG do AZT, do amido glicolato sódico e da mistura física (1:1 m/m), obtidas na razão de aquecimento de 10°C.min^{-1} sob atmosfera de N_2 (50 mL.min^{-1}) **107**

Figura 5.43 - Curvas DSC do AZT, do ácido esteárico e da mistura física (1:1 m/m), obtidas na razão de aquecimento de 10°C.min^{-1} sob atmosfera de N_2 (50 mL.min^{-1}) ------- **108**

Figura 5.44 - Curvas TG do AZT, do ácido esteárico e da mistura física (1:1 m/m), obtidas na razão de aquecimento de 10°C.min^{-1} sob atmosfera de N_2 (50 mL.min^{-1}) ------- **108**

CAPÍTULO VI - Síntese e caracterização de complexos de AZT com terras raras e inclusão com β-ciclodextrina

Figura 6.1 - Estrutura geral da α, β e γ- ciclodextrinas (n = 6, 7 e 8, respectivamente) e representação esquemática da ciclodextrina ---------- **117**

Figura 6.2 - Formato molecular da β-ciclodextrina, com sua cavidade central apolar ----- **118**

Figura 6.3 - Formação de complexos da β-ciclodextrina em solução aquosa ---------- **119**

Figura 6.4 - Curvas DSC do AZT, β-ciclodextrina, mistura liofilizada, mistura física e mistura evaporada a vácuo, sob atmosfera dinâmica de N_2 e razão de aquecimento de 10°C.min^{-1} ---------- **123**

Figura 6.5 - Curvas TG do AZT, β-ciclodextrina, mistura liofilizada, mistura física e mistura evaporada a vácuo, sob atmosfera dinâmica de N_2 (50 mL.min^{-1}) e razão de aquecimento de 10°C.min^{-1} ---------- **124**

Figura 6.6 - Espectro de absorção da região do infravermelho do AZT, da β-ciclodextrina e do complexo de inclusão obtido por liofilização ---------- **125**

Figura. 6.7 - Difração de raios X pelo método do pó do AZT, da β-ciclodextrina, da mistura física, do complexo obtido por evaporação a vácuo e por liofilização ---------- **126**

Figura 6.8 - Curvas DSC do AZT (a), do $[Eu(TTA)_3{\cdot}(H_2O)_2]$ (b) e do complexo $[Eu(TTA)_3{\cdot}(AZT)_2]$ (c) obtidas em atmosfera dinâmica de N_2 (50 $mL{\cdot}min^{-1}$), e razão de aquecimento de $10^oC{\cdot}min^{-1}$ ---------- 134

Figura 6.9 - Curvas TG do AZT(a), do $[Eu(TTA)_3{\cdot}(H_2O)_2]$ (b) e do $[Eu(TTA)_3{\cdot}(AZT)_2]$ (c), obtidas na razão de aquecimento de $10^oC.min^{-1}$ sob atmosfera dinâmica de N_2 (50 $mL{\cdot}min^{-1}$) ---------- 135

Figura 6.10 - Difração de raios X do AZT (a), do $[Eu(TTA)_3{\cdot}(H_2O)_2]$ (b), da mistura física AZT e do precursor de európio (c) e do complexo $[Eu(TTA)_3{\cdot}(AZT)_2]$ (d) ---------- 136

CAPÍTULO VII – Aplicação do Planejamento Fatorial 2^4 para avaliação dos fatores que influenciam no estudo cinético de decomposição térmica do AZT

Figura 7.1 - Curvas TG do AZT nas razões de aquecimento de 2,5-5,0-7,5-10 e $15°C.min^{-1}$, obtidas em atmosfera dinâmica de N_2 (50 $mL.min^{-1}$), massa de amostra igual a 8 mg, cápsula de alumina e atmosfera seca ---------- 147

Figura 7.2 - Curva do logaritmo da razão de aquecimento em função do inverso da temperatura ---------- 148

Figura 7.3 - Gráfico da função G(x) do inverso da temperatura para o AZT ---------- 148

Figura 7.4 – a) Curvas TG do AZT nas razões de aquecimento de 2,5-5,0-7,5-10 e $5°C.min^{-1}$, obtidas em atmosfera dinâmica de N_2 (50 $mL.min^{-1}$), massa de amostra de ~ 4 mg, cadinho de alumina e ambiente seco. b) Curva do logaritmo da razão de aquecimento em função do inverso da temperatura. c) Gráfico da função G(x) do inverso da temperatura para o AZT ---------- 149

Figura 7.5 - Curvas TG do AZT nas razões de aquecimento de 2,5-5,0-7,5-10 e $15°C.min^{-1}$, obtidas em atmosfera dinâmica de N_2 (50 $mL.min^{-1}$), massa de amostra igual de ~ 8 mg, cadinho de alumina e ambiente seco. b) Curva do logaritmo da razão de aquecimento em função do inverso da temperatura. c) Gráfico da função G(x) do inverso da temperatura para o AZT ---------- 150

Figura 7.6 - Curvas TG do AZT nas razões de aquecimento de 2,5-5,0-7,5-10 e $15°C.min^{-1}$, obtidas em atmosfera dinâmica de ar (50 $mL.min^{-1}$), massa de amostra de ~ 4 mg, cadinho de alumina e ambiente seco. b) Curva do logaritmo da razão de aquecimento em função do inverso da temperatura. c) Gráfico da função G(x) do inverso da temperatura para o AZT ---------- 151

Figura 7.7 - Curvas TG do AZT nas razões de aquecimento de 2,5-5,0-7,5-10 e 15°C.min^{-1}, obtidas em atmosfera dinâmica de ar (50 mL.min^{-1}), massa de amostra de ~ 8 mg, cadinho de alumina e ambiente seco. b) Curva do logaritmo da razão de aquecimento em função do inverso da temperatura. c) Gráfico da função G(x) do inverso da temperatura para o AZT ---------- **152**

Figura 7.8 - Curvas TG do AZT nas razões de aquecimento de 2,5-5,0-7,5-10 e 15°C.min^{-1}, obtidas em atmosfera dinâmica de N_2 (50 mL.min^{-1}), massa de amostra de ~ 4 mg, cadinho de platina e ambiente seco. b) Curva do logaritmo da razão de aquecimento em função do inverso da temperatura. c) Gráfico da função G(x) do inverso da temperatura para o AZT ---------- **153**

Figura 7.9 - Curvas TG do AZT nas razões de aquecimento de 2,5-5,0-7,5-10 e 15°C.min^{-1}, obtidas em atmosfera dinâmica de N_2 (50 mL.min^{-1}), massa de amostra de ~ 8 mg, cadinho de platina e ambiente seco. b) Curva do logaritmo da razão de aquecimento em função do inverso da temperatura. c) Gráfico da função G(x) do inverso da temperatura para o AZT ---------- **154**

Figura 7.10 - Curvas TG do AZT nas razões de aquecimento de 2,5-5,0-7,5-10 e 15°C.min^{-1}, obtidas em atmosfera dinâmica de ar (50 mL.min^{-1}), massa de amostra de ~ 4 mg, cadinho de platina e ambiente seco. b) Curva do logaritmo da razão de aquecimento em função do inverso da temperatura. c) Gráfico da função G(x) do inverso da temperatura para o AZT ---------- **155**

Figura 7.11 - Curvas TG do AZT nas razões de aquecimento de 2,5-5,0-7,5-10 e 15°C.min^{-1}, obtidas em atmosfera dinâmica de ar (50 mL.min^{-1}), massa de amostra de ~ 8 mg, cadinho de platina e ambiente seco. b) Curva do logaritmo da razão de aquecimento em função do inverso da temperatura. c) Gráfico da função G(x) do inverso da temperatura para o AZT ---------- **156**

Figura 7.12 - Curvas TG do AZT nas razões de aquecimento de 2,5-5,0-7,5-10 e 15°C.min^{-1}, obtidas em atmosfera dinâmica de N_2 (50 mL.min^{-1}), massa de amostra de ~ 4 mg , cadinho de alumina e ambiente com umidade. b) Curva do logaritmo da razão de aquecimento em função do inverso da temperatura. c) Gráfico da função G(x) do inverso da temperatura para o AZT ---------- **157**

Figura 7.13 - Curvas TG do AZT nas razões de aquecimento de 2,5-5,0-7,5-10 e 15°C.min^{-1}, obtidas em atmosfera dinâmica de N_2 (50 mL.min^{-1}), massa de amostra de ~ 8 mg, cadinho de alumina e ambiente com umidade. b) Curva do logaritmo da razão de aquecimento em função do inverso da temperatura. c) Gráfico da função G(x) do inverso da temperatura para o AZT ---------- **158**

Figura 7.14 - Curvas TG do AZT nas razões de aquecimento de 2,5-5,0-7,5-10 e 15°C.min^{-1}, obtidas em atmosfera dinâmica de ar (50 mL.min^{-1}), massa de amostra de ~ 4 mg, cadinho de alumina e ambiente com umidade. b) Curva do logaritmo da razão de aquecimento em função do inverso da temperatura. c) Gráfico da função G(x) do inverso da temperatura para o AZT ---------- **159**

Figura 7.15 - Curvas TG do AZT nas razões de aquecimento de 2,5-5,0-7,5-10 e 15°C.min^{-1}, obtidas em atmosfera dinâmica de ar (50 mL.min^{-1}), massa de amostra de ~ 8 mg, cadinho de alumina e ambiente com umidade. b) Curva do logaritmo da razão de aquecimento em função do inverso da temperatura. c) Gráfico da função G(x) do inverso da temperatura para o AZT ---------- **160**

Figura 7.16 - Curvas TG do AZT nas razões de aquecimento de 2,5-5,0-7,5-10 e 15°C.min^{-1}, obtidas em atmosfera dinâmica de N_2 (50 mL.min^{-1}), massa de amostra de ~ 4 mg, cadinho de platina e ambiente com umidade. b) Curva do logaritmo da razão de aquecimento em função do inverso da temperatura. c) Gráfico da função G(x) do inverso da temperatura para o AZT ---------- **161**

Figura 7.17 - Curvas TG do AZT nas razões de aquecimento de 2,5-5,0-7,5-10 e 15°C.min^{-1}, obtidas em atmosfera dinâmica de N_2 (50 mL.min^{-1}), massa de amostra de ~ 8 mg, cadinho de platina e ambiente com umidade. b) Curva do logaritmo da razão de aquecimento em função do inverso da temperatura. c) Gráfico da função G(x) do inverso da temperatura para o AZT ---------- **162**

Figura 7.18 - Curvas TG do AZT nas razões de aquecimento de 2,5-5,0-7,5-10 e 15°C.min^{-1}, obtidas em atmosfera dinâmica de ar (50 mL.min^{-1}), massa de amostra de ~ 4 mg, cadinho de platina e ambiente com umidade. b) Curva do logaritmo da razão de aquecimento em função do inverso da temperatura. c) Gráfico da função G(x) do inverso da temperatura para o AZT ---------- **163**

Figura 7.19 - Curvas TG do AZT nas razões de aquecimento de 2,5-5,0-7,5-10 e 15°C.min^{-1}, obtidas em atmosfera dinâmica de ar (50 mL.min^{-1}), massa de amostra de ~ 8 mg, cadinho de platina e ambiente com umidade. b) Curva do logaritmo da razão de aquecimento em função do inverso da temperatura. c) Gráfico da função G(x) do inverso da temperatura para o AZT ---------- **164**

Figura 7.20 - Gráfico Normal dos Efeitos do estudo cinético de decomposição térmica do AZT utilizando Planejamento Fatorial 2^4 ---------- **169**

Figura 7.21 - Gráfico de Pareto com 95% de confiança para avaliação dos efeitos utilizando diferentes condições experimentais para o estudo cinético de decomposição térmica do AZT ---------- **169**

CAPÍTULO VIII – Estudos de estabilidade e determinação dos parâmetros cinéticos da decomposição térmica dos conteúdos das cápsulas de AZT

Figura 8.1 - Determinação da ordem da cinética de decomposição em função da relação concentração x tempo ---------- **178**

Figura 8.2 - Cromatograma representativo do AZT utilizando fase móvel contendo uma mistura de 40/60 (v/v) metanol/solução tampão fosfato pH 5,0 ---------- **184**

Figura 8.3 - Curva de calibração obtida a partir das soluções padrão de AZT, nas concentrações de 1,2 a 4,8 μg.min^{-1}, utilizando fase móvel metanol/tampão fosfato pH 5 (4:6 v/v) ---------- **185**

Figura 8.4 - Cromatogramas obtidos da solução-padrão de AZT (P) e das soluções amostras A, B, C, D, E e R, relativos ao tempo zero ---------- **186**

Figura 8.5 - Cromatogramas obtidos da solução-padrão de AZT (P) e das soluções amostras A, B, C, D, E e R, relativos ao tempo 30 dias ---------- **187**

Figura 8.6 - Cromatogramas obtidos da solução-padrão de AZT (P) e das soluções amostras A, B, C, D, E e R, relativos ao tempo 60 dias ---------- **187**

Figura 8.7 - Cromatogramas obtidos da solução-padrão de AZT (P) e das soluções das amostras A, B, C, D, E e R submetidas ao estudo de estabilidade acelerada (tempo=90 dias) ---------- **188**

Figura 8.8 - Cromatogramas obtidos da solução- padrão de AZT (P) e das soluções das amostras A, B, C, D, E e R submetidas a estabilidade acelerada (tempo=180 dias) -------- **188**

Figura 8.9 - Cromatogramas obtidos da solução-padrão de AZT (P) e das soluções das amostras A, B, C, D, E e R, submetidas ao estudo de estabilidade a longo prazo (tempo zero) ---------- **189**

Figura 8.10 - Cromatogramas da solução-padrão de AZT (P) e das soluções das amostras A, B, C, D, E e R, submetidas ao estudo de estabilidade a longo prazo (tempo=90 dias) ---------- **190**

Figura 8.11 - Cromatogramas da solução-padrão de AZT (P) e das soluções das amostras A, B, C, D, E e R, submetidas ao estudo de estabilidade a longo prazo (tempo=180 dias) ---------- **190**

Figura 8.12 – Cromatogramas da solução-padrão de AZT (P) e das soluções das amostras A, B, C, D, E e R, submetidas ao estudo de estabilidade a longo prazo (tempo=270 dias) ---------- **191**

Figura 8.13 - Cromatogramas da solução-padrão de AZT (P) e das soluções das amostras A, B, C, D, E e R, submetidas ao estudo de estabilidade a longo prazo (tempo=360 dias) ---------- **191**

Figura 8.14 - Peso médio (n=10) das cápsulas de AZT durante o estudo de estabilidade acelerada ---------- **194**

Figura 8.15 - Peso médio (n=10) das cápsulas de AZT durante o estudo de estabilidade a longo prazo ---------- **194**

Figura 8.16 - Curvas termoanalíticas do produto A obtidas em atmosfera dinâmica de ar (TG/DTG) e N_2 (DSC) (50 $mL.min^{-1}$) na razão de aquecimento de 10°$C.min^{-1}$ ---------- **195**

Figura 8.17 - Curvas termoanalíticas do produto B obtidas em atmosfera dinâmica de ar (TG/DTG) e N_2 (DSC) (50 $mL.min^{-1}$) na razão de aquecimento de 10°$C.min^{-1}$ ---------- **196**

Figura 8.18 - Curvas termoanalíticas do produto C obtidas em atmosfera dinâmica de ar (TG/DTG) e N_2 (DSC) (50 $mL.min^{-1}$) na razão de aquecimento de 10°$C.min^{-1}$ ---------- **197**

Figura 8.19 - Curvas termoanalíticas do produto D obtidas em atmosfera dinâmica de ar (TG/DTG) e N_2 (DSC) (50 $mL.min^{-1}$) na razão de aquecimento de 10°$C.min^{-1}$ ---------- **198**

Figura 8.20 - Curvas termoanalíticas do produto E obtidas em atmosfera dinâmica de ar (TG/DTG) e N_2 (DSC) (50 $mL.min^{-1}$) na razão de aquecimento de 10°$C.min^{-1}$ ---------- **199**

Figura 8.21 - Curvas termoanalíticas do produto R obtidas em atmosfera dinâmica de ar (TG/DTG) e N_2 (DSC) (50 $mL.min^{-1}$) na razão de aquecimento de 10°$C.min^{-1}$ ---------- **200**

Figura 8.22 - Curvas TG de amostras comerciais de AZT, obtidas em razão de aquecimento de 2°C.min^{-1} e atmosfera dinâmica de ar ---------- **201**

Figura 8.23 - Curvas DTG de amostras comerciais de AZT, obtidas em razão de aquecimento de 2°C.min^{-1} e atmosfera dinâmica de ar ---------- **201**

Figura 8.24 - a) Curvas TG do AZT (produto A) em atmosfera dinâmica de ar (50 mL.min^{-1}) e razões de aquecimento de 2,5 – 5 – 7,5 – 10 e 15°C.min^{-1}. b) Curva do logarítimo da razão de aquecimento em função do inverso da temperatura. c) Gráfico da função G(x) do inverso da temperatura para o AZT (produto A) ---------- **204**

Figura 8.25 - a) Curvas TG do AZT (produto B) em atmosfera dinâmica de ar (50 mL.min^{-1}) e razões de aquecimento de 2,5 – 5 – 7,5 – 10 e 15°C.min^{-1}. a) Curva do logarítimo da razão de aquecimento em função do inverso da temperatura. c) Gráfico da função G(x) do inverso da temperatura para o AZT (produto A) ---------- **205**

Figura 8.26 - a) Curvas TG do AZT (produto C) em atmosfera dinâmica de ar (50 mL.min^{-1}) e razões de aquecimento de 2,5 – 5 – 7,5 – 10 e 15°C.min^{-1}. b) Curva do logaritmo da razão de aquecimento em função do inverso da temperatura. c) Gráfico da função G(x) do inverso da temperatura para o AZT (produto C) ---------- **206**

Figura 8.27 - a) Curvas TG do AZT (produto D) em atmosfera dinâmica de ar (50 mL.min^{-1}) e razões de aquecimento de 2,5 – 5 – 7,5 – 10 e 15°C.min^{-1}. b) Curva do logaritmo da razão de aquecimento em função do inverso da temperatura. c) Gráfico da função G(x) do inverso da temperatura para o AZT (produto D) ---------- **207**

Figura 8.28 - a) Curvas TG do AZT (produto E) em atmosfera dinâmica de ar (50 mL.min^{-1}) e razões de aquecimento de 2,5 – 5 – 7,5 – 10 e 15°C.min^{-1}. b) Curva do logaritmo da razão de aquecimento em função do inverso da temperatura. c) Gráfico da função G(x) do inverso da temperatura para o AZT (produto E) ---------- **208**

Figura 8.29 - a) Curvas TG do AZT (produto R) em atmosfera dinâmica de ar (50 mL.min^{-1}) e razões de aquecimento de 2,5 – 5 – 7,5 – 10 e 15°C.min^{-1}. b) Curva do logaritmo da razão da razão de aquecimento em função do inverso da temperatura. c) Gráfico da função G(x) do inverso da temperatura para o AZT (produto A) ---------- **209**

Figura 8.30 - Curvas TG do AZT (produto A) obtidas em condição isotérmica nas temperaturas de 170, 180, 190, 210 e 210°C, utilizando massa de ~ 4 mg, cadinho de Pt e atmosfera dinâmica de ar (50 mL.min^{-1}) ---------- **211**

Figura 8.31 – Gráfico do ln 1/(t) x 1/T (produto A) utilizando os dados das isotermas para 5% de perda de massa ---------- **211**

Figura 8.32 - Curvas TG do AZT (produto B) obtidas em condição isotérmica nas temperaturas de 170, 180, 190, 210 e 210°C, utilizando massa de ~ 4 mg, cadinho de Pt e atmosfera dinâmica de ar (50 $mL.min^{-1}$) ---------- **212**

Figura 8.33 – Gráfico do ln 1/(t) x 1/T (produto B) utilizando os dados das isotermas para 5% de perda de massa ---------- **212**

Figura 8.34 - Curvas TG do AZT (produto C) obtidas em condição isotérmica nas temperaturas de 170, 180, 190, 210 e 210°C, utilizando massa de ~ 4 mg, cadinho de Pt e atmosfera dinâmica de ar (50 $mL.min^{-1}$) ---------- **213**

Figura 8.35 – Gráfico do ln 1/(t) x 1/T (produto C) utilizando os dados das isotermas para 5% de perda de massa ---------- **213**

Figura 8.36 - Curvas TG do AZT (produto D) obtidas em condição isotérmica nas temperaturas de 170, 180, 190, 210 e 210°C, utilizando massa de ~ 4 mg, cadinho de Pt e atmosfera dinâmica de ar (50 $mL.min^{-1}$) ---------- **214**

Figura 8.37 – Gráfico do ln 1/(t) x 1/T (produto D) utilizando os dados das isotermas para 5% de perda de massa ---------- **214**

Figura 8.38 - Curvas TG do AZT (produto E) obtidas em condição isotérmica nas temperaturas de 170, 180, 190, 210 e 210°C, utilizando massa de ~ 4 mg, cadinho de Pt e atmosfera dinâmica de ar (50 $mL.min^{-1}$) ---------- **215**

Figura 8.39 – Gráfico do ln 1/(t) x 1/T (produto E) utilizando os dados das isotermas para 5% de perda de massa ---------- **215**

Figura 8.40 - Curvas TG do AZT (produto R) obtidas em condição isotérmica nas temperaturas de 170, 180, 190, 210 e 210°C, utilizando massa de ~ 4 mg, cadinho de Pt e atmosfera dinâmica de ar (50 $mL.min^{-1}$) ---------- **216**

Figura 8.41 – Gráfico do ln 1/(t) x 1/T (produto R) utilizando os dados das isotermas para 5% de perda de massa ---------- **216**

CAPÍTULO IX – Considerações finais

Figura 9.1 - Fluxograma de conclusão do trabalho ---------- **225**

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO II – O HIV e a AIDS: Atualização terapêutica anti-retroviral e perspectivas da quimioterapia de combate

Tabela 2.1 - Dados globais da epidemia de HIV/AIDS (dados publicados pela UNAIDS em dezembro de 2000) ---------- **17**

Tabela 2.2 - Dados da epidemia de HIV/AIDS no Brasil, de acordo com a Coordenação Nacional de DST/AIDS-MS (dezembro de 1999) ---------- **18**

Tabela 2.3 - Anti-retrovirais aprovados no período de 1987 a 1999 pela *Food and Drug Administration* (FDA-USA) para uso na terapia anti-HIV/AIDS ---------- **22**

Tabela 2.4 - Principais propriedades físico-químicas e estrutura molecular plana da zidovudina (AZT) ---------- **23**

Tabela 2.5 - Parâmetros farmacocinéticos da zidovudina ---------- **24**

CAPÍTULO III – Estabilidade térmica e caracterização dos produtos intermediários sólidos e voláteis da decomposição do AZT

Tabela 3.1 - Propriedades físicas medidas em análise térmica, técnica derivada e abreviatura correspondente ---------- **35**

Tabela 3.2 - Dados obtidos através do sistema acoplado TG/DTA-GC/MS referente à identificação dos produtos voláteis liberados no processo de decomposição térmica do AZT ---------- **51**

CAPÍTULO IV – Determinação do ponto de fusão, variação de entalpia e grau de pureza de amostras comercias de AZT utilizando DSC

Tabela 4.1 - Influência da razão de aquecimento na determinação da pureza, entalpia de fusão e temperatura *onset* de fusão do AZT ---------- **63**

Tabela 4.2 - Influência da massa de amostra na determinação da pureza, entalpia de fusão e temperatura *onset* de fusão do AZT ---------- **64**

Tabela 4.3 - Avaliação da pureza, temperatura de fusão e $\Delta H_{fusão}$ das amostras de AZT (matérias-primas e substância química de referência) a partir dos ensaios por DSC ------- **72**

CAPÍTULO V – Estudo de compatibilidade fármaco/excipiente visando o desenvolvimento de formas farmacêuticas sólidas de AZT

Tabela 5.1 - Resultados termoanalíticos do estudo de compatibilidade entre o AZT e diversos excipientes, em mistura física 1:1 ---------- **109**

CAPÍTULO VII – Aplicação do Planejamento Fatorial 2^4 para avaliação dos fatores que influenciam no estudo cinético de decomposição térmica do AZT

Tabela 6.1 - Determinação dos parâmetros cinéticos para as cápsulas de AZT utilizando método não-isotérmico ---------- **165**

Tabela 6.2 - Planejamento fatorial 2^4 para determinação da energia de ativação da decomposição térmica do AZT por TG ---------- **166**

Tabela 6.3 - Efeitos calculados para o planejamento fatorial 2^4 ---------- **167**

Tabela 6.4 - Resultados da modelagem do estudo cinético de decomposição térmica do AZT utilizando Planejamento Fatorial 2^4 ---------- **168**

CAPÍTULO VIII – Estudos de estabilidade e determinação dos parâmetros cinéticos da decomposição térmica dos conteúdos das cápsulas de AZT

Tabela 8.1 - Divisão por zonas climáticas para realização de estudo de estabilidade de fármacos e medicamentos e condições em tempo real e acelerado no tempo para estudos de estabilidade de medicamentos ---------- **176**

Tabela 8.2 - Área média dos picos a partir dos ensaios (triplicata) em CLAE nas concentrações de 1,2 – 1,6 – 2,4 – 3,2 – 4,0 e 4,8 μg de AZT por mL ---------- **185**

Tabela 8.3 - Teor médio de AZT/cápsula, em percentagem, para os produtos de referência e demais produtos comerciais durante o estudo de estabilidade acelerada, empregando-se CLAE ---------- **189**

Tabela 8.4 - Teor médio de AZT (cápsula) em percentagem, para os produtos de referência e produtos comerciais durante o estudo de estabilidade a longo prazo ---------- **192**

Tabela 8.5 - Peso médio (n=10) do conteúdo das cápsulas (grânulos em mg) para os produtos de referência e produtos comerciais ---------- **192**

Tabela 8.6 - Peso médio (n=10) do conteúdo das cápsulas (grânulos em mg) para os produtos de referência e produtos comerciais durante o estudo de estabilidade acelerada ----- **193**

Tabela 8.7 - Peso médio (n=10) do conteúdo das cápsulas (grânulos em mg) para os produtos de referência e produtos comerciais durante o estudo de estabilidade a longo prazo ---------- **193**

Tabela 8.8 - Determinação dos parâmetros cinéticos e da temperatura *onset* da decomposição térmica do conteúdo das cápsulas de AZT (produtos comerciais) ---------- **217**

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

AIDS	*Adquired imunodeficiency síndrome* (Síndrome da imunodeficência adquirida)
ASTM	*American Society for Testing and Materials* (Soc. americana para testes e materiais)
AZT	Zidovudina
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
DNA	*Dexoxiribonucleic acid* (Ácido dexoxiribonucléico)
DRX	Difração de raios X
DSC	*Diferencial scanning calorimetry* (Calorimetria exploratória diferencial)
DTA	*Diferential thermal analysis* (Análise térmica diferencial)
DTG-CG/MS	Sistema simultâneo de termogravimetria/análise térmica diferencial acoplado à cromatografia a gás e espectrometria de massas
DTG	*Derivative thermogravimetry* (Termogravimetria derivada)
Δm	Variação de massa
ΔH_{fus}	Entalpia de fusão
FDA	*Food and Drug Administration* (Administração de Drogas e Alimentos-EUA)
FT-IR	*Fourrier Transformation-Infrared* (Infravermelho com transformada de Fourrier)
HAART	*Hyghly Active Antiretroviral Therapy* (Terapia anti-retroviral altamente potente)
HIV	*Human imunodeficiency virus* (Vírus da imunodeficiência humana)
HPMC	Hidroxipropilmetilcelulose
ICTAC	*International Confederation of Thermal Analysis and Calorimetry* (Confederação Internacional de Análise Térmica e Calorimetria)
ICAAC	*Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy* (Conferência Interdisciplinar sobre Agentes Quimoterápicos e Quimioterapia)
IV	Infravermelho
PVP	Polivinilpirrolidona
PEG	Polietilenoglicol
RE	Rare Earth (Terras raras)
RNA	*Ribonucleic acid* (Ácido ribonucléico)
RNAm	*Mensage ribonucleic acid* (Ácido ribonucléico mensageiro)
TG	*Thermogravimetry* (Termogravimetria)
T_{fus}	Temperatura de fusão
UR	Umidade relativa

RESUMO

Pouco mais de 20 anos marcam a disseminação da infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) em todo o mundo. Durante este período, avanços reais no diagnóstico, na clínica e na terapêutica podem ser observados como, por exemplo, a disponibilidade de 14 fármacos potencialmente ativos no combate direto ao vírus. Embora, nos últimos anos, os progressos no tratamento de pacientes infectados pelo HIV e/ou doentes com a síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS) tenham sido significativos, novos estudos mostram-se importantes na área de Fármacos e Medicamentos.

Este trabalho tem como objetivo aplicar a tecnologia farmacêutica à produção e controle de fármacos e medicamentos anti-HIV/AIDS, em especial a zidovudina (AZT). A utilização de diversas técnicas físico-químicas e analíticas possibilitou o desenvolvimento de estudos relacionados à avaliação da estabilidade e decomposição térmica do AZT, de excipientes e de misturas físicas utilizadas para a obtenção de formas farmacêuticas sólidas; caracterização dos produtos sólidos e voláteis do processo de degradação térmica do AZT; determinação do grau de pureza, faixa de fusão e variação dos valores de entalpia de fusão de princípios ativos de AZT de diferentes procedências; síntese e caracterização de compostos de inclusão de AZT com ciclodextrinas e com sais de lantanídeos caracteristicamente luminescentes; avaliação da estabilidade acelerada e a longo prazo de cápsulas de AZT disponíveis no mercado brasileiro; determinação dos parâmetros cinéticos da decomposição térmica do conteúdo das cápsulas de AZT. O método de planejamento fatorial foi utilizado na avaliação estatística dos dados de cinética obtidos por termogravimetria (TG) não-isotérmica.

Os estudos de pré-formulação indicaram que não há interação entre o AZT e a maioria dos excipientes testados. Algumas alterações nos perfis termoanalíticos foram observadas em relação aos excipientes PEG 4000, 6000 e 20000, PVP, sorbitol e polióxido de etileno (polyox 30®). No processo de decomposição térmica do AZT destaca-se a formação de timina. A utilização do sistema simultâneo e acoplado TG/DTA-GC/MS viabilizou a identificação de furano e 2-furanometanol como produtos voláteis. Os ensaios de calorimetria exploratória diferencial (DSC) permitiram a determinação da temperatura de fusão (118,0 a 122,9°C), do $\Delta H_{fusão}$ (valor médio 30 $kJ.min^{-1}$) e da percentagem de pureza (97,5 a 99,8%) para seis amostras comerciais do fármaco. O complexo de inclusão com β-ciclodextrina pode ser formado pela solubilização das espécies em meio aquoso e posterior obtenção do produto sólido por

liofilização ou secagem à pressão reduzida. A interação não ocorre pela simples mistura mecânica das espécies. Foram preparados complexos de tenoiltrifluoracetonatos (TTA) de terras raras (Eu^{3+} e Sm^{3+}) com AZT que apresentam alta luminescência. Os dados de absorção na região do infravermelho (IV) do complexo $[RE(TTA)_3 \cdot (AZT)_2]$ sugerem que o ligante está coordenado ao íon de terra rara pelo átomo de nitrogênio do grupo azido. Os dados de difração de raios X (DRX) indicaram que o complexo $[Eu(TTA)_3 \cdot (AZT)_2]$ mostra-se não cristalino, diferentemente do AZT livre, do sal precursor hidratado $[RE(TTA)_3 \cdot 2H_2O]$ e da mistura física. O estudo da variabilidade de condições experimentais em TG, empregando o planejamento fatorial, mostrou que nenhum dos efeitos avaliados é significativo. Os valores de energia de ativação para as amostras comerciais de AZT variaram entre 120 a 142 $kJ.mol^{-1}$, para o método não-isotérmico e, de 100 a 112 $kJ.mol^{-1}$, para o método isotérmico. Os resultados obtidos no estudo cinético se mostraram reprodutíveis configurando-se assim como um parâmetro importante, por exemplo, para avaliação da equivalência farmacêutica juntamente com os testes farmacopêicos.

ABSTRACT

For over twenty years the dissemination of the human immunodeficiency virus (HIV) appeared in the world. Since then, considerable advances in the diagnosis, clinic and therapy have been observed currently three classes of drugs 14 agents are in use for HIV infection. Therefore, the long-term effectiveness of potent three-drug antiretroviral regimens for the treatment of HIV infected patients and/or patients with adquired immunodeficiency syndrome (SIDA) is limited by problems related to compliance and tolerability.

The aim of this work to apply the pharmaceutical technology to the production and control of anti-HIV/SIDA drugs and medicines, especially for zidovudine (AZT). The use of different physico-chemical and analytical techniques made it possible to develop some related studies for the stability evaluation and thermal decomposition of AZT, excipients and physical mixtures used for obtaining solid dosage forms; characterization of the solid and volatiles products of the thermal degradation process of AZT; determination of the purity, melting point and enthalpy variation of AZT obtained from different laboratories; synthesis and characterization of AZT inclusion compounds with cyclodextrins and with lanthanides salts characteristically luminescent; evaluation of the accelerated stability and the long-time of AZT capsules available in the Brazilian Market; determination of the degradation kinetics parameters of the different AZT samples. The factorial design method was used in the statistical evaluation of the kinetic data obtained from non-isothermal thermogravimetry (TG).

The pre-formulation studies by thermal analysis indicated that there were no interaction between the AZT and the majority of the tested excipients. Some changes in the thermoanalytical profiles were observed in relation to PEG 4000, 6000 and 20000, PVP, sorbitol and ethylene polyoxide (polyox 30®) excipients. In the thermal decomposition process of AZT was observed the formation of thymine. The use of simultaneous and coupled system TG/DTA-GC/MS made it possible to identify of furan and 2-furanmethanol as volatiles products. The differential scanning calorimetry experiments permitted the determination of the melting point (118,0 to 122,9°C), $\Delta H_{melting}$ (medium value 30 $kJ.min^{-1}$) and purity percentage (97,5 a 99,8%) for six commercial samples of the drug. The inclusion complex of AZT/β-cyclodextrin was obtained by the dissolution of the species in water and the mixture was dried by lyophilization or under vacuum at room temperature. The interaction between the species do not occur in the simple physical mixture. In this work, thenoyltrifluoroacetonate complexes with trivalent europium and

samarium were prepared using AZT as a ligand. The complex presented high luminescence. According to the results of IR spectroscopy of the complexes [$RE(TTA)_3 \cdot (AZT)_2$], it was suggested that the metal ion be coordinated through the nitrogen of the azide group. The powder X-ray diffractometry (DRX) indicated that the complexes [$Eu(TTA)_3 \cdot (AZT)_2$] are not crystalline while free AZT, hydrate precursor salt [$RE(TTA)_3 \cdot 2H_2O$] and physical mixture are. The variability study of the influence of different experimental conditions from TG, using Factorial Design, showed that none of the effects are significative. The kinetic energy values for the commercial AZT samples varied between 120 to 142 $kJ.mol^{-1}$, by non-isothermal conditions, and 100 to 112 $kJ.mol^{-1}$, by dynamic method. The results obtained in the kinetic studies are reproducible. These parameters are important for the evaluation of pharmaceutical equivalence together with bioequivalence studies.

CAPÍTULO I

Introdução e objetivos

Neste capítulo é feita uma breve introdução e descrição dos principais objetivos do trabalho. Procurou-se, assim, enfatizar a problemática, as justificativas e as formas de análises dos resultados. Além disso, buscou-se relacionar os temas que são tratados em cada um dos capítulos desta tese.

"Mais importante que o conhecimento é a imaginação"

Albert Einstein

1.1 INTRODUÇÃO E OBJETIVOS

A epidemia, síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS), começou na África há mais de 40 anos, mas somente no final dos anos 70 e começo dos anos 80, ao atingir pessoas no Primeiro Mundo, adquiriu notoriedade. Ela foi reconhecida em meados de 1981, nos Estados Unidos, a partir da identificação de um número elevado de pacientes adultos do sexo masculino, homossexuais e moradores de São Francisco e Nova York (AMATO NETO, 1996; CASTILHO & BASTOS, 1997). Essa grave infecção tem como agente etiológico o vírus da imunodeficiência humana (HIV), que é um retrovírus com genoma RNA, da família *Lentiviridae*. Pertence ao grupo dos retrovírus citopáticos e não-oncogênicos que necessitam, para multiplicar-se, de uma enzima denominada transcriptase reversa. De modo geral, pode-se dividir a infecção em três fases, destacando-se a infecção aguda, o período assintomático e a doença sintomática ou AIDS. Esta última fase, por definição, caracteriza-se por imunodeficiência grave e pelo surgimento de doenças oportunistas (SPRINZ *et al.*, 1999).

No Brasil, os primeiros casos de AIDS foram notificados em 1982, no Estado de São Paulo. Considerando-se os conhecimentos sobre a história natural da doença e o período de latência da infecção pelo HIV, pode-se deduzir que a introdução do vírus no país deve ter ocorrido no final da década de 1970, e sua difusão, em primeiro momento, esteve concentrada nas áreas metropolitanas das regiões Sul e Sudeste. Logo em seguida, iniciou-se o processo de disseminação para as demais regiões brasileiras (BRASIL, 1999).

Apesar de, atualmente, existirem registros de casos em todas as unidades federadas, a maioria dos cerca de 240 mil casos notificados até março de 2002 ainda se concentra na Região Sudeste (69,5% das notificações no período de 1982-2002). Com relação aos dados sobre mortalidade, cerca de 83 mil óbitos já foram informados ao Ministério da Saúde até o final do ano de 2002, passando a ser considerada a segunda causa de óbito para ambos os sexos, na faixa etária entre 20 e 49 anos (BRASIL, 2002).

De forma geral, pode-se afirmar que a epidemia da AIDS no Brasil está passando por mudança evidente no seu eixo geográfico de disseminação e está penetrando em novos grupos, socialmente considerados mais vulneráveis, quando se compara a situação atual com o cenário da epidemia na década de 1980. Atualmente, o que é denominado epidemia de AIDS, mostra-se, na realidade, como um somatório de várias sub-epidemias regionais, em interação permanente, em

função dos movimentos migratórios, fluxos comerciais, deslocamento de mão-de-obra, turismo e outras formas da mobilidade populacional (BRASIL, 1999).

A atuação terapêutica dos agentes antivirais atualmente utilizados é caracterizada pela inibição dos eventos de replicação específica do vírus, pela inibição da síntese dos ácidos nucléicos destinados à formação do mesmo ou à síntese protéica. Vale salientar que a descoberta de novos inibidores virais está geralmente vinculada à melhor compreensão dos mecanismos moleculares envolvidos na replicação do vírus (GOODMAN *et al.*, 1996).

Desde a descoberta do HIV, um grande número de fármacos vêm sendo identificados por apresentar atividade anti-retroviral. Até hoje, o maior número de informações sobre terapêutica específica contra o HIV concentra-se na classe de fármacos inibidores da transcriptase reversa e da enzima protease, responsáveis, respectivamente, pela replicação e encapsulação viral (STEVEN *et al.*, 1997; AMATO NETO, 1996).

Os inibidores da transcriptase reversa atuam como falsos substratos para a enzima, agindo por inibição competitiva desta. Entretanto, também inibem as DNA-polimerases humanas, o que, ao lado da toxicidade mitocondrial, limita sua dosagem e, portanto, sua eficácia (MILLER, 1996). Além disso, a necessidade de fosforilação de alguns fármacos, as interações antagônicas e a resistência cruzada encurtam seu tempo de utilização pelos pacientes. Dentre esta série de fármacos, pode-se citar a zidovudina (AZT), a lamivudina (3TC), a estavudina (d4T), a zalcitabina (ddC), a didanosina (ddI) e, mais recentemente descoberto, o abacavir (ABC) (SOMMADOSSI, 1995; HIRSCH *et al.*, 1993).

Quanto aos inibidores de protease pode-se dizer, de modo geral, que esta é a mais potente família dos anti-retrovirais. Dentre os compostos desta série pode-se citar o amprenavir (AMP), o saquinavir (SQV), o indinavir (IDV) e o ritonavir (RTV). Como são inibidores de protease (e o corpo humano necessita das proteases para realizar determinadas reações orgânicas), tais fármacos interferem no metabolismo e muitas vezes podem provocar efeitos adversos incomuns, tais como a redistribuição da gordura corporal (também conhecido como lipodistrofia) ou uma síndrome de resistência periférica à insulina (HIRSCH, 1993; TARTAGLIONET, 1998).

Nos estudos de avaliação do AZT já se evidenciava diferença considerável na evolução da AIDS entre pacientes tratados e não-tratados. O lançamento de novos medicamentos foi, aos poucos, sendo acompanhado de maior conhecimento da fisiopatologia da doença e tornou-se evidente a necessidade de terapias combinadas, ou seja, o uso de mais três medicamentos

concomitantes, uma vez que a pouca fidelidade genética do HIV em sua replicação facilitava o surgimento de mutantes resistentes aos medicamentos em uso (SÁ & KALIL, 1998).

A zidovudina (3'-azido-3'-desoxitimidina) foi sintetizada em 1964, por HORWITZ *et al.* Em 1974, OSTERTAG *et al.* relataram a atividade inibitória do AZT sobre o retrovírus da murina tipo C *in vitro*. Em 1985, MITSUYA *et al.* iniciaram a aplicação clínica do AZT e relataram o efeito inibitório do fármaco sobre o HIV-1 (vírus da imunodeficiência humana tipo 1). Dois anos após, o AZT surgiu como primeiro e, até então, único fármaco a ser aprovado pela *Food and Drug Administration* (FDA-USA) para pacientes adultos infectados pelo HIV com história citologicamente confirmada de *Pneumocystis carini*.

O AZT faz parte do grupo de fármacos análogos nucleosídicos inibidores da transcriptase reversa, agindo de forma a impedir que o HIV realize sua transcrição de RNA para DNA, atuando antes do vírus ser incorporado ao genoma humano (BARDEY *et al.*, 1994; HULS, 1991; NOBLE, 1987; MCLEOD *et al.*, 1992). No início da década de 1990, novos fármacos inibidores da transcriptase reversa foram desenvolvidos, no entanto, o AZT continua sendo o fármaco de primeira escolha no tratamento anti-retroviral. Trata-se de um fármaco potente, bastante conhecido na clínica e, quando utilizado em esquemas tríplices, geralmente é bem tolerado. Apresenta boa biodisponibilidade (~65%), mas deve ser utilizado, preferencialmente, 2 a 3 vezes ao dia (em doses de 600 mg ao dia), em decorrência da sua meia-vida curta (em torno de 1,5 horas). Apresenta, também, boa penetração no sistema nervoso central e tem como principal via de excreção o sistema renal (SPRINZ *et al.*, 1999).

Analisando a pesquisa farmacêutica nos últimos anos pode-se dizer que a busca por novas moléculas potencialmente ativas tem sido um dos principais pilares no avanço das pesquisas, sendo esses estudos capazes de produzir novos e mais específicos fármacos. Além desses estudos, diversas contribuições ao melhoramento da atividade farmacocinética podem ser encontradas através do estudo dos processos farmacotécnicos de produção e uso de recursos capazes de alterar as características físicas, químicas e físico-químicas dos compostos. Sendo assim, a tecnologia farmacêutica atualmente empregada está voltada ao aprimoramento e desenvolvimento biofarmacotécnicos de formulações anti-retrovirais mais eficazes, seguras, com maior especificidade e que provoquem menores danos ao organismo.

Com o avanço das pesquisas na área de biofarmacotécnica, constatou-se que as formulações farmacêuticas exercem papel marcadamente importante no complexo sistema que vai desde a administração do fármaco ao organismo até o momento em que este exerce sua ação farmacológica

específica. Sendo assim, vale salientar que as propriedades físico-químicas do fármaco, as características da forma farmacêutica e os fatores fisiológicos devem ser considerados durante todo processo de desenvolvimento de um medicamento, ou seja, as etapas que se estendem desde a pré-formulação, passando pela produção e chegando à validação dos métodos analíticos voltados ao controle de qualidade (PHARMACEUTICAL HANDBOOK, 1980).

Hoje, tendo em vista a implementação do livre comércio, a efetivação do Mercosul e a aprovação da LEI 9787, de 10 de fevereiro de 1999, que regula a comercialização de medicamentos genéricos no Brasil, mostra-se de suma importância à necessidade de um controle rígido do processo de produção e controle de medicamentos. Neste contexto, estabelecem-se as noções de validação de métodos analíticos. A validação deve garantir, através de estudos experimentais, que o método atenda às exigências das aplicações analíticas, assegurando a confiabilidade dos resultados. Para tanto, os métodos devem apresentar precisão, exatidão, linearidade, sensibilidade e especificidade adequadas para as análises. Em vista disso, esse trabalho tem por objetivo principal aplicação da tecnologia farmacêutica à produção e ao controle de fármacos e medicamentos, com ênfase na utilização das técnicas termoanalíticas, cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), difração de raios X (DRX), análise elementar e espectrofotometria de absorção na região infravermelho (IV).

O Brasil foi um dos primeiros países do mundo a adotar uma política nacional de assistência ao portador de HIV e/ou doentes com AIDS. A Lei Federal nº 9.313, de 13 de novembro de 1996, determina que "Os portadores de HIV e doentes de AIDS receberão, gratuitamente, do Sistema Único de Saúde (SUS), toda a medicação necessária a seu tratamento". Esse programa vem sendo financiado pelo Governo Federal, através do Ministério da Saúde, e complementado pelo orçamento de cada Estado (BRASIL, 1999).

Dados apresentados pelo Ministério da Saúde e pela Coordenação Nacional de Doenças Sexualmente Transmissíveis e AIDS (CNT-DST/AIDS) mostraram que, até dezembro de 1999, existiam cerca de 105 mil pacientes em tratamento com medicamentos anti-retrovirais no Brasil, sendo, assim, investidos aproximadamente 633 milhões de reais em todo o ano. Esta mesma pesquisa apontou que, a cada mês, entre 2 e 3 mil novos pacientes passam a fazer uso desta classe de medicamentos. Neste contexto, não é possível deixar de enfatizar a importância de investimentos em pesquisa e desenvolvimento de novas tecnologias, visando à produção e ao controle destes medicamentos. Outro dado importante é o conhecimento de que o AZT é fornecido

para o Ministério da Saúde por seis laboratórios farmacêuticos, entre nacionais e multinacionais (BRASIL, 1999).

Pelo exposto, a realização de trabalhos de pesquisa nessa área torna-se extremamente interessante e com vastos caminhos a serem trilhados pelos pesquisadores. Mais especificamente neste trabalho, buscou-se aplicar as potencialidades da análise térmica voltada à tecnologia farmacêutica, tendo-se como principal interesse à caracterização físico-química de fármacos e medicamentos anti-retrovirais. Como pode-se observar nesta tese, uma gama de possíveis aplicações das técnicas termoanalíticas foram tema de diversos tipos de estudos definidos em capítulos como, por exemplo, a avaliação da estabilidade térmica, faixa de fusão e pureza química, compatibilidade fármaco/excipiente, caracterização de complexos e inclusões e estudos cinéticos. Apesar de tratarem-se de temas específicos, todos os estudos e metodologias apresentadas têm, em comum, a demonstração da análise térmica como ferramenta analítica voltada, seja, ao desenvolvimento farmacotécnico, seja, ao controle de qualidade de fármacos e medicamentos.

Diretamente direcionada ao desenvolvimento farmacotécnico, por exemplo, pode-se citar a aplicação da análise térmica como ferramenta para a realização de estudos de pré-formulação ou compatibilidade fármaco-excipiente, ou mesmo, a caracterização de novas especialidades como o caso dos complexos e inclusões. Neste último caso, como evidência deste tipo de aplicação, pode-se citar a caracterização de complexos envolvendo compostos orgânicos e metais, ou como no caso dos complexos com lantanídeos, ou ainda, os compostos de inclusão com ciclodextrinas, apresentados neste trabalho. Esses estudos tornam-se possíveis a partir da observação dos perfis termoanalíticos das espécies iniciais e após a síntese ou a preparação.

Aplicações da análise térmica direcionadas ao controle de qualidade são mostradas através da análise da pureza química, faixa de fusão, variação de entalpia, estabilidade térmica e determinação de parâmetros cinéticos da decomposição térmica. Neste intuito, procurou-se mostrar que a associação das técnicas termoanalíticas a outras técnicas de análise físico-química aumentam a possibilidade de observações, diminuem a ocorrência de erros de interpretação e asseguram a qualidade de fármacos e medicamentos. Foi neste intuito que procurou-se, neste trabalho, estudar amostras de princípios ativos, formulações e novas especialidades (Figura 1.1).

Este trabalho abrange a área de produção e controle de fármacos e medicamentos e, portanto, torna-se bastante salutar o envolvimento de pesquisadores da área de Farmácia e da área de Química, em caráter interdisciplinar, visando aos avanços das pesquisas em torno dos

medicamentos para HIV/AIDS no país. Nesta perspectiva, são apresentados os seguintes objetivos específicos:

1) ***Estudos propostos para o AZT (matéria-prima)***

- O estudo do comportamento térmico do AZT a partir da calorimetria exploratória diferencial (DSC), termogravimetria (TG) e termogravimetria derivada (DTG);
- A caracterização química dos produtos sólidos intermediários derivados do processo de decomposição térmica do AZT, empregando as técnicas de difração de raios X (DRX), espectrofotometria de absorção na região do infravermelho (IV) e análise elementar (determinação dos teores de carbono, nitrogênio e hidrogênio);
- A caracterização dos voláteis da decomposição térmica empregando as técnicas simultâneas e acopladas TG/DTA-GC/MS;
- A avaliação das possíveis interações existente entre o AZT e excipientes comumente utilizados no desenvolvimento de formulação farmacêutica, visando ao estudo de pré-formulação para formas farmacêuticas sólidas;
- A preparação e caracterização de complexos luminescentes de lantanídeos e obtenção de compostos de inclusão com ciclodextrinas.
- A comparação entre as matérias-primas utilizadas por diferentes laboratórios (nacionais e multinacionais);

2) ***Estudos propostos para o AZT (produtos comerciais - cápsulas de 100 mg)***

- O desenvolvimento de ensaios de estabilidade acelerada e a longo prazo das cápsulas de AZT, utilizando a cromatografia líquida de alta eficiência para determinação do teor e avaliação do processo de degradação dos medicamentos estudados;
- A busca da correlação entre os dados de estabilidade obtidos através das técnicas termoanalíticas e pelos métodos convencionais;
- Aplicação do planejamento fatorial para avaliação da influência das condições experimentais nos resultados de energia de ativação para a decomposição térmica das amostras de AZT.
- A avaliação da cinética de degradação térmica do AZT utilizando métodos termoanalíticos;

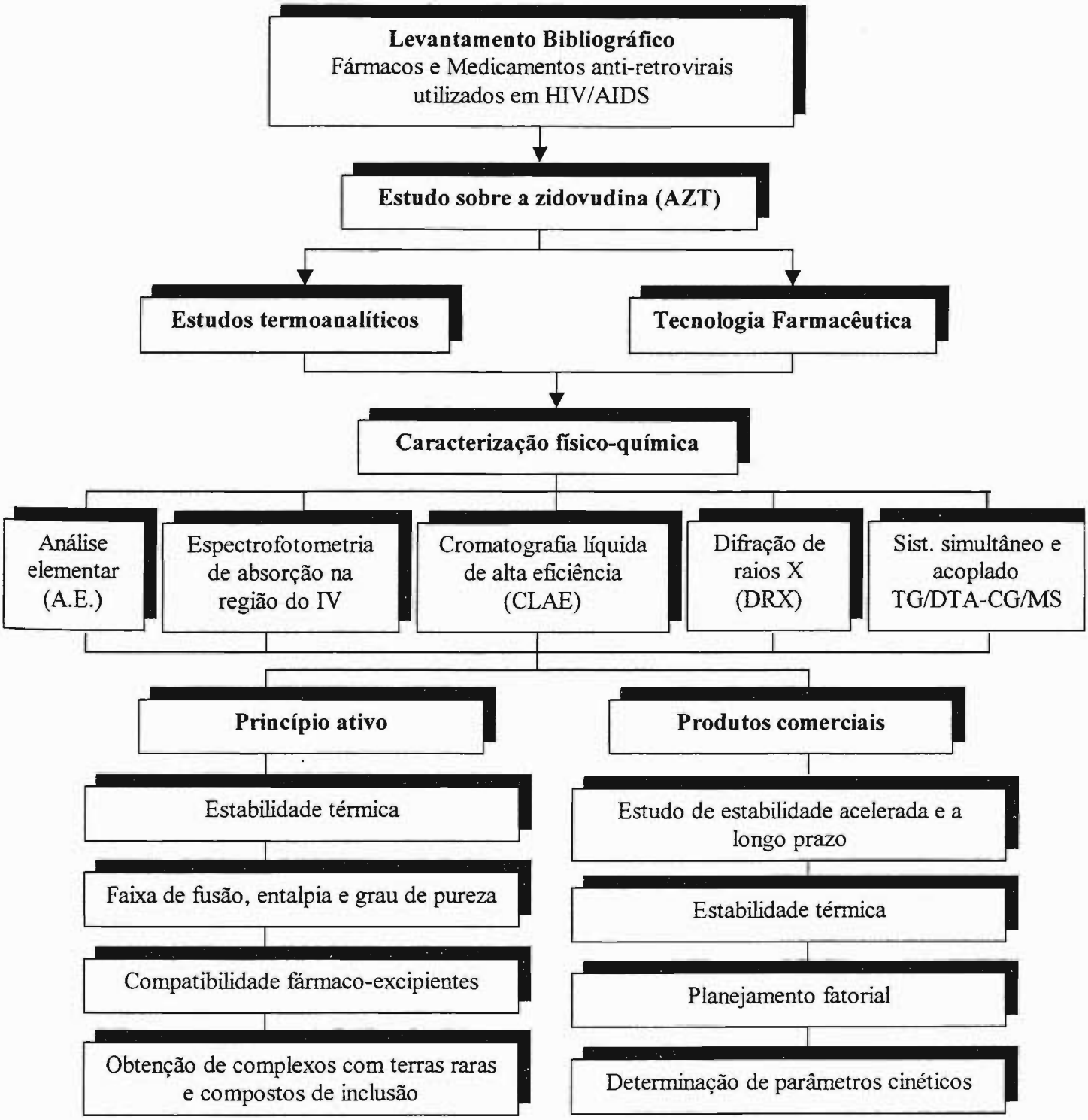


Figura 1.1 - Fluxograma inicial de trabalho

Deve-se destacar que, apesar do AZT ter sido sintetizado em 1964, não foi encontrado na literatura um estudo dessa natureza. Para facilitar a leitura e compreensão, este trabalho foi estruturado por capítulos, apresentando, de maneira geral, os aspectos teóricos, parte experimental, resultados, discussão e conclusões envolvendo os objetivos específicos mencionados anteriormente.

1.2 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMATO NETO,V. **AIDS na prática médica**. São Paulo: Sarvier, 1996. p.126-136.

BARTLETT, J.G. **Tratamento clínico da infecção pelo HIV**. Rio de Janeiro: Viterbo's Computação Gráfica, 1999. p.1-44.

BARRY, M., GIBBONS, S., BACK, D., MULCAHY, F. Protease inhibitors in patients with HIV disease. **Clin. Pharmacokinet.**, Auckland, v.32, n.3, p.194-209, 1997.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Políticas da Saúde. Coordenação Nacional de DST e AIDS. **AIDS: etiologia, clínica, diagnóstico e tratamento**. Brasília: Ministério da Saúde, 1999. p.1-22.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Políticas da Saúde. Coordenação Nacional de DST e AIDS. **Terapia anti-retroviral e saúde pública**: um balanço da experiência brasileira. Brasília: Ministério da Saúde, 1999. p.1-32.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Políticas da Saúde. Coordenação Nacional de DST e AIDS. **Boletim Epidemiológico HIV/AIDS-2002**. Brasília: Ministério da Saúde, 2002. p.3-15.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Políticas da Saúde. Coordenação Nacional de DST e AIDS. **Sobre a epidemia da AIDS no Brasil: distintas abordagens**. Brasília: Ministério da Saúde, 1999. p.100.

CASTILHO, E.A, BASTOS, F.I. Aids (1981-97): o rastro da tormenta. **Rev. USP**, São Paulo, v.33, p.7-19, 1997.

CLORET, B., RUIZ, L., ROMEU, J., PICADO, J.M., SCHMIT, J.C., VANDAMME, A.M., BALAGUÉ, M., CABRERA, C., PUIG, T., TURAL, C., SEGURA, A., SIRERA, G., CLERC, E. Efficacy of triple combination therapy with zidovudine (ZDV) plus zalcitabine (ddC) plus lamivudine (3TC) versus double (ZDV+3TC) combination therapy in patients previously treated with ZDV+ddC. **AIDS**, Hagerstown, v.10, n.14, p.61-66, 1996.

COLLIER, A.C., COOMBS, R.W., SCHOENFELD, D.A. Treatment of Human immunodeficiency virus infection with saquinavir, zidovudine and zalcitabine. **N. Engl. J. Med.**, Waltham, v.334, p.1011-1017, 1996.

DE CLERCQ, E. New developments in anti-HIV chemotherapy. **Farmaco**, Amsterdam, v.56, p.3-12, 2001.

FEIGAL, E.G. AIDS-associated malignances: research perspectives. **Biochim. Biophys. Acta**, Amsterdam, v.1423, p.C1-C9, 1998.

FISCHL, M.A., STANLEY, K., COLLIER, A.C., ARDUIRE, J.M., STEIN, D.S., FEINBERG, J.E., ALLAN, J.D., GOLDSMITH, J.C., POWDERLY, W.C. Combination and monotherapy with zidovudine and zalcitabine in patients with advanced HIV disease. **Ann. Intern. Med.**, Phyladelphia, v.122, p.24-32, 1995.

GALLANT, J.E. Tratamento para o paciente previamente tratado. **Hopkins HIV Rep.**, Baltimore, v.11, n.5, p.6-7, 1999.

GULICK, R.M., MELLORS, J.W., HAVLIR, D. Treatment with indinavir, zidovudine, and lamivudine in adults with human immunodeficiency virus infection and prior anti-retroviral therapy. **N. Engl. J. Med.**, Waltham, v.337, p.734-739, 1997.

GALLO, R.C., SARIN, P.S., GELMANN, E.P., ROBERT-GUROFF, M., RICHARDSON, E., KALYANARAMAMV, S., MANN, D., SIDHU, G.D., STAHLR, E., ZOLLA-PAZZNE, S., LEIBOWITCH, J., POPOVIC, M. Isolation of human T-cell leukemia virus in acquired immune deficiency syndrome (AIDS). **Science**, Washington, v.220, p.865-867, 1983.

HAYDEN, F.G. Fármacos antimicrobianos. *In*: GOODMAN, L.S., GILMAN, A., HARDMAN, J.G., eds. Goodmann & Gilman. **As bases farmacológicas da terapêutica**. 9.ed. Rio de Janeiro: Macgraw-Hill Interamericana. 1996. p. 876-901.

HAVLIR, D.N., RICHMAN, D.D. Antiretroviral therapy. **Curr. Opin. Infect. Dis.**, London, v.8, p.66-73, 1995.

HIRSCH, M.S., DÁQUILA, R.T. Therapy for human immunodeficiency virus infection. **N. Engl. J. Med.**, Waltham, v.328, p.1686-1695, 1993.

HORWITZ, J.P., CHAU, J., NOEL, M. Nucleosides.5.monomesylates of [1,2]-deoxy-beta-D-lyxofuranosyl-thymine. **J. Org. Chem.**, Columbus, v.29, p.2076, 1964.

HULS, C. Zidovudine, related agents, and AIDS. **NARD J.**, Chicago, v.113, p.73-77, 1991.

MILLER, J.L. New products and research bring guarded optimism, new questions about AIDS therapy. **Am. J. Health-Syst. Pharm.**, Bethesda, v.53, n.15, p.2129-2132, 1996.

MITSUYA, H., WEINHOLD, K.J., FURMAN, P.A., STCLAIR, M.H., LEHRMAN, S.N., GALLO, R.C., BOLOGNESI, D., BARRY, D.W., BRODER, S. 3′-azido-3′-deoxythymidine (BWA09U)- an antiviral agent that inhibits the infectivity and cytopathic effect of human lymphotropic-T virus type III lymphadenopathy-associated virus in vitro. **Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.**, Washington, v.82, n.20, p.7096, 1985.

MOLLA, A., GRANNEMAN, R., SUN, E., KEMPF, D.J. Recent developments in HIV protease inhibitor therapy. **Antiviral Res.**, Amsterdam, v.39, p.1-23, 1998.

MONTAGNIER, L., BARRE-SINOUSSI, F., CHERMANNJ, C., REY, F., NUGEYRE, M.T., CHAMARET, S., GRUEST, J., DAUGUET, C., AXLER-BLIN, C., VEZINET-BRUN, F., ROZINOUX, C., REZENBAUM, W. Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired imune deficiency syndrome (AIDS). **Science**, Washington, v.220, p.868-8671, 1983.

NOBLE, T.A. Zidovudine AIDS therapy approved by FDA. **Palmetto Pharm.**, Springfield, v.26, p.13-16, 1987.

OSTERTAG, W., ROSELER, G., KRIEG, C.J., KIND, J., COLE, T., CROZIER, T., GAEDICKE, G., STEINHEIDER, G., KLUGE, N., DUBE, S. Induction of endogenous virus and thymine kinase by 7-bromodeoxyuridine in cell-cultures transformed by friend virus. **Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.**, Washington, v.71, p.4980, 1974.

PETER, K., GAMBERTOGLIO, J.G. Intracellular phosphorylation of zidovudine (AZT) and other nucleoside reverse transcriptase inhibitors (RTI) used for human immunodeficiency virus (HIV) infection. **Pharm. Res.**, New York, v.15, n.6, p.819-825, 1998.

SANDE, M.A., GILBERT, D.N., MOELLERING, R.C.J. **The Sanford: guia para o tratamento da AIDS/HIV**. 7.ed. Rio de Janeiro: EPUC, 1998.

SÁ, C.A.M., KALIL, R.S. AZT: a droga que mudou a AIDS. **J. Bras. Doenças Sex. Transm.**, Rio de Janeiro, v.10, n.1, p.3-4, 1998.

SPRINZ, E., FINKELSZTEJN, A. **Rotinas em HIV e AIDS**. Porto Alegre: Artes Médicas Sul, 1999. p.1-29.

STEVEN, M.S., PETTINELLI, C.B. Strategies and progress in the development of antiretroviral agents. *In*. DeVITA Jr., V.T., HELLMAN, S., ROSENBERG, S.A. **AIDS: Biology, Diagnosis, Treatment and Prevention**, Philadelphia Lippincott-Raven Published, c.21, p.467-475, 1997.

VEAL, G.J., BACK, D.J. Metabolism of zidovudine. **Gen. Pharmacol.**, New York, v.26, p.1469-1475, 1995.

VOLBERDING, P.A., DEEKS, S.G. Tratamento anti-retroviral da infecção pelo HIV: promessas e problemas. **JAMA Brasil**, São Paulo, v.2, n.10, p.1531-1534, 1998.

CAPÍTULO II

O HIV e a AIDS: Atualização terapêutica anti-retroviral e perspectivas da quimioterapia de combate

Este capítulo insere uma breve discussão sobre o vírus da imunodeficiência humana (HIV) e os aspectos relacionados à síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS). Após um breve histórico sobre a infecção, também são descritos aspectos gerais relacionados ao ciclo de replicação do HIV em células humanas, a história natural da infecção pelo HIV e as formas de transmissão, além de alguns dados epidemiológicos e formas de tratamento. Como o trabalho trata, em especial, da zidovudina (AZT), procurou-se também descrever as principais características químicas e físico-químicas deste fármaco, assim como, suas propriedades farmacológicas. Por fim, procurou-se mostrar as principais perspectivas para o tratamento anti-retroviral.

"É mais freqüente que a ignorância seja gerada pela confiança que pelo conhecimento".

Charles Darwin

2.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE O HIV E A AIDS

A epidemia começou na África há mais de 70 anos, mas somente a partir do final dos anos 70 e começo dos anos 80, ao atingir pessoas no Primeiro Mundo, adquiriu notoriedade (CASTILHO & BASTOS, 1997; SPRINZ *et al.*, 1999). Essa grave infecção tem como agente etiológico o vírus da imunodeficiência humana (HIV), que é um retrovírus com genoma RNA, da família *Lentiviridae*. Pertence ao grupo dos retrovírus citopáticos e não-oncogênicos, que necessitam, para se multiplicar, de uma enzima denominada transcriptase reversa. De modo geral, pode-se dividir a infecção em três fases. Entre elas destaca-se a infecção aguda, o período assintomático e a doença sintomática ou AIDS. Esta última fase, por definição, caracteriza-se por imunodeficiência grave e por aparecimento de doenças oportunistas (SPRINZ *et al.*, 1999).

O HIV-1 foi isolado de pacientes com AIDS, em 1983, pelos pesquisadores LUC MONTAGNIER, na França, e, posteriormente, por ROBERT GALLO, nos Estados Unidos, recebendo os nomes de LAV (*Lymphadenophaty Associated Virus* ou Vírus Associado à Linfadenopatia) e HTLV-III (*Human T-Lymphotropic Virus* ou Vírus T-Linfotrópico Humano Tipo III), respectivamente (GALLO *et al.*, 1983; MONTAGNIER *et al.*, 1983). Em 1986, foi identificado um segundo agente etiológico, também da classe dos retrovírus, com características semelhantes ao HIV-1, denominado HIV-2. Nesse mesmo ano, um comitê internacional recomendou o termo HIV (*Human Immunodeficiency Virus* ou Vírus da Imunodeficiência Humana) para denominá-lo, reconhecendo-o como capaz de infectar seres humanos (BRASIL, 1999).

2.1.1 Ciclo de Replicação do HIV em células humanas

A estratégia de replicação na célula hospedeira, no caso de vírus de RNA, depende das enzimas contidas no vírion (partícula viral infecciosa completa) para sintetizar seu RNAm ou que a RNA viral atue como seu próprio RNAm (GOODMAN *et al.*, 1987). O RNAm é traduzido em diversas proteínas virais, que incluem a RNA polimerase, que orienta a síntese de mais RNAm viral. Vale ressaltar que a estrutura molecular básica do HIV é semelhante à de outros retrovírus, com três genes principais denominados *gag* (antígeno específico ao grupo), *pol* (polimerase) e *env* (envelope), além de inúmeros genes reguladores (*nef*, *ver*, *tat*) entre outros com funções ainda não determinadas (AMATO NETO, 1996). A seqüência apresentada a seguir e a Figura 1 mostram, de forma geral, o ciclo de vida do HIV (Figura 2.1):

1) Ligação de glicoproteínas virais (gp120) ao receptor específico da superfície celular (principalmente linfócitos T-CD4);

2) Fusão do envelope do vírus à membrana da célula hospedeira;

3) Liberação do *core* do vírus para o citoplasma da célula hospedeira;

4) Transcrição do RNA viral em DNA complementar, dependente da enzima transcriptase reversa;

5) Transporte do DNA complementar para o núcleo da célula, onde há integração no genoma celular (provírus), dependente da enzima integrase, ou a permanência em forma circular, isoladamente;

6) O provírus é reativado, e produz RNA mensageiro viral, dirigindo-se para o citoplasma da célula;

7) Proteínas virais são produzidas e quebradas em sub-unidades, por intermédio da enzima protease;

8) As proteínas virais regulam a síntese de novos genomas virais e formam a estrutura externa de outros vírus, que serão liberados pela célula hospedeira;

9) O vírion recém-formado é liberado para o meio circundante da célula hospedeira, podendo permanecer no líquido extracelular, ou infectar novas células.

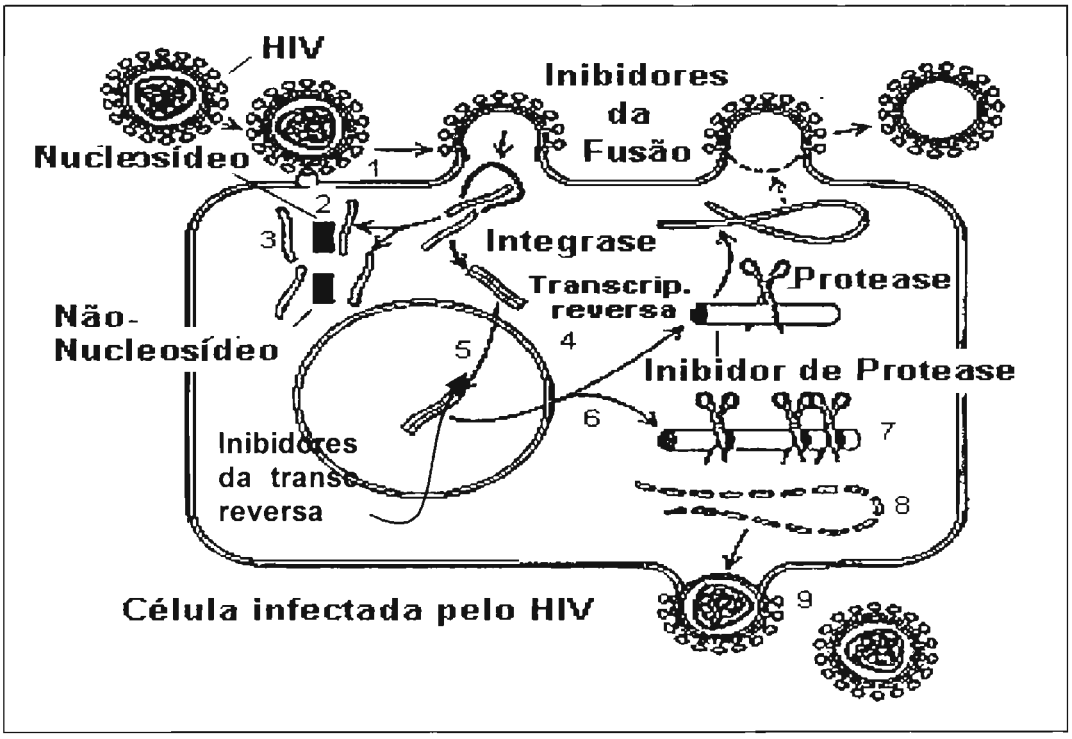


Figura 2.1 - Ciclo de replicação do HIV e alvo de ação dos anti-retrovirais (Fonte: www.aegis.com/pubs/iapac)

2.1.2 História natural da infecção pelo HIV e formas de transmissão

O desenvolvimento da infecção por HIV, na média dos pacientes sem tratamento anti-retroviral, desde a transmissão até a morte, leva em torno de sete anos. Segundo Bartlett, a história natural da infecção pode ser dividida nas seguintes etapas: 1) Transmissão viral, 2) Infecção primária, 3) Soroconversão, 4) Infecção crônica assintomática 5) Infecção sintomática pelo HIV, 6) AIDS e 7) Infecção avançada pelo HIV. Um gráfico ilustrativo das principais variáveis envolvidas (contagem de linfócito T-CD4, viremia plasmática e cópia de RNA viral ao longo do tempo) é apresentado na Figura 2.2.

As principais formas de transmissão do HIV são: sexual, sanguínea (em receptores ou hemoderivados e em usuários de drogas injetáveis), e vertical (da mãe para o filho, durante a gestação, parto ou aleitamento) (BRASIL, 1999).

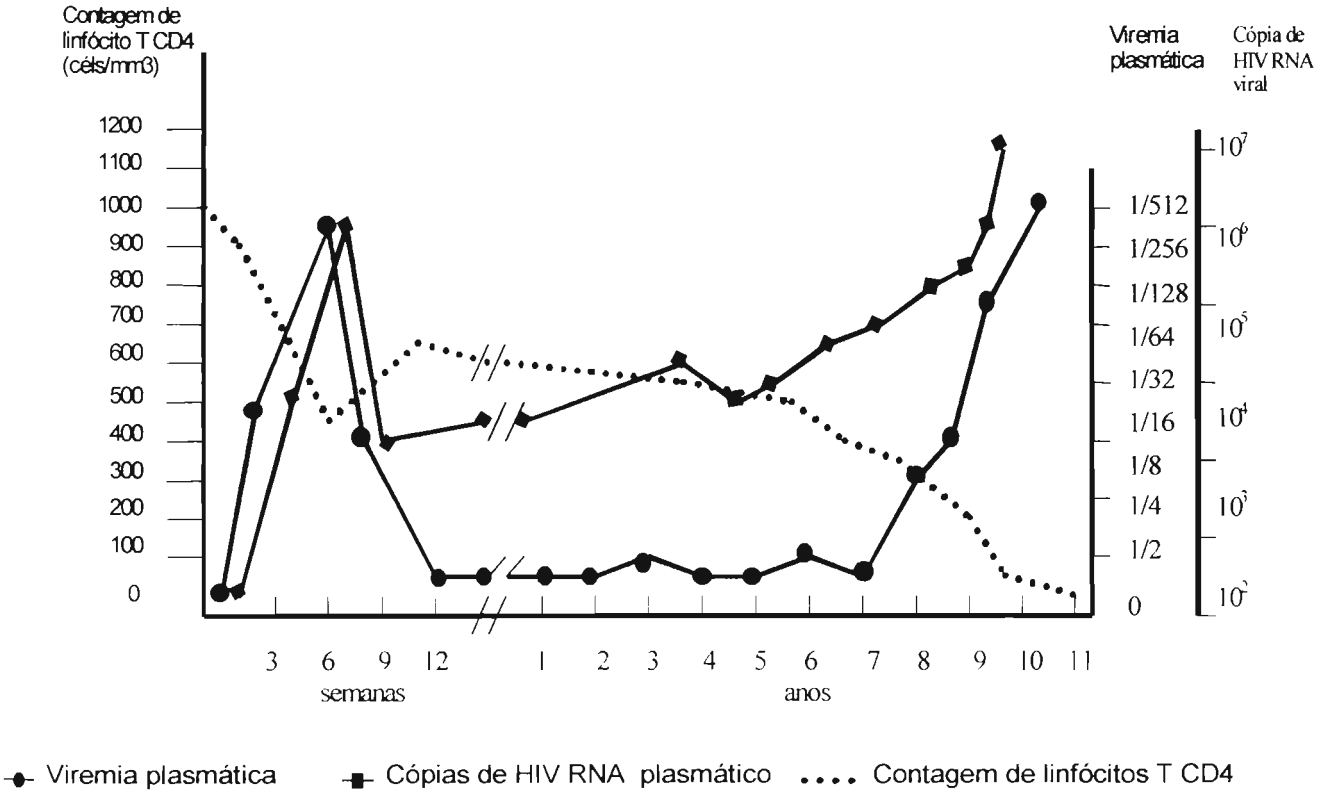


Figura 2.2 - Evolução natural da infecção pelo HIV (fonte: SPRINZ, 1999)

2.1.3 Dados Epidemiológicos

O programa conjunto das Nações Unidas para a AIDS (UNAIDS), nos últimos anos, tem avaliado o processo de disseminação da doença e seus avanços sociais por meio da divulgação de boletins epidemiológicos e desenvolvimento de ações de prevenção em todo o mundo. Alguns desses dados foram apresentados recentemente pela UNAIDS relativo a dezembro do ano 2000 e são mostrados na Tabela 2.1.

Tabela 2.1 - Dados globais da epidemia de HIV/AIDS (dados publicados pela UNAIDS*, em dezembro de 2002)

Novos casos de infecção por HIV em 2002	Total	5,0 milhões
	Adultos-Homens	2,2 milhões
	Adultos-Mulheres	2,0 milhões
	Crianças < 15 anos	800 mil
Número de pessoas que estão vivendo com HIV/AIDS	Total	42 milhões
	Adultos-Homens	19,6 milhões
	Adultos-Mulheres	19,2 milhões
	Crianças < 15 anos	3,2 milhões
Mortes provocadas pela AIDS em 2002	Total	3,1 milhões
	Adultos-Homens	1,29 milhões
	Adultos-Mulheres	1,20 milhões
	Crianças < 15 anos	610 mil

*www.unaids.org

O Brasil foi um dos primeiros países do mundo a adotar uma política nacional de assistência ao portador de HIV e/ou doentes com AIDS. A Lei Federal nº 9.313, de 13 de novembro de 1996, determina que: "Os portadores de HIV e doentes de AIDS receberão, gratuitamente, do Sistema Único de Saúde (SUS), toda a medicação necessária a seu tratamento". Esse programa vem sendo financiado pelo Governo Federal, através do Ministério da Saúde, e complementado pelo orçamento de cada Estado (BRASIL, 1999).

No Brasil, segundo dados do Ministério da Saúde (Boletim Epidemiológico, março/2001), foram notificados 237.588 casos de AIDS entre 1980 a março de 2002. Desses, 26.064 referem-se a pessoas entre 15 e 24 anos, ou seja, 15% do total. A faixa etária de 25 a 34 anos concentra o maior número de notificações acumuladas, 43,23% do total de casos. Alguns outros dados de interesse no controle epidemiológico da infecção são apresentados na Tabela 2.2 (BRASIL, 2002).

Tabela 2.2 - Dados da epidemia de HIV/AIDS no Brasil, de acordo com a Coordenação Nacional de DST e AIDS-MS (março de 2002)*

Casos de infecção por HIV no Brasil até março de 2001	Total	237.588
	Adultos sexo masculino	167.856
	Adultos sexo feminino	61.334
	Crianças < 12 anos	8.398
Mortes provocadas pela AIDS no Brasil até março de 2002 (indivíduos > 13 anos de idade)	Ano de 1984	98
	1988	3.438
	1992	9.437
	1996	9.819
	1999	5.825
	Total no Brasil	107.423
Distribuição de casos por região brasileira até março de 2002	Norte	1,7%
	Nordeste	8,9%
	Centro-oeste	4,8%
	Sudeste	68,4%
	Sul	16,2%

*www.aids.gov.br

Dados apresentados pelo Ministério da Saúde e pela Coordenação Nacional de Doenças Sexualmente Transmissíveis e AIDS (CNT-DST/AIDS) mostraram que, até dezembro de 1999, existiam cerca de 105 mil pacientes em tratamento com medicamentos anti-retrovirais no Brasil, sendo, assim, investidos aproximadamente 633 milhões de reais em todo o ano (BRASIL, 1999). Esta mesma pesquisa apontou que, a cada mês, entre 2 e 3 mil novos pacientes passam a fazer uso desta classe de medicamentos.

2.1.4 Tratamento anti-retroviral

A base do tratamento anti-retroviral é, também, função da contagem de linfócitos CD4 e da viremia plasmática. Esses dados fornecem informações quanto à possibilidade de progressão da doença, o grau de imunodeficiência e à velocidade de destruição do sistema imunológico (BRASIL, 1999). As condutas terapêuticas são baseadas a partir desses exames principalmente nos indivíduos HIV+ assintomáticos. A realização dos exames para contagem de CD4 e carga viral deve ser efetuada antes do início do tratamento, após o primeiro e terceiro meses, e daí em diante a cada 4 meses, se houver sucesso terapêutico (ARAÚJO *et al.*, 2002; SPRINZ, 1999).

O tratamento anti-retroviral e sua aplicação apresentam diversos objetivos (BARTLETT, 1999). Entre eles pode-se destacar:

- *Objetivos clínicos:* prolongar e melhorar a qualidade de vida.
- *Objetivos virológicos:* reduzir a carga viral ao mínimo possível (20 células/mL) pelo maior tempo possível para: 1) deter a progressão da doença, e 2) prevenir/reduzir variantes resistentes.
- *Objetivos imunológicos*: alcançar reconstituição imune quantitativa (contagem de CD4 nos limites normais) e qualitativa (resposta imune patógeno-específica).
- *Objetivos terapêuticos:* sequenciar racionalmente o uso dos fármacos de modo a alcançar os objetivos virológicos e preservar opções terapêuticas.

O mecanismo de ação dos agentes anti-retrovirais disponíveis na atualidade é caracterizado pela inibição dos eventos de replicação específica dos vírus, pela inibição da síntese dos ácidos nucléicos destinados à formação de novos vírus ou à síntese protéica (HAYDEN & GOODMAN, 1996). Novas descobertas e formas de tratamento estão diretamente relacionadas à melhor compreensão dos mecanismos moleculares e do ciclo de replicação viral (MILLER, 1996; STEVEN *et al.*, 1997). Vale ressaltar que o lançamento de novos medicamentos foi, aos poucos, sendo acompanhado de maior conhecimento da fisiopatologia da doença e tornou-se evidente a necessidade de terapias combinadas, uma vez que a pouca fidelidade genética do HIV na sua etapa de replicação facilitava o surgimento de mutantes resistentes aos medicamentos em uso (HAVLIR *et al.*, 1995; HIRSCH, *et al.*, 1993).

A introdução dos inibidores de protease, a partir de 1996, mudou drasticamente a evolução da doença, reduzindo a incidência de infecções oportunistas, internações e mortalidade por AIDS em diversas partes do mundo (BARRY *et al.*, 1997; MOLLA *et al.*, 1999). Entretanto, após o

otimismo inicial, começaram a surgir problemas relacionados a esquemas terapêuticos complexos e ao uso crônico dos medicamentos.

A complexidade da fisiopatologia e da terapêutica torna difícil a compreensão e análise de cada caso para os médicos prescritores. As freqüentes dificuldades de comunicação entre médicos e pacientes, especialmente nos sistemas de saúde pública de países em desenvolvimento, provocam erros de seguimento de posologia e a adesão à terapia é comprometida pela interferência com horários de alimentação, pelo número de doses diárias e por efeitos adversos que muitas vezes são o único sintoma da doença. A falta de adesão faz com que novas cepas resistentes do vírus surjam e, assim, tornem os medicamentos disponíveis atualmente pouco ou nada ineficazes no combate ao HIV (VOLBERDING & DEEKS, 1998).

Nessa perspectiva, recentemente foi denominado por *Highly Active Antiretroviral Therapy* (HAART) ou terapêutica anti-retroviral altamente potente, o esquema de tratamento pelo qual pode-se esperar que efetivamente seja reduzida a carga viral para menos de 50 cópias virais/mL em pacientes não tratados recentemente. Dentre os fármacos inseridos na terapia HAART podem-se citar os inibidores de transcriptase reversa análogos nucleosídicos, não-nucleosídicos e os inibidores de protease (CLORET *et al.*, 1996; COLLIER *et al.*, 1996; FISCHL *et al.*, 1995; GULICK *et al.*, 1997). Este termo, em alguns países, faz referência ao conjunto de medicamentos utilizados para o tratamento dos indivíduos portadores de HIV e/ou doentes com AIDS, que se tornou popularmente conhecido como "coquetel".

De maneira geral, o principal objetivo do tratamento anti-retroviral é a supressão máxima e prolongada da replicação viral, como descrito anteriormente. Enquanto este é um objetivo alcançável em pacientes que não apresentam resistência prévia aos anti-retrovirais, e que mantêm uma adesão estrita aos esquemas HAART, grande proporção de pacientes irá experimentar rebotes virais e falhas terapêuticas. Devido à resistência cruzada dentro das classes de fármacos atualmente disponíveis, o número de esquemas seqüenciais que um único paciente pode usar é extremamente limitado. Os médicos devem prever a possibilidade de falha terapêutica (Fig. 2.3) sempre que prescreverem um esquema anti-retroviral e devem avaliar as opções que estarão disponíveis caso o esquema fracasse (GALLANT, 1999).

Na prática diária, mesmo com esquemas tríplices no início do tratamento, pode-se esperar uma falência terapêutica de até 50%. A persistência da replicação viral durante o tratamento está associada ao desenvolvimento de resistência do HIV. Este, por sua vez, tem pelo menos duas conseqüências para o indivíduo: indução de resistência cruzada com outras drogas e progressão da

doença. De modo geral, a falha pode ser clínica, imunológica e virológica. Elas são reflexo do grau de imonudeficiência prévia que a pessoa poderia ter ou, paradoxalmente, podem ser conseqüência de uma melhora no estado imunológico com a introdução de tratamento anti-retroviral potente.

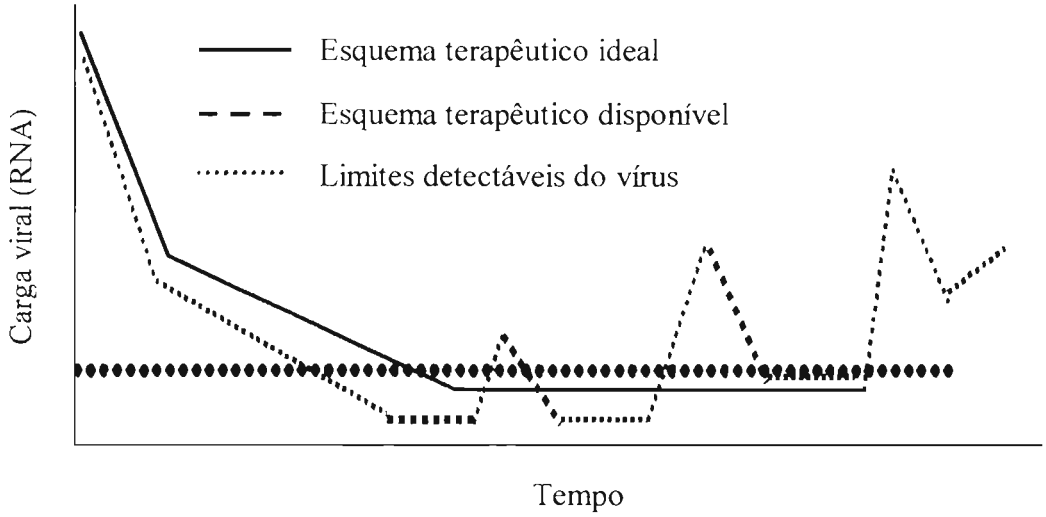


Figura 2.3 - Padrões de resposta ao tratamento anti-retroviral (Fonte: GALLANT, 1999)

O tratamento anti-retroviral associado tem sido responsável por redução drástica do perfil de morbi-mortalidade da infeção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) em diversos países. Várias apresentações na *Interscience Conference on Antimicrobial Agentes and Chemotherapy* (ICAAC) têm dado ênfase à diminuição da incidência de doenças oportunistas e à melhora da sobrevida resultante da terapia anti-retroviral altamente potente.

O tratamento combinado tornou-se rapidamente um padrão de conduta, particularmente em paciente com doença moderada a avançada. Os efeitos anti-HIV desta combinação estão claramente associados à melhora da saúde e à redução da probabilidade de progressão da doença. No entanto, os medicamentos disponíveis ainda carecem de aperfeiçoamento, particularmente nos aspectos relacionados à resistência, toxicidade, aderência e interações medicamentosas (VOLBERDING & DEEKS, 1998). A resistência cruzada dentro das três classes de fármacos anti-retrovirais leva a falência de um esquema e limita as futuras opções de tratamento (DURANT *et al.*, 1999). Para muitos pacientes, a obtenção de supressão viral provavelmente exigirá novas classes de fármacos, que, por sua vez, ainda estão sendo desenvolvidos. A seguir, são apresentados os medicamentos aprovados pelo FDA-USA para uso no combate direto ao HIV de acordo com o *The Sanford: Guia para o Tratamento da AIDS/HIV* (SANDE *et al.*, 1998) (Tabela 2.3).

Tabela 2.3 - Anti-retrovirais aprovados no período de 1987 a 1999 pela *Food and Drug Administration* (FDA-USA) para uso na terapia anti-HIV/AIDS*

Fármaco	Siglas Correspondentes	Nomes Comerciais	Classe Terapêutica	Ano de liberação pelo FDA
Abacavir	ABC	Ziagen®		1999
Didanosina	ddI	Videx®	*Inibidores da*	1991
Estavudina	d4T	Zeritavir®	*Transcriptase*	1994
Lamivudina	3TC	Epivir®	*Reversa análogos*	1995
Zalcitabina	ddC	Hivid®	*nucleosídicos*	1992
Zidovudina	AZT	Retrovir®		1987
Delavirdina	DLV	Rescriptor®	*Inibidores da*	1997
Efavirenz	EFZ	Stocrin®	*Transcrip. Revers.*	1998
Nevirapina	NVP	Viramune®	*Análogos não-nucleosídicos*	1996
Amprenavir	AMP	Agenerase®		1999
Indinavir	IDV	Crixivan®		1996
Nelfinavir	NLF	Viracept®	*Inibidores de*	1997
Ritonavir	RTV	Norvir®	*Protease*	1996
Saquinavir	SQV	Invirase®		1995

Fonte: Bartlett, 1999.

2.2 ASPECTOS RELACIONADOS À ZIDOVUDINA (AZT)

O AZT foi sintetizado em 1964 por HORWITZ *et al.* Em 1974, OSTERTAG *et al.* relataram a atividade inibitória do AZT sobre o retrovírus murino tipo C *in vitro*. Em 1985, MITSUYA *et al.* iniciaram a aplicação clínica do AZT e relataram efeito inibitório sobre o HIV-1 (vírus da imunodeficiência humana tipo-1), o agente etiológico da AIDS e complexo relacionado (ARC). Dois anos após, o AZT surgiu como primeiro e único fármaco a ser aprovado nos Estados Unidos para uso em pacientes adultos infectados pelo HIV com história citologicamente confirmada de *Pneumocystis carini*.

2.2.1 Nomenclatura, estrutura e demais características físico-químicas

O AZT ($C_{10}H_{13}N_5O_4$), segundo os padrões da *United States Pharmacopeia* (USP), 24ª Ed., não deve conter menos que 97,0% e não mais que 102% de 1-(3-azido-2,3-didesoxi-β-D-ribofuranosil)-5-metilpirimidina-2,4(1*H*,3*H*)-diona, calculado com referência à substância seca. Na temperatura de 25°C, apresenta-se como pó branco ou castanho pardo, fraco odor; sólido cristalino solúvel em etanol (96%). Algumas características físico-químicas do AZT são apresentadas na Tabela 2.4.

Tabela 2.4 - Principais propriedades físico-químicas e estrutura molecular plana da zidovudina (AZT)

Propriedades da zidovudina	valores	estrutura molecular
Massa Molecular	267,24	
Fórmula empírica	$C_{10}H_{13}N_5O_4$	
Faixa de fusão	120 e 122°C	
Solubilidade em água	25 $mg.mL^{-1}$	
UV máx	266,5 nm	
Polaridade $[(\alpha)]D_{25}$	+99°	

2.2.2 Farmacologia

O AZT é um análogo da timidina com atividade antiviral frente ao HIV-1 e HIV-2, o vírus linfotrópico T humano (ou da leucemia), HTLV-1, e outros retrovírus. Baixas concentrações (0,001 a 0,04 $g.mL^{-1}$) inibem a infecção aguda por HIV-1 em linhagens humanas de células T e em linfócitos sangüíneos periféricos. O AZT é menos ativo em monócitos e macrófagos humanos ou em células quiescentes, mas inibe a replicação do HIV em macrófagos cerebrais humanos (HULS, 1991).

2.2.3 Farmacocinética

O AZT é absorvido rapidamente e quase que totalmente pelo trato gastrintestinal após administração oral. Entretanto, devido à rápida biotransformação e eliminação pré-sistêmica, a

biodisponibilidade sistêmica do fármaco, em cápsulas, comprimidos e xaropes é em torno de 67%, como mostra a Tabela 2.5. A absorção varia amplamente nos pacientes infectados por HIV. A administração com alimentação altamente gordurosa pode diminuir a velocidade e a extensão da absorção (GOODMAN, 1996).

O AZT atravessa a barreira hematoencefálica. A distribuição no líquido céfalo-raquidiano é de aproximadamente 50% da concentração plasmática, em adultos, e 24% nas crianças, 4 horas após a administração. O AZT atravessa a placenta e alcança, no feto, níveis plasmáticos semelhantes àqueles observados no adulto. Concentrações semelhantes têm sido encontradas no líquido amniótico de fetos de 1-3 semanas gestacionais. Entretanto, a concentração de AZT no sistema nervoso central fetal está abaixo das concentrações antivirais eficazes. O AZT concentra-se no sêmen de pacientes HIV-infectados, em concentrações que variam entre 1,3 e 20,2 vezes àquelas do plasma. A ligação do AZT às proteínas plasmáticas é de cerca de 30 a 38% (Tabela 2.5).

Tabela 2.5 - Parâmetros farmacocinéticos do AZT*

Parâmetros	Valores
Biodisponibilidade oral	60 a 70 %
Efeito das refeições sobre a ASC**	(24% gorduras elevadas)
Meia vida de eliminação plasmática	0,9 a 1,5 h
Meia-vida de eliminação intracelular do trifosfato de AZT	3 a 4 horas
Relação líquido cefalorraquidiano/plasma	0,3 a 0,5
Ligação a proteínas	20 a 38 %
Biotransformação	Glicuronidação
Excreção renal (fármaco)	15 %
Ajustes da dose	CLCR(10; insufic.hepática)

* Fonte: Goodman, 1996.

** Área sob a curva de conc. plasmática *versus* tempo (ASC)

A biotransformação do AZT ocorre, principalmente, por glicuronidação hepática, sendo convertido em seu metabólito 5'-O-glicuronídeo, que é inativo (GOODMAN, 1996). Um outro metabólito, a 3'-amino-3'-desoxitimidina, está presente em baixas concentrações no plasma e possivelmente contribui para a mielotoxicidade do AZT (STAGG *et al.*, 1992). A capacidade de conjugação do glicuronídeo é pouco desenvolvida no recém-nascido. Entretanto, estudos

desenvolvidos em crianças com mais de 30 dias de nascimento demonstraram que o *clearance* (taxa de depuração, ou seja, biotransformação + eliminação) e a meia-vida do AZT são compatíveis com aqueles do adulto. Em adultos, com função renal normal, a meia-vida do AZT por via oral é de cerca de 1 hora (variação 0,8 - 1,2 horas). Com função renal reduzida (*clearance* de creatinina ≤ 30 $mL.min^{-1}$), a meia-vida aumenta para valores entre 1,4 e 2,9 horas. Na cirrose, sua meia-vida é de aproximadamente 2,4 horas. Em crianças (1 mês a 13 anos) a meia-vida é de 1 a 1,8 horas. O metabólito principal GAZT, em adultos com função renal normal, apresenta meia-vida de 1 hora e, com função renal comprometida, de 0,8 horas; na anúria a meia-vida aumenta para valores entre 2,4 e 9,4 horas (VEAL *et al.*, 1995).

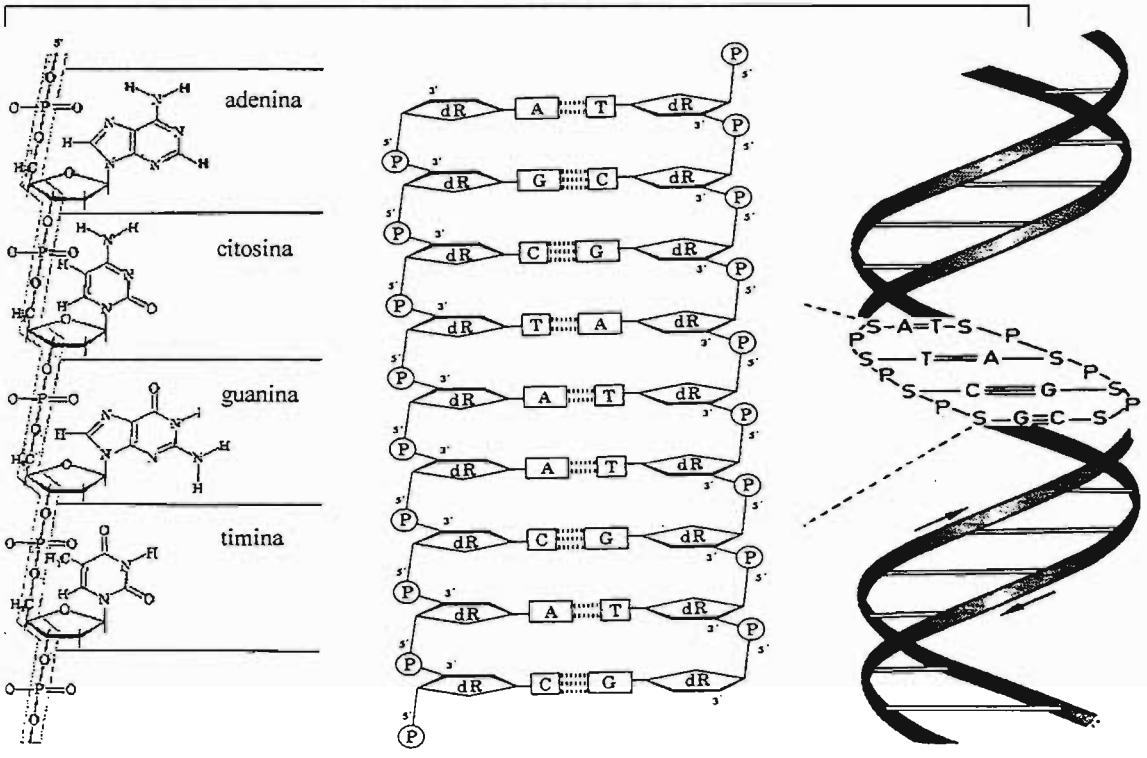
O AZT leva, em média, 1 hora para iniciar sua ação terapêutica e 0,5 a 1,5 horas para atingir a concentração sérica máxima. A ação em concentrações terapêuticas prolonga-se por cerca de 4 horas. Cerca de 14 a 18% do fármaco é rapidamente excretado na urina pela filtração glomerular e secreção tubular ativa, em adultos. Aproximadamente 60 a 74% do GAZT são excretados pela urina. A soma AZT + GAZT mostra 60 a 95% dos produtos eliminados por meio da urina. Estudos preliminares mostraram que a hemodiálise e a diálise aumentam a eliminação do GAZT. Em crianças (14 meses a 12 anos), 30% do AZT são eliminados via renal e 45% do GAZT são excretados na urina.

2.2.4 Farmacodinâmica

Baixas concentrações (0,01 a 0,04 $g.mL^{-1}$) inibem a infecção aguda por HIV-1 em linhagens humanas de células T e em linfócitos sanguíneos periféricos. Após a difusão para células hospedeiras, o fármaco é inicialmente fosforilado pela timidinaquinase celular. A etapa que limita a velocidade é a conversão em difosfato pela timidilatoquinase, de modo que estão presentes nas células altos níveis de monofosfatos, mas níveis muito menores de difosfato e trifosfato. O trifosfato de AZT, que possui meia-vida de eliminação intracelular em torno de 3 a 4 horas, inibe competitivamente a transcriptase reversa em relação ao trifosfato de timidina (TTP) (PETER *et al.*, 1998). Como o agrupamento 3'-azido impede a formação de ligações 5',3'-fosfodiéster, a incorporação de AZT gera interrupção da cadeia de DNA (Figura 2.4). O monofosfato de AZT também é um inibidor competitivo da timidilatoquinase celular e gera redução dos níveis intracelulares de TTP. É possível que esse efeito contribua para a citotoxicidade e exacerbe seus efeitos antivirais mediante redução da competição pelo trifosfato de AZT. A afinidade do AZT pela

transcriptase reversa do retrovírus é cerca de 100 a 300 vezes maior que pela alfa-DNA polimerase humana, o que permite a inibição seletiva da replicação viral sem bloquear a replicação celular.

Mecanismo de Replicação Celular Normal



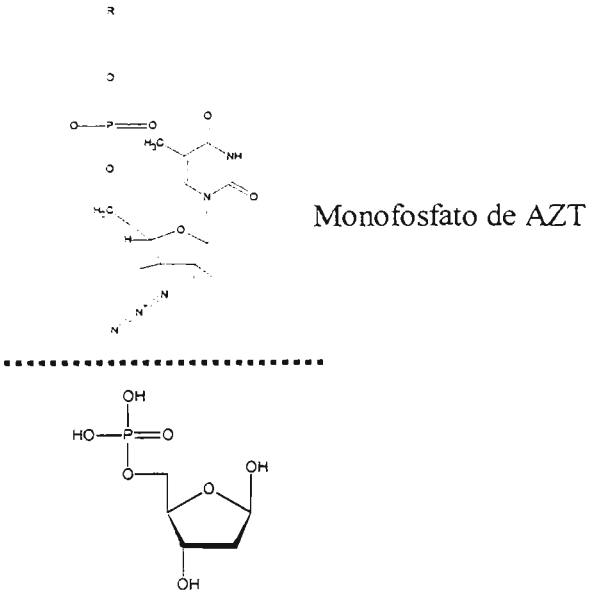


Figura 2.4 - Processo de replicação do DNA e mecanismo de inibição da replicação viral promovida pela zidovudina

2.2.5 Contra-indicações

O AZT é contra-indicado em pacientes que, potencialmente, apresentem hipersensibilidade ao fármaco. Não deve ser administrado a pacientes com baixa contagem de neutrófilos (menos que $0,75 \times 10^9.L^{-1}$), ou níveis anormais de hemoglobina (menos de $7,5\ g.dL^{-1}$).

2.2.6 Efeitos colaterais e reações adversas

Os principais efeitos tóxicos do AZT são granulocitopenia e anemia. A anemia comumente torna-se significativa após 4 a 6 semanas de tratamento. Os sintomas relacionados com a anemia são: palidez, cansaço e fraqueza. O risco de toxicidade hematológica aumenta quando as contagens de CD4 são menores na doença mais avançada, com doses maiores de AZT e na terapia prolongada. Nas doses atualmente recomendadas, ocorrem anemia e granulocitopenia graves em cerca de 30 a 40% dos pacientes com AIDS, porém menos de 5% naqueles infectados assintomáticos. Em mais de 90% dos pacientes ocorre macrocitose e esse fato não é indicativo de anemias que impliquem necessidade de transfusão.

Cefaléias intensas, náuseas, vômitos, insônia e mialgia ocorrem comumente no início da terapia com o AZT, mas esses sintomas muitas vezes diminuem com a persistência do uso. Outros efeitos colaterais incluem pigmentação ungueal, miopatia, neurotoxicidade e, raramente, hepatite, ulceração esofagiana ou edema macular. A miopatia ocorre com o uso prolongado do AZT e costuma desaparecer lentamente após a suspensão do fármaco. Também foram descritas acidose láctica grave e hepatomegalia com esteatose.

Constataram-se anemia e retardo de crescimento em crianças tratadas com AZT, porém não houve aumento no índice de defeitos congênitos. Entretanto, sua segurança na gestação ainda não foi plenamente definida. O AZT é mutagênico *in vitro* e mostra-se embriotóxico em animais.

2.2.7 Toxicidade

Intolerância gastrintestinal, insônia, mialgia, disgeusia, astenia, mal-estar e/ou cefaléia foram observados em 76% dos indivíduos sadios submetidos a teste de toxicidade, tomando 1.000 mg/dia, sendo considerado suficientemente grave para que 31% suspendesse o seu uso.

2.3 PERSPECTIVAS PARA O TRATAMENTO ANTI-RETROVIRAL

Expressivo número de novos fármacos está em desenvolvimento e poderá oferecer potencial benefício aos pacientes que já esgotaram as possibilidades terapêuticas correntes. A combinação dos agentes já existentes e a incorporação desses novos fármacos têm o intuito de conseguir supressão viral mais efetiva e por período maior, principalmente, levando-se em consideração que existindo rebote na carga viral, pode-se levar ao aparecimento de resistência viral e diminuição da probabilidade de que novos agentes sejam eficazes no futuro (DE CLERCQ, 2001; FEIGAL, 1998).

Embora, nos últimos anos, os progressos no combate ao HIV tenham sido reais, agora estão começando a ser avaliadas as limitações destes atuais tratamentos anti-retrovirais. Os medicamentos disponíveis até o momento ainda carecem de aperfeiçoamento, particularmente nos aspectos relacionados à resistência, toxicidade, aderência do paciente e interações medicamentosas.

Descobertas terapêuticas futuras provavelmente dependerão da identificação de novos alvos moleculares do vírus. Uma das áreas de investigação de especial interesse é a terapia por inibição de genes. Caso seja comprovado que esse tipo de terapia seja possível em seres humanos, é possível que essa abordagem não só iniba a replicação ativa, como também erradique infecções virais latentes. Abordagens interessantes a respeito da terapia genética incluem a expressão de proteínas que sofreram mutações, atuando como inibidores transdominantes e a expressão intracelular de fragmentos de anticorpos contra proteínas virais cruciais. Outras observações com potencial de utilidade envolvem agentes que reforçam as respostas imunopatológicas do hospedeiro ou imunoterapias específicas para o vírus com a finalidade de suplementar as respostas do hospedeiro (STEVEN *et al.*, 1997).

Diversos estudos vêm sendo realizados visando aos pacientes cujas opções terapêuticas mostram-se esgotadas. Nesses casos, estão sendo realizados alguns estudos utilizando mais de cinco anti-retrovirais concomitantemente. Essa opção terapêutica foi proposta inicialmente por STASTEWSKI e avaliada por MONTAGNIER, sendo denominada por "Mega-HAART", e sua eficácia vem sendo demonstrada por alguns estudos. Embora respostas satisfatórias de curta duração tenham sido observadas em vários pacientes, existem vários problemas potenciais relacionados a esse tipo de tratamento, ou seja, interações potenciais entre os fármacos, intolerância, efeitos colaterais freqüentes e dificuldade de identificação do fármaco potencialmente mais ativo.

Recentemente, MONTAGNIER *et al.* apresentaram alguns resultados da experiência que vem sendo realizada em Vancouver com o "Mega-HAART" ou tratamento de resgate com

múltiplos fármacos. Esses estudos já foram realizados pelo grupo de pesquisa em 98 pacientes amplamente tratados e com posterior falha terapêutica. Nesses estudos foram utilizados esquemas com até nove fármacos, valendo ressaltar que essa terapia só pode ser prescrita em casos de esgotamento total de combinações.

A forma de tratamento atualmente realizada no Brasil é baseada nas recomendações para terapia anti-retroviral em adultos e adolescentes infectados pelo HIV, publicado pelo Ministério da Saúde em julho de 1999, de acordo com o Consenso Médico sobre AIDS. Esse documento foi elaborado por 23 especialistas de várias regiões do país com o objetivo de sugerir condutas que facilitem a prática diária do uso de anti-retrovirais.

2.4 CONCLUSÃO

As perspectivas em torno das pesquisas direcionadas ao aperfeiçoamento e desenvolvimento de novas terapias antivirais são bastante promissoras. Terapias antivirais mais satisfatórias advirão da identificação de agentes com melhores propriedades farmacocinéticas, maior potência e/ou perfis de toxicidade mais favoráveis comparativamente aos fármacos já existentes, e ao desenvolvimento de medicamentos que não apresentem tantas alterações no dia-a-dia do paciente (aumentando a adesão). Novas técnicas de administração de fármacos que melhorem as propriedades farmacocinéticas ou que visem a tecidos específicos também têm sido alvo de estudo. A utilização de pró-fármacos para aumentar a absorção e/ou evitar a degradação do composto original vem recebendo especial atenção no desenvolvimento farmacotécnico.

2.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMATO NETO,V. **AIDS na prática médica**. São Paulo: Sarvier, 1996. p.126-136.

ARAÚJO, A.A.S., MENEZES, I.R.A., ALVES, A.J. Terapêutica anti-retroviral: situação atual e perspectivas da quimioterapia de combate ao HIV/AIDS. **Revista Cadernos do Centro Universitário São Camilo**, São Paulo, v. 8, n. 2, p. 96-108, 2002.

BARTLETT, J.G. **Tratamento clínico da infecção pelo HIV**. Rio de Janeiro: Viterbo's Computação Gráfica, 1999.

BARRY, M., GIBBONS, S., BACK, D., MULCAHY, F. Protease inhibitors in patients with HIV disease. **Clin. Pharmacokinet.**, Auckland, v.32, n.3, p.194-209, 1997.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Políticas da Saúde. Coordenação Nacional de DST e AIDS. **AIDS: etiologia, clínica, diagnóstico e tratamento**. Brasília: Ministério da Saúde, 1999. p.1-22.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Políticas da Saúde. Coordenação Nacional de DST e AIDS. **Terapia anti-retroviral e saúde pública: um balanço da experiência brasileira**. Brasília: Ministério da Saúde, 1999. p.1-32.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Políticas da Saúde. Coordenação Nacional de DST e AIDS. Contagem de células TCD4+ e testes de carga viral: principais marcadores laboratoriais para indicação e monitorização do tratamento anti-retroviral. **J. Bras. Doenças Sex. Transm.**, Rio de Janeiro, v.11, n.1, p.33-35, 1999.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Políticas da Saúde. Coordenação Nacional de DST e AIDS. **Boletim Epidemiológico HIV/AIDS-2002**. Brasília: Ministério da Saúde, 2002, p.1-15.

CASTILHO, E.A, BASTOS, F.I. Aids (1981-97): o rastro da tormenta. **Rev. USP**, São Paulo, v.33, p.7-19, 1997.

CLORET, B., RUIZ, L., ROMEU, J., PICADO, J.M., SCHMIT, J.C., VANDAMME, A.M., BALAGUÉ, M., CABRERA, C., PUIG, T., TURAL, C., SEGURA, A., SIRERA, G., CLERC, E. Efficacy of triple combination therapy with zidovudine (ZDV) plus zalcitabine (ddC) plus lamivudine (3TC) versus double (ZDV+3TC) combination therapy in patients previously treated with ZDV+ddC. **AIDS**, Hagerstown, v.10, n.14, p.61-66, 1996.

COLLIER, A.C., COOMBS, R.W., SCHOENFELD, D.A. Treatment of human immunodeficiency virus infection with saquinavir, zidovudine and zalcitabine. **N. Engl. J. Med.**, Waltham, v.334, p.1011-1017, 1996.

DE CLERCQ, E. New developments in anti-HIV chemotherapy. **Farmaco**. Amsterdam. v.56. p.3-12. 2001.

DURANT, J.. CLEVENBERGH, P., HALFON, P., DELGIUDICE, P., PORSIN, S., SIMONET. P., MONTAGNE. N.. BOUCHER. C.A.B.. SCHAPIRO. J.M.. DELLAMONICA. P. Drug-resistance genotyping in HIV-1 therapy: the viradapt randomised controlled trial. **The Lancet**, New York, v.353, p. 2195-2199. 1999.

FEIGAL, E.G. AIDS-associated malignances: research perspectives. **Biochim. Biophys. Acta**, Amsterdam, v.1423. p.C1-C9. 1998.

FISCHL, M.A., STANLEY, K., COLLIER, A.C., ARDUIRE, J.M., STEIN, D.S., FEINBERG, J.E., ALLAN, J.D., GOLDSMITH, J.C., POWDERLY, W.C. Combination and monotherapy with zidovudine and zalcitabine in patients with advanced HIV disease. **Ann. Intern. Med.**, Philadelphia. v.122, p.24-32. 1995.

GALLANT, J.E. Tratamento para o paciente previamente tratado. **Hopkins HIV Rep.**, Baltimore. v.11, n.5, p.6-7. 1999.

GULICK. R.M., MELLORS. J.W., HAVLIR, D. Treatment with indinavir, zidovudine. and lamivudine in adults with human immunodeficiency virus infection and prior antiretroviral therapy. **N. Engl. J. Med.**, Waltham, v.337, p.734-739, 1997.

GALLO. R.C., SARIN. P.S., GELMANN, E.P., ROBERT-GUROFF, M., RICHARDSON. E., KALYANARAMAMV. S., MANN. D., SIDHU. G.D., STAHLR. E., ZOLLA-PAZZNE. S., LEIBOWITCH. J., POPOVIC. M. Isolation of human T-cell leukemia virus in acquired immune deficiency syndrome (AIDS). **Science**. Washington. v.220. p.865-867. 1983.

GALLO, R.C. **Caça ao vírus: AIDS – Câncer e Retrovírus Humano.** São Paulo: Siciliano. 1994. p. 344.

GOODMAN, L.S., GILMAN, A., HARDMAN, J.G. **As bases farmacológicas da terapêutica**. 9.ed. Rio de Janeiro: Macgraw-Hill Interamericana. 1996.

HAVLIR, D.N., RICHMAN, D.D. Antiretroviral therapy. **Curr. Opin. Infect. Dis.**, London, v.8, p.66-73, 1995.

HIRSCH, M.S., DÁQUILA, R.T. Therapy for human immunodeficiency virus infection. **N. Engl. J. Med.**, Waltham, v.328, p.1686-1695, 1993.

HORWITZ, J.P., CHAU, J., NOEL, M. Nucleosides.5.monomesylates of [1,2]-deoxy-beta-D-lyxofuranosyl-thymine. **J. Org. Chem.**, Columbus, v.29, p.2076, 1964.

HULS, C. Zidovudine, related agents, and AIDS. **NARD J.**, Chicago, v.113, p.73-77, 1991.

MILLER, J.L. New products and research bring guarded optimism, new questions about AIDS therapy. **Am. J. Health-Syst. Pharm.**, Bethesda, v.53, n.15, p.2129-2132, 1996.

MITSUYA, H., WEINHOLD, K.J., FURMAN, P.A., STCLAIR, M.H., LEHRMAN, S.N., GALLO, R.C., BOLOGNESI, D., BARRY, D.W., BRODER, S. 3′-azido-3′-deoxythymidine9BW A09U0- an antiviral agent that inhibits the infectivity and cytopathic effect of human lymphotropic-T virus type III lymphadenopathy-associated virus *in vitro*. **Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.**, Washington, v.82, n.20, p.7096, 1985.

MOLLA, A., GRANNEMAN, R., SUN, E., KEMPF, D.J. Recent developments in HIV protease inhibitor therapy. **Antiviral Res.**, Amsterdam, v.39, p.1-23, 1998.

MONTAGNIER, L., BARRE-SINOUSSI, F., CHERMANNJ, C., REY, F., NUGEYRE, M.T., CHAMARET, S., GRUEST, J., DAUGUET, C., AXLER-BLIN, C., VEZINET-BRUN, F., ROZINOUX, C., REZENBAUM, W. Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS). **Science**, Washington, v.220, p.868-8671, 1983.

NOBLE, T.A. Zidovudine AIDS therapy approved by FDA. **Palmetto Pharm.**, Springfield, v.26, p.13-16, 1987.

OSTERTAG, W., ROSELER, G., KRIEG, C.J., KIND, J., COLE, T., CROZIER, T., GAEDICKE, G., STEINHEIDER, G., KLUGE, N., DUBE, S. Induction of endogenous virus and thymine kinase by 7-bromodeoxyuridine in cell-cultures transformed by friend virus. **Proc. Natl. Acad. Sci.** U. S. A., Washington, v.71, p.4980, 1974.

PETER, K., GAMBERTOGLIO, J.G. Intracellular phosphorylation of zidovudine (ZT) and other nucleoside reverse transcriptase inhibitors (RTI) used for human immunodeficiency virus (HIV) infection. **Pharm. Res.**, New York, v.15, n.6, p.819-825, 1998.

SANDE, M.A., GILBERT, D.N., MOELLERING, R.C.J. **The Sanford: guia para o tratamento da AIDS/HIV.** 7.ed. Rio de Janeiro: EPUC, 1998. p.15-18.

SPRINZ, E., FINKELSZTEJN, A. **Rotinas em HIV e AIDS**. Porto Alegre: Artes Médicas Sul, 1999. p.1-44.

STAGG, M.P., CRETTON, E.M., KIDD, L., DIASIO, R.B., SOMMADOSSI, J.P. Clinical pharacokinetics of 3′-azido-3′-deoxythymidine (zidovudine) and catabolites with formation of a toxic catabolite, 3′-amino-3′-deoxythymidine. **Clin. Pharmacol. Ther.**, Saint Louis, v.51, p.668-676, 1992.

STEVEN, M.S., PETTINELLI, C.B. **Strategies and progress in the development of antiretroviral agents.** *In.* DeVITA Jr., V.T., HELLMAN, S., ROSENBERG, S.A. AIDS: Biology, Diagnosis, Treatment and Prevention, Philadelphia, Lippincott-Raven Published, c.21, p.467-475, 1997.

VEAL, G.J., BACK, D.J. Metabolism of zidovudine. **Gen. Pharmacol.**, New York, v.26, p.1469-1475, 1995.

VOLBERDING, P.A., DEEKS, S.G. Tratamento anti-retroviral da infecção pelo HIV: promessas e problemas. **JAMA Brasil**, São Paulo, v.2, n.10, p.1531-1534, 1998.

CAPÍTULO III

Estabilidade térmica e caracterização dos produtos intermediários sólidos e voláteis da decomposição do AZT

Neste capítulo é feita uma breve introdução aos métodos termoanalíticos. Com este intuito, buscou-se descrever seus aspectos gerais, enfatizando a aplicação da análise térmica diferencial, da calorimetria exploratória diferencial e da termogravimetria, aplicados ao estudo da estabilidade térmica e caracterização de fármacos e insumos. Estão apresentados, também, os resultados obtidos no estudo de estabilidade térmica e caracterização dos produtos intermediários sólidos e voláteis da decomposição da zidovudina. Sendo assim, este capítulo serve como ponto de partida para o entendimento de todos os capítulos seguintes.

"Onde há dúvida, há liberdade"

Provérbio latino

3.1 INTRODUÇÃO

O termo análise térmica refere-se a um grupo de técnicas nas quais uma propriedade física de uma substância e/ou de uma reação é medida como função do tempo ou da temperatura enquanto a substância é submetida a um programa controlado de temperatura (WENDLANDT, 1986). A termogravimetria/termogravimetria derivada (TG/DTG), a análise térmica diferencial (DTA) e a calorimetria exploratória diferencial (DSC) são as técnicas termoanalíticas mais difundidas e empregadas para o desenvolvimento de diferentes estudos e aplicações a grande variedade de materiais (OZAWA, 2000). No entanto, outras técnicas para medida de outras propriedades podem ser empregadas. A Tabela 3.1 apresenta as propriedades físicas medidas em análise térmica, técnica derivada e as abreviaturas recomendadas pela Confederação Internacional de Análise Térmica e Calorimetria (ICTAC), para identificá-las.

Tabela 3.1 - Propriedades físicas medidas em análise térmica, técnica derivada e abreviaturas

Propriedade Física	Técnica (s) Derivada (s)	Abreviatura
Massa	Termogravimetria	TG
	Determinação isobárica de variação de massa	
	Detecção de gás desprendido	
	Análise de gás desprendido	
	Análise térmica por radioemanação	EGD
	Análise por produção térmica de partículas	EGA
Temperatura	Determinação da curva de aquecimento	
	Análise Térmica Diferencial	DTA
Entalpia	Calorimetria Exploratória Diferencial	DSC
Dimensões	Termodilatometria	TD
Características Mecânicas	Análise Termomecânica	TMA
	Termomecanometria Dinâmica	DMA
Características acústicas	Termossonimetria e Termoacústica	TS
Características ópticas	Termoptometria	
Características elétricas	Termoeletrometria	
Características magnéticas	Termomagnetometria	TM

(Fonte: GIOLITO & IONASHIRO, 1980)

Nos últimos anos, a formação de novos pesquisadores e o crescente número dos que utilizam análise térmica em suas pesquisas, associados aos fabricantes desses instrumentos, ampliou a utilização dessas técnicas. Atualmente, diversas universidades, centros de pesquisas e indústrias já dispõem de equipamentos, que estão sendo utilizados como importantes ferramentas de pesquisa no desenvolvimento de novos produtos e no controle de qualidade.

3.1.1 Análise térmica diferencial (DTA)

A análise térmica diferencial é a técnica na qual a diferença de temperatura (ΔT) entre a substância e o material de referência (termicamente inerte) é medida em função da temperatura, enquanto a substância e o material de referência são submetidos a uma programação controlada de temperatura (WENDLANDT, 1986; CAMMENGA & EPPLE, 1995). As variações de temperatura na amostra são devidas às transições entálpicas ou reações, conhecidas como endotérmicas ou exotérmicas. A curva DTA representa os registros de ΔT em função da temperatura (T) ou do tempo (t), de modo que os eventos são apresentados na forma de picos (WENDLANDT, 1986). Os picos ascendentes caracterizam os eventos do tipo exotérmicos, enquanto os descendentes, os endotérmicos, segundo convenção. As áreas sob os picos estão relacionadas com as energias envolvidas nas reações químicas ocorridas durante o ensaio térmico. As alterações de temperatura da amostra são decorrentes de transformações de fase, reações no estado sólido, decomposições, reações de superfície com certos gases e transições de segunda ordem.

3.1.2 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

DSC é a técnica na qual se mede a diferença de energia fornecida à substância e a um material de referência, termicamente inerte, em função da temperatura, enquanto a substância e a referência são submetidas a uma programação controlada de temperatura (GIOLITO & IONASHIRO, 1980). De acordo com o método de medição utilizado, há duas modalidades: o DSC com compensação de potência e o DSC com fluxo de calor (Figura 3.1).

No DSC com compensação de potência, a amostra e referência são aquecidas em compartimentos distintos, tornando possível manter a amostra e a referência em condições isotérmicas. Neste caso, se a amostra sofre alterações de temperatura devido a um evento

endotérmico ou exotérmico em função do aquecimento ou resfriamento, ocorre uma modificação na potência de entrada do forno correspondente, de modo a se anular esta diferença (WENDLANDT, 1986). No DSC com fluxo de calor, a amostra e a referência são colocadas em cápsulas idênticas, localizadas sobre um disco termoelétrico de *constantan**, e aquecidos por uma única fonte de calor.

Assim, o calor é transferido através do disco para a amostra e a referência, onde o fluxo de calor diferencial entre os dois é controlado por termopares conectados abaixo das cápsulas. Dessa forma, a diferença no fluxo de calor da amostra e da referência é diretamente proporcional à diferença de potência das junções dos termopares (WENDLANDT, 1986).

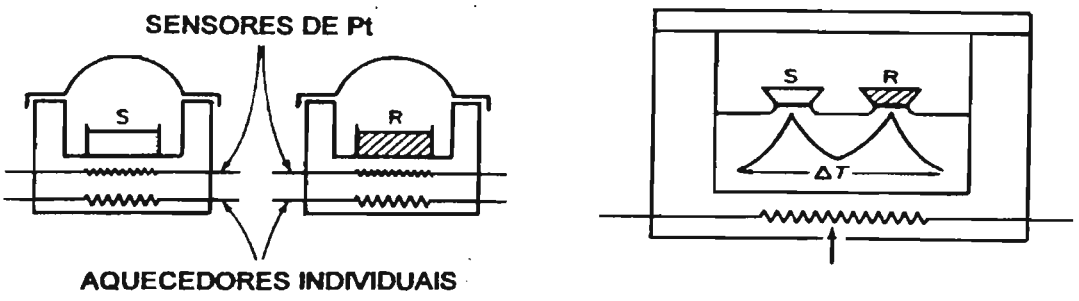


Figura 3.1 - Ilustração dos modos DSC de compensação de potência (a) e de fluxo de calor (b)

A grande diferença nos dois modos de DSC consiste na apresentação dos resultados. No DSC com compensação de potência foi adotada a convenção da termodinâmica, em que um evento endotérmico ($\Delta H>0$) é caracterizado por um pico ascendente na curva DSC, enquanto no DSC com fluxo de calor esse mesmo evento é representado na curva DSC por um pico descendente (WENDLANDT, 1986; BROW, 1988). Em relação à DTA, pode-se dizer que a técnica de DSC com fluxo de calor é similar, uma vez que foi desenvolvida a partir desta. A grande diferença em relação à DTA consiste na execução de medidas quantitativas, uma vez que a DSC com fluxo de calor possui uma resistência térmica bem definida, sendo adequado para esse tipo de medida (FORD & TIMMINS, 1989; HAINES, 1995).

A partir dos ensaios de DSC é possível detectar fenômenos físicos e químicos através da obtenção de curvas termoanalíticas, como descrito por WENDLANDT em 1986. Os principais fenômenos físicos que podem ser observados são: transição cristalina, fusão, vaporização, sublimação, adsorção, dessorção, absorção, transição ponto Curie, transição cristal-líquido, transição vítrea e capacidade calorífica (FERGUSON *et al.*, 2000; THOMPSON, 2000).

* Liga metálica constituída de cobre e níquel

Dentre os fenômenos químicos podem-se destacar: quimiossorção, dessolvatação, desidratação, decomposição, degradação oxidativa, oxidação em atmosfera gasosa, reações óxido-redução, reações em estado sólido, polimerização, pré-cura e reações catalíticas, entre outros.

As curvas termoanalíticas são obtidas através de determinadas condições experimentais, dentre as quais pode-se destacar: a programação de temperatura, o tipo de cápsula térmica, a massa de amostra, a atmosfera dinâmica e a vazão de gás, a razão de aquecimento. Essas condições devem ser efetuadas de forma criteriosa e mantidas ao longo de todo experimento, a partir do momento em que sejam adotadas como padrão. A validação do método proporciona alto grau de confiança e segurança no método analítico e na qualidade dos resultados, além de reduzir a probabilidade de falhas e necessidade de repetições de análise.

Quanto à calibração do DSC, esta é de suma importância para a validação e padronização do método analítico. Os equipamentos atuais, comandados por programas de computador, dispõem de mecanismos de cálculos capazes de compensar alterações de calibração por meio da aplicação de fatores que, multiplicados pelos valores experimentais obtidos, permitem a aquisição de dados corretos, isto é, de grande exatidão. Estes fatores de correção, também chamados de fatores de calibração, são obtidos por meio de ensaios de aferição realizados com substâncias padrões, cujos eventos térmicos são perfeitamente definidos. A ICTAC estabeleceu um conjunto de materiais de referência para calibração em análise térmica, que devem preencher os seguintes requisitos fundamentais: fornecer os meios de comparação e de calibração de qualquer instrumento e os meios que permitam relacionar os dados termoanalíticos com as propriedades físicas e químicas. Dentre estes materiais pode-se destacar o nitrato de potássio, perclorato de potássio, sulfato de prata, carbonato de estrôncio, cromato de potássio, índio e estanho (GIOLITO & IONASHIRO, 1980).

A Figura 3.2 mostra a curva DSC, referente ao aquecimento e resfriamento, de uma amostra de índio metálico obtida em equipamento de fluxo de calor. De acordo com esta curva é possível evidenciar um pico endotérmico com temperatura *onset* de 156,5°C referente ao processo de fusão do material. Calculando-se a área do pico observa-se um calor de fusão de 28,7 $J.g^{-1}$ ou 3291,5 $J.mol^{-1}$. Comparando-se esses valores aos valores tabelados (GIOLITO & IONASHIRO, 1980) de temperatura e calor de fusão do índio metálico (156,61°C e 28,71 $J.g^{-1}$, respectivamente), pode-se verificar a calibração do instrumento. Este procedimento tem por objetivo verificar se o equipamento está respondendo adequadamente às medidas de temperatura e fluxo de calor (quantidade). Nota-se, no resfriamento, o pico no sentido endotérmico, que caracteriza a cristalização do metal. Em se

tratando de uma substância pura, a entalpia de cristalização deve ser numericamente igual, porém as temperaturas envolvidas no processo fusão-cristalização são próximas.

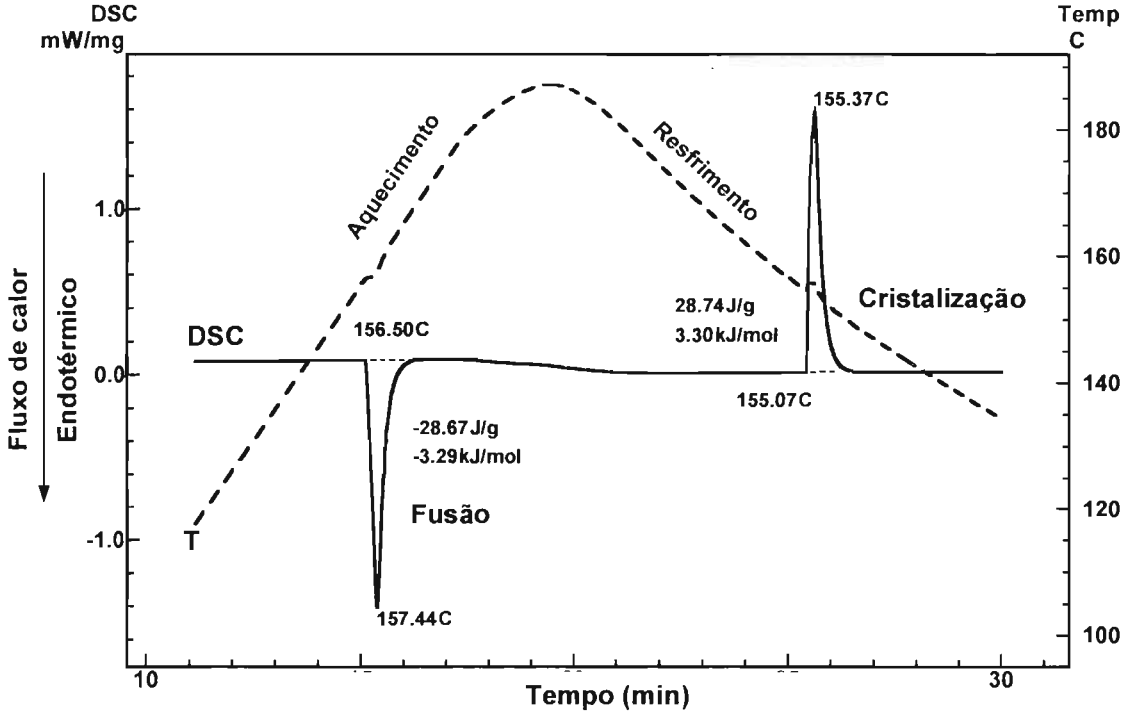


Figura 3.2 - Curva DSC de uma amostra de índio metálico, obtida na célula DSC de fluxo de calor, sob atmosfera dinâmica de nitrogênio (50 $mL.min^{-1}$)e razão de aquecimento de $10°C.min^{-1}$

3.1.3 Termogravimetria (TG) / Termogravimetria derivada (DTG)

A termogravimetria é a técnica de análise térmica em que a variação de massa da amostra (perda ou ganho) é determinada como uma função da temperatura e/ou tempo, enquanto a amostra é submetida a uma programação controlada de temperatura (GIOLITO & IONASHIRO, 1980). É importante observar que as técnicas termoanalíticas são complementares entre si no que diz respeito à avaliação do comportamento térmico dos materiais. Dentre os fenômenos físicos detectados por esta técnica podem-se destacar: desidratação, vaporização, sublimação, adsorção, dessorção e absorção. Em relação aos fenômenos químicos pode-se destacar: quimiossorção, dessolvatação, decomposição, degradação oxidativa, degradação redutiva, reações em estado sólido.

Os experimentos para se avaliar as variações na massa de um material em função da temperatura são executados através de uma termobalança (Figura 3.3), que deve permitir o trabalho sob variadas condições experimentais. As curvas geradas possibilitam obter informações quanto à

estabilidade térmica da amostra, à composição e à estabilidade dos compostos intermediários e produto final.

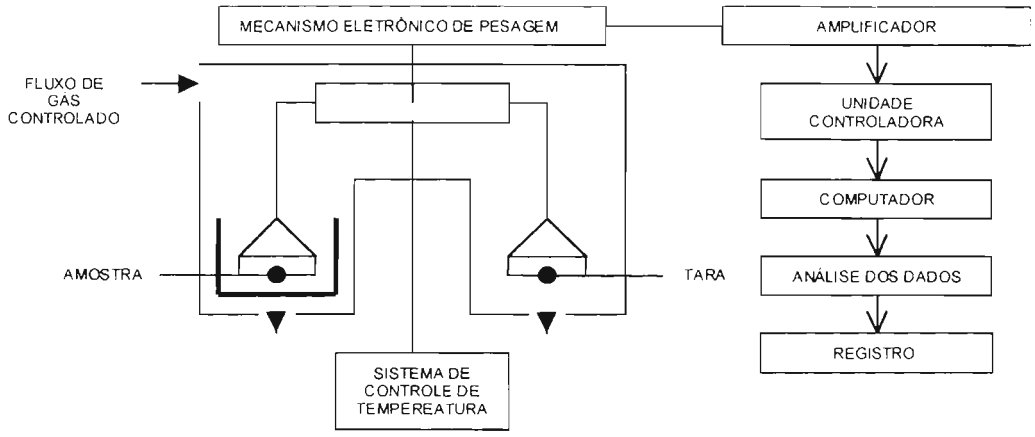


Figura 3.3 - Esquema representativo do sistema de termogravimetria (TG)

No método termogravimétrico convencional ou dinâmico, mais comumente empregado, são registradas as curvas de massa da amostra (m) em função da temperatura (T) ou do tempo (t):

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

Nessas curvas, os degraus em relação ao eixo de ordenadas correspondem às variações de massa sofridas pela amostra e permitem obter dados que podem ser utilizados com finalidades quantitativas.

Na DTG, a derivada da curva de variação de massa em função do tempo, *dm/dt*, é dada em função do tempo (t) ou temperatura (T). Em outros casos, a derivada da variação de massa com relação à temperatura, *dm/dT*, é registrada como função do tempo ou da temperatura. Nestes casos, a curva resultante é a derivada primeira da curva TG, em que série de picos é obtida em função das etapas de decomposição térmica. Um patamar horizontal na curva TG corresponde, também, a um patamar horizontal na curva DTG uma vez que $dm/dt = 0$. Um ponto de máximo na curva DTG é obtido quando a curva TG apresenta um ponto de inflexão em que a massa está sendo perdida mais rapidamente. A curva DTG, geralmente, apresenta as informações de forma visualmente mais acessível (maior resolução), além de permitir, a partir da altura do pico, a qualquer temperatura, obter a razão de Δm naquela temperatura, como também, permitir a pronta determinação da $T_{máx}$ (onde Δm ocorre mais rapidamente).

A Figura 3.4. ilustra, a partir das curvas TG/DTG, o processo de decomposição térmica de uma amostra de oxalato de cálcio monoidratado ($CaC_2O_4.H_2O$), que é uma substância padrão utilizada para verificar as condições da instrumentação. Observa-se, a partir das curvas TG/DTG, que os percentuais de variação de massa correspondente a cada etapa são concordantes com os valores calculados, isto é, 1ª. etapa (% de H_2O = 12,42), 2ª. etapa (% de CO = 19,32) e 3ª. etapa (% de CO_2 = 30,14).

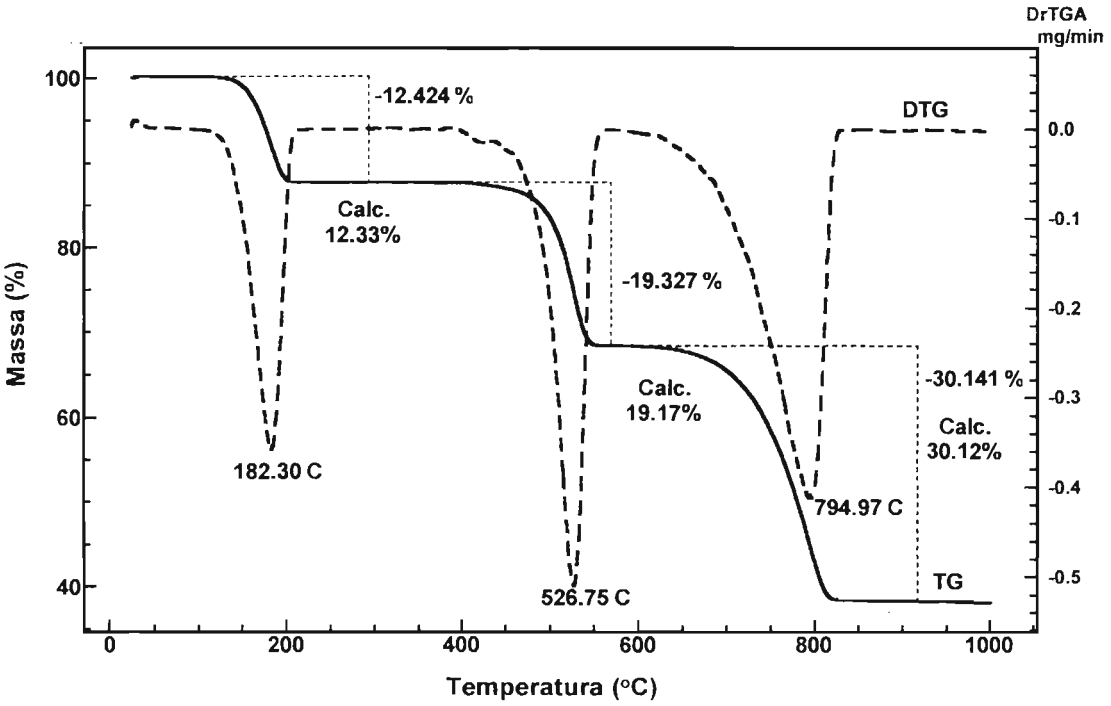


Figura 3.4 - Curvas TG/DTG obtidas sob atmosfera dinâmica de ar (50 $mL.min^{-1}$)e razão de aquecimento de 10°$C.min^{-1}$ de uma amostra de $CaC_2O_4.H_2O$

Dentre as principais características de uma termobalança moderna, pode-se destacar: sensibilidade, reprodutibilidade, insensibilidade a variações de temperatura ambiente, estabilidade eletro-mecânica e resposta rápida às variações de massa. Vale, ainda, ressaltar que nesta técnica diversos fatores relacionados com o instrumento e as características da amostra podem afetar os perfis das curvas TG/DTG e resultados, sendo os mais freqüentes a razão de aquecimento, a natureza da atmosfera, a vazão do gás, a massa de amostra, o tamanho das partículas, a cristalinidade, a geometria, a composição do cadinho e o calor de reação envolvido no processo.

3.1.4 Aplicações da análise térmica na área farmacêutica

O caráter inter e multidisciplinar dessas técnicas têm despertado o interesse dos pesquisadores e tecnólogos das mais diversas áreas da ciência aplicada (HAINES, 1995; HARDY, 1993). No campo das ciências farmacêuticas, as técnicas termoanalíticas vêm sendo utilizadas nos últimos 30 anos e o crescente interesse é evidenciado pela publicação do livro "*Pharmaceutical Thermal Analysis*" em 1989 (FORD & TIMMINS, 1989); pelo volume 248 de 1995 do periódico *Thermochimica Acta* com artigos dedicados, exclusivamente, a aplicações farmacêuticas, pelos artigos de revisão publicados em 1998 por Giron e também, pelo artigo de revisão sobre análise térmica publicado no *Analytical Chemistry* no mês de Julho de 1998 e 2000 (DOLLIMORE & LERDKANCHANAPORN, 1998; DOLLIMORE & PHANG, 2000), nos quais menciona-se o crescente número de artigos publicados nos últimos dois anos, assim como a grande atenção dedicada pela indústria farmacêutica para a aplicação das técnicas de análise térmica.

Sabendo-se que a zidovudina (3′-azido-3′-dideoxitimidina), ou simplesmente AZT, constituí molécula de suma importância para o combate ao HIV e tendo em vista a potencialidade das técnicas termoanalíticas aplicadas a fármacos e medicamentos, foi proposto um estudo visando avaliar a estabilidade térmica e caracterizar os produtos intermediários da decomposição do AZT. Nesse trabalho os dados de análise térmica foram suplementados pela análise elementar (C, H e N), espectroscopia de absorção na região do infravermelho (IV) e pela difração de raios X para identificar o AZT e os produtos intermediários sólidos da decomposição. A caracterização dos produtos voláteis gerados na decomposição térmica foi realizada a partir do sistema acoplado e simultâneo TG/DTA-GC/MS, que permitiu a obtenção de informações quanto à estrutura e auxiliou na identificação dos gases envolvidos no processo de decomposição térmica (ARAÚJO *et al.* 2003).

3.2. MATERIAIS E MÉTODOS

O padrão de AZT foi doado pela *United States Pharmacopeia* (USP), de acordo com a seguinte descrição: AZT (Número cat. 72450), grau de pureza 100%, lote: F, data 16/05/00, certificado oficial de garantia: 100-B.

As curvas DSC foram obtidas na faixa de temperatura entre 25 e 550°C, utilizando-se célula calorimétrica modelo DSC-50 da marca Shimadzu, sob atmosfera dinâmica de N_2 (50 $mL.min^{-1}$),

razão de aquecimento de $10^{o}C.min^{-1}$, utilizando cápsula de alumínio parcialmente fechada contendo aproximadamente 2 mg de amostra. A célula DSC foi calibrada e/ou verificada antes dos ensaios no eixo de temperatura utilizando padrões de índio ($T_{fusão}$ = 156,6°C) e zinco ($T_{fusão}$ = 419,5°C) metálicos com pureza de 99,99%. Para o fluxo de calor empregou-se o $\Delta H_{fusão}$ do índio metálico ($28,7\ J.g^{-1}$).

As curvas TG/DTG foram obtidas na faixa de temperatura entre 25 e 900°C, utilizando-se termobalança modelo TGA-50 da marca Shimadzu, sob atmosfera dinâmica de nitrogênio e em ar ($50\ mL.min^{-1}$), razão de aquecimento de $10^{o}C.min^{-1}$, utilizando cadinho de platina contendo massa de amostra em torno de 3 mg. Antes dos ensaios verificou-se a calibração do instrumento empregando-se uma amostra de oxalato de cálcio monoidratado conforme norma ASTM (E1582 – 93).

Os espectros de absorção na região do infravermelho (IV) foram obtidos em equipamento Bomem, no comprimento de onda de 400 a 4000 cm^{-1}, diluindo-se as amostras em KBr sob a forma de pastilha.

Os difratogramas de raios X do fármaco e dos compostos intermediários sólidos derivados do processo de decomposição térmica do AZT foram obtidos em equipamento de difração de raios X da marca Siemens, modelo D5000, com tubo de CuK_{α}, em intervalo de 3 a 65°, com passo de 0,05 (α) e tempo de passo de 1 segundo, utilizando o método do pó.

O teor de carbono, hidrogênio e nitrogênio foi determinado utilizando o equipamento *Elemental Analyser* 2400 CHN (Perkin-Elmer).

O sistema empregado na detecção e análise dos voláteis da decomposição térmica do AZT corresponde ao acoplamento das técnicas termoanalíticas simultâneas TG/DTG/DTA (modelo DTG-50H) com a cromatografia gasosa e a espectrometria de massas (GC/MS modelos GC-14B e QP-5000), ambos da marca Shimadzu. Este sistema permite que a análise seja realizada pelos modos, de acordo com a Figura 3.5. No primeiro modo, durante o processo de decomposição térmica, os voláteis liberados são levados diretamente para o detector de massa, enquanto que no segundo os voláteis vão para um tubo "trapeador", onde serão adsorvidos, antes de serem separados por uma coluna cromatográfica e detectados pelo espectrômetro de massa.

No presente estudo, estabeleceu-se o modo TG/DTA-GC/MS. Para a determinação dos voláteis provenientes da decomposição térmica do AZT foram utilizadas massas de amostras em torno de 2 mg, na faixa de temperatura de 25 a 900°C, empregando razão de aquecimento de $20°C.min^{-1}$, sob atmosfera inerte de He ultra puro (99,999%) à vazão de $50\ mL.min^{-1}$.

Os voláteis liberados foram conduzidos por uma interface, mantida a 250°C, até o tubo "trapeador", o qual está empacotado com adsorvente o tipo Tenax TA (60/80 mesh), recoberto por uma unidade de resfriamento contendo gelo seco para facilitar a adsorção dos voláteis. Ao término do processo térmico, a unidade de dessorção libera os voláteis que são, imediatamente, levados por um gás de arraste à vazão contínua (He, 50 $mL.min^{-1}$) para a coluna cromatográfica. A coluna utilizada é do tipo empacotada, contendo também, como adsorvente, o Tenax (60/80 mesh), onde os compostos são separados, à vazão do gás de arraste de 30 $mL.min^{-1}$, por ordem crescente do ponto de ebulição.

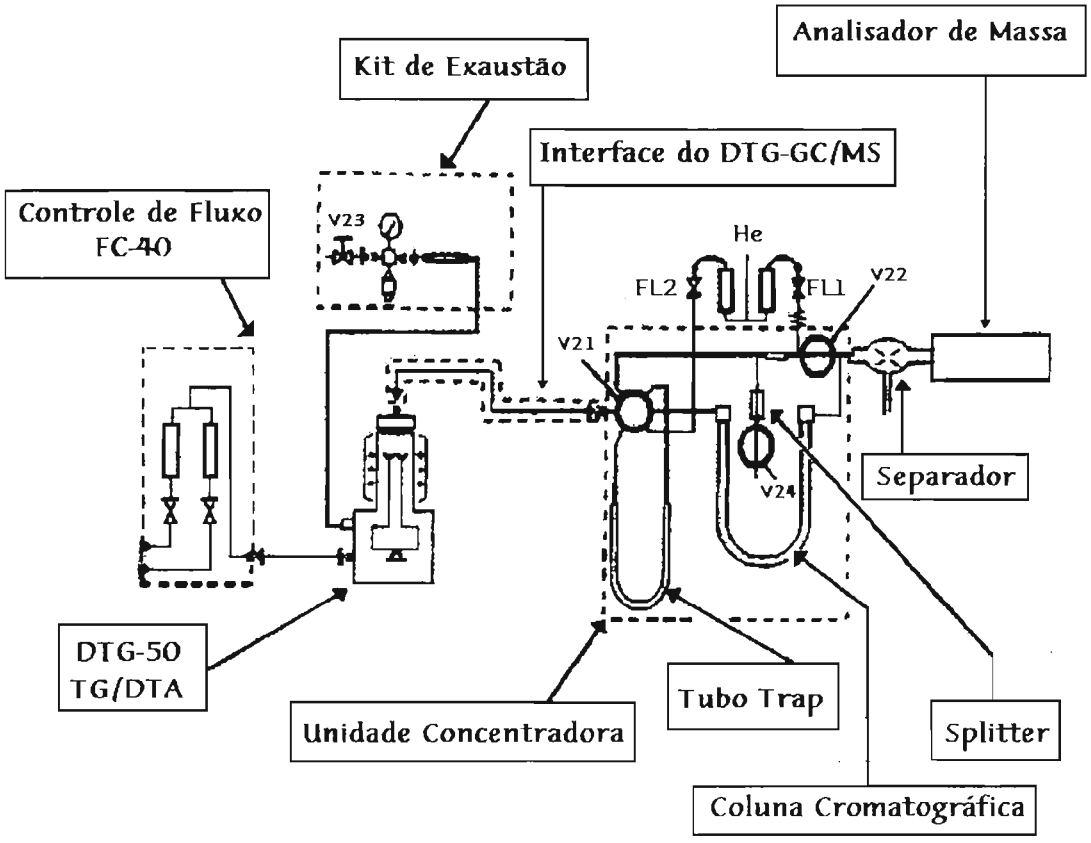


Figura 3.5 - Representação esquemática do sistema TG/DTA-GC/MS

O cromatógrafo obedeceu a seguinte programação controlada de temperatura: $T_{inicial}$ de 80°C, isoterma de 3 minutos, com razão de aquecimento de 20°C.min^{-1} até T_{final} de 300°C, isoterma de 7 minutos. Após separação na coluna cromatográfica, os voláteis foram conduzidos para uma fonte de íons, onde, através de um processo de impacto de elétrons de alta energia (70 eV), são gerados íons

positivos e negativos. Os íons formados são acelerados em direção ao analisador de massas, nesse caso um filtro quadrupolar, no qual as partículas carregadas são separadas de acordo com a relação m/z e direcionadas para um sistema de detecção de íons, geralmente uma multiplicadora de elétrons. Com isso, utilizando um programa de computação denominado Class-500, instalado na estação de tratamento de dados dessa instrumentação, obteve-se como resultados os respectivos espectros de massa dos compostos presentes no material condensado no *trap*, oriundo da amostra.

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.3.1 Estudo termoanalítico, obtenção e caracterização dos intermediários sólidos

A curva DSC do AZT (Fig. 3.6) mostra um primeiro evento endotérmico, na faixa de temperatura entre 115 e 135°C (ΔH=27,8 kJ.mol^{-1}), característico do processo de fusão do fármaco. A partir da temperatura de 160°C, observou-se o início do processo de decomposição térmica do AZT, sendo este dividido em duas etapas: a primeira exotérmica e a segunda endotérmica. A etapa exotérmica ocorreu na faixa de temperatura entre 160 e 260°C, apresentando um valor de entalpia em torno de 268,8 kJ.mol^{-1} e temperatura de pico em 234°C. A etapa posterior, endotérmica, pode ser observada na faixa de temperatura entre 280 e 360°C (ΔH=44,3 kJ.mol^{-1}), e é indicada por dois picos na curva DSC nas temperaturas de 260 e 303°C.

Enquanto a curva DSC mostra um evento endotérmico em 123°C, característico da fusão do fármaco, nas curvas TG/DTG observa-se um patamar até ~180°C, indicando que até essa temperatura o AZT é termicamente estável. A partir de 180°C são observados, basicamente, três eventos de perda de massa. O primeiro ocorre entre 177 e 245°C e Δm=51,2%. O segundo evento ocorre entre 245 e 345°C e Δm=20,3% (Fig. 3.6). Após este evento a decomposição térmica se processa lentamente entre 350 e 770°C devido à carbonização e eliminação gradativa de material carbonáceo. Nesta terceira etapa a perda de massa é de ~28,4%. Esses eventos mostraram-se bem definidos na curva TG obtida em atmosfera dinâmica de nitrogênio, enquanto que em atmosfera de ar os eventos aparecem de forma consecutiva e em um menor intervalo de temperatura devido ao processo de oxidação de todo material, o que não permitiu separação bem definida dos eventos.

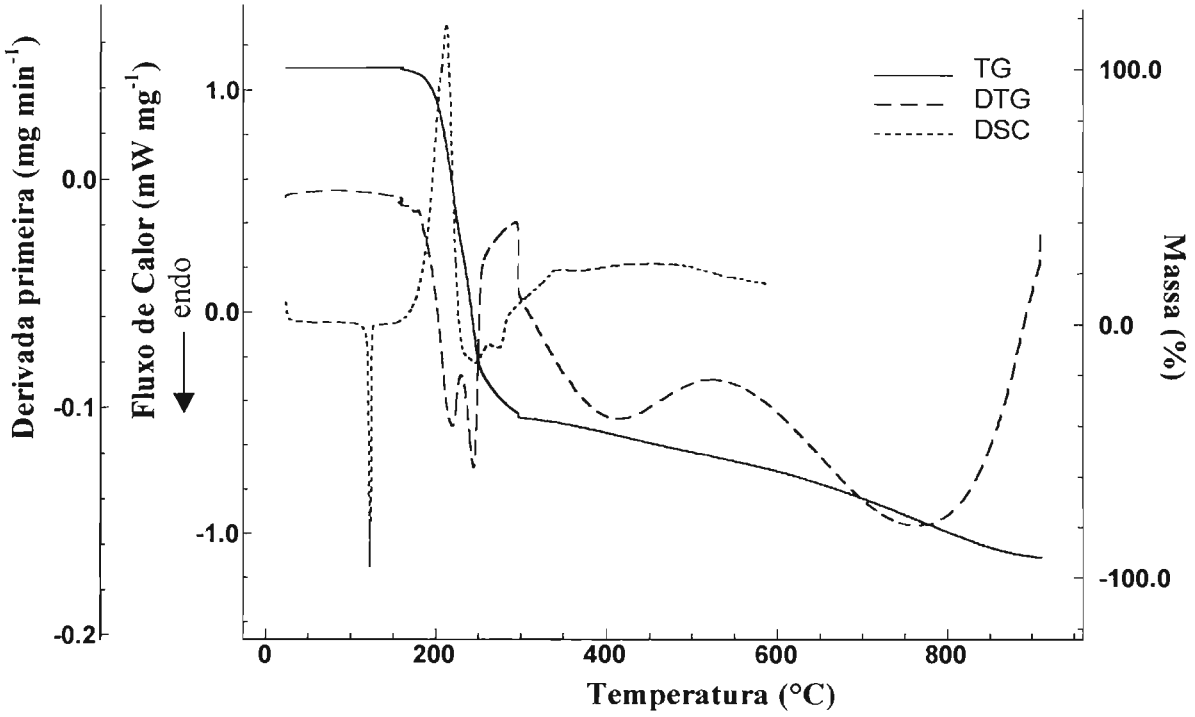


Figura 3.6 - Curvas DSC e TG/DTG do AZT em atmosfera dinâmica de nitrogênio e hélio, respectivamente, (50 mL.min^{-1}), e razão de aquecimento de 10°C.min^{-1}

A partir das curvas TG/DTG do AZT é possível observar que a primeira perda de massa relativa à decomposição do fármaco representa cerca de 51% da massa molecular do mesmo. Sabendo-se que a massa molecular do AZT é 267,21, tem-se, assim, que o produto intermediário sólido residual do primeiro evento de decomposição térmica apresenta uma massa molecular em torno de 128,60. A leitura do percentual de massa durante o processo de decomposição é feita diretamente na projeção da curva termogravimétrica com relação ao eixo de massa ou percentagem.

Com o intuito de avaliar a composição dos produtos intermediários sólidos das etapas 1 e 2, foram isolados os produtos nas temperaturas de 249 e 357°C (Fig. 3.7). Essas amostras foram submetidas à análise elementar e assim determinados os percentuais de C, N e H. De acordo com essas análises foram determinadas as seguintes percentagens (valores teóricos/experimentais) para o AZT: C (44,94/45,12), H (4,89/5,46) e N (26,21/26,39). Comparando os valores (teóricos/experimentais) por análise elementar para a timina foi observado: C (47,62/46,19), H

(4,81/5,02), N (22,20/21,30). A partir dos dados de TG/DTG foram determinadas as temperaturas finais de cada evento e isolados os produtos intermediários sólidos a 249°C e 357°C e caracterizados pelas técnicas de IV, DRX e DSC.

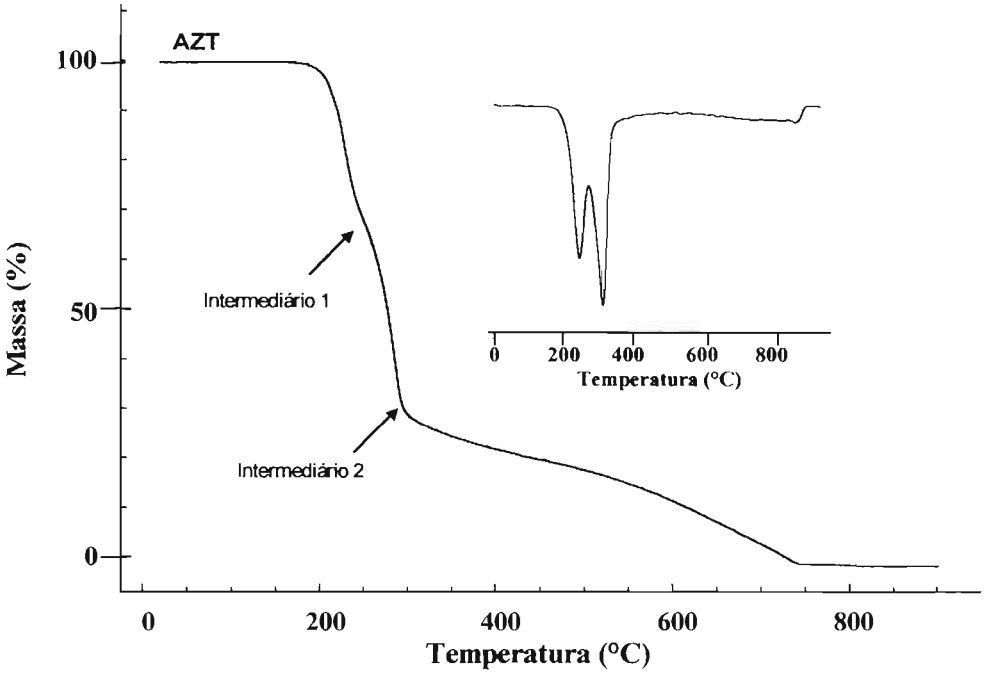


Figura 3.7 - Curvas TG e DTG (figura inserida) do AZT para obtenção dos produtos intermediários sólido durante o processo de decomposição térmica

Para a identificação dos intermediários 1 e 2 foi utilizada a técnica de espectroscopia de absorção na região do IV. Os espectros apresentados na Figura 3.8 mostram as bandas de absorção do AZT e dos intermediários 1 e 2. O espectro do AZT (Fig. 3.8a) mostra uma banda de estiramento no comprimento de onda de 3500 to 3200 cm^{-1} relativa a ν_s e $\nu_{as}OH$ e a banda δ OH em 1630-1600 cm^{-1} . A banda 2102 cm^{-1} representa o $\nu C{=}N{=}N{=}N$ (grupo azido), a banda δ em 1694 cm^{-1} é referente ao grupo C=O, a banda em 1385 cm^{-1} representa o grupamento CH_2 e, por fim, a banda em 1281 cm^{-1} caracteriza os grupos C-O-C e C-OH. Um exame do espectro de infravermelho do produto intermediário sólido obtido na primeira etapa de decomposição do AZT, Figura 3.8b, mostrou uma banda na região em 3500 e 3300 cm^{-1} representada pelos grupos νO-H e νNH também presentes no AZT. Este espectro também apresenta bandas em 1694 e 1385 cm^{-1} características dos grupos C=O e CH_2, respectivamente, presentes na estrutura da timina. A comparação do espectro obtido para o

intermediário 1 a um banco de dados de espectros padrão, mostrou que o composto mais provável, de acordo com as bandas de absorção, é a timina.

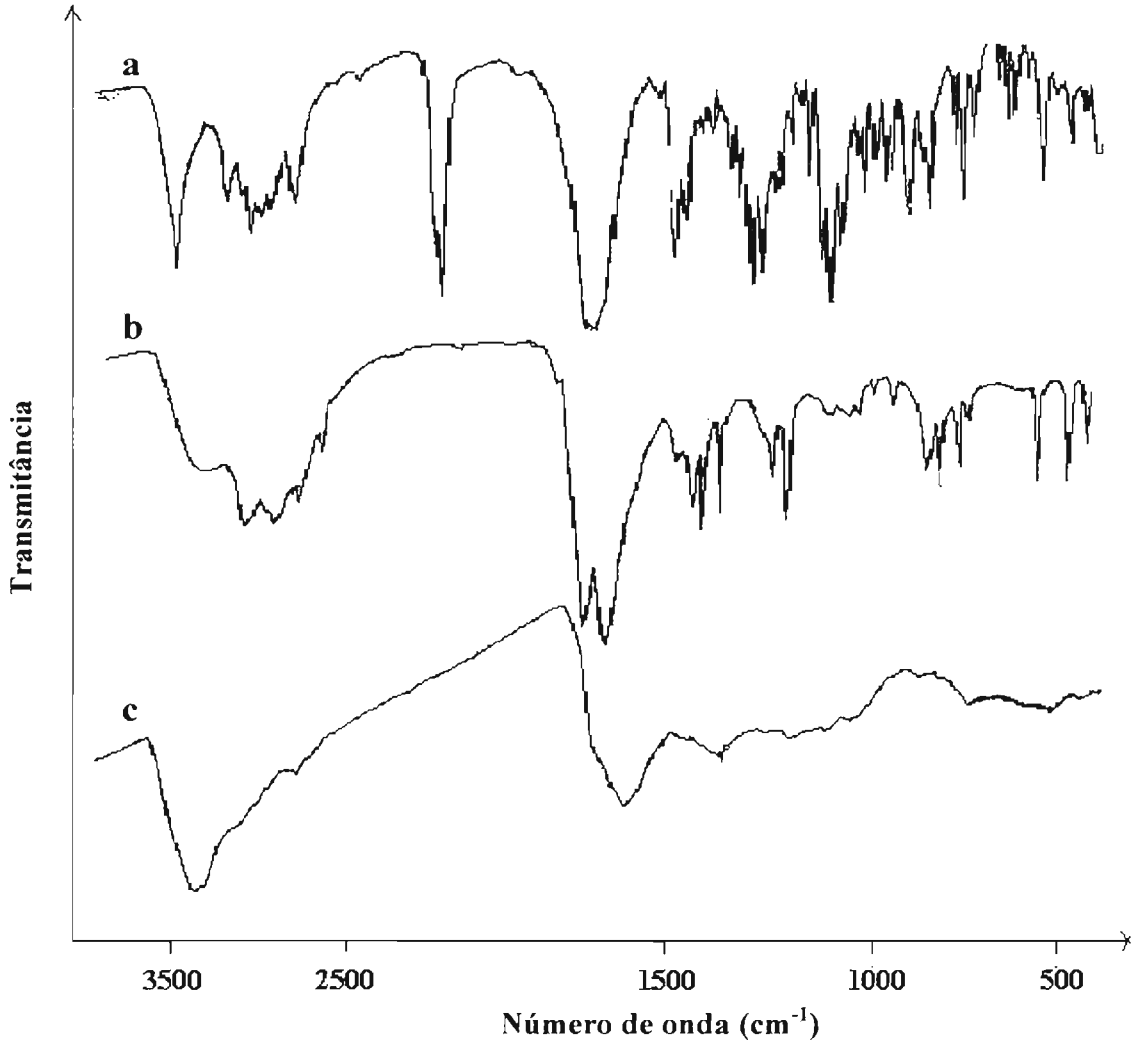


Figure 3.8 - Espectros de absorção na região do infravermelho do AZT (a), do intermediário 1 (249°C)(b) e do intermediário 2 (357°C)(c)

Os picos obtidos nos difratogramas de raios X foram comparados com o arquivo PDF-2 (JCDP-JCAPS) com o objetivo de identificar os intermediários 1 e 2. Os difratogramas de raios X dessas amostras podem ser vistos na Figura 3.9. O precursor foi identificado como AZT, o intermediário 1 como timina e no intermediário 2, ainda, foi possível observar uma pequena quantidade de timina residual. Esses resultados puderam ser obtidos a partir da indicação das

distâncias interplanares e as distâncias relativas às linhas de difração, o que possibilitou a identificação das espécies químicas na composição das amostras.

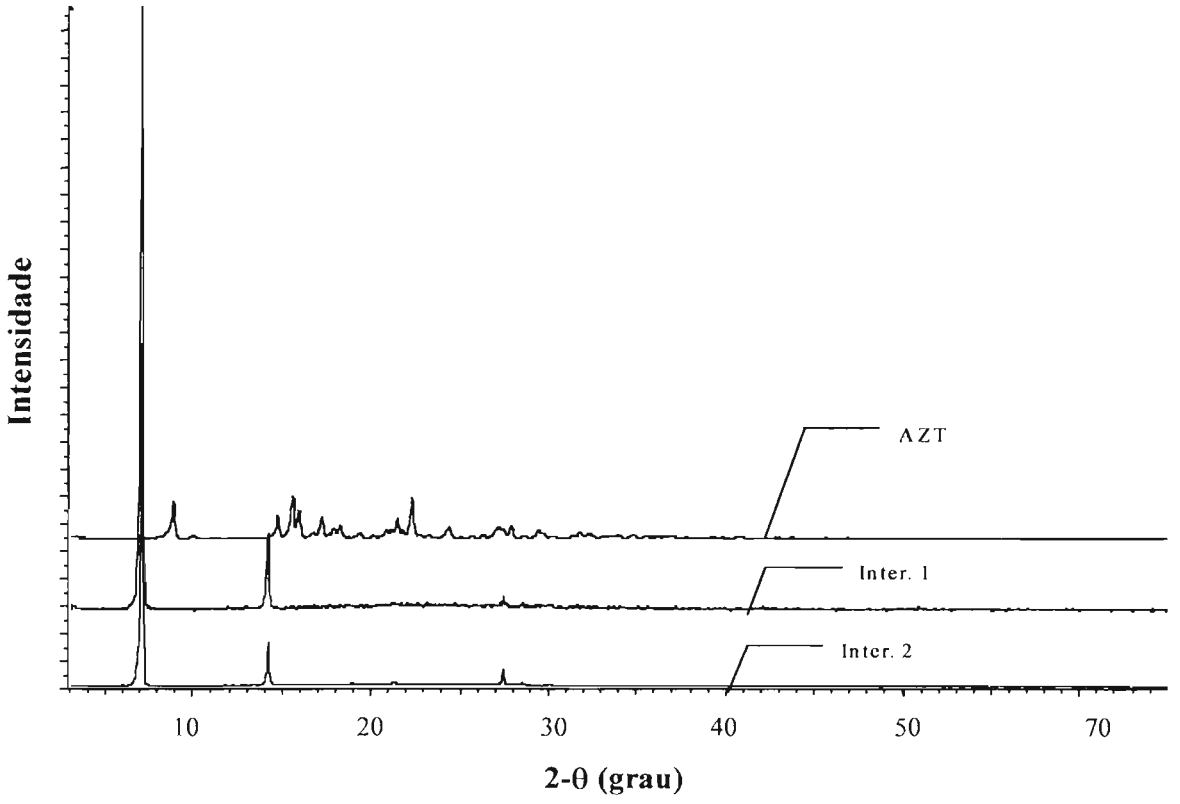


Figura 3.9 - Difratogramas de raios X do AZT e intermediários 1 e 2 da decomposição térmica do AZT

Avaliando-se a estequiometria e comparando-se os resultados obtidos por TG/DTG para o processo de decomposição térmica do AZT, pode-se caracterizar o mecanismo de degradação térmica do fármaco. Sabendo-se que a timina apresenta uma massa molecular igual a 126,12, e que os dados de TG/DTG indicaram uma perda de 51% da massa molecular do fármaco (267,21), tem-se, assim, que o resíduo (intermediário 1) apresenta uma massa molecular em torno de 128,60, ou seja, bem próximo ao valor teórico. Observando-se os valores da análise elementar para o intermediário 1 e comparando-se aos valores teóricos para a timina pode-se verificar que as percentagens são bastante próximas (experimental/teórico): C (47,62/46,19), H (4,81/5,02), N (22,20/21,30). Assim, pôde-se constatar a formação de timina a partir do rompimento do grupo azido e liberação dos anéis furano e 2-furano-metanol do AZT.

Para confirmar os resultados obtidos, realizou-se a análise por DSC dos intermediários 1 e 2 da decomposição térmica do AZT. A Figura 3.10 apresenta as curvas DSC, obtidas em atmosfera dinâmica de nitrogênio e razão de aquecimento de $10°C.min^{-1}$, do AZT, do intermediário 1, da timina (substância química de referência) e do intermediário 2. Como pode-se observar, a curva DSC do intermediário 1 (Fig. 3.10-b) apresenta um evento endotérmico na temperatura de 309°C. Um evento semelhante a este é observado na curva DSC da timina padrão (Fig. 3.10-c), sendo caracterizado como fusão, que de acordo com a literatura, está na faixa de 313-317°C. Ainda analisando a Figura 3.10-d, pode-se observar que a curva do intermediário 2 não apresentou eventos significativos na faixa de temperatura em estudo.

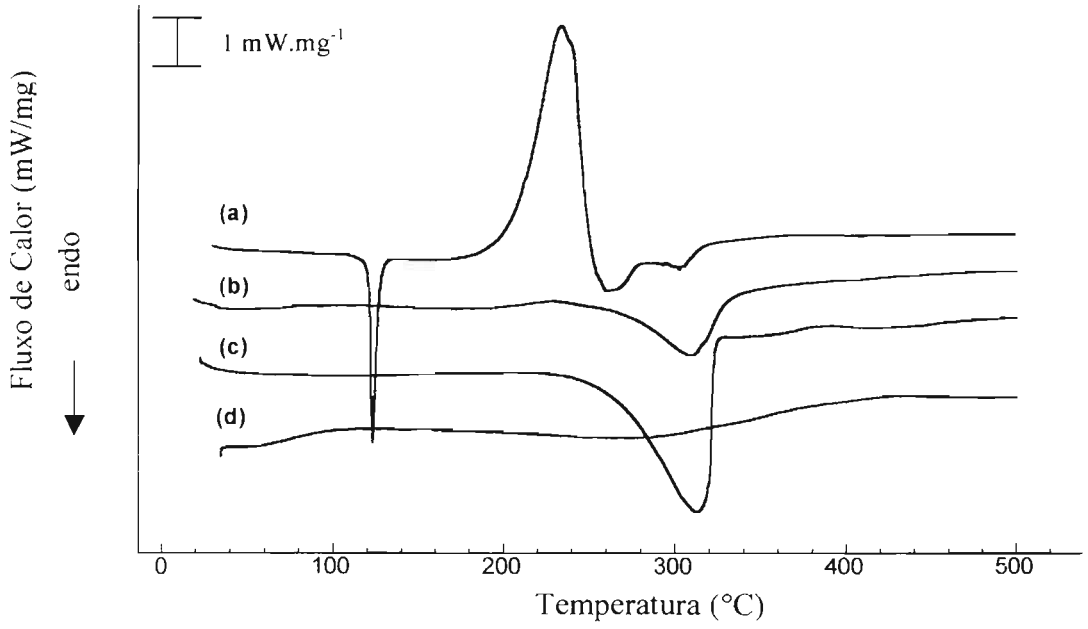


Figura 3.10 - Curvas DSC do AZT (a), do intermediário 1 (b), da timina (substância química de referência) (c) e do intermediário 2 (d)

3.3.2 Caracterização dos voláteis provenientes da decomposição térmica por TG/DTA-GC/MS

Utilizando-se o sistema simultâneo e acoplado TG/DTA-CG/MS, cujas especificações e condições foram citadas anteriormente, foi possível detectar e identificar os voláteis liberados da decomposição térmica do AZT. Os voláteis oriundos da decomposição térmica, depois de

condensados e liberados para o sistema CG/MS, geraram os cromatogramas iônicos totais, os respectivos cromatogramas de íons (Fig. 3.11) e os espectros de massas (Fig. 3.12). Esses cromatogramas apresentam picos com tempos de retenção entre 9,4 e 15,8 minutos (Tabela 3.2). A partir da comparação dos espectros de massas obtidos com aqueles dos respectivos padrões, disponíveis na biblioteca do banco de dados, foi possível identificar o furano e o 2-furano-metanol, como os voláteis mais prováveis liberados durante o processo de decomposição térmica do AZT.

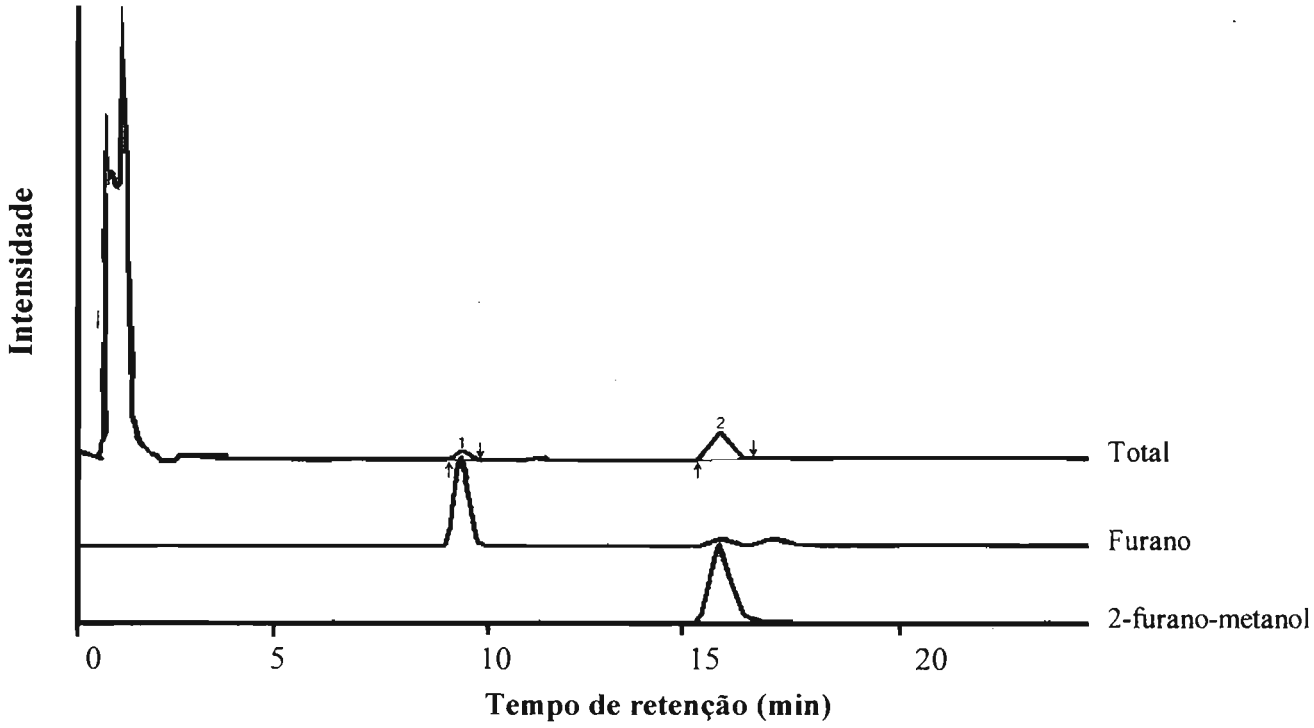


Figura 3.11 - Cromatograma iônico total e cromatogramas de íons oriundos da decomposição térmica do AZT

Tabela 3.2 - Dados obtidos através do sistema acoplado TG/DTA-GC/MS referentes à identificação dos produtos voláteis liberados no processo de decomposição térmica do AZT

Pico	Tempo de retenção	A/H (sec)	% total	identificação
1	9,448	21,170	17,46	furano
2	15,708	33,479	82,54	2-furano-metanol

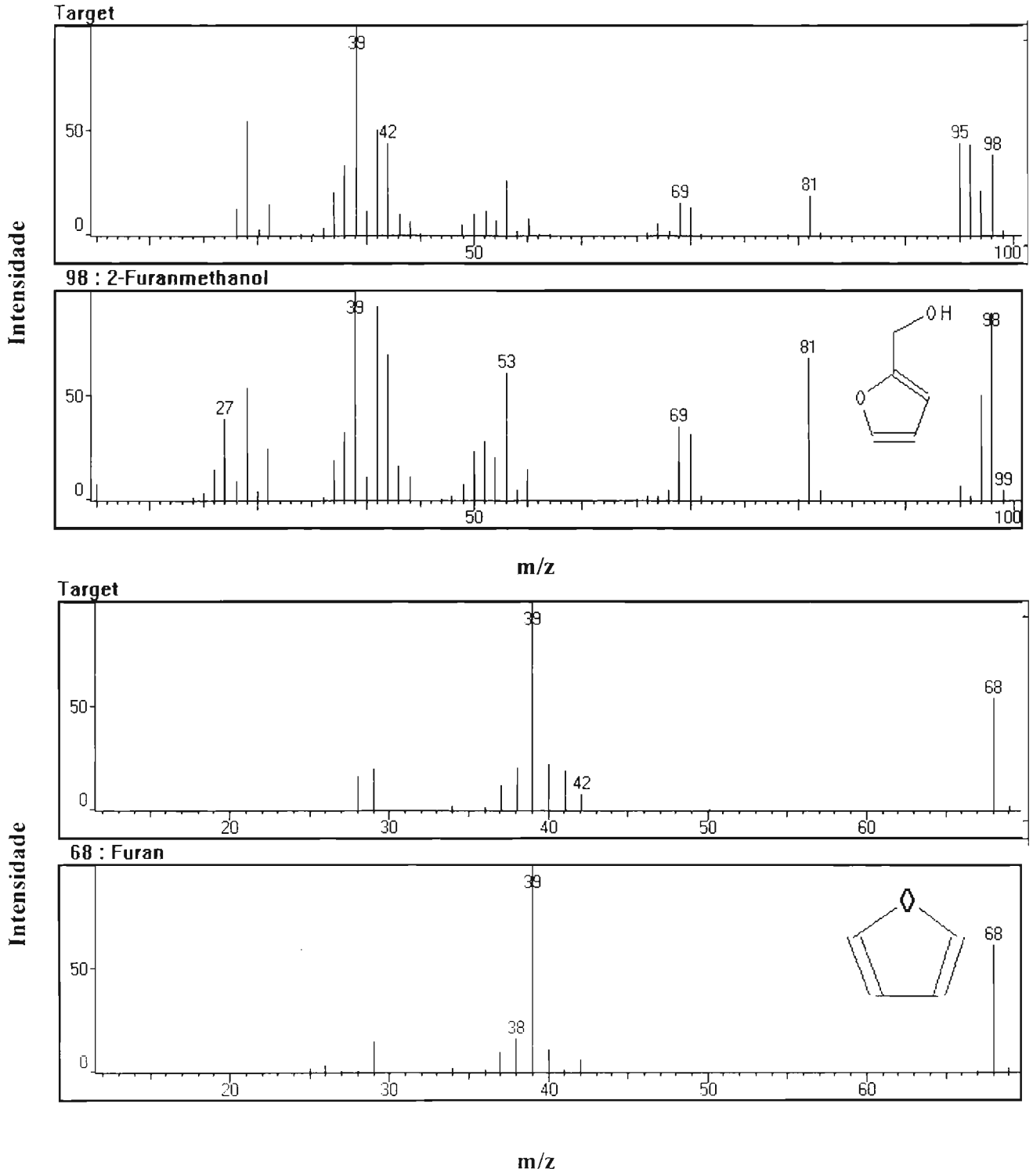


Figura 3.12 - Espectro de massas dos voláteis liberados da decomposição térmica do AZT relativos aos picos 1 e 2 do cromatograma iônico total, e seus respectivos espectros padrões

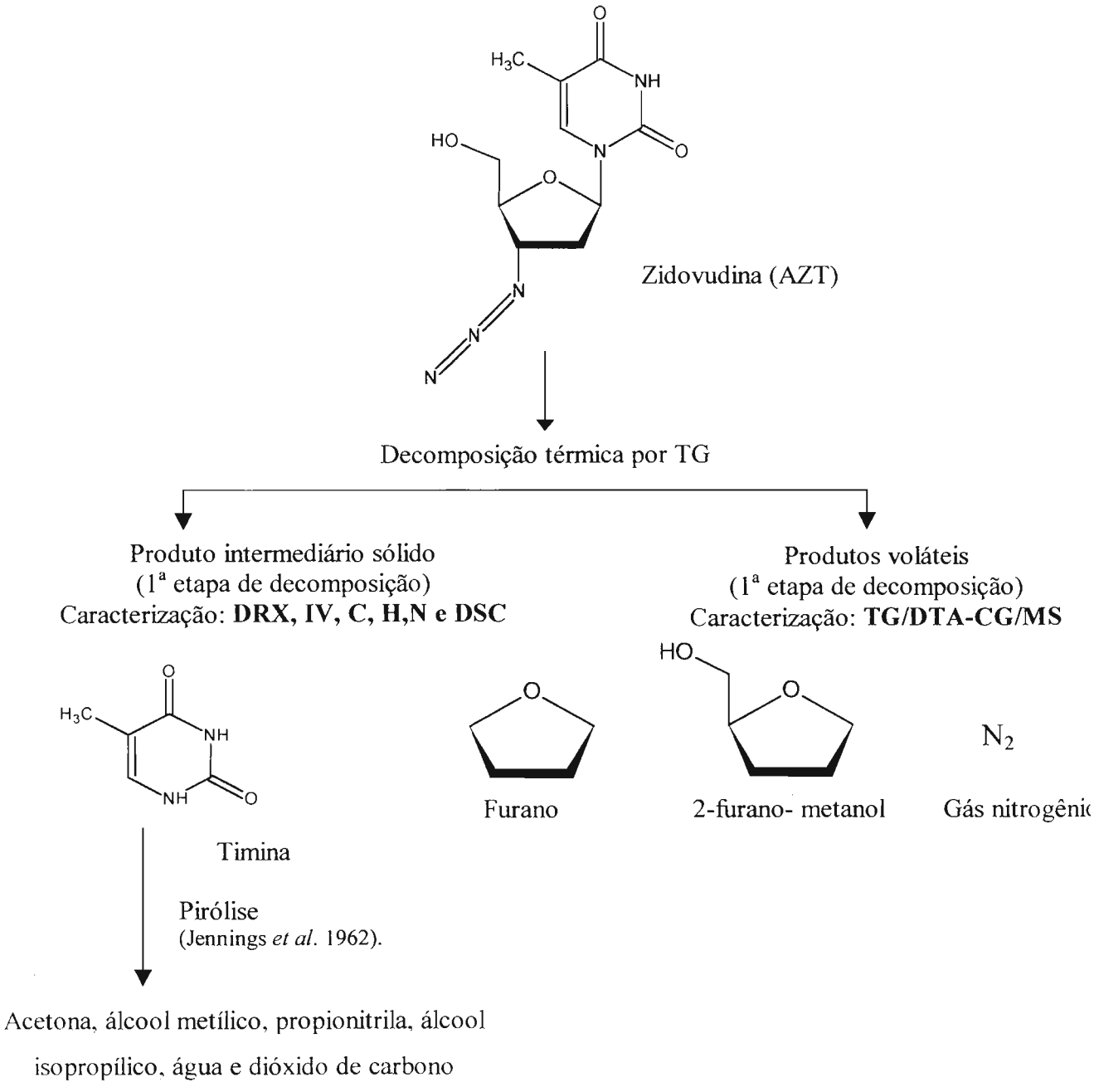


Figura 3.13 - Mecanismo de decomposição térmica do AZT

3.4. CONCLUSÃO

Os métodos termoanalíticos têm se mostrado importantes ferramentas para o desenvolvimento e controle de fármacos e medicamentos. Diversas vantagens destes métodos têm sido apontadas

principalmente em virtude da pequena quantidade de amostra utilizada, a rapidez para obtenção de resultados e a possibilidade de obter diferentes informações sobre as propriedades físicas e químicas da amostra. Este estudo mostra a aplicação da análise térmica como uma rápida e eficiente técnica para caracterização do AZT e seu processo de decomposição. A aplicação das técnicas termoanalíticas aliadas às técnicas de análise elementar (C, H e N), espectroscopia de absorção no IV e difração de raios X possibilitou a identificação dos produtos intermediários sólidos da decomposição térmica do fármaco. Para o AZT evidenciou-se um processo de decomposição térmica dividido em três etapas, sendo a primeira etapa relativa à decomposição do AZT com formação de timina e as demais etapas referentes à decomposição da timina com eliminação de material carbonáceo. A maior inovação deste trabalho está baseada na aplicação do sistema simultâneo e acoplado TG/DTA-GC/MS, em atmosfera de He, para avaliação do processo de degradação e caracterização dos produtos voláteis provenientes da decomposição térmica do AZT. Neste caso, foi identificada a formação de furano e 2-furanometanol, o que corrobora com a caracterização dos produtos sólidos e cria novas perspectivas na avaliação do processo de decomposição térmica e estudo de estabilidade de fármacos e medicamentos.

3.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARAÚJO, A.A.S., STORPIRTIS, S., MERCURI, L.P., CARVALHO, F.M.S., SANTOS-FILHO, M., MATOS, J.R. Thermal Analysis of the antiretroviral zidovudine (AZT) and evaluation of the compatibility with excipients used in solid dosage forms. **International Journal of Pharmaceutics** (aceito para publicação em 2003).

BROW, M.E. **Introduction to thermal analysis: techniques and applications**. London: Chapman and Hall, 1988. 211p.

CAMMENGA, H.K. & EPPLE, M. Basic principles of thermoanalytical techniques and their applications in preparative chemistry. **Angew. Chem. Int**. Ed. Eng. New York. v.34, p. 1171-1187, 1995.

DOLLIMORE, D., PHANG, P. Thermal analysis. **Anal. Chem**., Columbus, v.72, n.12, p.27-36, 2000.

DOLLIMORE, D., LERDKANCHANAPORN, S. Thermal analysis. **Anal. Chem.**, Columbus, v.70, n.12, p.27R-35R, 1998.

FERGUSON, H.F., FRUIRIP, D.J., PASTOR, A.J., PEEREY, L.M., WHITING, L.F. A review of analytical applications of calorimetry. **Thermochimica Acta**, Belfast. v. 363. p.1-21. 2000.

FORD, J.L., TIMMINS, P. **Pharmaceutical thermal analysis: technique and application**. New York: Willey-Interscience, 1986. p. 313.

GIOLITO, I., IONASHIRO, M. A nomenclatura em análise térmica - Parte II. **Cerâmica**, São Paulo, v.34 (225), p. 163-171, 1988.

GIRON, D. Contribution of thermal methods and related techniques to the rational development of pharmaceuticals. **Pharm. Sci. Technol. Today**, Bethesda, v.1, part.1, p.191-199, 1998.

GIRON, D. Contribution of thermal methods and related techniques to the rational development of pharmaceuticals. **Pharm. Sci. Technol. Today**, Bethesda, v.6, part.2, p.262-268, 1998.

HAINES, P.J. **Thermal methods of analysis: principles, application and problems**. London: Chapman & Hall, 1995. 286p.

HARDY, M.J. **Pharmaceutical applications of thermal analysis**. *In.* Charsley, E.L., Warrington, S.B. Thermal Analysis: techniques & applications. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 1992. p.180-197.

THOMPSON, K.C. Pharmaceutical applications of calorimetric measurements in the new millennium. **Thermochimica Acta**, Belfast, v.355, p.83-87, 2000.

OZAWA, T. Thermal analysis – review and prospect. **Thermochimica Acta**. Belfast, v.355, p.35-42, 2000.

WENDLANDT, W.W. **Thermal analysis.** 3.ed. New York: Willey, 1986. p. 814.

CAPÍTULO IV

Determinação do ponto de fusão, variação de entalpia e grau de pureza de amostras comerciais de AZT utilizando DSC

A determinação da pureza química, a faixa de fusão e a variação de entalpia envolvida nesse processo é um dos principais requisitos avaliados no controle de qualidade em indústrias farmacêuticas. Apesar da calorimetria exploratória diferencial não ser uma técnica tão comumente utilizada como a cromatografia líquida de alta eficiência, a sua aplicação vem crescendo e hoje já está inserida na *United States Pharmacopeia* como uma técnica apropriada para tal finalidade. Neste capítulo é feita uma abordagem sobre o método de determinação de pureza utilizando DSC, assim como, a aplicação desta técnica para avaliação de amostras comerciais de zidovudina (matéria-prima) fornecida por diferentes laboratórios.

"Muitos homem cometem o erro de substituir o conhecimento pela afirmação de que é verdade aquilo que desejam."

Bertrand Russell

4.1 INTRODUÇÃO

As aplicações no campo farmacêutico têm caracterizado a análise térmica como uma importante ferramenta na solução de problemas envolvendo desenvolvimento, produção e controle de qualidade de medicamentos e insumos (BUCKTON *et al.*, 1991). As principais aplicações nessa área têm visado a determinação do grau de pureza (WINDMANN & SCHERRER, 1991); a realização de ensaios de estabilidade térmica e cinética de decomposição; o estudo de possíveis interações fármaco-fármaco e/ou fármaco-excipiente em fase de pré-formulação (IGLESIAS *et al.*, 1998; SAESMA *et al.*, 1991); além da caracterização de matérias-primas e produtos acabados (FORD & TIMMINS, 1989; CANOTILHO *et al.*, 1992; CAMMENGA & EPPLE, 1995; GIRON, 1998, 1999; BROWN & GLASS, 1999; THOMPSON, 2000).

CANOTILHO *et al.* relataram que os recursos de análise térmica no campo farmacêutico são consideráveis não só para o estudo de polimorfismo como, também, pela sua versatilidade em outras aplicações, podendo-se destacar: caracterização de polimorfos, compostos de inclusão e dispersões sólidas, estudos de compatibilidade fármaco/fármaco e fármaco/excipientes em nível de pré-formulação; determinação da pureza química; estudo de reações no estado sólido (estabilidade térmica e parâmetros cinéticos); análise de formas farmacêuticas sólidas; controle de qualidade de fármacos e medicamentos (como a determinação dos teores de cinza, umidade, entre outras); avaliação de isômeros e polimorfos; análise de matérias-primas (fármacos e excipientes) e formas farmacêuticas acabadas (emulsões, supositórios, microesferas, comprimidos, lipossomas, pós, cremes e géis) (CANOTILHO *et al.*, 1992; LVOVA *et al.*, 1993)

A determinação do ponto de fusão utilizando métodos calorimétricos vem sendo bastante utilizada como um método de avaliação do grau de pureza de um composto (WIDMANN & SCHERRER, 1991). Através da DSC pode-se determinar a faixa de fusão de um dado material e, baseando-se na equação de van't Hoff (CANOTILHO *et al.*, 1992, BEZJAK *et al.*, 1992) (Equação 4.1), é possível a determinação da fração molar das impurezas x_2 (número de moles das impurezas pelo total de número de mol) contidas nesse material em relação à faixa de fusão. Porém, por DSC o método é aplicado desde que a faixa de x_2 esteja entre 0,95 e 0,9999 (ou 95 e 99,99 mol %).

$$T_f = T_o - x_2 \frac{R\,T_o^2}{\Delta H_f} \qquad \text{(Equação 4.1)}$$

em que T_f representa a temperatura de fusão das impurezas no processo de fusão, desde que o restante dos sólidos cristalinos do maior componente esteja em equilíbrio com a fase já fundida; T_o é o ponto de fusão do maior componente expresso em graus Kelvin; R é a constante dos gases (8,3143 $J.K^{-1}.\ mol^{-1}$); x_2 é a fração molar das impurezas na fase líquida; ΔH_f é o calor de fusão do maior componente expresso em $J.mol^{-1}$; $\Delta H_f(R.T_o^2)$ e é denominado constante crioscópica.

Quando a substância é aquecida, o conjunto de impurezas é fundido, formando uma fase líquida. Acima desta temperatura, a fase sólida consiste apenas em substância pura. Como a temperatura decresce com a formação da fase eutética das impurezas (Fig. 4.1), a fração molar das impurezas na fase líquida x_2 é constantemente diminuída desde que a substância pura dissolva na solução eutética durante este intervalo de temperatura (GIRON & GOLDBRONN, 1995; STAUB & PERRON, 1974). Essa relação é dada pela Equação 4.2:

$$X_2 = x_2^* \cdot \frac{1}{F} \qquad \text{(Equação 4.2)}$$

em que x_2^* é a fração das impurezas na fase líquida da substância completamente fundida ou na substância original, e F é a fração fundida.

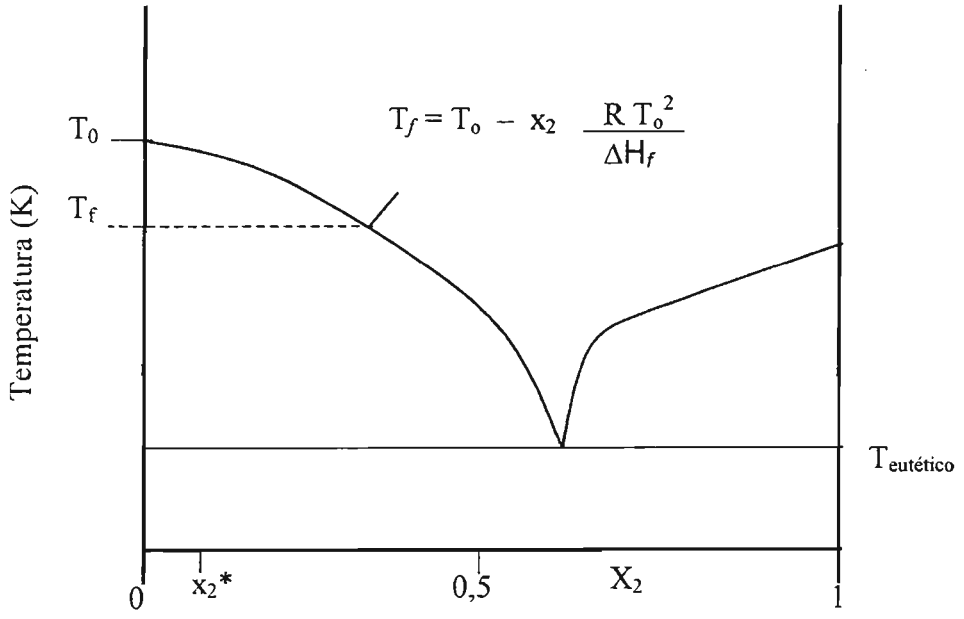


Figura 4.1 - Diagrama de fases de uma mistura eutética

Quando a Equação 4.2 é substituída na Equação 4.1, tem-se como resultante a Equação 4.3. Esta equação descreve a relação linear entre T_f e 1/F com a interceptação de T_0 e a inclinação é dada por $x_2^*.R.T_o^2/\Delta H_f$:

$$T_f = T_o - \frac{x_2^* R T_o^2}{\Delta H_f} \cdot \frac{1}{F} \qquad \text{(Equação 4.3)}$$

Para obter o gráfico desta função a partir da fusão por DSC, alguns pontos, normalmente na região entre 10 e 50% do pico, são avaliados. A fração fundida é a razão da área parcial ΔH_i para a área total ΔH_{tot}. A faixa entre 10 e 50% do ponto de inflexão ou pico é utilizada por excluir também a maior concentração de impurezas na fase líquida e para evitar erros na região onde a velocidade da fusão é também maior. Se os valores calculados apresentam coordenação entre eles normalmente a curva dada por T_f x 1/F será representada por uma linha reta (Fig. 4.2). A determinação da pureza por DSC é explicada pela teoria da não-linearidade, ou seja, a área onde normalmente é iniciada a fusão é decorrente de uma série de impurezas o que justifica um processo não-linear. Por outro lado, o procedimento aceito para linearização dos dados é introduzido pela correção da área (BLAINE & SCHOFF, 1983).

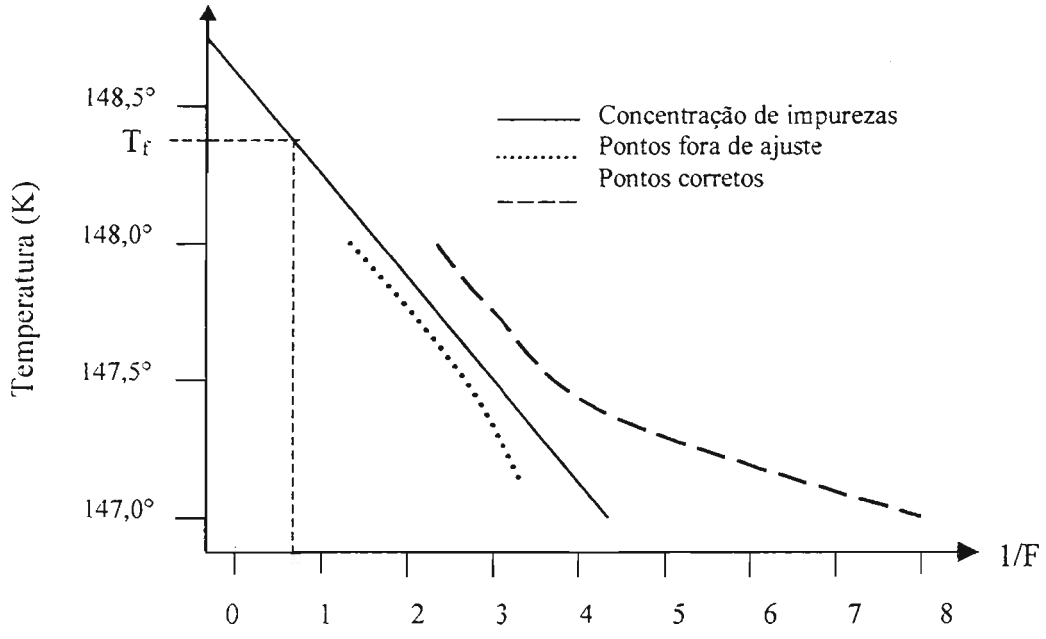


Figura 4.2 - Gráfico de linearização para a determinação da concentração de impurezas

A determinação do grau de pureza utilizando o DSC não pode ser efetuado nas seguintes situações: a) quando os compostos se decompõem em etapa subseqüente à fusão; b) quando as impurezas formam um eutético com o componente principal, ou seja, as impurezas são solúveis na fase líquida do componente principal; c) para materiais amorfos, uma vez que o pico de fusão está relacionado à variação de entalpia em função da cristalinidade; d) quando o calor de fusão é independente da temperatura; e) quando outros eventos acontecem próximos à fusão, como por exemplo, volatilização ou transição polimórfica (BLAINE & SCHOFF, 1983).

Visto que a análise térmica tem despertado um grande interesse dos investigadores e tecnólogos nos últimos anos para estudos que envolvem o controle de qualidade de fármacos e medicamentos, objetivou-se a utilização do método para determinação do grau de pureza de sólidos por DSC, para avaliação de fármacos utilizados em medicamentos de AZT, fornecidos por diferentes laboratórios farmacêuticos. Neste trabalho foram determinados o teor de pureza, a temperatura *onset* e a variação de entalpia ocorrida durante a fusão.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

O padrão de AZT foi doado pela *United States Pharmacopeia* (USP), de acordo com a seguinte descrição: AZT (Número cat. 72450), grau de pureza 100%, lote: F, data 16/05/00, certificado oficial de garantia: 100-B. As amostras de AZT (princípio ativo) foram doadas pelas indústrias farmacêuticas que delas se utilizam no seu processo de fabricação: AZT (Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco-LAFEPE, lote AZN001), AZT (Fundação para o Remédio Popular-FURP, lote 22459710), AZT (Indústria Química do Estado de Goiás-IQUEGO, lote 00100/001), AZT (Sanval Indústria Farmacêutica LTDA, lote AB934), AZT (Fundação Osvaldo Cruz-Farmanguinhos, lote AZL027), AZT (Glaxo Wellcome Indústria Farmacêutica, lote 9054001). Durante o estudo, as amostras dos diferentes laboratórios foram denominadas aleatoriamente por A, B, C, D, E e F, sendo a amostra do produto de referência (Glaxo Wellcome) denominada por R.

As curvas DSC foram obtidas na faixa de temperatura de 25 a 200°C, utilizando célula calorimétrica DSC-50 da marca Shimadzu, sob atmosfera dinâmica de nitrogênio (50 $mL.min^{-1}$), razão de aquecimento de $2°C.min^{-1}$, utilizando cápsula de alumínio parcialmente fechada contendo aproximadamente 2 mg de amostra. A célula DSC foi calibrada e/ou verificada antes dos ensaios no eixo de temperatura utilizando padrões de índio ($T_{fusão}$=156,6°C) e zinco ($T_{fusão}$= 419,5°C)

metálicos com pureza de 99,99%. Para a quantidade de calor empregou-se o $\Delta H_{fusão}$ do índio metálico (28,7 $J.g^{-1}$).

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A endoterma de fusão corresponde à porção da curva DSC que se afasta da linha de base, e, posteriormente, retorna a mesma. A temperatura de fusão, T_{onset}, é definida pelo início extrapolado da curva, sendo definida pelo ponto de interseção da tangente com o ponto de máxima inclinação, no lado principal do pico com a linha de base extrapolada. A Figura 4.3 mostra a endoterma de fusão do AZT (substância química de referência) obtida na razão de aquecimento de 2°C.min^{-1}. De acordo com gráfico pode-se verificar que a amostra apresenta uma temperatura *onset* de fusão igual a 122,4°C (ΔH= 31,5 kJ.mol^{-1}) e uma pureza de 99,83%.

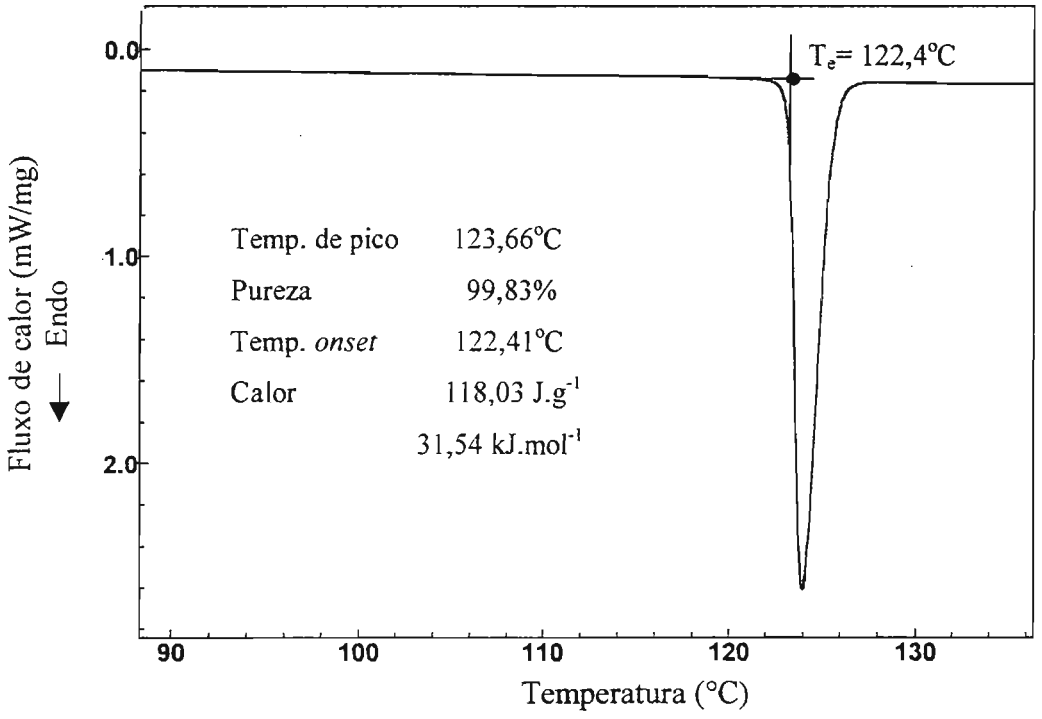


Figura 4.3 - Curva DSC do AZT matéria-prima (Substância química de referência) sob atmosfera dinâmica de N_2 (50 mL.min^{-1}) e razão de aquecimento de 2°C.min^{-1}.

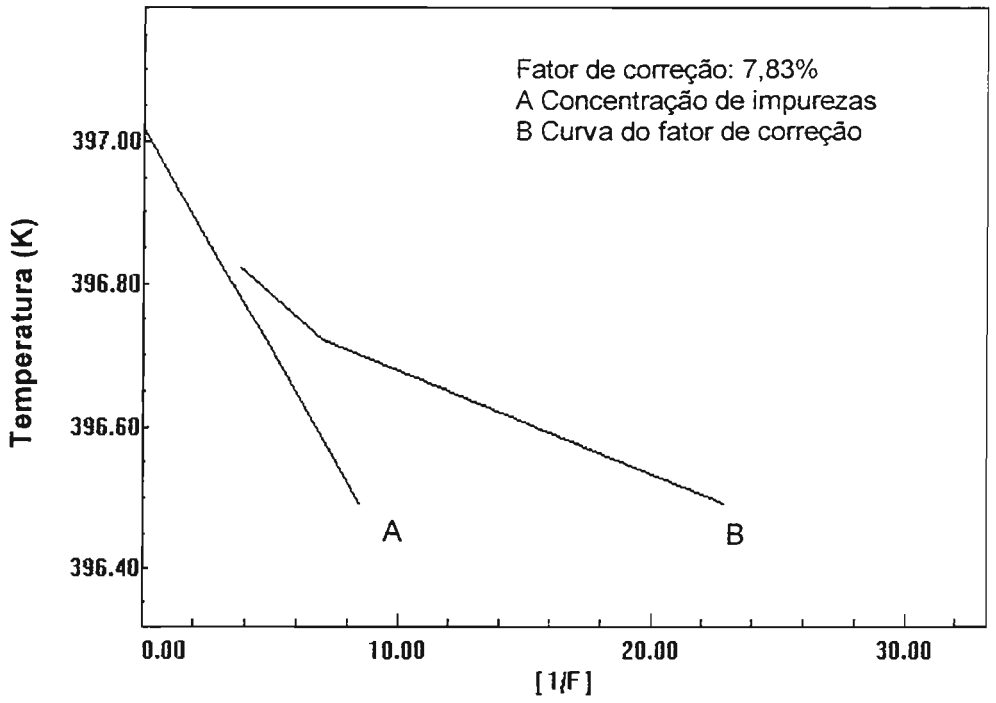


Figura 4.4 - Gráfico representativo da linearização de van't Hoff a partir da curva DSC do AZT matéria-prima (Substância química de referência)

O efeito da razão de aquecimento na determinação da pureza, ponto de fusão e entalpia de fusão foi realizado utilizando massa de amostra em torno de 2 mg. A Figura 4.5 mostra as curvas DSC do AZT (substância B) nas razões de aquecimento de 1, 2, 5, 10 e 15°C.min^{-1}. Neste estudo pode-se observar que a razão de aquecimento afeta de forma significativa os valores obtidos para a pureza, uma vez que os valores de pureza diminuem a medida que a razão de aquecimento aumenta (Tabela 4.1). Essa observação pode ser justificada pelo fato de que a equação de van't Hoff é válida para condições de equilíbrio, por isso, razões de aquecimento menores são recomendadas.

A Figura 4.6 apresenta as curvas DSC do AZT (substância B) quando a massa de amostra é variada de 0,58 a 7,44 mg, para uma razão de aquecimento 2°C.min^{-1}. Neste caso, o grau de pureza, empregando-se diferentes valores de massas de amostra, foi superior a 99,48%. Esses resultados evidenciam que a pureza, o calor de fusão e a temperatura *onset* de fusão sofrem pequenas variações quando a massa de amostra é variada como mostra a Tabela 4.2.

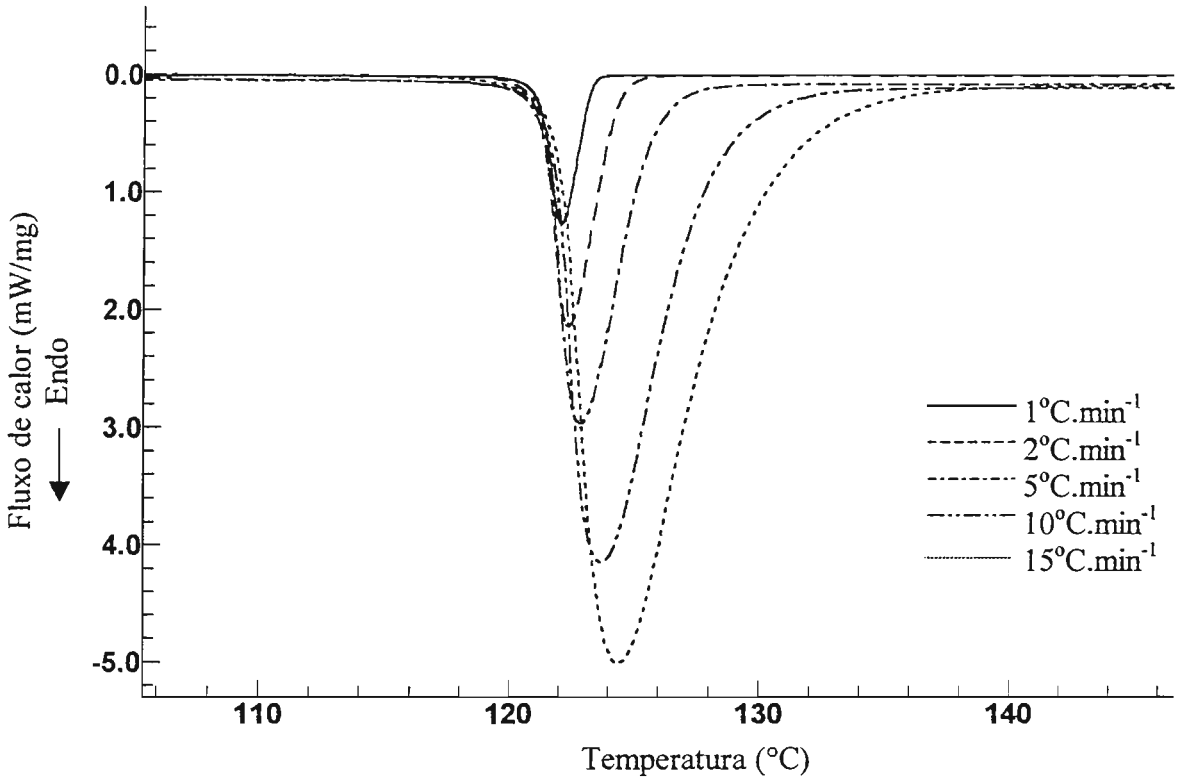


Figura 4.5 - Curvas DSC do AZT (Substância química de referência) obtidas nas razões de aquecimento de 1, 2, 5, 10 e 15°C.min^{-1}, sob atmosfera dinâmica de nitrogênio (50 mL.min^{-1}).

Tabela 4.1 - Influência da razão de aquecimento na determinação da pureza, entalpia de fusão e temperatura *onset* de fusão do AZT (substância B).

Influência da razão de aquecimento			
Massa ~ 2 mg			
°C.min^{-1}	**Pureza (%)**	**Tm (°C)**	**ΔH (kJ.mol^{-1})**
1	99,61	120,36	29,182
2	99,53	120,34	29,352
5	99,49	120,46	28,388
10	99,23	120,77	29,074
15	98,76	120,87	29,909

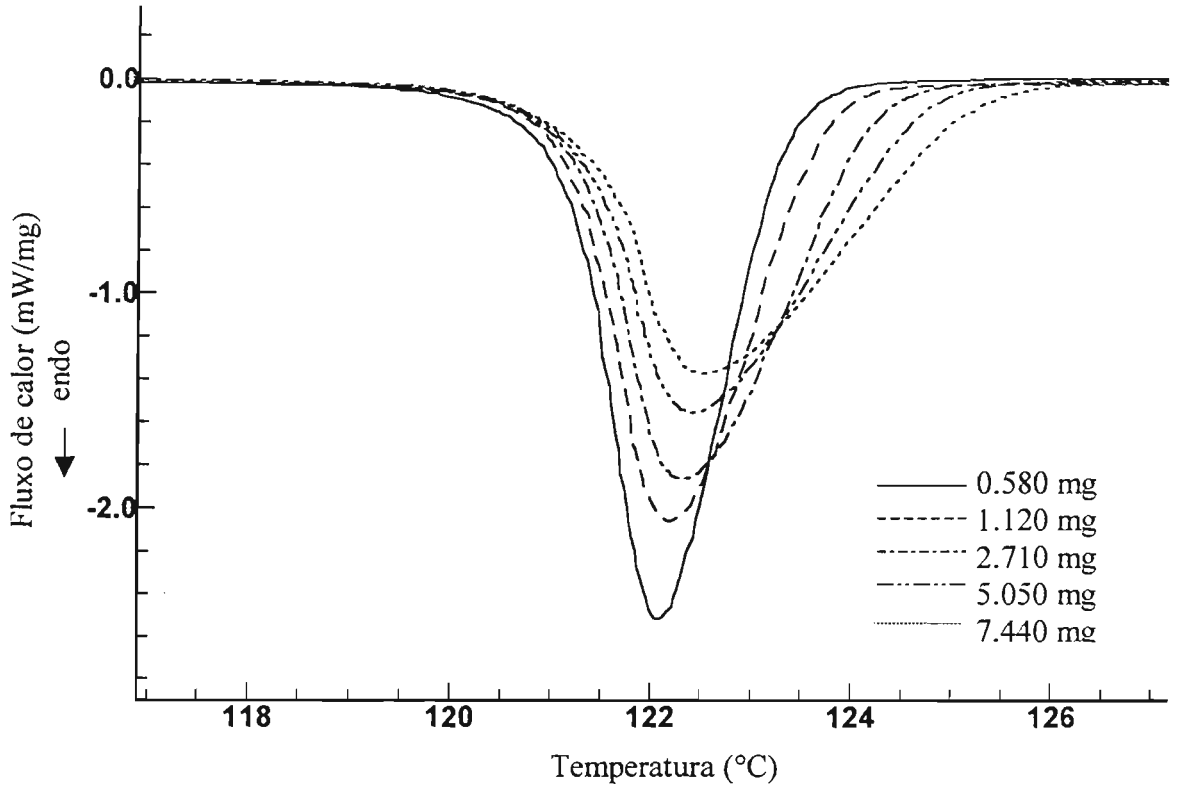


Figura 4.6 - Curvas DSC do AZT (subst. química de referência) obtidas com diferentes massas de amostra, na razão de aquecimento de 2°C.min^{-1}, sob atmosfera dinâmica de N_2 (50 mLmin^{-1}).

Tabela 4.2 - Influência da massa de amostra na determinação da pureza, entalpia de fusão e temperatura *onset* de fusão do AZT (Substância B).

Influência da massa de amostra			
2°C.min^{-1}			
Massa (mg)	**Pureza (%)**	**Tm (°C)**	**ΔH (kJ.mol^{-1})**
0,580	99,59	120,38	30,643
1,120	99,49	120,41	29.116
2,710	99,58	120,47	30,566
5,050	99,53	120,14	29.599
7,440	99,48	120,04	28,694

As curvas DSC das seis amostras de AZT fornecidas pelos laboratórios A, B, C, D, E, F e R (substância química de referência), assim como, os gráficos representativos da linearização de van't Hoff a partir da curva DSC, podem ser vistos nas Figuras 4.3 a 4.16. A determinação da pureza química das amostras é feita a partir do fator de correção que é mostrado em cada um dos gráficos. Sendo assim, quanto menor o fator de correção utilizado maior é a pureza do material. O grau de pureza, as temperaturas de fusão e o $\Delta H_{fusão}$ encontrados a partir dos ensaios por DSC para as diferentes amostras de AZT estão listados na Tabela 4.3.

Os resultados foram obtidos utilizando uma razão de aquecimento baixa ($2°C.min^{-1}$) para melhor definir o evento. Os gráficos de linearização para cada amostra mostram, em A, a concentração de impurezas e, em B, o fator de correção ou o processo de linearização. De acordo com os dados obtidos pode-se verificar que a substância química de referência apresentou um grau de pureza igual a 99,83%, e que as amostras de AZT apresentaram uma faixa de variação entre 97,5 e 99,4%. Sabendo-se que o desvio-padrão geralmente é usado para definir intervalos em torno da média, observa-se que os resultados obtidos para os ensaios em triplicatas por DSC mostram-se bastante concordantes e com baixa dispersão dos valores. De acordo com a Tabela 4.1, pode-se observar que a substância química de referência apresentou uma temperatura *onset* de fusão igual a 122,4°C. Para as amostras dos princípios ativos fornecidos pelos diferentes laboratórios pode-se verificar uma variação da faixa de fusão entre 118,7 e 122,9°C. No que se refere ao $\Delta H_{fusão}$ as amostras apresentaram um valor médio de 30 $kJ.mol^{-1}$ e, como se pode observar, um desvio-padrão abaixo de 5%, mostrando, assim, uma boa reprodutibilidade para a análise por DSC.

Os resultados obtidos para o produto D mostram um teor de impureza maior (2,41%), em relação aos demais, com isto, é possível observar um alargamento e deslocamento da temperatura *onset* de fusão para temperatura mais baixa, neste caso em 118,70°C. Para a substância química de referência da USP, foi determinada uma pureza de 99,83% e uma temperatura *onset* de fusão igual a 122,80°C. Neste contexto, pode-se afirmar que quanto maior a concentração de impurezas maior será o deslocamento e alargamento da endoterma de fusão.

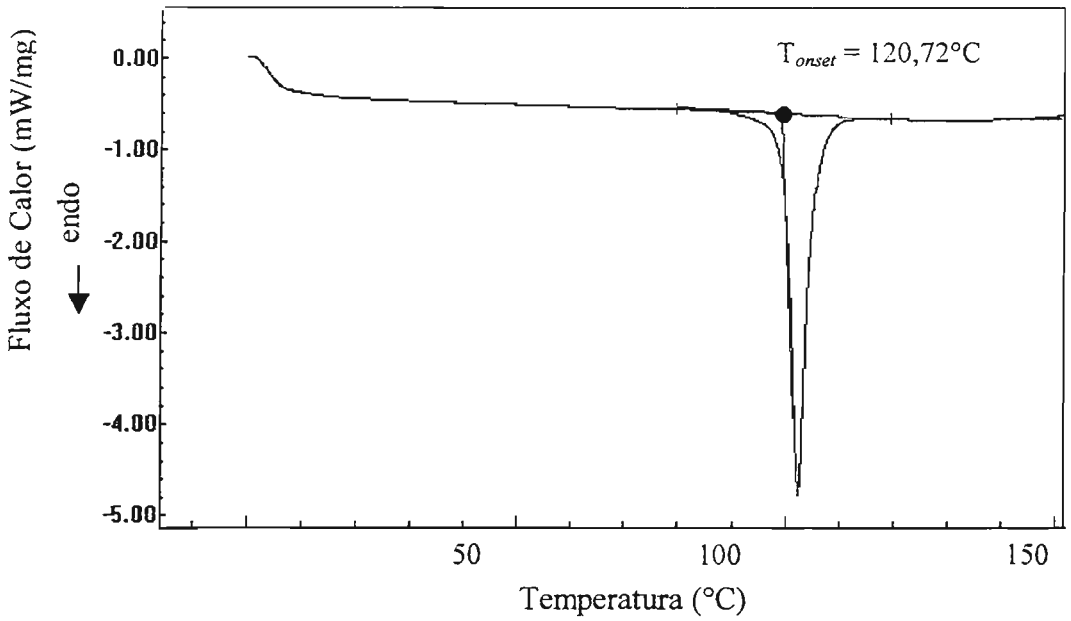


Figura 4.7 - Curva DSC do AZT (Produto A) sob atmosfera dinâmica de N_2 (50 mL.min^{-1}) e razão de aquecimento de 2°C.min^{-1}

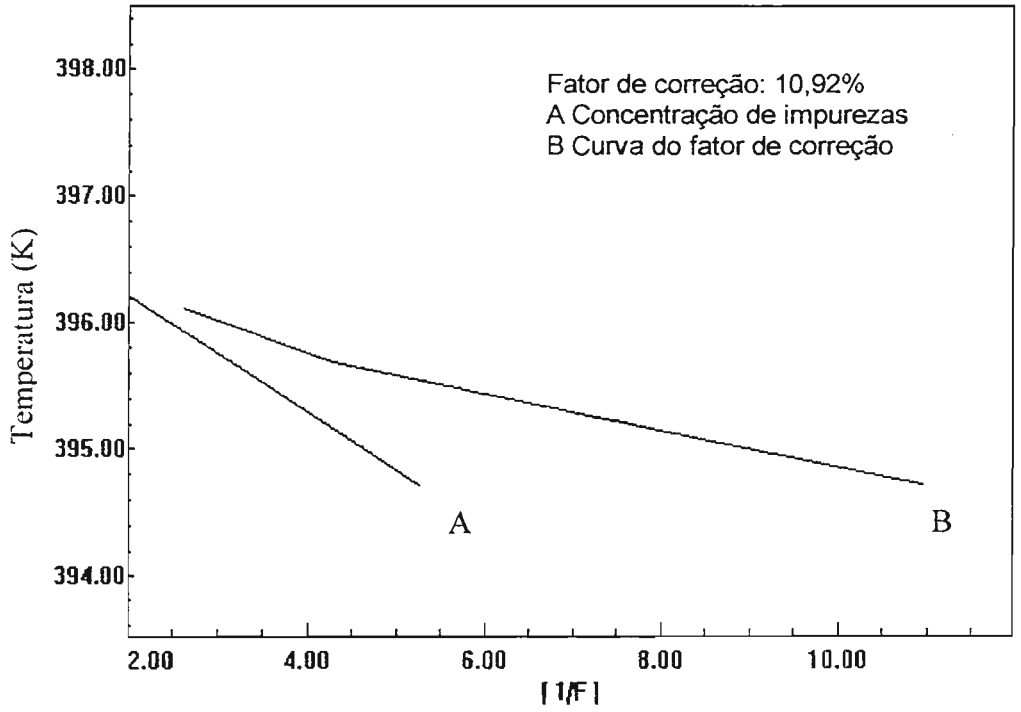


Figura 4.8 - Gráfico representativo da linearização de van't Hoff a partir da curva DSC do AZT (Produto A)

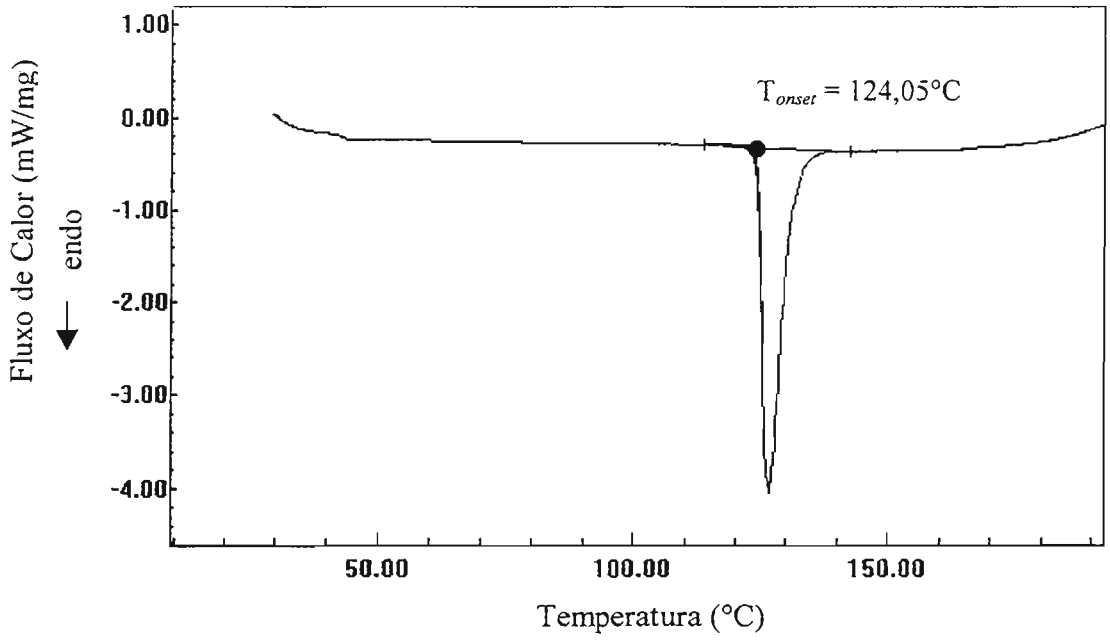


Figura 4.9 - Curva DSC do AZT (Produto B) sob atmosfera dinâmica de N_2 (50 mL.min^{-1}) e razão de aquecimento de 2°C.min^{-1}

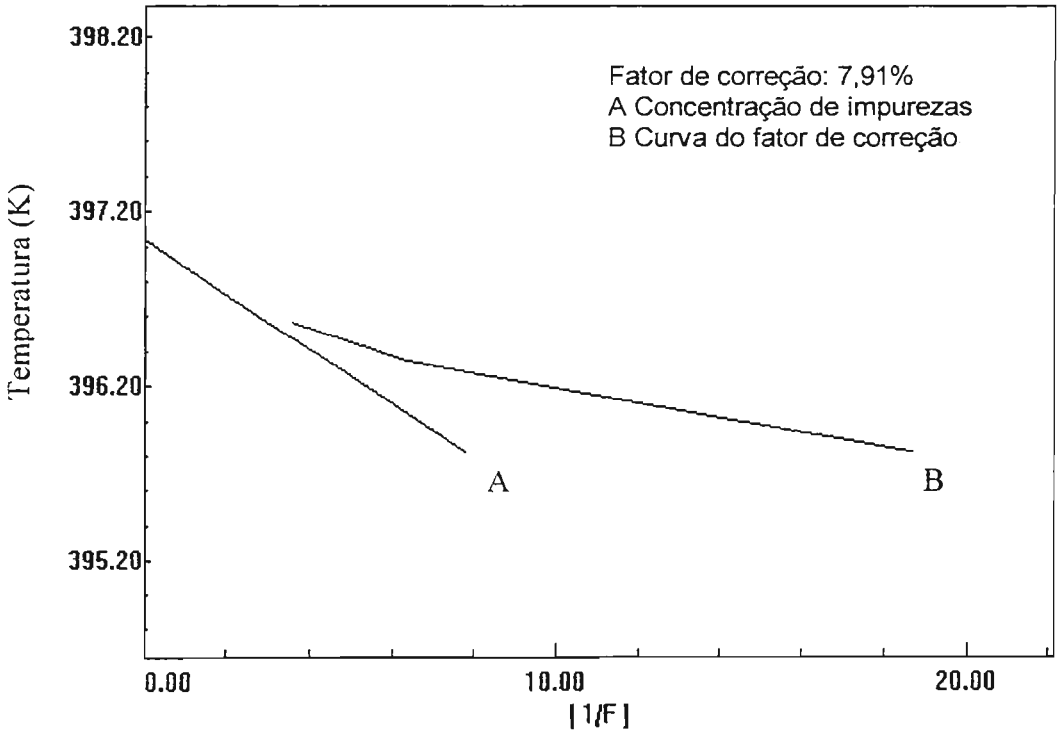


Figura 4.10 - Gráfico representativo da linearização de van't Hoff a partir da curva DSC do AZT (Produto B)

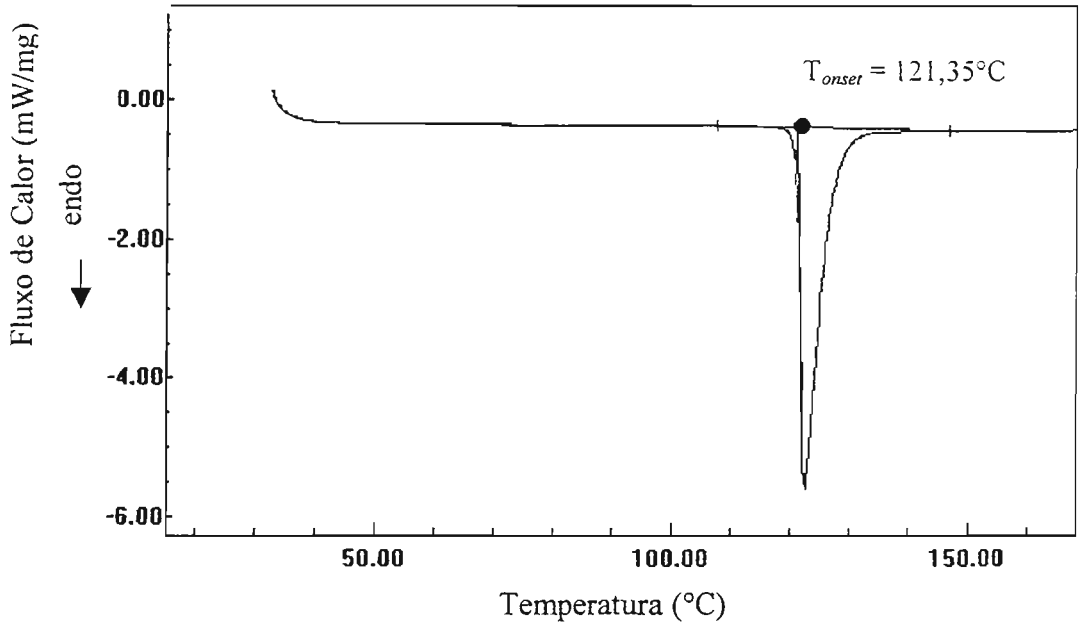


Figura 4.11 - Curva DSC do AZT (Produto C) sob atmosfera dinâmica de N_2 (50 mL.min^{-1}) e razão de aquecimento de 2°C.min^{-1}

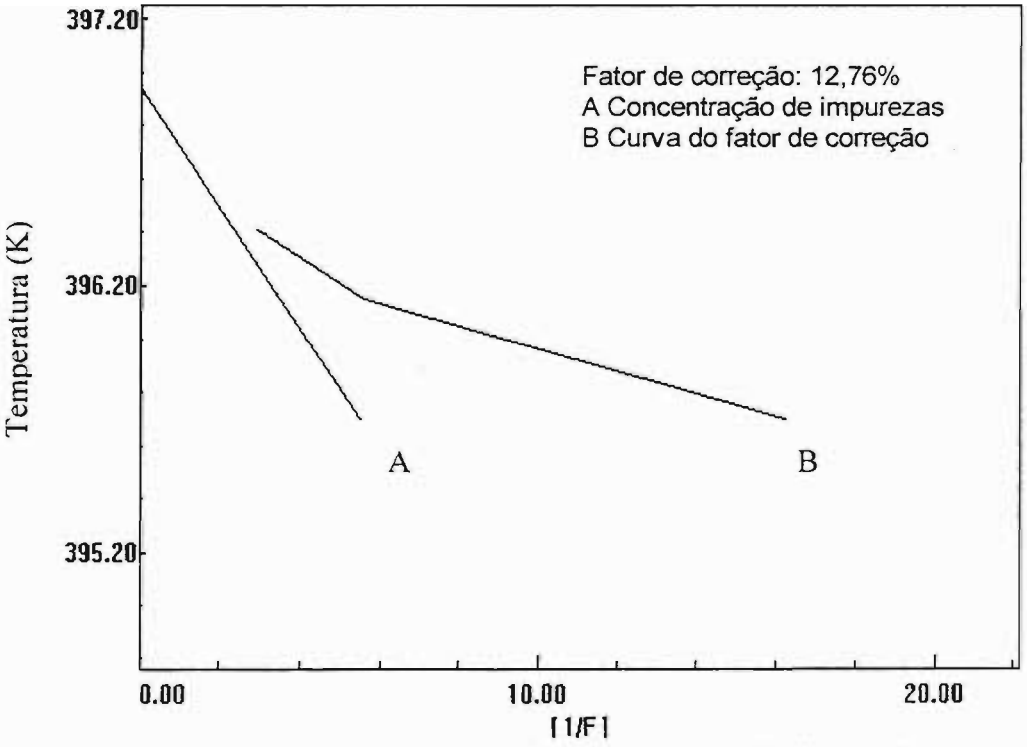


Figura 4.12 - Gráfico representativo da linearização de van't Hoff a partir da curva DSC do AZT (Produto C)

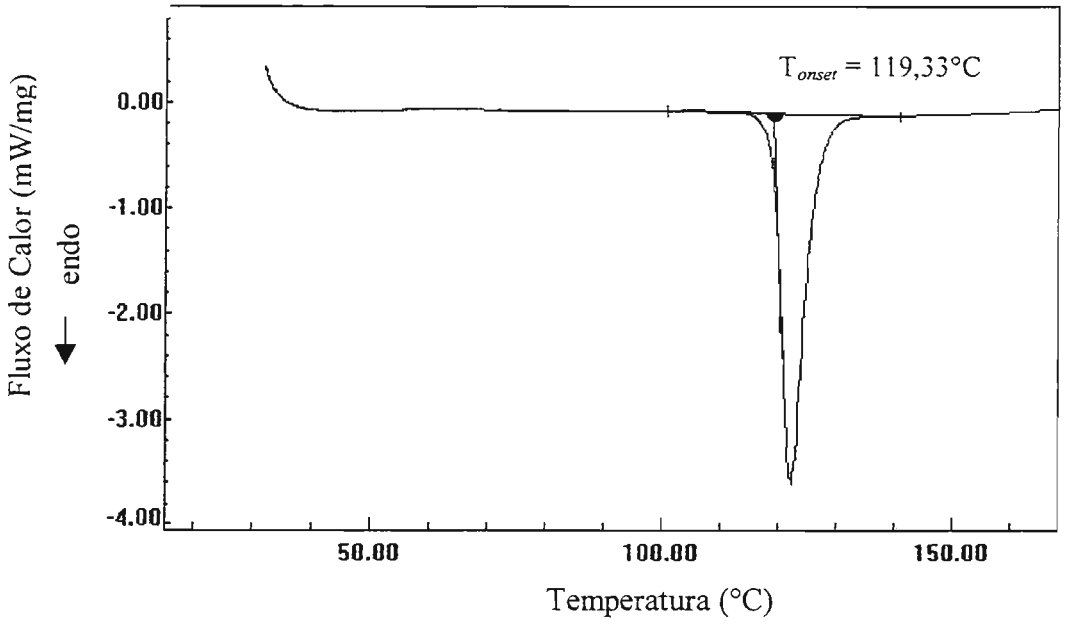


Figura 4.13 - Curva DSC do AZT (Produto D) sob atmosfera dinâmica de N_2 (50 mL.min^{-1}) e razão de aquecimento de 2°C.min^{-1}

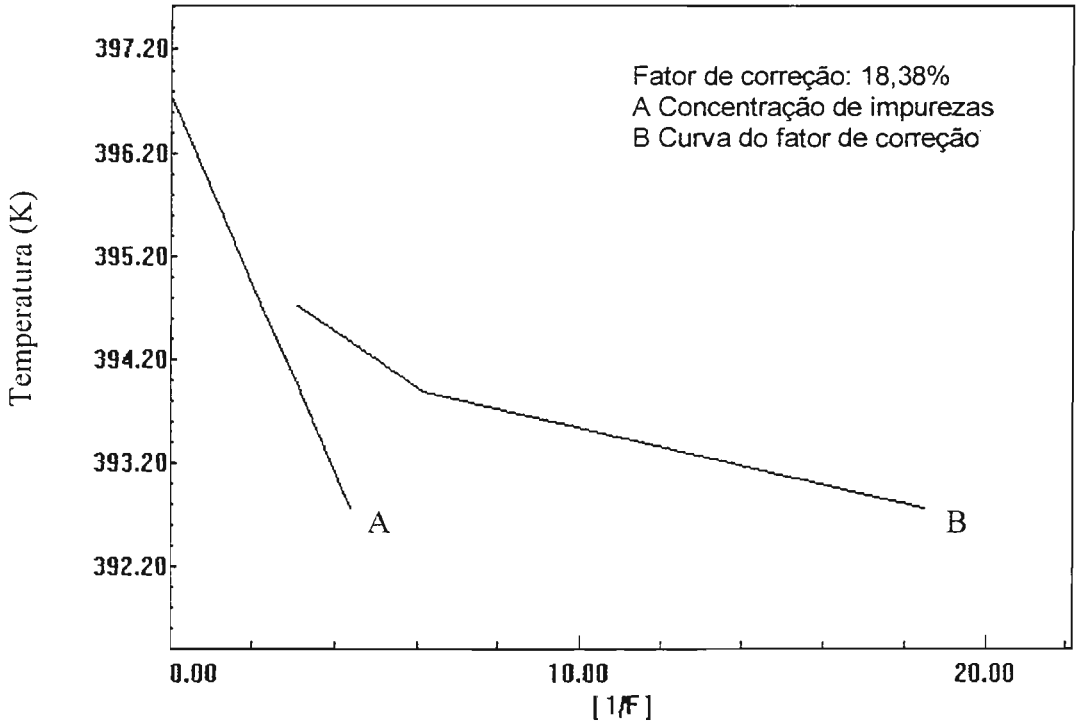


Figura 4.14 - Gráfico representativo da linearização de van't Hoff a partir da curva DSC do AZT (Produto D)

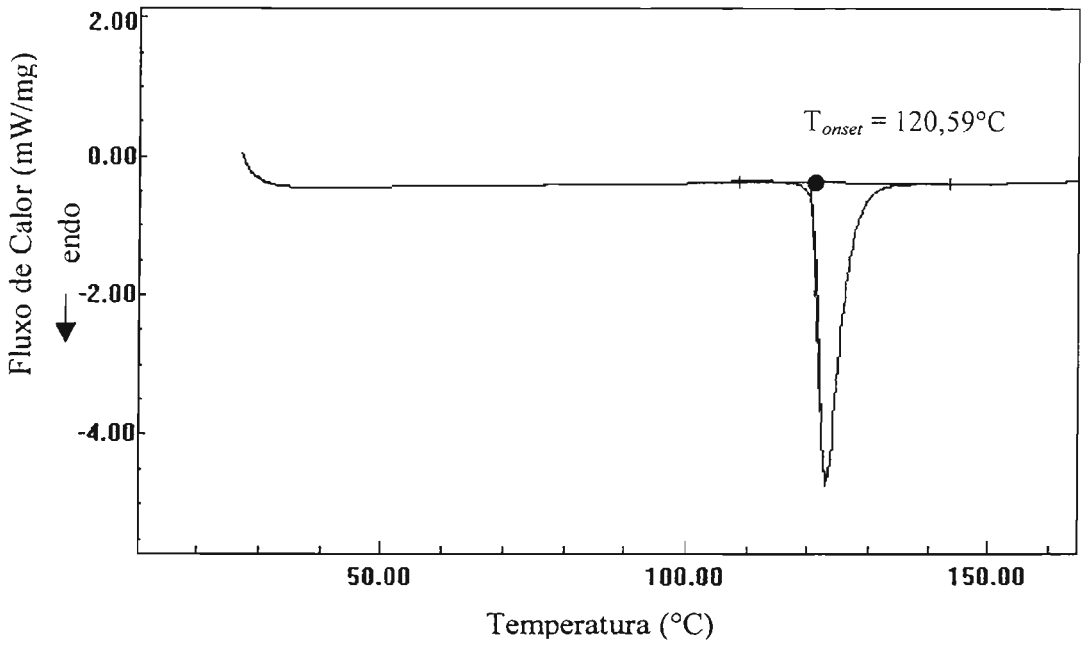


Figura 4.15 - Curva DSC do AZT (Produto E) sob atmosfera dinâmica de N_2 (50 mL.min^{-1}) e razão de aquecimento de 2°C.min^{-1}

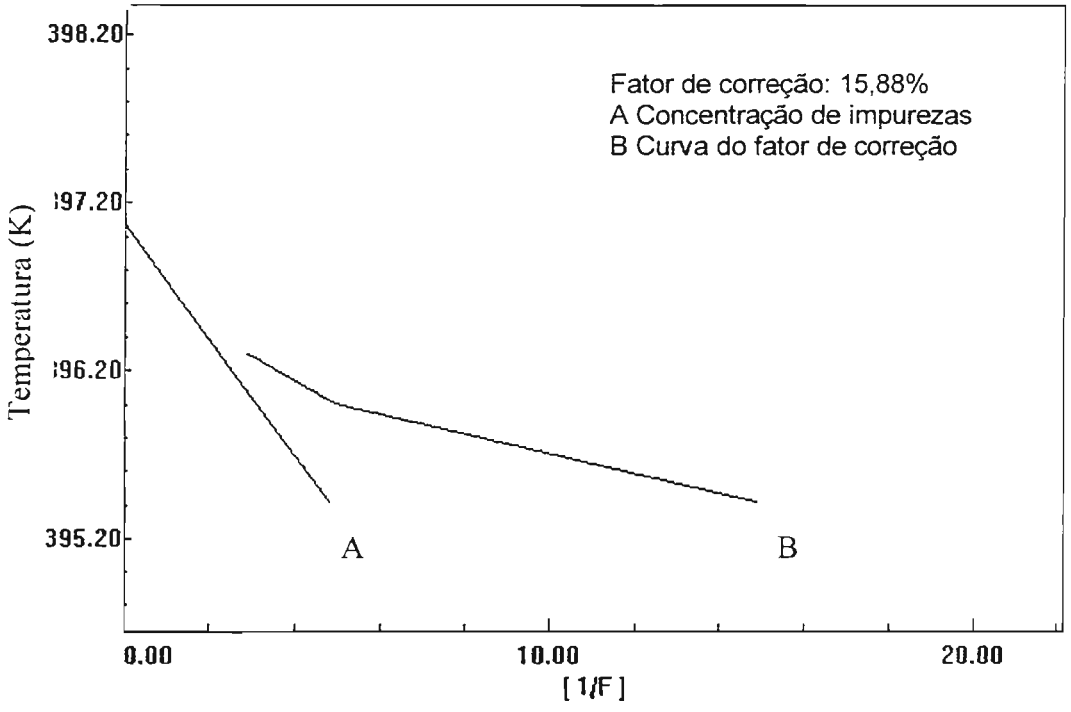


Figura 4.16 - Gráfico representativo da linearização de van't Hoff a partir da curva DSC do AZT (Produto E)

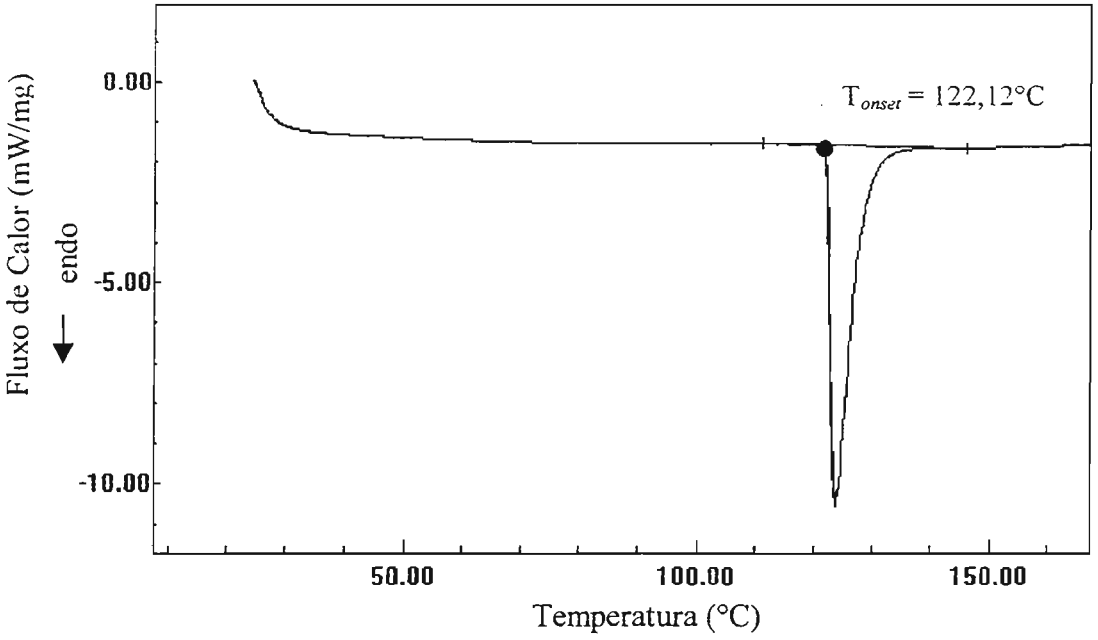


Figura 4.17 - Curva DSC do AZT (Produto F) sob atmosfera dinâmica de N_2 (50 mL.min^{-1})e razão de aquecimento de 2°C.min^{-1}

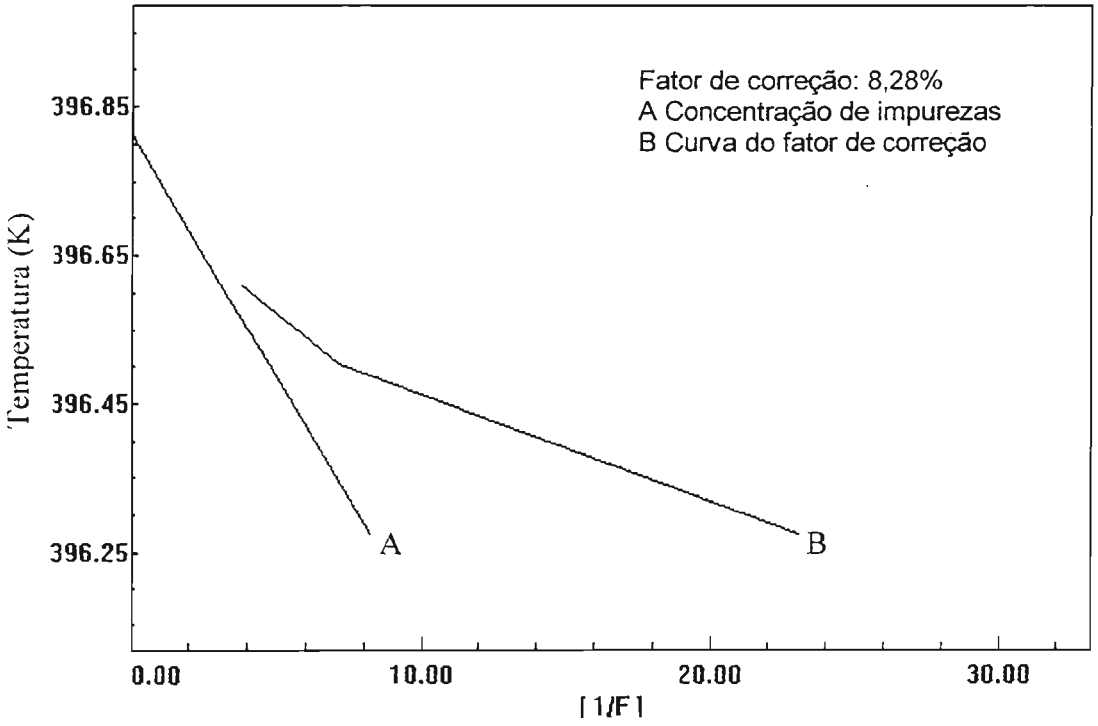


Figura 4.18 - Gráfico representativo da linearização de van't Hoff a partir da curva DSC do AZT (Produto F)

Tabela 4.3 - Avaliação da pureza, temperatura de fusão e $\Delta H_{fusão}$ das amostras de AZT (matéria-prima e substância química de referência) a partir dos ensaios por DSC (n=3) nas seguintes condições: atmosfera dinâmica de N_2 (50 mL.min^{-1}), razão de aquecimento de 2°C.min^{-1}.

Produtos	Grau de pureza (%)	$T_{onset\ de\ fusão}$ (°C)	$\Delta H_{fusão}$ (kJ.mol^{-1})
Subst. Quím. Ref.	99,83 ± 0,09	122,80 ± 0,76	31 ± 0,56
Produto A	98,94 ± 0,14	120,81 ± 0,12	29 ± 0,86
Produto B	99,54 ± 0,28	122,87 ± 0,83	29 ± 0,90
Produto C	98,43 ± 0,10	121,82 ± 0,35	30 ± 1,06
Produto D	97,59 ± 0,16	118,70 ± 0,43	29 ± 1,30
Produto E	98,02 ± 0,11	121,19 ± 0,42	30 ± 1,02
Produto F	99,01 ± 0,12	122,32 ± 0,86	32 ± 0,37

4.4 CONCLUSÃO

A determinação da pureza de substâncias por DSC é considerada uma técnica rápida e confiável para sistemas eutéticos, nos quais a fusão não é acompanhada pela decomposição do material. A técnica oferece como principais vantagens, em relação à cromatografia e a espectroscopia, a análise de todas as impurezas, normalmente não requer padrões e permite medir de forma simultânea a faixa de fusão e a variação de entalpia. Neste trabalho foi feita a comparação de seis amostras comerciais do fármaco AZT e a análise da substância química de referência fornecida pela *United States Pharmacopeia.*

De acordo com os resultados, pode-se observar que a substância química de referência apresentou um teor igual a 99,83% e que as amostras de AZT apresentaram uma faixa de variação entre 97,5 e 99,4%. Sabendo-se que o desvio-padrão geralmente é usado para definir intervalos em torno da média, observa-se que os resultados obtidos para os ensaios em triplicatas por DSC mostram-se bastante concordantes e com baixa dispersão dos valores. Pode-se verificar ainda que a substância química de referência apresentou uma temperatura *onset* de fusão igual a 122,8°C. Para as amostras dos princípios ativos fornecidos pelos diferentes laboratórios, pode-se verificar uma faixa de variação entre 118,7 e 122,9°C. No que se refere ao $\Delta H_{fusão}$, as amostras apresentaram um

valor médio de 30 $kJ.mol^{-1}$, para um desvio-padrão abaixo de 5%, mostrando, assim, uma boa reprodutibilidade para a análise em DSC. Por fim, o número de trabalhos publicados nos últimos anos, a rapidez na obtenção dos resultados e o desenvolvimento de programas de cálculos por computadores têm estimulado e apontado essa técnica como bastante promissora.

4.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BEZJAK, A., GRDINIC, V., CETINA-CIZMEK., B. Refinement of parameters in differential scanning calorimetric purity determinations. **Acta Pharm.**, Zagreb, v.42, p.239-250, 1992.

BLAINE, R.L. & SCHOFF, C.K. Purity determinations by thermal methods. Baltimore, ASTM Publications Code Number, 151.p, 1983.

BOWMAN, P.B., ROGERS, L.B. Purity determinations by differential thermal analysis. **Talanta**, Netherlands, v. 14, p. 377-411, 1967.

BUCKTON, G., RUSSEL S.J., BEEZER, A.E. Pharmaceutical calorimetry: a selective review. **Thermochim. Acta**, Amsterdam, v.193, p.195-214, 1991.

CAMMENGA, H.K., EPPLE, M. Basic principles of Thermoanalytical Techniques and Their Applications in Preparative Chemistry. **Angew. Chem., Int. Ed. Engl.**, New York, v.34, p.1171-1187, 1995.

CANOTILHO, J., SOUSA, AT.B., PINTO, J.A.M.C. Análise térmica: Interesse em tecnologia farmacêutica. **Rev. Port. Farm.**, Lisboa, v.42, n.4, p.5-12, 1992.

FORD, J.L., TIMMINS, P. **Pharmaceutical thermal analysis**: technique and application. New York: Willey-Interscience, 1986. 313p.

GIRON, D. Contribution of thermal methods and related techniques to the rational development of pharmaceuticals. Part 1. **Pharm. Sci. Technol. Today**, Bethesda, v.1, p.191-199, 1998.

GIRON, D. Contribution of thermal methods and related techniques to the rational development of pharmaceuticals. Part 2. **Pharm. Sci. Technol. Today**, Bethesda, v.6, p.262-268, 1998.

GIRON, D., GOLDBRONN, C. Place of DSC purity analysis in pharmaceutical development. **Journal of Thermal Analysis**. Dordrecht, v. 44, p. 217-251, 1995.

GIRON, D. Thermal analysis, microcalorimetry and combined techniques for the study of pharmaceuticals. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, Dordrecht, v. 56, p. 1285-1304, 1999.

HAINES, P.J. **Thermal methods of analysis**: principles, application and problems. London: Chapman & Hall, 1995. 286p.

HARDY, M.J. Pharmaceutical applications of thermal analysis. In. Charsley, E.L., Warrington, S.B. **Thermal Analysis: techniques & applications**. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 1992. p.180-197.

LVOVA, M.Sh., KOZLOV, E.I., WISHNEVEZKAYA, I.A. Thermal analysis in the quality control and standardization of some drugs. **Journal of Thermal Analysis**, Dordrecht, v. 40, p. 405-411, 1993.

STAUB, H., PERRON, W. New method of purity determination by means of calorimetric differential thermal analysis. **Analytical Chemistry**, Washington, v. 46, p. 128-130, 1974.

THOMPSON, K.C. Pharmaceutical applications of calorimetric measurements in the new millennium. **Thermochim. Acta**, Amsterdam, v.355, p.83-87, 2000.

WENDLANDT, W.W. **Thermal analysis**. 3.ed. New York: Willey, 1986. p. 814.

WIDMANN, G., SCHERRER, O. A new program for DSC purity analysis. **J. Therm. Anal.**, Dordrecht, v.37, p.1957-1964, 1991.

CAPÍTULO V

Estudo de compatibilidade fármaco/excipiente visando ao desenvolvimento de formas farmacêuticas sólidas de AZT

Após a avaliação do comportamento térmico e realização de ensaios de pureza de uma matéria-prima, uma das etapas mais importantes para o desenvolvimento farmacotécnico é o estudo de pré-formulação. Esta etapa compreende a avaliação das propriedades físicas e físico-químicas de um determinado fármaco isolado e associado a determinados excipientes. Nos últimos 20 anos, a análise térmica vem se mostrando como uma ferramenta importante para avaliação da compatibilidade e identificação de interações entre compostos em fase de pré-formulação. Neste capítulo é feito um estudo do AZT em mistura com mais de 20 excipientes comumente utilizados em formas farmacêuticas sólidas.

"A ciência é incompleta, é criação nossa e nós somos seres incompletos".

Marcelo Gleiser

5.1 INTRODUÇÃO

O ponto de partida para formulação de um novo medicamento é denominada por pré-formulação. Esta fase do desenvolvimento é caracterizada como a avaliação das propriedades físicas e químicas fundamentais de um determinado fármaco, isolado ou associado a diversos excipientes (FIESE & HAGEN, 2001). Deve-se esclarecer, no entanto, que a junção do fármaco a alguns excipientes visa apenas esclarecer eventuais incompatibilidades que se possam manifestar, utilizando-se em regra apenas misturas binárias cujas proporções não são utilizadas na prática farmacêutica. As principais incompatibilidades em sólidos se manifesta pela formação de misturas eutéticas (PRISTA *et al.*, 1990). De um modo geral, define-se a mistura eutética como a que resulta da mistura de componentes cuja proporção lhes confira o mais baixo ponto de fusão. Quando se misturam fenóis ou compostos fenólicos, aldeídos ou cetonas, o ponto de fusão da mistura é muito inferior ao de qualquer dos componentes isolados, podendo ocorrer a sua liquefação ou empastamento (PRISTA *et al.*, 1992).

Para o desenvolvimento de formas farmacêuticas, como comprimidos e cápsulas, é necessária a presença de substâncias designadas de adjuvantes farmacotécnicos ou excipientes, com finalidades diversas como aglutinantes, diluentes, absorventes, desagregantes, lubrificantes, molhantes, corantes, aromatizantes, edulcorantes, tampões e outros (GOMES-PINHO, 2000). Durante muito tempo essas substâncias foram consideradas inertes, entretanto, atualmente, sabe-se que podem influenciar acentuadamente sobre a ação terapêutica dos fármacos (BLANCHARD, 1978; ABDOU, 1995; CONSIGLIERE, 1996). Alguns trabalhos mencionam que a simples mudança de um adjuvante, aparentemente inócua, causou sérios transtornos, citando-se o exemplo clássico do caso da fenitoína. A literatura registra inúmeros problemas de bioequivalência de medicamentos contendo, por exemplo, ácido acetilsalicílico, cloranfenicol, riboflavina, griseofulvina, tetraciclina e fenilbutazona, pelo simples fato de se ter substituído um excipiente na formulação. Em outros casos, a interação do adjuvante causou aumento ou redução do efeito farmacológico (BLANCHARD, 1978).

A calorimetria exploratória diferencial (DSC), a análise térmica diferencial (DTA) e a termogravimetria (TG) têm sido largamente utilizada nas últimas décadas como uma ferramenta para avaliação de possíveis incompatibilidades entre os componentes da formulação (HARDY, 1992; BALESTRIERI *et al.*, 1996; GIRON, 1998). A análise é feita por intermédio da comparação das curvas termoanalíticas das substâncias puras com aquelas obtidas da mistura física na proporção

1:1, em massa, onde, em caso de não ocorrência de incompatibilidade, a curva da mistura mostra-se como um somatório das curvas relativas aos componentes puros. Alterações nos perfis termoanalíticos das espécies, como deslocamentos, redução significativa ou desaparecimentos de picos na curva DSC, quando comparados aos perfis dos compostos individualmente, podem caracterizar incompatibilidade fármaco/excipiente ou fármaco/fármaco (HOLGADO *et al.*, 1995, BOGDANOVA *et al.*, 1998; RODANTE *et al.*, 2002). O mesmo deve acontecer para os registros por TG/DTG, em que a diminuição da estabilidade térmica das substâncias quando em misturas, representadas por deslocamentos de eventos de perda de massa, podem caracterizar uma interação entre as espécies. No entanto, problemas de interpretação podem ocorrer quando há diferenças nestas curvas. Nestes casos, deve ser levado em conta que as técnicas termoanalíticas necessariamente requerem uma elevação da temperatura e esta elevação pode induzir reações que não ocorrem na temperatura ambiente, ou seja, em casos de estocagem. Para a realização deste estudo é necessário confrontar as curvas DSC e TG, pois a correlação desses dados torna-se fundamental para uma boa interpretação (FORD & TIMMINS, 1986; THOMPSON, 2000).

Diversos trabalhos vêm sendo apresentados na literatura envolvendo a aplicação da análise térmica como uma técnica rápida para avaliação da compatibilidade fármaco/excipiente (MURA *et al.*, 1998; VENKATARAM *et al.*, 1995; LOTTER *et al.*, 1997; GOMES-PINHO *et al.*, 1998) ou fármaco/fármaco (BOGDANOVA *et al.*, 1998; IGLESIAS *et al.*, 1998; AOKI *et al.*, 1997). VENKATARAM *et al.*, em 1995, empregaram a técnica de DSC, utilizando razão de aquecimento de $10°C.min^{-1}$, faixa de temperatura entre 25 e 300°C, e atmosfera dinâmica de nitrogênio para avaliar possíveis incompatibilidades entre vários excipientes e a indometacina. Verificaram que dos excipientes testados, o ácido esteárico, PEG 8000 e o fosfato de cálcio decaidratado mostraram forte interação com o fármaco. Outro estudo foi publicado por LOTTER *et al.*, em 1997, para avaliação da compatibilidade entre excipientes e os princípios ativos albendazol e o closantel. Neste estudo os dados apresentados por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e por DSC se mostraram semelhantes, indicando a complementaridade das técnicas, sendo apontado como incompatível a utilização do estearato de magnésio com esses fármacos.

GOMES-PINHO *et al.*, em 1998, mostraram a aplicação das técnicas termoanalíticas no estudo de pré-formulação de comprimidos de cloridrato de metformina. Neste estudo foi constatado que a mistura entre a lactose e o cloridrato de metformina provoca diminuição da estabilidade térmica dos materiais quando comparados aos componentes puros. Pelas curvas DSC, os eventos entálpicos da mistura também foram deslocados, sendo assim concluído que nas condições

estudadas existe interação entre as espécies. Isto é previsto nos compêndios e formulários farmacêuticos, visto que a lactose é incompatível com compostos que apresentam em sua estrutura grupo amino primário, como algumas anfetaminas e aminoácidos. MURA *et al.*, em 1998, usaram TG e DSC como técnica exploratória para avaliação de interações entre a picotamida e diversos excipientes. Dentre as principais vantagens apontadas pelos autores pode-se destacar: utilização de pequenas quantidades de amostra, a rapidez na obtenção dos resultados, a não necessidade de longos tempos de estocagem e a possibilidade de avaliação geral da amostra (BROW *et al*, 1999).

Um outro tipo de estudo foi publicado por IGLESIAS *et al*, em 1998, envolvendo a combinação de nifedipino e atenol para o desenvolvimento de comprimidos para o tratamento da hipertensão. Neste trabalho foram obtidas curvas DSC para série de misturas, nas quais variaram as proporções de ambos os fármacos entre 1:9 e 9:1, em massa, sendo construído a partir daí um diagrama de fases para as misturas. Os resultados indicaram que a proporção de 40:60, em massa, de nifedipino e atenolol, respectivamente, seria a proporção em que há a formação de uma mistura eutética entre as espécies.

Tendo em vista o constante interesse das aplicações da análise térmica na avaliação da compatibilidade fármaco/excipiente, este trabalho teve como objetivo estudar o comportamento térmico do fármaco AZT, com pouco mais de 20 excipientes comumente utilizados em formas farmacêuticas sólidas, assim como, o comportamento da mistura fármaco/excipiente. Dados de estabilidade térmica, temperatura de fusão e decomposição térmica foram empregados para este estudo.

5.2 MATERIAIS E MÉTODOS

Neste estudo foi utilizado um padrão secundário do AZT (princípio ativo) fornecido pela Fundação para o Remédio Popular-FURP, lote 22459710. Para avaliação do estudo de compatibilidade foram utilizados os seguintes excipientes: gelatina, polyox 30® (Union Carbide, lote 023), amido glicolato de sódio-Explosol® (Blanver, lote 02), β-ciclodextrina (Merck, lote F6080-134), goma arábica, sorbitol, PEG 4000 (Galena, lote: 373395/1), PEG 6000 (Galena, lote: 373509/1), PEG 20000 (Galena, lote: 380106/143698), PVP-Kolidon 303 (Basf, lote 550241), manitol (Henrifarma, lote 506/97), amido de milho (LAFEPE, lote 003), celulose microcristalina (Iquego, lote 20199/001), ácido esteárico (Henrifarma, lote 2311), hidroxipropilmetilcelulose,

etilcelulose (Farmasa, lote 13211), estearato de magnésio (Iquego, lote 17199/001), lactose M200 (Henrifarma, lote 870), talco (Iquego, lote 08599/001), aerosil (Henrifarma, lote 02), carbopol (Polyfarma, lote 3591) e croscarmelose. Todos os excipientes testados foram adquiridos através de doação de laboratórios farmacêuticos e fornecedores de matérias-primas. As misturas físicas foram preparadas e homogeneizadas a partir de aproximadamente 20 mg de cada, com o auxílio de um gral.

As curvas DSC foram obtidas na faixa de temperatura entre 25 e 550°C, utilizando-se célula calorimétrica modelo DSC-50 da marca Shimadzu, sob atmosfera dinâmica de nitrogênio (50 $mL.min^{-1}$), razão de aquecimento de $10°C.min^{-1}$, utilizando cápsula de alumínio parcialmente fechada contendo aproximadamente 2 mg de amostra. A célula DSC foi calibrada e/ou verificada antes dos ensaios no eixo de temperatura utilizando padrões de índio ($T_{fusão}$ =156,6°C) e zinco ($T_{fusão}$ = 419,5°C) metálicos com pureza de 99,99%. Para o quantidade de calor empregou-se o $\Delta H_{fusão}$ do índio metálico (28,7 $J.g^{-1}$). As curvas TG/DTG foram obtidas na faixa de temperatura entre 25 e 900°C, utilizando-se termobalança modelo TGA-50 da marca Shimadzu, sob atmosfera dinâmica de nitrogênio e em ar (50 $mL.min^{-1}$), razão de aquecimento de $10°C.min^{-1}$, utilizando cadinho de platina contendo massa de amostra em torno de 3 mg. Antes dos ensaios verificou-se a calibração do instrumento empregando-se uma amostra de oxalato de cálcio monoidratado conforme, norma ASTM (1582 – 93).

5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A curva DSC do AZT (Fig. 5.1) mostra um primeiro evento endotérmico, na faixa de temperatura entre 115 e 135°C (ΔH=27,8 $kJ.mol^{-1}$), característico do processo de fusão do fármaco. A partir da temperatura de 160°C, observou-se o início do processo de decomposição térmica do AZT, sendo este dividido em duas etapas: a primeira exotérmica e a segunda endotérmica. A etapa exotérmica ocorreu na faixa de temperatura entre 160 e 260°C, apresentando um valor de entalpia em torno de 268,8 $kJ.mol^{-1}$ e temperatura de pico em 234°C. A etapa posterior, endotérmica, pode ser observada na faixa de temperatura entre 280 e 360°C (ΔH=44,3 $kJ.mol^{-1}$), e é indicada por dois picos na curva DSC nas temperaturas de 260 e 303°C. Enquanto a curva DSC mostra um evento endotérmico em 123°C, característico da fusão do fármaco, nas curvas TG/DTG observa-se um patamar até ~180°C, indicando que até essa temperatura o AZT é termicamente

estável. A partir de 180°C são observados, basicamente, três eventos de perda de massa. O primeiro ocorre entre 177 e 245°C e Δm=51,2%. O segundo evento ocorre entre 245 e 345°C e Δm=20.3%. Após este evento a decomposição térmica se processa lentamente entre 350 e 770°C devido à carbonização e eliminação gradativa de material carbonáceo. Nesta terceira etapa a perda de massa é de ~28,4%.

O comportamento térmico da lactose é ilustrado nas Figuras 5.1 e 5.2. A curva DSC mostrou um pico endotérmico correspondente à desidratação numa temperatura em torno de 150°C. Um evento exotérmico pode ser observado na temperatura de 176°C, devido à transição cristalina sofrida pela lactose passando da forma α para a forma β (GOMES-PINHO *et al.*, 1998). Após esse evento um pico endotérmico em 217,9°C representa a fusão do excipiente seguida pela sua decomposição térmica (Fig. 5.1). A partir das curvas TG (Fig. 5.2) foram observadas quatro etapas de perda de massa, sendo elas: desidratação (Δm_1=5,4% e DTG_{pico}=144°C), decomposição térmica em duas etapas (Δm_2=19,3% e DTG_{pico}=248°C e Δm_3 = 47,9% e DTG_{pico}= 306°C), e eliminação de material carbonáceo a partir de 320°C (Δm_4=32,7%). As curvas DSC e TG da mistura física AZT/lactose (Figuras 5.1 e 5.2), mostraram que não houve alterações nos perfis termoanalíticos das amostras, sendo as mesmas o somatório de eventos observados para os compostos individualmente.

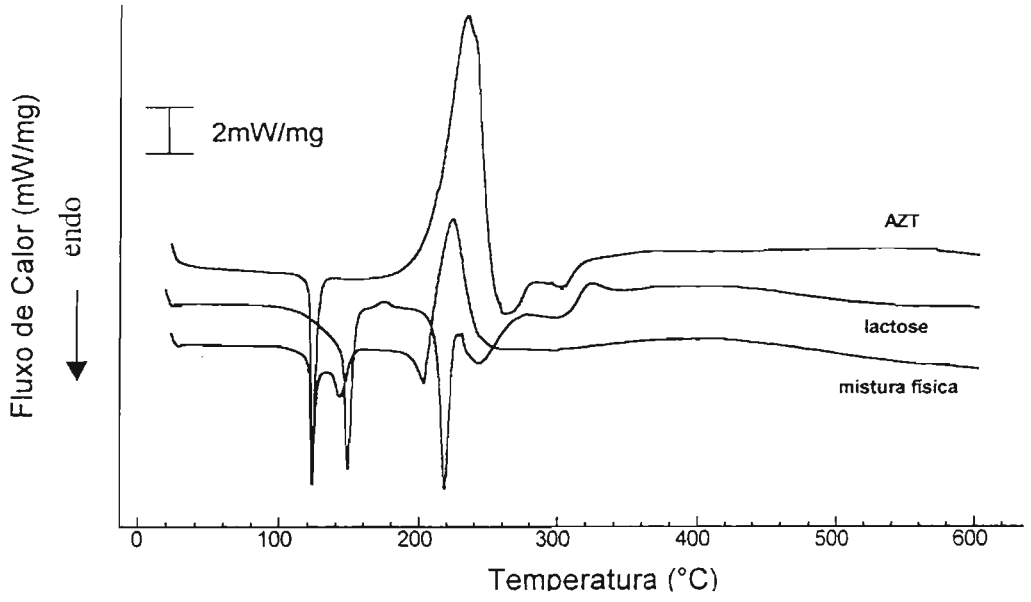


Figura 5.1 - Curvas DSC do AZT, da lactose e da mistura física (1:1 m/m), obtidas na razão de aquecimento de 10°C.min^{-1} sob atmosfera dinâmica de N_2 (50 mL.min^{-1})

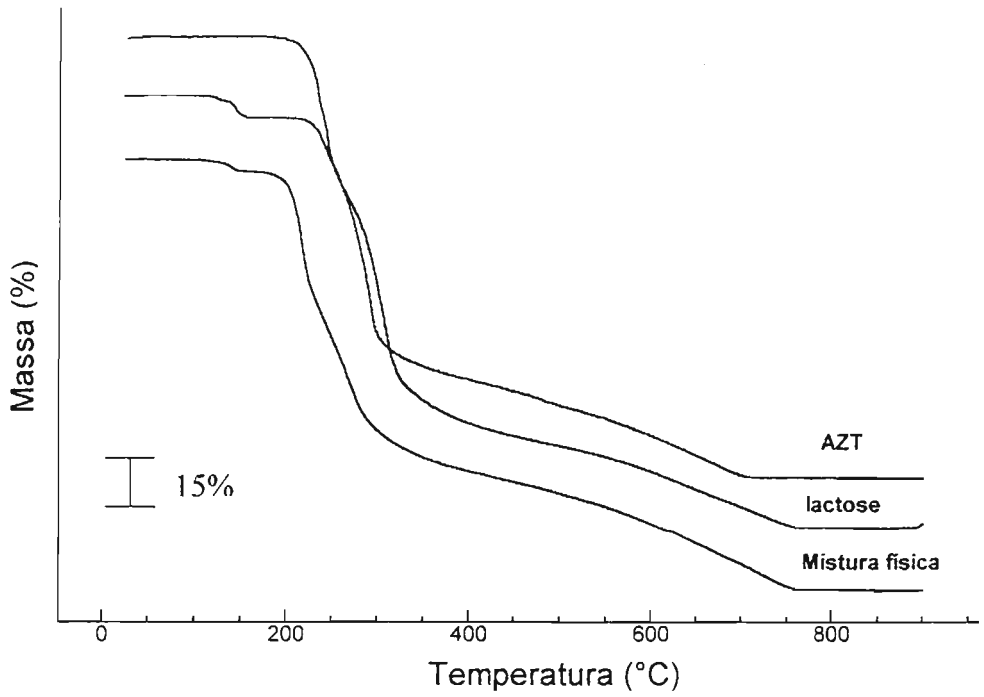


Figura 5.2 - Curvas TG do AZT, da lactose e da mistura física (1:1 m/m), obtidas na razão de aquecimento de 10°C.min^{-1} sob atmosfera dinâmica de N_2 (50 mL.min^{-1})

Os polietilenoglicóis são freqüentemente utilizados nas formulações de comprimidos e cápsulas como agentes aglutinantes e prestam-se a assegurar regularidade de escoamento do granulado, uma vez que a sua mistura permite a formação de uma monocamada sobre o grânulo (GOMES-PINHO, 1999). As curvas DSC e TG do PEG 4000 são apresentadas nas Figuras 5.3 e 5.4, respectivamente. O comportamento térmico apresentado pelos PEG's 6000 e 20.000, são similares e são mostrados nas Figuras 5.5-5.8, respectivamente. De acordo com estes gráficos puderam ser observados picos endotérmicos correspondentes à fusão dos polímeros nas seguintes temperaturas: $T_{fusão}$= 62°C (ΔH=199,3 J.g^{-1}), $T_{fusão}$= 60°C (ΔH=189,3 J.g^{-1}) e $T_{fusão}$= 64°C (ΔH=200 J.g^{-1}). Os perfis termoanalíticos apresentados pelas misturas com o AZT mostraram uma redução, alargamento e deslocamento do pico endotérmico referente à fusão do mesmo. Nestes casos, a mudança dos perfis termoanalíticos não necessariamente indica a existência de incompatibilidade entre as espécies, mas sim uma interação forte em função do aquecimento. Um fato similar deste efeito foi descrito por MURA *et al.* (1993) para o naproxeno, por NAJIB e SULEIMAN (1989), para o fármaco diflunisal, e por FERNANDEZ *et al.* (1992) para o piroxicam, em misturas com vários PEG's. Essa característica foi atribuída à dissolução do fármaco no polímero fundido.

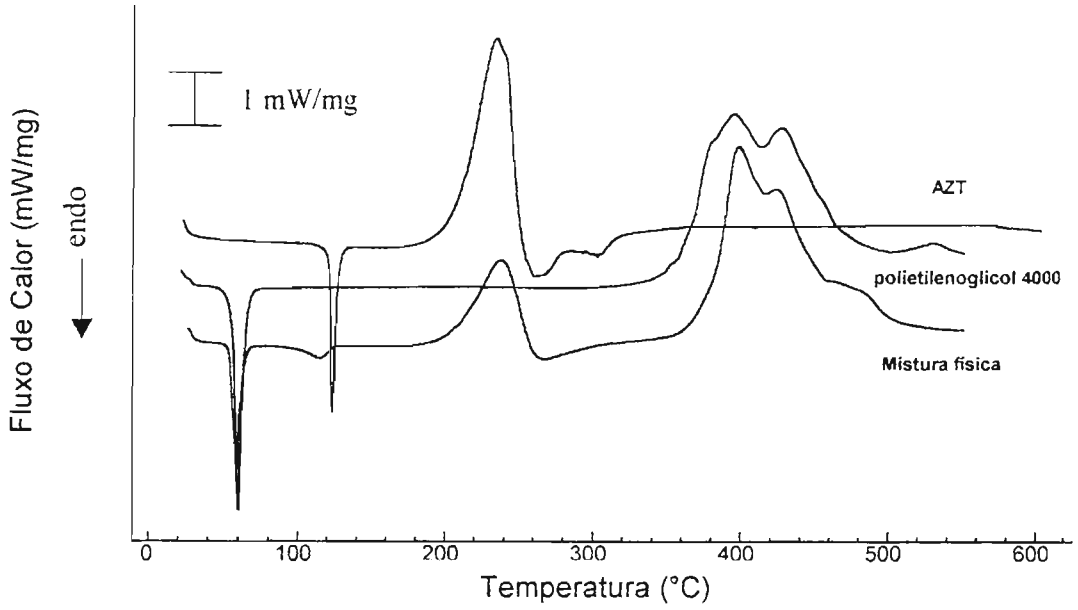


Figura 5.3 - Curvas DSC do AZT, do PEG 4000 e da mistura física (1:1 m/m), obtidas na razão de aquecimento de 10°C.min^{-1} sob atmosfera dinâmica de N_2 (50 mL.min^{-1})

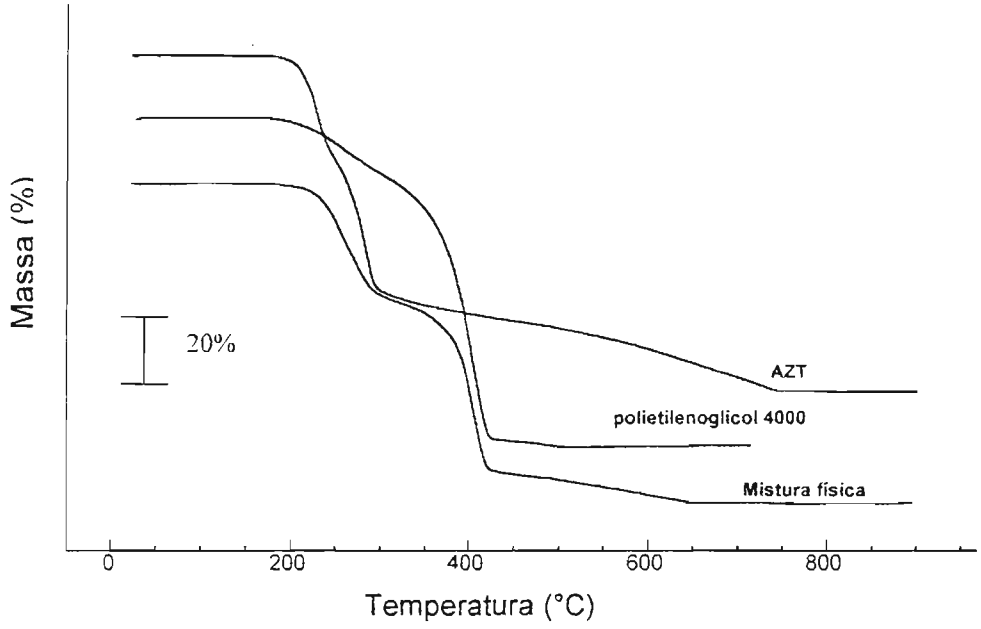


Figura 5.4 - Curvas TG do AZT, do PEG 4000 e da mistura física (1:1 m/m), obtidas na razão de aquecimento de 10°C.min^{-1} sob atmosfera dinâmica de N_2 (50 mL.min^{-1})

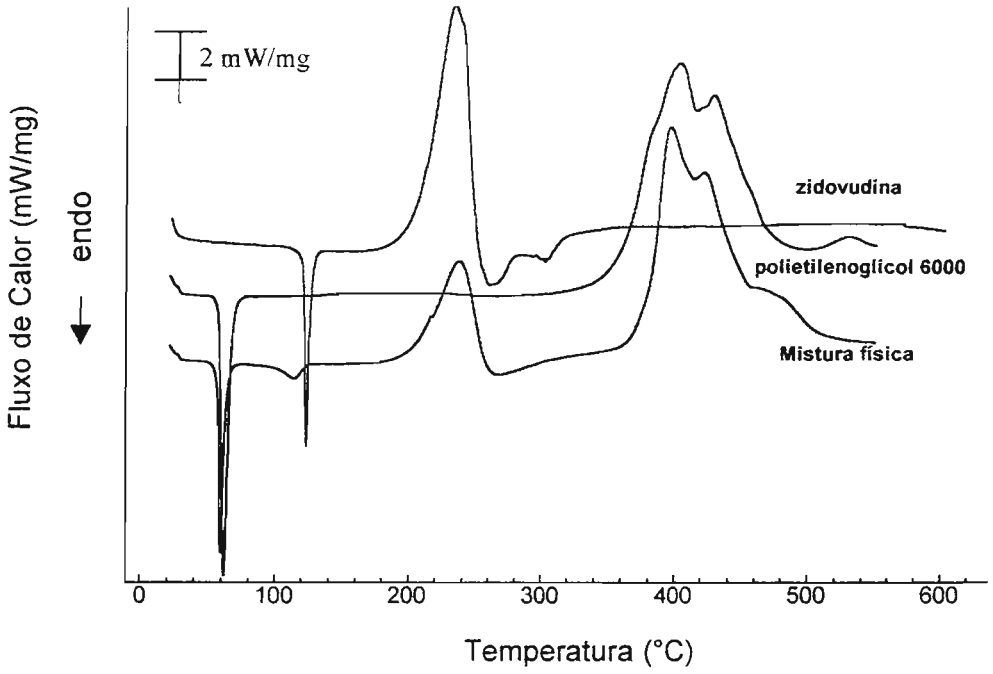


Figura 5.5 - Curvas DSC do AZT, do PEG 6000 e da mistura física (1:1 m/m), obtidas na razão de aquecimento de 10°C.min^{-1} sob atmosfera dinâmica de N_2 (50 mL.min^{-1})

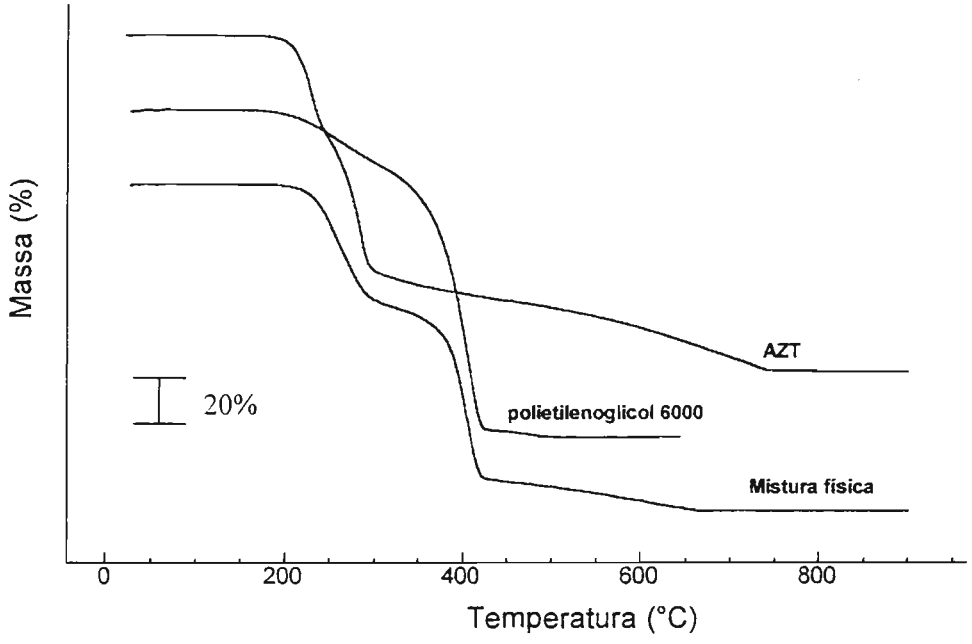


Figura 5.6 - Curvas TG do AZT, do PEG 6000 e da mistura física (1:1 m/m), obtidas na razão de aquecimento de 10°C.min^{-1} sob atmosfera dinâmica de N_2 (50 mL.min^{-1})

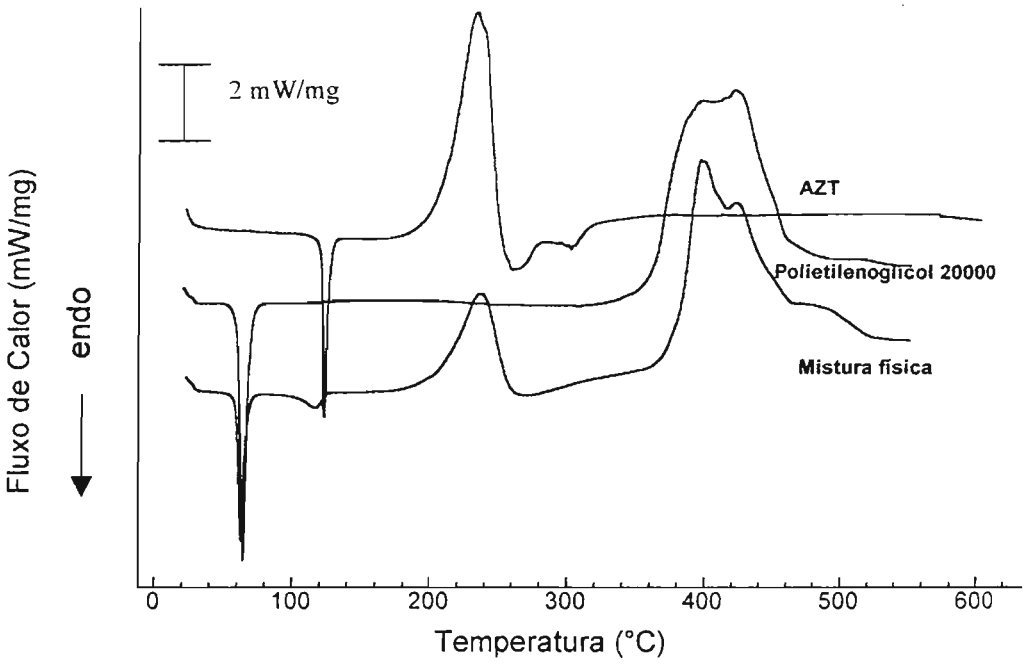


Figura 5.7 - Curvas DSC do AZT, do PEG 20000 e da mistura física (1:1 m/m), obtidas na razão de aquecimento de 10°C.min^{-1} sob atmosfera dinâmica de N_2 (50 mL.min^{-1})

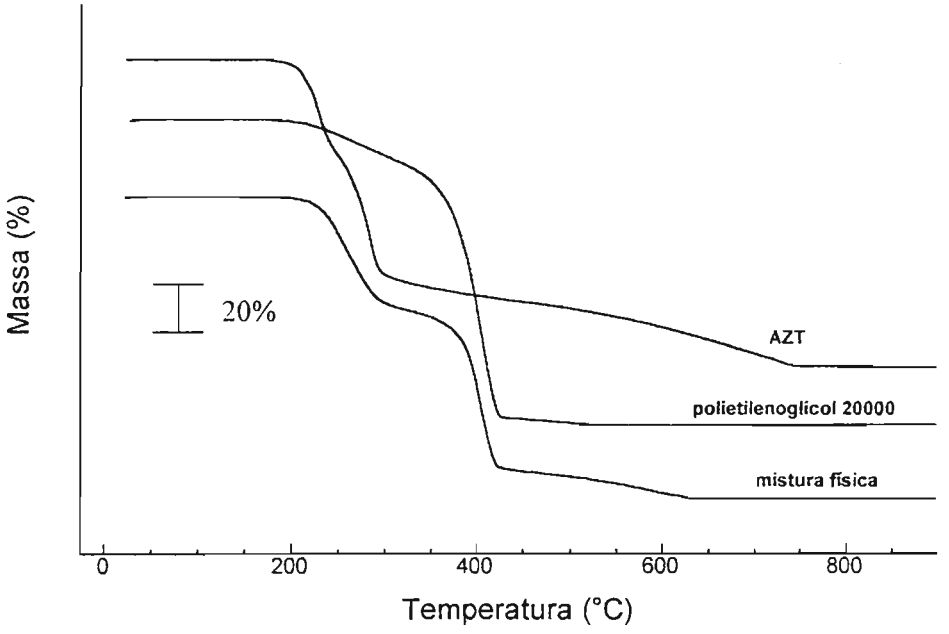


Figura 5.8 - Curvas TG do AZT, do PEG 20000 e da mistura física (1:1 m/m), obtidas na razão de aquecimento de 10°C.min^{-1} sob atmosfera dinâmica de N_2 (50 mL.min^{-1})

A curva DSC do estearato de magnésio (Figura 5.9) apresentou dois eventos endotérmicos nas temperaturas de 81 e 110°C, sendo caracterizada pela desidratação do mesmo. O excipiente mostrou uma estabilidade térmica no intervalo de temperatura entre 130 e 300°C, seguido por uma banda larga no sentido endotérmico na faixa de temperatura de 300 a 465°C, devido à decomposição térmica. A curva TG do estearato de magnésio (Figura 5.10) confirmou o processo de perda de água na temperatura de aproximadamente 35°C (Δm = 4,3%). Durante a decomposição térmica pode ser observada uma perda de massa de 86,4%, que caracteriza a decomposição térmica do composto numa temperatura próxima de 305°C. Pela observação das curvas do estearato de magnésio e do AZT (Fig. 5.9 e 5.10), e comparando-se ao perfil da curva obtida pela mistura física destes componentes, pode-se verificar que não há alterações no perfil termoanalítico das amostras puras, mostrando assim que não há interação entre as espécies.

Observando-se a curva DSC da β-ciclodextrina mostrada na Figura 5.11, pode-se verificar dois picos endotérmicos em 82 e 323°C. O primeiro evento está associado à saída de moléculas de água da cavidade da β-ciclodextrina, evidenciado também pela curvas TG/DTG. O segundo evento representa a fusão do composto, sendo seguida pela sua decomposição, mostrada por um evento exotérmico. Analisando a curva TG observou-se uma perda de massa em torno de 15%, na faixa de temperatura entre 25 e 115°C (Figura 5.12). Esta perda de massa está associada à liberação de água da cavidade interna da β-ciclodextrina. Logo após esse evento pode ser observado um patamar de estabilidade térmica até aproximadamente 320°C, onde se inicia o processo de perda de massa característico da decomposição do açúcar. Pelas curvas DSC e TG/DTG foi possível observar que através da mistura mecânica de AZT com β-ciclodextrina não é possível caracterizar qualquer interação entre as espécies, uma vez que não foram observadas alterações da curva da mistura em relação aos componentes individuais, mostrando assim que não há interações entre as espécies.

Características semelhantes às curvas das misturas física do AZT com os PEG's podem ser observadas com o polyox e o sorbitol. De acordo com as curvas DSC e TG do polyox e do sorbitol, mostradas nas Figuras 5.13-5.14 e 5.15-5.16, respectivamente, pode-se observar que o polyox e sorbitol apresentam um pico endotérmico característico de fusão nas temperaturas de 70°C (ΔH=186,8 $J.g^{-1}$) e 98°C (ΔH= 244,3 $J.g^{-1}$), ou seja, próxima à temperatura de fusão do AZT. Neste caso, a liquefação do excipiente promove a solubilização do fármaco no meio, o que reflete na redução do pico endotérmico representativo da fusão do AZT.

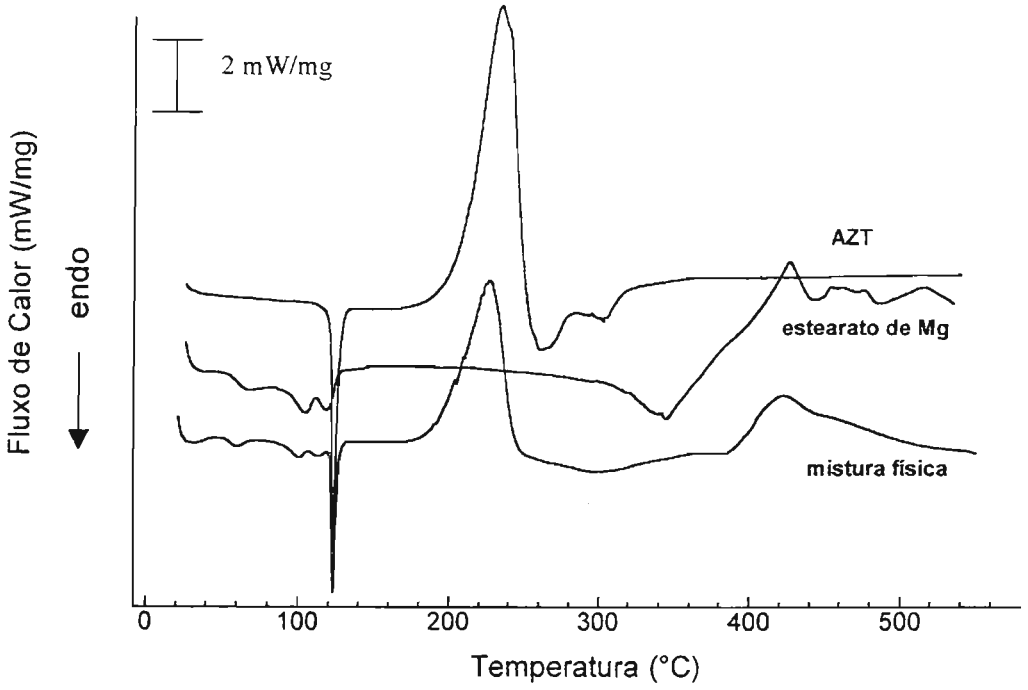


Figura 5.9 - Curvas DSC do AZT, do estearato de magnésio e da mistura física (1:1 m/m), obtidas na razão de aquecimento de 10°C.min^{-1} sob atmosfera dinâmica de N_2 (50 mL.min^{-1})

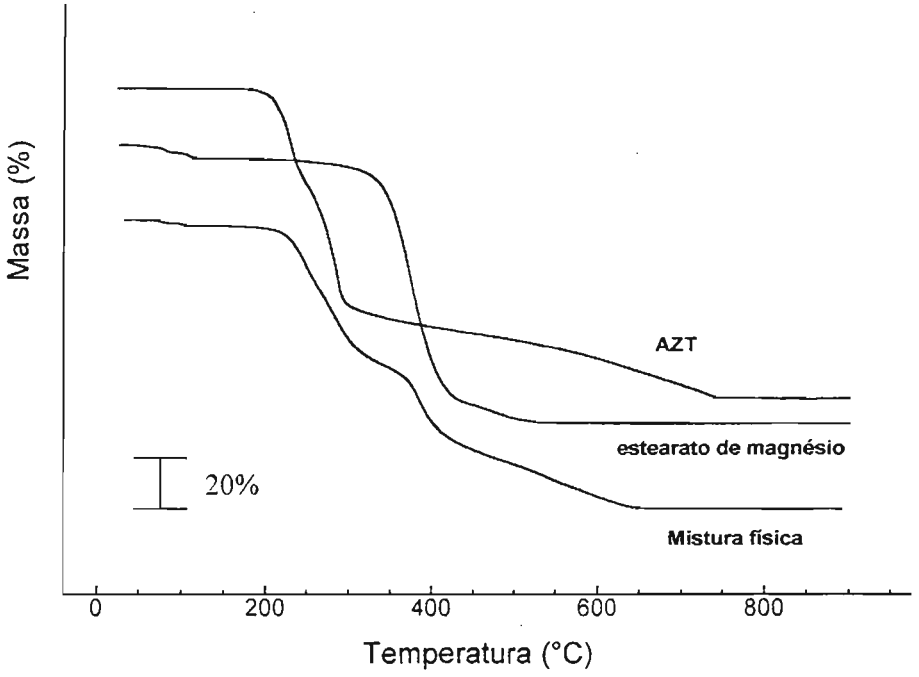


Figura 5.10 - Curvas TG do AZT, do estearato de magnésio e da mistura física (1:1 m/m), obtidas na razão de aquecimento de 10°C.min^{-1} sob atmosfera dinâmica de N_2 (50 mL.min^{-1})

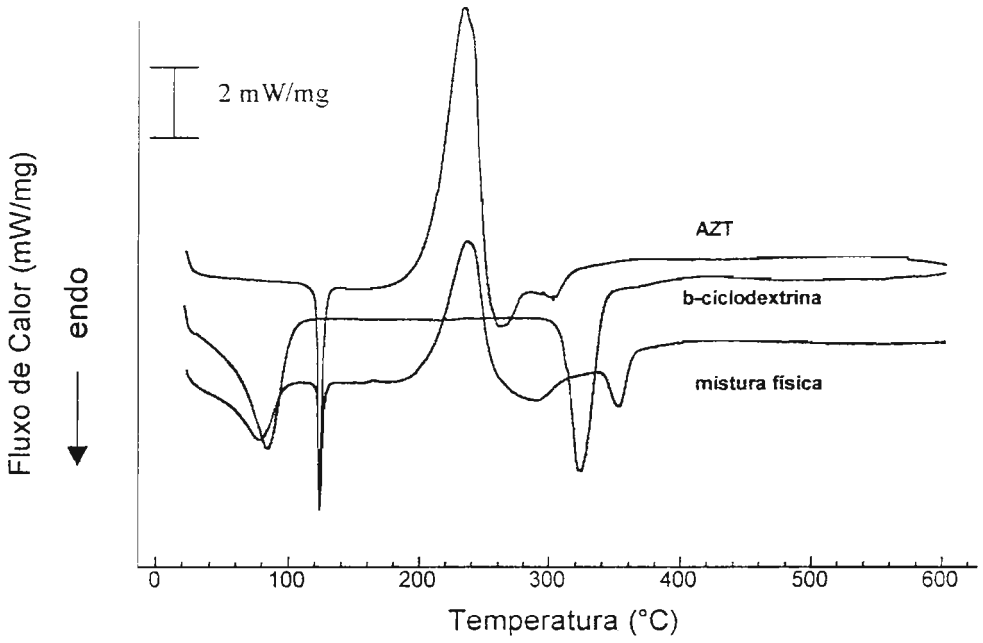


Figura 5.11 - Curva DSC do AZT, da β-ciclodextrina e da mistura física (1:1 m/m), obtidas na razão de aquecimento de 10°C.min^{-1} sob atmosfera dinâmica de N_2 (50 mL.min^{-1})

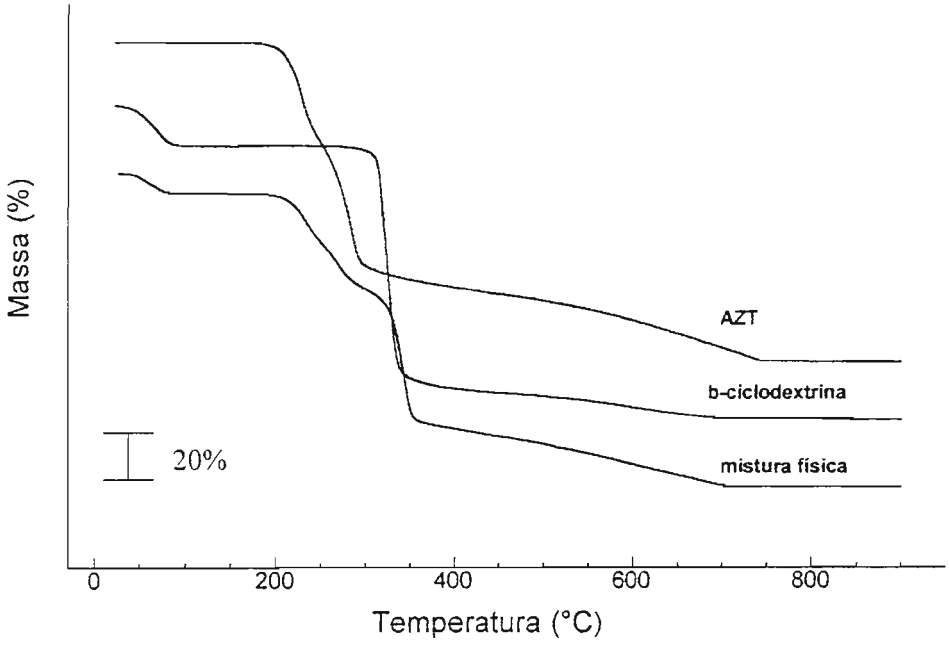


Figura 5.12 - Curvas TG do AZT, da β-ciclodextrina e da mistura física (1:1 m/m), obtidas na razão de aquecimento de 10°C.min^{-1} sob atmosfera dinâmica de N_2 (50 mL.min^{-1})

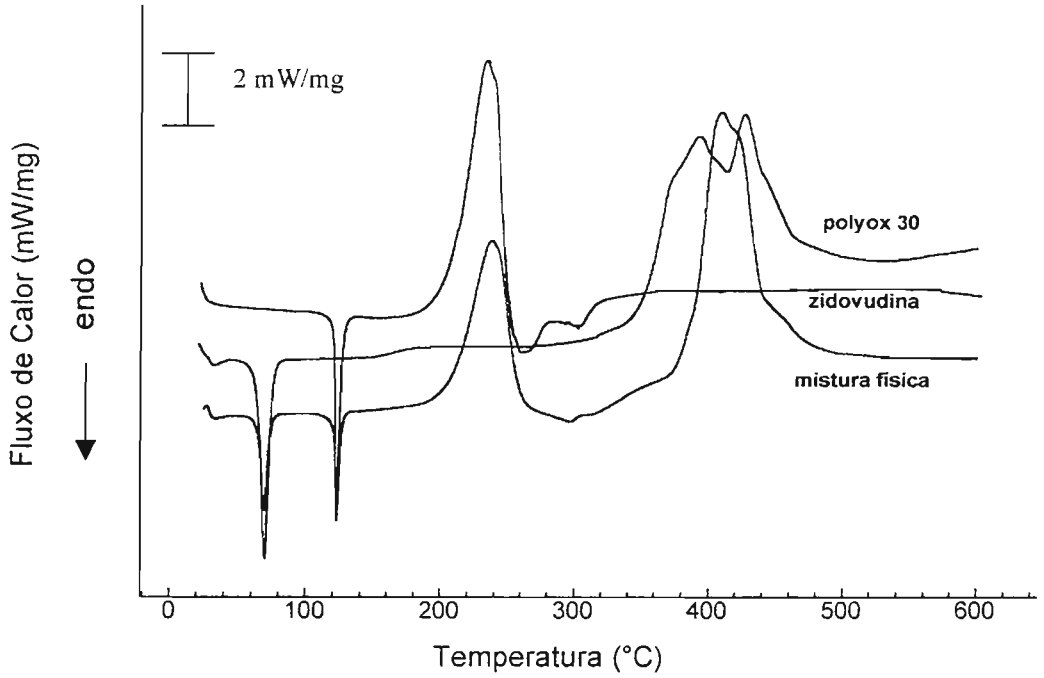


Figura 5.13 - Curvas DSC do AZT, do polyox 30 e da mistura física (1:1 m/m), obtidas na razão de aquecimento de 10°C.min^{-1} sob atmosfera dinâmica de N_2 (50 mL.min^{-1})

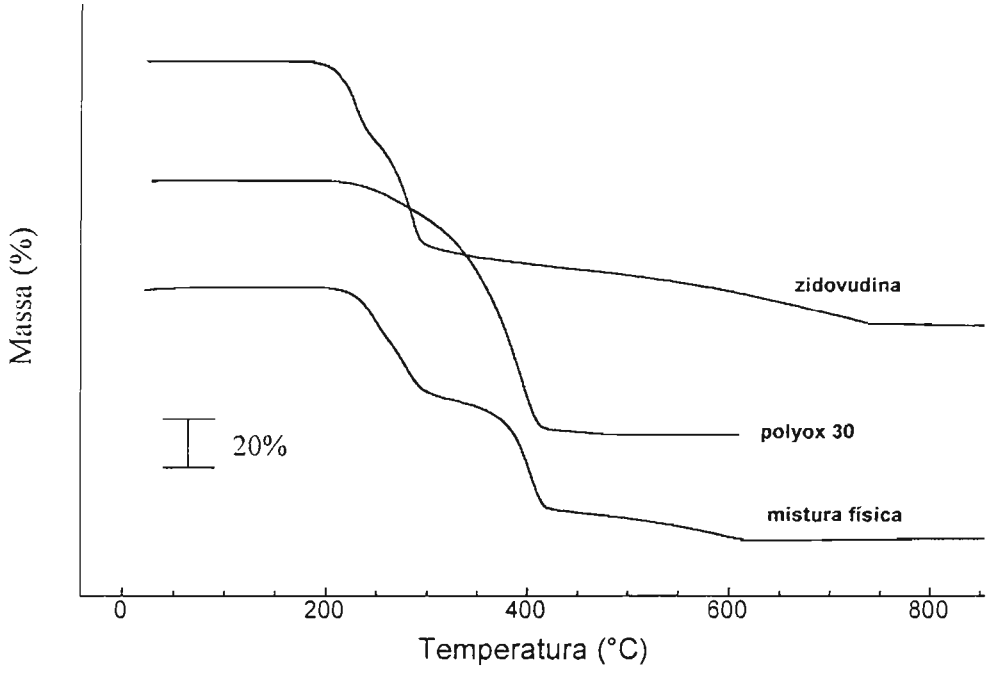


Figura 5.14 - Curvas TG do AZT, do polyox 30 e da mistura física (1:1 m/m), obtidas na razão de aquecimento de 10°C.min^{-1} sob atmosfera dinâmica de N_2 (50 mL.min^{-1})

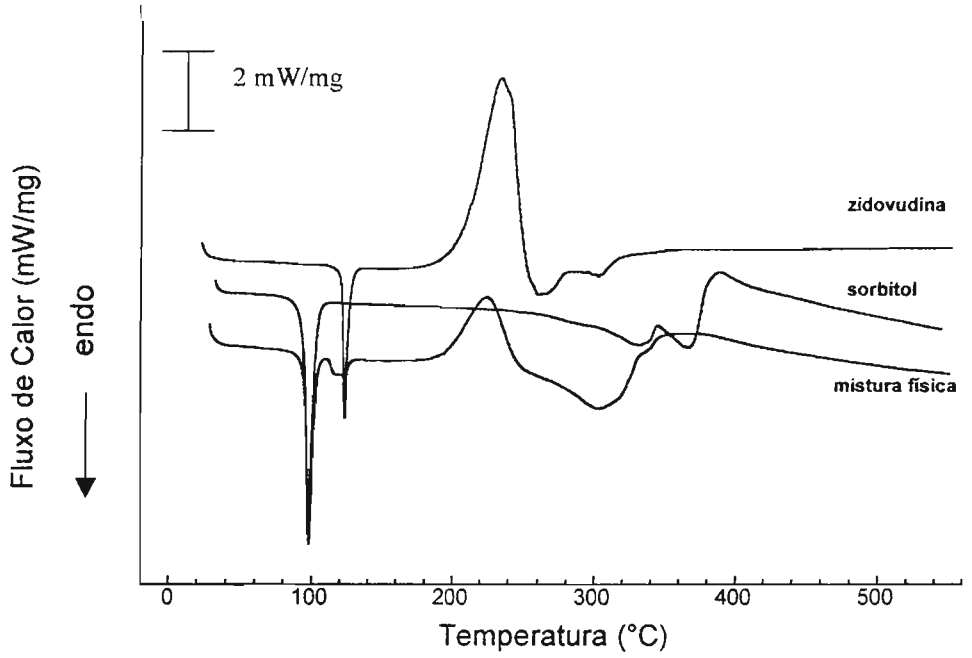


Figura 5.15 - Curvas DSC do AZT, do sorbitol e da mistura física (1:1 m/m), obtidas na razão de aquecimento de 10°C.min^{-1} sob atmosfera dinâmica de N_2 (50 mL.min^{-1})

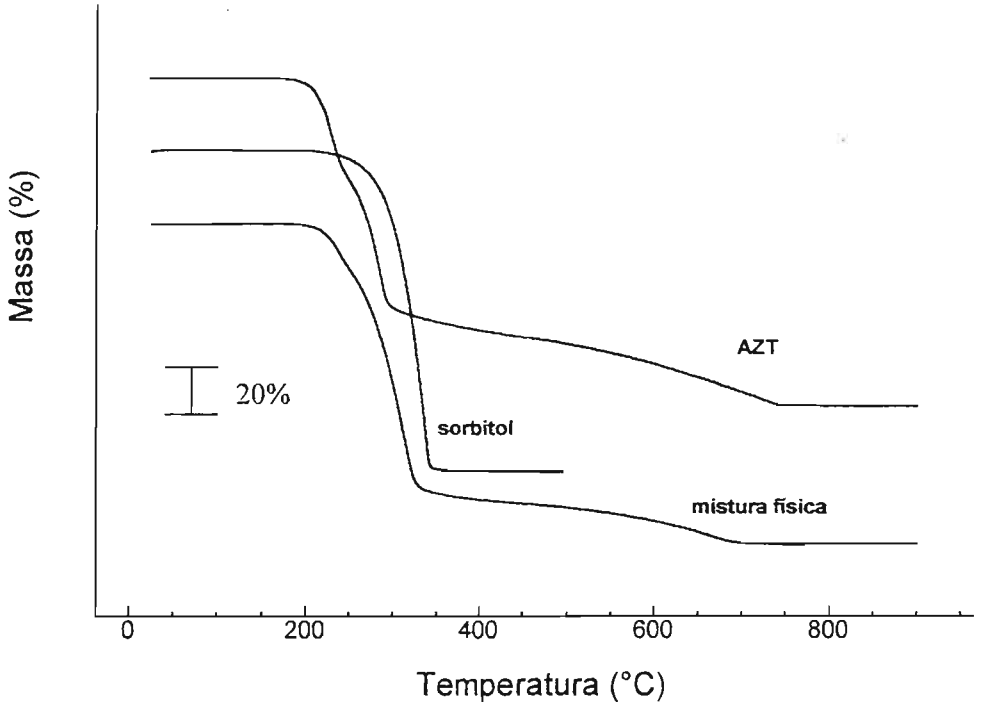


Figura 5.16 - Curvas TG do AZT, do sorbitol da mistura física (1:1 m/m), obtidas na razão de aquecimento de 10°C.min^{-1} sob atmosfera dinâmica de N_2 (50 mL.min^{-1})

A gelatina é utilizada em solução aquosa a 2-4% para obtenção de granulados, sendo estes considerados mais resistentes devido às propriedades aglutinantes. O perfil termoanalítico apresentado pela gelatina é mostrado através das curvas DSC e TG (Figuras 5.17-18). De acordo com a curva DSC, pode-se observar basicamente três eventos envolvendo variação de entalpia, sendo o primeiro evento endotérmico (T_{pico}=74°C), característico da eliminação de água, o segundo evento também endotérmico (T_{pico}=284°C), onde se inicia o processo de decomposição térmica, e o terceiro evento mostra-se exotérmico (T_{pico}=430°C), representativo da etapa final da decomposição térmica. A partir da curva TG torna-se possível evidenciar os referidos eventos evidenciados pelo DSC, onde inicialmente verifica-se um evento de perda de massa entre 25 e 180°C (Δm=9,2%), característica da desidratação, um segundo evento com perda de massa de 54,7% (faixa de temperatura entre 200 e 400°, relativo à primeira etapa de decomposição da gelatina e, por fim, a etapa referente à eliminação de material carbonáceo que ocorre entre 430 e 750°C, com uma perda de massa de 32,9%. De acordo com esses resultados e observando as curvas apresentadas pelas Figuras 5.17-18, para a mistura física AZT/gelatina, pode-se constatar que não há interações entre as espécies, uma vez que não foram evidenciadas alterações nos perfis termoanalíticos dessas misturas em relação às substâncias puras.

Em formas farmacêuticas sólidas o amido é largamente utilizado devido às suas propriedades aglutinantes. Sua adição permite o aumento da coesão entre as partículas e, ao mesmo tempo, a redução da força de compressão. As Figuras 5.19-5.20 mostram as curvas DSC e TG, respectivamente, do AZT, do amido e da mistura física AZT/amido, na proporção 1:1 em massa. A curva DSC do amido evidencia um primeiro evento endotérmico na faixa de temperatura de 25 a 143°C, relativo à eliminação de água superficial. Após este evento pode ser observada uma etapa de estabilidade até a temperatura de 260°C, onde se verifica um pico endotérmico referente à primeira etapa de decomposição térmica do excipiente, entre 260 e 330°C. Um evento subseqüente no sentido exotérmico é observado, e representa a segunda etapa da decomposição (T_{pico}= 366°C). A curva TG corrobora com esses dados, mostrando três etapas de perda de massa, sendo a primeira relativa à desidratação, a segunda à decomposição e a terceira ao processo de eliminação lenta de derivados do carbono. O comportamento térmico da mistura binária de AZT e amido (Fig. 5.19-20) mostrou as mesmas características endotérmicas e exotérmicas do fármaco, indicando assim que não há incompatibilidade entre as espécies.

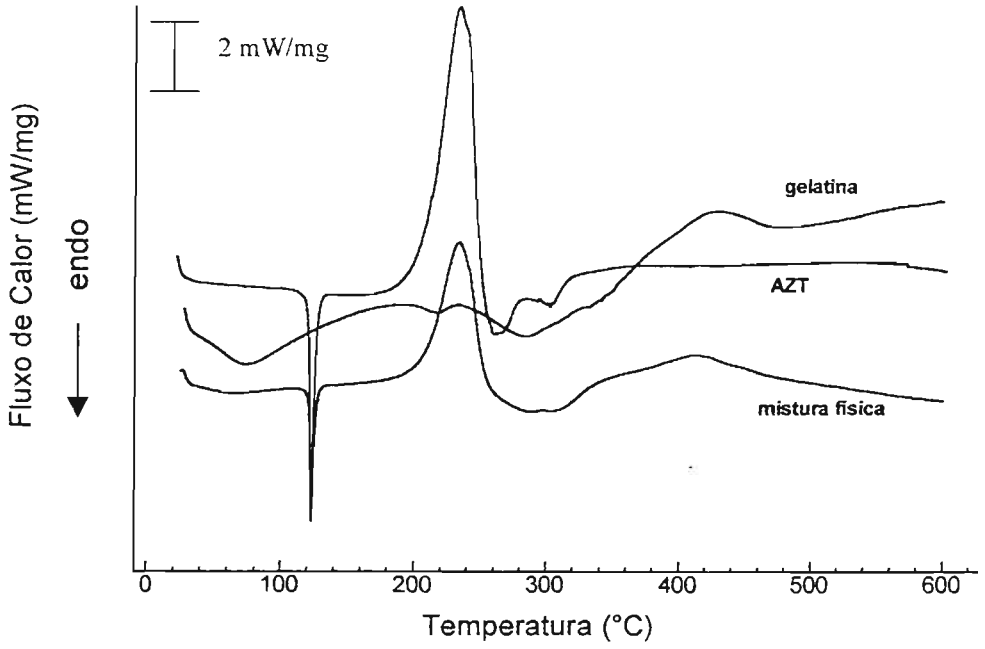


Figura 5.17 - Curvas DSC do AZT, da gelatina e da mistura física (1:1 m/m), obtidas na razão de aquecimento de 10°C.min^{-1} sob atmosfera dinâmica de N_2 (50 mL.min^{-1})

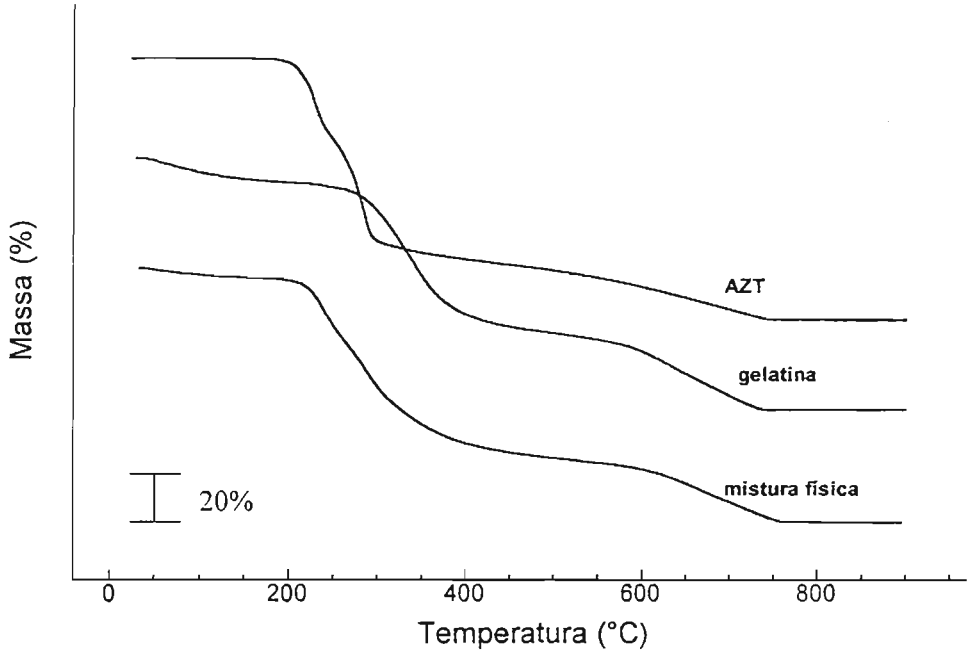


Figura 5.18 - Curva TG do AZT, da gelatina e da mistura física (1:1 m/m), obtidas na razão de aquecimento de 10°C.min^{-1} sob atmosfera dinâmica de N_2 (50 mL.min^{-1})

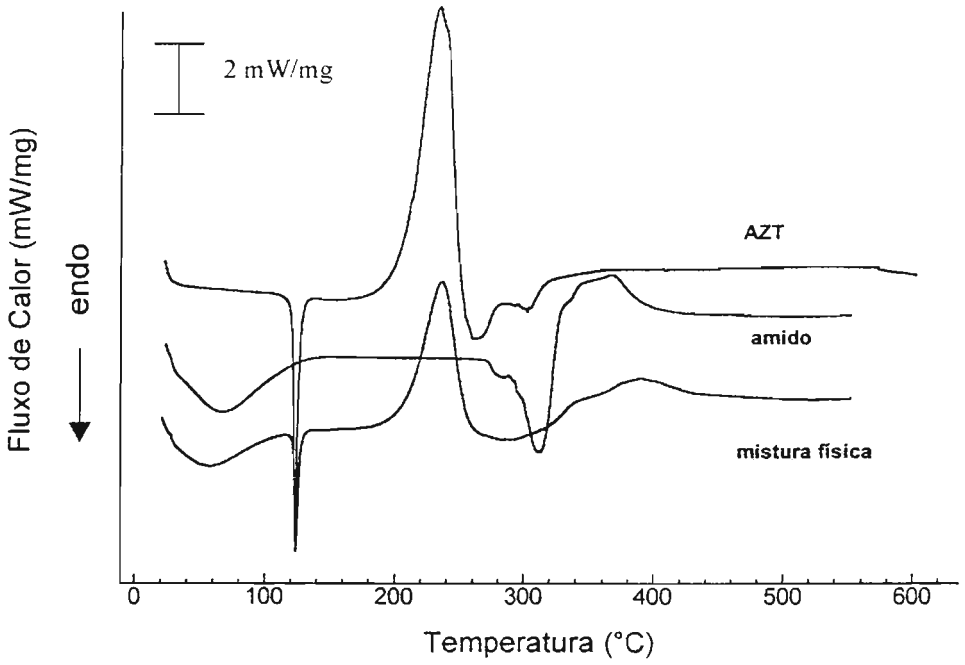


Figura 5.19 - Curvas DSC do AZT, do amido e da mistura física (1:1 m/m), obtidas na razão de aquecimento de 10°C.min^{-1} sob atmosfera dinâmica de N_2 (50 mL.min^{-1})

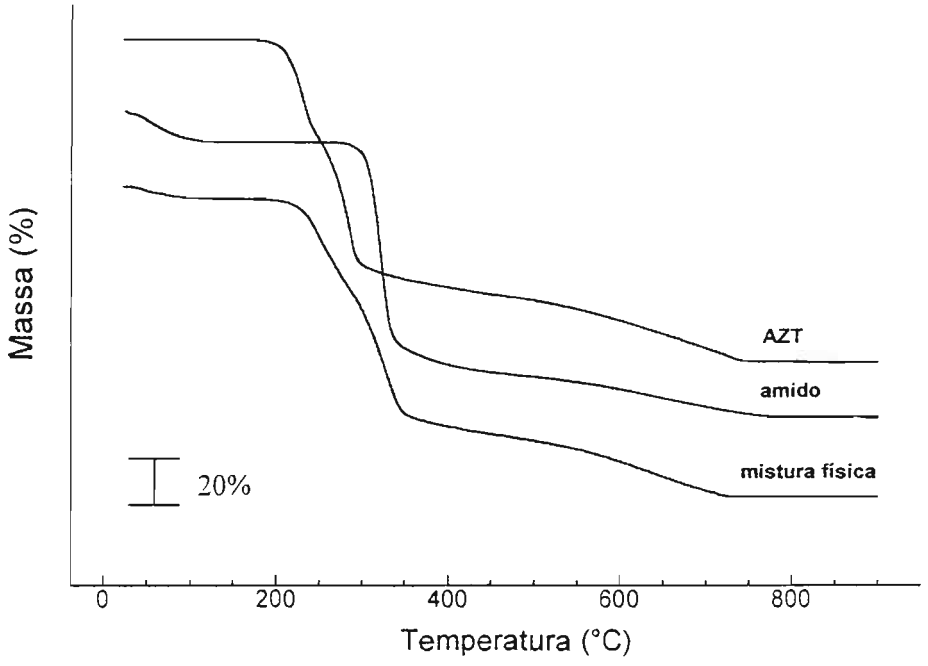


Figura 5.20 - Curvas TG do AZT, do amido e da mistura física (1:1 m/m), obtidas na razão de aquecimento de 10°C.min^{-1} sob atmosfera dinâmica de N_2 (50 mL.min^{-1})

O comportamento térmico apresentado pela goma arábica é mostrado nas Figuras 5.21-22. A curva de DSC do excipiente mostrou três eventos envolvendo variação de entalpia; o primeiro, mostra uma banda larga endotérmica, que representa a eliminação de água de umidade na faixa de temperatura entre 25 e 180°C (com temperatura de pico em 63°C). Logo após esse evento, em uma temperatura próxima a 190°C, observam-se dois eventos exotérmicos característicos da decomposição da goma arábica. A partir da curva TG observa-se três eventos de perda de massa nas seguintes faixas de temperatura e percentuais de perda de massa: 25-180°C (Δm=12%), 180-350°C (Δm=46%) e 350-700°C(Δm=36%). Esses eventos corroboram com as três etapas definidas pelo DSC como desidratação, decomposição e eliminação de materiais carbonáceos. A curva da mistura física se mostra como um somatório dos eventos apresentados pelo AZT e pela goma arábica, indicando assim que não ocorre interação entre as espécies na faixa de temperatura analisada.

A celulose microcristalina é utilizada na formulação como um diluente, quer na forma de pó, quer na forma de granulado, e associada a diferentes tipos de lactose, amido ou fosfato de cálcio. Apresenta também ação aglutinante e desagregante, o que a torna particularmente aconselhada para conferir um adequado grau de aglutinação ao produto sem afetar as respectivas características de desagregação. A curva DSC da celulose microcristalina é mostrada na Figura 5.23, e apresenta um comportamento térmico dividido em basicamente três etapas. A primeira delas ocorre entre 25 120°C, e é caracterizada pela eliminação de água superficial, confirmada pela curva TG mostrada na Figura 5.24, através da variação de massa de 2,0%. Após a desidratação a amostra apresenta-se estável termicamente na faixa de temperatura entre 120 e 280°C, onde só então é observado um evento no sentido exotérmico com temperatura de pico de 376°C. Esse evento, representativo da decomposição térmica, ocorre numa faixa bastante estreita e envolve uma variação de massa de 86%, como mostra a curva TG. Após a decomposição térmica é observada uma eliminação lenta de material carbonáceo. representado na curva TG por uma perda de massa de aproximadamente 10% e pela curva DSC como um evento exotérmico. O perfil térmico apresentado pela etilcelulose (Figuras 5.25-26) mostra-se similar ao apresentado pela celulose microcristalina, diferindo apenas por não apresentar eventos relativos à eliminação de água superficial. Os dois eventos de decomposição térmica ocorrerem com uma variação de massa de 93%, e a eliminação de materiais carbonáceo representando 5%. De acordo com o perfil térmico apresentado pelas curvas DSC e TG da mistura física AZT/celulose microcristalina e AZT/etilcelulose, nenhuma alteração pode ser verificada indicando assim a inexistência de incompatibilidade (Figuras 5.23-24 e 5.25-26).

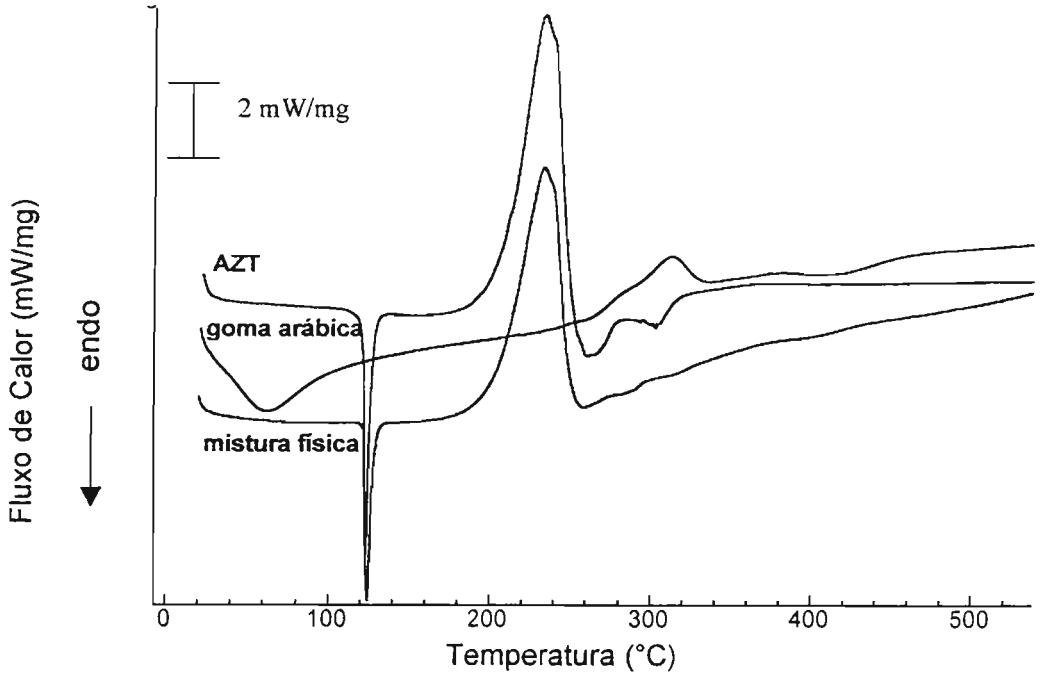


Figura 5.21 - Curvas DSC do AZT, da goma arábica e da mistura física (1:1 m/m), obtidas na razão de aquecimento de 10°C.min^{-1} sob atmosfera dinâmica de N_2 (50 mL.min^{-1})

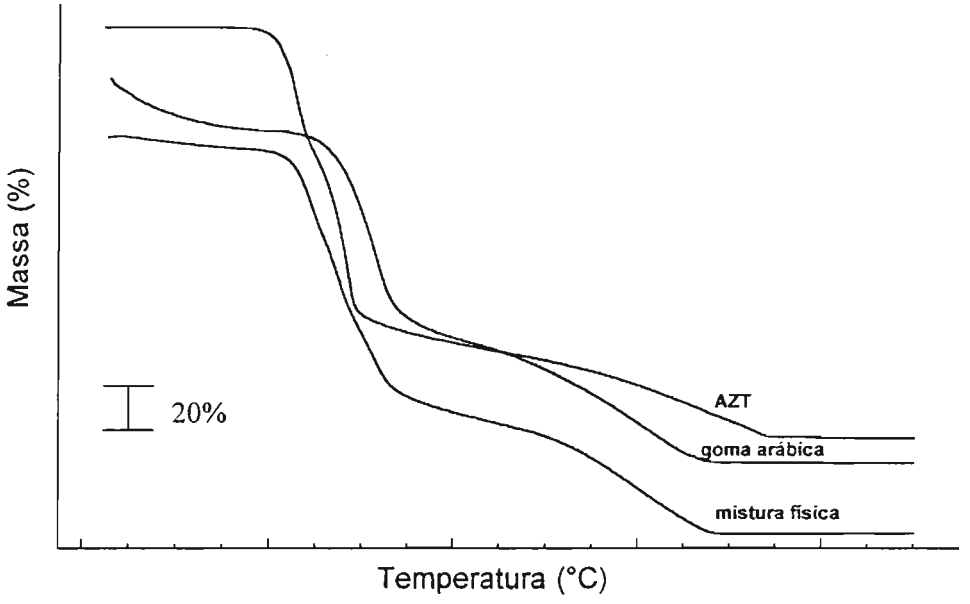


Figura 5.22 - Curvas TG do AZT, da goma arábica e da mistura física (1:1 m/m), obtidas na razão de aquecimento de 10°C.min^{-1} sob atmosfera dinâmica de N_2 (50 mL.min^{-1})

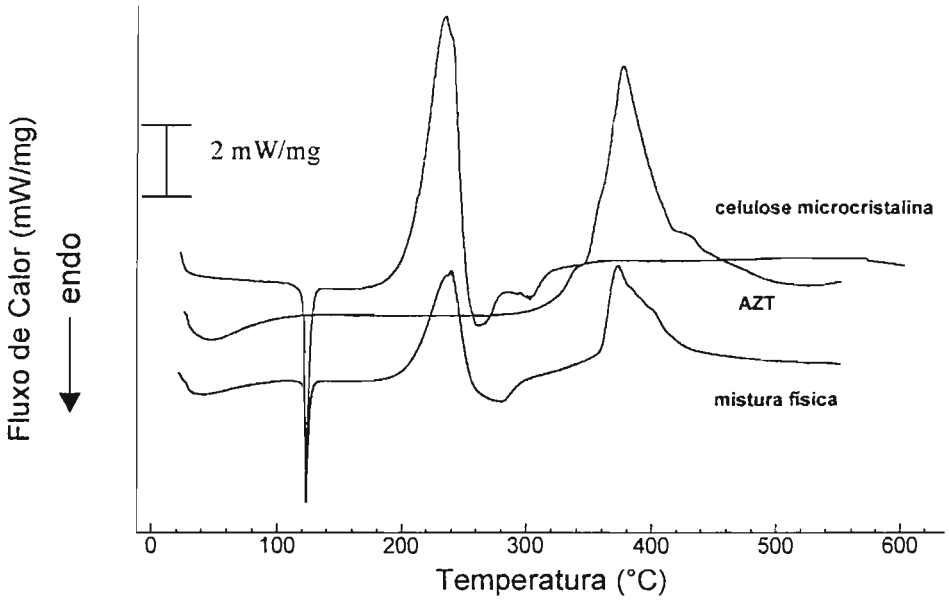


Figura 5.23 - Curvas DSC do AZT, da celulose microcristalina e da mistura física (1:1 m/m), obtidas na razão de aquecimento de 10°C.min^{-1} sob atmosfera dinâmica de N_2 (50 mL.min^{-1})

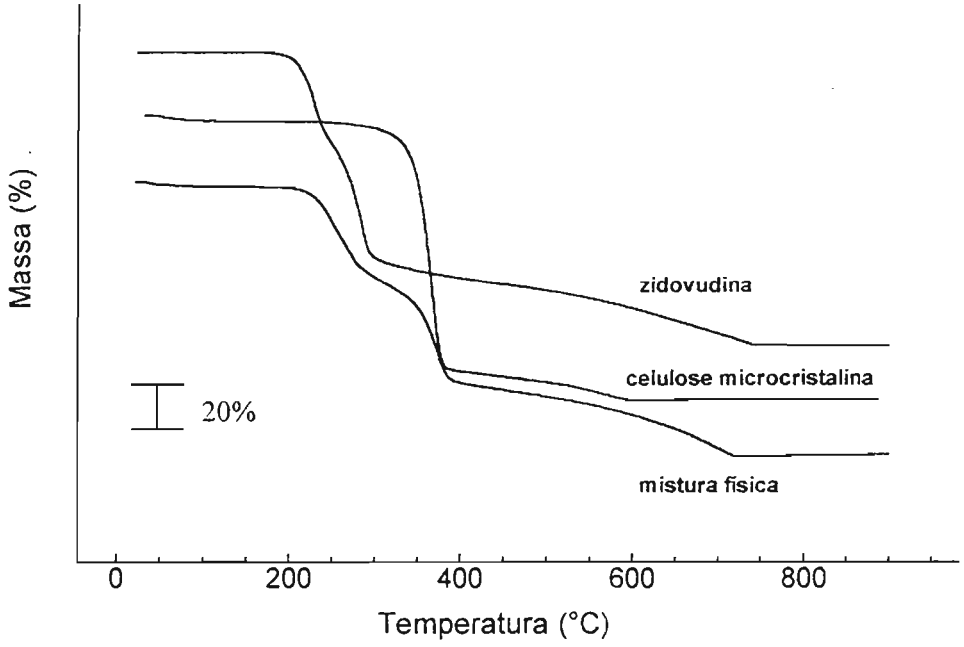


Figura 5.24 - Curvas TG do AZT, da celulose microcristalina e da mistura física (1:1 m/m), obtidas na razão de aquecimento de 10°C.min^{-1} sob atmosfera dinâmica de N_2 (50 mL.min^{-1})

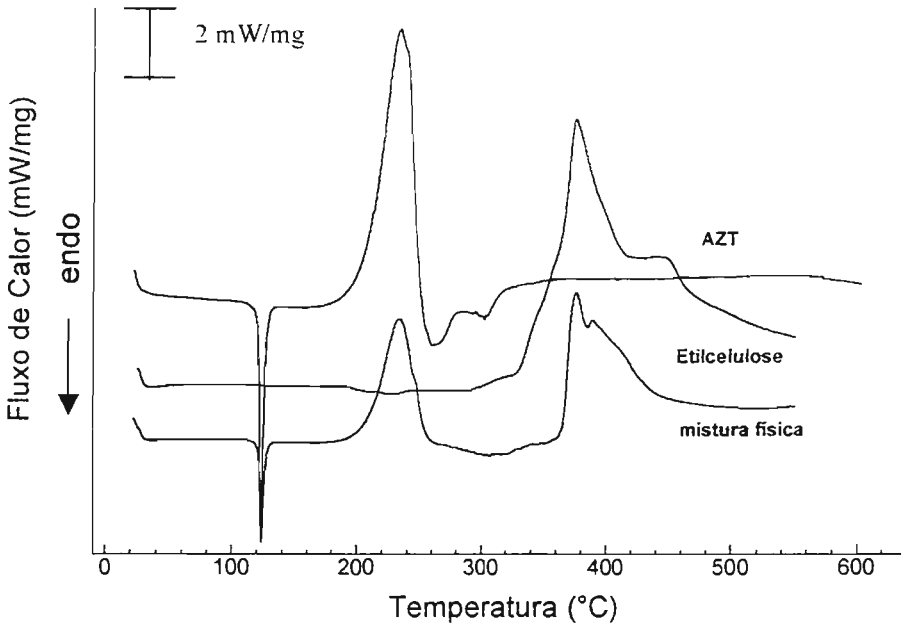


Figura 5.25 - Curvas DSC do AZT, da etilcelulose e da mistura física (1:1 m/m), obtidas na razão de aquecimento de 10°C.min^{-1} sob atmosfera dinâmica de N_2 (50 mL.min^{-1})

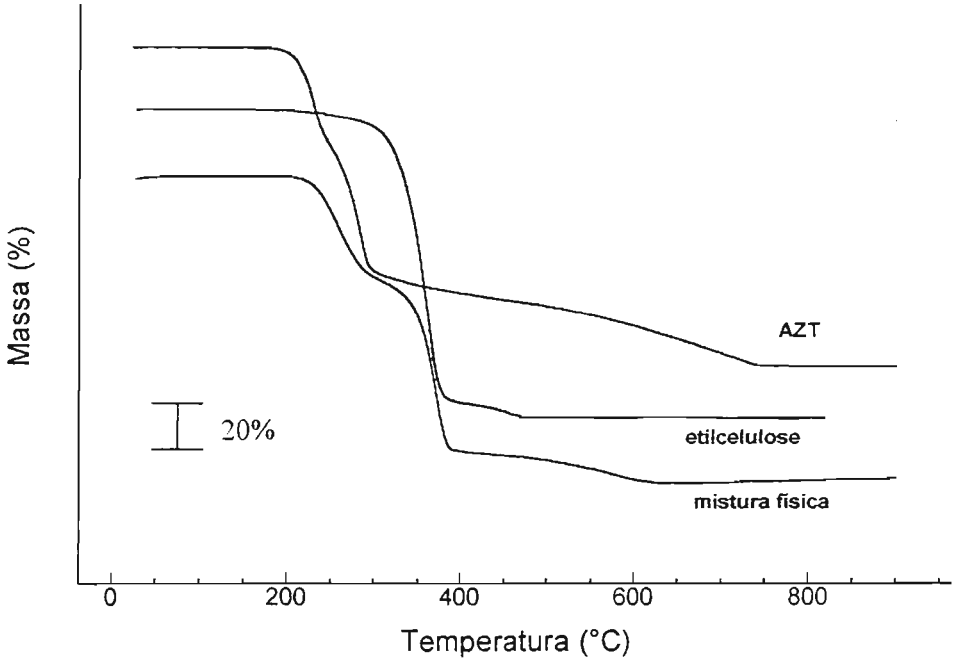


Figura 5.26 - Curvas TG do AZT, da etilcelulose e da mistura física (1:1 m/m), obtidas na razão de aquecimento de 10°C.min^{-1} sob atmosfera dinâmica de N_2 (50 mL.min^{-1})

As Figuras 5.27-28 apresentam as curvas DSC e TG da croscarmelose, respectivamente. O perfil apresentado pela curva DSC mostra um primeiro pico endotérmico com temperatura de pico em 66°C, que representa a eliminação de moléculas de água superficialmente aderidas ao excipiente. A decomposição da croscarmelose mostrada por DSC se inicia em aproximadamente 160°C, podendo ser dividida em duas etapas exotérmicas nas faixas de temperatura de 160 a 350°C e 350 a 600°C. Os dados de TG confirmam o processo de desidratação com uma perda de massa de cerca de 9% na faixa de temperatura entre 25 e 150°C. A decomposição térmica do material observado por TG mostra-se em três etapas, nas seguintes faixas de temperatura e percentuais de perda de massa: 180-350°C (Δm=48%), 350-550°C (Δm=8,5%) e 550-900°C (Δm=27,8%). As curvas termoanalíticas da mistura física AZT/croscarmelose, ilustradas nas Figuras 5.35-36, respectivamente, mostraram que não houve alterações nos perfis termoanalíticos das amostras, sendo as mesmas o somatório de eventos observados para os compostos individualmente.

A curva DSC registrada para o PVP (Figura 5.29) mostrou um primeiro evento endotérmico na faixa de temperatura de 25 a 135°C, referente à liberação de água de umidade. Posteriormente a esse evento, o material mostra-se estável termicamente até aproximadamente 300, onde se inicia a sua decomposição térmica, mostrada em duas etapas, sendo a primeira endotérmica e a segunda exotérmica, com temperatura de pico em 470°C. Esses dados são corroborados pela curva TG (Figura 5.30), onde se observou um primeiro evento de perda de massa na faixa de temperatura de 25 a 130°C (Δm= 7,4%), seguindo por um patamar onde o material apresenta-se termicamente estável, e a partir da temperatura de 300°C inicia-se a decomposição com perda de massa de 85,3%. O perfil termoanalítico apresentado pela curva DSC da mistura física do AZT com o PVP K30, Figura 5.29, também mostrou redução, alargamento e deslocamento do pico endotérmico referente à fusão do AZT para uma temperatura mais baixa. Esse mesmo tipo de comportamento foi relatado na literatura para misturas com outros fármacos como, por exemplo, o naproxeno (BETTINETTI *et al.*, 1988), ibuprofeno (NAJIB *et al.*, 1986) e cetoprofeno (BOTHA & LOTTER, 1989; MURA *et al.*, 1995), indicando que uma forte interação sólido-sólido ocorre com o aquecimento. No entanto, essa característica não necessariamente indica uma incompatibilidade farmacêutica, mas pode ser explicada pela formação de micro-agregados cristalinos do fármaco na matriz polimérica amorfa e pela solubilização do fármaco no meio (BETTINETTI *et al.*, 1991, BETTINETTI & MURA, 1994).

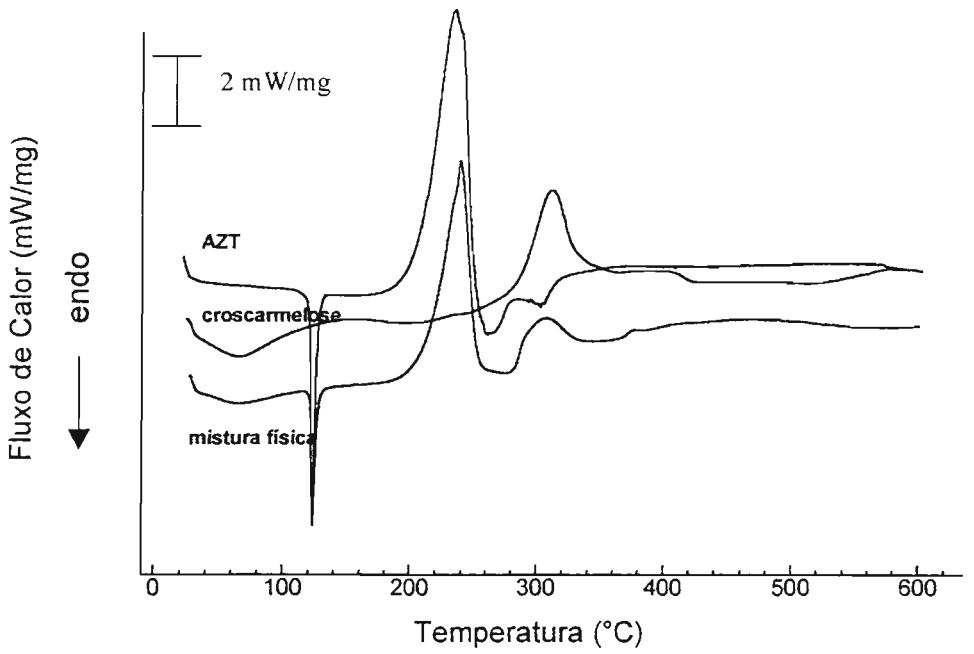


Figura 5.27 - Curvas DSC do AZT, da croscarmelose e da mistura física (1:1 m/m), obtidas na razão de aquecimento de 10°C.min^{-1} sob atmosfera dinâmica de N_2 (50 mL.min^{-1})

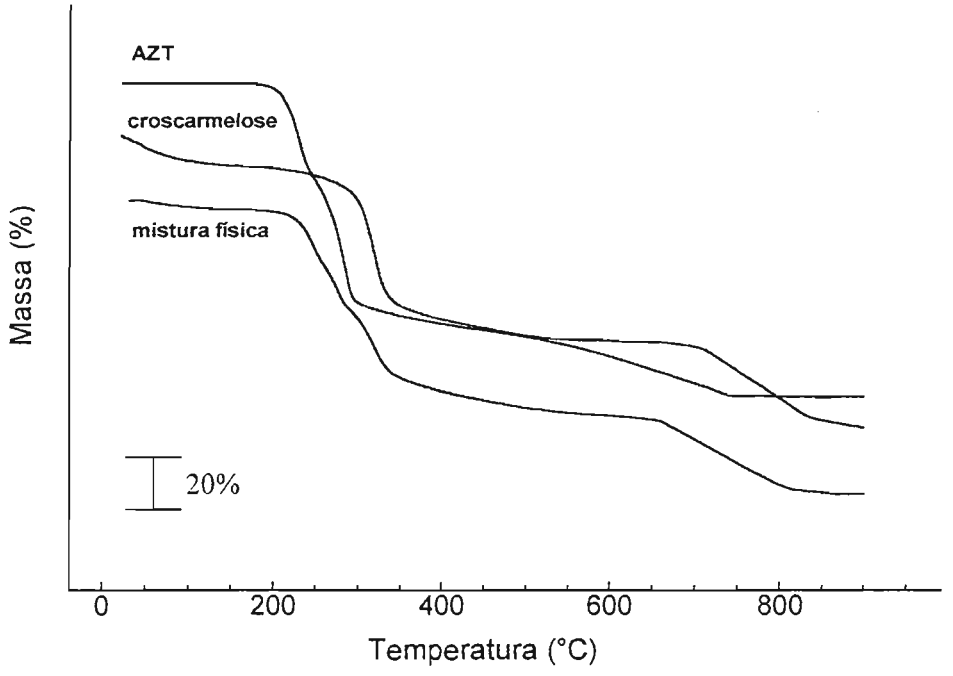


Figura 5.28 - Curvas TG do AZT, da croscarmelose e da mistura física (1:1 m/m), obtidas na razão de aquecimento de 10°C.min^{-1} sob atmosfera dinâmica de N_2 (50 mL.min^{-1})

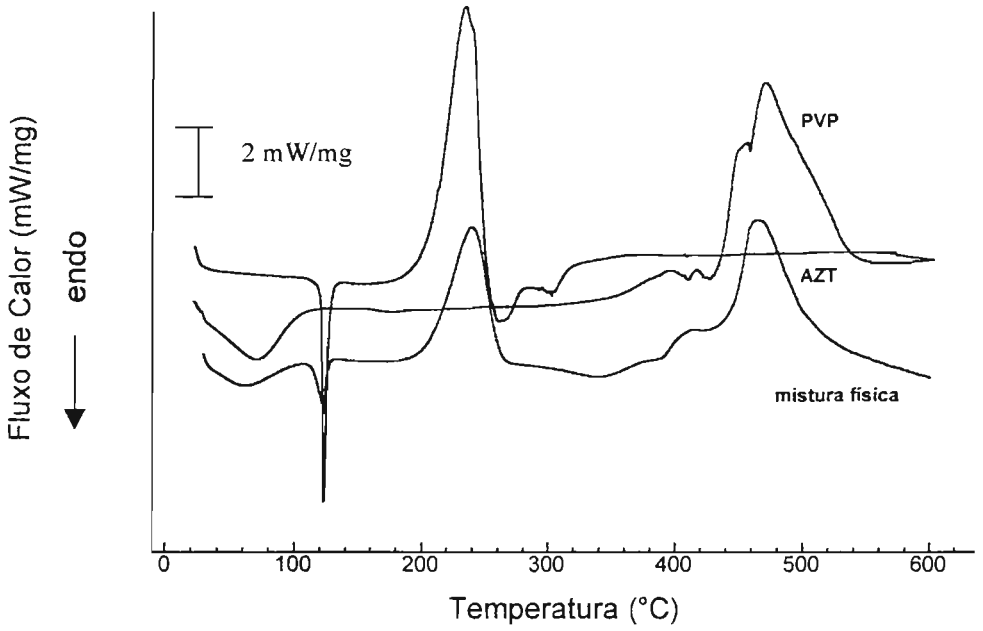


Figura 5.29 - Curvas DSC do AZT, do PVP (Kolidon 303) e da mistura física (1:1 m/m), obtidas na razão de aquecimento de 10°C.min^{-1} sob atmosfera dinâmica de N_2 (50 mL.min^{-1})

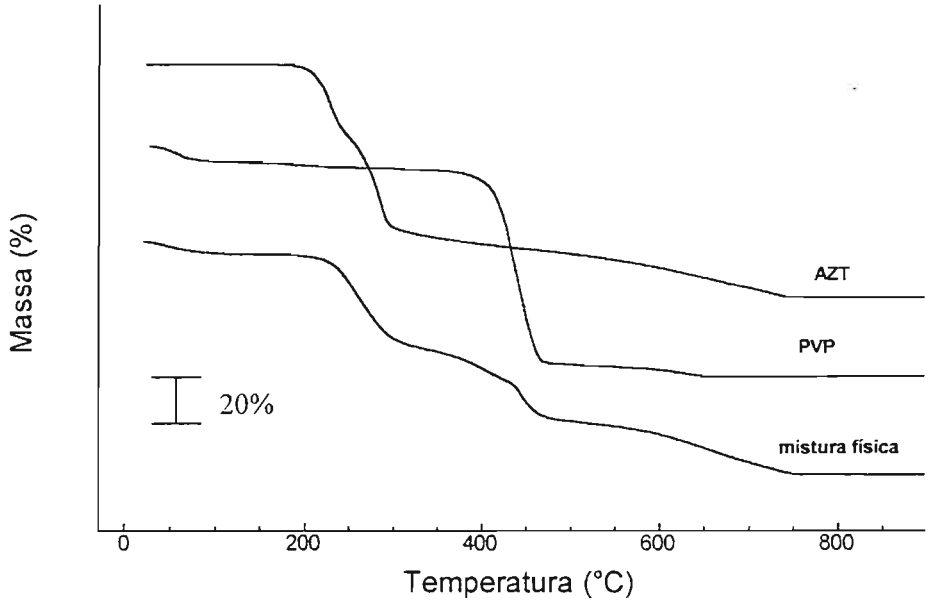


Figura 5.30 - Curvas TG do AZT, do PVP (Kolidon 303) e da mistura física (1:1 m/m), obtidas na razão de aquecimento de 10°C.min^{-1} sob atmosfera dinâmica de N_2 (50 mL.min^{-1})

O carbopol é utilizado em formulações farmacêuticas com a finalidade de acelerar a dissolução ou a desagregação dos comprimidos na água ou nos líquidos biológicos. Dentre os excipientes testados, o carbopol é um dos que mostra um perfil termoanalítico dos mais complexos. De acordo com sua curva DSC, mostrada na Figura 5.31, é possível observar um primeiro evento na faixa de temperatura entre 25 e 130°C (T_{pico}=64°C), representativo da eliminação de água superficial. Após esse evento, um outro pico endotérmico é apontado em 240°C, que representa a primeira etapa de decomposição térmica do carbopol. As etapas posteriores, ainda referentes à decomposição, podem ser divididas em três estágios no sentido exotérmico. Esses dados são corroborados pelas curvas TG, Figura 5.32, onde se observam cinco eventos de perda de massa no total. O primeiro refere-se à desidratação (Δm=4,8%) e os subseqüentes à decomposição térmica com perdas de massa de 9,9, 17,3, 49,1 e 16,1%. O comportamento térmico da mistura AZT/carbopol (Figs. 5.31-32) não evidenciou alterações que demonstrassem incompatibilidade entre as espécies.

As curvas DSC e TG do HPMC são apresentadas nas Figuras 5.33 e 5.34. De acordo com o perfil térmico observado, verificou-se a eliminação de água entre 35 e 90°C, estabilidade térmica entre 100 e 300°C, seguido pela decomposição térmica do excipiente, indicada por um pico exotérmico na temperatura de 375°C. O perfil termogravimétrico do HPMC apresentou uma perda de massa de 83,7% a 365°C, referente à decomposição térmica. O perfil das curvas DSC e TG da mistura física AZT/HPMC (Figuras 5.33-34) não mostrou mudanças características em comparação aos perfis apresentados pelo fármaco e pelo excipiente individualmente, podendo assim ser concluído que não há incompatibilidade dentre os compostos.

O aerosil é um gele de sílica pulverizada, muito leve e de poros largos. Apresenta como principal propriedade absorver água e, apesar disso, manter-se com aspecto seco. O talco é um lubrificante considerado por vários autores como pertencendo ao tipo deslizante, que se emprega em percentagens de 3-10%. As curvas DSC e TG do aerosil e do talco podem ser vistas nas Figuras 5.35-36 e 5.37-38, respectivamente. De acordo com as curvas TG pode-se observar a ocorrência de uma perda de massa na faixa de temperatura entre 25 e 100°C, que está associada à eliminação de água fisicamente adsorvida e possivelmente outros gases na superfície do material. Os dados de DSC indicam que o material é termicamente estável até 600°C, condições empregadas no experimento. O comportamento térmico da mistura binária de AZT com aerosil e com o talco, individualmente, mostraram as mesmas características endotérmicas e exotérmicas do fármaco, indicando assim que não há incompatibilidade entre as espécies.

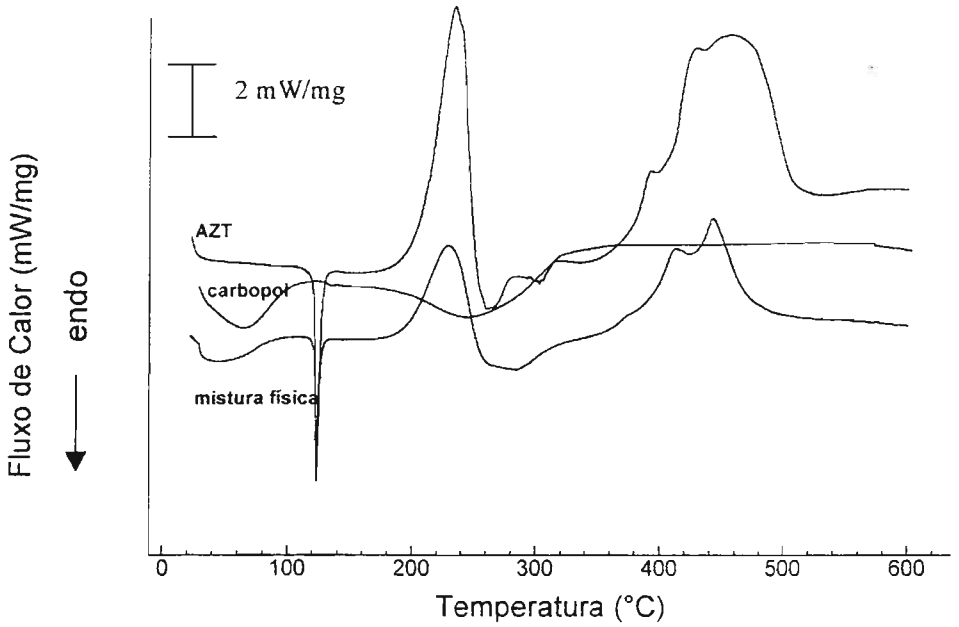


Figura 5.31 - Curvas DSC do AZT, do carbopol e da mistura física (1:1 m/m), obtidas na razão de aquecimento de 10°C.min^{-1} sob atmosfera dinâmica de N_2 (50 mL.min^{-1})

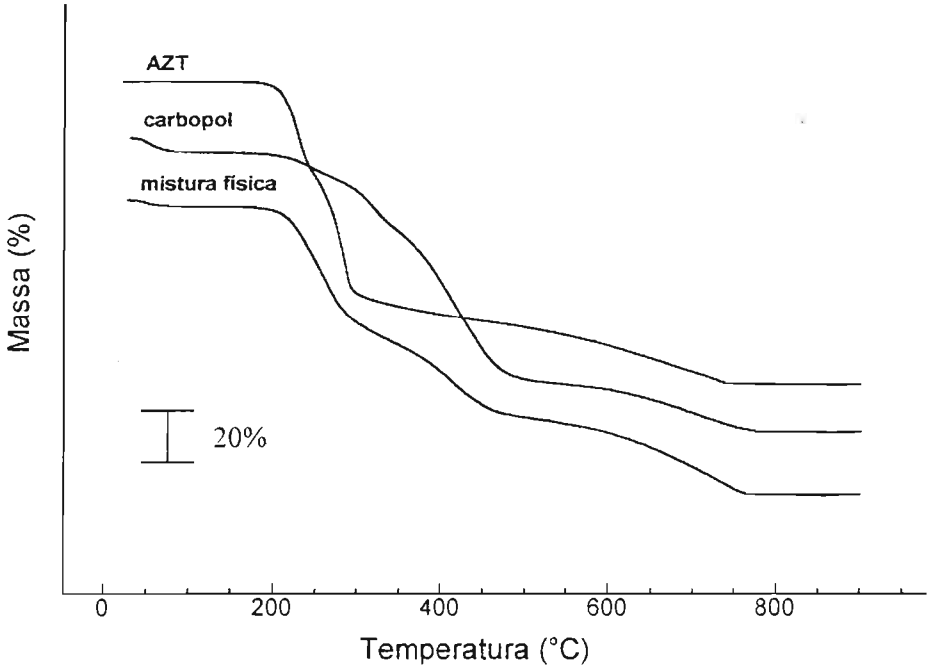


Figura 5.32 - Curvas TG do AZT, do carbopol e da mistura física (1:1 m/m), obtidas na razão de aquecimento de 10°C.min^{-1} sob atmosfera dinâmica de N_2 (50 mL.min^{-1})

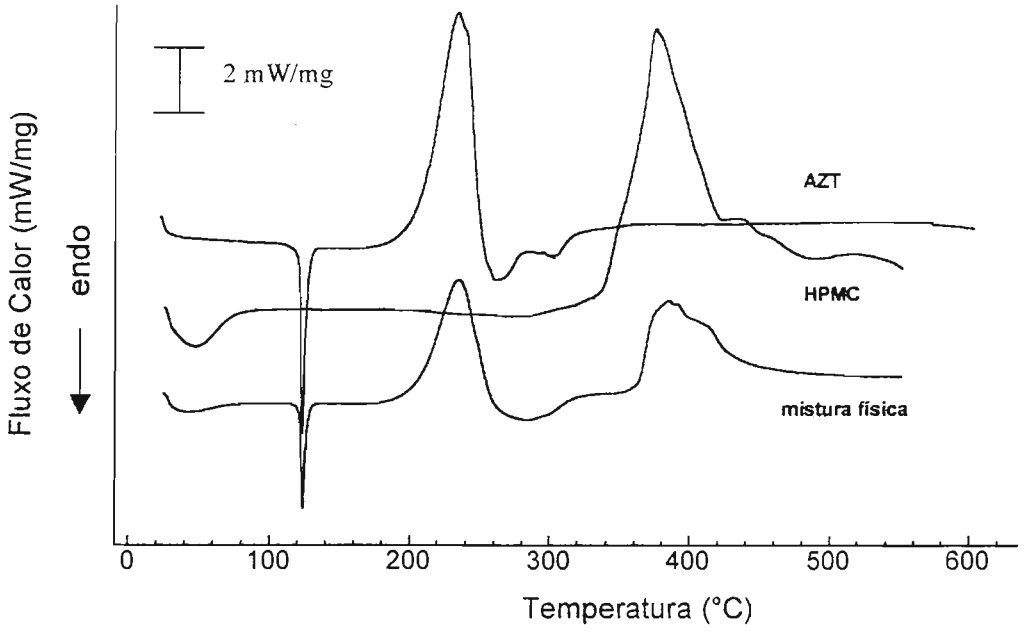


Figura 5.33 - Curvas DSC do AZT, do HPMC e da mistura física (1:1 m/m), obtidas na razão de aquecimento de 10°C.min^{-1} sob atmosfera dinâmica de N_2 (50 mL.min^{-1})

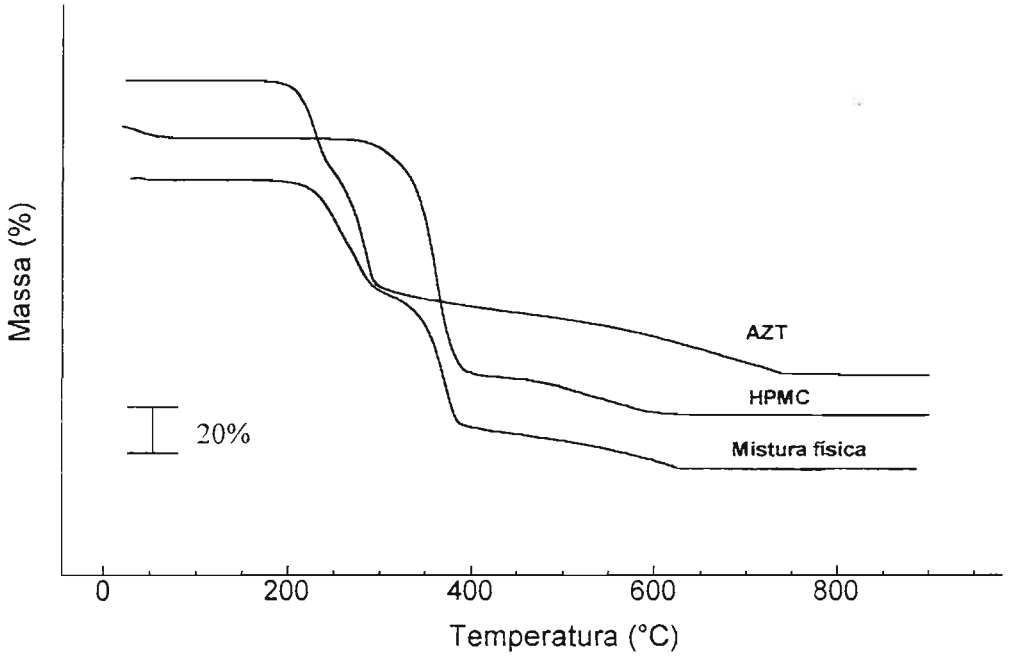


Figura 5.34 - Curvas TG do AZT, do HPMC e da mistura física (1:1 m/m), obtidas na razão de aquecimento de 10°C.min^{-1} sob atmosfera dinâmica de N_2 (50 mL.min^{-1})

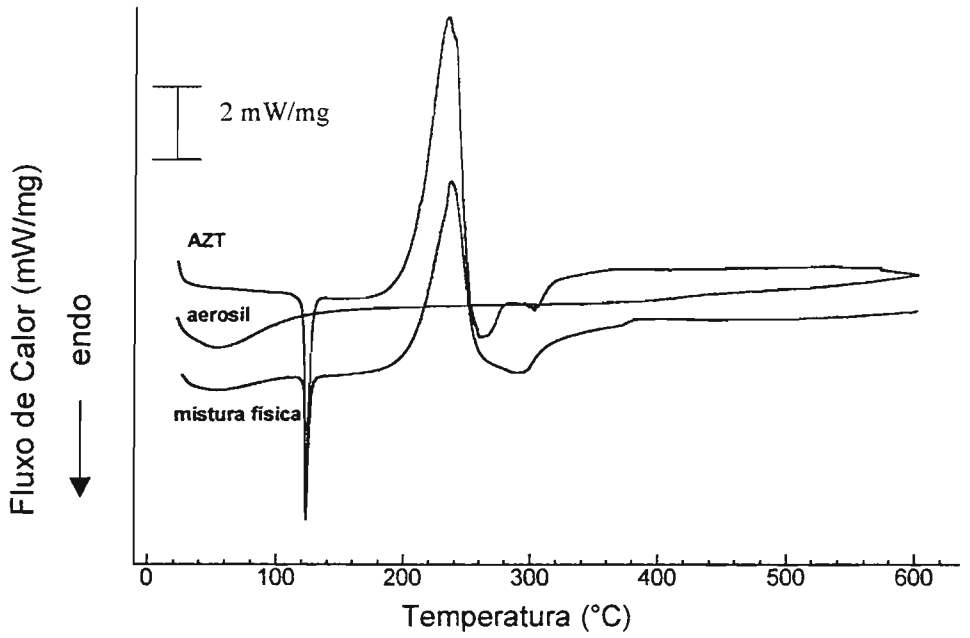


Figura 5.35 - Curvas DSC do AZT, do aerosil e da mistura física (1:1 m/m), obtidas na razão de aquecimento de 10°C.min^{-1} sob atmosfera dinâmica de N_2 (50 mL.min^{-1})

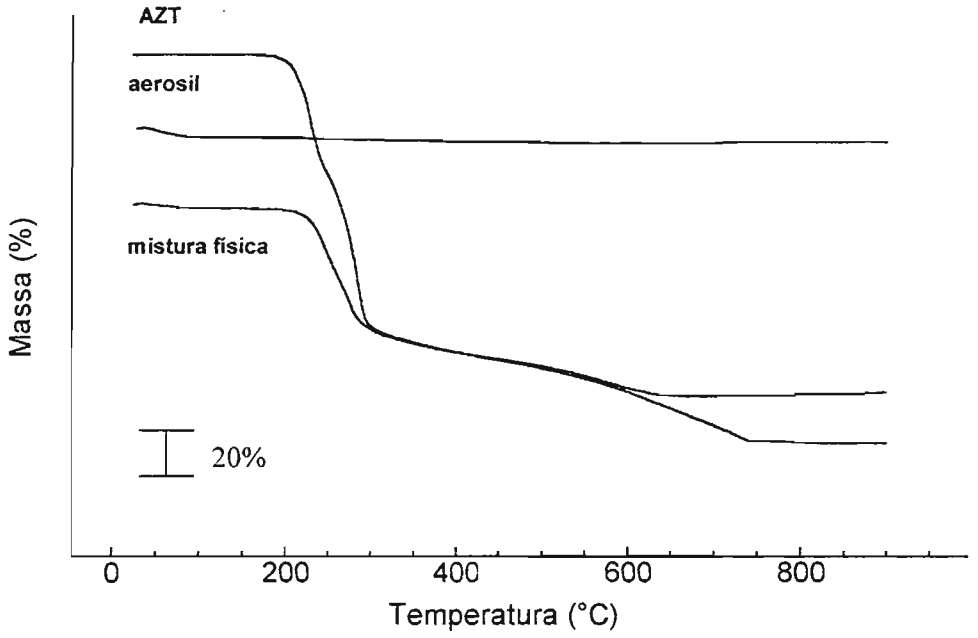


Figura 5.36 - Curvas TG do AZT, do aerosil e da mistura física (1:1 m/m), obtidas na razão de aquecimento de 10°C.min^{-1} sob atmosfera dinâmica de N_2 (50 mL.min^{-1})

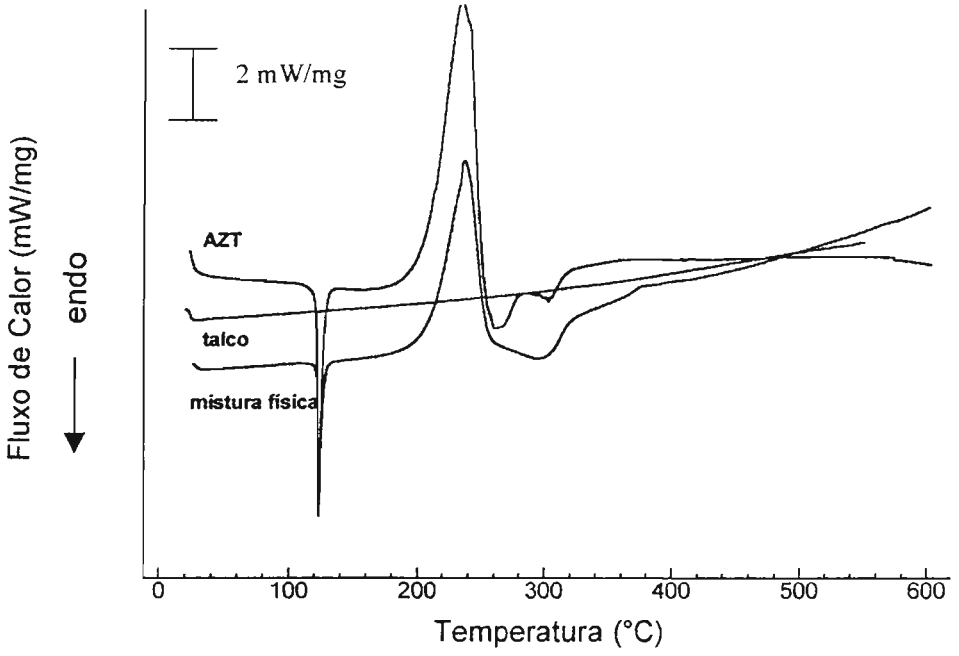


Figura 5.37 - Curvas DSC do AZT, do talco e da mistura física (1:1 m/m), obtidas na razão de aquecimento de 10°C.min^{-1} sob atmosfera dinâmica de N_2 (50 mL.min^{-1})

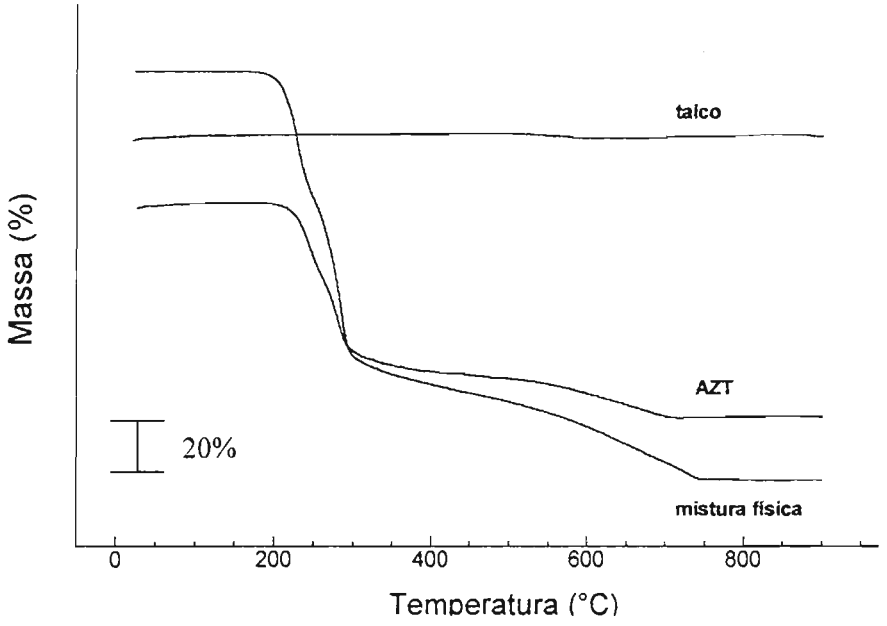


Figura 5.38 - Curvas TG do AZT, do talco e da mistura física (1:1 m/m), obtidas na razão de aquecimento de 10°C.min^{-1} sob atmosfera dinâmica de N_2 (50 mL.min^{-1})

O manitol é vastamente utilizado como um diluente solúvel, que se adiciona aos pós a comprimir com a finalidade de originarem comprimidos de peso conveniente, principalmente quando o princípio ativo é utilizado em quantidade bastante pequena. As Figuras 5.39-40 apresentam as curvas DSC e TG do manitol. O perfil apresentado pela curva DSC mostra uma estabilidade térmica entre 25 e 150°C, onde, a partir de então, se observa um pico endotérmico representativo da fusão do manitol na temperatura de 168°C. A decomposição do manitol mostrada por DSC se inicia numa temperatura próxima a 250°C, ocorrendo em uma única etapa exotérmica (T_{pico}= 377°C). O dados de TG mostram que o excipiente é estável termicamente entre 25 e 230°C, onde, a partir de então, observa-se um evento de perda de massa total na faixa de temperatura entre 230 e 350°C, referente à decomposição térmica do manitol. As curvas termoanalíticas da mistura física AZT/manitol, ilustradas nas Figuras 5.39-40, respectivamente, mostraram que não houve alterações nos perfis termoanalíticos das amostras, sendo as mesmas o somatório de eventos observados para os compostos individualmente.

A Figura 5.41 mostra a curva DSC do AZT, do amido glicolato de sódio e da mistura física AZT/amido glicolato de sódio. De acordo com esse gráfico pode-se observar que o amido glicolato de sódio apresenta um evento endotérmico na faixa de temperatura entre 30 e 160°C, característico do processo de desidratação. Esse evento é seguido por uma estabilidade térmica entre 160°C e 245°C, e a uma posterior decomposição térmica (no sentido exotérmico) mostrada na temperatura de 298,5°C. A curva TG (Figura 5.42) mostra um evento de perda de massa $T_{pico\ DTG}$ = 296°C, característica da decomposição térmica do excipiente. O perfil das curvas DSC e TG da mistura física AZT/amido glicolato de sódio (Figuras. 5.41-42) não mostrou mudanças características em comparação aos perfis apresentados pelo fármaco e pelo excipiente individualmente, podendo assim ser concluído que não há incompatibilidade dentre os compostos.

A curva DSC do ácido esteárico (Figura 5.43) evidenciou um pico endotérmico na temperatura de 57°C, com um calor de 184 $J.g^{-1}$, característico da fusão do excipiente. Após este evento o material mostra-se estável termicamente até uma temperatura próxima a 170°C, onde observa-se a sua volatilização representada por um pico endotérmico em 235°C. A curva TG (Figura 5.44) corroborou os dados de DSC, sendo verificado um único evento de perda de massa na temperatura de pico na DTG de 263,8°C (Δm=95,1%). De acordo com esses gráficos e observando as curvas termoanalíticas da mistura física, pode-se constatar que não houve interação entre as espécies, uma vez que esta mostra-se como o somatório dos eventos observados para os compostos individualmente.

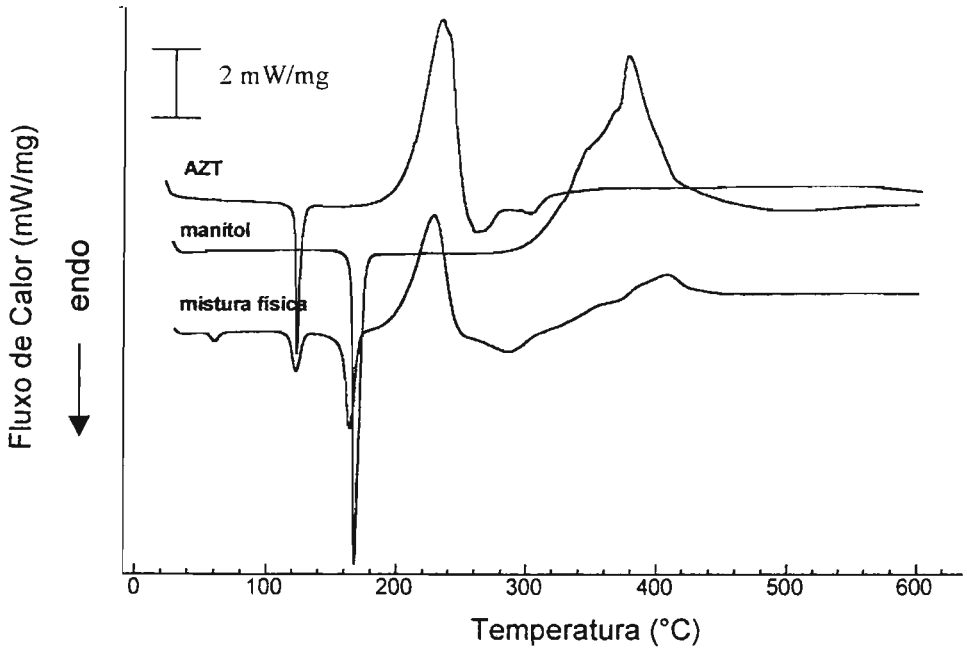


Figura 5.39 - Curvas DSC do AZT, do manitol e da mistura física (1:1 m/m), obtidas na razão de aquecimento de 10°C.min^{-1} sob atmosfera dinâmica de N_2 (50 mL.min^{-1})

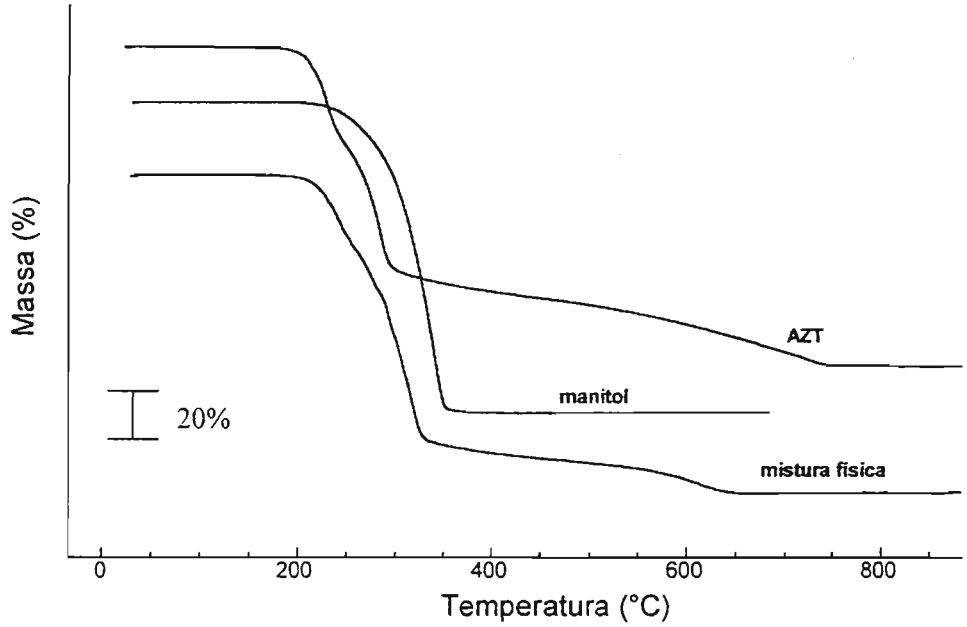


Figura 5.40 - Curvas TG do AZT, do manitol e da mistura física (1:1 m/m), obtidas na razão de aquecimento de 10°C.min^{-1} sob atmosfera dinâmica de N_2 (50 mL.min^{-1})

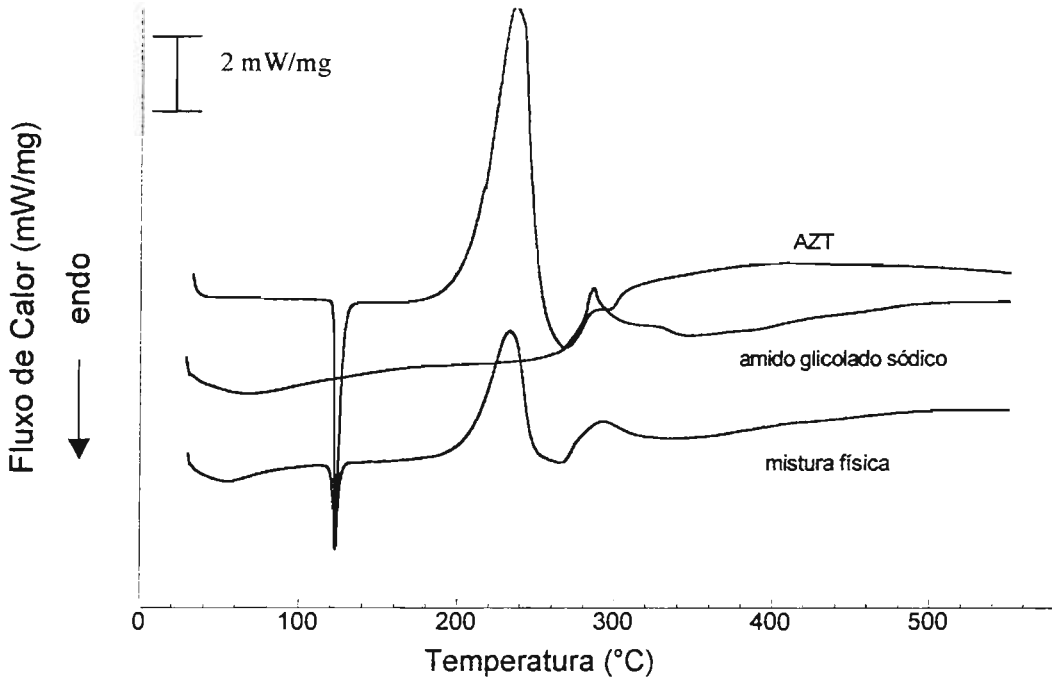


Figura 5.41 - Curvas DSC do AZT, do amido glicolato sódico e da mistura física (1:1 m/m), obtidas na razão de aquecimento de 10°C.min^{-1} sob atmosfera dinâmica de N_2 (50 mL.min^{-1})

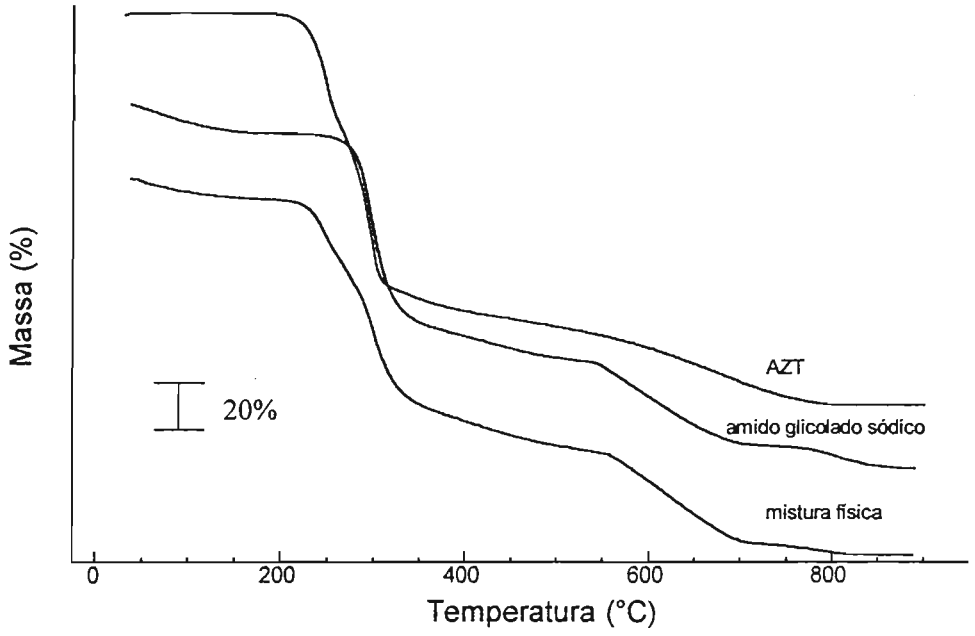


Figura 5.42 - Curvas TG do AZT, do amido glicolato sódico e da mistura física (1:1 m/m), obtidas na razão de aquecimento de 10°C.min^{-1} sob atmosfera dinâmica de N_2 (50 mL.min^{-1})

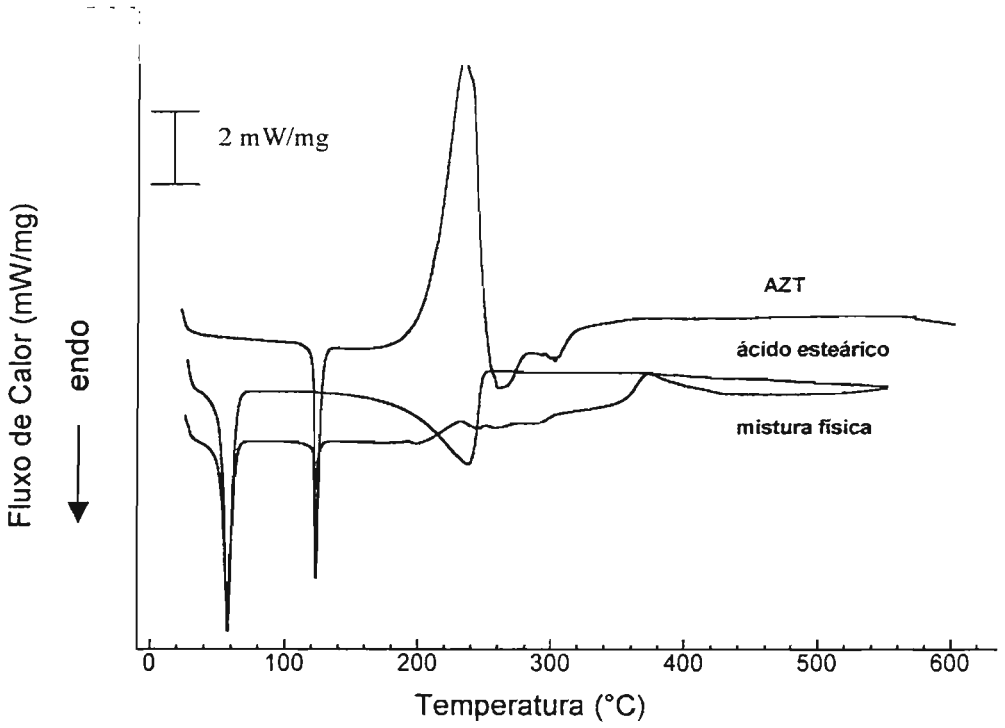


Figura 5.43 - Curvas DSC do AZT, do ácido esteárico e da mistura física (1:1 m/m), obtidas na razão de aquecimento de 10°C.min^{-1} sob atmosfera dinâmica de N_2 (50 mL.min^{-1})

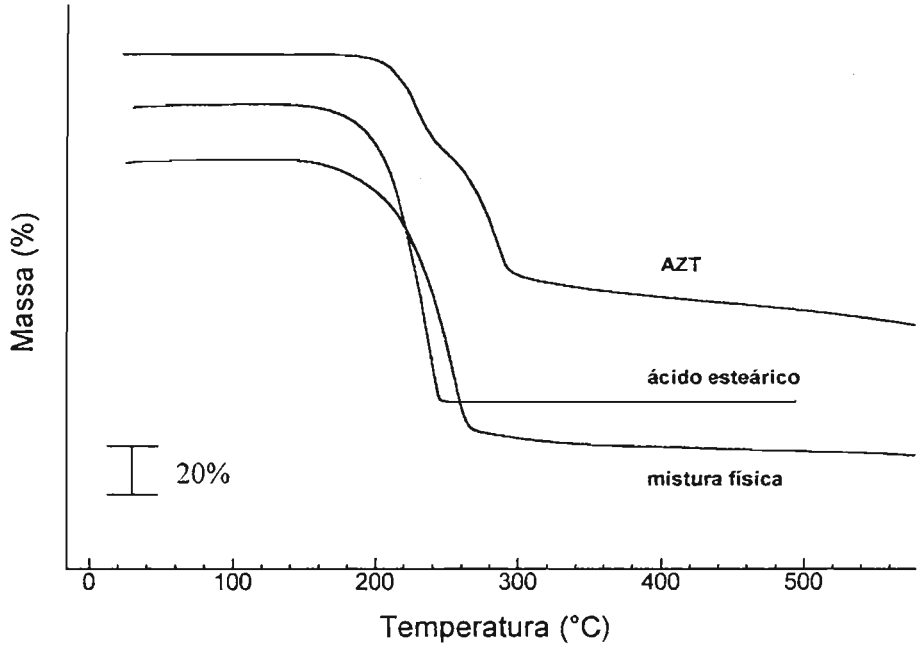


Figura 5.44 - Curvas TG do AZT, do ácido esteárico e da mistura física (1:1 m/m), obtidas na razão de aquecimento de 10°C.min^{-1} sob atmosfera dinâmica de N_2 (50 mL.min^{-1})

A Tabela 5.1 mostra as T_{onset} de fusão, a variação de entalpia envolvida no processo de fusão e a temperatura *onset* da decomposição do AZT e das misturas físicas AZT/excipiente. A análise desses valores torna-se interessante visto que, em casos de não haver qualquer tipo de interação entre o fármaco e excipiente, a T_{onset} de fusão e de decomposição devem se manter inalteradas ou muito próxima daquela para o fármaco tratado individualmente. Em relação ao $\Delta H_{fusão}$ é esperado que esse seja reduzido pela metade, ou valores próximos a ele, tendo em vista que se tem uma mistura física fármaco/excipiente na proporção 1:1 em massa.

Tabela 5.1 - Dados termoanalíticos do estudo de compatibilidade AZT/excipientes, em mistura física 1:1

Misturas físicas	**T_{onset} (fusão) °C**	**$\Delta H_{fusão}$ (kJ.mol^{-1})**	**T_{onset} (decomp.)°C**
AZT	120,9	103,1	224,7
amido	121,8	42,4	225,2
celulose microcristalina	121,7	36,6	227,1
ácido esteárico	120,4	21,7	206,9
hidroxipropilmetilcelulose	121,3	50,2	227,5
etilcelulose	121,9	51,6	231,7
estearato de magnésio	121,6	51,8	223,0
lactose	120,5	46,2	205,7
talco	121,6	51,7	224,5
aerosil	121,4	48,2	224,5
carbopol	121,3	50,3	216,2
croscamelose	121,1	54,0	229,0
gelatina	120,6	44,8	220,6
amido glicolato de sódio	119,7	40,7	228,9
β-ciclodextrina	120,7	49,2	215,8
goma arábica	121,3	60,2	219,4
manitol	116,2	49,4	223,7
PEG 4000	104,7	30,3	222,3
PEG 6000	103,4	29,5	226,1
PEG 20000	102,0	28,9	226,5
polyox 30	119,2	51,3	227,3
sorbitol	112,4	31,1	220,1
PVP (Kolidon 303®)	113,3	40,4	228,6

5.4 CONCLUSÃO

A técnicas termoanalíticas, juntamente com a cromatografia líquida de alta eficiência, vêm sendo considerada a técnica de escolha para a realização de estudos de pré-formulação com a finalidade de avaliar a compatibilidade ou potenciais interações entre fármaco e excipientes. A análise por DSC e TG/DTG fornece informações detalhadas sobre as propriedades físicas e energéticas de substâncias. Através da obtenção de curvas termoanalíticas da substância pura, de cada excipiente individualmente e da mistura fármaco/excipiente, é possível avaliar se houve ou não interações entre as espécies a partir das alterações sofridas por ambas as substâncias quando comparadas as misturas físicas, respectivamente. De acordo com os resultados obtidos pode-se observar que não há interação entre o AZT e os seguintes excipientes: amido, celulose microcristalina, ácido esteárico, hidroxipropilmetilcelulose, etilcelulose, estearato de magnésio, lactose, talco, aerosil, carbopol, croscarmelose, manitol. Portanto, os resultados termoanalíticos são indicativos de que o AZT pode ser misturado com qualquer dos excipientes selecionados sem que ocorra interação química no estado sólido. Em relação aos excipientes PEG 4000, 6000 e 20000, os perfis termoanalíticos apresentados pelas misturas com o AZT mostraram uma redução, alargamento e deslocamento do pico endotérmico referente à fusão do mesmo. Nestes casos, a mudança dos perfis termoanalíticos não necessariamente indica a existência de incompatibilidade entre as espécies, mas sim uma interação forte em função do aquecimento, ou seja, próxima à temperatura de fusão do AZT. Alterações semelhantes nos perfis termoanalíticos da mistura AZT com polyox, PVP e sorbitol foram observadas, nas quais a liquefação do excipiente promove a solubilização do fármaco no meio, o que mostra redução do pico endotérmico representativo da fusão do AZT.

5.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDOU, H.M. Dissolution. *In*: GENNARO, A.R., ed. **Remington: the science and practice of pharmacy**. 18.ed. Easton: Mack Publishing, 1995. p.593-604.

AOKI, S., OKAMOTO, A., DANJO, K., SUNADA, H., OTUKA, A. Compatibility of ibuprofen and ethenzamide. **Drug Dev. Ind. Pharm.**, Monticello, v.23, n. 6, p.561-565, 1997.

BALESTRIERI, F., MAGRI, A.D., MAGRI, AL., MARINI, D., SACCHINI, A. Application of differential scanning calorimetry to the study of drug-excipient compatibility. **Thermochim. Acta**, Amsterdam, v.285, p.337-345, 1996.

BLANCHARD, J. Gastrointestinal absorption II. **Am. J. Pharm.**, Philadelphia, v.150, p.132-151, 1978.

BETTINETTI, G.P., MURA, P., LIGUORI, A., BRAMANTI, G., GIORDANO, F. Solubilization and interaction of naproxen with polyvinylpyrrolidonein aqueous solution and in the solid state. **Farmaco, Ed. Prat.**, Pavia, v.43, p.331-343, 1988.

BOGDANOVA, S. SIDZHAKOVA, D., KARAIVANOVA, V., GEORIEVA, S. Aspects of the interactions between indomethacin and nicotinamide in solid dispersions. **Int. J. Pharm.**, Amsterdam, v.163, p.1-10, 1996.

BOTHA, S.A., LOTTER, A.P. Compatibility study between ketoprofen and tablet excipients using differential scanning calorimetry. **Drug Dev. Ind. Pharm.**, Monticello, v.15, p.415-426, 1989.

BROWN, M.E., ANTUNES, E.M., GLASS, B.D., LEBETE, M., WALKER, R.B. DSC screening of potential prochlorperazine-excipient interactions in the preformulation studies. **J. Therm. Analysis and Calorimetry,**. Budapest, v.56, p. 1317-1322, 1999.

CONSIGLIERI, V.O. Avaliação da qualidade biofarmacêutica da ampicilina sob as formas de suspensão e cápsulas: ensaios *in vitro* e *in vivo* (bioequivalência). São Paulo, 1996. 135p. (Tese de Doutorado - Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo).

FERNANDEZ, M., RODRIGUEZ, I.C., MARGARIT, M.V., CEREZO, A. Characterization of solid dispersions of piroxicam/polyethylene glycol 400. **Int. J. Pharm.**, Amsterdam, v.84, p.197-202, 1992.

FIESE, E.F. & HAGEN, T.A. Pré-formulação. *In*. LACHMAN, L., LIEBERMAN, H.A., KANIG, J.L. **Teoria e prática na indústria farmacêutica**. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2001. v.2, p.651-683.

FORD, J.L., TIMMINS, P. **Pharmaceutical thermal analysis**: technique and applications. New York: Willey-Interscience, 1986. 313p.

GIRON, D. Contribution of thermal methods and related techniques to the rational development of pharmaceuticals. Part 1. **Pharm. Sci. Technol. Today**, Bethesda, v.1, p.191-199, 1998.

GIRON, D. Contribution of thermal methods and related techniques to the rational development of pharmaceuticals. Part 2. **Pharm. Sci. Technol. Today**, Bethesda, v.6, p.262-268, 1998.

GOMES-PINHO, J.J.R., MATOS, J.R., MERCURI, L.P., MIYANO, M.H., STORPIRTIS, S. Aplicação de métodos termoanalíticos em estudo de pré-formulação de comprimidos de cloridrato de metformina. **An. Assoc. Bras. Quim.**, Rio de Janeiro, v.47, n.4, p.305-307, 1998.

GOMES-PINHO, J.J.R. Desenvolvimento de comprimidos de cloridrato de metformina de liberação convencional e modificada: influência dos excipientes sobre o perfil de dissolução e avaliação termoanalítica. São Paulo, 1999. 215p. (Tese de Doutorado – Faculdade de Ciências Farmacêutica – Universidade de São Paulo), p. 32-38, 2000.

HARDY, M.J. Pharmaceutical applications of thermal analysis. In Warrington, J.B. **Thermal Analysis: techniques and applications**. Cambrigde, The Royal Society of Chemistry, 1992, p.180-197.

HOLGADO, M.A, FERNANDEZ-ARÉVALO, M., GINÉS, J.M., CARABALLO, I., RABASCO, A.M. Compatibility study between carteolol hydrochloride and tablet excipients using diffrenecial scanning calorimetry and hot stage microscopy. **Pharmazie**, Eschborn, v.50, p.195-198, 1995.

IGLESIAS, R., TABOADA, C., SOUTO, S., MARTINEZ-PACHECO, R., GÓMEZ-AMOZA, J.L., CONCHEIRO, A. Development of tablets for controlled joint release of nifedipine and atenolol. **Drug Dev. Ind. Pharm.**, Monticello, v.24, n.9, p.835-840, 1998.

MURA, P., BETTINETTI, G.P., BRAMANTI, G., MANDERIOLI, A. Thermal behavior of naproxen in mixtures polyethylene glycol. In: SYMPOSIUM ON PHARMACY AND THERMAL ANALYSIS, Freiburg, 1993, p.10-16.

MURA, P., FAUCCI, M.T., MANDERIOLI, A., FURLANETTO, S., PINZAUTI, S. Thermal analysis as a screening techniques in preformulation studies of picotamide solid dosage forms. **Drug Dev. Ind. Pharm.**, Monticello, v.24, n.8, p.747-756, 1998.

LOTTER, A.P., MALAN, C.E.P., VILLIERS, M. Evaluation of compatibility of table excipients with albendazole and closantel using DSC and HPLC. **Drug Dev. Ind. Pharm.**, Monticello, v.23, n.6, p.533-537, 1997.

PRISTA, L.N., ALVES, A.C., MORGADO, R.M.R. **Técnica farmacêutica e farmácia Galênica**. 3.ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1990. v.3, p.501-553.

PRISTA, L.N., ALVES, A.C., MORGADO, R.M.R. **Técnica farmacêutica e farmácia Galênica**. 4.ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1992. v.3, p.659-799.

RODANTE, F., VECCHIO, S., CATALANI, G., TOMASSETTI, M. Compatibility between active components of a commercial drug. **Il Farmaco**, Amsterdam, v.57, p.833-843, 2002.

THOMPSON, K.C. Pharmaceutical applications of calorimetric measurements in the new millennium. **Thermochimica Acta**, Belfast. v.355, p. 83-87, 2000.

VENKATARAM, S., KHOHLOKWANE, M., WALLIS, S.W. Differential scanning calorimetry as a quick scanning technique for solid state stability studies. **Drug Dev. Ind. Pharm.**, Monticello, v.21, n.7, p.847-855, 1995.

CAPÍTULO VI

Preparação e caracterização de complexos de AZT com terras raras e compostos de inclusão com β-ciclodextrina

Neste capítulo são abordados dois temas importantes na pesquisa e desenvolvimento de novas especialidades farmacêuticas. O primeiro deles é a obtenção de fármacos incorporados a moléculas-hóspedes, no caso a β-ciclodextrina. Esse tipo de preparação tem como intuito principal aumentar a estabilidade e o desenvolvimento de medicamentos de liberação controlada. Outro tema de relevância é a síntese de compostos luminescentes a partir de terras raras, tendo como principais aplicações à utilização como marcadores ópticos e sondas luminescentes, além de testes de fluorimunoensaio.

"Três classes de pessoas são infelizes: a que não sabe e não pergunta, a que sabe e não ensina, a que ensina e não faz"

V. Beda.

6.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE COMPOSTOS DE INCLUSÃO COM CICLODEXTRINAS

A inclusão molecular de fármacos em polímeros tem sido alvo de inúmeros trabalhos há várias décadas (MARQUES & MORARES, 1991; ARMSTRONG, 1988; BELIKOV *et al.*, 1986; GIORDANO, 2001). A razão para esta aplicação está fundamentada no fato de que sistemas de administração de medicamentos por liberação contínua ou controlada podem oferecer diversas vantagens em relação às formas farmacêuticas convencionais. Como exemplo, pode-se citar a tentativa de reduzir a freqüência de administração, a dosagem necessária e o número de efeitos colaterais, ao mesmo tempo em que se busca melhor eficácia do medicamento fornecendo um efeito terapêutico constante, prolongado e uniforme (DUCHÊNE *et al.*, 1986). Como existem disponíveis milhares de substâncias com diferentes propriedades físicas, químicas, biológicas e farmacocinéticas, é imperativo que se usem técnicas inovadoras para aperfeiçoamento das formas farmacêuticas existentes (KHAN *et al.*, 1999).

Várias técnicas de inclusão podem ser aplicadas tecnologicamente, sendo que o tipo de método empregado para a preparação pode ter grande influência sobre o produto final. As técnicas de inclusão propostas para a obtenção de complexos fármaco/hospedeiro (ambos em meio líquido ou sólido) são muitas e até hoje não existe uma técnica universal, provavelmente pelo fato de que cada fármaco possua um processo de complexação particular, dependendo de condições adequadas e das características das moléculas do fármaco e do hospedeiro. A seleção da técnica de preparação mais adequada requer avaliação cuidadosa, devendo-se levar em conta aspectos como a simplicidade, o baixo custo, o bom rendimento, a fácil transposição de escala e, também, a qualidade do produto final obtido (VEIGA *et al.*, 1996; MURA *et al.*, 1999).

A liofilização é uma das técnicas que podem ser empregadas para obtenção de complexos de inclusão. Outras técnicas também podem ser empregadas, como o *spray-dryer* (CORVELEYN & REMON, 1998), a evaporação de solvente, como cita SHIVELY (1993), a mistura física simples ou em moinho micro-vibracional e a molhagem seguida de secagem, entre outras (MURA *et al.*, 1999). MURA *et al.* (1999) compararam várias técnicas de inclusão, incluindo a liofilização, utilizando o cetoprofeno, e duas ciclodextrinas diferentes. As condições práticas do experimento foram: 1) mistura física simples, pela agitação de 4 a 5 g dos pós previamente tamisados (75 a 150 μm) durante 15 min.; 2) técnica de moagem da mistura física em moinho micro-vibracional

durante 60 min.; 3) técnica de mistura e molhagem em gral, com um volume mínimo de etanol-água 1:1 e secagem à temperatura ambiente, sob pressão reduzida, até peso constante, processo denominado por *Kneaded products*; 4) técnica de aquecimento de 1 g da mistura física em ampola de 5 mL fechada, com posterior aquecimento a 80° C durante 3 h (*Sealed-heated*) e a liofilização, na qual 2 g da mistura física foram dissolvidos e congelados a –40° C em placas pré-congeladas de 20 cm de diâmetro e 18 mm de espessura por 24 h. Apesar da liofilização ter sido a técnica de maior complexidade, maior custo e a mais demorada, a mesma demonstrou ter a melhor propriedade de dissolução (60%/10min) para o complexo cetoprofeno/β-ciclodextrina já as técnicas de liofilização e *sealed-heated* demonstram ter as melhores propriedades de dissolução (90%/10min) para cetoprofeno/metil-β-ciclodextrina.

A liofilização permite a obtenção destes complexos, possibilitando, sobretudo, a preservação do princípio ativo ou fármaco-hospedeiro. As condições de congelamento e de execução no processo de liofilização devem ser adequadas às qualidades desejáveis no produto final, ou seja, retenção de voláteis, preservação da estrutura física, manutenção de textura, redução da ação enzimática, decomposição térmica e manutenção da atividade biológica. Para a obtenção de comprimidos contendo fármacos pouco solúveis, a partir da secagem de uma emulsão por liofilização, CORVELEYN & REMON (1998) utilizaram as seguintes condições: *blisters* de PVC de 15 mm de diâmetro e profundidade de 6 mm preenchidos com 0,8 g da emulsão. As amostras foram congeladas a –45°C, a uma razão de congelamento de 0,5°C.min^{-1}, e mantidas nesta temperatura por 1,5 h. A secagem primária foi realizada, mantendo-se os *blisters* por 8 h à pressão de 1 mbar, mantendo-se a temperatura das placas de aquecimento a –10° C e o condensador a –60° C. A secagem secundária foi executada com a redução da pressão para 0,1 mbar e elevando-se a temperatura da placa de aquecimento a 25°C, durante 6 h. O término da secagem deu-se pela passagem de ar na câmara de secagem.

As ciclodextrinas foram isoladas pela primeira vez em 1891, por VILLERS, sendo caracterizadas como produto de degradação do amido pela ação da amilase do *Bacilllus macerans*. Em 1904, Schardenger as caracterizou como oligossacarídeos cíclicos. Alguns autores, sobretudo na literatura mais antiga, denominam as ciclodextrinas (cicloamiloses) como dextrinas de SCHARDINGER, pelo fato do mesmo ter sido o primeiro a identificar o *B. macerans* e a descrever a preparação e as propriedades das ciclodextrinas. Em 1938, FREUNDEBERG *et al.* relataram que as ciclodextrinas são constituídas de unidades de glicose unidas pela ligação α 1→4 como na amilose. O peso molecular das ciclodextrinas mais comuns, α, β, γ, foi determinado por FREND *et*

al. de 1942 a 1949. CRAMER *et al.*, a partir de 1954, realizaram estudos sistemáticos da formação de complexos de ciclodextrinas com outros compostos, verificando que elas atuam como catalisadores de reações, podendo até auxiliar na separação de racematos. Entre 1955 e 1960, realizaram-se os primeiros estudos sobre a formação de complexos de inclusão de ciclodextrinas com fármacos.

As ciclodextrinas, também chamadas cicloamiloses, cicloglucanos e ciclo-oligoses, são oligopolissacarídeos cíclicos não-redutores, não-higroscópicos e hidrossolúveis que formam vários hidratos estáveis. Consistem de seis (hexâmero, na α), sete (heptâmero, na β) ou oito (octâmero, na γ) unidades de glicose, com conformação em cadeira (Figura 6.1a). As ciclodextrinas são moléculas com formato de tronco (Figura 6.1b). Seus grupos OH secundários ligados aos átomos C-2 e C-3 encontram-se na base maior do tronco, ao passo que as hidroxilas primárias unidas ao C-6 ficam situadas na base menor do tronco.

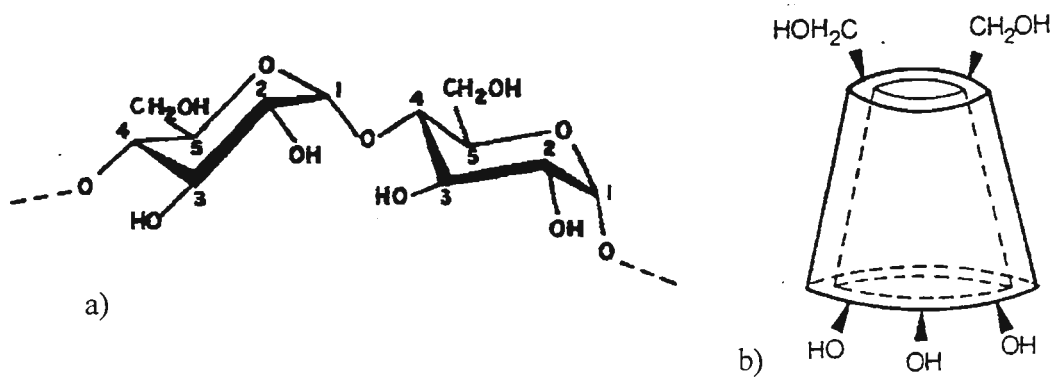


Figura 6.1 - Detalhe da ligação entre duas unidades de glicose de uma molécula de ciclodextrina e sua representação esquemática

De todos os grupos CH destas moléculas só os que compreendem H-1, H-2 e H-4, e as hidroxilas secundárias, ficam localizados no exterior da molécula. Isto torna as faces externas das ciclodextrinas hidrofílicas e a parte interna por não conter grupos OH, apresenta ambiente muito menos polar que aquele da água, caracterizando uma cavidade apolar, como visto na Figura 6.2. As hidroxilas secundárias das várias unidades de glicose, e os grupos OH em C-2 e 3, formam pontes de hidrogênio intramoleculares estabilizando a molécula e impedindo sua hidratação.

As β-ciclodextrinas são as mais utilizadas para a formação de complexos de inclusão com diversas substâncias, as quais ficam incluídas dentro da cavidade. Após a hidratação as α,β e γ

ciclodextrinas contém 6, 11 e 17 moléculas de água, respectivamente. Estas moléculas podem ser substituídas por moléculas hóspedes de compostos apolares ou menos polares que a água.

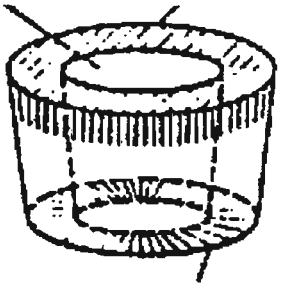


Figura 6.2 - Formato molecular da β-ciclodextrina, com sua cavidade central apolar

As ciclodextrinas constituem, de certa maneira, uma miniatura bem construída de uma enzima, com cavidade apolar para alojar moléculas-hóspede, locais para introdução de grupos catalíticos justapostos e hidrossolubilidade satisfatória, determinando sua capacidade de inclusão. Dentre as ciclodextrinas mais simples, a γ-ciclodextrina é a que melhor serve para o propósito de inclusão, pela sua dimensão geométrica, porém possui custo elevado. A α-ciclodextrina é pequena demais para a formação de complexos de inclusão; desta forma a β-ciclodextrina tem-se mostrado a mais adequada para este fim, pela dimensão geométrica, custo intermediário e menor solubilidade em água, o que permite sua dimerização com número ímpar de unidades de glicose.

As principais aplicações dos complexos com ciclodextrinas são o aumento da estabilidade de moléculas-hóspede contra oxidação, hidrólise, fotodecomposição e desidratação; aumento da solubilidade do fármaco; liberação melhorada do fármaco; aumento da biodisponibilidade do fármaco; possibilidade da conversão de substâncias voláteis e líquidas em formulações sólidas; prevenção da evaporação do fármaco; correção do odor desagradável do fármaco; redução da ação irritante do fármaco sobre as mucosas gástrica e intestinal e de outros efeitos adversos, como hemólise, por exemplo; prevenção das interações fármaco-fármaco e/ou fármaco-aditivo. Também possibilitam a administração oral, bucal ou sublingual, devido à rápida dissolução pelo contato com a saliva, o que facilita a administração a pacientes de pediatria e geriatria, os quais geralmente têm dificuldades de aceitação e assimilação (CORVELEYN & REMON, 1998).

6.1.1 Formação de complexos de inclusão com ciclodextrinas

A propriedade mais notável das ciclodextrinas é a de apresentarem uma cavidade apolar, na qual vários tipos de fármacos podem ser incluídos. O processo de inclusão é considerado farmacotécnico, uma vez que não ocorre a formação de ligações covalentes, quer em solução aquosa, quer em fase sólida. Uma vez hidratadas, as α, β e γ-ciclodextrinas conterão 6, 11 e 17 moléculas de água respectivamente, que poderão ser substituídas por moléculas de compostos apolares ou menos polares do que a água. Na Figura 6.3 pode-se observar a representação esquemática da formação de complexos de inclusão, mediante a incorporação de água ou moléculas orgânicas em sua cavidade. Os círculos brancos pequenos representam moléculas de água e os maiores, as cavidades da ciclodextrina. O mecanismo de complexação da ciclodextrina com uma molécula orgânica que possua uma parte apolar e outra polar, ocorre pela repulsão das moléculas de água do interior da ciclodextrina pela parte apolar da molécula orgânica e atração das moléculas de água pela cadeia polar lateral. Em outras palavras, a parte apolar da molécula orgânica entra na cavidade da ciclodextrina expulsando as moléculas de água que lá estavam, enquanto a parte polar fica no exterior da cavidade, hidratando-se pois tende a rodear-se de água.

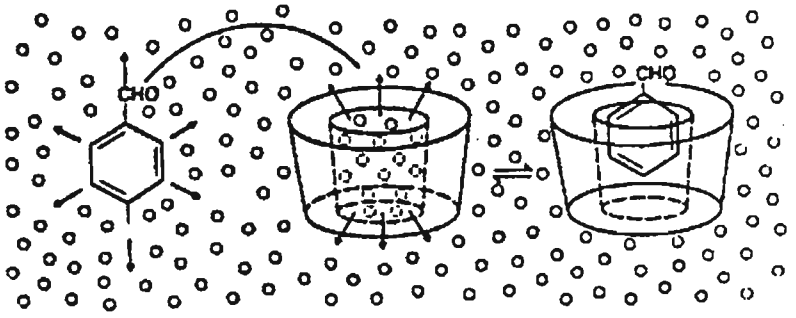


Figura 6.3 - Formação de complexos da β-ciclodextrina em solução aquosa

Na ausência de molécula-hóspede, a cavidade apolar, que atua como hospedeira, é preenchida por moléculas de água. Contudo, uma molécula-hóspede apolar específica, quando adicionada à solução de ciclodextrina, expulsa estas moléculas de água e ocupa ela própria esta cavidade devido à sua maior afinidade com esta parte da ciclodextrina (Figura 6.3). A força principal da ligação da molécula-hóspede apolar ou menos polar que a água é uma interação fraca por forças de Van der Waals, ficando, desta forma, a molécula-hóspede presa fracamente às paredes.

Quanto à toxicidade das ciclodextrinas, os primeiros ensaios efetuados com a substância, em animais de laboratório, em 1957, indicaram que eram muito tóxicas, havendo até causado a morte de alguns animais. Verificou-se, porém, que estas continham impurezas, como solventes clorados ou aromáticos, e a isto se devia à toxicidade das mesmas. Estudos mostram que as ciclodextrinas purificadas são inócuas, não manifestando ação tóxica, tampouco teratogênica ou mutagênica, podendo, conseqüentemente, ser usadas com máxima segurança.

Recentemente, alguns estudos indicaram que pode haver uma aparente perturbação farmacocinética com o uso dos complexos de inclusão com ciclodextrinas por uma suposta ligação destes complexos com proteínas. Além disto, pode também haver uma alteração na absorção oral de fármacos por um mecanismo de aumento na permeação do fármaco através da membrana da mucosa. As ciclodextrinas podem causar um efeito secundário sistêmico, aumentando a eliminação de certos nutrientes e ácidos biliares no trato gastrintestinal. Alguns relatos da literatura citam nefrotoxicidade da α e β-ciclodextrinas e a remoção de componentes de membranas lipídicas, podendo estar ligadas à disfunção intracelular renal (STELLA & RAJEWSKI, 1997).

As últimas inovações na área tiveram como base à criação de moléculas capazes de englobar em sua cavidade outras moléculas. A técnica ficou conhecida graças ao Prof. Donald J. Cram, a quem foi concedido o Prêmio Nobel de Química de 1987. Ele estudou a possibilidade de acelerar o tempo da absorção e de ação de um fármaco antiinflamatório e analgésico, que, pelas suas características de ser insolúvel em água, apresentava a desvantagem de ser absorvido muito lentamente pelo organismo. Com sua técnica, obteve-se uma nova substância, cuja solubilidade foi aumentada em 50 vezes e com uma velocidade de absorção 100% maior. Foi obtido, assim, um produto com rapidez de ação comparável a de um fármaco injetável, mantendo-se as vantagens do uso da via oral e da inocuidade da β-ciclodextrina, uma vez que a mesma não é praticamente absorvida pelo organismo e é lentamente transformada, por ação das amilases intestinais, em derivados de cadeia linear, que são fragmentados em unidades de glicose.

As principais vantagens da obtenção de complexos de inclusão são aumentar a estabilidade de moléculas contra oxidação, hidrólise, fotodecomposição e desidratação; desenvolver sistemas de liberação controlada de fármacos; aumentar a biodisponibilidade de fármacos; impedir a conversão de substâncias voláteis e líquidas em formulações sólidas; corrigir o odor desagradável de alguns fármacos; reduzir a ação irritante de fármacos sobre as mucosas gástrica e intestinal. Neste sentido, o estudo ora proposto teve como objetivo a síntese, avaliação do comportamento térmico e caracterização química de complexos de inclusão da zidovudina (AZT) em β-

ciclodextrina, obtidos por diferentes metodologias, ou seja, mistura física, liofilização e evaporação à pressão reduzida.

6.2 MATERIAIS E MÉTODOS

6.2.1 Preparação das amostras

A amostra de AZT (princípio ativo) foi obtida pela Fundação para o Remédio Popular-Furp (lote 22459710) e a β-ciclodextrina utilizada foi da marca Merck (lote F6080-134). Com a finalidade de obter o complexo de inclusão AZT/β-ciclodextrina foram utilizadas três técnicas de preparação. O primeiro método foi realizado através da mistura física entre o AZT e a β-ciclodextrina, na proporção de 1:1 (M/M), utilizando almofariz e leve agitação mecânica até a homogeneização da amostra. O segundo procedimento foi utilizando a técnica de liofilização. Para tal, procedeu-se à dissolução da amostra em proporção estequiométrica de 1:1 (AZT/β-ciclodextrina) utilizando 50 ml de água. Essa solução permaneceu em banho-maria durante 24 horas, sob agitação e aquecimento controlado a 37°C. Após este período, a amostra foi liofilizada utilizando as seguintes condições experimentais: ponto eutético (4°C), temperatura de prateleira (-50°C) e temperatura final (20°C). Por fim foi feita a solubilização do fármaco e da β-ciclodextrina em água e, posteriormente, evaporação à pressão reduzida.

6.2.2 Métodos

As amostras puras e os preparados obtidos foram analisados por calorimetria exploratória diferencial (DSC), termogravimetria/termogravimetria derivada (TG/DTG) e espectroscopia de absorção na região do infravermelho (IV). As curvas DSC foram obtidas na faixa de temperatura entre 25 e 550°C, utilizando-se célula calorimétrica modelo DSC-50 da marca Shimadzu, sob atmosfera dinâmica de N_2 (50 $mL.min^{-1}$), razão de aquecimento de $10°C.min^{-1}$, utilizando cápsula de alumínio parcialmente fechada contendo aproximadamente 2 mg de amostra. A célula DSC foi calibrada e/ou verificada antes dos ensaios no eixo de temperatura utilizando padrões de índio ($T_{fusão}$ = 156,6°C) e zinco ($T_{fusão}$ = 419,5°C), metálicos com pureza de 99,99%. Para o fluxo de calor empregou-se o $\Delta H_{fusão}$ do índio metálico (28,7 $J.g^{-1}$). As curvas TG/DTG foram obtidas na faixa de temperatura entre 25 e 900°C, utilizando-se termobalança modelo TGA-50 da marca

Shimadzu, sob atmosfera dinâmica de N_2 e em ar (50 $mL.min^{-1}$), razão de aquecimento de $10°C.min^{-1}$, utilizando cadinho de platina contendo massa de amostra em torno de 3 mg. Antes dos ensaios verificou-se a calibração do instrumento empregando-se uma amostra de oxalato de cálcio monohidratado conforme norma ASTM (1582 – 93).

Os espectros de absorção na região do infravermelho (IV) foram obtidos em equipamento Bomem, no comprimento de onda de 4000 a 400 cm^{-1}, diluindo-se as amostras em KBr sob a forma de pastilha. Os difratogramas de raios X, para o fármaco e os compostos intermediários sólidos derivados do processo de decomposição térmica do AZT, foram obtidos em equipamento de difração de raios X da marca Siemens, modelo D5000, com tubo de CuK_α, em intervalo de 3 a 65°, com passo de 0,05 (α) e tempo de passo de 1 segundo, utilizando o método do pó.

6.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A curva DSC do AZT (Fig. 6.4) mostra um primeiro evento endotérmico, na faixa de temperatura entre 115 e 135°C (ΔH=27,8 $kJ.mol^{-1}$), característico do processo de fusão do fármaco. A partir da temperatura de 160°C, observou-se o início do processo de decomposição térmica do AZT, sendo este divido em duas etapas: a primeira exotérmica e a segunda endotérmica. A etapa exotérmica ocorreu na faixa de temperatura entre 160 e 260°C, apresentando um valor de entalpia em torno de 268,8 $kJ.mol^{-1}$ e temperatura de pico em 234°C. A etapa posterior, endotérmica, pode ser observada na faixa de temperatura entre 280 e 360°C (ΔH=44,3 $kJ.mol^{-1}$), e é indicada por dois picos na curva DSC nas temperaturas de 260 e 303°C. Enquanto a curva DSC mostra um evento endotérmico em 123°C, característico da fusão do fármaco, nas curvas TG/DTG (Fig. 6.5) observa-se um patamar em ~180°C indicando que até essa temperatura o AZT é termicamente estável. A partir de 180°C são observados, basicamente, três eventos de perda de massa. O primeiro ocorre entre 177 e 245°C e Δm=51,2%. O segundo evento ocorre entre 245 e 345°C e Δm=20,3%. Após este evento a decomposição térmica se processa lentamente entre 350 e 770°C, devido à carbonização e eliminação gradativa de material carbonáceo. Nesta terceira etapa a perda de massa é de ~28,4%.

Observando-se a curva DSC da β-ciclodextrina (Fig. 6.4) pode-se verificar dois picos endotérmicos em 82 e 323°C. O primeiro evento está associado à saída de moléculas de água da cavidade da β-ciclodextrina, evidenciado também pela curvas TG/DTG. O segundo evento

representa a fusão do composto, sendo seguida pela sua decomposição, mostrada por um evento exotérmico. Analisando a curva TG/DTG (Figura 6.5) observou-se uma perda de massa em torno de 15%, na faixa de temperatura entre 25 e 115°C. Esta perda de massa está associada à liberação de água da cavidade interna da β-ciclodextrina. Logo após esse evento pode ser observado um patamar de estabilidade térmica até aproximadamente 320°C, onde se inicia o processo de perda de massa característico da decomposição do açúcar.

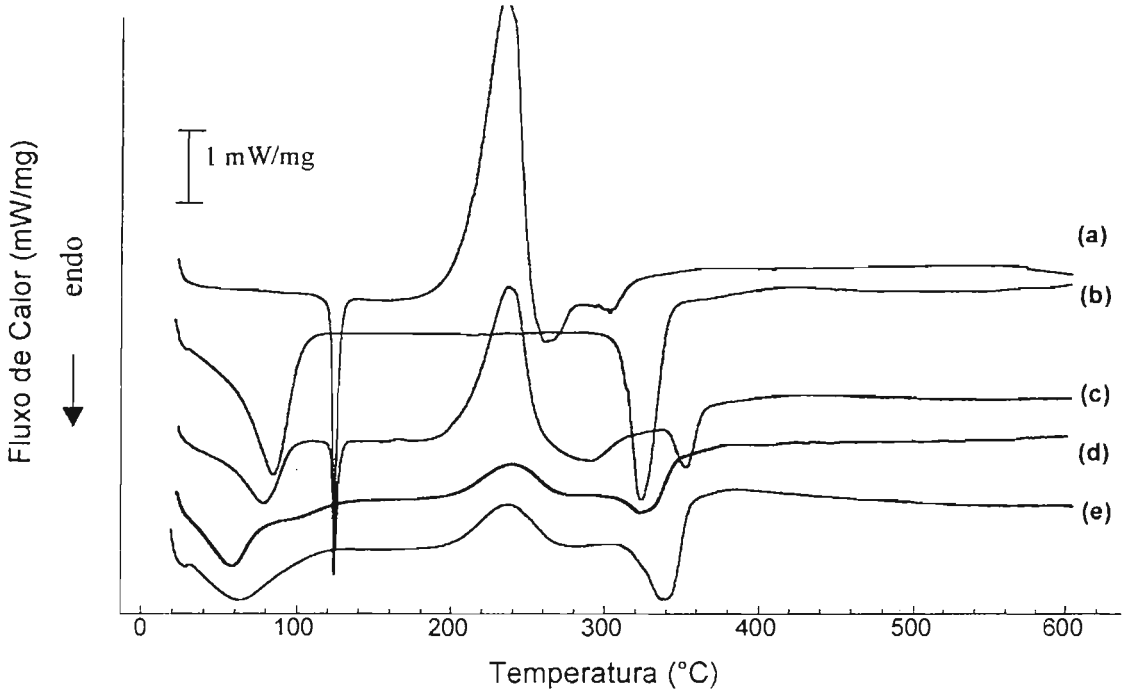


Figura 6.4 - Curvas DSC do AZT (a), da β-ciclodextrina (b), da mistura liofilizada (c), da mistura física (d) e da mistura evaporada à pressão reduzida (e), obtidas sob atmosfera dinâmica de N_2 (50 $mL.min^{-1}$) e razão de aquecimento de $10°C.min^{-1}$

Pelas curvas DSC e TG/DTG foi possível observar que através da mistura mecânica de AZT com β-ciclodextrina não é possível obter a formação do complexo, uma vez que não foram observadas alterações da curva da mistura em relação aos componentes individuais. A análise do produto obtidos pela solubilização de ambos compostos em água e posterior liofilização, evidenciou mudanças de natureza física, uma vez que não foi observado o evento relativo à fusão do fármaco na faixa de temperatura entre 120 e 124°C (Figura 6.4). Quanto ao produto obtido através da solubilização dos compostos em meio aquoso e posterior evaporação à pressão

reduzida, observou-se que, também, não foi evidenciado o evento relativo à fusão do AZT, o que mostra a existência de interação entre as espécies. Nestes dois últimos casos pode-se observar o pico exotérmico em 240°C associado à decomposição térmica do AZT.

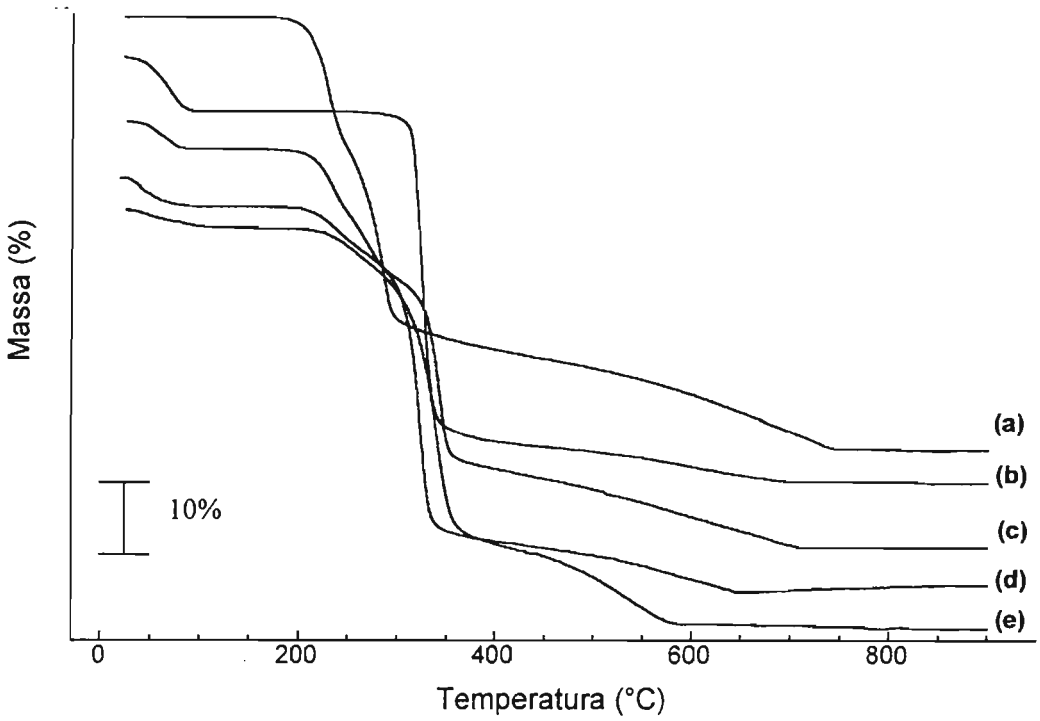


Figura 6.5 - Curvas TG do AZT (a), da β-ciclodextrina (b), da mistura liofilizada (c), da mistura física (d) e da mistura evaporada à pressão reduzida (e), sob atmosfera dinâmica de N_2 (50 $mL.min^{-1}$) e razão de aquecimento de $10°C.min^{-1}$

O espectro de absorção na região do IV do AZT (Fig. 6.6a) mostra uma banda de estiramento na região de comprimento de onda de 3500 a 3200 cm^{-1} relativa a ν_s e $\nu_{as}OH$ e a banda OH em 1630-1600 cm^{-1}. A banda 2102 cm^{-1} representa o $\nu C{=}N{=}N{=}N$ (grupo azido), a banda em 1694 cm^{-1} é referente ao grupo C=O, a banda em 1385 cm^{-1} representa o grupamento CH_2 e, por fim, a banda em 1281 cm^{-1} caracteriza os grupos C-O-C e C-OH. O espectro de IV da β-ciclodextrina (Fig. 6.6b) apresentou bandas largas, características, em 3500-3300 cm^{-1} e 1100-1000 cm^{-1}, associados aos estiramentos assimétricos e simétricos –OH e C-O-C, respectivamente. Os resultados de absorção na região do IV apresentados na Fig. 6.6c, demonstrou que o grupo azido (grupo-N=N=N) do AZT foi preservado (banda em torno de 2100 cm^{-1}), independente do método

utilizado para obtenção das espécies. Os dados apresentados acima corroboram os resultados obtidos por DSC e TG/DTG.

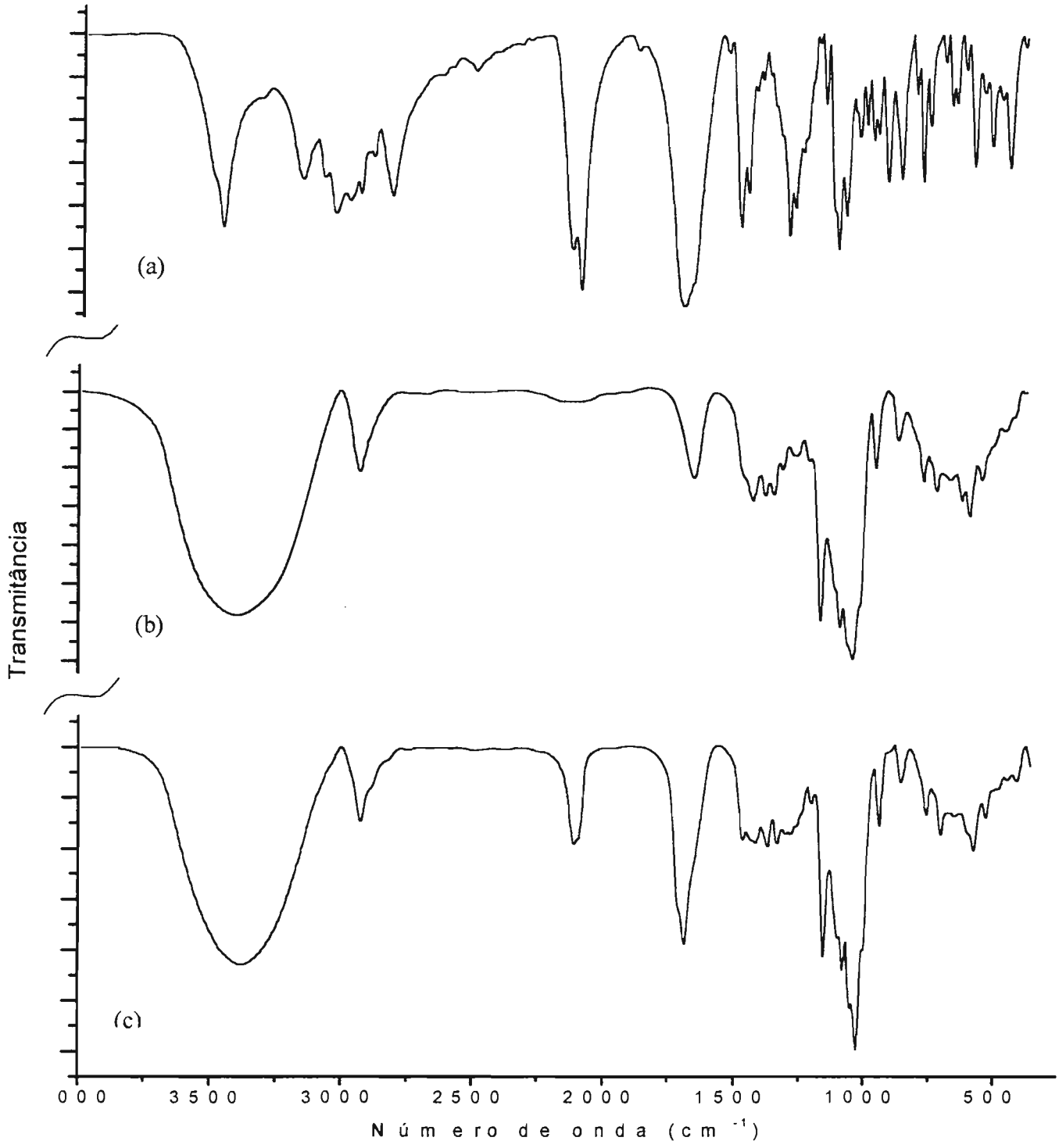


Figura 6.6 - Espectro de absorção da região do infravermelho do AZT (a), da β-ciclodextrina (b) e do complexo de inclusão obtido por liofilização (c)

Os gráficos de difração de raios X pelo método do pó do AZT, da β-ciclodextrina, da mistura física, do complexo obtido por evaporação à pressão reduzida e por liofilização são mostrados na Figura 6.7. Como pode ser observado, o AZT e a β-ciclodextrina apresentam picos bem definidos, confirmando a cristalinidade desses materiais. No caso da mistura física, pode-se observar somatório de eventos característicos do AZT e da β-ciclodextrina. Por outro lado, a difração de raios X do complexo obtido por evaporação à pressão reduzida não apresenta alguns picos de reflexão, indicando que há a formação de uma nova espécie. O mesmo acontece com o complexo obtido por liofilização, em que ocorre alteração do difratograma de raios X em relação aos compostos precursores e, além disso, pode-se verificar amorfização do material sintetizado em decorrência do processo de liofilização.

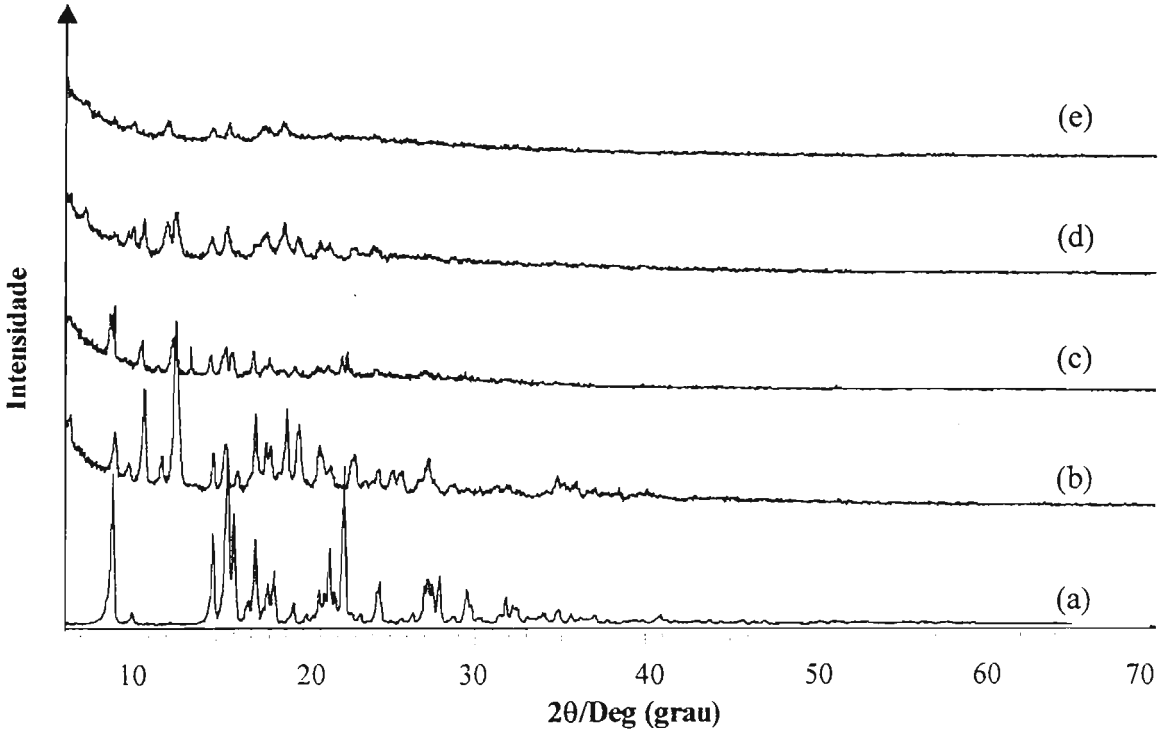


Figura 6.7 - Difração de raios X pelo método do pó do AZT (a), da β-ciclodextrina (b), da mistura física (c), do complexo obtido por evaporação à pressão reduzida (d) e por liofilização (e)

6.4 CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos, pode-se concluir que através da simples mistura mecânica de AZT/β-ciclodextrina não é possível promover a complexação do fármaco à molécula-

hospedeiro. Através da solubilização das espécies em meio aquoso, e posterior obtenção dos produtos no estado sólido, seja por liofilização ou secagem à pressão reduzida, é possível verificar a ocorrência de interação entre o AZT e a β-ciclodextrina.

6.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACERBI, D. Biopharmaceutical optimisation of β-ciclodextrin inclusion compounds. **Drug Invest.**, Mairangi Bay, v.2, suppl.4, p.29-36, 1990.

ARMSTRONG, D.W. Cyclodextrins in analytical chemistry. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON CYCLODEXTRINS, 4, Munich, 1988. **Proceedings**. Munich: Kluwer Academic Publishers, 1988. p.437-449. (Proceedings of the international symposium on cyclodextrins, v.4).

BELIKOV, V.G., KOMPANTSEVA, E.V., BOTEZATBELY, Y.K. Cyclodextrines and their incluson of drugs. **Khim.-Farm. Zh.**, Moscow, v.20, n.5, p.525-532, 1986.

CORVELEYN, S., REMON, J.P. Formulation of a lyophilized dry emulsion tablet for the delivery of poorly soluble drugs. **Int. J. Pharm.**, Amsterdam, v.166, p.65-74, 1998.

DUCHENE, D., VAUTION, C., GLOMOT, F. Cyclodextrins, their value in pharmaceutical technology. **Drug Dev. Ind. Pharm.**, Monticello, v.12, p.2193-2216, 1986.

FUNK, O., SCHWABE, L., FROMMING, K.H. Dissolution behavior of tablets with freeze-dried complexes of ketoprofen with β-cyclodextrin. **Pharmazie**, Eschborn, v.48, p.745-747, 1993.

GIORDANO, F., NOVAK, C., MOYANO, J.R. Thermal analysis of cyclodextrin and their inclusion compounds. **Thermochim. Acta**, Amsterdam, v.380, p.123-151, 2001.

KHAN, M.A., SHOJAEI, A.H., KARNACHI, A.A., REDDY, I.K. Avaliação comparativa das formas farmacêuticas sólidas de liberação controlada preparadas com dispersões sólidas e co-precipitados. **Pharm. Technol.**, Eugene, v.3, n.5, p.10, 1999.

MARQUES, H.M., MORARES, J.A.C. Ciclodextrinas e seus complexos de inclusão. **Rev. Port. Farm.**, Lisboa, v.41, n.2, p.5-8, 1991.

MOYANO, J.R., ARIAS, M.J., GINÉS, J.M., PÉREZ, J.I., RABASCO, A.M. Dissolution behavior of oxazepam in presence of cyclodextrins: evaluation of oxazepam-dimeb binary system. **Drug Dev. Ind. Pharm.**, Monticello, v.23, n.4, p.379-385, 1997.

MURA, P., FAUCCI, M.T., PARRINI, P.L., FURLANETTO, S., PINZAUTI, S. Influence of the preparation method of ketoprofen-cyclodextrin binary systems. **Int. J. Pharm.**, Amsterdam, v.179, p.117-128, 1999.

PAGINGTON, J.S. β-cyclodextrin: the success of molecular inclusion. **Chem. Br.**, London, v.23, p.455-458, 1987.

PINTYE-HÓDI, K., MILIC-ASKRABIC, J., RAJIC, D.S., DJURIC, S., KÁSA, P. Etodolac and solid dispersion with β-cyclodextrin. **Drug Dev. Ind. Pharm.**, Monticello, v.23, n.11, p.1123-1129, 1997.

PITHA, J., IRIE, T., SKLAR, P.B., NYE, J.S. Drug solubilizers to aid pharmacologists: amorphous cyclodextrin derivatives. **Life Sci.**, New York, v.43, p.493-502, 1988.

RAJEWSKI, R.A., STELLA, V.J. Cyclodextrins: their future in drug formulation. **Pharm. Res.**, New York, v.14, n.5, p.556-567, 1997.

SANGHAVI, N.M. Inclusion complexes of terfenadine-cyclodextrins. **Drug Dev. Ind. Pharm.**, Monticello, v.21, n.3, p.375-381, 1995.

VEIGA, F., TEIXEIRA-DIAS, J.J.C., KEDZIEREWICZ, F., SOUSA, A., MAINCENT, P. Inclusion complexation of tolbutamide with β-ciclodextrina and hydroxypropyl-β-ciclodextrina. **Int. J. Pharm.**, Amsterdam, v.129, p.63-71, 1996.

6.6 CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE TERRAS RARAS

O nome terras raras vem de sua ocorrência em óxidos ou da nomenclatura antiga terras, que na verdade é uma mistura de óxidos. Hoje em dia, sabe-se que não são tão raros assim, a sua abundância é relativamente alta, quando comparada a outros elementos. Pode-se citar, como exemplo, o elemento túlio (Tm), que sendo o menos abundante de todos da série é mais comum que o arsênio, cádmio, mercúrio e outros que são considerados raros. Na família das terras raras estão incluídos os elementos do La ao Lu, Y e Sc, sendo estes dois últimos encontrados no mineral que contém o Gd (gadolinite). De fato, esta expressão se deve ao difícil processo de separação dos óxidos. Isto porque, em solução, a maioria dos óxidos existe como íons trivalentes, que são protegidos por uma camada hidratada fortemente ligada (ABRÃO, 1994; SILVA, 2000).

A IUPAC, em 1960, normatizou a nomenclatura destes elementos. Entretanto, recomenda-se a expressão "metais de terras raras" para os elementos Sc, Y, e La ao Lu. Para os elementos de números atômicos 57 ao 71 (La-Lu) é reservado o termo série do "lantânio". Com exclusão do elemento lantânio, o termo "lantanídeos" é recomendado, embora este nome seja freqüentemente utilizado, com a inclusão do próprio lantânio. Segundo SILVA (2000), estes elementos, terras raras, por apresentarem propriedades físicas e químicas semelhantes, são considerados como uma das séries mais longas dentro da classificação periódica.

Os íons trivalentes de terras raras [RE(III)] são caracterizados por apresentarem extraordinárias propriedades fotofísicas e serem largamente utilizados como sondas luminescentes, em estudos resolvidos no tempo, em amplificação óptica, em eletroluminescência e em aplicações em diagnósticos (HEMMILÄ *et al.*, 1994; BÜNZLI *et al.*, 1989; BRITO *et al.*, 1999; YOSHIMASA, *et al.*, 1995; YAM *et al.*, 1999). Essas aplicações são justificadas pelo fato dos orbitais 4f atuarem como proteção ou blindagem de ambientes químicos pelos orbitais 5s5p, os quais produzem bandas muito finas nos seus espectros de emissão e absorção, tanto para compostos no estado gasoso e sólido, como em solução. Esta propriedade química marca as terras raras como potenciais sondas e marcadores para sistemas bioquímicos (MARTINS *et al.*, 2002).

Os ions [Eu(III)] e [Tb(III)] são os mais empregados em estudos bioquímicos devido às suas características de fotoluminescência (RICHARDSON, 1982; ELBANOWSKI *et al.*, 1996; MARTINS *et al.*, 2003). No entanto, o íon Eu(III) provê facilidades adicionais na interpretação dos espectros quando comparado ao íon Tb(III). O íon Eu(III) apresenta grande vantagem por ter um nível de emissão considerado não-degenerado, $^5D_0$, em contraposição ao íon Tb(III) o qual

apresenta nível de emissão, $^5D_4$, que pode ser divido em nove componentes e, assim, apresentar uma análise espectral bem mais complexa. Deste modo, a transição $^5D_0 \rightarrow {}^7F_0$ do íon Eu(III) apresenta uma linha fina que caracteriza o sítio de simetria e, conseqüentemente, facilita o uso do Eu(III) como sonda ou em casos de coordenação onde haja heterogeneidade. Caso esta transição mostre mais de um pico de emissão isto indica a existência de pelo menos dois diferentes sítios de simetria. A intensidade da transição $^5D_0 \rightarrow {}^7F_1$ não é muito influenciada pelo ambiente químico (seguido pelo mecanismo dipolo magnético) e pode ser utilizada como referência da transição. Por outro lado, a transição $^5D_0 \rightarrow {}^7F_2$ é hipersensitiva em torno do ambiente químico do íon Eu(III), o qual pode fornecer informações sobre a primeira esfera de coordenação (MALTA *et al.*, 1999).

Os íons terras raras têm particular afinidade para coordenação ou formação de complexos com compostos orgânicos contendo oxigênio, nitrogênio ou enxofre como átomos doadores, com a seguinte ordem de preferência: O>N>S. Isto ocorre devido ao caráter de ácido duro apresentado por estes íons metálicos. Estes átomos doadores são freqüentemente utilizados em sistemas bioquímicos e marcadores ópticos. Isto explica o grande número de estudos publicados recentemente envolvendo complexos de RE(III) com moléculas biologicamente importantes (YAM *et al.*, 1999). Por fim, a similaridade entre os íons metálicos de terras raras com íons comumente encontrados em seres vivos, principalmente o Ca(II) e o Mg(II), torna a aplicação desses metais viável para a realização de estudos *in vivo* (BÜNZLI *et al.*, 1989). Importante aspecto do íon Ca(II) é que ele não pode ser estudado por espectroscopia eletrônica (absorção e emissão), por apresentar ausência de atividade óptica dos elétrons (RICHARDSON, 1982), enquanto que os íons de terras raras mostram excelente características espectroscópicas devido a suas propriedades eletrônicas.

Nos últimos anos diversos estudos vêm sendo conduzidos envolvendo reações entre lantanídeos e diferentes sistemas biológicos, tais como aminoácidos, proteínas, nucleotídeos, ácidos nucléicos e tecidos animais (EVANS, 1990; ELBANOWSKI & MAKOWSKA, 1996). Esses estudos têm como principais objetivos a aplicação em diagnóstico, em particular, em fluoroimunoensaio, nos ensaios de hibridação de ácidos nucléicos, no desenvolvimento de marcadores ópticos, como sondas em fármacos luminescentes, e em melhorar as propriedades estereoquímicas de macromoléculas como, por exemplo, algumas proteínas (BÜNZLI & CHOPPIN, 1989; ELBANOWSKI & MAKOWSKA, 1996; RICHARDSON, 1982).

As propriedades luminescentes das terras raras associadas às β-dicetonas (TTA), em particular compostos de $[Eu(TTA)_3 \cdot xL]$, onde L representa os ligantes orgânicos e x o número de

ligantes presentes no complexo, têm sido extensivamente estudadas nas últimas décadas devido às suas propriedades altamente luminescentes (MALTA *et al.*, 1997-1998; BRITO *et al.*, 1999-2000; BIZETO *et al.*, 2000; SÁ *et al.*, 2000; VOLOSHIN *et al.*, 2000; ADACHI *et al.*, 2000). Geralmente estes complexos são sintetizados pela reação entre o precursor $[Eu(TTA)_3{\cdot}(H_2O)_2]$ e os ligantes (L) em solução. O objetivo da substituição de moléculas de água por ligantes (L) é obter compostos luminescentes com potencial aplicabilidade em fluoroimunoensaio e sensores ópticos com aplicação farmacêutica (SABATINI *et al.*, 1993; HEMMILÄ *et al.*, 1997). Sendo o AZT um derivado da timidina, a qual apresenta átomos de oxigênio e nitrogênio que podem atuar como doadores na formação de complexos, e já existindo na literatura a síntese de complexos contendo (AOKI *et al.*, 1998) íons metálicos, como o Zn(II) e o Co(II) com a timina e bases de nucleotídeos, abriu-se a possibilidade de obter complexos de terras raras a partir do AZT. Assim, este trabalho teve como objetivo sintetizar e caracterizar novos complexos de RE(III)-β-dicetonas com AZT. A aplicação de complexos de terras raras, área médica e farmacêutica, tem como principais finalidades o desenvolvimento de sondas e marcadores ópticos, podendo ser utilizado, por exemplo, em estudos de biodisponibilidade (ARAÚJO *et al.*, 2002).

6.7 MATERIAIS E MÉTODOS

6.7.1. Preparação dos complexos de terras raras

Os compostos de $RE(TTA)_3{\cdot}2AZT$, onde RE = Eu e Gd, foram preparados em duas etapas. Na primeira, o composto precursor $[RE(TTA)_3{\cdot}(H_2O)_2]$ e o AZT foram dissolvidos em acetona, separadamente, na razão molar de 1:2. Subseqüentemente, as soluções acetônicas foram misturadas e agitadas até a formação de um precipitado amarelo claro. O AZT livre é solúvel em água (aproximadamente 25 $mg.mL^{-1}$, a 25°C) enquanto que os complexos de $[RE(TTA)_3{\cdot}(AZT)_2]$ são insolúveis. Assim, o produto sólido formado foi filtrado, lavado com água e seco em dessecador à pressão reduzida, sobre sílica e à temperatura ambiente.

6.7.2 Medidas

O teor de carbono, hidrogênio e nitrogênio foi determinado no Laboratório da Central Analítica do IQ-USP, utilizando o equipamento Elemental Analyser 2400 CHN (Perkin-Elmer).

Os espectros de absorção na região do infravermelho foram obtidos em equipamento Bomem, na banda de 4000 a 400 cm^{-1}, diluindo-se as amostras em KBr sob a forma de pastilha.

Os difratogramas de raios X foram obtidos em equipamento de difração de raios X da marca Siemens, modelo D5000, com tubo de CuK_{α}, em intervalo de 3 a 65°, com passo de 0,05 (α) e tempo de passo de 1 segundo, utilizando o método do pó.

As curvas DSC foram obtidas na faixa de temperatura entre 25 e 550°C, utilizando-se célula calorimétrica modelo DSC-50 da marca Shimadzu, sob atmosfera dinâmica de N_2 (50 $mL.min^{-1}$), razão de aquecimento de $10°C.min^{-1}$ (estudos exploratórios e de compatibilidade) e $2°C.min^{-1}$ (determinação da pureza), utilizando cápsula de alumínio parcialmente fechada contendo aproximadamente 2 mg de amostra. A célula DSC foi calibrada e/ou verificada antes dos ensaios no eixo de temperatura utilizando padrões de índio ($T_{fusão}$=156,6°C) e zinco ($T_{fusão}$=419,5°C), metálicos com pureza de 99,99%. Para o fluxo de calor empregou-se o $\Delta H_{fusão}$ do índio metálico (28,7 $J.g^{-1}$). As curvas TG/DTG foram obtidas na faixa de temperatura entre 25 e 900°C, utilizando-se termobalança modelo TGA-50 da marca Shimadzu, sob atmosfera dinâmica de N_2 e em ar (50 $mL.min^{-1}$), razão de aquecimento de $10°C.min^{-1}$, utilizando cadinho de platina contendo massa de amostra em torno de 3 mg.

6.8 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As percentagens de RE(III) foram determinadas por titulação complexométrica com EDTA, de acordo com o método descrito por Lyle e Rahman. Dados analíticos de C, H, N e percentagens de RE(III) (teórico/experimental) para o $Eu(TTA)_3{\cdot}2AZT$ foram: C (39,19/39,15); H (3,17/2,85); N (10,65/10,38); íon európio (10,85/11,16) e para o complexo de $Gd(TTA)_3{\cdot}2AZT$: C (38,75/39,00); H (3,03/2,83); N (9,97/10,23); e íon gadolínio (11,43/11,60). Esses dados são condizentes com a fórmula geral $[RE(TTA)_3{\cdot}(AZT)_2]$. As percentagens de Eu e Gd poderiam, também, ser determinadas por TG. Porém, os ensaios foram realizados apenas em atmosfera de nitrogênio e até a temperatura de 900°C. Nessas condições há a formação de oxifluoreto de terra rara que é convertido no respectivo óxido apenas acima de 1200°C. Considerando a 900°C a formação de EuOF e GdOF, os percentuais de Eu e Gd foram encontrados como sendo 11,46 e 12,56%, respectivamente. Esses valores são maiores que os calculados devido a não eliminação completa do material carbonáceo formado na etapa anterior.

O espectro de absorção na região do infravermelho do complexo hidratado mostrou uma banda de estiramento na região de 3500 a 3200 cm^{-1} relativa aos estiramentos ν_s e $\nu_{as}OH$ e HOH-banda a 1630-1600 cm^{-1} (NAKAMOTO, 1986). O grupo C=O apresenta um deslocamento da banda de estiramento próxima a 1680 cm^{-1} no TTA para 1607 cm^{-1} no complexo de terra rara, mostrando, assim, boa evidência de que o TTA está coordenado através do átomo de oxigênio do íon terra rara (MALTA *et al.*, 1997). Os dados de infravermelho apresentados pelo AZT livre e $[Eu(TTA)_3{\cdot}(AZT)_2]$ mostram bandas na região de 3500 e 3300 cm^{-1} características dos grupamentos νO-H e νNH do AZT. A ausência de uma banda larga atribuída ao estiramento OH (ν_s e ν_{as}) das moléculas de água indica que o novo complexo de RE-AZT apresenta-se anidro. O espectro de IV do complexo $[Eu(TTA)_3{\cdot}(AZT)_2]$ exibe duas bandas fortes em 1700 e 1658 cm^{-1}, características dos grupamentos $\nu C^2{=}O$ e $\nu C^4{=}O$, respectivamente. Estas duas bandas mostram-se inalteradas quando comparadas com o AZT livre, sugerindo assim que a coordenação do ligante não ocorre pelo grupo carbonil. Neste estudo foram observadas duas bandas (2098 e 2131 cm^{-1}) no espectro de IV do AZT livre, características do grupamento $\nu_{as}N{=}N{=}N$ (azido). Por outro lado, o complexo Eu–AZT apresentou apenas uma banda em 2123 cm^{-1}, indicando a diminuição da simetria do grupo azido devido à formação de pontes com o carbono e átomos do metal, sugerindo que a coordenação do AZT com o RE(III) ocorre através do átomo de nitrogênio do grupo azido, como reportado por outro autores (M-S-EL-EZABY *et al.*, 1975; GOHER *et al.*, 1998). Uma tentativa foi feita para caracterizar as principais bandas na faixa de 1700 a 500 cm^{-1} relativa aos grupos do TTA e AZT, mas a sobreposição dos modos de vibração e a grande quantidade de bandas dificultaram uma análise mais detalhada desta região para o TTA e AZT. Esta complexidade foi também observada por GOODGAME *et al.* (1977) para compostos de coordenação contendo metais de transição com uracil e timina como ligantes.

A Figura 6.8 mostra as curvas DSC na faixa de temperatura de 25 a 500°C do AZT, do composto precursor de európio, da mistura física e do complexo Eu-AZT. A curva DSC do AZT livre (Fig. 6.8a) apresenta um pico endotérmico agudo característico da fusão do fármaco na temperatura de 120°C com variação de entalpia de 27,8 $kJ.mol^{-1}$. Também podem ser observados dois picos representativos da decomposição térmica, onde o primeiro mostra-se exotérmico no intervalo de temperatura de 160 a 260°C, com alto valor entálpico (ΔH= 268,8 $kJ.mol^{-1}$), enquanto o segundo mostra-se endotérmico na faixa de temperatura de 280 a 360°C (ΔH= 44,3 $kJ.mol^{-1}$). A curva DSC do precursor $[Eu(TTA)_3{\cdot}(H_2O)_2]$ (Fig. 6.8b) mostra uma banda larga representada por

um evento endotérmico na faixa de temperatura de 77 a 147°C, relativa à liberação de duas moléculas de água, correspondendo a 4,4% da perda de massa observada no primeiro evento da curva TG (Fig. 6.9b). Por outro lado, a curva DSC da mistura física (Fig. 6.8c) apresenta eventos característicos do AZT livre e do compostos hidratado de európio. No entanto, as curvas DSC (Fig. 6.8d) e TG (Fig. 6.9d) do complexo $[Eu(TTA)_3 \cdot (AZT)_2]$ não apresentam nenhum evento relativo à perda de água, na faixa de temperatura de 25 a 200°C, indicando que o complexo é realmente anidro. Foi observado, também através da curva DSC que o complexo Eu-AZT não mostra o pico de fusão do AZT na temperatura de 121°C, evidenciando que não há AZT livre.

A Figura 6.9 mostra as curvas TG e DTG do AZT, do precursor de európio hidratado, da mistura física e do complexo Eu-AZT. Nesta curva é possível observar que a mistura física (Figura inserida 6.9c) exibe três eventos característicos do AZT livre e do precursor, sendo que o primeiro evento na faixa de temperatura de 80 a 150°C é devido à perda de água. A curva DTG do complexo Eu-AZT (figura inserida 6.9d) não apresenta eventos relativos à perda de água e tem um diferente perfil de decomposição térmica quando comparado à mistura física, sugerindo assim a formação de uma nova espécie. Os perfis termoanalíticos apresentados pelo complexo de $[Gd(TTA)_3 \cdot L_2]$ (figura omitida) apresentam-se de modo similar ao mostrado para o complexo com európio.

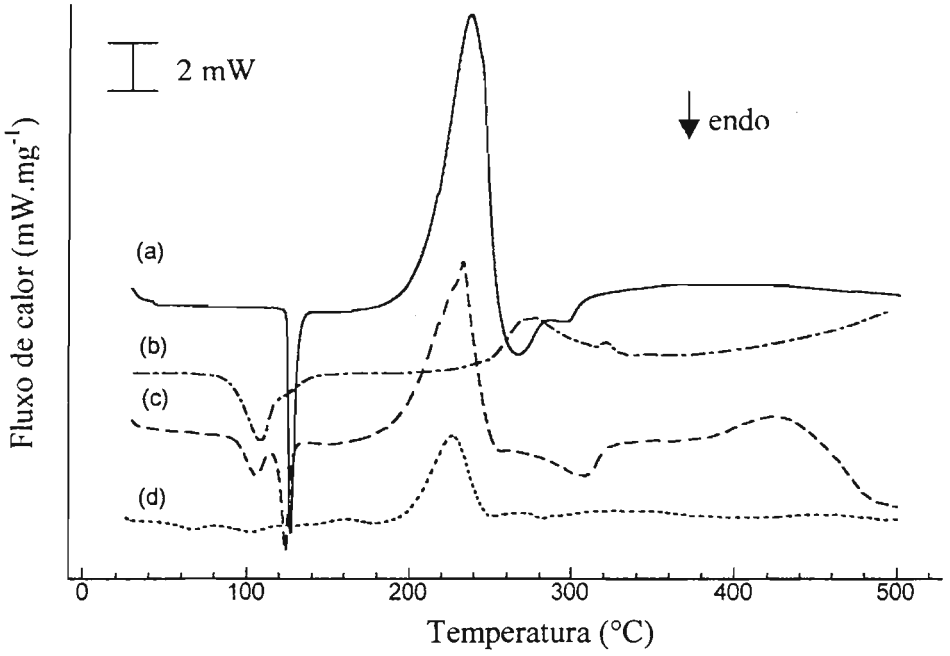


Figura 6.8 - Curvas DSC do AZT (a), do $[Eu(TTA)_3 \cdot (H_2O)_2]$ (b), da mistura física (c) e do complexo $[Eu(TTA)_3 \cdot (AZT)_2]$ (d) obtidas em atmosfera dinâmica de N_2 (50 $mL \cdot min^{-1}$), e razão de aquecimento de 10°C. min^{-1}

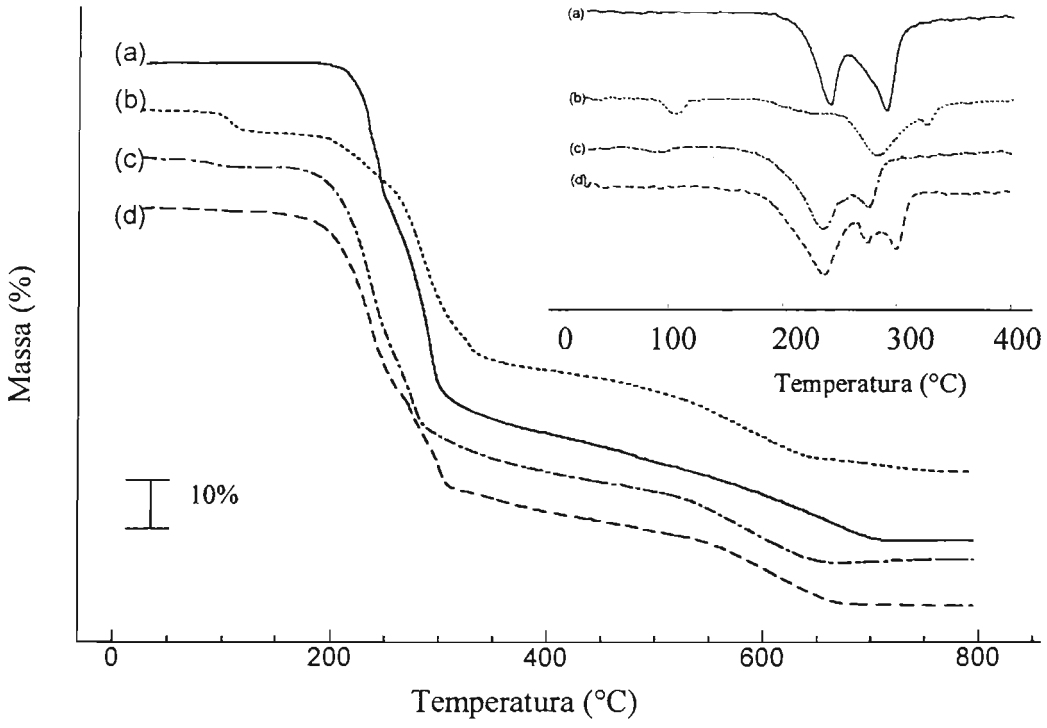


Figura 6.9 - Curvas TG do AZT (a), do $[Eu(TTA)_3{\cdot}(H_2O)_2]$ (b), da mistura física (c) e do $[Eu(TTA)_3{\cdot}(AZT)_2]$ (d), obtidas em atmosfera dinâmica de N_2 (50 $mL.min^{-1}$), e razão de aquecimento de $10^oC.min^{-1}$. A figura inserida mostra as curvas DTG na faixa de temperatura de 25 a 400°C

Os gráficos de difração de raios X pelo método do pó do AZT, do precursor de európio, da mistura física e do complexo Eu-AZT são mostradas na Figura 6.10. Como pode ser observado nas Figuras 6.10a e 6.10b, o AZT e o composto precursor apresentam picos bem definidos, confirmando a cristalinidade desses materiais. No caso da mistura física (Fig. 6.10c) pode-se observar um somatório de eventos característicos do AZT e do composto precursor de európio. Por outro lado, a difração de raios X do complexo $[Eu(TTA)_3.(AZT)_2]$ (Fig. 6.10d) não apresenta reflexões de Bragg, indicando que o novo composto não é cristalino.

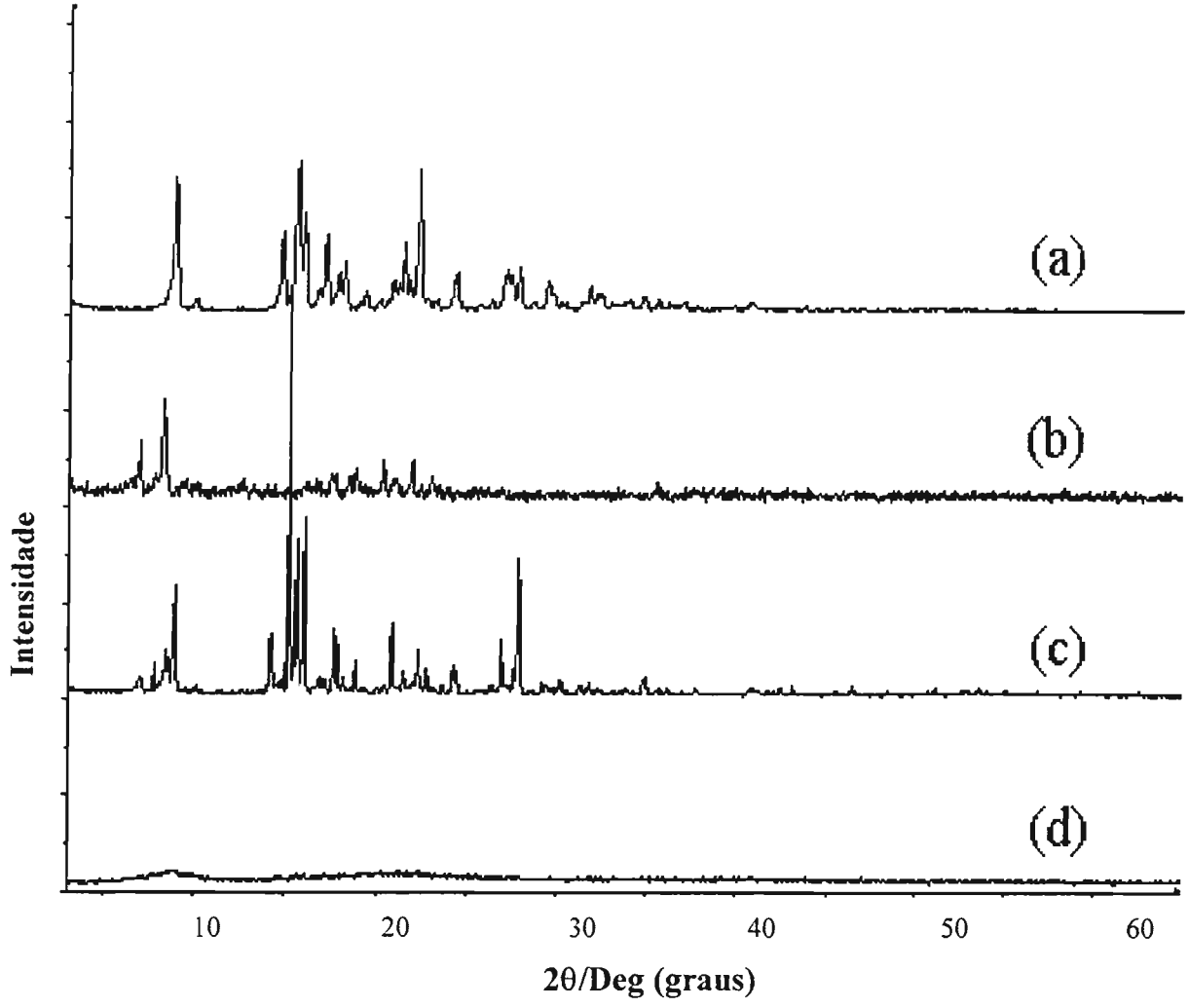


Figura 6.10 - Difração de raios X do AZT (a), do $[Eu(TTA)_3{\cdot}(H_2O)_2]$ (b), da mistura física (c) e do complexo $[Eu(TTA)_3{\cdot}(AZT)_2]$ (d)

6.9 CONCLUSÃO

O presente estudo registra o primeiro complexo preparado com AZT e íons terras raras que apresenta alta luminescência. Os resultados de análise elementar mostraram que o complexo RE-AZT tem fórmula geral $[RE(TTA)_3{\cdot}(AZT)_2]$. As curvas termoanalíticas indicaram que o complexo Eu-AZT apresenta-se anidro e mostra um perfil de decomposição térmica diferente quando comparado ao ligante livre (AZT), o precursor de európio hidratado e a mistura física. Os dados de absorção na região do IV do complexo $[RE(TTA)_3{\cdot}(AZT)_2]$ sugerem que o ligante está coordenado ao íon terra rara pelo átomo de nitrogênio do grupo azido. Os dados de difração de raios X

indicaram que o complexo Eu-AZT mostra-se não cristalino, diferentemente do AZT livre, do precursor hidratado e da mistura física, os quais são cristalinos. Finalmente, os resultados apresentados anteriormente sugerem o complexo de Eu(III)-AZT como um composto promissor para ser usado como sonda luminescente e uma clara evidência do uso deste tipo de estudo para o desenvolvimento de novos complexos de terras raras com fármacos anti-retrovirais.

6.10 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRÃO, A. **Química e tecnologia das terras raras**. Rio de Janeiro: CETEM, CNPq, 1994. 212p. (Série Tecnologia Mineral, n.66).

ADACHI, C., BALDO, M.A., FORREST, S.R. Electroluminescence mechanism in organic light emitting devices employing a europium chelate doped in a wide energy gap bipolar conducting host. **J. Appl. Phys.**, Melville, v.87, p.8049-8055, 2000.

AOKI, S., HONDA, Y., KIMURA, E. The first selective and efficient transport of imide-containing nucleosides and nucleotides by lipophilic cyclen-zinc(II) complexes (Cyclen-1,4,7,10-Tetraazacyclododecane). **J. Am. Chem. Soc.**, Columbus, v.120, p.10018-10026, 1998.

ARAÚJO, A.A.S., BRITO, H.F., MALTA, O.L., MATOS, J.R., TEOTONIO, E.E.S, STORPIRTIS, S., IZUMI, C.M.S. Synthesis and photophysical study of highly luminescent coordination compounds of rare earth ions with thenoyltrifluoracetonate and AZT. **J. Inorg. Biochem.**, New York, v.88, p.87-93, 2002.

BIZETO, M.A., CONSTANTINO, V.R.L., BRITO, H.F. Luminescence properties of the layered niobate $KCa_2Nb_3O_{10}$ doped with Eu^{3+} and La^{3+} íons. **J. Alloys Compd.**, Amsterdam, v.311, p.159-168, 2000.

BRITO, H.F., MALTA, O.L., SOUSA, L.R., MENEZES, J.F.S., CARVALHO, C.A.A. Luminescence of the films of europium (III) with thenoyltrifluoroacetonate and macrocyclics. **J. Non-Cryst. Solids**, Amsterdam, v.247, p.129-133, 1999.

BOMBIERI, G., ARTALI, R. The impact of lanthanide (III) derivatives on biological systems. **J. Alloys Compd.**, Amsterdam, v.344, n.1/2, p.9-16, 2002.

BRITO, H.F., MALTA, O.L., MENEZES, J.F.S. Luminescent properties of diketonates of trivalent europium with dimethyl sulfoxide. **J. Alloys Compd.**, Amsterdam, v.303, p.336-339, 2000.

BRITO, H.F., CARVALHO, C.A.A., MALTA, O.L., PASSOS, J.J., MENEZES, J.F.S., SINISTERRA, R.D. Spectroscopic study of the inclusion compound of betha-cyclodextrin and tris(dibenzoilmethane)europium(III) dihydrate. **Spectrochim. Acta, Part A**, Amsterdam, v.55, n.12, p.2403-2410, 1999.

BÜNZLI, J-C.G., CHOPPIN, G.R. **Lanthanide probes in life, chemical and earth sciences: theory and practice.** Amsterdam Elsevier, 1989. cap.7, 432p.

ELBANOWSKI, M., MAKOWSKA, B. Luminescence of the films of europium (III) with thenoyltrifluoroacetonate and macrocyclics. **J. Photochem. Photobiol., A**, Amsterdam, v.99, p.85-92, 1996.

ELBANOWSKI, M., MAKOWSAKA, B. The lanthanides as luminescent probes in investigations of biochemical systems. **J. Photochem. Photobiol., A**, Amsterdam, v.99, n.2/3, p.85-92, 1996.

EVANS, C.H. **Biochemistry of the lanthanides**, New York, London: Plenum Press, 1990.

GOHER, M.A.S., ESCUER, A., ABU-YOUSSEF, M.A.M., MAUTNER, F.A. Syntheses, X-ray structures, spectroscopic and magnetic studies of two new polymeric copper (II) azide complexes; [Cu (3-ethylpyridine)$_2$ $(N_3)_2]_n$ and [Cu (4-ethylpyridine)$_2$ $(N_3)_2]_n$. **Polyhedron**, Oxford, v.17, p.4265-4273, 1998.

GOODGAME, M., JOHNS, K.W. Metal-complexes of uracil and thymine. **J. Chem. Soc. Dalton Trans.**, Letchworth, v.2, n.17, p.1680-1683, 1977.

HEMMILÄ, I., STAHLBERG, T., MOTTRAN, P. **Bioanalytical applications of labeling technologies immunoassay**, Wallac Turku, 1994.

HEMMILÄ, I., MUKKALA, V.M., TAKALO, H. Development of luminescent lanthanide chelate labels for diagnostic assays. **J. Alloys Compd.**, Amsterdam, v.249, p.158-162, 1997.

LATVA, M., TAKALO, H., MUKKALA, V.M., MATACHESCU, C., RODRIGUEZ-UBIS, J.C., KANKARE, J. Correlation between the lowest triplet state energy level of the ligand and lanthanide(III) luminescence quantum yield. **J. Lumin.**, Amsterdam, v.75, p.149-169, 1997.

LYLE. S.J., RAHMAN, M.M. Complexometric titration of yttrium and the lanthanons-I. A comparison of direct methods. **Talanta**, Amsterdam, v.10, p.1177-1182, 1963.

MALTA, O.L., BRITO, H.F., MENEZES, J.F.S., SILVA, F.R.G.E., ALVES, S., FARIAS, F.S., ANDRADE, A.V.M. Spectroscopic properties of a new light-converting device Eu(thenoyltrifluoroacetonate)$_3$.2(dibenzyl sulfoxide): a theoretical analysis based on structural data obtained from a sparkle model. **J. Lumin.**, Amsterdam, v.75, n.3, p.255-268, 1997.

MALTA, O.L. BRITO, H.F., MENEZES, J.F.S., F.R., SILVA, F.R.G.E, DONEGA, C.D., ALVES, S. Experimental and theoretical emission quantum yield in the compound Eu(thenoyltrifluoroacetonate)$_3$.2(dibenzyl sulfoxide). **Chem. Phys. Lett.**, Amsterdam, v.282, n.3/4, p.233-238, 1998.

MARTINS, T.S., A.A.S. ARAÚJO, M.P.B.M. ARAÚJO, P.C. ISOLANI AND G. VINCETINI. Synthesis, characterization and thermal analysis of lanthanide picrate complexes with glycine. **Journal Alloys and Compounds**, Amsterdam, v.344, n.1, p. 75-79 , 2002.

MARTINS, T.S., ARAÚJO, A.A.S., SILVA, S.M., MATOS, J.R., ISOLANI, P.C., VICENTINI, G. Synthesis, characterization, spectroscopy study and thermal analysis of rare earth picrate complexes with L-Arginine. **Journal of Solid State Chemistry**, v. 171, p. 212-216, 2003.

NAKAMOTO, K. **Infrared and raman spectra of inorganic and coordination compounds.** 4.ed. New York: Willey-Interscience Publication, 1986. 484p.

RICHARDSON, F.S. Terbium(III) and europium(III) ions as luminescent probes and stains for biomolecular systems. **Chem. Rev.**, Columbus, v.82, p.541-552, 1982.

SABATINI, N., GUARDIGLI, M., LEHN, J.M. Luminescent lanthanide complexes as photochemical supramolecular devices. **Coord. Chem. Rev.**, Amsterdam, v.123, p.201-228, 1993.

SÁ, G.F., MALTA, O.L., DONEGÁ, C.M., SIMAS, A.M., LONGO, R.L., SANTA-CRUZ, P.A., SILVA Jr., E.F. Spectroscopic properties and design of highly luminescent lanthanide coordination complexes. **Coord. Chem. Rev.**, Amsterdam, v.196, p.165-195, 2000.

SILVA, F.R.G., MENEZES, J.F.S., ROCHA, G.B., ALVES, S., BRITO, H.F., LONGO, R.L., MALTA, O.L. Emission quantum yield of europium (III) mixed complexes with thenoyltrifluoroacetonate and some aromatic ligands. **J. Alloys Compd.**, Amsterdam, v.303, p.364, 2000.

SILVA, A.O. Síntese, caracterização e estudo termoanalítico dos nitrilotriacetatos de terras raras. São Paulo, 2000. 133p. (Tese de Doutorado - Instituto de Química - USP).

ONO, Y.A. **Electroluminescent displays.** Singapore, River Edge: World Scientific, 1995. v.1, 170p. (Series Information display, n.1).

YAM, V.W.-W., LO, K.K.-W. Recent advances in utilization of transition metal complexes and lanthanides as diagnostic tools. **Coord. Chem. Rev.**, Amsterdam, v.184, p.157-240, 1999.

VOLOSHIN, A.I., SHAVALEEV, N.M., KAZAKOV, V.P. Water enhances photoluminescence intensity of europium (III), terbium (III) and samarium (III) tris-beta-diketonates in toluene solutions and chemiluminescence intensity of europium (III) and samarium (III) tris-beta-diketonates in the reaction with dioxetane. **J. Photochem. Photobiol., A**, Amsterdam, v.136, n.3, p.203-208, 2000.

CAPÍTULO VII

Aplicação do Planejamento Fatorial 2^4 para avaliação dos fatores que influenciam no estudo cinético de decomposição térmica do AZT

Procurou-se realizar estudos visando avaliar a estabilidade, o comportamento térmico e determinar os parâmetros cinéticos de produtos comerciais (formulações de AZT) sob a forma farmacêutica de cápsulas de 100 mg. Neste capítulo é feita uma introdução sobre a aplicação da análise térmica na determinação do triplete cinético (energia de ativação, fator freqüência e ordem da reação). Objetivando otimizar a metodologia e avaliar fatores de importância para a termogravimetria é mostrado, a seguir, um estudo aplicando o planejamento fatorial como ferramenta estatística.

"À exceção de nossos pensamentos não há nada de tão absoluto em nosso poder."

René Descartes

7.1 INTRODUÇÃO

A aplicação de métodos cinéticos baseados em termogravimetria (TG) vem sendo amplamente relatada na literatura com o intuito de elucidar mecanismos de reação no estado sólido, tais como: decomposição térmica, oxidação, redução, cristalização, polimerização e desidratação de materiais (SESTÁK, 1966; GIRON, 1998; HUANG *et al.*, 2001; BURNHAM *et al.*, 2002). Dois métodos podem ser utilizados para avaliar a cinética de decomposição por TG; o método isotérmico e o não-isotérmico ou dinâmico. O conceito da cinética do estado sólido surgiu a partir de experimentos isotérmicos, bem antes dos primeiros instrumentos de medida dinâmica tornarem-se comercialmente disponíveis. Com isso, o formalismo estabelecido da cinética isotérmica foi estendido a condições não isotérmicas ou dinâmicas. Ambos os métodos apresentam algumas vantagens e desvantagens. O maior problema do experimento isotérmico é que a amostra requer algum tempo para alcançar a temperatura programada, fato que se não for controlado conduz à perda de informações. Além disso, no método isotérmico, algumas vezes torna-se difícil observar a etapa inicial de reação devido à variação brusca de temperatura causada sobre a atmosfera. O método dinâmico resolve este problema e é mais prático e rápido, por isso tornou-se mais utilizado no campo da cinética do estado sólido. Porém, a heterogeneidade do sistema durante o curso do processo térmico e a utilização de tratamentos matemáticos mais complexos dificulta a análise dos dados experimentais (WENDLANDT, 1986; OZAWA, 2000; BACA *et al.*, 2001).

A análise cinética por TG consiste na utilização de relações que fornecem informações sobre o mecanismo do processo (SLOVÁK, 2001). Entretanto, são necessários cuidados especiais nestas análises, pois, a aproximação formal não elimina a possibilidade de se dar interpretações incorretas das relações cinéticas observadas (HAINES, 1985; HARDY, 1982). Na prática, a determinação do modelo cinético de uma reação é realizada tentando-se ajustar em torno de dez ou mais equações com auxílio de microcomputadores. As curvas obtidas para o modelo que melhor se ajusta aos dados experimentais são utilizadas no cálculo dos parâmetros cinéticos (FORD & TIMMINS, 1986; DOLLIMORE & PHANG, 2000). O tratamento matemático de cada curva cinética consiste na determinação dos coeficientes de regressão linear de todas as equações testadas. A escolha do melhor modelo cinético é baseada no valor do desvio-padrão entre os valores experimentais e calculados de G(x). No entanto, torna-se bastante difícil identificar a

equação que melhor descreve o processo, sendo necessário aproximar duas ou três equações que melhor representem o modelo cinético (VYAZOVKIN, 2002). Segundo Wendlant, o bom ajuste não depende da função G(x) e sim das condições experimentais e do método de análise de dados. Entretanto, a lei cinética, mesmo sendo insuficiente, é condição essencial que deve ser satisfeita pelo mecanismo provável do processo.

Considerando sua decomposição como sendo uma possível mudança que a amostra pode sofrer, o estudo da cinética e do mecanismo da reação são ambos tanto de interesse prático quanto teórico. Representando esta equação por:

$$A_{(s)} \rightarrow B_{(s)} + C_{(g)} \qquad \text{(Equação 7.1)}$$

O avanço da reação é medido de uma maneira diferente daquele para as reações homogêneas, e o conceito de concentração não é usado. Geralmente a fração de reação (α) é freqüentemente definida como uma função da massa decomposta, da quantidade de gás envolvido ou da quantidade de calor liberado ou absorvido pela reação.

Uma vez determinado o modelo cinético que descreve a reação em estudo, a repetição do experimento em diferentes temperaturas permite que se calcule, empiricamente, através da lei de Arrhenius, a energia de ativação (*Ea*), o fator de freqüência ou pré-exponencial (*A*) e a ordem da reação para a transformação considerada.

$$k(T) = A.e^{-E/RT} \qquad \text{(Equação 7.2)}$$

em que A representa o fator freqüência, E a energia de ativação, R a constante geral dos gases (1,987 cal.grau^{-1}.mol^{-1}) e T a temperatura absoluta.

Os métodos não-isotérmicos ou dinâmicos, abordados neste trabalho, podem ser classificados em três categorias: diferencial, por aproximação e intergral. Tratando-se mais especificamente dos métodos integrais, o método de Ozawa é um dos mais aplicados para determinação dos parâmetros cinéticos, sendo regido pela Equação 7.2:

$$g(x) = \int_0^1 \frac{dx}{f(x)} = \frac{A}{\beta} \int_{T_0}^{T} \exp\left(-\frac{\Delta E}{RT}\right) dT \qquad \text{(Equação 7.3)}$$

em que E representa a energia de ativação, β a razão de aquecimento, R a constante geral dos gases, *dT* a variação de temperatura e T a temperatura absoluta.

Devido ao grande número de trabalhos publicados nesta área e sabendo-se que a finalidade básica da pesquisa em química analítica é o planejamento de métodos ótimos de análise, torna-se inerente o planejamento estatístico dos experimentos. Este se refere ao processo de planejamento do experimento em que são coletados dados apropriados, os quais podem ser analisados por métodos estatísticos, resultando em conclusões válidas e objetivas. Os planejamentos fatoriais são particularmente úteis e amplamente usados em otimização de experimentos envolvendo vários fatores e quando se deseja estudar o efeito destes fatores na resposta de interesse, bem como os efeitos de interação entre as variáveis que estão sendo investigadas (ARAÚJO & BRERETON, 1996; GONZÁLEZ, 1998). Os planejamentos fatoriais do tipo 2k (k= número de variáveis experimentais) são muito eficazes para o início do trabalho experimental, fornecendo o menor número possível de combinações dos fatores estudados.

Tendo-se a noção que um certo número de fatores, F_1, F_2, ...F_k, atuando sobre um determinado sistema, produzem-se as respostas R_1, R_2,..., R_j. O sistema atua como uma função que opera sobre as variáveis de entrada (fatores) e produz, como saída, as respostas. Nesses casos, desvendar tal função a partir de dados experimentais, ou pelo menos obter uma aproximação satisfatória, poderá levar a entender melhor a natureza do estudo (reação, processo, etc...) e, assim, escolher as melhores condições para o sistema. Esse tipo de análise estatística é definido como Planejamento Fatorial e torna-se muito útil para investigações preliminares quando se pretende avaliar se determinados fatores têm ou não influência sobre a resposta (BARROS NETO *et al.*, 2001). No caso da termogravimetria, a natureza e a precisão dos resultados são influenciados por fatores instrumentais e característicos da amostra. Dentre os fatores que podem ser controlados para desenvolver um método termogravimétrico de análise cinética pode-se destacar: atmosfera do forno, tipo de cadinho, tipo do ambiente e massa de amostra (ROY *et at.*, 2002).

Os efeitos dos fatores foram calculados pela Equação 7.3:

$$Ef = \overline{R_+} - \overline{R_-} \qquad \text{(Equação 7.4)}$$

em que $\overline{R_+}$ e $\overline{R_-}$ são as médias dos resultados dos níveis altos e baixos, respectivamente, dos fatores envolvidos.

Outros fatores não controláveis, como turbulência (corrigida com a realização de um ensaio em branco), correntes de convecção do forno, efeitos eletrostáticos no mecanismo de pesagem, efeitos de indução do forno e flutuações de temperatura, também podem interferir nos resultados obtidos por esta técnica de análise térmica. Portanto, para desenvolver um método termogravimétrico para a determinação dos parâmetros cinéticos de fármacos e medicamentos vários fatores instrumentais e relacionados às características das amostras foram investigados por planejamento fatorial.

Com o intuito de determinar os parâmetros cinéticos e verificar os fatores que podem influenciar no perfil das curvas termogravimétricas, foi proposto um estudo com a zidovudina (AZT). Essa etapa do trabalho teve por objetivo aplicar o Planejamento Fatorial 2^4 para otimização dos ensaios de cinética da decomposição térmica do AZT utilizando as técnicas de TG/DTG. Um planejamento fatorial 2^4 foi realizado visando observar a influência dos seguintes fatores nos resultados por TG: tipo de cadinho (platina ou alumina), tipo de atmosfera (nitrogênio ou ar), massa de amostra (4 ou 8 mg) e tipo de ambiente do forno (úmido ou seco). A obtenção desses dados torna-se fundamental para a padronização do método e a realização de um estudo preciso sobre o processo de decomposição térmica, principalmente para substâncias sólidas, uma vez que essas, quando aquecidas, acarretam no aumento dos movimentos molecular, atômicos ou iônicos, podendo levar a mudanças na estrutura cristalina, conduzir à sinterização, à fusão ou à sublimação.

7.2 MATERIAIS E MÉTODOS

A amostra de medicamento contendo AZT foi doada pelo Instituto de Infectologia Emílio Ribas, sendo descrita como: Retrovir (Glaxo Wellcome Indústria Farmacêutica), apresentação em frasco contendo 100 cápsulas de 100 mg, lote: 7A2225 e data de fabricação: 01/99.

As curvas TG/DTG foram obtidas na faixa de temperatura entre 25 e 800°C, utilizando-se termobalança modelo TGA-50 da marca Shimadzu. As razões de aquecimento adotadas no estudo cinético não-isotérmico foram 2,5 - 5,0 - 7,5 - 10 e 15°C.min^{-1}. Com a finalidade de avaliar a influência de fatores importantes nos resultados cinéticos em termogravimetria foram feitos experimentos sob atmosfera dinâmica de ar e nitrogênio (50 mL.min^{-1}), utilizando cadinho de platina e alumina, massas de amostra de 4 e 8 mg, e ambiente do forno seco e úmido. Antes dos

ensaios verificou-se a calibração do instrumento empregando-se uma amostra de oxalato de cálcio monohidratado conforme norma ASTM (1582 – 93).

A análise dos resultados e a determinação dos parâmetros cinéticos foram realizadas a partir da aplicação do *software* Tasys-50 (Shimadzu). Os cálculos foram efetuados para a primeira etapa de decomposição térmica do AZT utilizando-se o intervalo de 5% de variação de massa.

7.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As curvas TG apresentadas na Figura 7.1 mostram o comportamento térmico do conteúdo das cápsulas de AZT nas razões de aquecimento de 2,5-5,0-7,5-10 e 15°C.min^{-1} sob atmosfera dinâmica de nitrogênio (50 mL.min^{-1}), massa de amostra igual a 8 mg, cápsula de alumina e atmosfera seca. O perfil termoanalítico mostra um processo de decomposição térmica dividido em 5 etapas. Essas etapas ocorrem nas seguintes faixas de temperatura e percentuais de perda: 25-130°C (Δm= 3,67%), 195-270°C (Δm= 15,95%), 270-350°C (Δm= 38,80%), 350-400°C (Δm= 10,40%) e 400-590°C (Δm= 29,74%). Os eventos térmicos observados pelas curvas TG/DTG podem ser atribuídos à eliminação de água superficial, à decomposição térmica (dividido em três etapas), seguido da eliminação de material carbonáceo. O perfil termoanalítico observado em atmosfera de ar mostra-se similar, diferenciando apenas por apresentar os eventos de forma consecutiva e em um menor intervalo de temperatura, devido ao processo de oxidação de todo material, o que não permite separação bem definida dos eventos.

De acordo com os resultados obtidos, observou-se que quanto maior a razão de aquecimento utilizada, maior a temperatura em que se inicia e finaliza o processo de decomposição térmica do AZT, como mostram a Figura 7.1. Na verdade, a temperatura da transição não é alterada, o que varia é a velocidade com que o equipamento consegue detectar a variação de massa. Se a razão de aquecimento é alta, o fenômeno começa a ocorrer na temperatura característica, porém como o programador de temperatura continua aquecendo o forno, a variação de massa causada pelo fenômeno somente irá ser detectada quando o termopar já estiver acusando uma temperatura mais alta que aquela em que a transição de fato ocorreu. Conforme pode ser visto nos experimentos, isto é mais acentuado quanto maior a razão de aquecimento utilizada, sendo este comportamento observado para todas as amostras.

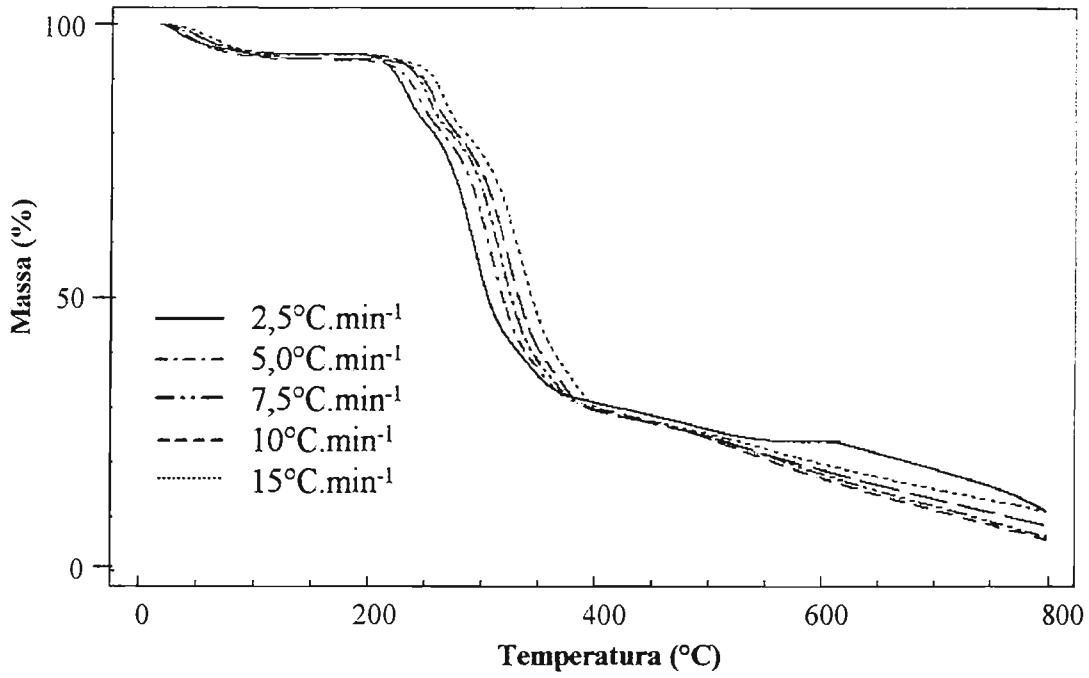


Figura 7.1 - Curvas TG do AZT obtidas nas razões de aquecimento de 2,5-5-7,5-10 e 15°C.min^{-1}, sob atmosfera dinâmica de N_2 (50 mL.min^{-1}), massa ~ 8 mg, cadinho de alumina e atmosfera seca

A partir da relação entre os percentuais de perda de massa com aqueles de energia de cinética envolvida na decomposição térmica é possível projetar um gráfico do logaritmo da razão de aquecimento em função do inverso da temperatura, como mostra a Figura 7.2. Isto possibilita a obtenção das conversões para o fenômeno de decomposição da referida amostra. Os resultados foram obtidos dos experimentos por TG nas razões de aquecimento de 2,5-5-7,5-10 e 15°C.min^{-1}, obtidas em atmosfera dinâmica de N_2 (50 mL.min^{-1}), massa de amostra igual a 8 mg, cápsula de alumina e atmosfera seca. Nesse processo, os valores de energia de ativação aparente estão na faixa de 96 a 132 kJ.mol^{-1} (Tabela 7.1). A relação entre a massa residual da amostra pelo tempo reduzido é mostrado na Figura 7.3. A proposta para o fenômeno relacionado com o processo de decomposição térmica sugere uma reação de zero ordem para o fármaco em questão, uma vez que nesta situação os valores experimentais apresentam melhor correlação com a curva teórica. A energia de ativação média é da ordem de 119,05 kJ.mol^{-1} e um fator pré-exponencial de $2{,}885 \times 10^{12}$.

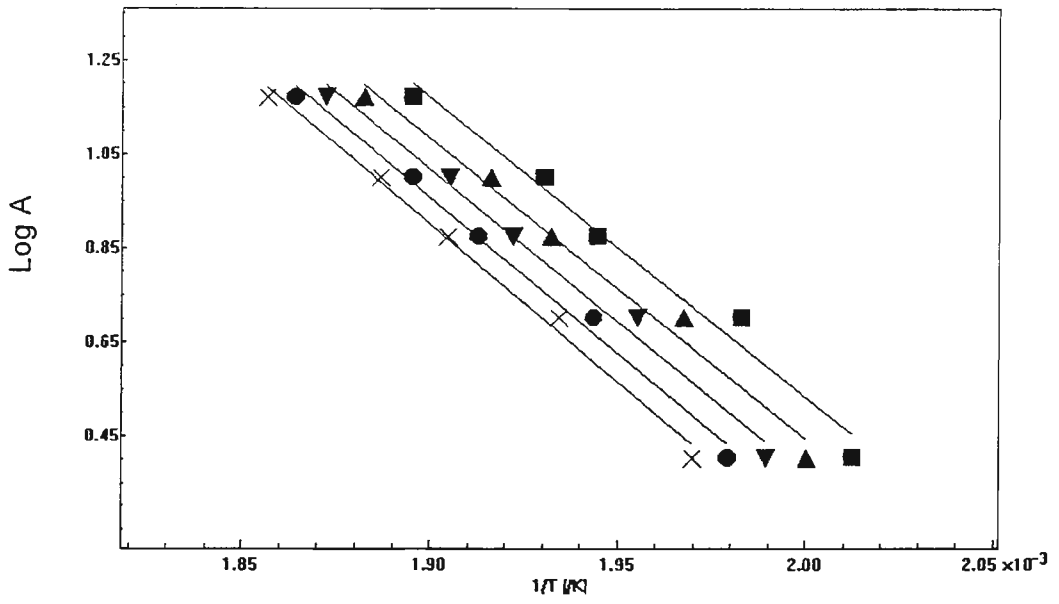


Figura 7.2 - Curva do logarítimo da razão de aquecimento em função do inverso da temperatura

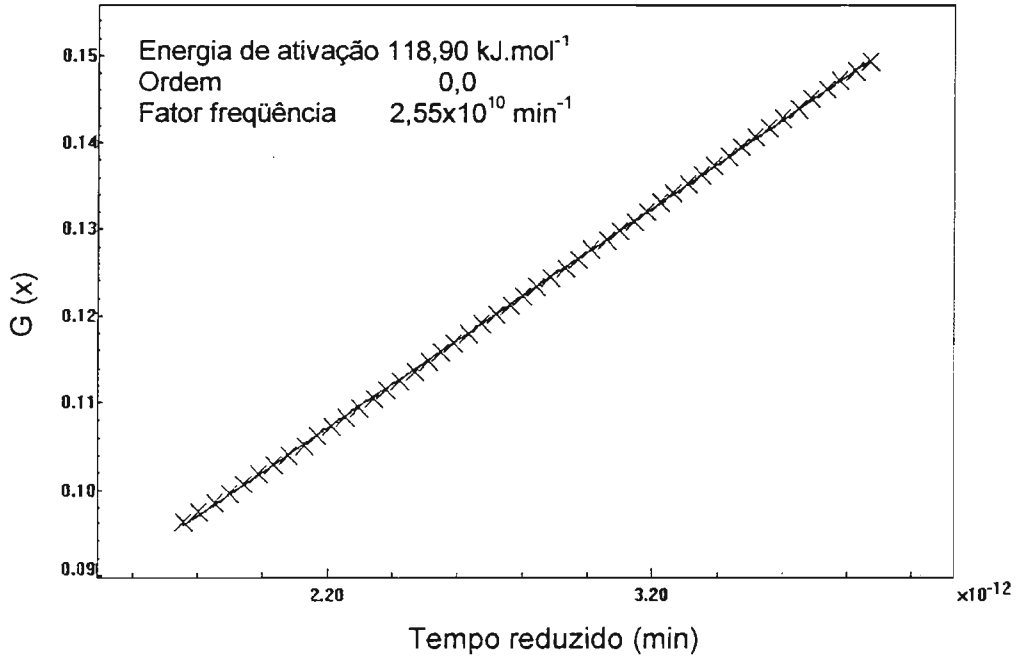


Figura 7.3 - Gráfico da função G(x) do inverso da temperatura para o AZT

As curvas TG variando as condições experimentais para determinação dos parâmetros cinéticos da decomposição térmica do AZT são apresentadas nas Figuras 7.4-19. Nessas Figuras são também mostradas as curvas do logaritmo da razão de aquecimento em função do inverso da temperatura e os gráficos da função G(x) do inverso da temperatura para o AZT.

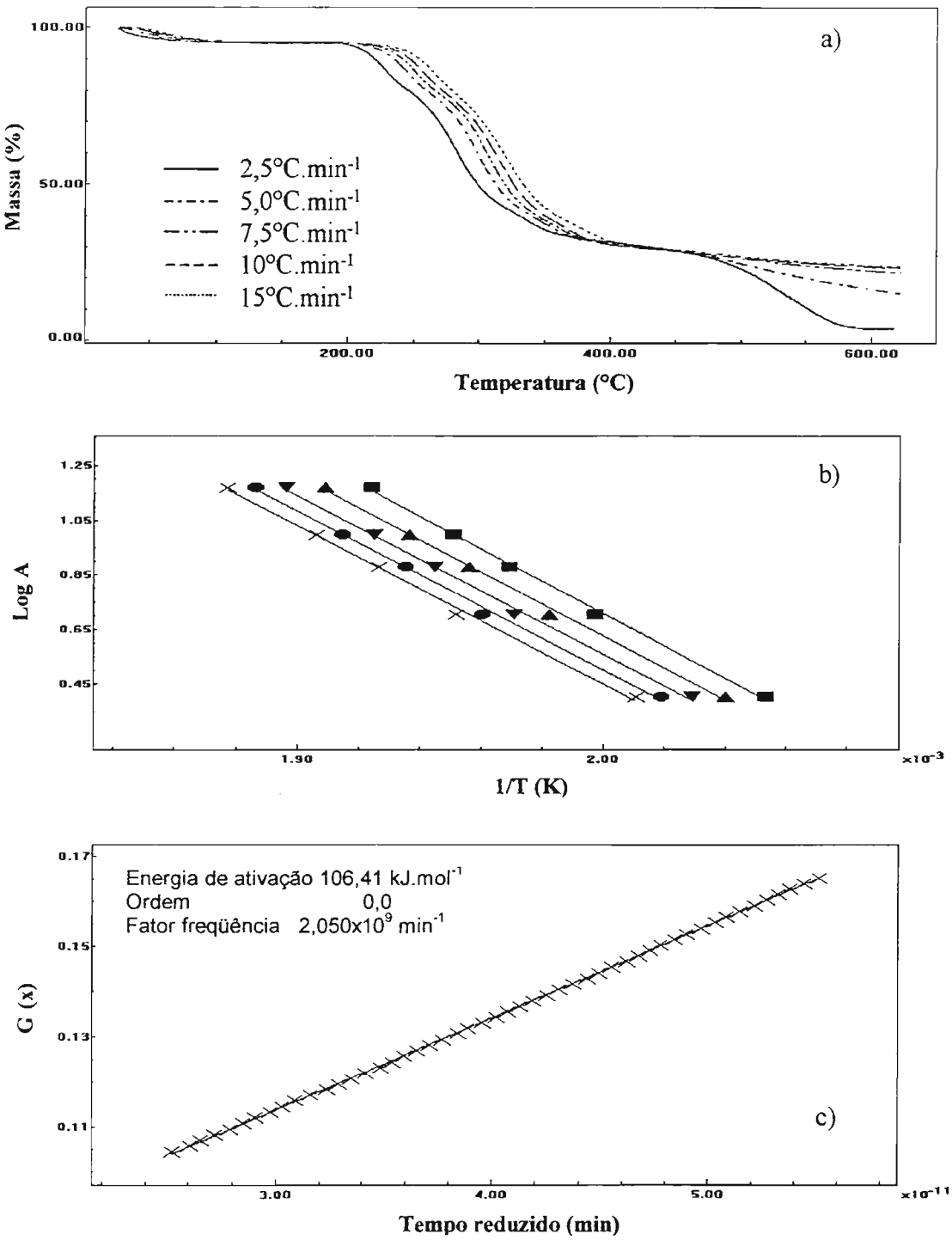


Figura 7.4 –

a) Curvas TG do AZT obtidas nas razões de aquecimento de 2,5-5,0-7,5-10 e 15°C.min^{-1}, obtidas em atmosfera dinâmica de nitrogênio (50 mL.min^{-1}), massa de amostra de ~ 4 mg, cadinho de alumina e ambiente seco

b) Curva do logaritmo da razão de aquecimento em função do inverso da temperatura.

c) Gráfico da função G(x) do inverso da temperatura para o AZT.

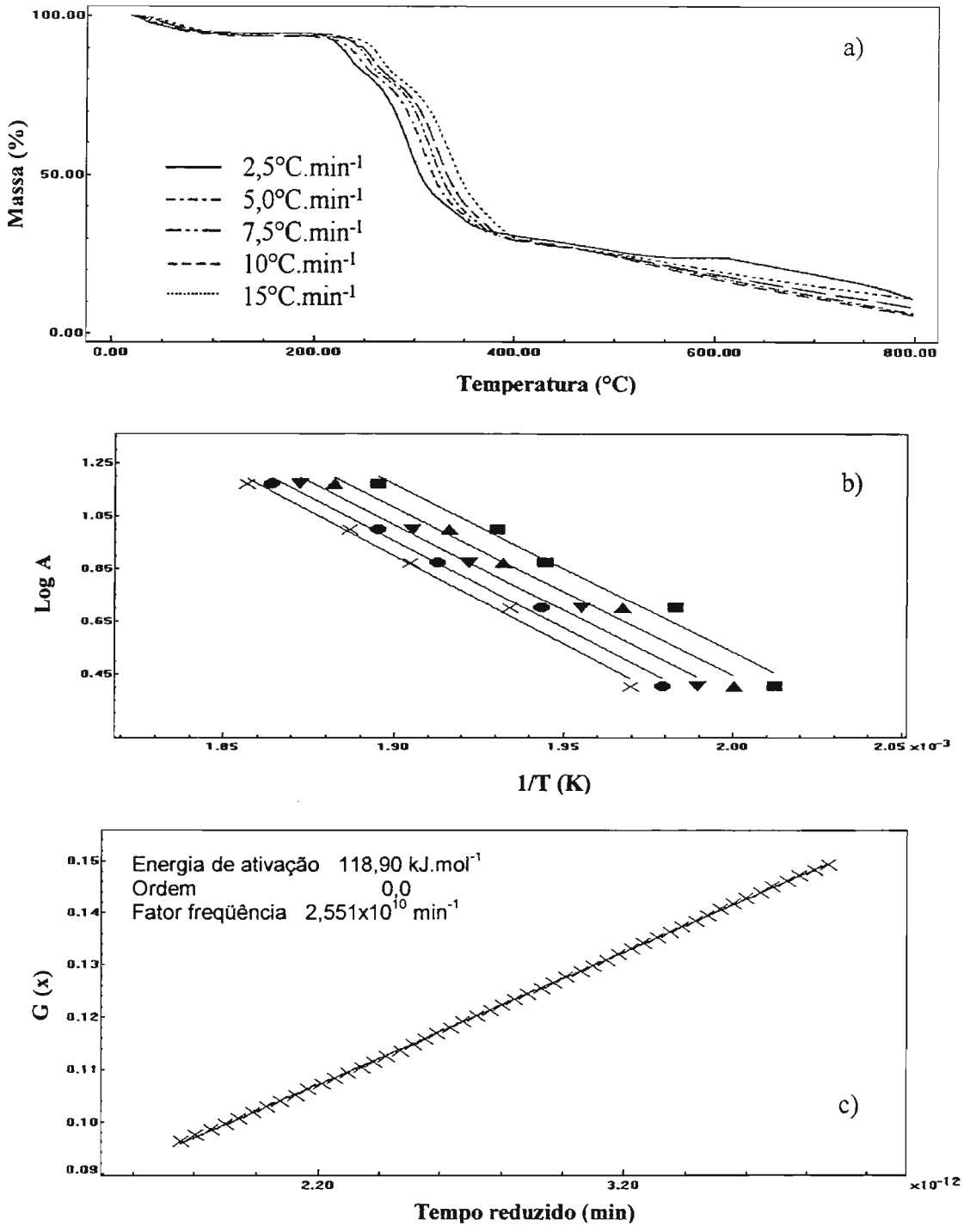


Figura 7.5 –

a) Curvas TG do AZT obtidas nas razões de aquecimento de 2,5-5,0-7,5-10 e 15°C.min^{-1}, obtidas em atmosfera dinâmica de N_2 (50 mL.min^{-1}), massa de amostra de ~ 8 mg, cadinho de alumina e ambiente seco

b) Curva do logaritmo da razão de aquecimento em função do inverso da temperatura.

c) Gráfico da função G(x) do inverso da temperatura para o AZT.

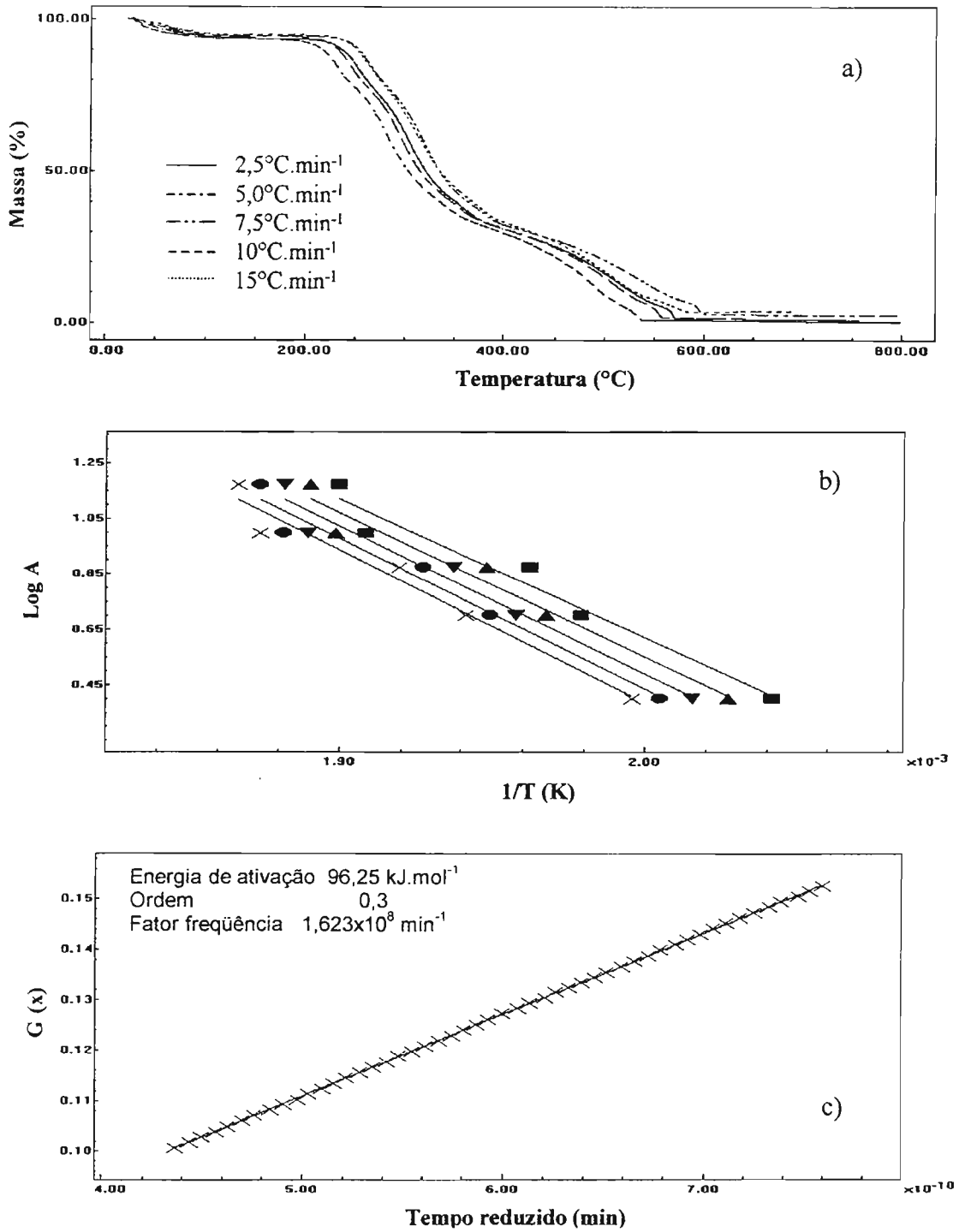


Figura 7.6 –

a) Curvas TG do AZT obtidas nas razões de aquecimento de 2,5-5,0-7,5-10 e 15°C.min^{-1}, obtidas em atmosfera dinâmica de ar (50 mL.min^{-1}), massa de amostra igual de ~ 4 mg, cadinho de alumina e ambiente seco

b) Curva do logaritmo da razão de aquecimento em função do inverso da temperatura.

c) Gráfico da função G(x) do inverso da temperatura para o AZT.

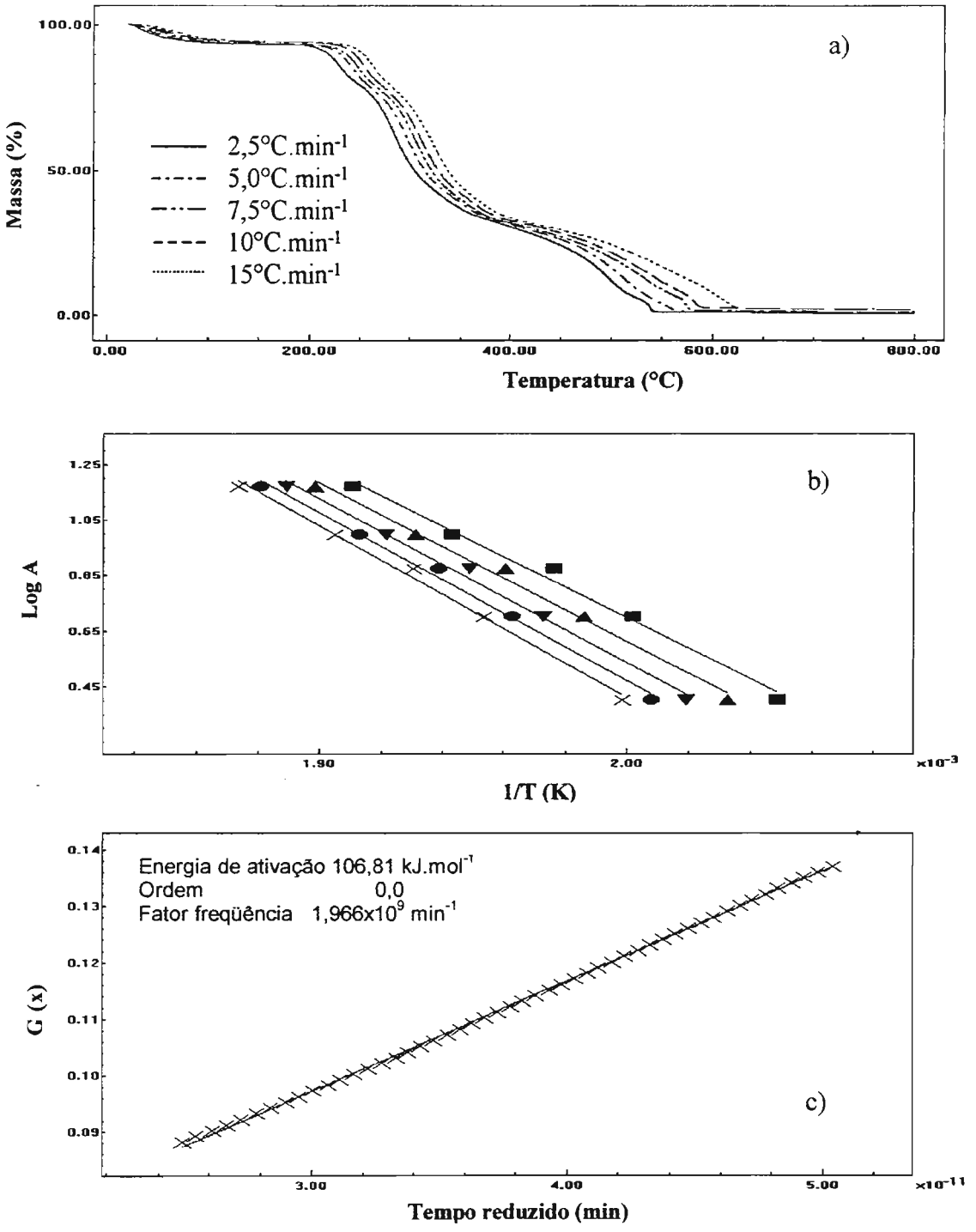


Figura 7.7 –

a) Curvas TG do AZT obtidas nas razões de aquecimento de 2,5-5,0-7,5-10 e 15°C.min^{-1}, obtidas em atmosfera dinâmica de ar (50 mL.min^{-1}), massa de amostra de ~ 8 mg, cadinho de alumina e ambiente seco

b) Curva do logaritmo da razão de aquecimento em função do inverso da temperatura.

c) Gráfico da função G(x) do inverso da temperatura para o AZT.

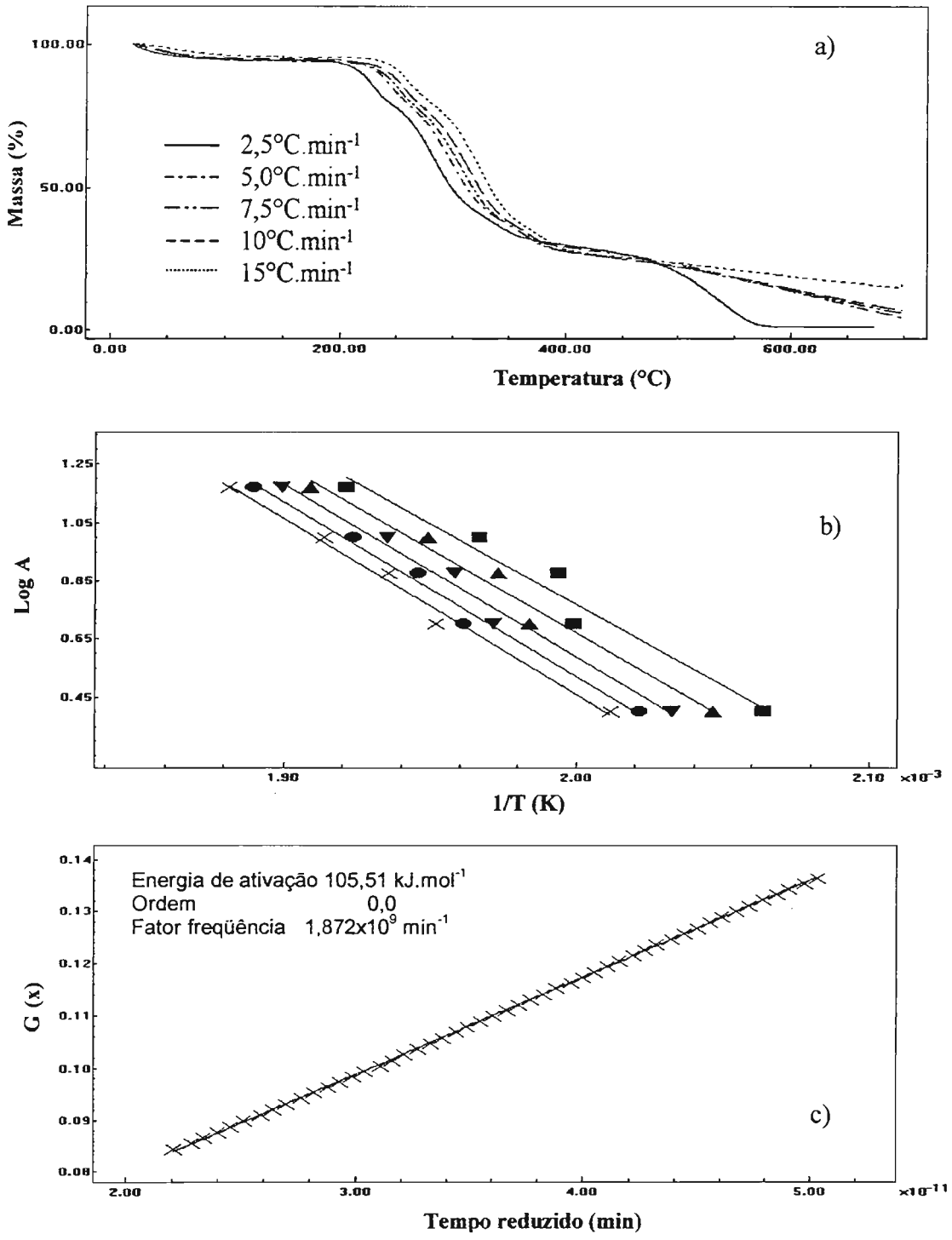


Figura 7.8 –

a) Curvas TG do AZT obtidas nas razões de aquecimento de 2,5-5,0-7,5-10 e 15°C.min^{-1}, obtidas em atmosfera dinâmica de nitrogênio (50 mL.min^{-1}), massa de amostra de ~ 4 mg, cadinho de platina e ambiente seco

b) Curva do logaritmo da razão de aquecimento em função do inverso da temperatura.

c) Gráfico da função G(x) do inverso da temperatura para o AZT.

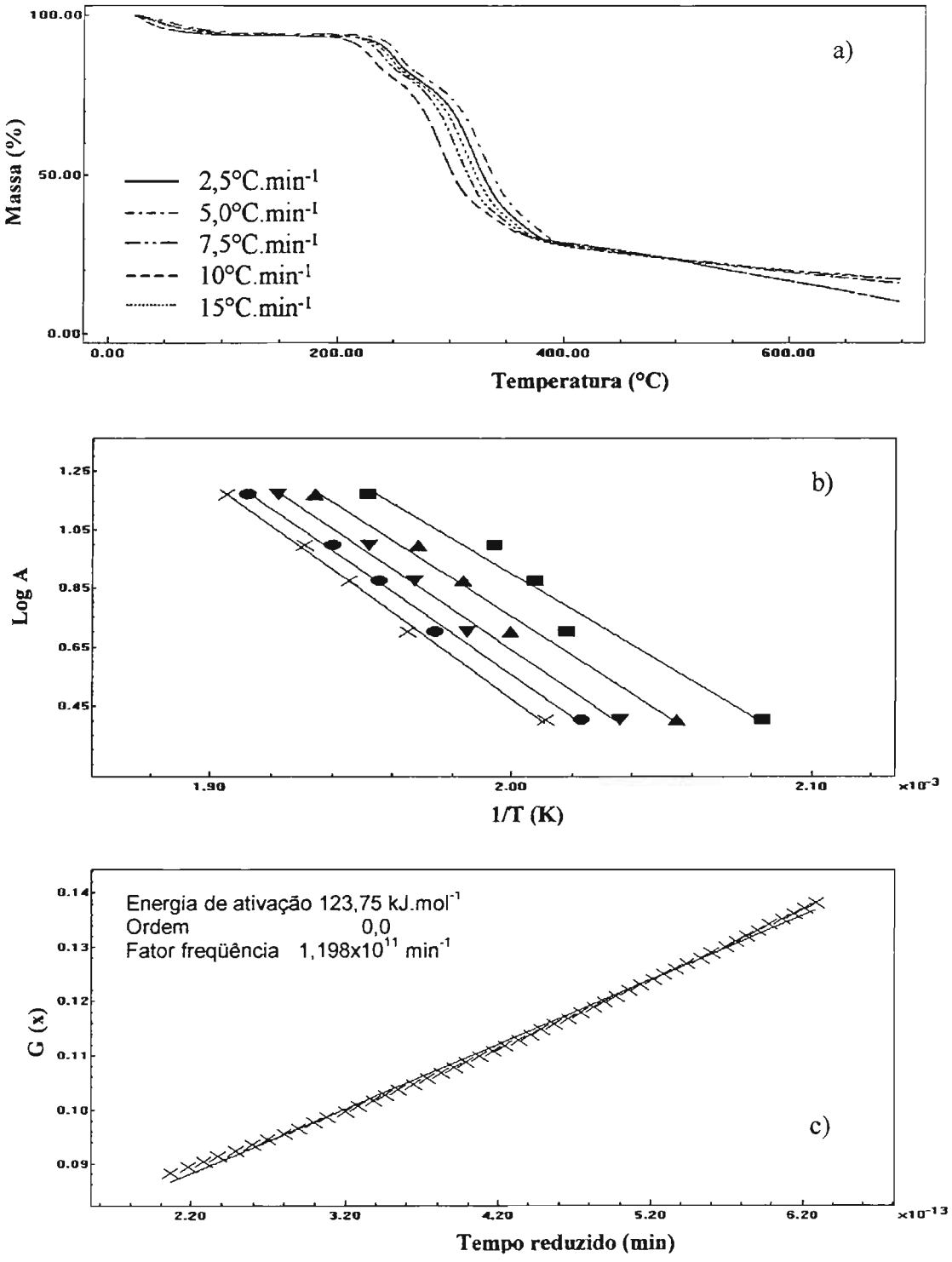


Figura 7.9 –

a) Curvas TG do AZT obtidas nas razões de aquecimento de 2,5-5,0-7,5-10 e 15°C.min^{-1}, obtidas em atmosfera dinâmica de N_2 (50 mL.min^{-1}), massa de amostra de ~ 8 mg, cadinho de Pt e ambiente seco

b) Curva do logaritmo da razão de aquecimento em função do inverso da temperatura.

c) Gráfico da função G(x) do inverso da temperatura para o AZT.

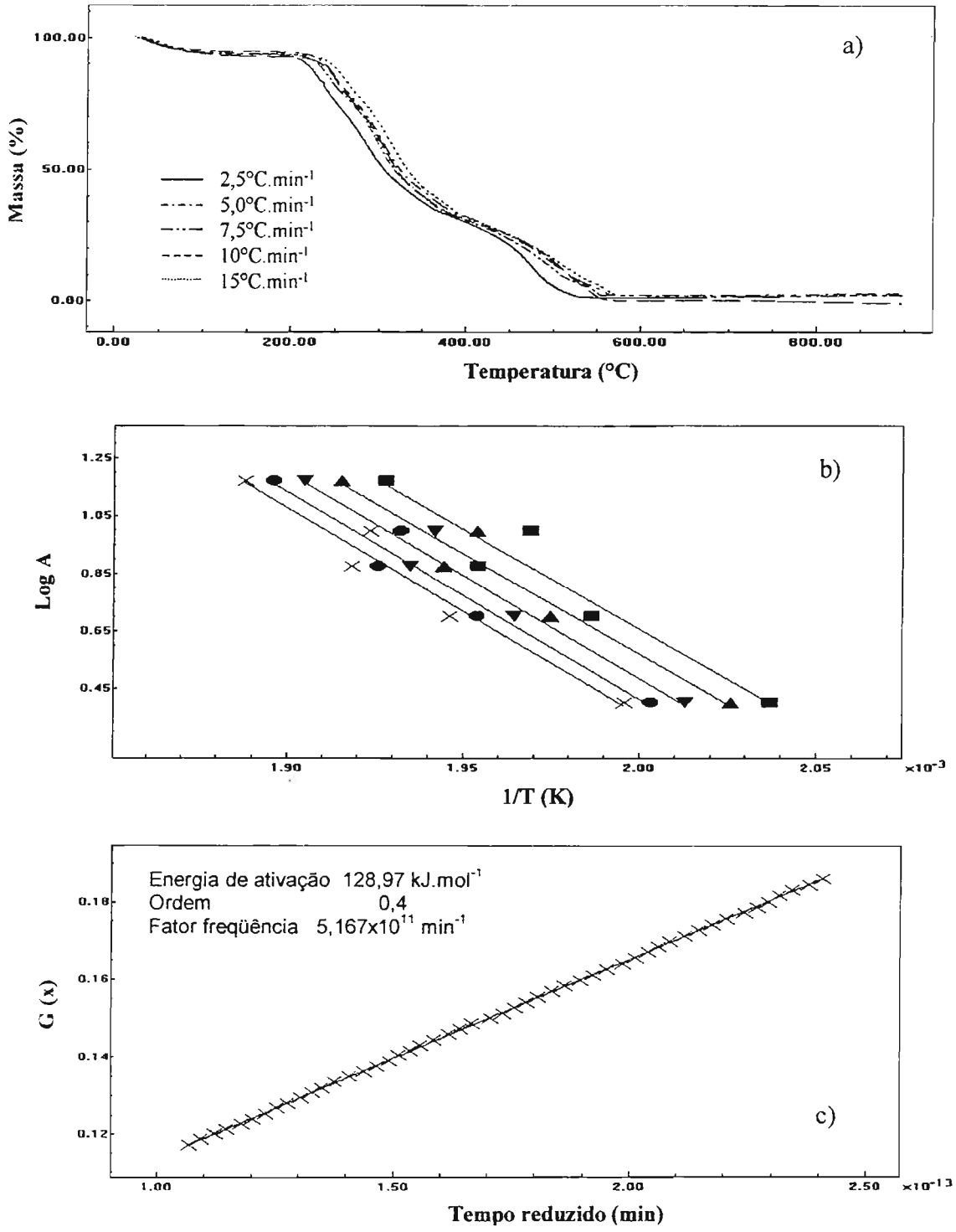


Figura 7.10 –

a) Curvas TG do AZT obtidas nas razões de aquecimento de 2,5-5,0-7,5-10 e 15°C.min^{-1}, obtidas em atmosfera dinâmica de ar (50 mL.min^{-1}), massa de amostra de ~ 4 mg, cadinho de platina e ambiente seco

b) Curva do logaritmo da razão de aquecimento em função do inverso da temperatura.

c) Gráfico da função G(x) do inverso da temperatura para o AZT.

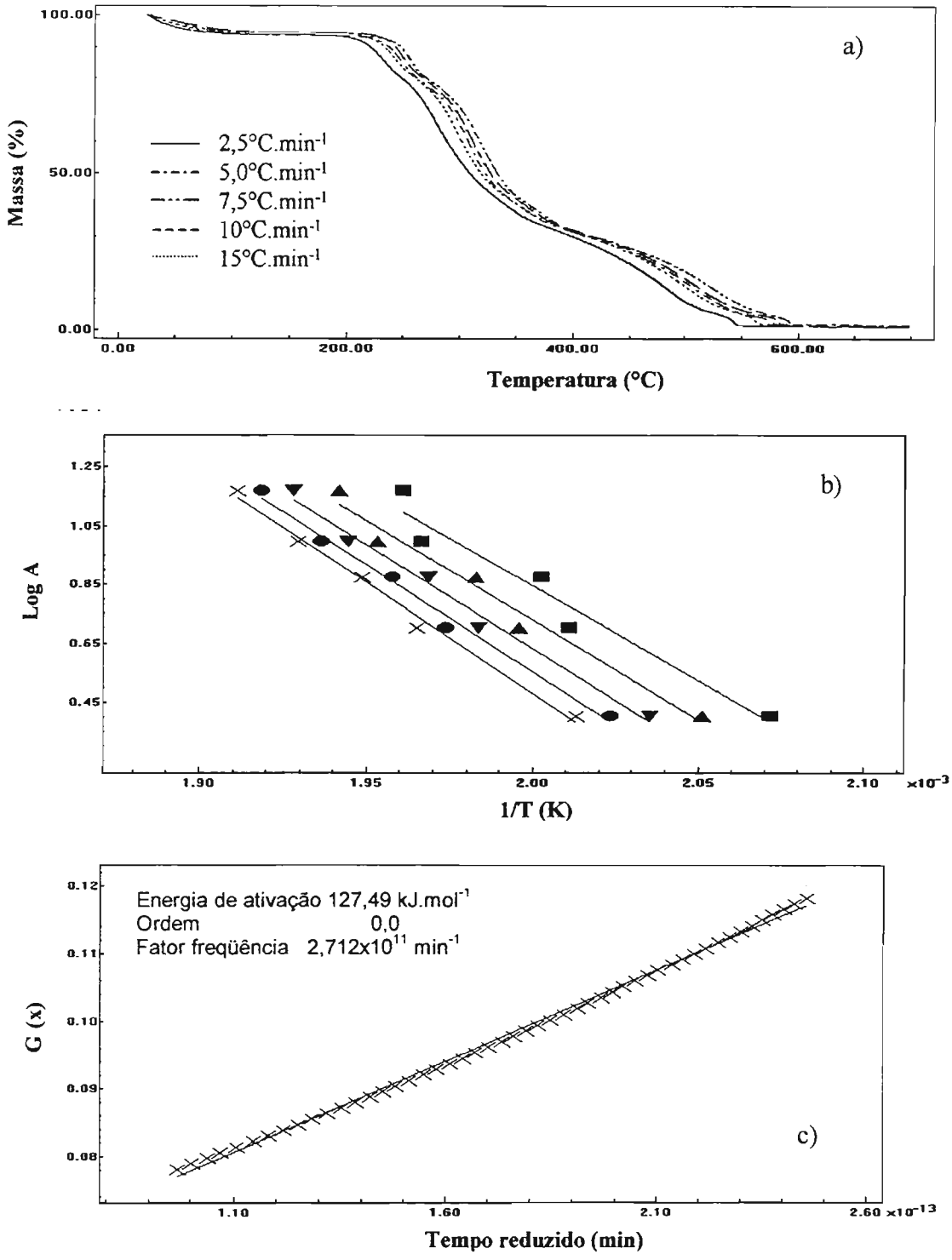


Figura 7.11 –

a) Curvas TG do AZT obtidas nas razões de aquecimento de 2,5-5,0-7,5-10 e 15°C.min^{-1}, obtidas em atmosfera dinâmica de ar (50 mL.min^{-1}), massa de amostra de ~ 8 mg, cadinho de Pt e ambiente seco

b) Curva do logaritmo da razão de aquecimento em função do inverso da temperatura.

c) Gráfico da função G(x) do inverso da temperatura para o AZT.

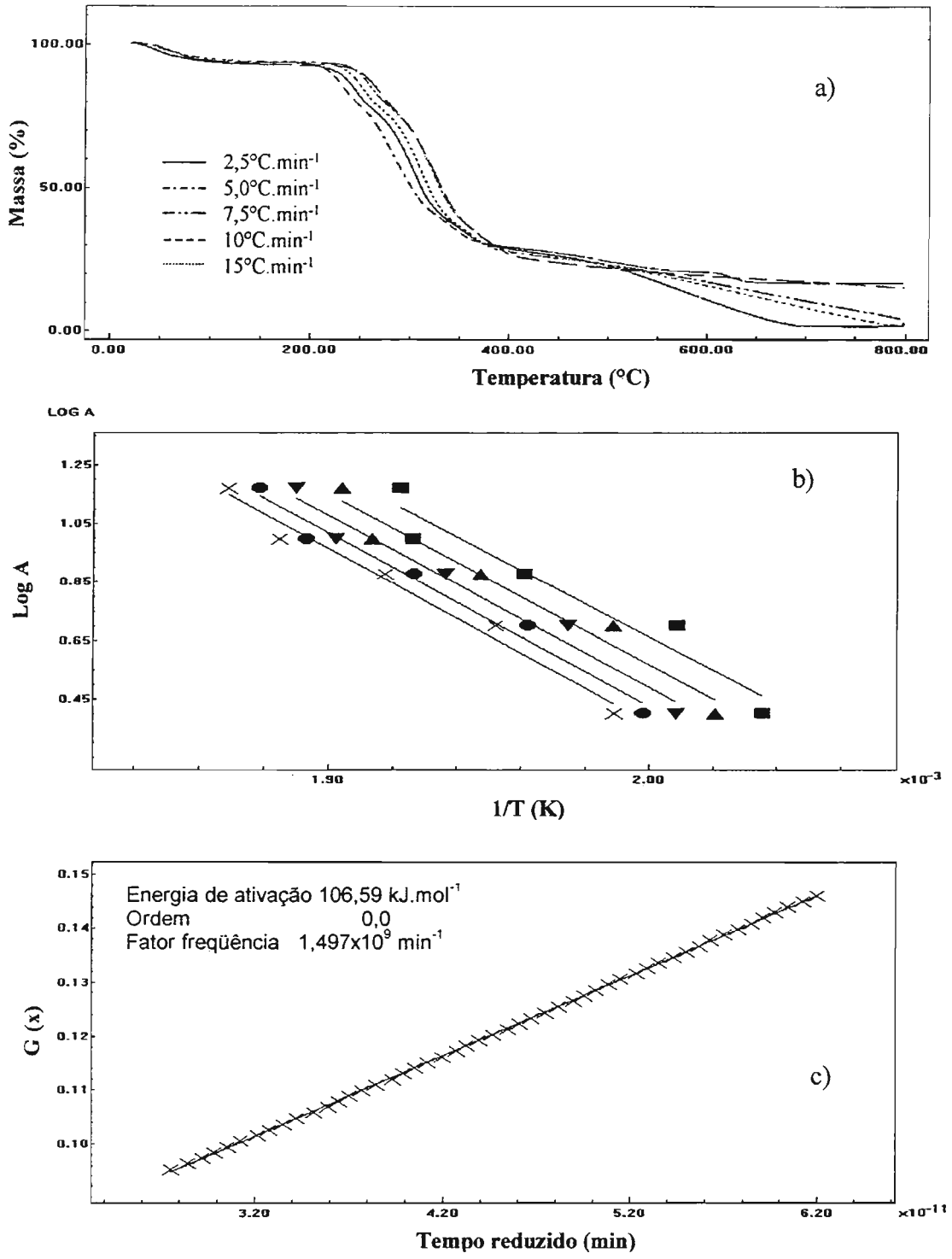


Figura 7.12 –

a) Curvas TG do AZT obtidas nas razões de aquecimento de 2,5-5,0-7,5-10 e 15°C.min^{-1}, obtidas em atmosfera dinâmica de N_2 (50 mL.min^{-1}), massa de amostra de ~ 4 mg, cadinho de alumina e ambiente com umidade

b) Curva do logaritmo da razão de aquecimento em função do inverso da temperatura.

c) Gráfico da função G(x) do inverso da temperatura para o AZT.

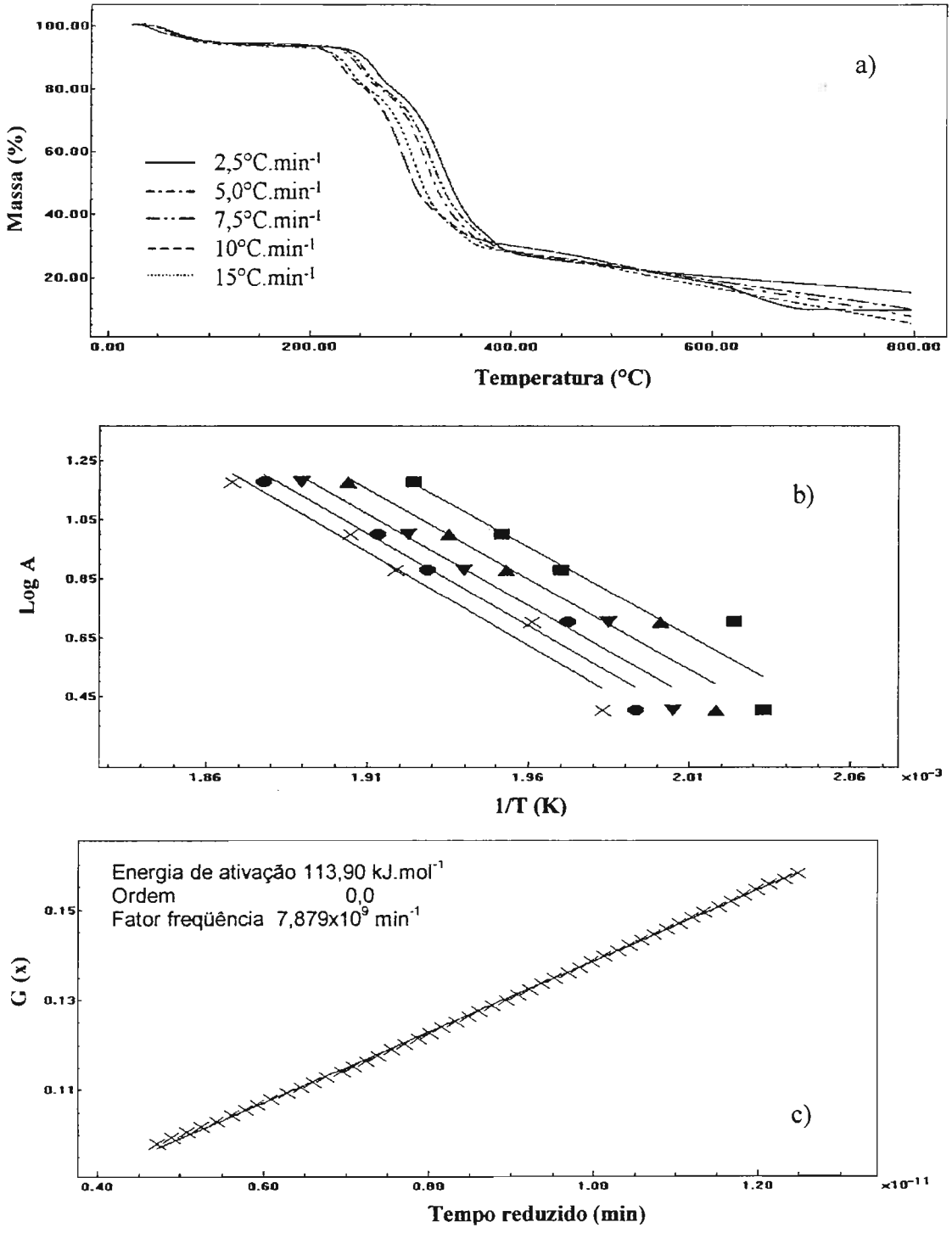


Figura 7.13 –

a) Curvas TG do AZT obtidas nas razões de aquecimento de 2,5-5,0-7,5-10 e 15°C.min^{-1}, obtidas em atmosfera dinâmica de N_2 (50 mL.min^{-1}), massa de amostra de ~ 8 mg, cadinho de alumina e ambiente com umidade

b) Curva do logaritmo da razão de aquecimento em função do inverso da temperatura.

c) Gráfico da função G(x) do inverso da temperatura para o AZT.

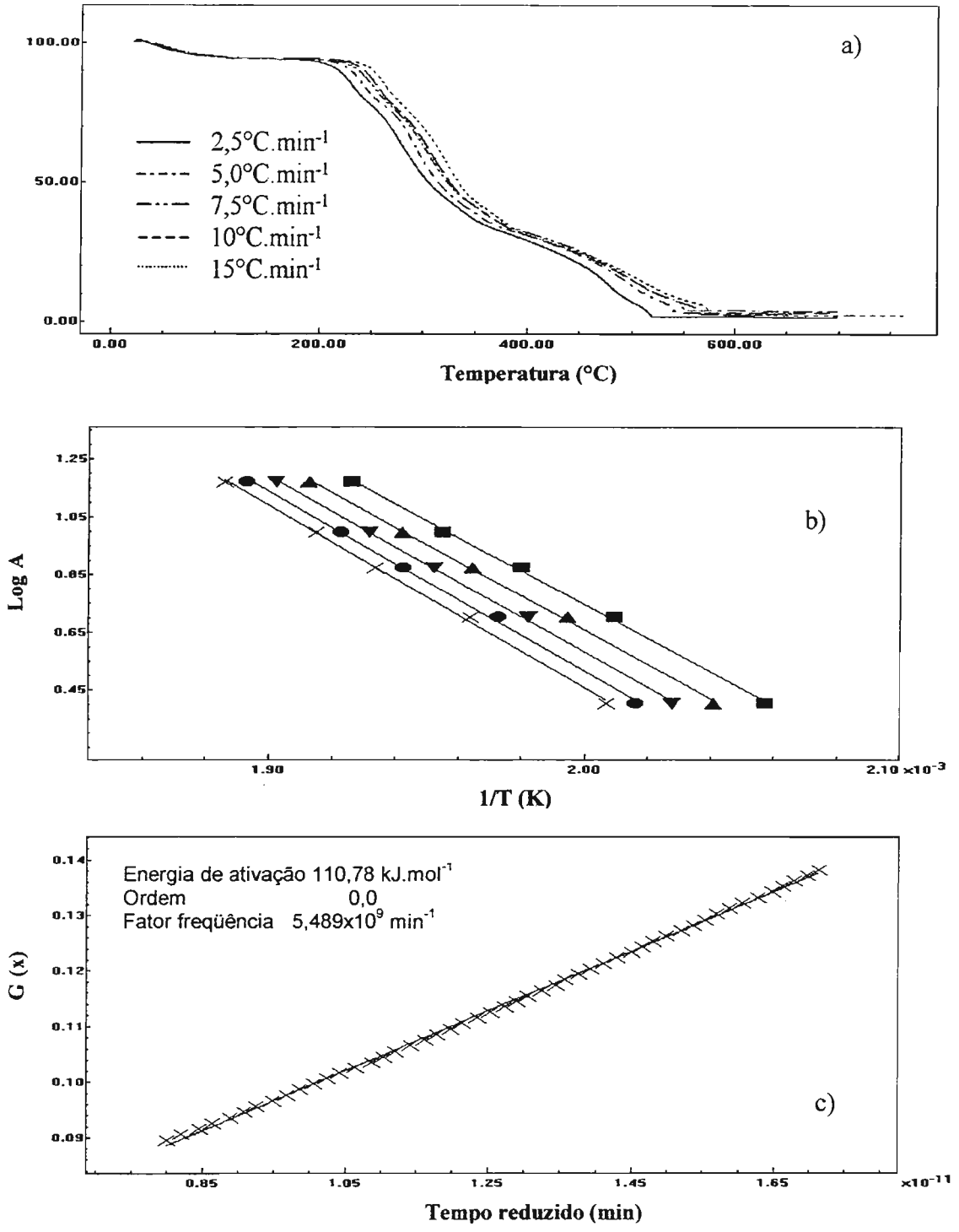


Figura 7.14 –

a) Curvas TG do AZT obtidas nas razões de aquecimento de 2,5-5,0-7,5-10 e 15°C.min^{-1}, obtidas em atmosfera dinâmica de ar (50 mL.min^{-1}), massa de amostra de ~ 4 mg, cadinho de alumina e ambiente com umidade

b) Curva do logaritmo da razão de aquecimento em função do inverso da temperatura.

c) Gráfico da função G(x) do inverso da temperatura para o AZT.

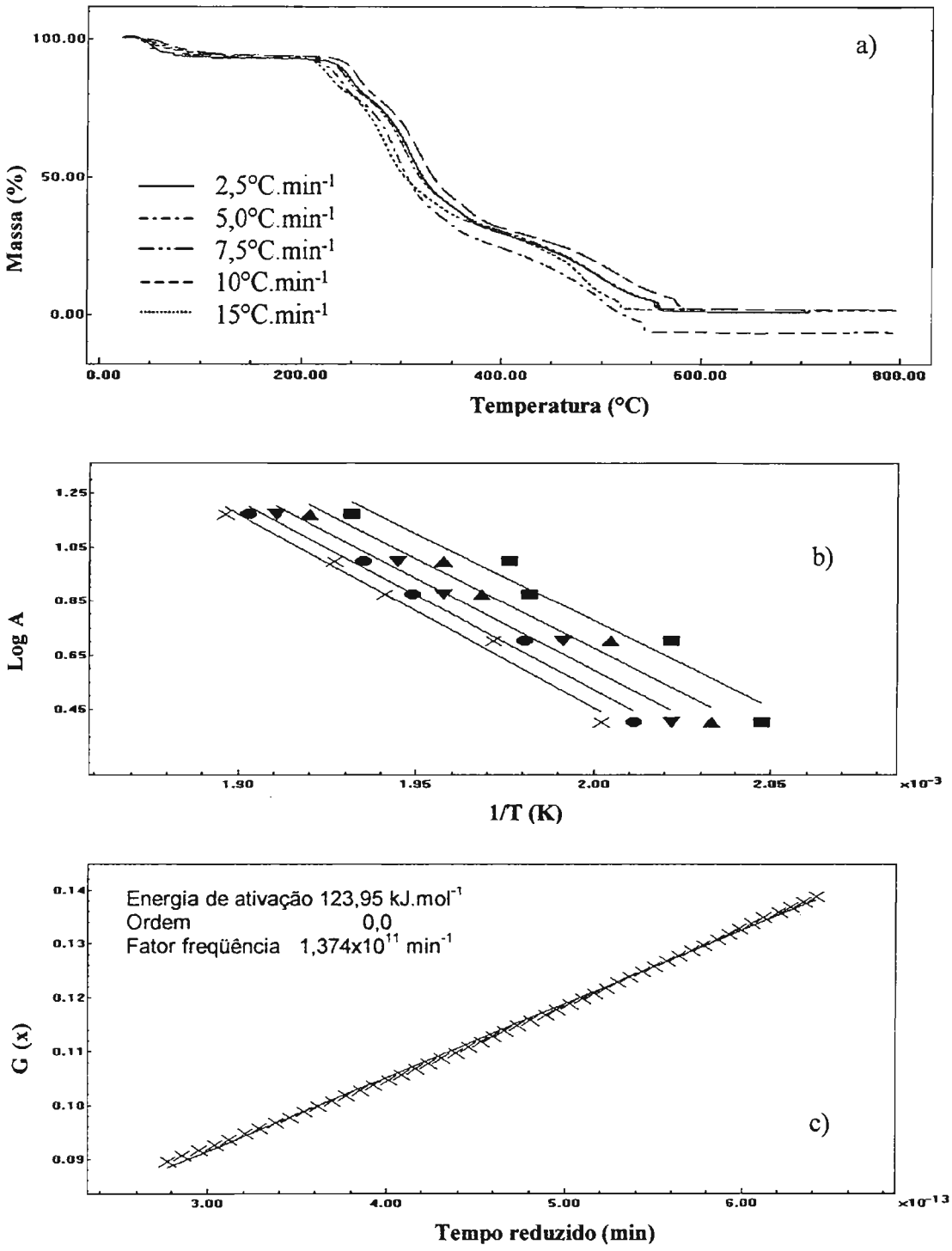


Figura 7.15 –

a) Curvas TG do AZT obtidas nas razões de aquecimento de 2,5-5,0-7,5-10 e 15°C.min^{-1}, obtidas em atmosfera dinâmica de ar (50 mL.min^{-1}), massa de amostra de ~ 8 mg, cadinho de alumina e ambiente com umidade

b) Curva do logaritmo da razão de aquecimento em função do inverso da temperatura.

c) Gráfico da função G(x) do inverso da temperatura para o AZT.

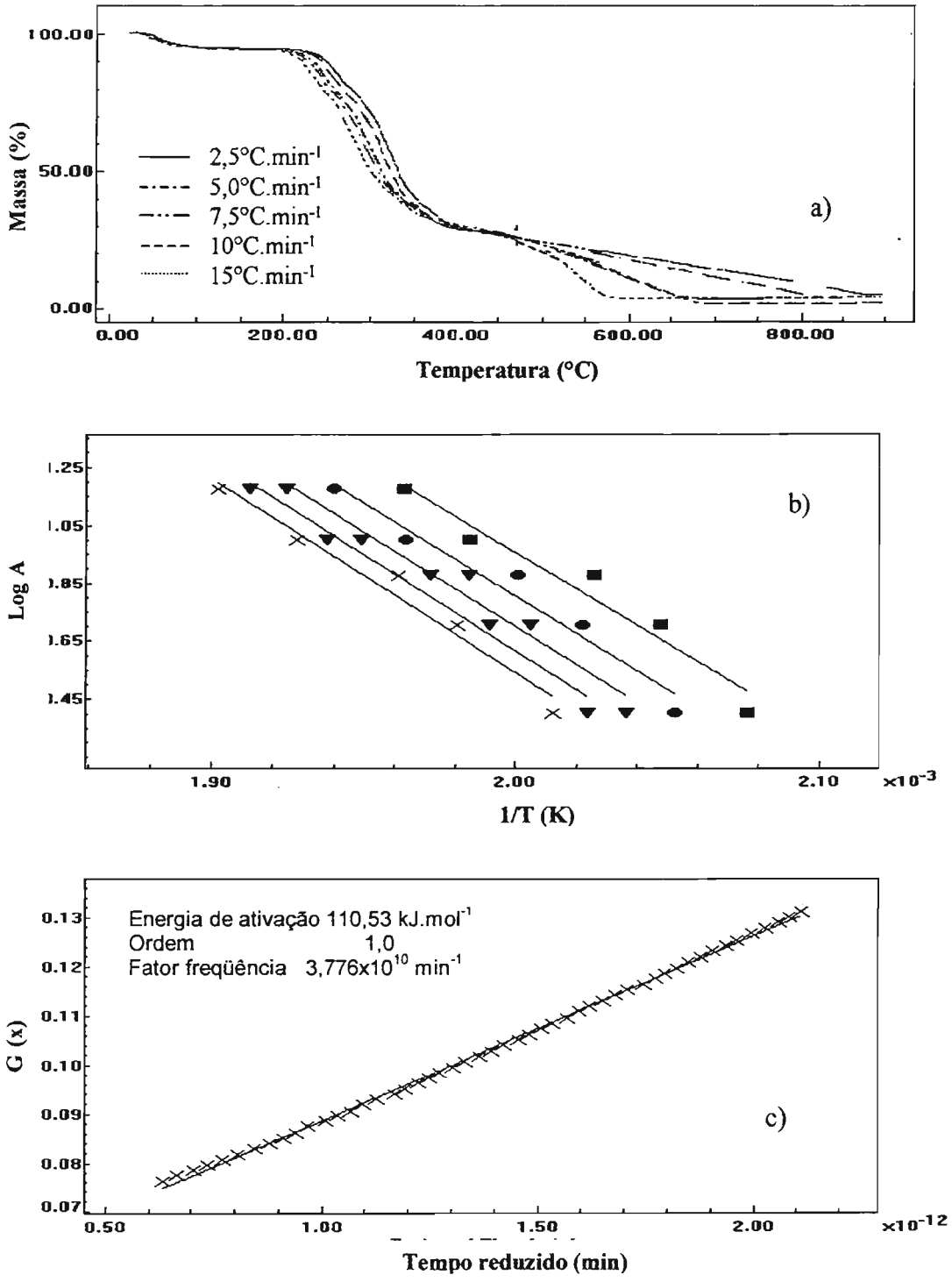


Figura 7.16 –

a) Curvas TG do AZT obtidas nas razões de aquecimento de 2,5-5,0-7,5-10 e 15°C.min^{-1}, obtidas em atmosfera dinâmica de N_2 (50 mL.min^{-1}), massa de ~ 4 mg, cadinho de Pt e ambiente com umidade

b) Curva do logaritmo da razão de aquecimento em função do inverso da temperatura.

c) Gráfico da função G(x) do inverso da temperatura para o AZT.

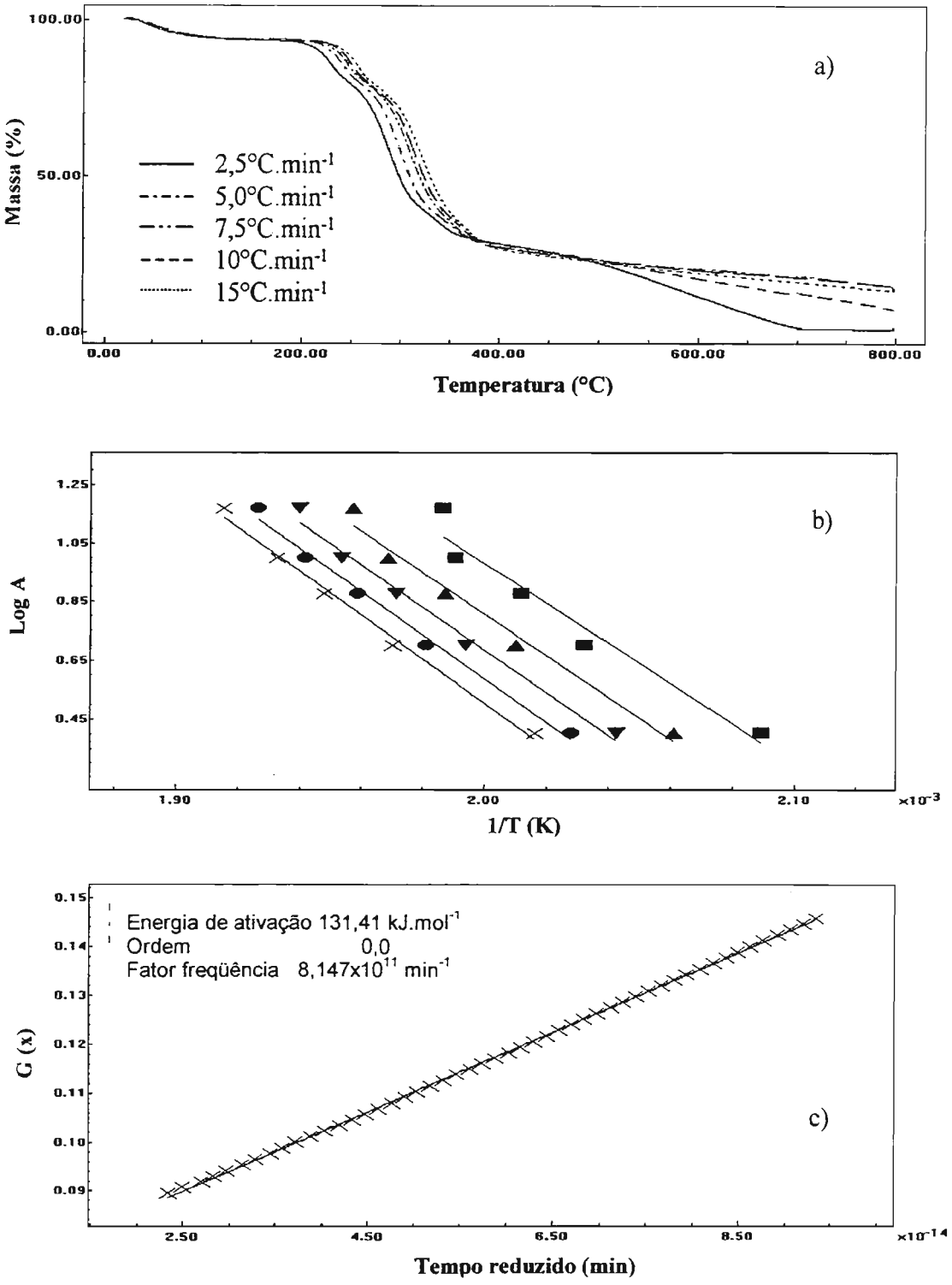


Figura 7.17 –

a) Curvas TG do AZT nas razões de aquecimento de 2,5-5-7,5-10 e 15°C.min^{-1}, obtidas em atmosfera dinâmica de N_2 (50 mL.min^{-1}), massa de amostra de ~ 8 mg, cadinho de Pt e ambiente com umidade

b) Curva do logaritmo da razão de aquecimento em função do inverso da temperatura.

c) Gráfico da função G(x) do inverso da temperatura para o AZT.

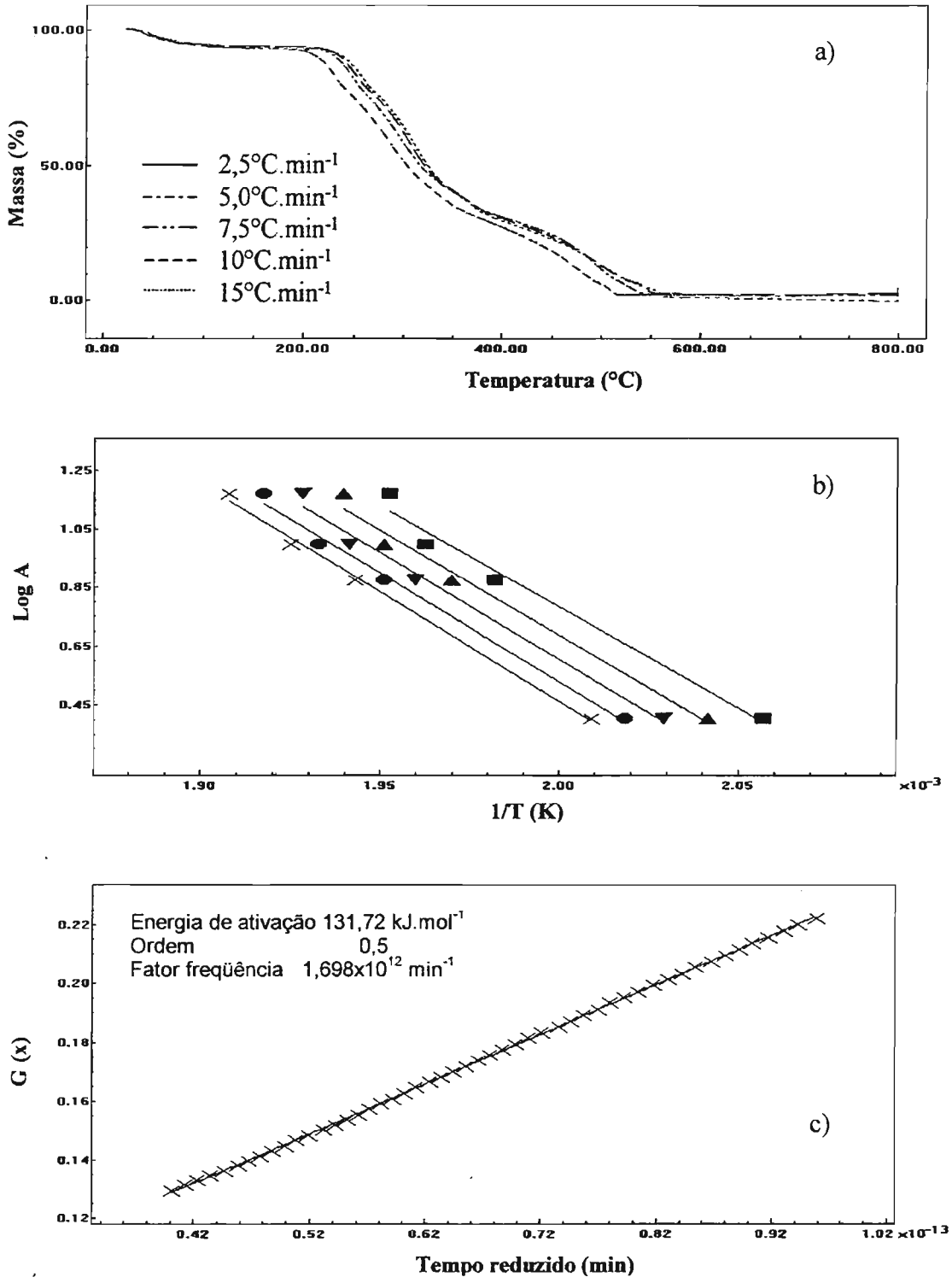


Figura 7.18 –

a) Curvas TG do AZT obtidas nas razões de aquecimento de 2,5-5,0-7,5-10 e 15°C.min^{-1}, obtidas em atmosfera dinâmica de ar (50 mL.min^{-1}), massa de ~ 4 mg, cadinho de Pt e ambiente com umidade

b) Curva do logaritmo da razão de aquecimento em função do inverso da temperatura.

c) Gráfico da função G(x) do inverso da temperatura para o AZT.

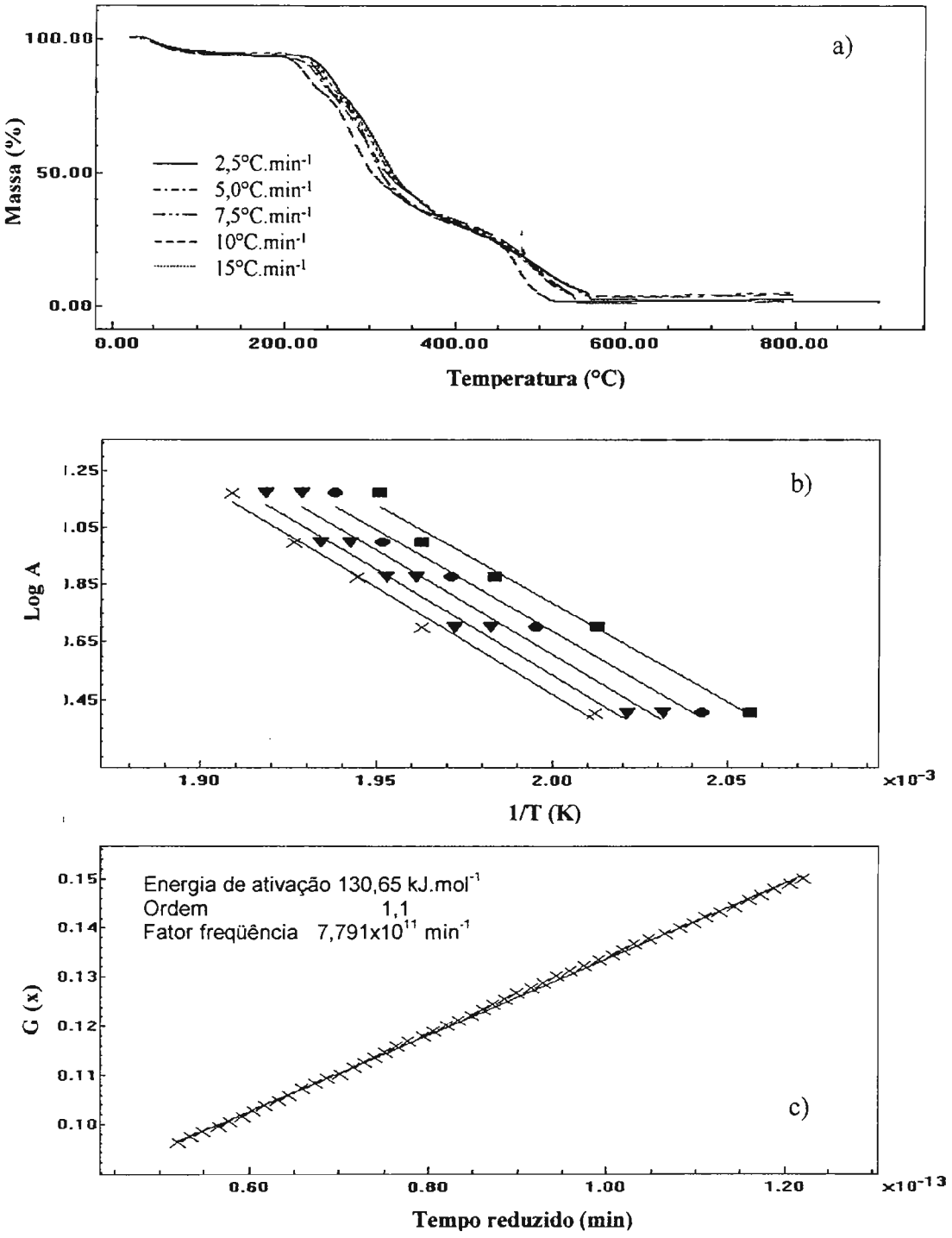


Figura 7.19 –

a) Curvas TG do AZT obtidas nas razões de aquecimento de 2,5-5,0-7,5-10 e 15°C.min^{-1}, obtidas em atmosfera dinâmica de ar (50 mL.min^{-1}), massa de ~ 8 mg, cadinho de Pt e ambiente com umidade

b) Curva do logaritmo da razão de aquecimento em função do inverso da temperatura.

c) Gráfico da função G(x) do inverso da temperatura para o AZT.

A Tabela 7.1 mostra as condições experimentais utilizadas no estudo cinético, a temperatura de pico da DTG para a primeira etapa de decomposição térmica da amostra de AZT, a energia de ativação em $kJ.mol^{-1}$ e o fator freqüência (min^{-1}). De acordo como essa tabela pode-se observar que os valores de energia de ativação variam de 96 a 132 conforme o tipo de cadinho, o ambiente, a atmosfera do forno e a massa de amostra utilizados em cada experimento. Observando-se as temperaturas de pico na DTG relativas ao primeiro evento de decomposição térmica pode-se verificar que a variação ficou entre 247,8 e 259,2°C, o que mostra que existe influência das condições experimentais na temperatura inicial da decomposição térmica da amostra.

Tabela 7.1 - Determinação dos parâmetros cinéticos para as cápsulas de AZT utilizando método não-isotérmico

Condições	Temp. Pico DTG (°C)	Ea ($kJ.mol^{-1}$)	Fator freqüência (min^{-1})
N_2 4 al se	255,8	111*	$2,050 \times 10^{9}$
N_2 8 al se	257,8	119	$2,551 \times 10^{10}$
ar 4 al se	257,2	111*	$1,623 \times 10^{8}$
ar 8 al se	253,4	117*	$1,956 \times 10^{9}$
N_2 4 Pt se	255,4	107	$1,872 \times 10^{9}$
N_2 8 Pt se	251,3	124	$1,198 \times 10^{11}$
ar 4 Pt se	256,7	129	$5,167 \times 10^{11}$
ar 8 Pt se	249,0	126*	$2,712 \times 10^{11}$
N_2 4 al um	259,2	107	$1,497 \times 10^{9}$
N_2 8 al um	251,9	113	$7,879 \times 10^{9}$
ar 4 al um	254,2	111	$5,400 \times 10^{9}$
ar 8 al um	248,7	124	$1,374 \times 10^{11}$
N_2 4 Pt um	249,8	119	$3,751 \times 10^{10}$
N_2 8 Pt um	248,6	131	$8,147 \times 10^{11}$
ar 4 Pt um	248,9	132	$1,698 \times 10^{12}$
ar 8 Pt um	247,4	130	$7,791 \times 10^{11}$

N_2 (atmosfera de nitrogênio), ar (atmosfera de ar), al (cadinho de α-alumina), Pt (cadinho de platina), se (ambiente seco) e um (ambiente com umidade)

* Valores médios dos experimentos realizados em duplicatas.

A tabela 7.2 mostra os resultados dos experimentos dispostos na chamada ordem padrão, onde todas as colunas começam com o nível (-) e depois os sinais vão sendo alternados. Pode-se calcular, além da média global, quinze efeitos: quatro efeitos principais, seis interações de dois efeitos, quatro interações de três fatores e uma interação de quatro fatores.

Tabela 7.2 - Planejamento fatorial 2^4 para determinação da energia de ativação da decomposição térmica do AZT por TG

Fator	-	+
Atmosfera	nitrogênio	ar
Massa de amostra	4 mg	8 mg
Cadinho	platina	alumina
Ambiente do forno	seco	úmido

Ensaio	**1**	**2**	**3**	**4**	Resposta[#]
1	-	-	-	-	111[*]
2	+	-	-	-	119
3	-	+	-	-	111[*]
4	+	+	-	-	117[*]
5	-	-	+	-	107
6	+	-	+	-	124
7	-	+	+	-	129
8	+	+	+	-	126[*]
9	-	-	-	+	107
10	+	-	-	+	113
11	-	+	-	+	111
12	+	+	-	+	124
13	-	-	+	+	119
14	+	-	+	+	131
15	-	+	+	+	132
16	+	+	+	+	130

[*]Valores médios para experimentos em duplicata

[#] Energia de ativação

Partindo da matriz X e do vetor y e aplicando-se o divisor apropriado (8, neste caso) obtêm-se os efeitos mostrados na Tabela 7.3. Os resultados obtidos com a aplicação do Planejamento Fatorial 2^4 mostraram que dentre os fatores analisados o efeito mais significativo é o tipo de cadinho (3), seguido pelo efeito do tipo de atmosfera (1), tipo de ambiente (4) e, por fim, a massa de amostra (2). No entanto, esses fatores não foram considerados significativos para um nível de confiança de 95%, uma vez que o erro padrão do efeito calculado para energia de ativação de quatro amostras em duplicatas foi de ±16,0.

Tabela 7.3 - Efeitos calculados para o planejamento fatorial 2^4

Média	119,0558
Efeitos principais	
1 Atmosfera	7,8884[a]
2 Massa de amostra	5,1875
3 Tipo de cadinho	11,2143
4 Tipo de ambiente	5,6875
Interações de dois fatores	
12	-2,6875
13	-2,0625
14	-2,6875
23	3,6384
24	3,6116
34	0,9866
Interações de três fatores	
123	-5,9866
124	-1,1116
134	1,8616
234	-6,4375
Interação de quatro fatores	
1234	-0,5000

[a] Erro padrão dos efeitos ± 5.8. Esse valor foi calculado pela variância de quatro experimentos realizados em duplicatas de acordo com a Tabela 7.2.

O gráfico normal dos efeitos e o gráfico de Pareto são mostrados nas Figuras 7.20 e 7.21. A partir desses gráficos é possível avaliar a qualidade de um modelo qualquer, seja relacionado com um planejamento fatorial ou não. Um modelo bem ajustado aos fatores deve ser capaz de representar toda a informação sistemática contida nos dados. De acordo com os modelos de Planejamento Fatorial pode-se observar que os resíduos deixados devem representar apenas a parte aleatória, como mostra a Tabela 7.4. A aleatoriedade dos valores dos resíduos é mostrada pela dispersão dos sinais de positivos e negativos, o que mostra que não houve erro sistemático. Uma forma de se obter uma estimativa do erro experimental é através dos valores dos efeitos menos significativos. De acordo com essa suposição, as interações de três ou mais fatores na verdade não existem e, assim, podem ser atribuídas às flutuações aleatórias inerentes ao processo, isto é, o ruído embutido nos valores das respostas.

Tabela 7.4 - Resultados da modelagem do estudo cinético de decomposição térmica do AZT utilizando Planejamento Fatorial 2^4

Ensaio	Resposta	Resposta prevista	Resíduos
1	106	107,50	-1,50
2	119	114,75	4,25
3	96	98,25	-2,25
4	107	108,00	-1,03
5	107	105,56	1,52
6	124	122,25	1,75
7	129	129,25	-0,25
8	127	129,50	-2,58
9	107	107,75	-0,75
10	113	115,00	-2,09
11	111	111,23	0,00
12	124	120,75	3,25
13	119	118,25	0,75
14	131	135,90	-4,00
15	132	129,59	2,50
16	130	129,75	0,25

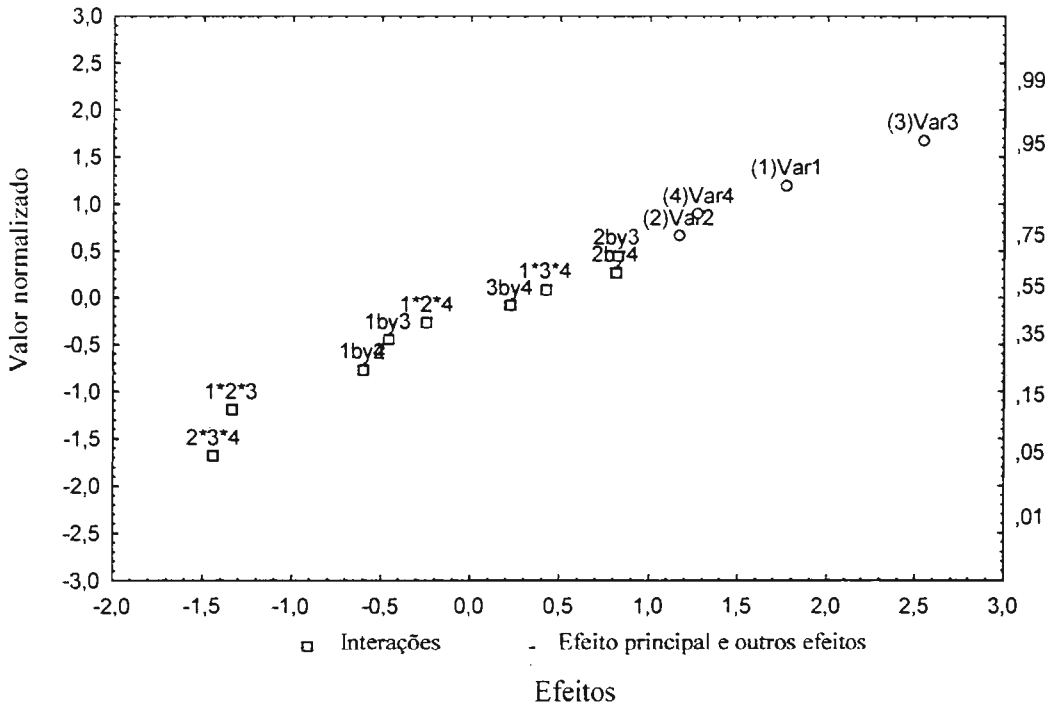


Figura 7.20 - Gráfico Normal dos Efeitos do estudo cinético de decomposição térmica do AZT utilizando Planejamento Fatorial 2^4

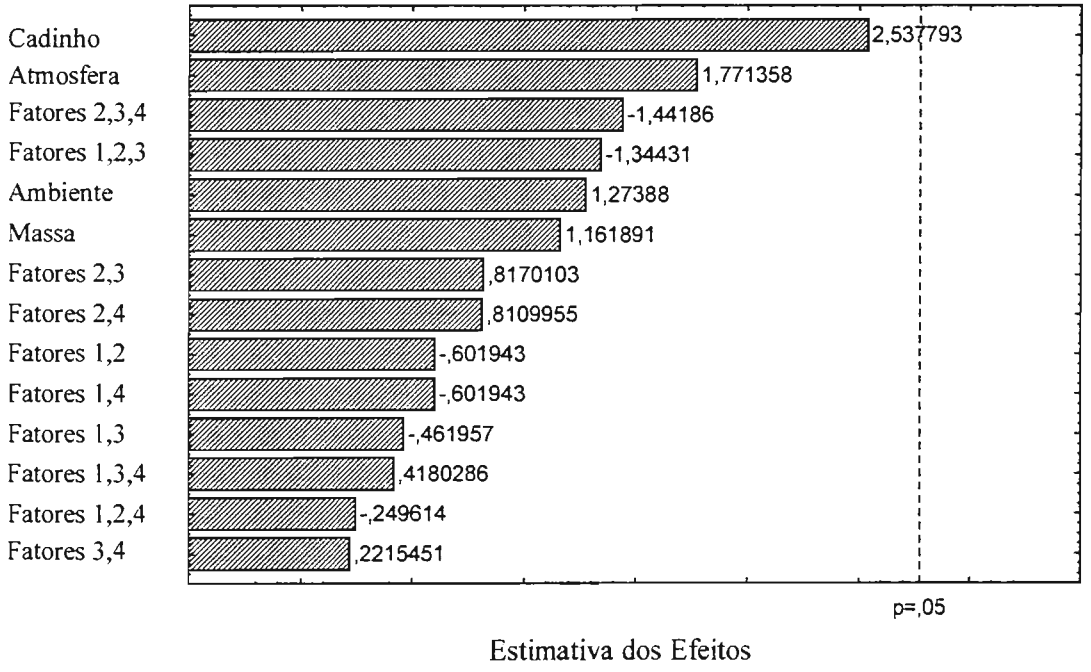


Figura 7.21 - Gráfico de Pareto com 95% de confiança para avaliação dos efeitos utilizando diferentes condições experimentais para o estudo cinético de decomposição térmica do AZT

7.4 CONCLUSÃO

De acordo com os objetivos propostos e os resultados obtidos neste trabalho, pode-se concluir que a definição das condições experimentais na determinação dos parâmetros cinéticos da decomposição térmica de fármacos utilizando a técnica de termogravimetria são fundamentais para a intercorrelação de dados. O estudo da variabilidade de condições experimentais utilizadas em experimentos com termogravimetria (tipo de cadinho, massa de amostra e atmosfera do forno) pela aplicação de métodos estatísticos, como o Planejamento Fatorial, indicou que não existem diferenças significativas entre estes fatores. De acordo com o gráfico dos efeitos e a distribuição de Pareto pode-se observar que os efeitos mais importantes foram o tipo de cadinho e a atmosfera do forno. No entanto, para um intervalo de confiança de 95% esses fatores não são considerados significativos. Esses gráficos mostram ainda que uma vez aumentado o intervalo de confiança para 90% o tipo de cadinho e a atmosfera passam a ser considerados significativos.

7.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARAUJO, P.W., BRERETON, R.G. Experimental design I. Screening. **TrAC, Trends Anal. Chem.**, Amsterdam, v.15, n.1, p.26-31, 1996.

BACA, L., PLEWA, J., PACH, L., OPFERMANN, J. Kinetic analysis crystallization of α-Al_2O_3 by dynamic DTA technique. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, Budapest, v.66, p.803-813, 2001.

BARRAL, L., CANO, J., LÓPEZ, J., LÓPEZ-BUENO, I., NOGUEIRA, P., RAMÍREZ, CC., ABAD, M.J. Degradation kinetics of an epoxy/cycloaliphatic amine resin under isothermal and non-isothermal conditions. **J. Therm. Anal. Calorim.**, Dordrecht, v.55, p.37-45, 1999.

BARROS NETO, B., SCARMINIO, I.S., BRUNS, R.E. **Como fazer experimentos: pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria**. Campinas: Unicamp, 2001. p.113.

BURNHAM, L., DOLLIMORE, D., ALEXANDER, K.S. Kinetic study of the drug acetazolamide using thermogravimetry. **Thermochim. Acta**, Amsterdam, v.392, p.127-133. 2002.

FORD, J.L., TIMMINS, P. **Pharmaceutical thermal analysis**: technique and application. New York: Willey-Interscience, 1986. 313p.

GIRON, D. Contribuition of thermal methods and related techniques to the rational development of pharmaceuticals. Part 1. **Pharm. Sci. Technol. Today**, Bethesda, v.1, p.191-199, 1998.

GIRON, D. Contribuition of thermal methods and related techniques to the rational development of pharmaceuticals. Part 2. **Pharm. Sci. Technol. Today**, Bethesda, v.6, p.262-268, 1998.

HAINES, P.J. **Thermal methods of analysis: principles, application and problems**. London: Champman & Hall, 1995. 286p.

GONZÁLEZ, A.G. Two level factorial experimental designs based on multiple linear regression models: a tutorial digest illustrated by case studies. **Anal. Chim. Acta**, Amsterdam, v.360, p.227-241, 1998.

GOHEL, M.C., AMIN, A.F. Formulation optimization of controlled release diclofenac sodium microspheres using factorial design. **J. Controlled Release**, Shannon, v.51, p.115-122, 1998.

HARDY, M.J. Pharmaceutical applications of thermal analysis. *In*. Charsley, E.L., Warrington, S.B. **Thermal Analysis: techniques & applications**. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 1992. p.180-197.

HUANG, Y., CHENG, Y., ALEXANDER, K., DOLLIMORE, D. The thermal analysis study of the drug captopril. **Thermochim. Acta**, Amsterdam, v.367, p.43-58, 2001.

OZAWA, T. A new method of analyzing thermogravimetric data. **Bull. Chem. Soc. Jpn**, Tokyo, v.38, n.11, p.1881-1886, 1965.

OZAWA, T. Thermal Analysis – review and prospect. **Thermochimica Acta**. Belfast, v. 355, p.35-42, 2000.

OKUSA, N. Prediction of stability of drugs: prediction of stability by multilevel nonisothermal method. **Chem. Pharm. Bull.**, Tokyo, v.23, n.4, p.803-809, 1975.

QUÉTEL, C.R., THOMAS, B., DONARD, O.F.X., GROUSSET, F.E. Factorial optimization of data acquisition factors for lead isotope ratio determination by inductively coupled plasma mass spectrometry. **Spectrochim. Acta, Part B**, Amsterdam, v.52, p.177-187, 1997.

RODUIT, B., MACIEJEWSKI, M., BAIKER, A. Influence of experimental conditions on the kinetic parameters of gas-solid reactions: parametric sensitivity of thermal analysis. **Thermochim. Acta**, Amsterdam, v.283, p.101-119, 1996.

ROY, S., RIGA, A.T., ALEXANDER, K.S. Experimental design aids the development of a differential scanning calorimetry standard test procedure for pharmaceuticals. **Thermochim. Acta**, Amsterdam, v.392, 399-404, 2002.

SESTÁK, J. Errors of kinetic data obtained from thermogravimetric curves at increasing temperature. **Talanta**, Amsterdam, v.13, n.4, p.567-579, 1966.

SLOVÁK, V. Determination of kinetic parameters by direct non-linear regression from TG curves. **Thermochimica Acta**. Belfast, v. 372, p. 175-182, 2001.

VÁCLAV, S. Determination of kinetics parameters by direct non-linear regression from TG curves. **Thermochim. Acta**, Amsterdam, v.372, p.175-182, 2001.

VYAZOVKIN, S. Thermal Analysis. **Anal. Chem.**, Columbus, v.74, n.12, p.2749-2762, 2002.

WENDLANDT, W.W. **Thermal analysis**. 3.ed. New York: Willey, 1986. 814p.

CAPÍTULO VIII

Estudos de estabilidade e determinação dos parâmetros cinéticos da decomposição térmica dos conteúdos das cápsulas de AZT disponíveis no mercado brasileiro

Este capítulo é dedicado ao estudo da estabilidade de formulações comerciais de AZT disponíveis no mercado brasileiro. Neste estudo foram utilizados métodos convencionais de estabilidade acelerada e a longo prazo, a partir do acondicionamento das amostras em câmaras climatizadas. Paralelamente, as amostras comerciais foram avaliadas quanto ao perfil termoanalítico e determinados os parâmetros cinéticos da decomposição térmica utilizando método isotérmico e não-isotérmico.

"No campo das observações, o acaso só favorece as mentes preparadas".

Luis Pasteur

8.1 INTRODUÇÃO

Pode-se definir cápsulas como preparações farmacêuticas constituídas por um invólucro de natureza, forma e dimensões variadas, contendo substâncias medicinais sólidas, pastosas ou líquidas (PRISTA *et al.*, 1990). O acondicionamento das substâncias medicamentosas nos referidos invólucros apresenta diversas vantagens como, por exemplo, na administração de substâncias nauseosas ou de sabor desagradável sob uma forma em que não se percebe o seu gosto; as paredes das cápsulas amiláceas e gelatinosas são digestíveis e liberam, rapidamente, os medicamentos depois da ingestão; graças à elasticidade das suas paredes, as cápsulas são de mais fácil deglutição que os comprimidos; as cápsulas gelatinosas são suscetíveis de serem revestidas por invólucros gastro-resistentes, podendo passar pelo estômago sem serem desagregadas ou constituírem um preparado de ação modificada (RIDGWAY, 1987; PRISTA *et al.*, 1992).

Há um certo número de verificações que se deve efetuar nas cápsulas, no sentido de estabelecer o controle de qualidade das mesmas. Entre as quais pode-se citar: a avaliação do peso médio, o tempo de dissolução e desagregação, o teor de umidade, a dosagem de princípio ativo, entre outras (GUTCHO, 1972, CARSTENSEN, 1977). A avaliação do peso médio, por exemplo, está relacionada com a exatidão do peso do produto medicamentoso e depende, em larga medida, do processo de enchimento adotado e também da natureza do produto a acondicionar (LACHMAN *et al.*, 2001). Assim, para as cápsulas contendo pós, o afastamento entre o peso médio e o peso pretendido depende da forma cristalina do pó e é maior nos processos de enchimento manual que nos sistemas mecanizados. A técnica seguida pela maioria das farmacopéias para apreciar a variação de peso consiste em pesar em conjunto e individualmente um número de cápsulas igual ou superior a 10. Determina-se, assim, o peso médio e verificam-se se os afastamentos encontrados se enquadram em limites previamente estabelecidos (PRISTA *et al.*, 1992).

Outro fator de importância no controle de qualidade dos medicamentos é a avaliação da estabilidade do produto (LACHMAN *et al.*, 2001). As primeiras noções de estabilidade, ou seja, a extensão em que um produto retém, dentro dos limites especificados e dentro do período de armazenagem e de uso, as mesmas propriedades e características que possuía na ocasião em que foi fabricado (PRISTA *et al.*, 1992). Os primeiros trabalhos relacionados com a estabilidade de fármacos e medicamentos remontam à década de 50, quando o processo de industrialização, a descoberta e o lançamento de novos medicamentos se tornaram intensos. Até 1984, as metodologias de avaliação da

estabilidade de fármacos e medicamentos seguiam princípios técnicos e científicos, sem interferência de atos regulatórios emitidos por agências ou órgãos de vigilância sanitária. As empresas utilizavam metodologias próprias, juntando seus dados e informações na documentação de registro (MORETTO, 1999).

As alterações medicamentosas podem ser decorrentes de causas externas e internas. A primeira diz respeito às influências provocadas pelo meio ambiente e suas variações (temperatura, luz, umidade, gases que compõe o ar, etc...). Quanto às causas internas, essas tornam-se função direta das interações químicas e físicas existentes entre os fármacos e os excipientes contidos na formulação, sendo importante por isso a realização de estudos de pré-formulação ou compatibilidade, e da influência direta do pH do meio, da composição dos recipientes, de pequenas quantidades de impurezas, entre outras. Essas alterações podem ocorrer de forma mais rápida ou mais lenta, assim como refletir nas propriedades organolépticas ou não da preparação. A instabilidade das formulações farmacêuticas pode ser detectada, em alguns casos, por mudança na aparência física da preparação, mudança de cor, de odor, no gosto ou na textura, enquanto em outros casos, podem ocorrer alterações químicas que não são evidentes e que só podem ser verificadas por análise química. O fator preponderante neste tipo de situação é que a degradação do medicamento pode levar à perda parcial ou total da atividade dos fármacos, ou, o que é ainda mais grave, levar à formação de produtos cuja toxicidade seja extremamente mais elevada que a do fármaco original.

A estabilidade química é importante para selecionar as condições de armazenagem (temperatura, luz, umidade, etc), escolha do recipiente adequado (vidro, plástico, âmbar ou opaco, tipo de tampa, etc) e para prever as interações decorrentes da misturar dos fármacos com os excipientes (YANG, 1981). O incremento do comércio internacional, o processo de especialização de unidades produtivas e a racionalização da produção de medicamentos para atender aos princípios de produção em escala econômica, todos incluídos no contexto caracterizado como globalização, contribuíram para que fosse considerado indispensável o conhecimento do comportamento dos medicamentos nas zonas climáticas dos países importadores (OKUSA, 1975). Na década de 1990 surgiram alguns regulamentos atuando sobre a realização de estudos de estabilidade de medicamentos. Entre os quais, pode-se destacar a Resolução 391, de 9 de agosto de 1999, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, que define a metodologia a ser utilizada para este tipo de estudo. A busca de uma diretriz única, aceita sem restrições por seus mentores, vem sendo uma tarefa bastante difícil devido à complexidade da harmonização dos procedimentos envolvidos nesses estudos. A

avaliação da estabilidade de fármacos e medicamentos deve levar em consideração muitos fatores, dentre os quais apenas alguns poucos congregam posições totalmente convergentes nas diretrizes conhecidas.

Aparentemente, uma das poucas convergências encontradas nas diferentes normativas refere-se ao reconhecimento das zonas climáticas globais e às condições de armazenagem, relativas às suas correspondentes temperaturas cinéticas médias (TMC) e umidades relativas (UR) médias anuais (GRIMM, 1998). A divisão por zonas climáticas pode ser observada na Tabela 8.1. Todas as diretrizes contemplam esquemas de estabilidade em tempo real e acelerados no tempo. As condições de armazenagem de amostras em tempo real, para praticamente todas as diretrizes, para todos os países que se enquadram em zonas climáticas I e II, são fixadas tomando como referência às condições da ZC II. Para os países que se enquadram nas zonas III e IV, são fixadas como referência àquelas da ZC IV. A Tabela 8.1 ainda relaciona as condições de armazenamento para estudos em tempo real e em ensaios acelerados no tempo, conforme previsto na diretiva da OMS e na Resolução 391 do Mercosul. Na referida tabela de testes em condições aceleradas no tempo constam os prazos a que deve ser submetido às amostras para o registro inicial de um novo medicamento.

Tabela 8.1 - Divisão por zonas climáticas para realização de estudo de estabilidade de fármacos e medicamentos e condições em tempo real e acelerado no tempo para estudos de estabilidade de medicamentos

Zonas climáticas	**TMC (°C)**	**Anual (%UR)**	**Condições em tempo real**	**Anual (%UR)**
Zona I (temperada)	21	45	21°C/45%UR	40°C/75%UR 3 meses
Zona II (subtropical)	25	60	25°C/60%UR	40°C/75%UR 3 meses
Zona III (quente, seca)	30	35	30°C/35%UR	40°C/75%UR 6 meses
Zona IV (quente, úmida)	25	60	30°C/70%UR	40°C/75%UR 6 meses

O período durante o qual um determinado medicamento pode considerar-se estável designa-se correntemente por prazo de validade. Por outro lado, considera-se geralmente que uma preparação mantém a sua estabilidade desde que a perda do teor dos seus princípios ativos não exceda valores de 10 a 15%, conforme o caso considerado. A Farmacopéia Portuguesa estabelece, portanto, que o prazo de validade é o período máximo durante o qual um medicamento, após a sua preparação, não

apresenta uma perda em substância ativa superior às percentagens já citadas, quando mantido em determinadas condições de armazenagem, previamente estabelecidas.

Entre as condições de armazenagem toma lugar de relevo a temperatura. A temperatura de armazenagem, pode variar freqüentemente, e, por uma questão de normatização, no que diz respeito ao uso de medicamentos, tem-se preconizado que seja fixada em 25°C. Desde o momento em que se determina a velocidade específica de degradação a esta temperatura, e seja possível, também, saber a ordem segundo a qual se realiza o estudo, torna-se, então, relativamente simples estabelecer o prazo de validade do medicamento em questão. Fica evidente que um aumento na temperatura diminuirá o prazo de validade, sendo o mesmo que dizer que a armazenagem em uma temperatura mais elevada diminuirá a vida útil do medicamento. A avaliação da estabilidade, assim como a determinação do prazo de validade, leva, obrigatoriamente, ao estudo da cinética de degradação do material, ou seja, a velocidade em que a degradação do fármaco ocorre em uma formulação (KING *et al.*, 1984). O estudo da velocidade da mudança química e do modo como é influenciada por fatores como a concentração do fármaco ou do reagente, o solvente empregado, as condições de temperatura e pressão, e a presença de outros agentes químicos na formulação é denominado de cinética da reação. Em geral, o estudo cinético começa com a medida da concentração do fármaco em intervalos determinados, sob um conjunto específico de condições que incluem temperatura, pH, concentração iônica, intensidade de luz e concentração do fármaco. A medida da concentração do fármaco nos vários intervalos revela sua estabilidade ou instabilidade nas condições especificadas, com o decorrer do tempo.

Atualmente, a cinética de reações de decomposição de fármacos e medicamentos pode ser classificada da seguinte maneira: reações de ordem zero, 1ª Ordem e 2ª Ordem (LACHMAN *et al.*, 2001). A reação de Ordem zero ocorre quando a perda ou decomposição do fármaco independe da concentração de reagente e é constante com relação ao tempo, por exemplo, 1 mg/mL/hora. A cinética de primeira ordem pode ser observada quando a degradação do fármaco for diretamente proporcional à concentração remanescente com relação ao tempo. Por fim, a cinética de segunda ordem é verificada quando a velocidade de reação for proporcional ao quadrado da concentração atual do produto (Figura 8.1).

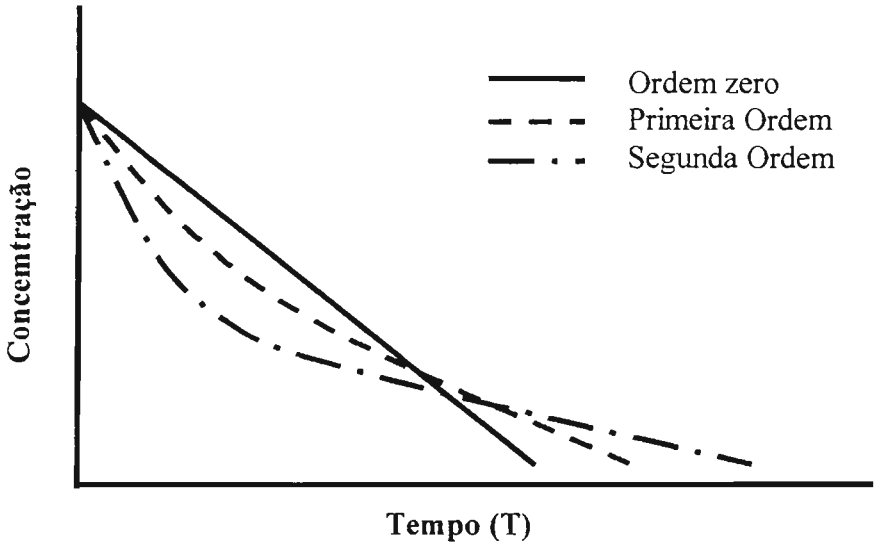


Figura 8.1 - Determinação da ordem da cinética de decomposição em função da relação concentração *versus* tempo

Os estudos de estabilidade acelerada e a longo prazo são destinados a aumentar a velocidade de degradação química e de modificação física de uma substância, alterando as características da forma farmacêutica a partir de condições forçadas de armazenamento. Esses testes têm o propósito de monitorar as reações de degradação e prever o prazo de validade nas condições normais de armazenamento. No entanto, esse tipo de estudo apresenta como principais desvantagens à necessidade de tempo relativamente longo e a pequena confiabilidade devido à facilidade de ocorrência de erros em virtude da manipulação das amostras e utilização dos equipamentos. De maneira geral, um estudo de estabilidade acelerada dura em torno de seis a oito meses para análise dos dados, sendo considerado bastante oneroso e demorado para as indústrias farmacêuticas. A análise cinética de dados por análise térmica tem recebido significativa atenção desde a década de 60 (SESTÁK, 1966; BUCKTON *et al.*, 1991; BURNHAM *et al.*, 2002). Quando aplicada ao estado sólido, esses dados são de interesse prático para um grande número de processos tecnologicamente importantes, uma vez que as variáveis: energia de ativação (Ea), fator de freqüência (A) e a ordem da reação podem ser determinados através de cálculos adequados a partir de procedimentos experimentais (HUANG *et al.*, 2001; GALWEY & BROWN, 2002).

Em termogravimetria (TG) a velocidade da reação é em geral definida em função da fração decomposta α, que corresponde à relação da perda de massa no tempo T e à perda de massa total para um dado estágio da reação, como mostra a Equação 8.1:

$$\alpha = \frac{m_{inicial} - m_{total}}{m_{inicial} - m_{\alpha}} \qquad \text{(Equação 8.1)}$$

Considerando a variável α para denotar a extensão da reação, tem-se a seguinte equação geral:

$$\frac{d\alpha}{dt} = K(T)\, f(\alpha) \qquad \text{(Equação 8.2)}$$

em que K(T) é a constante de velocidade dependente da temperatura, α é a massa residual e $f(\alpha)$ é o fator de conversão na qual se estabelece a ordem de reação, também conhecido como modelo de reação.

Desse modo, a equação apresentada anteriormente relaciona-se com o modelo matemático geral, o qual descreve a cinética de um sistema durante a mudança química. Para muitas reações, a equação de Arrhenius fornece uma boa descrição da dependência de temperatura da constante de velocidade. Logo, o efeito da temperatura é introduzido a partir da equação de Arrhenius (Equação 8.3),

$$K(t) = A \exp^{-Ea/RT} \qquad \text{(Equação 8.3)}$$

em que A corresponde ao Fator pré-exponencial ou fator freqüência, Ea a energia de ativação aparente, R a constante geral dos gases e T é a temperatura absoluta.

Substituindo-se a Equação 8.3, tem-se:

$$\frac{d\alpha}{dt} = A \exp^{-Ea/RT} f(\alpha) \qquad \text{(Equação 8.4)}$$

Como foi relatado anteriormente, grande número de trabalhos vem sendo publicado, nos últimos anos, visando à aplicação das técnicas termoanalíticas com o intuito de determinar os parâmetros cinéticos da degradação de compostos e, em uma etapa posterior, aplicar a avaliação do

prazo de validade de medicamentos (SOME *et al.*, 1999; HUANG *et al.*, 2001; BURNHAM et al.. 2002). Os resultados apresentados até o momento por diversos pesquisadores mostram-se promissores, tendo como principal vantagem, sobre os métodos convencionais de estudo por estabilidade acelerada e a longo prazo, a obtenção de resultados de forma rápida e mais confiável. Com a finalidade de contribuir nesta área, este trabalho teve como objetivo avaliar a estabilidade e determinar os parâmetros cinéticos da decomposição térmica dos conteúdos das cápsulas de AZT disponíveis no mercado brasileiro, além de tentar estabelecer uma relação de equivalência farmacêutica entre os produtos acabados a partir das técnicas termoanalíticas.

8.2 MATERIAIS E MÉTODOS

8.2.1 Produto de referência e amostras comerciais

O padrão de AZT foi doado pela *United States Pharmacopeia* (USP), de acordo com a seguinte descrição: AZT (Número cat. 72450), grau de pureza 100%, lote: F, data 16/05/00, certificado oficial de garantia: 100-B.

As amostras comerciais de AZT, inclusive o produto de referência, foram doadas pelo Instituto de Infectologia Emílio Ribas. No processo de amostragem, foram adquiridas amostras de mesmo lote para cada produto. Os produtos analisados foram: 1) AZT (Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco-LAFEPE, frasco contendo 100 cápsulas de 100 mg, lote: 98030232, data de fabricação: 03/99), 2) AZT (Indústria Química do Estado de Goiás-IQUEGO, apresentação: frasco contendo 100 cápsulas de 100 mg, lote: 99070203, data de fabricação: 07/99), 3) AZT (Fundação para o Remédio Popular-FURP, apresentação: frasco contendo 100 cápsulas de 100 mg, lote: 98122017, data de fabricação: 02/99), 4) AZT (Fundação Osvaldo Cruz-Farmanguinhos, apresentação: frasco contendo 100 cápsulas de 100 mg, Lote: 9905254, data de fabricação: 05/99), 5) AZT (Sanval Indústria Farmacêutica LTDA, apresentação: frasco contendo 100 cápsulas de 100 mg, lote: AB934, data de fabricação: 12/99), 6) Retrovir (Glaxo Wellcome Indústria Farmacêutica, apresentação: frasco contendo 100 cápsulas de 100 mg, lote: 7A2225, data de fabricação: 01/99). Durante o estudo as amostras dos diferentes laboratórios foram denominadas aleatoriamente por A, B, C, D e E, sendo o produto de referência, do laboratório Glaxo Wellcome, denominado por R.

8.2.2 Métodos

8.2.2.1 Estudo de estabilidade acelerada e a longo prazo

Os estudos de estabilidade acelerada e a longo prazo foram realizados de acordo com a Resolução N° 391, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, de 9 de agosto de 1999. Segundo esta resolução, os estudos devem ser realizados em estufa climatizada, na temperatura de 40 ± 2°C e umidade relativa de 75 ± 5%, durante seis meses, com análises nos tempos zero, 30, 60, 90, e 180 dias, e em temperatura de 30 ± 2°C e umidade relativa de 75 ± 5%, durante um ano, com análises em zero, 3, 6, 9, e 12 meses, respectivamente.

8.2.2.2. Procedimento cromatográfico para determinação do teor de AZT em cápsulas

A análise por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) foi utilizada para determinação do teor de AZT. A metodologia foi adotada de acordo com as descrições da *United States Pharmacopeia* -USP XXV. O método baseia-se na separação de fases por meio de uma coluna de aço inoxidável (0,25 m x 4,6 mm), tendo como fase estacionária a sílica-gel octadecilsilil (5m). A velocidade de escoamento (vazão) da fase móvel deve ser regulada em 1,0 $mL.min^{-1}$, utilizando-se mistura de 40/60 (v/v) metanol/solução tampão fosfato pH 5,0. Como detector foi utilizada a espectrofotometria de absorção na região do ultravioleta no comprimento de onda de 265 nm. Os procedimentos foram ajustados segundo as condições padrão de análise, tendo como tempo médio para cada ensaio cerca de sete minutos.

a) Preparo da solução tampão

Pesou-se cerca de 4 g de fosfato de potássio monobásico, transferiram-se para béquer e dissolveram-se em água de qualidade Milli Q. Ajustou-se o pH para 5, usando hidróxido de potássio 50%. Em seguida, transferiu-se a solução para balão volumétrico de 1000 mL e completou-se o volume com água de qualidade Milli Q. Esta solução foi filtrada em HA 0,45 μ. A fase móvel foi preparada a partir da mistura de 40 partes de metanol para 60 de solução tampão fosfato devidamente preparado e filtrado.

b) Preparo do padrão

Pesou-se 20 mg de AZT, com precisão de 0,01 mg, substância química de referência USP, e transferiram-se para balão volumétrico de 25 mL. Em seguida, completou-se o volume com metanol, homogeneizando a solução por cerca de 10 minutos. Transferiram-se 50 μL para balão volumétrico de 10 mL e completou-se o volume com a fase móvel. Após esse procedimento, filtrou-se a solução em filtro Millex Millipore de 0,45 micra.

c) Preparo das amostras

Inicialmente, foi determinado o peso médio de 10 cápsulas de AZT de 100 mg. Do peso médio foi tomado o equivalente a 20 mg de AZT, em seguida, transferido para balão volumétrico de 25 mL, completando-se o volume com metanol. Esse material foi colocado em ultrassom por 20 minutos. Em seguida, retiraram-se 50 μL da amostra sonicada para um balão volumétrico de 10 mL, completando-se o volume com a fase móvel. Após esse procedimento, filtrou-se a solução em filtro Millex Millipore de 0,45 micra.

d) Condições experimentais e injeção de amostras

Nestas condições, injetou-se 20 μL da solução de padrão no sistema cromatográfico, repetindo-se as injeções até obter-se reprodutibilidade do tempo de retenção. Nessas condições, injetou-se a solução-padrão e as amostras em intervalos adequados, nas seguintes condições:

a) atenuação do equipamento: 5

b) velocidade do fluxo da fase móvel: 1,0 $mL.min^{-1}$

c) as análises foram realizadas à temperatura ambiente (25 ±1°C).

e) Construção da curva de calibração

Foram pesados, com exatidão, 20 mg de AZT, os quais foram transferidos para um balão volumétrico de 25 mL, e completando-se o volume com metanol grau HPLC. Dessa solução foram retiradas alíquotas de 15, 20, 30, 40, 50 e 60 μL para balões volumétricos de 10 mL. O volume de cada balão foi completado com a fase móvel (metanol/tampão fosfato), obtendo-se, assim, soluções

com concentrações iguais a 1,2-1,6-2,4-3,2-4,0 e 4,8 μg de AZT por mL. Após esse procedimento, filtrou-se a solução em filtro Millex Millipore de 0,45 micra.

8.2.2.3 Avaliação do peso médio do conteúdo das cápsulas de AZT (100 mg)

Para avaliação do peso médio das cápsulas de AZT (produtos A, B, C, D, E e F) foi utilizada a técnica descrita pela Farmacopéia Brasileira 4ª. edição (1988). De modo geral, foi pesada uma cápsula e, em seguida, removido o conteúdo e pesado o seu hemi-invólucro; a diferença de peso representa o peso do conteúdo medicamentoso. Repetiu-se essa operação com mais 10 cápsulas, calculando-se o peso médio das cápsulas ensaiadas. O peso do conteúdo de cada cápsula não deve diferir do peso médio em mais de 10%.

8.2.2.4 Análise térmica

As curvas DSC foram obtidas na faixa de temperatura entre 25 e 550°C, utilizando-se célula calorimétrica modelo DSC-50 da marca Shimadzu, sob atmosfera dinâmica de nitrogênio (50 $mL.min^{-1}$), razão de aquecimento de $10°C.min^{-1}$ (estudos exploratórios e de compatibilidade) e $2°C.min^{-1}$ (determinação da pureza), utilizando cápsula de alumínio parcialmente fechada contendo aproximadamente 2 mg de amostra. A célula DSC foi calibrada e/ou verificada antes dos ensaios no eixo de temperatura utilizando padrões de índio ($T_{fusão}$ =156,6°C) e zinco ($T_{fusão}$ = 419,5°C), metálicos com pureza de 99,99%. Para a quantidade de calor empregou-se o $\Delta H_{fusão}$ do índio metálico (28,7 $J.g^{-1}$). As curvas TG/DTG foram obtidas na faixa de temperatura entre 25 e 900°C, utilizando-se termobalança modelo TGA-50 da marca Shimadzu, sob atmosfera dinâmica de nitrogênio e em ar (50 $mL.min^{-1}$), razão de aquecimento de $10°C.min^{-1}$, utilizando cadinho de platina contendo massa de amostra em torno de 3 mg. Antes dos ensaios verificou-se a calibração do instrumento empregando-se uma amostra de oxalato de cálcio monoidratado conforme norma ASTM (1582 – 93).

O estudo cinético não-isotérmico foi realizado a partir do aquecimento das amostras até 900°C nas razões de aquecimento de 2,5 – 5,0 – 7,5 – 10 – $15°C.min^{-1}$, sob atmosfera dinâmica de ar e massa de amostra em torno de 4 mg. Para o tratamento dos dados usou-se o modelo proposto por Ozawa, para uma perda de massa definida em 5%, conforme programa de análise cinética desenvolvido pela Shimadzu.

Os dados de cinética utilizando o método isotérmico foram obtidos a partir das isotermas nas seguintes temperaturas: 170, 180, 190, 200 e 210°C, durante um tempo de 240 minutos. Para atingir a temperatura final foi utilizada uma razão de aquecimento de 40°C.min^{-1} até 10°C, antes da temperatura final, e 2°C.min^{-1} até a temperatura final da isoterma.

8.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

8.3.1 Dados de cromatografia líquida e estudo de estabilidade

O cromatograma representativo da amostra de AZT da solução padrão é mostrado na Figura 8.2. O AZT apresentou um tempo de retenção de 5-6 min, utilizando uma velocidade de escoamento da fase móvel de 1,0 mL por minuto e fase móvel contendo uma mistura de 40/60 (v/v) metanol/solução tampão fosfato pH 5,0.

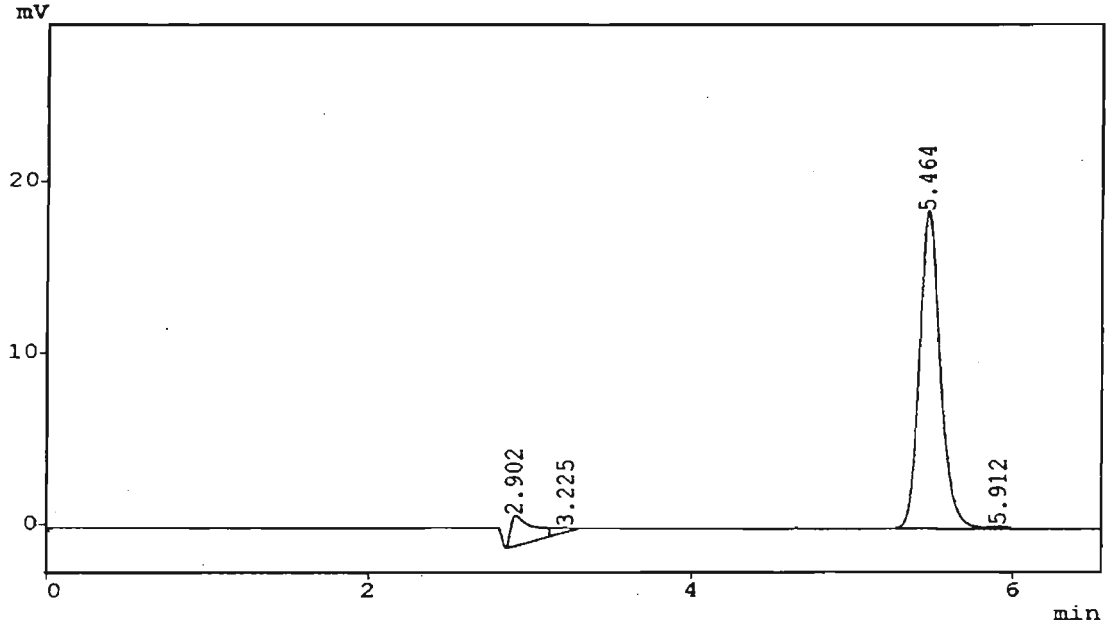


Figura 8.2 - Cromatograma representativo do AZT utilizando fase móvel contendo uma mistura de 40/60 (v/v) metanol/solução tampão fosfato pH 5,0

A curva de calibração mostrada na Figura 8.3 foi obtida a partir dos ensaios em triplicata em CLAE para soluções de AZT nas concentrações de 1,2 - 1,6 - 2,4 - 3,2 - 4,0 e 4,8 μg.mL^{-1} (Tabela

8.2) da fase móvel metanol/tampão fosfato (6:4) e apresentou coeficiente de correlação linear (R) igual a 0,99984.

Tabela 8.2 - Área média dos picos a partir dos ensaios (triplicata) em CLAE nas concentrações de 1,2 - 1,6 - 2,4 - 3,2 - 4,0 e 4,8 μg de AZT por mL

Concentração ($\mu g.mL^{-1}$)	Área média do pico
1,2	33427
1,6	43394
2,4	64298
3,2	85556
4,0	104999
4,8	126451

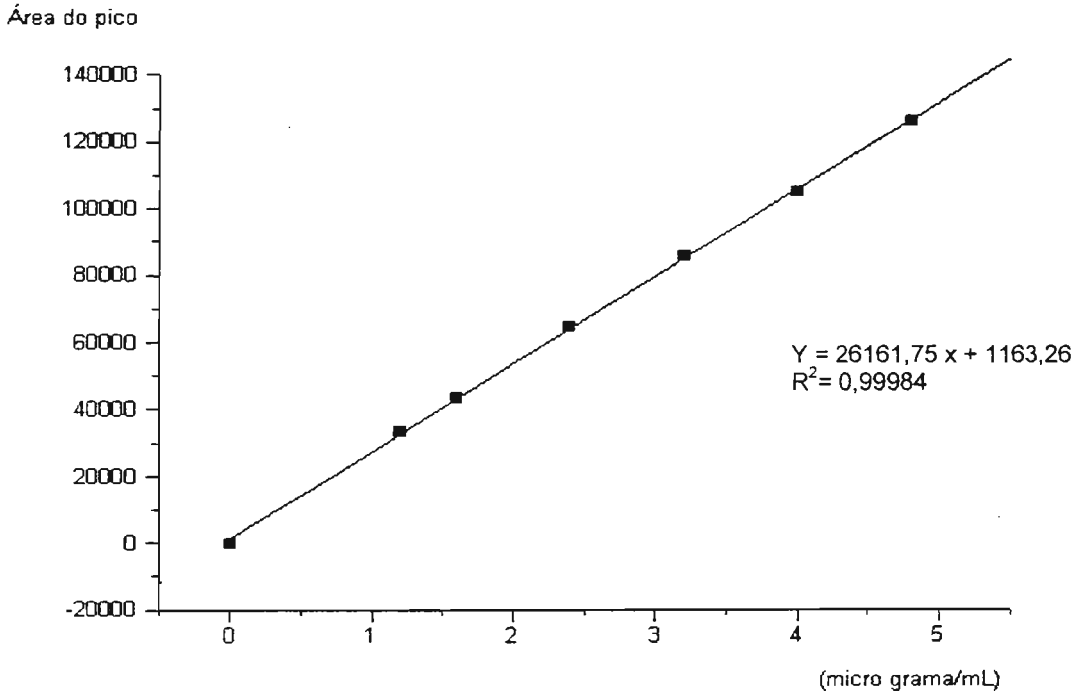


Figura 8.3 - Curva de calibração obtida a partir das soluções padrão de AZT nas concentrações de 1,2 a 4,8 $\mu g.mL^{-1}$, em fase móvel metanol/tampão fosfato pH 5,0 (4:6 v/v)

Os cromatogramas obtidos para os produtos comerciais A, B, C, D, E e R durante o estudo de estabilidade acelerada em relação aos tempos zero, 30, 60, 90 e 180 dias são apresentados nas Figuras 8.4 a 8.8, respectivamente. A Tabela 8.3 lista o teor médio de AZT/cápsula, em percentagem, para o produto de referência e para os demais produtos comerciais durante o estudo de estabilidade acelerada, empregando-se CLAE.

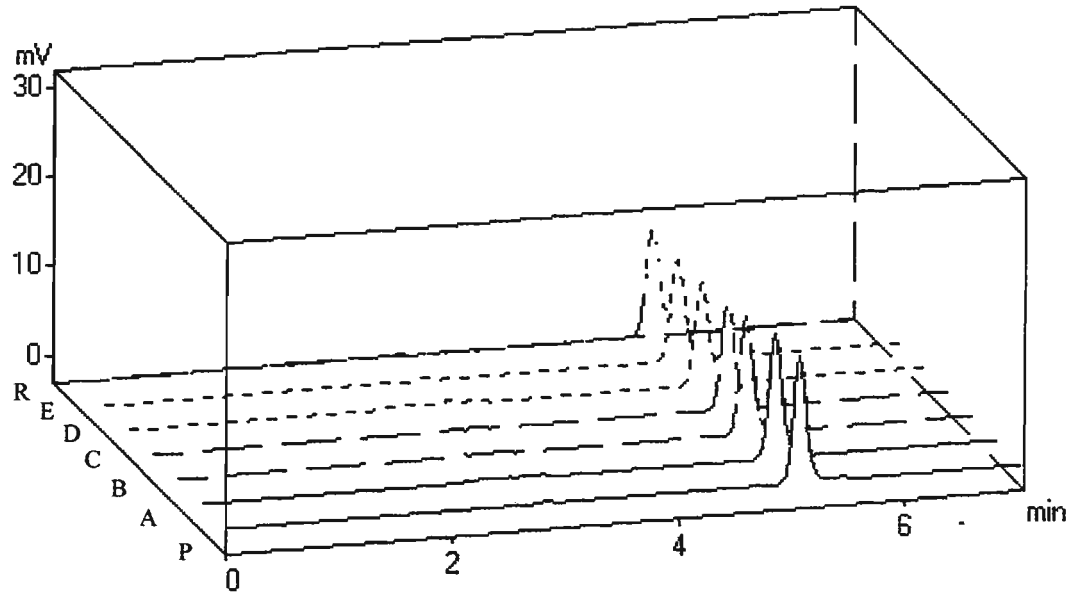


Figura 8.4 - Cromatogramas obtidos da solução-padrão de AZT (P) e das soluções amostras A, B, C, D, E e R, relativos ao tempo zero

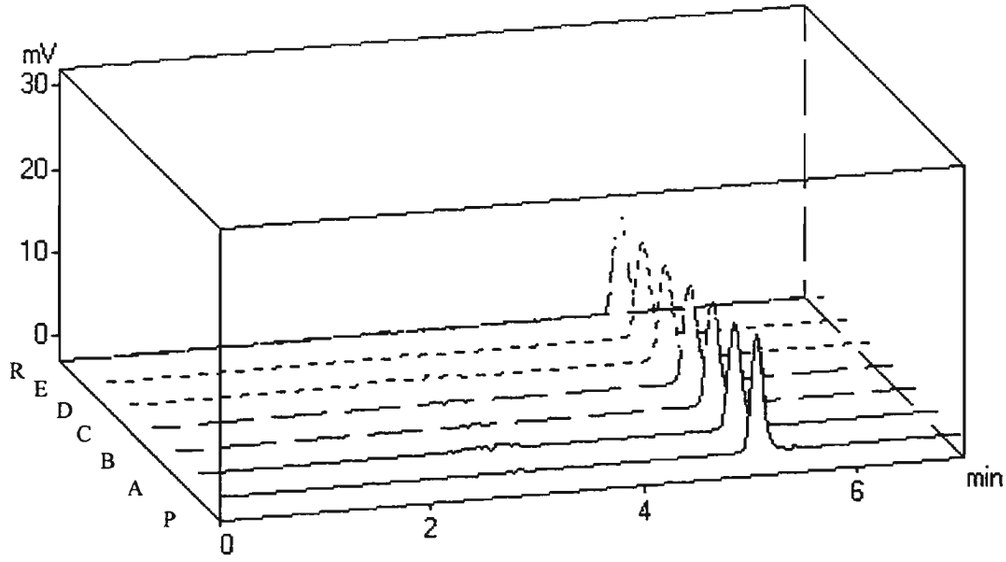


Figura 8.5 - Cromatogramas obtidos da solução-padrão de AZT (P) e das soluções amostras A, B, C, D, E e R, relativos ao tempo 30 dias

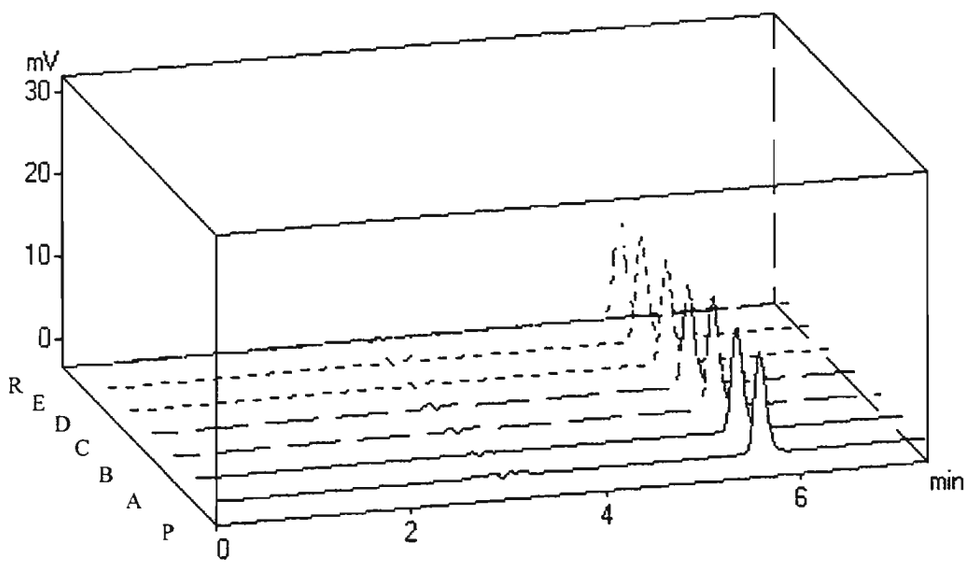


Figura 8.6 - Cromatogramas obtidos da solução-padrão de AZT (P) e das soluções amostras A, B, C, D, E e R, relativos ao tempo 60 dias

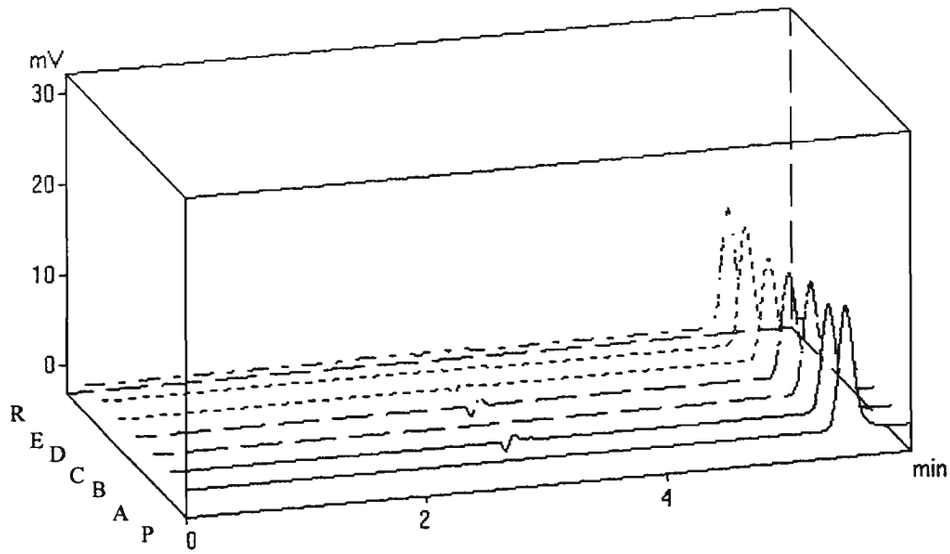


Figura 8.7 - Cromatogramas obtidos da solução-padrão de AZT (P) e das soluções das amostras A, B, C, D, E e R submetidas ao estudo de estabilidade acelerada (tempo=90 dias)

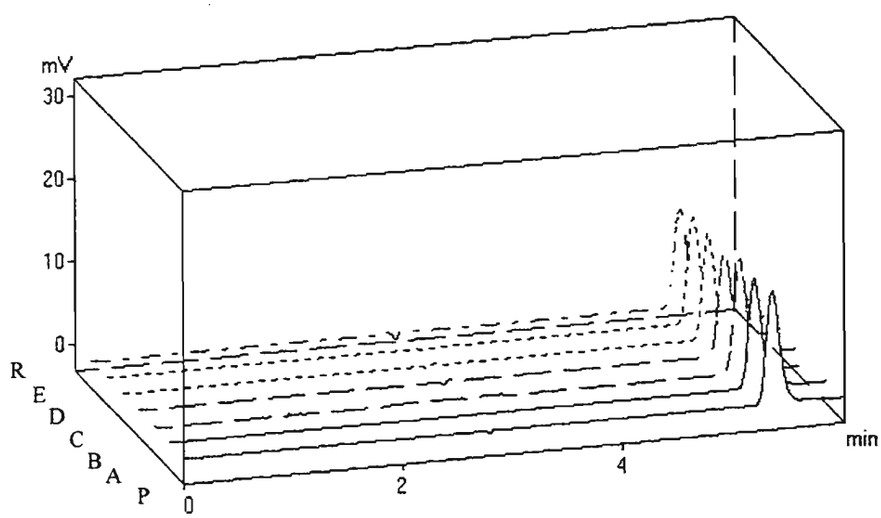


Figura 8.8 - Cromatogramas obtidos da solução-padrão de AZT (P) e das soluções das amostras A, B, C, D, E e R submetidas ao estudo de estabilidade acelerada (tempo=180 dias)

Tabela 8.3 - Teor médio de AZT/cápsula, em percentagem, para os produtos de referência e demais produtos comerciais durante o estudo de estabilidade acelerada (estufa climatizada, temperatura de 40 ± 2°C, umidade relativa de 75 ± 5%, durante seis meses) empregando-se CLAE

Tempo (Dias)	Produto A (%)	Produto B (%)	Produto C (%)	Produto D (%)	Produto E (%)	Produto R (%)
Zero	101,7	102,4	96,8	99,5	95,4	99,7
30	99,3	99,2	92,4	96,7	92,5	97,0
60	96,6	97,8	92,2	96,8	91,9	95,3
90	95,8	95,3	91,5	95,4	91,8	94,9
180	94,7	94,9	91,1	94,0	89,6	94,5

Os cromatogramas obtidos em relação aos tempos 0, 90, 180, 270 e 360 dias para o estudo de estabilidade a longo prazo são apresentados nas Figuras 8.9 a 8.13. A Tabela 8.4 lista o teor médio de AZT/cápsula, em percentagem, para o produto de referência e para os demais produtos comerciais durante o estudo de estabilidade a longo prazo (0, 30, 60, 90 e 180 dias), empregando-se CLAE.

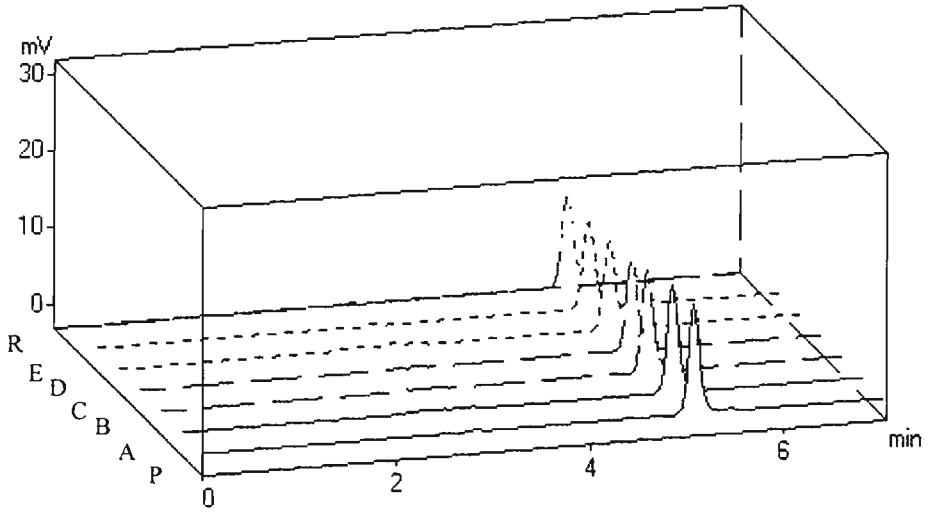


Figura 8.9 - Cromatogramas obtidos da solução-padrão de AZT (P) e das soluções das amostras A, B, C, D, E e R, submetidas ao estudo de estabilidade a longo prazo (tempo zero)

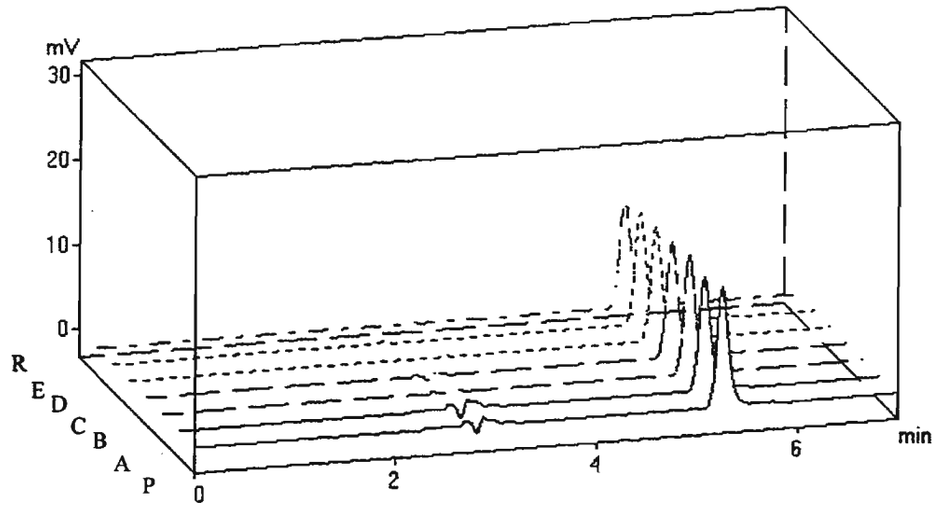


Figura 8.10 - Cromatogramas da solução-padrão de AZT (P) e das soluções das amostras A, B, C, D, E e R, submetidas ao estudo de estabilidade a longo prazo (tempo=90 dias)

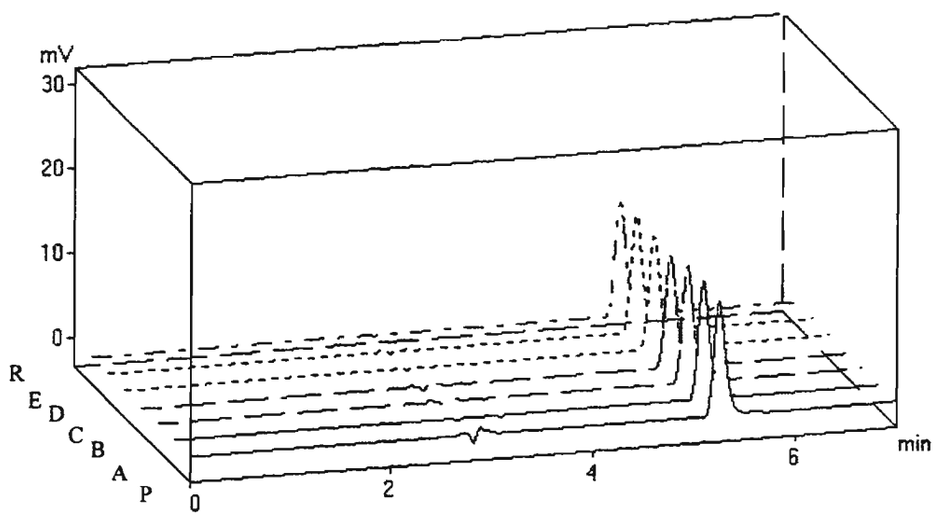


Figura 8.11 - Cromatogramas da solução-padrão de AZT (P) e das soluções das amostras A, B, C, D, E e R, submetidas ao estudo de estabilidade a longo prazo (tempo=180 dias)

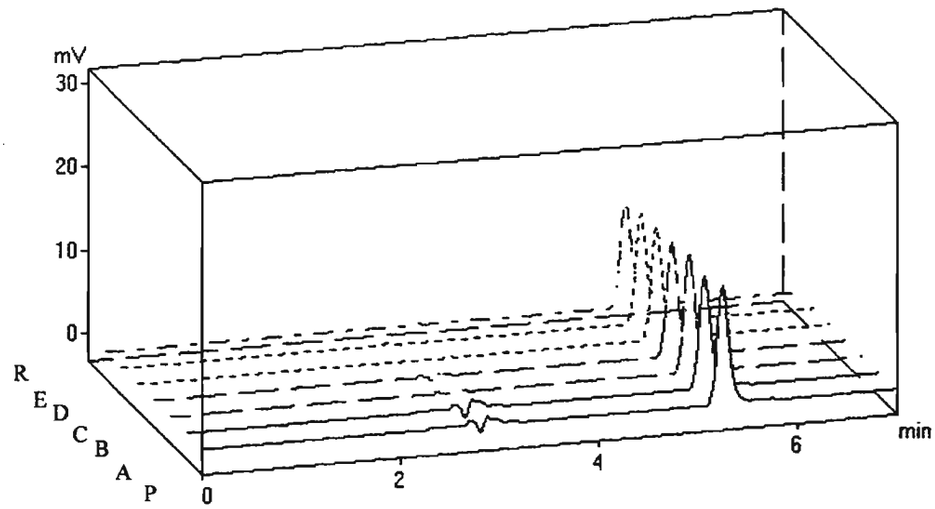


Figura 8.12 - Cromatogramas da solução-padrão de AZT (P) e das soluções das amostras A, B, C, D, E e R, submetidas ao estudo de estabilidade a longo prazo (tempo=270 dias)

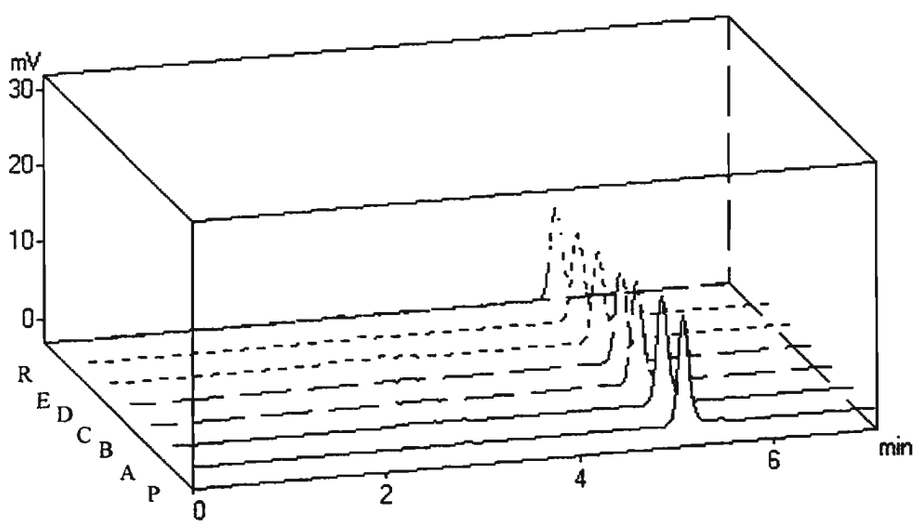


Figura 8.13 - Cromatogramas da solução-padrão de AZT (P) e das soluções das amostras A, B, C, D, E e R, submetidas ao estudo de estabilidade a longo prazo (tempo=360 dias)

Tabela 8.4 - Teor médio de AZT (cápsula) em percentagem para o produtos de referência e demais produtos comerciais durante o estudo de estabilidade a longo prazo (estufa climatizada, temperatura de 30 ± 2°C, umidade relativa de 75 ± 5%, durante um ano) utilizando CLAE

Tempo (Dias)	Produto A (%)	Produto B (%)	Produto C (%)	Produto D (%)	Produto E (%)	Produto R (%)
Zero	101,7	102,4	96,8	99,5	95,4	99,7
90	96,0	98,4	94,1	97,8	92,2	97,1
180	95,6	95,3	93,0	96,5	90,2	95,8
270	94,7	95,0	92,2	96,3	88,8	94,5
360	94,0	94,5	92,0	95,7	87,2	93,7

8.3.2 Avaliação do peso médio dos conteúdos das cápsulas de AZT

Sabendo-se que a determinação do peso médio é uma das verificações previstas pelos compêndios oficiais como parâmetro de avaliação do controle de qualidade de ensaios com cápsulas, foram realizadas determinações em triplicatas para avaliação do peso médio do produto inicial e durante os estudos de estabilidade acelerada e a longo prazo. A técnica seguida pela maioria das farmacopéias consiste em apreciar a variação de peso de um número de cápsulas igual ou superior a 10. Assim, determina-se o peso médio e verificam-se se os afastamentos encontrados se enquadram em limites previamente estabelecidos. Segundo a Farmacopéia Brasileira 4ª. edição (1988), para a quantidade de grânulos contidos nas cápsulas, a variação permitida é de 90 a 110%.

A Tabela 8.5 apresenta os pesos médios e os desvios-padrão dos conteúdos por cápsulas para os produtos A, B, C, D, E e R. De acordo com os resultados obtidos é possível afirmar que nenhuma das amostras excedeu o limite máximo de 10%, estando assim dentro das especificações exigidas pela Farmacopéia Brasileira.

Tabela 8.5 - Peso médio (n=10) do conteúdo das cápsulas (grânulos em mg) para os produtos de referência e demais produtos comerciais

TEMPO (Dias)	Produto A	Produto B	Produto C	Produto D	Produto E	Produto R
Zero	182,72 ± 4,5	172,71 ± 5,8	167,78 ± 3,8	240,32 ± 7,3	168,12 ± 7,1	231,76 ± 2,8

Os resultados da determinação do peso médio do conteúdo por cápsulas para o estudo de estabilidade acelerada e a longo prazo são apresentados nas Tabelas 8.6 e 8.7 e Figuras 8.14 e 8.15, respectivamente. De acordo com esses resultados pode-se constatar que nenhum dos produtos diferiu do peso médio em mais de 10%.

Tabela 8.6 - Peso médio (n=10) do conteúdo das cápsulas (grânulos em mg) para os produtos de referência e demais produtos comerciais durante o estudo de estabilidade acelerada

TEMPO (Dias)	Produto A	Produto B	Produto C	Produto D	Produto E	Produto R
Zero	182,72 ± 4,5	172,71 ± 5,8	167,78 ± 3,8	240,32 ± 7,3	168,12 ± 7,1	231,76 ± 2,8
30	189,61 ± 1,6	170,80 ± 3,1	174,74 ± 4,5	238,32 ± 7,2	174,06 ± 7,5	228,88 ± 0,9
60	180,97 ± 7,2	168,34 ± 11	167,35 ± 4,2	248,08 ± 8,0	175,73 ± 6,6	227,30 ± 1,9
90	179,27 ± 4,9	170,66 ± 3,5	169,05 ± 2,8	241,07 ± 6,7	171,27 ± 7,2	224,93 ± 5,7
180	180,97 ± 4,0	169,36 ± 2,7	168,82 ± 2,4	242,96 ± 9,8	179,59 ± 2,4	226,18 ± 2,8

Tabela 8.7 - Peso médio (n=10) do conteúdo das cápsulas (grânulos em mg) para o produtos de referência e demais produtos comerciais durante o estudo de estabilidade a longo prazo

Tempo (Dias)	Produto A	Produto B	Produto C	Produto D	Produto E	Produto R
Zero	182,72 ± 4,5	172,71 ± 5,8	167,78 ± 3,8	240,32 ± 7,3	168,12 ± 7,1	231,76 ± 2,8
90	180,99 ± 4,0	170,48 ± 3,7	171,77 ± 4,8	246,79 ± 5,6	170,97 ± 6,6	228,68 ± 6,3
180	180,96 ± 4,1	170,13 ± 1,8	168,31 ± 3,5	244,41 ± 6,4	180,01 ± 5,5	226,55 ± 4,4
270	182,66 ± 3,3	172,92 ± 1,3	171,74 ± 3,2	245,22 ± 6.0	174,96 ± 4,5	227,55 ± 1,8
360	184,85 ± 4,6	167,86 ± 3,4	167,69 ± 3,6	241,79 ± 9,3	169,50 ± 7,0	227,30 ± 2,9

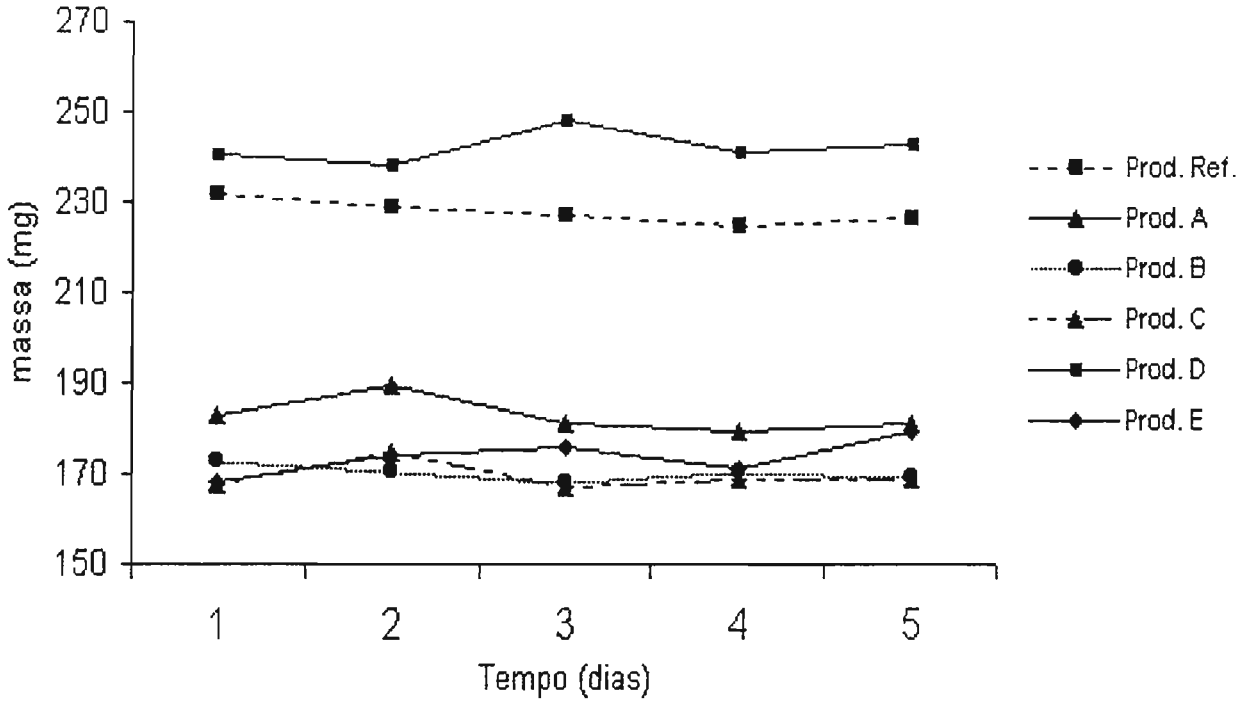


Figura 8.14 - Peso médio (n=10) das cápsulas de AZT durante o estudo de estabilidade acelerada

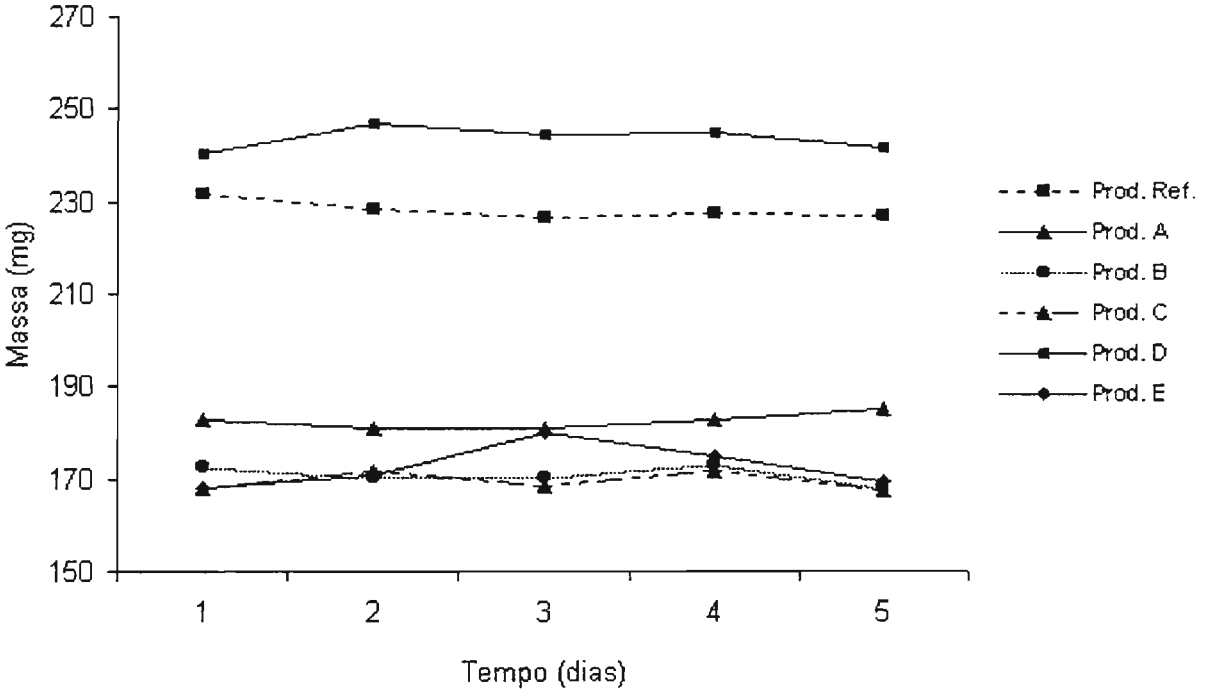


Figura 8.15 - Peso médio (n=10) das cápsulas de AZT durante o estudo de estabilidade a longo prazo

8.3.3 Avaliação do perfil termoanalítico por DSC e TG/DTG

As curvas TG/DTG do produto A, Fig. 8.16, evidenciaram quatro eventos de perda de massa nas seguintes faixas de temperatura e percentuais de perda: 25-100°C (Δm= 2,4%), 183-270°C (Δm= 19,8%), 270-390°C (Δm= 44,2%) e 390-630 (Δm= 31,5%). Esses eventos representam, respectivamente, a liberação de água superficial, o processo de decomposição térmica (dividido em duas etapas), seguido da eliminação de material carbonáceo. Os resultados obtidos por TG são corroborados pela curva DSC (Fig. 8.16), onde pode-se evidenciar um primeiro evento endotérmico na faixa de temperatura entre 25 e 105°C, característico da eliminação de água de umidade. Posteriormente a esse evento é observado um pico endotérmico na T_{onset} de 121,1°C (ΔH= 57 $J.g^{-1}$), característico da fusão do AZT. O processo de decomposição térmica é acompanhado, também, por DSC é dividido em duas etapas nas faixas de temperatura de 180-265°C e 265-350°C, sendo o primeiro evento exotérmico e o segundo endotérmico.

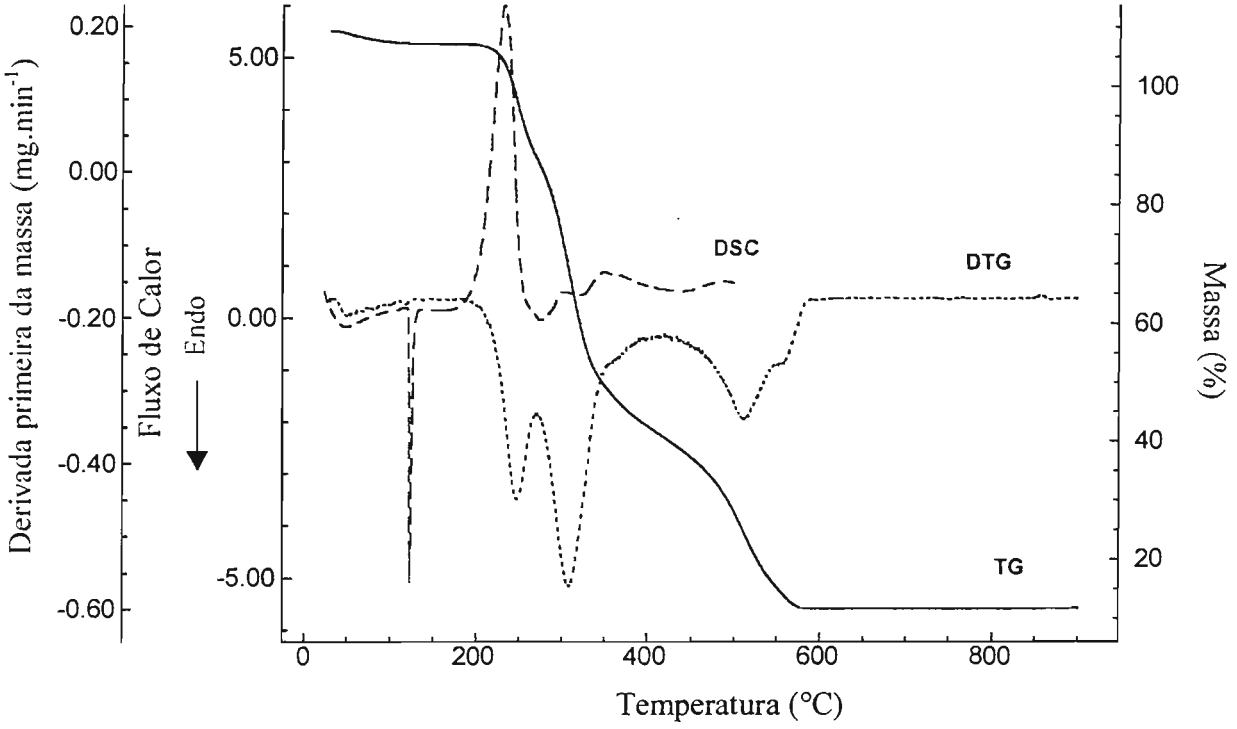


Figura 8.16 - Curvas termoanalíticas do produto A obtidas em atmosfera dinâmica de ar (TG/DTG) e N_2 (DSC) (50 $mL.min^{-1}$) na razão de aquecimento de 10°$C.min^{-1}$

A Figura 8.17 mostra as curvas TG/DTG e DSC do produto B. De acordo com as curvas TG/DTG é possível observar cinco eventos de perda de massa nas seguintes faixas de temperatura e percentuais de perda: 25-120°C (Δm= 2,1%), 180-265°C (Δm= 18,8%), 265-325°C (Δm= 27,9%), 325-400°C(Δm= 19,3%) e 400-600°C (Δm= 28,9%). Os eventos térmicos representam a liberação de água superficial, o processo de decomposição térmica (dividido em três etapas), seguido da eliminação de material carbonáceo. A curva DSC do Produto B mostra um primeiro evento endotérmico entre 25 e 100°C, característico da eliminação de água de umidade, seguido de um evento endotérmico T_{onset} 120,01°C (ΔH= 63 $J.g^{-1}$), indicativo da fusão do AZT. A decomposição térmica do produto B, por DSC, mostrou também três eventos, sendo o primeiro exotérmico, seguido de um evento endotérmico e por fim um outro evento exotérmico. Esses eventos acontecem nas seguintes faixas de temperatura: 180-260°C, 260-320°C e 320-390°C, respectivamente.

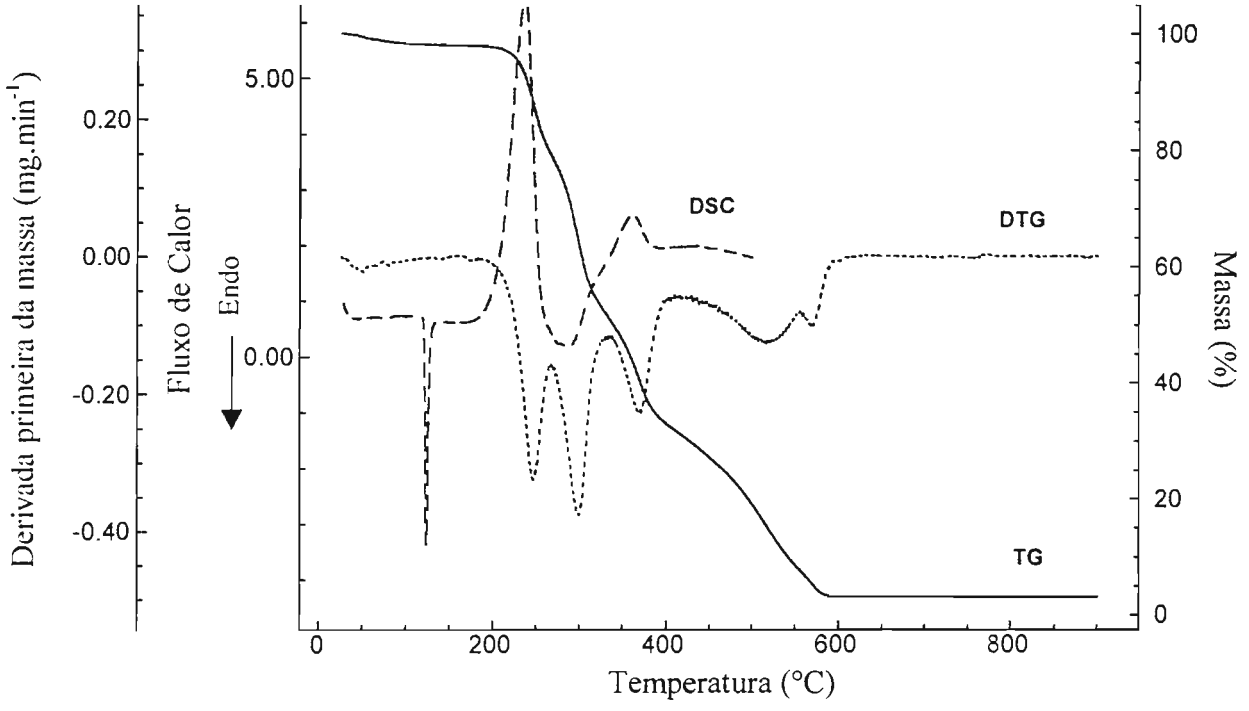


Figura 8.17 - Curvas termoanalíticas do produto B obtidas em atmosfera dinâmica de ar (TG/DTG) e N_2 (DSC) (50 $mL.min^{-1}$) na razão de aquecimento de 10°$C.min^{-1}$

O produto C apresentou um processo de decomposição térmica dividido em cinco etapas, como mostra as curvas TG/DTG e DSC apresentadas na Figura 8.18. Os eventos de perda de massa ocorrem nas seguintes faixas de temperatura e percentuais de perda: 25-110°C (Δm= 1,0%), representativo da eliminação de água de umidade, 195-265°C (Δm= 18,0%), 265-330°C (Δm= 23,3%), 330-400°C (Δm= 20,2%), da decomposição térmica, e 400-610°C (Δm= 28,6%) da eliminação de material carbonáceo. Observando a curva DSC do Produto C é possível evidenciar um primeiro evento endotérmico característico da eliminação de água de umidade, seguido por um pico endotérmico *Tonset* = 120,58°C (ΔH= 59 $J.g^{-1}$), característico da fusão do AZT. A decomposição térmica do produto C acompanhada por DSC mostrou também três eventos, sendo o primeiro exotérmico, seguido de um evento endotérmico e por fim um outro evento exotérmico. Esses eventos acontecem nas seguintes faixas de temperatura: 180-260°C, 260-325°C e 325-390°C, respectivamente.

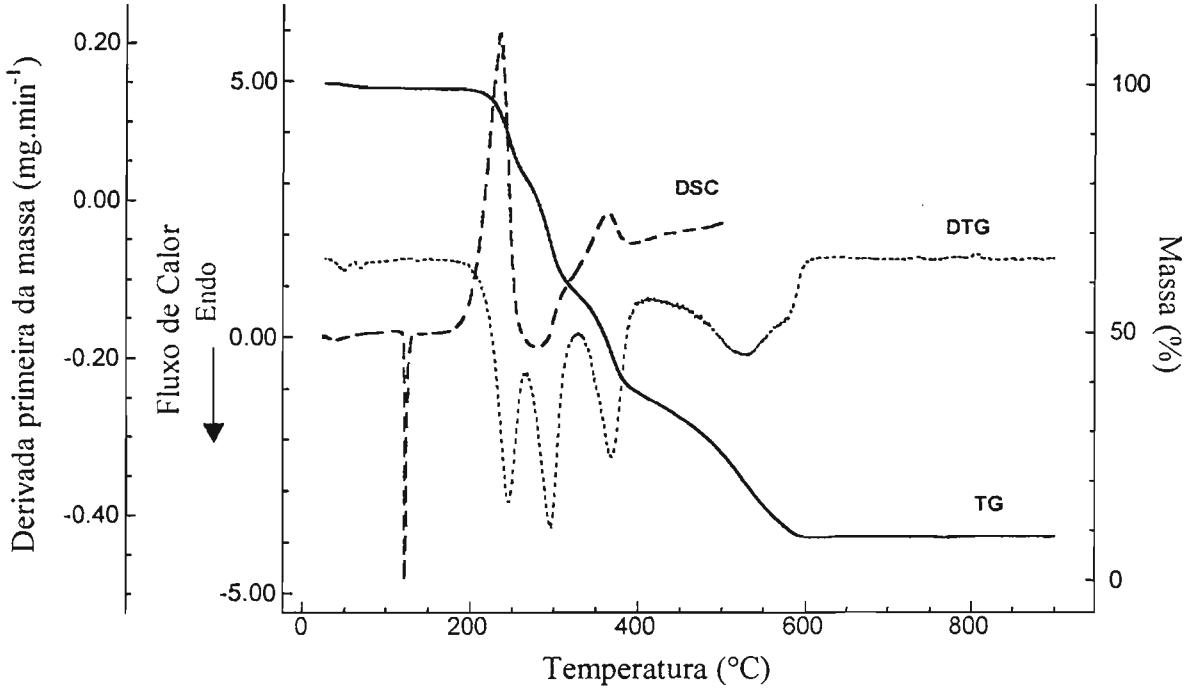


Figura 8.18 - Curvas termoanalíticas do produto C obtidas em atmosfera dinâmica de ar (TG/DTG) e N_2 (DSC) (50 $mL.min^{-1}$) na razão de aquecimento de 10°$C.min^{-1}$

As curvas TG/DTG do produto D, mostradas na Figura 8.19, evidenciaram um processo de decomposição térmica dividido em seis etapas de perda de massa, nas seguintes faixas de temperatura e percentuais de perda: 25-100°C (Δm= 1,6%), 110-165°C (Δm= 1,4%), 190-270°C (Δm= 28,7%), 270-310°C (Δm= 14,8%), 310-390°C (Δm= 20,4%) e 390-600°C (Δm= 26,1%). Esses eventos podem ser atribuídos à liberação de água superficial, processo de decomposição térmica (dividido em quatro etapas) e à eliminação de material carbonáceo. Os resultados obtidos por TG/DTG foram corroborados pela curva DSC, onde se pode evidenciar um primeiro evento endotérmico na faixa de temperatura entre 25 e 100°C, característico da eliminação de água de umidade. Posteriormente a esse evento é observado um pico endotérmico T_{onset} 119,1°C, característico da fusão do AZT. Após a fusão do fármaco é observado um segundo evento endotérmico T_{pico} = 141,7°C, que deve estar relacionado à decomposição térmica de algum dos excipientes utilizados na formulação do Produto D, uma vez que também apresenta perda de massa. O processo de decomposição térmica por DSC mostrou dois eventos exotérmicos nas faixas de temperatura de 200-290°C e 290-500°C.

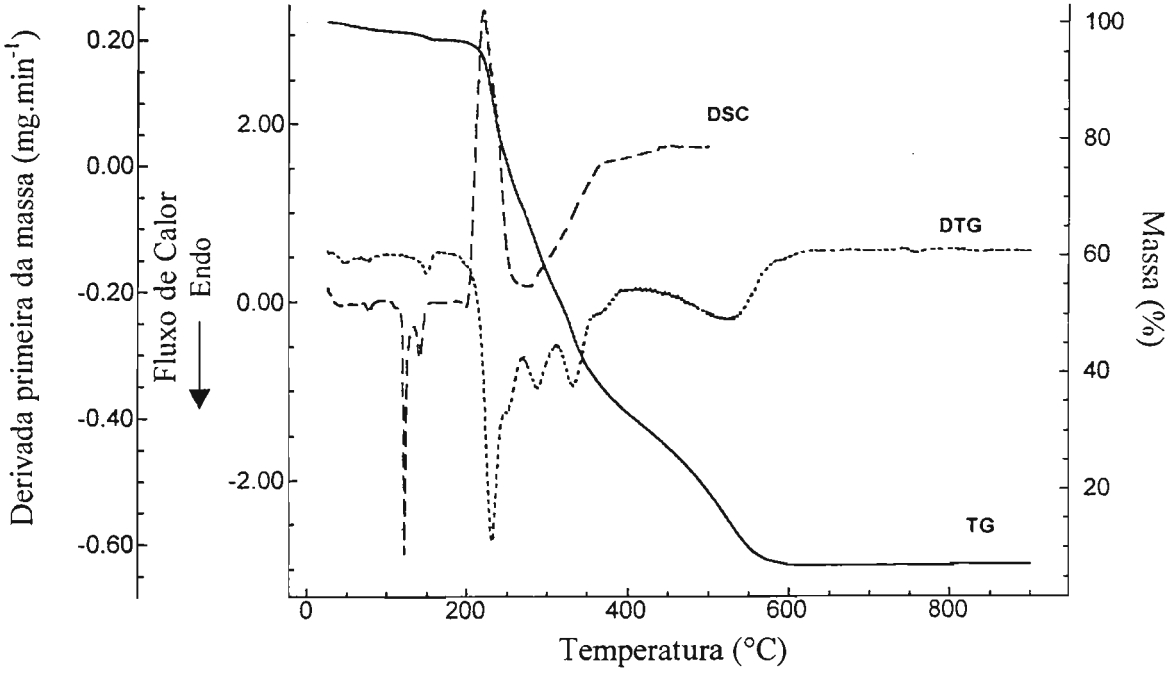


Figura 8.19 - Curvas termoanalíticas do produto D obtidas em atmosfera dinâmica de ar (TG/DTG) e N_2 (DSC) (50 mL.min^{-1}) na razão de aquecimento de 10°C.min^{-1}

A Figura 8.20 mostra as curvas TG/DTG e DSC do produto E. Observando as curvas TG/DTG podem ser evidenciados cinco eventos de perda de massa nas seguintes faixas de temperatura e percentuais de perda: 25-80°C (Δm= 0,8%), 195-265°C (Δm= 18,18%), 265-330°C (Δm= 25,60%), 330-400°C (Δm= 20,13%) e 400-600°C (Δm= 29,05%). Esses eventos são característicos dos seguintes processos: liberação de água superficial, decomposição térmica (dividido em três etapas) e eliminação de material carbonáceo. A curva DSC para o Produto E mostrou um primeiro evento endotérmico na faixa de temperatura entre 25 e 70°C, característico da eliminação de água de umidade. Posteriormente é observado o pico de fusão do AZT na T_{onset} de 120,7, seguido pela decomposição térmica do material, nas seguintes faixas de temperatura: 180-270°C (exotérmico), 260-300°C (endotérmico) e 300-450°C (exotérmico).

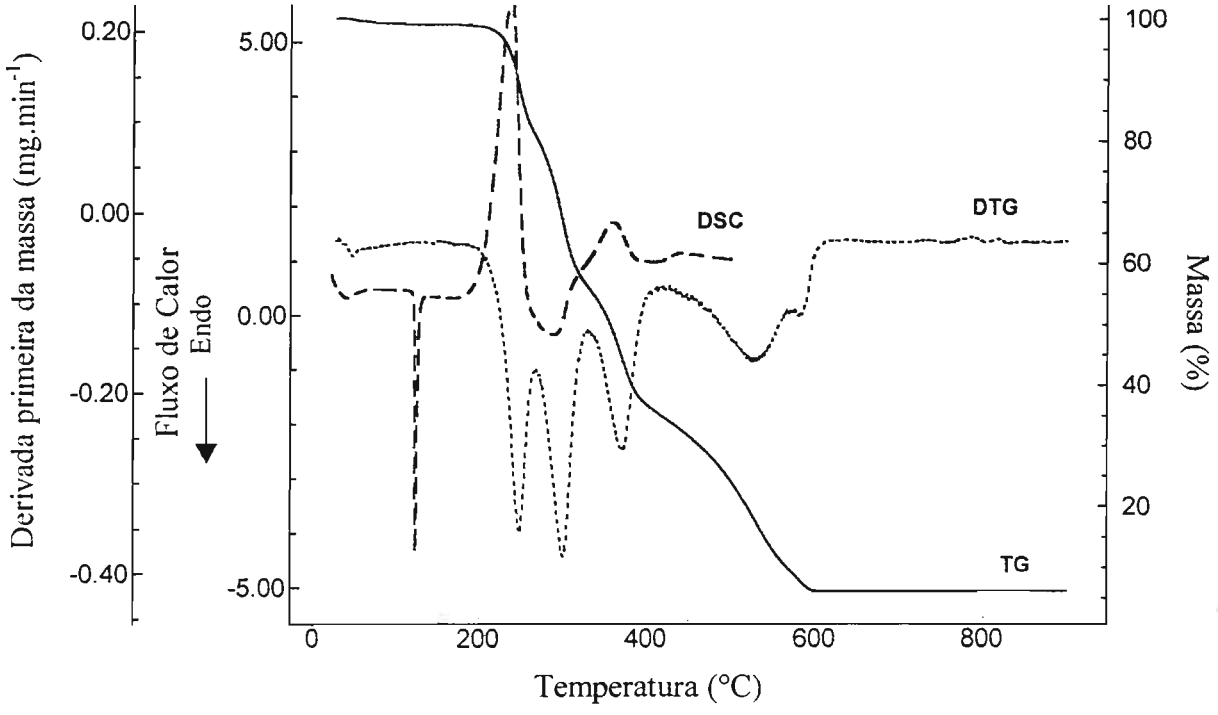


Figura 8.20 - Curvas termoanalíticas do produto E obtidas em atmosfera dinâmica de ar (TG/DTG) e N_2 (DSC) (50 mL.min^{-1}) na razão de aquecimento de 10°C.min^{-1}

O perfil termoanalítico apresentado pelo Produto R (Figura 8.21) mostra, de acordo com as curvas TG/DTG, um processo de decomposição térmica dividido em 5 etapas. Essas etapas ocorrem nas seguintes faixas de temperatura e percentuais de perda: 25-130°C (Δm= 3,67%), 195-270°C

(Δm= 15,9%), 270-350°C (Δm= 38,8%), 350-400°C (Δm= 10,4%) e 400-590°C (Δm= 29,7%). Os eventos térmicos observados pelas curvas TG/DTG podem ser atribuídos à eliminação de água superficial e a decomposição térmica com eliminação de material carbonáceo. A curva DSC do produto R mostra um primeiro evento endotérmico na faixa de temperatura entre 25 e 110°C, característico da eliminação de água de umidade. Posteriormente é observado o pico de fusão do AZT na T_{onset} de 121,2°C, seguido pela decomposição térmica do material nas seguintes faixas de temperatura: 175-270°C (exotérmico), 270-305°C (endotérmico) e 305-450°C (exotérmico).

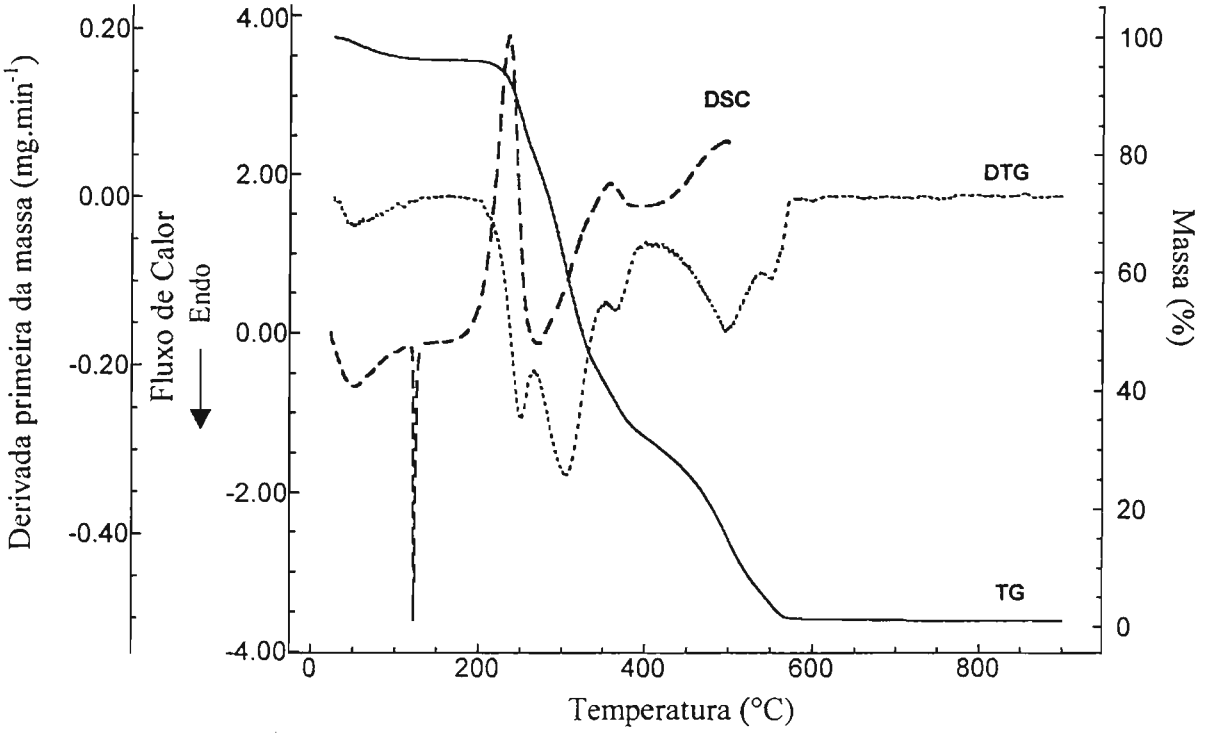


Figura 8.21 - Curvas termoanalíticas do produto F obtidas em atmosfera dinâmica de ar (TG/DTG) e N_2 (DSC) (50 mL.min^{-1}) na razão de aquecimento de 10°C.min^{-1}

Observando-se apenas as curvas TG, apresentada na Figura 8.22, não é possível fazer grandes distinções ou diferença entre o perfil termoanalítico para cada amostra comercial. No entanto, utilizando o recurso matemático da derivada primeira da curva TG ou, simplesmente DTG, tornam-se evidentes as características de cada amostra, como mostra a Figura 8.23. Pode-se observar que o comportamento térmico das amostras B, C e E é bastante próximo, indicando que as mesmas apresentam basicamente os mesmos constituintes em sua formulação. O mesmo acontece para os

produtos A e R, que mostram basicamente duas etapas de decomposição térmica seguidas de carbonização. Pode-se observar, ainda, que produto D apresenta uma formulação diferenciada em relação às demais amostras comerciais.

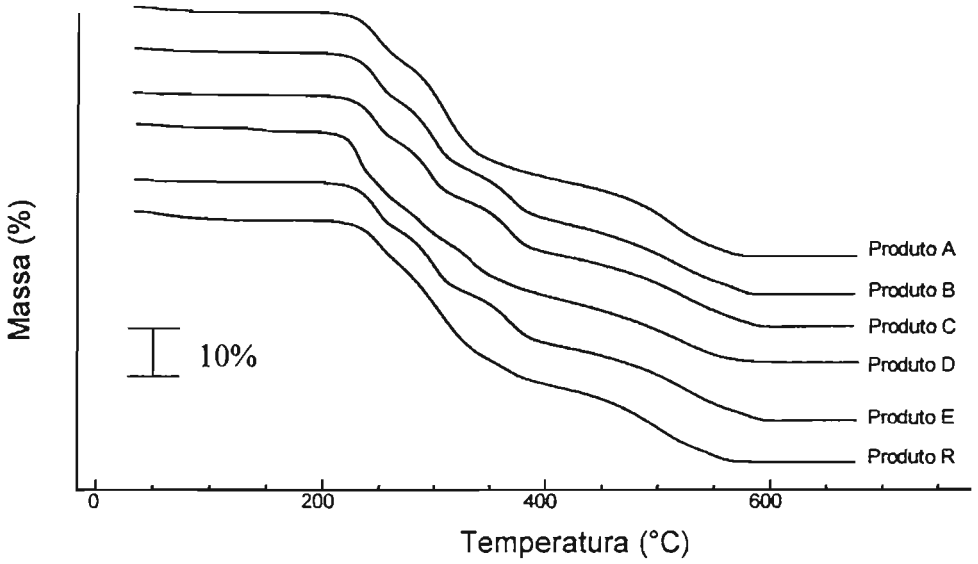


Figura 8.22- Curvas TG de amostras comerciais de AZT (cápsulas 100 mg) obtidas em razão de aquecimento de 2°C.min^{-1} e atmosfera dinâmica de ar (50 mL.min^{-1})

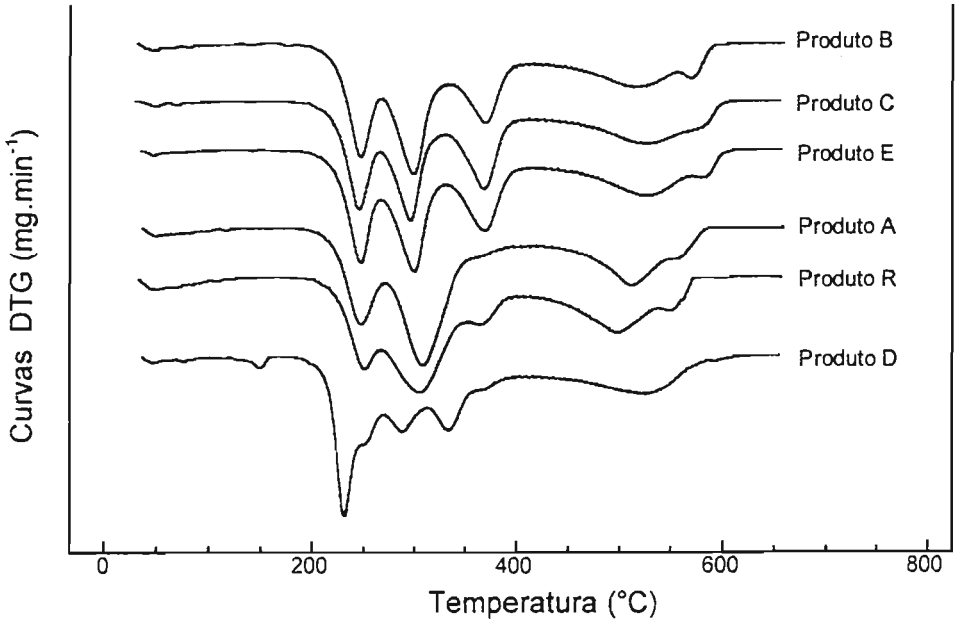


Figura 8.23 - Curvas DTG de amostras comerciais de AZT (cápsulas 100 mg) obtidas em razão de aquecimento de 10°C.min^{-1} e atmosfera dinâmica de ar (50 mL.min^{-1})

8.3.4. Determinação dos parâmetros cinéticos da decomposição térmica

8.3.4.1 Método não-isotérmico ou dinâmico

Para que as constantes de velocidade ou, a velocidade de degradação possam ser usadas na formulação de preparações farmacêuticas é necessário avaliar-se o efeito da temperatura sobre a reação. A cinética de reação estimulada termicamente é normalmente estudada sob condições de aquecimento isotérmico e/ou não-isotérmico (dinâmico). WENDLANDT, 1986, classificou os métodos de dados cinéticos não-isotérmicos como sendo métodos diferenciais, métodos integrais e métodos aproximativos.

De acordo com OZAWA, 1965, vários são os métodos propostos para obtenção de parâmetros cinéticos de dados termogravimétricos. Existe uma variedade de relações com modelos particulares nas formas diferencial e integral. Particularmente, o método descrito por OZAWA é baseado em cálculos integrais a partir da equação de Arrhenius.

$$k(T) = A.e^{-E/RT} \qquad \text{(Equação 8.1)}$$

em que A representa o fator freqüência, E a energia de ativação, R a constante geral dos gases (1,987 cal.grau^{-1}.mol^{-1})e T a temperatura absoluta.

Em análise térmica, a temperatura (T) é uma função do tempo (t), e geralmente, a relação dT/dt = β (constante) é verdadeira, onde β é a razão de aquecimento (°C/min). Por outro lado, se a expressão (8.1) é separada por variáveis x e t, a seguinte expressão pode ser obtida.

$$\int_{x_0}^{x_1} \frac{dx}{f(\alpha)} = \int_{t_0}^{t_1} A \exp\left(-\frac{\Delta E}{RT}\right) dt \qquad \text{(Equação 8.2)}$$

Com relação à equação de Ozawa, a resolução da equação pode ser apresentada da seguinte forma:

$$g(\alpha) = \int_0^1 \frac{dx}{f(x)} = \frac{A}{\beta} \int_{T_0}^{T} \exp\left(-\frac{\Delta E}{RT}\right) dt \qquad \text{(Equação 8.3)}$$

em que E representa a energia de ativação, R a constante geral dos gases, dT a variação de temperatura e T a temperatura absoluta.

As variáveis desconhecidas são A, Ea e a forma de $f(\alpha)$ ou de $g(\alpha)$, que devem ser determinados a partir de dados experimentais. Usando deste formalismo, a cinética da reação global fica completamente especificada por três partes de informação: o modelo da reação [$f(\alpha)$ ou de $g(\alpha)$] e os dois parâmetros de Arrhenius (A e Ea), sendo denominados por triplete cinético.

O termo pré-exponencial ou fato freqüência, A, fornece uma medida da freqüência de ocorrência de uma situação da reação, usualmente considerando como um fator intrínseco a freqüência de vibração na coordenada de reação. A energia de ativação, Ea, é descrita como a barreira de energia requerida para converter reagentes em produtos. A ordem da reação pode ser definida como a variação da velocidade da reação com a concentração dos reagentes. Para a maioria dos casos, a degradação das substâncias ocorre de acordo com reações de ordem zero, primeira ordem, ou pseudoprimeira ordem, mesmo que muitas das substâncias se degradem por mecanismos mais complexos.

Os gráficos apresentados nas Figuras 8.24 a 8.29 mostram o processo de obtenção do triplete cinético, utilizando o modelo proposto por OZAWA conforme programa de análise cinética desenvolvido pela Shimadzu. Os dados foram obtidos a partir do aquecimento das amostras até 900°C nas razões de aquecimento de 2,5 – 5,0 – 7,5 – 10 – 15°C.min^{-1}, sob atmosfera dinâmica de ar. São apresentadas também as curvas para determinação da energia de ativação da amostra comercial de AZT, que relaciona o logaritmo da razão de aquecimento com o inverso da temperatura. Isto possibilita a obtenção das conversões para o fenômeno de decomposição da referida amostra. O mecanismo da reação é definido pela relação entre a massa residual da amostra pelo tempo reduzido.

Os resultados obtidos mostraram que os valores de energia de ativação para a primeira etapa de perda de massa referente a decomposição térmica das amostras de AZT estão entre 120 e 142 kJ.mol^{-1} (Tabela 8.8). A proposta para o fenômeno relacionado com o processo de decomposição térmica sugere uma reação de ordem zero para o fármaco em questão, uma vez que nesta situação os valores experimentais apresentam melhor correlação com a curva teórica.

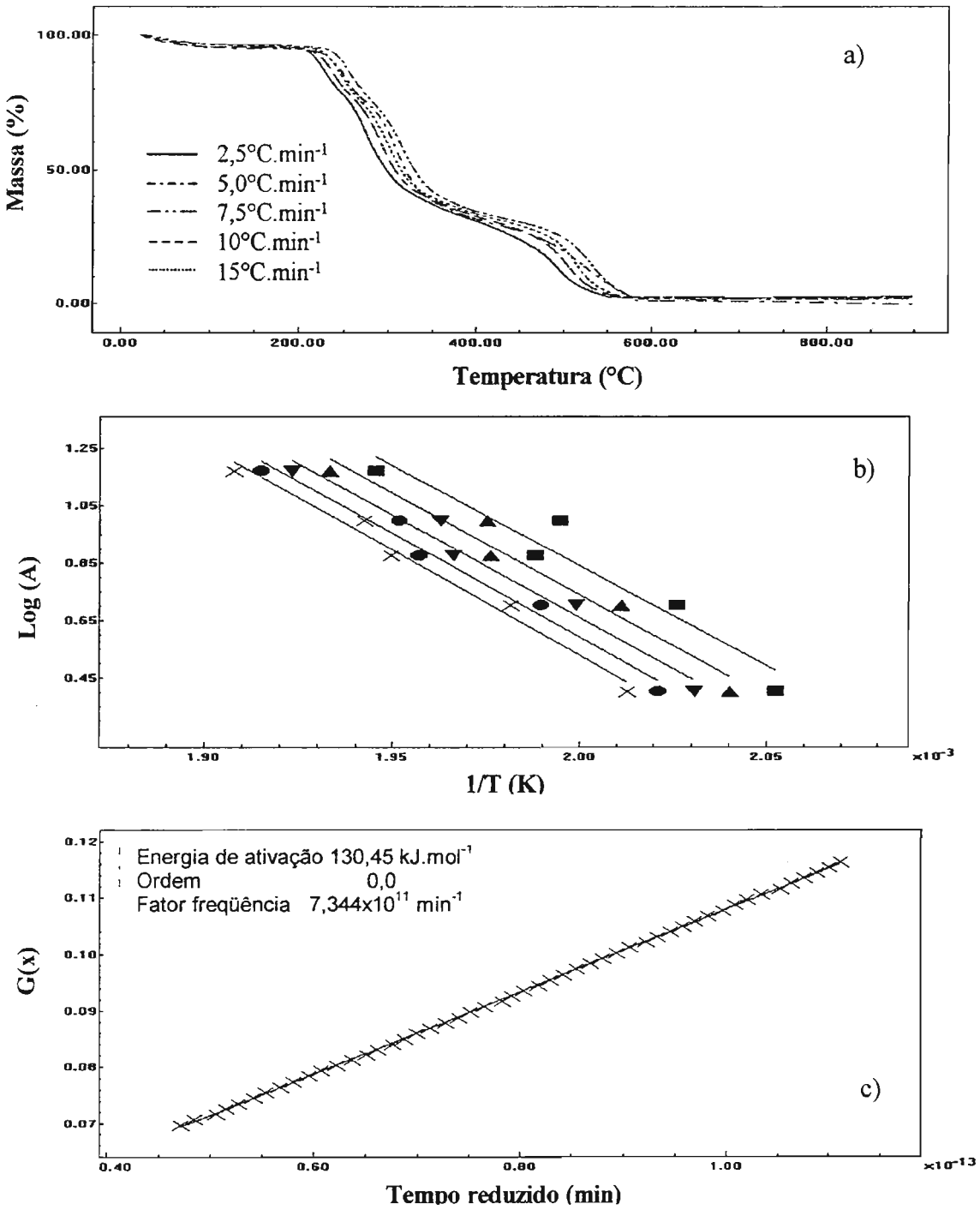


Figura 8.24 -

a) Curvas TG do AZT (produto A) em atmosfera dinâmica de ar (50 mL.min^{-1}), razões de aquecimento de 2,5 – 5 – 7,5 – 10 e 15 °C.min^{-1}, massa de ~ 4 mg e cadinho de platina.

b) Curva do logaritmo da razão de aquecimento em função do inverso da temperatura.

c) Gráfico da função G(x) do inverso da temperatura para o AZT (produto A).

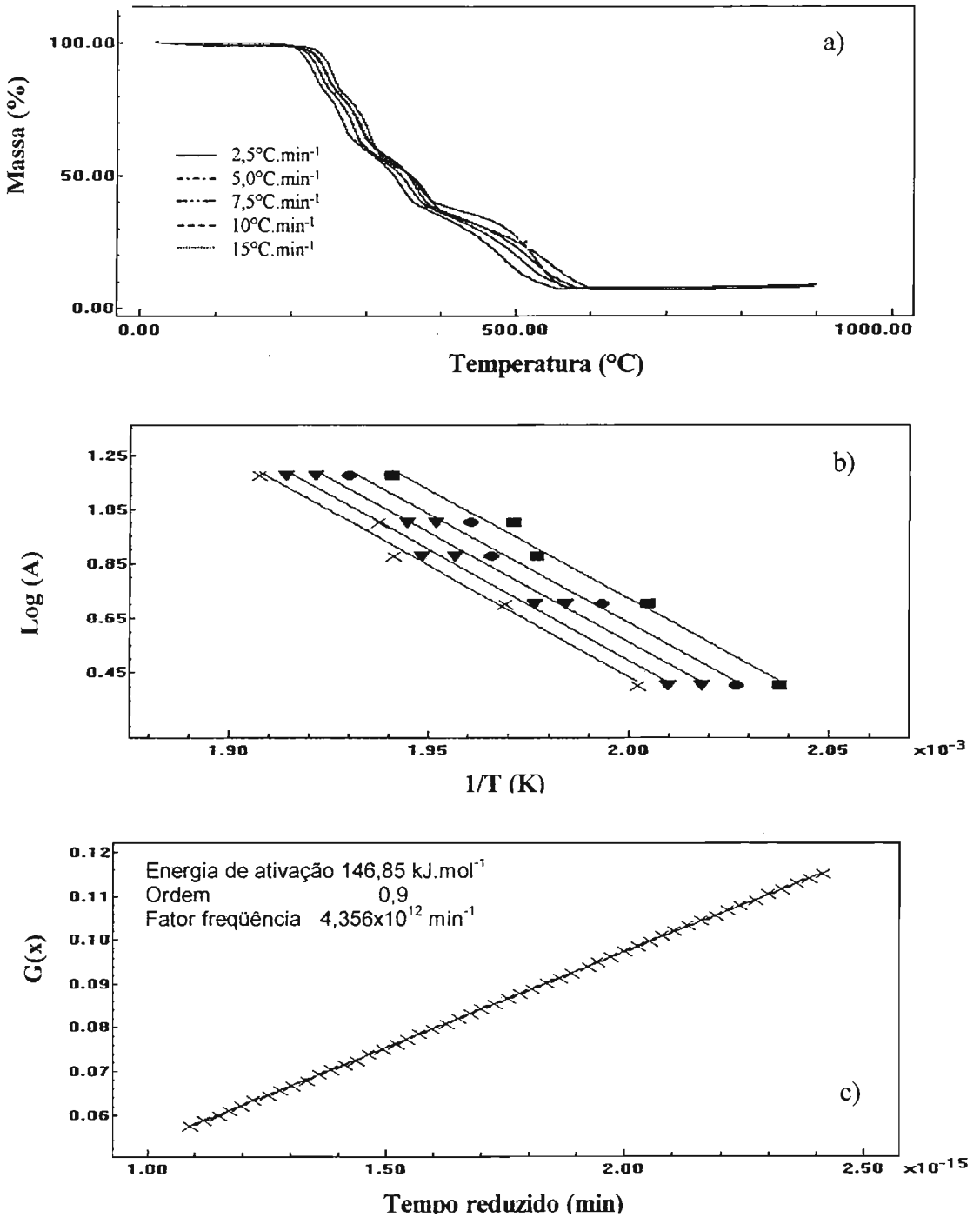


Figura 8.25 -

a) Curvas TG do AZT (produto B) em atmosfera dinâmica de ar (50 mL.min^{-1}), razões de aquecimento de 2,5 – 5 – 7,5 – 10 e 15 °C.min^{-1}, massa de ~ 4 mg e cadinho de platina.

b) Curva do logaritmo da razão de aquecimento em função do inverso da temperatura.

c) Gráfico da função G(x) do inverso da temperatura para o AZT (produto B).

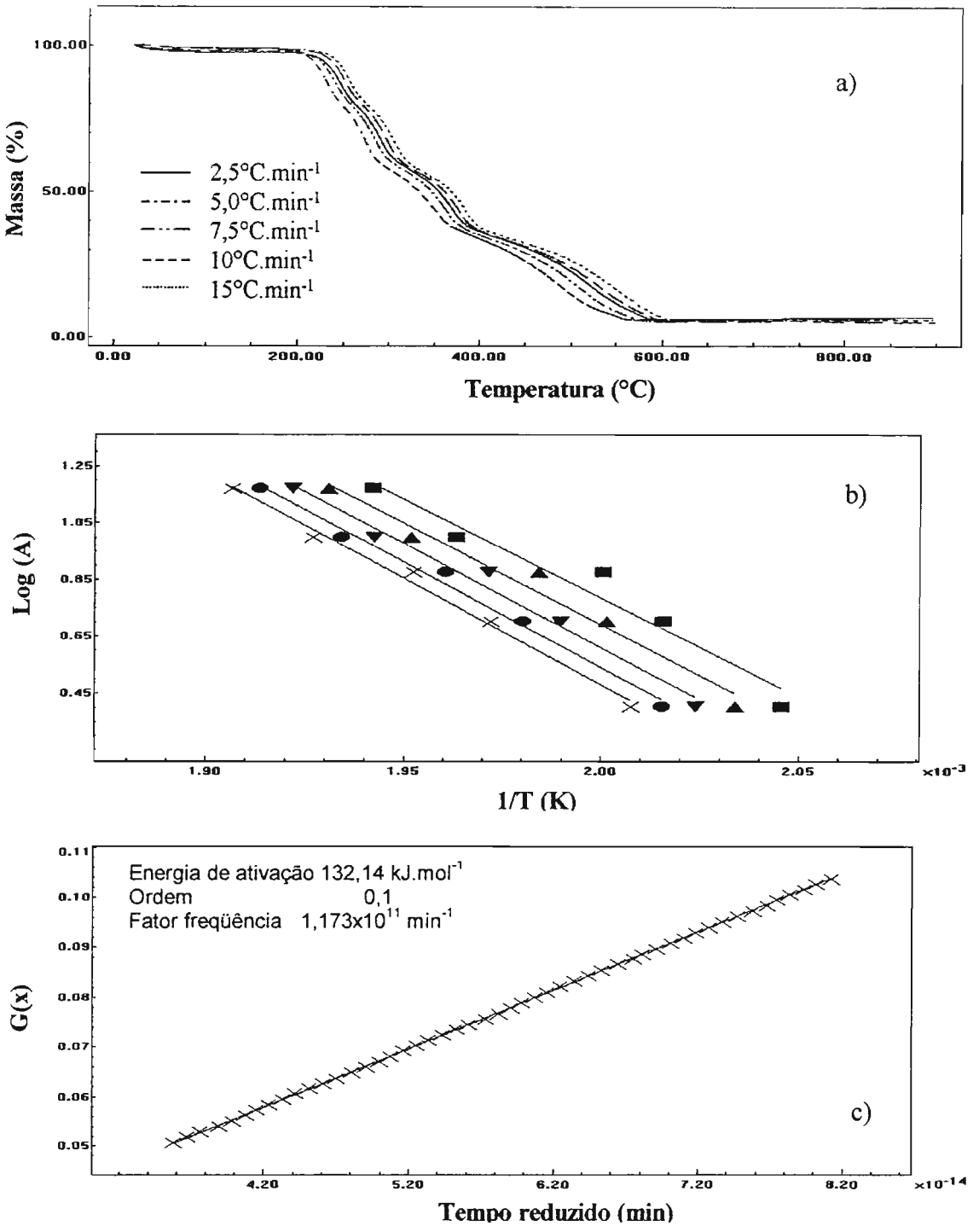


Figura 8.26 -

a) Curvas TG do AZT (produto C) em atmosfera dinâmica de ar (50 $mL.min^{-1}$), razões de aquecimento de 2,5 – 5 – 7,5 – 10 e 15 $°C.min^{-1}$, massa de ~ 4 mg e cadinho de platina.

b) Curva do logaritmo da razão de aquecimento em função do inverso da temperatura.

c) Gráfico da função G(x) do inverso da temperatura para o AZT (produto C).

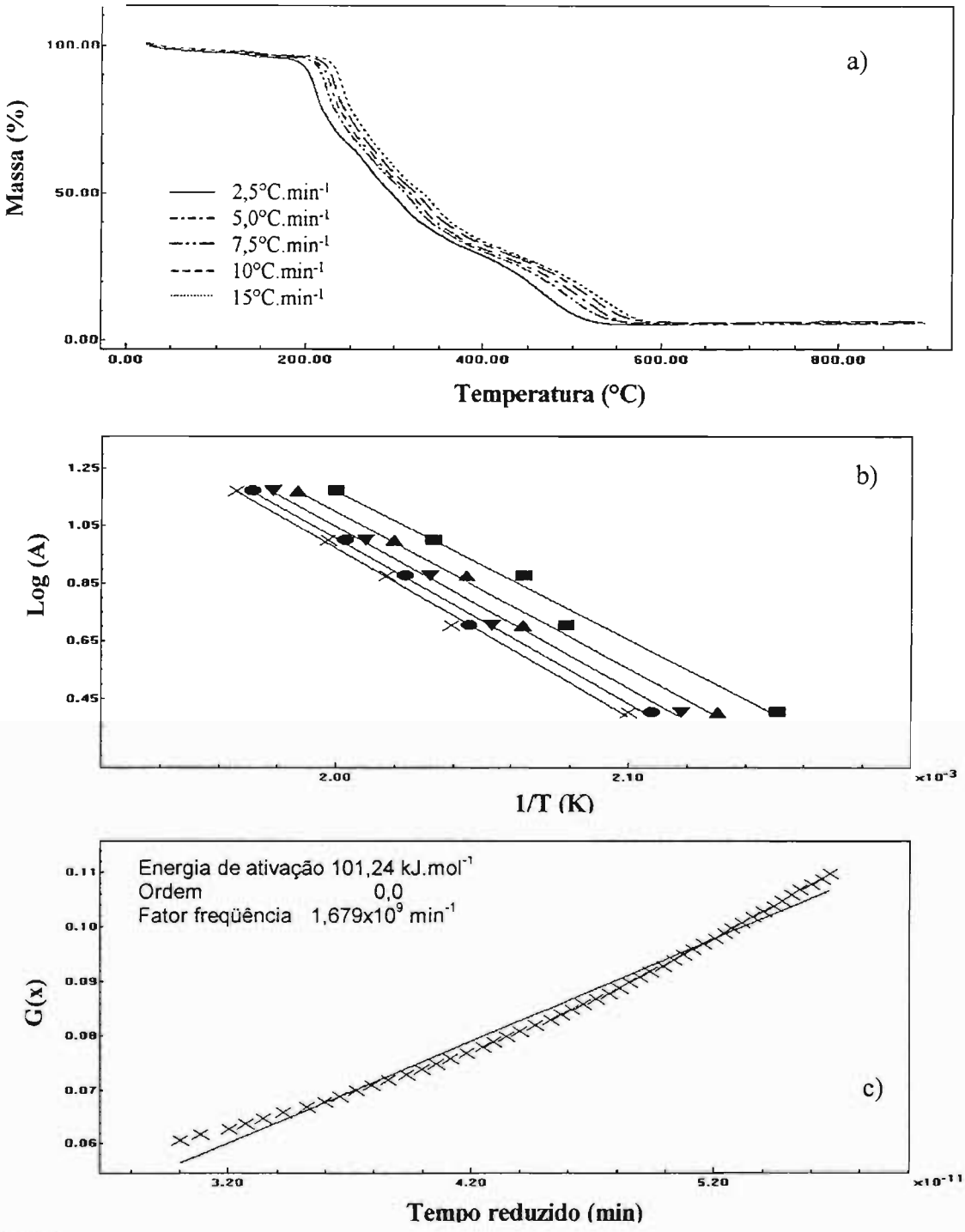


Figura 8.27 -

a) Curvas TG do AZT (produto D) em atmosfera dinâmica de ar (50 mL.min^{-1}), razões de aquecimento de 2,5 – 5 – 7,5 – 10 e 15 °C.min^{-1}, massa de ~ 4 mg e cadinho de platina.

b) Curva do logaritmo da razão de aquecimento em função do inverso da temperatura.

c) Gráfico da função G(x) do inverso da temperatura para o AZT (produto D).

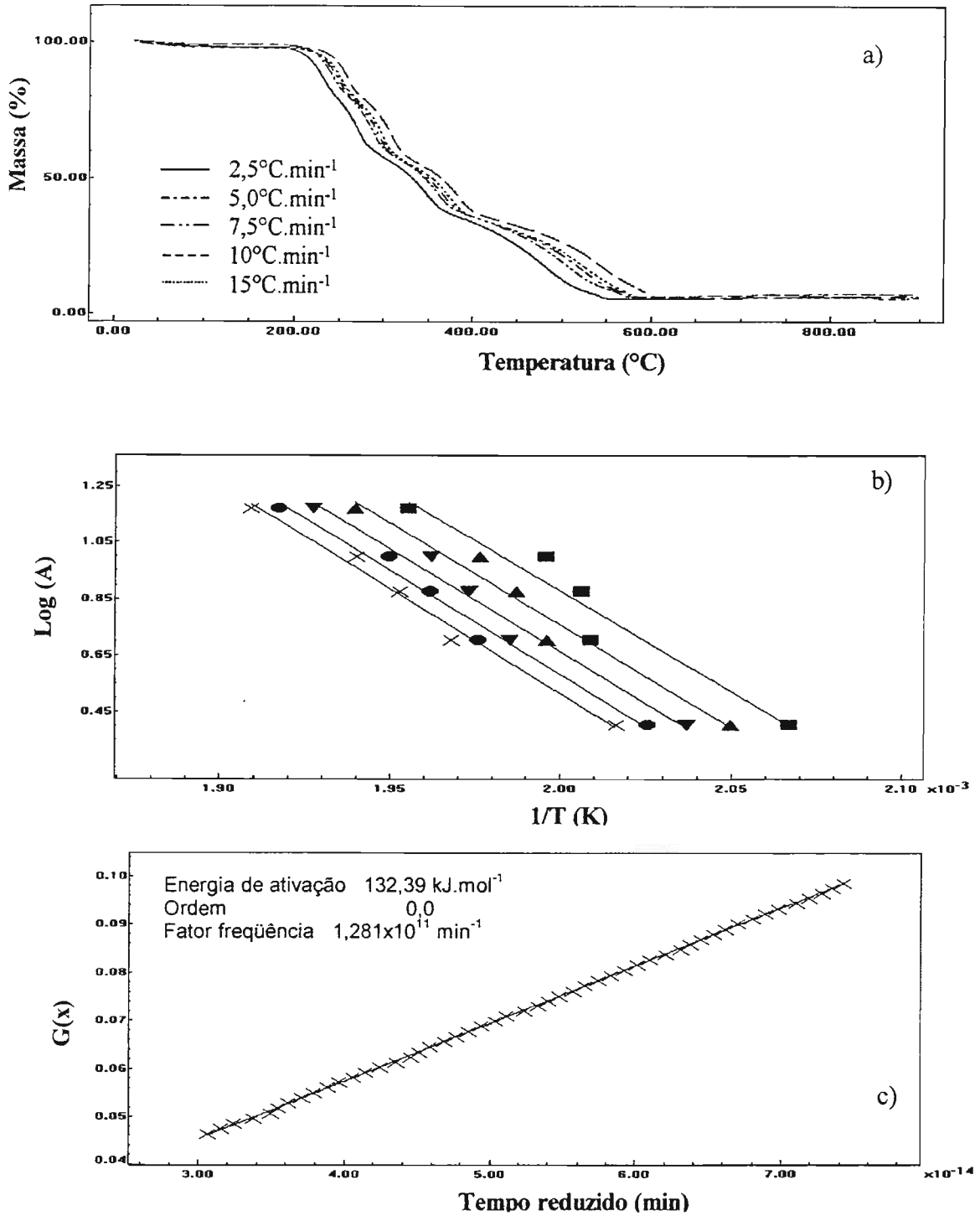


Figura 8.28 -

a) Curvas TG do AZT (produto E) em atmosfera dinâmica de ar (50 mL.min^{-1}), razões de aquecimento de 2,5 – 5 – 7,5 – 10 e 15 °C.min^{-1}, massa de ~ 4 mg e cadinho de platina.

b) Curva do logaritmo da razão de aquecimento em função do inverso da temperatura.

c) Gráfico da função G(x) do inverso da temperatura para o AZT (produto E).

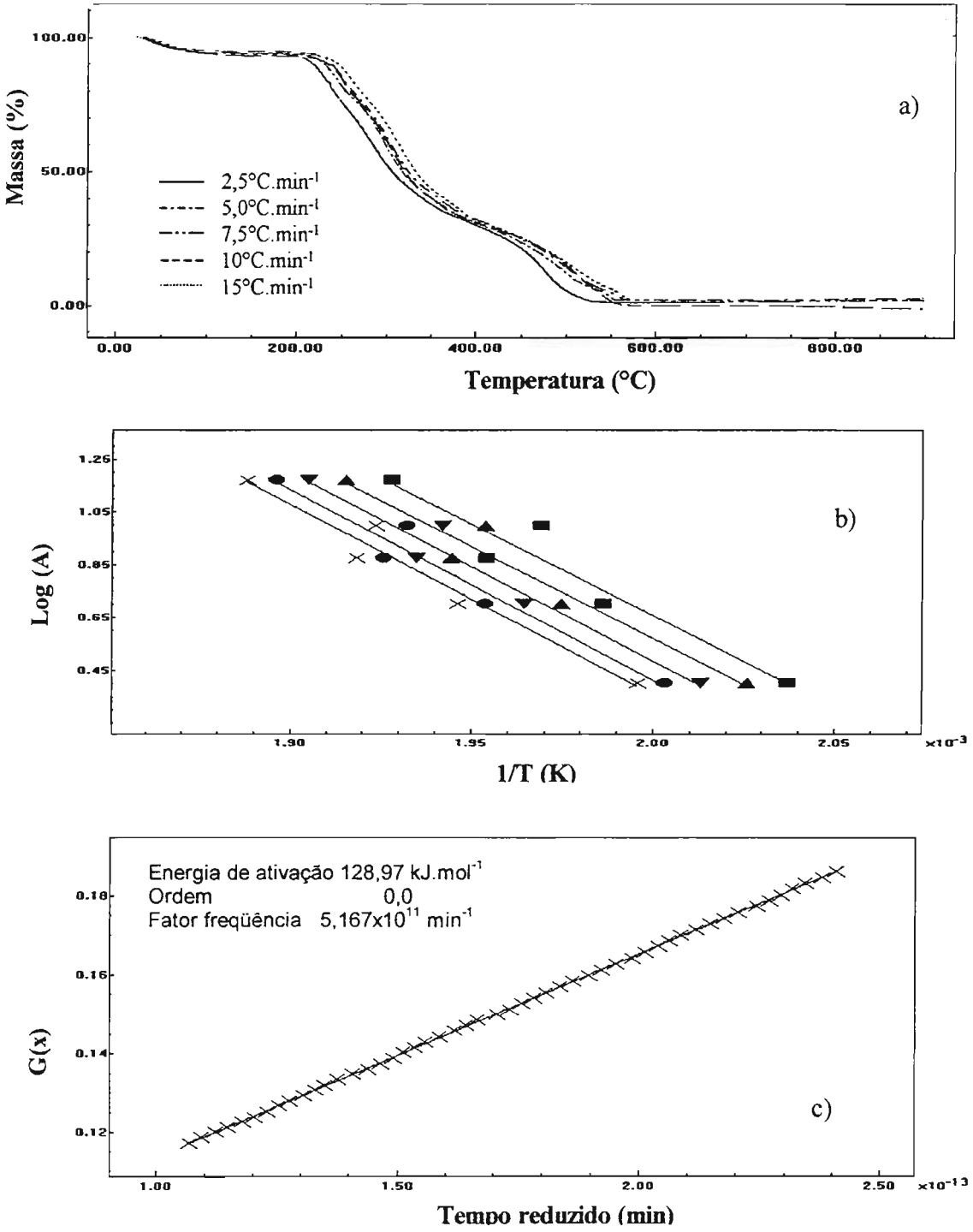


Figura 8.29 -

a) Curvas TG do AZT (produto R) em atmosfera dinâmica de ar (50 mL.min^{-1}), razões de aquecimento de 2,5 – 5 – 7,5 – 10 e 15 °C.min^{-1}, massa de ~ 4 mg e cadinho de platina.

b) Curva do logaritmo da razão de aquecimento em função do inverso da temperatura.

c) Gráfico da função G(x) do inverso da temperatura para o AZT (produto R).

8.3.4.2 Método isotérmico

O método isotérmico é comumente utilizado para acompanhar a cinética de uma reação de decomposição no estado sólido: são traçados vários gráficos de fração decomposta (α) *versus* tempo (t) mantendo constantes as temperaturas (T) na região de interesse. O método cinético isotérmico apresenta, como principal diferença em relação ao método dinâmico ou não-isotérmico, a possibilidade de realizar as medidas de α em função do tempo (t). Enquanto que no estudo cinético dinâmico a razão de aquecimento é utilizada como uma variável para obtenção de cada uma das curvas termogravimétricas, no estudo isotérmico a razão de aquecimento é sempre a mesma, sendo variadas as temperaturas das isotermas e avaliado o tempo de decomposição para uma faixa definida de perda de massa. Uma desvantagem apresentada pelo método isotérmico, em relação ao dinâmico, é que geralmente são necessários tempos relativamente longos para aquisição dos dados.

O cálculo da energia de ativação é baseado na equação de Arrhenius,

$$k(T) = A.e^{-E/RT} \qquad \text{(Equação 8.1)}$$

em que A representa o fator freqüência, E a energia de ativação, R a constante geral dos gases (1,987 cal.grau^{-1}.mol^{-1}) e T a temperatura absoluta.

Os dados apresentados nas Figuras 8.30-41 mostram o processo de obtenção dos valores de energia de ativação (*Ea*) utilizando o método isotérmico para diferentes amostras comerciais de AZT. As curvas foram obtidas a partir do aquecimento das amostras até as temperaturas de 170, 180, 190, 200 e 210°C, e mantida em condições isotérmicas durante um intervalo de 260 minutos, sob atmosfera dinâmica de ar (50 mL.min^{-1}). Os dados de temperatura e tempo foram obtidos para uma perda de massa de 5% para todas as amostras de AZT. Os gráficos apresentados nas Figuras 8.30-32-34-36-38-40 mostram as isotermas utilizadas para determinação da energia de ativação para as diferentes amostras comerciais de AZT. As Figuras 8.31-33-35-37-39-41 apresentam os gráficos do ln *t* (min) *vs* 1/T (K), a partir do qual é traçada a equação da reta por regressão linear ($y = ax + b$). A inclinação da reta é definida por *a* (coeficiente angular), onde a energia de ativação *Ea* pode ser definida multiplicando-se *a* pela constante geral dos gases *R* (8,314 J.mol^{-1}.K^{-1}).

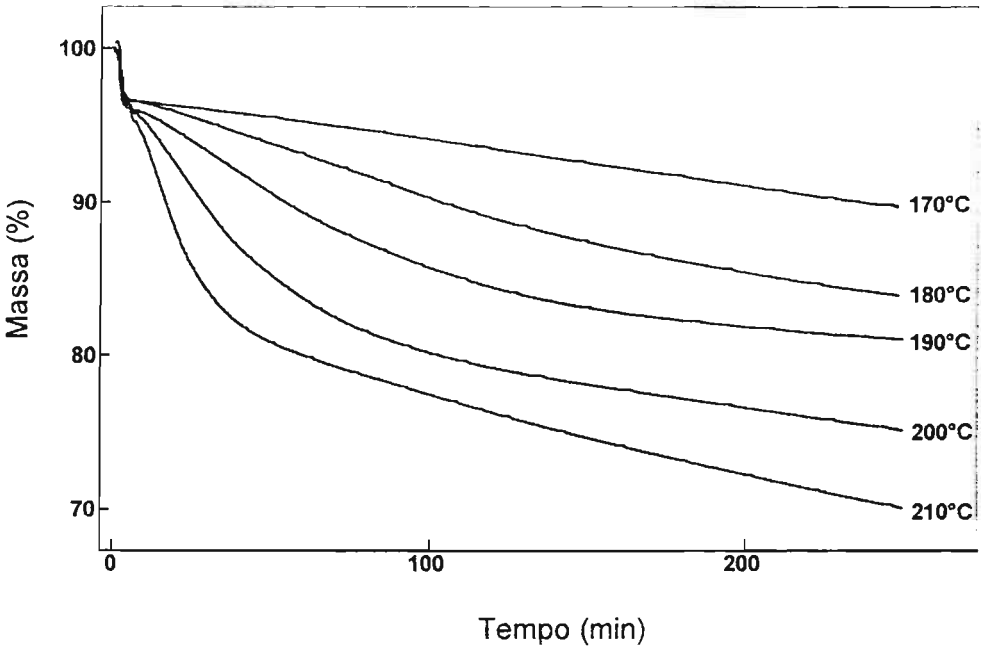


Figura 8.30 - Curvas TG do AZT (produto A) obtidas em condição isotérmica nas temperaturas de 170, 180, 190, 210 e 210°C, utilizando massa de ~ 4 mg, cadinho de Pt e atmosfera dinâmica de ar (50 mL.min^{-1})

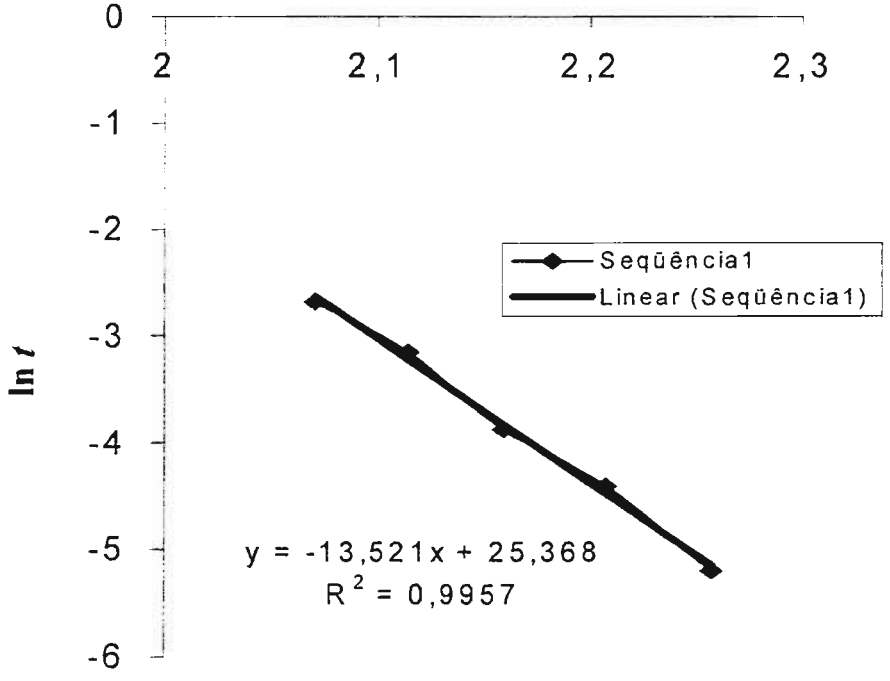


Figura 8.31 – Gráfico do ln 1/(t) x 1/T (produto A) utilizando os dados das isotermas para 5% de perda de massa

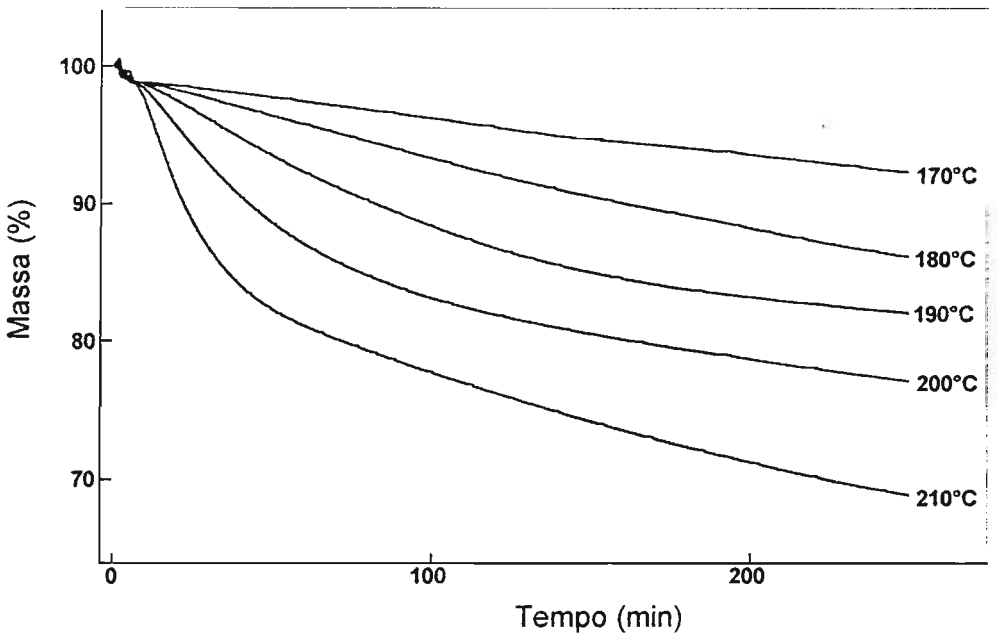


Figura 8.32 - Curvas TG do AZT (produto B) obtidas em condição isotérmica nas temperaturas de 170, 180, 190, 210 e 210°C, utilizando massa de ~ 4 mg, cadinho de Pt e atmosfera dinâmica de ar (50 mL.min^{-1})

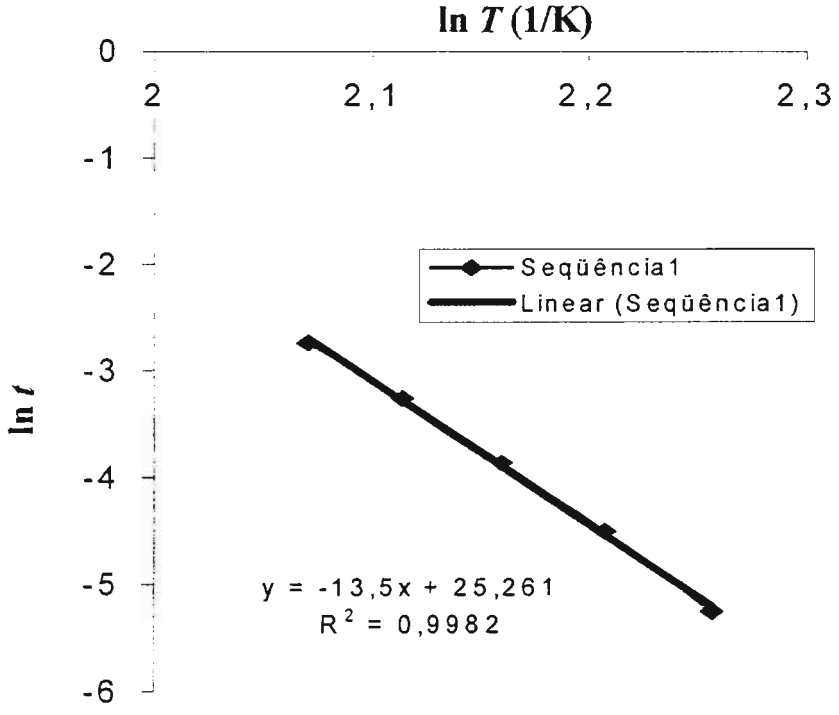


Figura 8.33 – Gráfico do ln 1/(t) x 1/T (produto B) utilizando os dados das isotermas para 5% de perda de massa

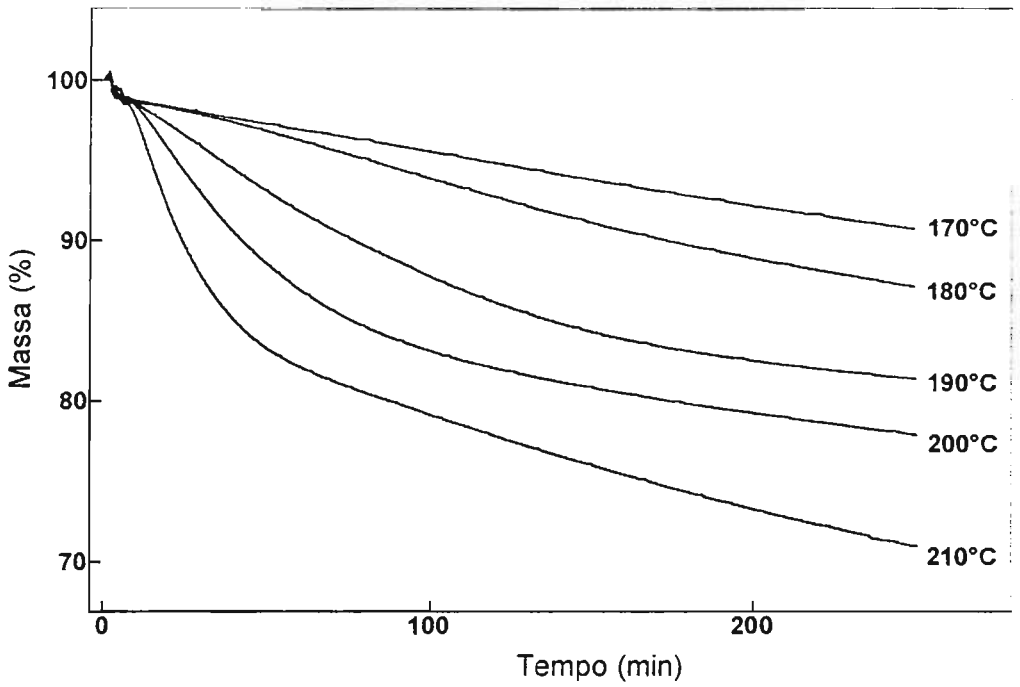


Figura 8.34 - Curvas TG do AZT (produto C) obtidas em condição isotérmica nas temperaturas de 170, 180, 190, 210 e 210°C, utilizando massa de ~ 4 mg, cadinho de Pt e atmosfera dinâmica de ar (50 mL.min^{-1})

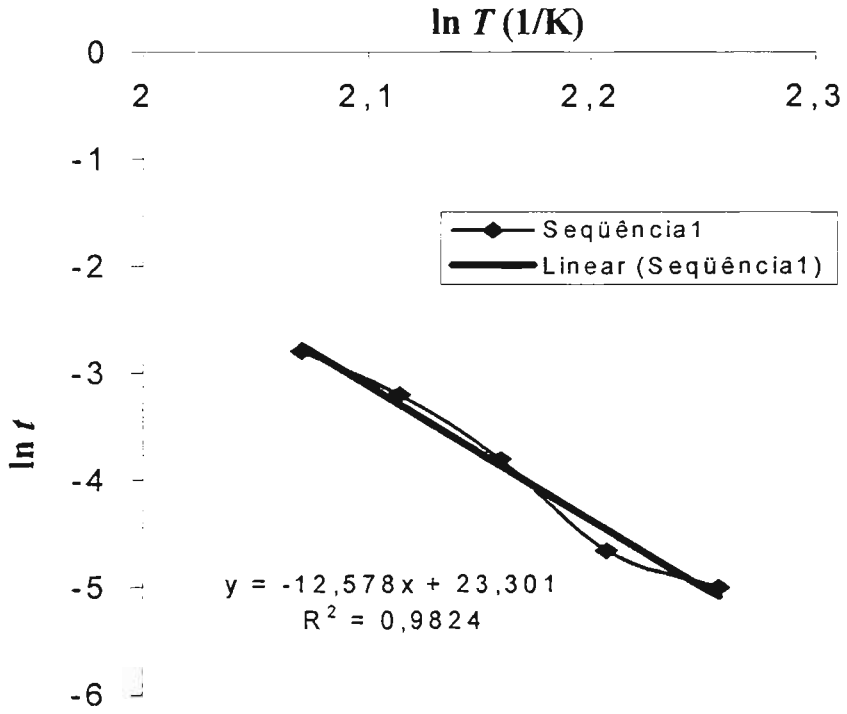


Figura 8.35 – Gráfico do ln 1/(t) x 1/T (produto C) utilizando os dados das isotermas para 5% de perda de massa

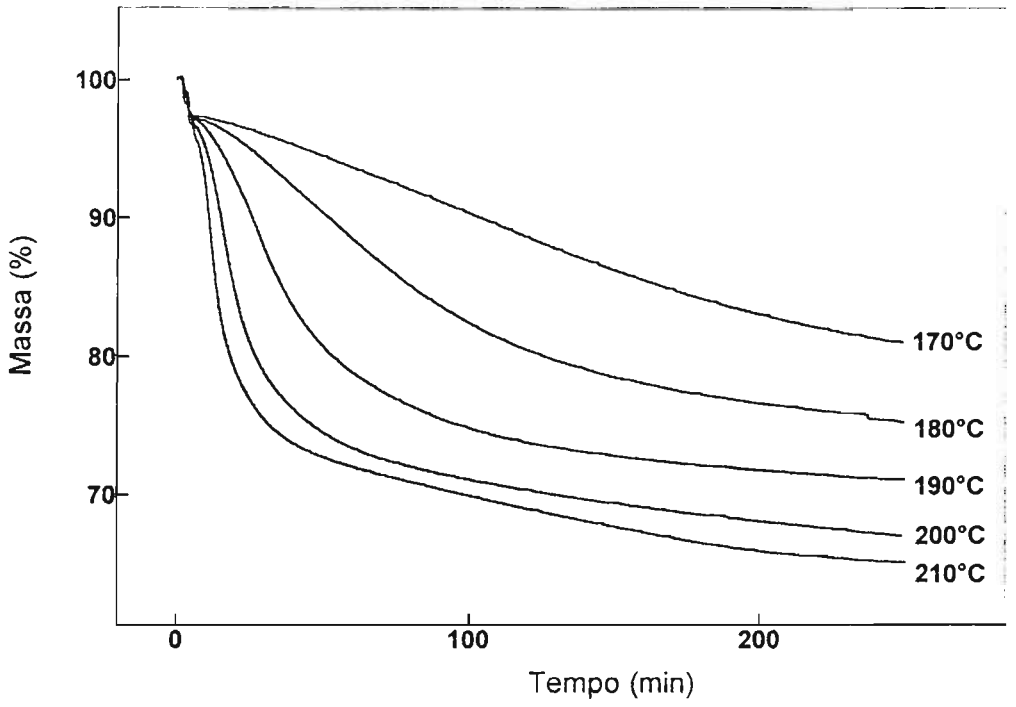


Figura 8.36 - Curvas TG do AZT (produto D) obtidas em condição isotérmica nas temperaturas de 170, 180, 190, 210 e 210°C, utilizando massa de ~ 4 mg, cadinho de Pt e atmosfera dinâmica de ar (50 mL.min^{-1})

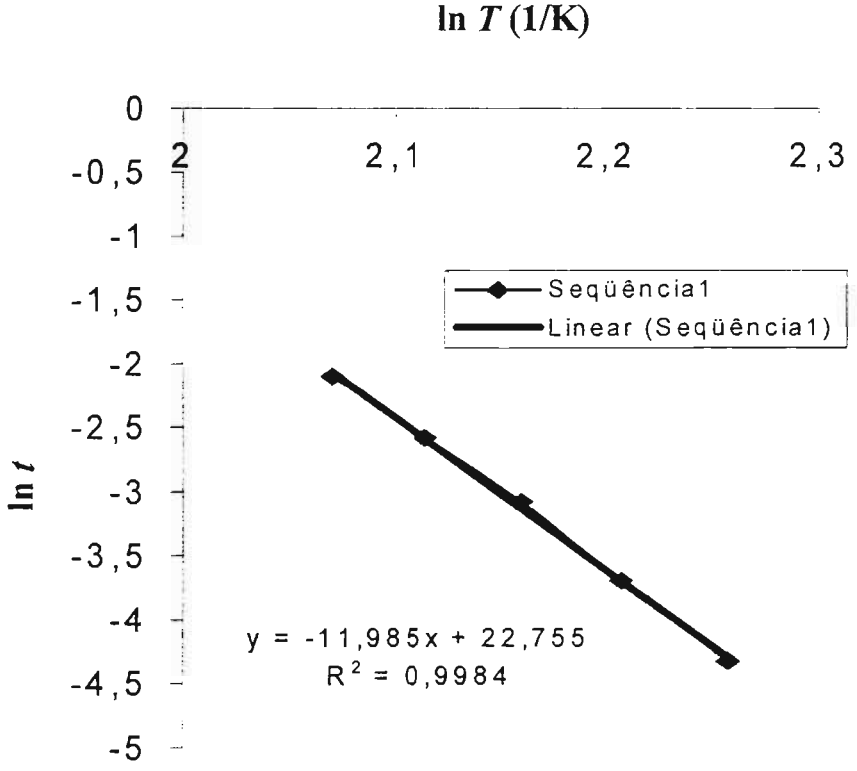


Figura 8.37 – Gráfico do ln 1/(t) x 1/T (produto D) utilizando os dados das isotermas para 5% de perda de massa

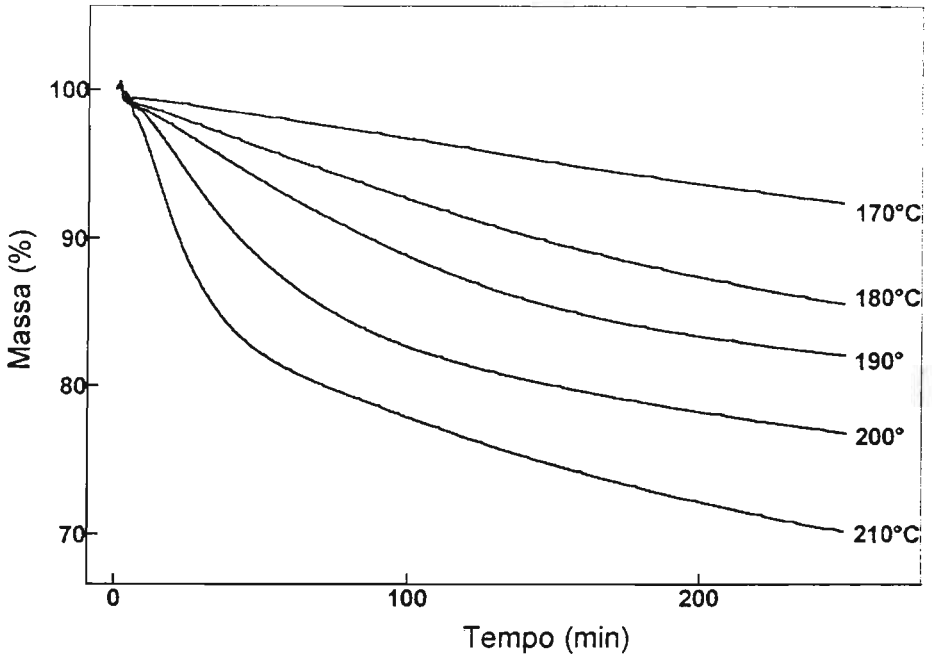


Figura 8.38 - Curvas TG do AZT (produto E) obtidas em condição isotérmica nas temperaturas de 170, 180, 190, 210 e 210°C, utilizando massa de ~ 4 mg, cadinho de Pt e atmosfera dinâmica de ar (50 mL.min^{-1})

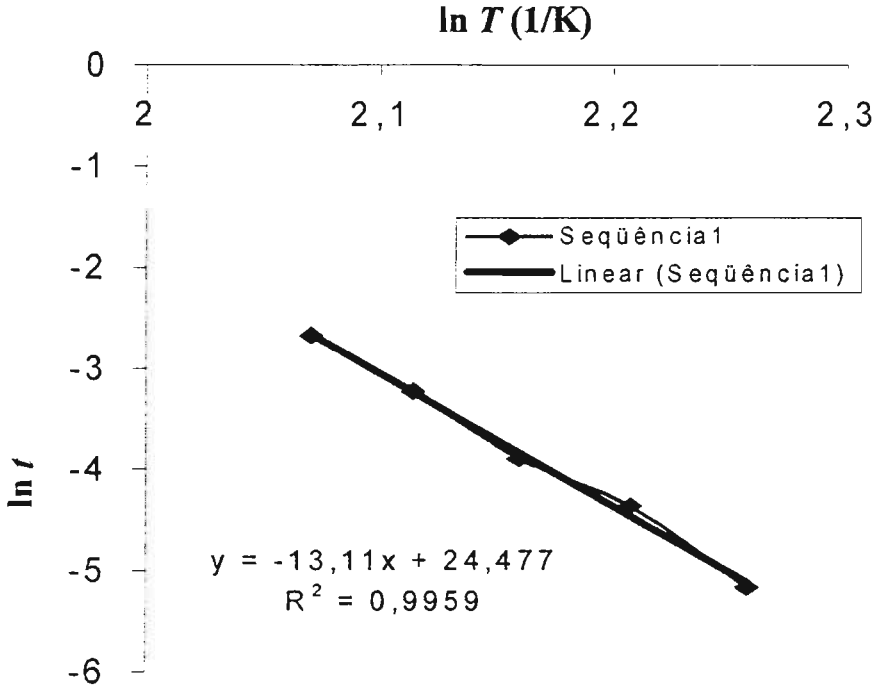


Figura 8.39 – Gráfico do ln 1/(t) x 1/T (produto E) utilizando os dados das isotermas para 5% de perda de massa

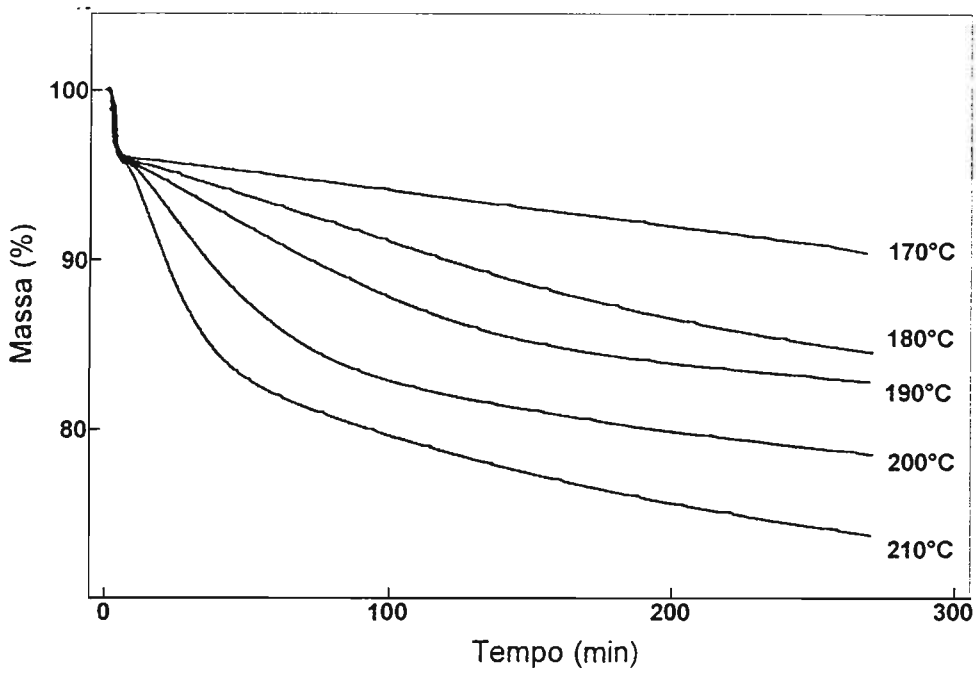


Figura 8.40 - Curvas TG do AZT (produto R) obtidas em condição isotérmica nas temperaturas de 170, 180, 190, 210 e 210°C, utilizando massa de ~ 4 mg, cadinho de Pt e atmosfera dinâmica de ar (50 mL.min^{-1})

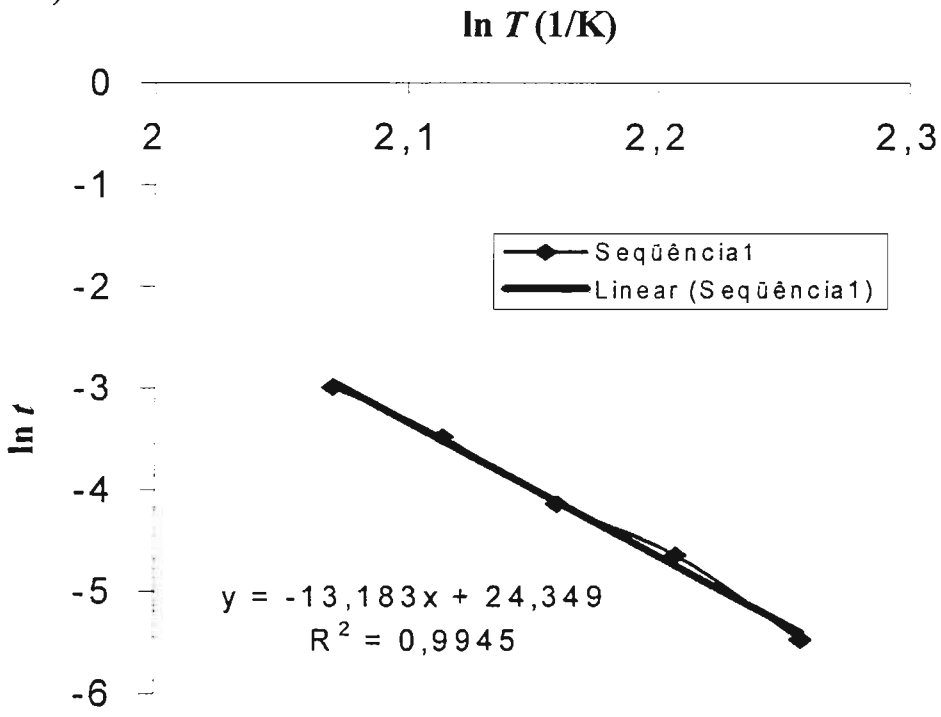


Figura 8.41 – Gráfico do ln 1/(t) x 1/T (produto R) utilizando os dados das isotermas para 5% de perda de massa

A Tabela 8.8 mostra os valores de energia de ativação, obtidos pelo método isotérmico e não-isotérmico, o fator freqüência e a ordem da reação, para o processo de decomposição térmica de seis amostras comerciais de AZT (conteúdo das cápsulas de 100 mg). De acordo como essa tabela pode-se observar que os valores de energia de ativação variam entre 120 a 142 $kJ.mol^{-1}$, para o método isotérmico, e de 100 a 112 $kJ.mol^{-1}$, para o método isotérmico. A proposta para o fenômeno relacionado com o processo de decomposição sugere uma reação de zero ordem e primeira ordem para os produtos em questão, uma vez que nessa situação os valores experimentais apresentam melhor correlação com a curva teórica.

A comparação entre os dois métodos, isotérmico e não-isotérmico, tem sido amplamente discutida por diversos autores (BLECIC *et al.*, 1983; YOSHIDA, 1993; OZAWA, 2000; RODANTE *et al.*, 2001; HUANG *et al.*, 2001). De forma geral, estes estudos têm demonstrado que o mais sensato e recomendável para análise completa da cinética de reações químicas seria a utilização dos dois métodos.

Tabela 8.8 - Determinação da T_{onset} e parâmetros cinéticos da decomposição térmica do conteúdo das cápsulas de AZT (produtos comerciais)

Produto	T_{onset} (°C) decomposição	Ea ($kJ\ mol^{-1}$) dinâmico	Ea ($kJ\ mol^{-1}$) isotérmico	Fator freqüência (min^{-1})	Ordem da reação
Lab. A	222,2	129	112	$6,130x10^{11}$	0,0
Lab. B	220,2	142	112	$5,635x10^{13}$	1,2
Lab. C	219,7	133	105	$1,761x10^{12}$	1,1
Lab. D	207,5	120	100	$1,493x10^{11}$	0,0
Lab. E	216,7	129	109	$1,809x10^{11}$	0,0
Lab. R	222,1	126	110	$5,167x10^{11}$	0,0

8.4 CONCLUSÃO

A aplicação desse tipo de estudo é algo bastante recente à área farmacêutica e vem se mostrando como importante ferramenta na análise de medicamentos. Vale ressaltar que esta aplicação pode ser realizada tanto para princípios ativos como para produtos acabados (formulações). Sendo assim, alterações significativas nas características do fármaco ou mudanças na formulação podem

provocar alterações nos parâmetros cinéticos da amostra em estudo. A partir das curvas DSC e TG/DTG puderam ser caracterizados os comportamentos térmicos dos produtos A-R, sendo verificado que o comportamento térmico das amostras B, C e E são bastante semelhantes, indicando que as mesmas apresentam basicamente os mesmos constituintes em sua formulação. O mesmo acontece para os produtos A e R, que mostram etapas de decomposição térmica próximas. Pode-se observar ainda que produto D apresenta uma formulação diferenciada em relação às demais amostras comerciais, apresentando um processo de decomposição térmica mais complexo e um maior número de eventos.

A partir do estudo de estabilidade acelerada e a longo prazo, constatou-se que as amostras, durante o período em análise, não apresentaram redução do seu teor superior a 10%. A avaliação do peso médio nos tempos zero e durante o estudo de estabilidade mostrou que nenhuma das amostras excedeu o limite máximo de 10%, estando assim dentro das especificações exigidas pela Farmacopéia Brasileira.

8.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. Standard practice for calibration of temperature scale for thermogravimetry, E-1582 – 93, 1993.

BLECIC, D., ZIVKOVIC, Z.D., MARTINOVIC, M. A new method for determination of reaction-kinetics from DTA and TG curves. 1. Definition of the method. **Thermochimica Acta**, Amsterdam, v.60, n.1, p. 61-68, 1983.

BUCKTON, G., RUSSEL S.J., BEEZER, A.E. Pharmaceutical calorimetry: a selective review. **Thermochim. Acta**, Amsterdam, v.193, p.195-214, 1991.

BURNHAM, L., DOLLIMORE, D., ALEXANDER, K.S. Kinetic study of the drug acetazolamide using thermogravimetry. **Thermochim. Acta**, Amsterdam, v.392, p.127-133, 2002.

CARSTENSEN, J.F. **Pharmaceutics of solids and solid dosage forms**. New York: Wiley-Interscience, 1977. p.130-183.

GALWEY, A.K., BROWN, M.E. Application of the Arrhenius equation to solid state kinetics: can this be justified. **Thermochim. Acta**, Amsterdam, v.386, p.91-98, 2002.

GRIMM, W. Extension of the International Conference on Harmonization Tripartite Guideline for Stability Testing of New Drug Substances and Products to Countries of Climatic Zones III and IV. **Drug Dev. Ind. Pharm.**, Monticello, v.24, n.4, p.313-325, 1998.

GUTCHO, M. **Capsule technology and microencapsulation**. Park Ridge: Noyes Data Corporation, 1972. p.35-58.

HUANG, Y., CHENG, Y., ALEXANDER, K., DOLLIMORE, D. The thermal analysis study of the drug captopril. **Thermochim. Acta**, Amsterdam, v.367, p.43-58, 2001.

KING, S.-Y. P., KUNG, M.-S., FUNG, H.-L. Statistical prediction of drug stability based on nonlinear parameters estimation. **J. Pharm. Sci.**, New York, v.73, n.5, p.657-662, 1984.

LACHMAN, L., LIEBERMAN, H.A., KANIG, J.L. **Teoria e prática na indústria farmacêutica**. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2001. v.2, p.651-683.

OZAWA, T. A new method of analyzing thermogravimetric data. **Bull. Chem. Soc. Jpn**, Tokyo, v.38, n.11, p.1881-1886, 1965.

OZAWA, T. Thermal Analysis – review and prospect. **Thermochimica Acta**. Belfast, v. 355, p.35-42, 2000.

OKUSA, N. Prediction of stability of drugs. IV. Prediction of stability by multilevel nonisothermal method. **Chem. Pharm. Bull.**, Tokyo, v.23, n.4, p.803-809, 1975.

PRISTA, L.N., ALVES, A.C., MORGADO, R.M.R. **Técnica farmacêutica e farmácia Galênica**. 3.ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1990. v.3, p.501-553.

PRISTA, L.N., ALVES, A.C., MORGADO, R.M.R. **Técnica farmacêutica e farmácia Galênica**. 4 ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1992. v.3, p.659-799.

RIBEIRO, Y.A., CAIRES, A.C.F., BORALLE, N., IONASHIRO, M. Thermal decomposition of acetylsalicylic acid (Aspirin). **Thermochim. Acta**, Amsterdam, v.279, p.177-181, 1996.

RIDGWAY, K., JONES, R.T. **Hard capsules: development and technology**. London: The Pharmaceutical Society of Great Britain, 1987. p.31-87.

RODANTE, F., VECCHIO, S., CATALANI, G., TAMASSETTI, M. **Journal Thermal Analysis and Calorimetry**, Budapest, v. 66, p.155-178, 2001.

SOME, I.T., BOGAERTS, P., HANUS, R., HANOCQ, M., DUBOIS, J. Incorporating batch effects in the estimation of drug stability parameters using an Arrhenius model. **Int. J. Pharm.**, Amsterdam, v.184, p.165-172, 1999.

UNITED STATES PHARMACOPEIA. 25.ed. Rockville. United States Pharmacopoeial Convention, 2002. p.1821-1824.

YANG, W.-H. Statistical treatment of stability data. **Drug Dev. Ind. Pharm.**, Monticello, v.7, n.1, p.63-77, 1981.

YOSHIDA, M.I. Cinética e mecanismo de reações de decomposição térmica no estado sólido: influência de variações estruturais no ligante, sobre o parâmetro cinético. Minas Gerais, 1993. 202p. (Tese de Doutorado – Instituto de Ciências Exatas - Universidade Federal de Minas Gerais).

VYAZOVKIN, S. Thermal analysis. **Anal. Chem**. v. 74, p. 2749-2762, 2002.

WENDLANT, W.W. **Thermal analysis**. 3.ed. New York: Willey, 1986. p. 814.

CAPÍTULO IX

Considerações Finais

Apresenta-se aqui um resumo de todo o trabalho pela ordem cronológica. Procurou-se mostrar, sucintamente, os resultados obtidos em cada um dos capítulos buscando-se relacionar os diferentes temas abordados em cada um deles. Durante este estudo pode-se observar a potencialidade e a versatilidade da aplicação das técnicas termoanalíticas como importante ferramenta na área de fármacos e medicamentos. Nesta seção descreve-se uma correlação que vai desde a avaliação do comportamento térmico, passando pelos ensaios de pureza e compatibilidade, chegando à caracterização de novas especialidades e, por fim, os ensaios de equivalência farmacêutica e controle de qualidade de produtos comerciais.

"O gênio consiste em 1% de inspiração
e 99% de transpiração".

Thomas A. Edison

9.1 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste trabalho foram utilizadas técnicas físico-químicas e analíticas objetivando o desenvolvimento, a produção e o controle de fármacos e medicamentos anti-HIV/AIDS, em especial o AZT. A utilização de diversas técnicas físico-químicas e analíticas possibilitaram o desenvolvimento de estudos relacionados à avaliação da estabilidade e decomposição térmica do AZT, de excipientes e de misturas físicas utilizadas para a obtenção de formas farmacêuticas sólidas; caracterização dos produtos sólidos e voláteis do processo de degradação térmica do AZT; determinação do grau de pureza, faixa de fusão e variação de entalpia de princípios ativos de AZT de diferentes procedências; síntese e caracterização de complexos luminescentes de lantanídeos e obtenção de compostos de inclusão com ciclodextrinas; avaliação da estabilidade acelerada e a longo prazo de cápsulas de AZT disponíveis no mercado brasileiro e determinação dos parâmetros cinéticos da decomposição térmica do conteúdo das cápsulas de AZT. O método de planejamento fatorial foi utilizado para avaliação estatística dos dados de cinética pelo método não-isotérmico.

O trabalho foi dividido em capítulos para uma melhor compreensão do texto, uma melhor divisão dos métodos utilizados e uma separação entre cada material estudado. No entanto, é possível observar claramente que todos os capítulos estão diretamente relacionados.

Segundo YOSHIDA, a análise cinética tem como pré-requisito o isolamento e identificação dos intermediários (sólidos e gasosos) e produtos finais da reação. Além disso, é importante avaliar se fatores importantes para a termogravimetria estão influenciando sobre a determinação dos parâmetros cinéticos. Por outro lado, trabalho publicado por RODANTE e colaboradores mostra que a estabilidade de uma formulação depende, entre outros fatores, da compatibilidade do componente ativo com os outros componentes da formulação.

Os estudos de pré-formulação indicaram que não há interação entre o AZT e a maioria dos excipientes testados. Algumas alterações nos perfis termoanalíticos foram observadas em relação aos excipientes PEG 4000, 6000 e 20000, PVP, sorbitol e polyox. No processo de decomposição térmica do AZT destaca-se a formação de timina. A aplicação do sistema simultâneo e acoplado TG/DTA-GC/MS viabilizou a identificação de furano e 2-furanometanol como produtos voláteis. Os ensaios de DSC permitiram a determinação da temperatura de fusão (118,0 a 122,9°C), do $\Delta H_{fusão}$ (valor médio 30 $kJ.mol^{-1}$) e da pureza (97,5 a 99,8%) para seis amostras comerciais do fármaco. O complexo de inclusão AZT/β-ciclodextrina pode ser formado por solubilização das espécies em meio aquoso, e posterior obtenção do produto sólido por liofilização ou secagem a vácuo. A interação não ocorre pela simples mistura mecânica das espécies. A síntese de complexos com terras raras registrou o primeiro complexo preparado com o AZT e lantanídeos que apresenta alta luminescência. É importante enfatizar que os dados de absorção na região do IV do complexo $[RE(TTA)_3 \cdot (AZT)_2]$ sugerem que o ligante está coordenado ao íon terra rara pelo átomo de nitrogênio do grupo azido. Os dados de DRX indicaram que o complexo Eu-AZT mostra-se não cristalino, diferentemente do AZT livre, do precursor hidratado e da mistura física.

O estudo da variabilidade de condições experimentais para determinação dos parâmetros cinéticos de amostras comerciais de AZT por TG, empregando o Planejamento Fatorial, indicou que nenhum dos efeitos avaliados é significativo. Trabalho publicado recentemente por ROY e colaboradores (2002) mostrou que a avaliação dos efeitos das condições experimentais é fundamental para o desenvolvimento de métodos confiáveis de análise. No caso da termogravimetria, a influência dos efeitos é muitas vezes função das características da amostra avaliada. O mesmo afirmou RODUIT e colaboradores (1996) ao concluir que a possibilidade de

existir situações específicas é comum e pode levar a interpretações incorretas dos dados de cinética envolvendo reações no estado sólido-gás.

Os resultados de cinética obtidos neste trabalho mostraram que os valores de energia cinética para as amostras comerciais de AZT variaram entre 120 a 150 $kJ.mol^{-1}$, para os estudos utilizando o método não-isotérmico, e de 100 a 112 $kJ.mol^{-1}$, para o método isotérmico. Os resultados obtidos no estudo cinético se mostraram bastante reprodutíveis, configurando-se assim como um parâmetro importante, por exemplo, para avaliação da equivalência farmacêutica juntamente com os testes farmacopêicos.

9.2 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

RODANTE, F., VECCHIO, S., CATALANI, G., TAMASSETTI, M. **Journal Thermal Analysis and Calorimetry**, Budapest, v. 66, p.155-178, 2001.

RODUIT, B., MACIEJEWSKI, M., BAIKER, A. Influence of experimental conditions on the kinetic parameters of gas-solid reactions: parametric sensitivity of thermal analysis. **Thermochim. Acta**, Amsterdam, v.283, p.101-119, 1996.

ROY, S., RIGA, A.T., ALEXANDER, K.S. Experimental design aids the development of a differential scanning calorimetry standard test procedure for pharmaceuticals. **Thermochim. Acta**, Amsterdam, v.392, 399-404, 2002.

YOSHIDA, M.I. Cinética e mecanismo de reações de decomposição térmica no estado sólido: influência de variações estruturais no ligante, sobre o parâmetro cinético. Minas Gerais, 1993. 202p. (Tese de Doutorado – Instituto de Ciências Exatas -Universidade Federal de Minas Gerais).

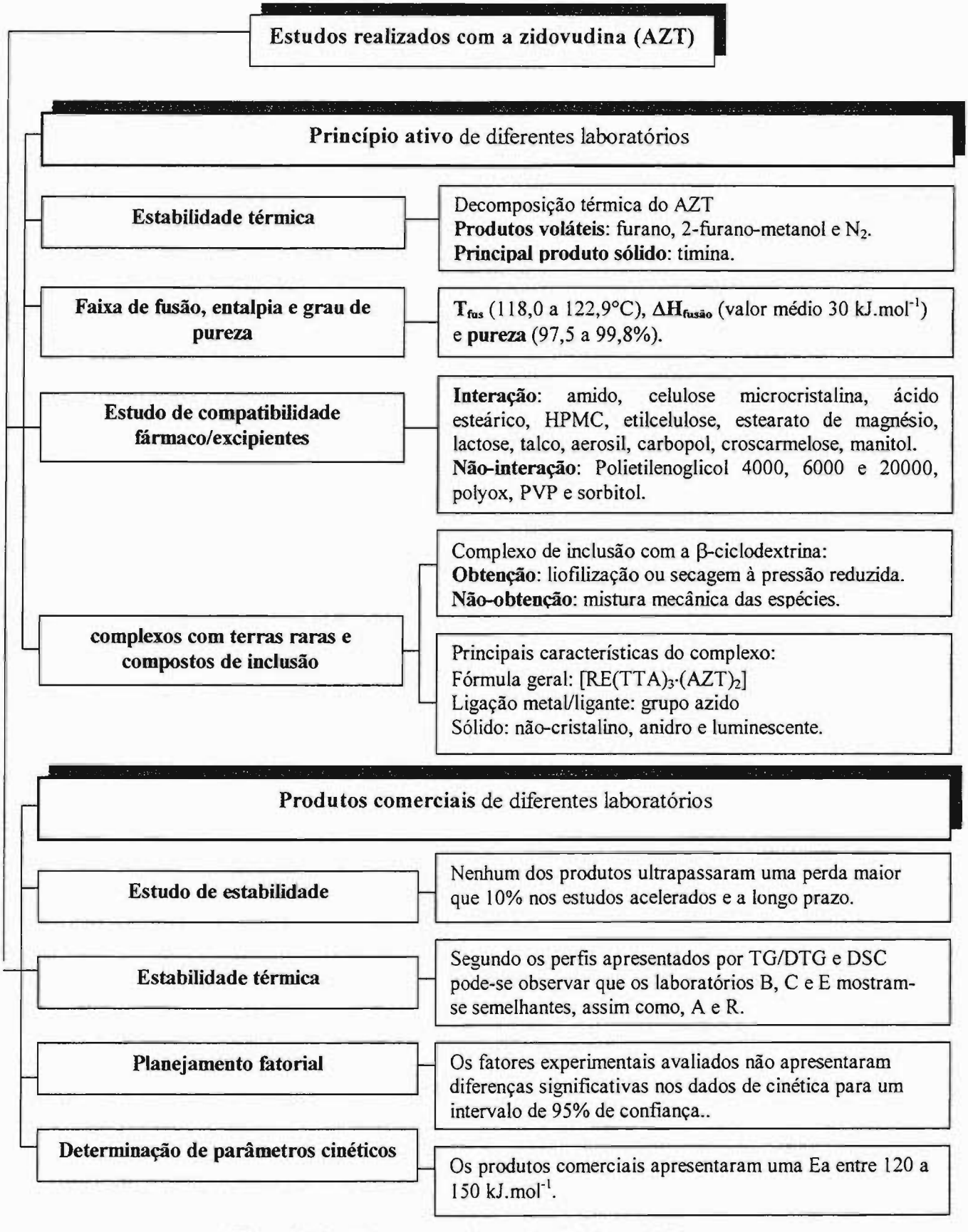


Figura 9.1 - Fluxograma de conclusão do trabalho

CAPÍTULO X

Perspectivas Futuras

Estão apresentados alguns aspectos que podem ser aprimorados e outros que podem vir a ser desenvolvidos em trabalhos futuros.

"Não se pode ensinar tudo a alguém, pode-se apenas ajudá-lo a encontrar por si mesmo"

Galileu Galilei

10.1 PERSPECTIVAS DE NOVOS TRABALHOS

- A aplicação de novos modelos matemáticos, entre eles: Coats-Redfern, Madhusudanan, Ozawa, Doyle, Gorbachev, Reich-Stilava, visando à determinação e comparação dos parâmetros cinéticos da decomposição térmica das amostras comerciais de AZT.

- Aplicação do método isotérmico para determinação dos parâmetros cinéticos da decomposição térmica de amostras de AZT.

- Comparação entre os resultados obtidos por CLAE e por TG visando à determinação do prazo de validade a partir do método de Ozawa ou outros métodos cinéticos.

- Incorporação do AZT em materiais mesoestruturados, como o SBA e MCM-41, objetivando o desenvolvimento de medicamentos de liberação controlada.

- Obtenção e caracterização físico-química de polimorfos, hidratos e solvatos do AZT.

- Aplicação de alguns dos estudos apresentados nesse trabalho a outros fármacos e medicamentos antiretrovirais inibidores da transcriptase reversa e de proteases.