



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
Centro de Ciências da Saúde
Departamento de Farmácia
Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas

Pollianne Barbosa da Silva

**APLICAÇÃO DE FERRAMENTAS ANALÍTICAS NA CARACTERIZAÇÃO DE
PRODUTOS COM DIFERENTES PROPRIEDADES BIOFARMACOTÉCNICA**

Recife
2015

Pollianne Barbosa da Silva

**APLICAÇÃO DE FERRAMENTAS ANALÍTICAS NA CARACTERIZAÇÃO DE
PRODUTOS COM DIFERENTES PROPRIEDADES BIOFARMACOTÉCNICA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco como requisito parcial para obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr Fábio Santos de Souza

2º Orientador: Dr^a Mara Rúbia Winter de Vargas

Recife

2015

Catálogo na fonte
Bibliotecária: Gláucia Cândida da Silva, CRB4-1662

S586a Silva, Pollianne Barbosa da.
Aplicação de ferramentas analíticas na caracterização de produtos com diferentes propriedades biofarmacotécnica / Pollianne Barbosa da Silva. – 2015.
101 folhas: il. ; 30 cm.

Orientador: Fábio Santos de Souza.
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco, CCS. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, 2015.
Inclui referências.

1. Tretinoína. 2. Química. 3. Adjuvantes Farmacêuticos. 4. Raio X. 5. Estabilidade de Medicamentos. I. Souza, Fábio de. (Orientador). II. Título.

615.3 CDD (23.ed.) UFPE (CCS 2016-257)

Pollianne Barbosa da Silva

**APLICAÇÃO DE FERRAMENTAS ANALÍTICAS NA CARACTERIZAÇÃO DE
PRODUTOS COM DIFERENTES PROPRIEDADES BIOFARMACOTÉCNICA**

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Ciências
Farmacêuticas da Universidade Federal
de Pernambuco requisito parcial para
obtenção do título de Mestre em Ciências
Farmacêuticas

APROVADO EM:21/10/2016

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Fábio Santos de Souza
Orientador

Prof.^a Dr.^a Beate Saegesser Santos - UFPE
Membro Interno

Prof. Dr .Rodrigo Molina Martins- UFPB
Membro Externo

Recife, 21 de outubro de 2015.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

REITOR

Prof. Anísio Brasileiro de Freitas Dourado

VICE-REITOR

Prof^ª.Florisbela Campos

PRÓ-REITOR PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

Prof. Francisco de Sousa Ramos

DIVETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

Prof. Nicodemos Teles de Pontes Filho

VICE-DIVETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

Prof. Vânia Pinheiro Ramos

CHEFE DO DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Prof. Antônio Rodolfo de Faria

VICE-CHEFE DO DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Prof. Dr^a Elba Lúcia Cavalcanti de Amorim

**COORDENADOR DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FARMACÊUTICAS**

Prof. Almir Gonçalves Wanderley

**VICE-COORDENADORA DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

Prof.Rafael Matos Ximenes

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Anselmo e Maria Rita, por acreditarem em mim e sempre apoiarem e incentivarem com muito amor a minha luta durante todos estes anos.

Aos meus irmãos, Jullianne, Cristianne, Marianne, Anselmo e Matheus por estarem sempre conectados comigo mesmo nas maiores distâncias.

A Glauberto, meu companheiro de todos os momentos, que dividiu comigo as angústias e alegrias, incentivou-me e deu forças para seguir adiante e não desistir do meu sonho de fazer esse mestrado.

Ao meu filho que carrego no ventre, “Bebetinho”, que esteve sempre presente comigo nas noites e dias de escrita e preparação da dissertação.

À Celia e ao Sr. Aluizio, proprietários da Dilecta, que me proporcionaram atingir mais um nível de conhecimento e colaboração técnica como farmacêutica na empresa.

Ao meu orientador Prof. Dr. Fábio Souza, que me recebeu no LUDEM e com quem eu tive o privilégio de poder compartilhar conhecimento, confiança, acolhimento e oportunidades. Os seus ensinamentos me permitiram crescer muito como cientista e como ser humano.

À minha coorientadora, Mara Rúbia, exemplo de profissional e mulher, pela confiança, ensinamentos, amizade, motivação, apoio e incentivo. Obrigada por acompanhar e participar do meu crescimento profissional e pessoal.

A algumas pessoas que passaram pela minha vida e que sempre me incentivaram na realização desse sonho.

Aos colegas de laboratório Fabrício, Fernando, Monik, Taynara, Rayanne, Venâncio, Márcia e Severino pela colaboração e troca de conhecimentos no desenvolvimento do meu projeto.

Aos colegas da Universidade Federal da Paraíba e Universidade Federal de Pernambuco pela recepção, compreensão, ajuda e valiosas discussões.

RESUMO

SILVA, P. B. **Aplicação de ferramentas analíticas na caracterização de produtos com diferentes propriedades biofarmacotécnica.** 2015. 101 p. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2015.

Quando se trata da caracterização de fármacos ou produtos farmacêuticos deve-se ter em mente que as metodologias empregadas forneçam o maior número possível de informações e sejam complementares, essa caracterização se torna ainda mais importante quando são alteradas as propriedades físico-químicas do fármaco, sendo necessário um monitoramento. Nos últimos anos os pesquisadores têm estudado os fármacos com outro enfoque, tornando o que antes era considerando um efeito colateral como uma ação principal, ou ainda descobrindo novos usos com diferentes vias de administração; é o caso do ácido retinoico (AR), objeto de estudo desse trabalho. Com o objetivo de avaliar a aplicação das ferramentas analíticas na caracterização físico químicas do ácido retinoico, o presente trabalho utilizou DSC, FTIR e PDRX para a análise da formação de cocristais e dispersões sólidas entre o ácido retinoico (AR) e os adjuvantes tecnológicos ácido cítrico (AC), ácido sórbico (AS) e nicotinamida (NI). No estudo de estabilidade foi utilizada a termogravimetria, com o modelo cinético de Osawa. Os resultados das análises revelaram a formação de dispersão sólida cristalina em ácido retinoico – ácido sórbico e ácido retinoico – nicotinamida e de cocrystal em ácido retinoico – cítrico; a técnica de FTIR demonstrou a provável formação de pontes de hidrogênio em ARAC LIO e a PDRX demonstrou a ocorrência em todas as amostras do sistema cristalino monoclinico, apesar de apresentarem grupos espaciais, volumes de célula unitária e parâmetros de rede distintos. As análises por termogravimetria demonstraram que ARAC LIO mostrou-se a mais instável das amostras e que AR apresentou cinética de degradação de ordem superior influenciada pela razão de aquecimento. Dessa forma foi possível concluir que as ferramentas analíticas utilizadas foram elucidativas, rápidas e de grande importância na pesquisa do AR e adjuvantes tecnológicos, utilizando a chamada “química verde”, mais ecológica e econômica que as convencionais.

Palavras-chave: Tretinoína. Caracterização química. Adjuvantes farmacêuticos. Raios x. Estabilidade de medicamentos.

ABSTRACT

SILVA, PB. **Application of analytical tools in the characterization of biopharmaceutical products with different properties**. 2015. 101 p. Dissertation (Master). Federal University of Pernambuco, Recife, in 2015.

When it comes to the characterization of drugs or pharmaceutical products must be borne in mind that the methodologies employed to provide the largest possible amount of information and are complementary, this characterization becomes even more important when the physicochemical properties of the drug are changed and require a monitoring. In recent years researchers have studied the drugs with another approach, such as making a major action than was previously considering a side effect, or finding new uses with different routes of administration; in the case of retinoic acid (AR), object of study of this work. In order to evaluate the application of analytical tools in the physicochemical characterization of drugs, this study used DSC, FTIR and PDRX to analyze the formation of cocrystals and solid dispersions between the drug retinoic acid (AR) and processing aids citric acid (AC), sorbic acid (AS) and nicotinamide (NI). The stability prediction was used thermogravimetry with the kinetic model Osawa. The results of the analysis revealed the formation of crystalline solid dispersion in ARAS LIO and ARNI LIO and cocrystal in ARAC LIO; FTIR technique demonstrated the probable formation of hydrogen bridges and ARAC LIO and PDRX demonstrated to occur in all of the samples monoclinic crystal system, space group though present, and unit cell volumes different lattice parameters. Analysis by thermogravimetry showed that ARAC LIO proved to be more unstable and AR samples showed higher order degradation kinetics influenced by the ratio of heating. Thus it was concluded that the analytical tools used were enlightening, fast and very important in AR research and processing aids, using the so-called "green chemistry", more ecological and economical.

Keywords: Tretinoin . Chemical characterization. Adjuvants, Phamaceutic. X-ray. Drug Stability.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1	Arranjo Geométrico de Bragg-Brentano.....	27
FIGURA 2	Eixos de uma célula unitária cristalina.....	28
FIGURA 3	Rede de Bravais.....	29
FIGURA 4	Representação Esquemática de Solvatos/Hidratos, Cocristais e Sais ...	35
FIGURA 5	Estruturas químicas dos principais retinoides.....	40
FIGURA 6	Fórmula estrutural da tretinoína e isotretinoína.....	41
FIGURA 7	Estrutura química do ácido nicotínico e nicotinamida	44
FIGURA 8	Estrutura química do ácido cítrico.....	45
FIGURA 9	Estrutura química do ácido sórbico.....	45
FIGURA 10	Curva de DSC do fármaco ácido retinoico na razão de aquecimento 5,10 e 20 °C.min ⁻¹	51
FIGURA 11	Difratograma de raios X do ácido retinoico (AR) com planos de difração e posição angular.....	52
FIGURA 12	Espectro com absorção na região do infravermelho (FTIR) do AR.....	53
FIGURA 13	Curva termogravimétrica do AR na razão de aquecimento 10°C.min ⁻¹ em atmosfera de nitrogênio.....	54
FIGURA 14	Comparativo dos perfis das curvas de DSC de AR, AS e seus respectivos liofilizados e misturas físicas obtidas na razão de 10°C.min ⁻¹	59
FIGURA 15	Espectros FTIR de AS, ARAS MF, ARAS LIO e AR.....	60
FIGURA 16	Comparativo dos perfis das curvas de DSC do AR obtidas na razão de 10 C°. min ⁻¹ da mistura física e liofilizado com AC.....	62
FIGURA 17	Espectros FTIR de AC, ARAC MF, ARAC LIO e AR.....	64
FIGURA 18	Comparativo dos perfis das curvas de DSC do AR obtidas na razão de 10 C°.min ⁻¹ da mistura física e liofilizado com NI.....	65
FIGURA 19	Espectros FTIR de NI, ARNI MF, ARNI LIO e AR.....	66
FIGURA 20	Difratograma de raios X do ácido sórbico (AS) com planos de difração e posição angular.....	67
FIGURA 21	Difratograma de raios X da mistura física ácido retinoico - ácido	

	sórbico (ARAS MF) com planos de difração e posição angular.....	68
FIGURA 22	Difratograma de raios X do liofilizado do ácido retinoico - ácido sórbico (ARAS LIO) com planos de difração e posição angular.....	69
FIGURA 23	Difratograma de raios X do ácido cítrico (AC) com planos de difração e posição angular.....	70
FIGURA 24	Difratograma de raios X da mistura física ácido retinoico - ácido cítrico (ARAC MF) com planos de difração e posição angular.....	71
FIGURA 25	Difratograma de raios X do liofilizado do ácido retinoico - ácido cítrico (ARAC LIO) com planos de difração e posição angular.....	72
FIGURA 26	Difratograma de raios X da nicotinamida (NI) com planos de difração e posição angular.....	73
FIGURA 27	Difratograma de raios X da mistura física ácido retinoico-nicotinamida (ARNI MF) com planos de difração e posição angular...	74
FIGURA 28	Difratograma de raios X do liofilizado do ácido retinoico nicotinamida (ARNI LIO) com planos de difração e posição angular.....	75
FIGURA 29	Difratogramas de comparação da presença e ausência das reflexões com maiores intensidades de posições angulares de AR e AC x ARAC MF e ARAC LIO.....	76
FIGURA 30	Curvas termogravimétricas do AR nas razões de aquecimento 10, 20 e 40 °C.min ⁻¹ em atmosfera de nitrogênio dinâmico.....	84
FIGURA 31	Curvas termogravimétricas de AR e AS, sua mistura física e liofilizado na razão de aquecimento de 10 °C.min ⁻¹	86
FIGURA 32	Curvas termogravimétricas de AR e AC , sua mistura física e liofilizado na razão de aquecimento de 10 °C.min ⁻¹	87
FIGURA 33	Curvas termogravimétricas de AR e NI, sua mistura física e liofilizado na razão de aquecimento de 10 °C.min ⁻¹	88
QUADRO 1	Medicamentos com tecnologia de dispersões sólidas.....	33

LISTA DE TABELAS

TABELA 1	Dados cristalográficos dos polimorfos do ácido retinoico.....	42
TABELA 2	Dados DSC de AR nas razões de aquecimento 5,10 e 20 °C.min ⁻¹	51
TABELA 3	Assinalamentos vibracionais característicos do AR.....	53
TABELA 4	Dados das curvas de DSC do AR, AS e seus respectivos liofilizados e misturas físicas obtidas na razão de 10 °C.min ⁻¹	59
TABELA 5	Assinalamentos vibracionais característicos de AR comparado com mistura física e liofilizado com AR e AS.....	61
TABELA 6	Comparativo das curvas de DSC do AR obtidas na razão de 10 C°. min ⁻¹ da mistura física e liofilizado com AC.....	62
TABELA 7	Assinalamentos vibracionais característicos do AR comparados com mistura física e liofilizado ARAC.....	64
TABELA 8	Comparativo das curvas de DSC de AR e NI mistura física e liofilizado obtidas na razão de 10 C°. min ⁻¹	65
TABELA 9	Assinalamentos vibracionais característicos do AR comparados com mistura física e liofilizado com NI.....	66
TABELA 10	Valores de tamanho do cristalito e das distâncias interplanares para AR, AC, ARAC MF e ARAC LIO.....	77
TABELA 11	Valores de tamanho do cristalito e das distâncias interplanares para AR, AS, ARAS MF e ARAS LIO.....	78
TABELA 12	Valores de tamanho do cristalito e das distâncias interplanares para AR, NI, ARNI MF e ARNI LIO.....	79
TABELA 13	Dados termogravimétricos da etapa principal de degradação calculados pelo método da derivada.....	84
TABELA 14	Valores dos parâmetros cinéticos determinados pelo modelo de Ozawa.....	85
TABELA 15	Valores dos parâmetros cinéticos determinados pelo modelo de Ozawa.....	86
TABELA 16	Dados termogravimétricos de AR e AC , sua mistura física e liofilizado na razão de aquecimento de 10 °C.min ⁻¹	88
TABELA 17	Dados termogravimétricos de AR e AC , sua mistura física e liofilizado na razão de aquecimento de 10 °C.min ⁻¹	89

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

AC – ácido cítrico

AR – ácido retinoico

ARAC LIO – liofilizado ácido retinoico – ácido cítrico

ARAC MF – mistura física ácido retinoico – ácido cítrico

ARAS LIO - liofilizado ácido retinoico – ácido sórbico

ARAS MF – mistura física ácido retinoico – ácido sórbico

ARNI LIO - liofilizado ácido retinoico – nicotinamida

ARNI MF – mistura física ácido retinoico – nicotinamida

AS – ácido sórbico

AT – análise térmica

CMC – carboximetilcelulose

d – distâncias interplanares

DNA – ácido desoxirribonucleico

DSC – calorimetria exploratória diferencial

DTA – análise térmica diferencial

FP – função parâmetro fundamental

FTIR – espectroscopia na região do infravermelho com Transformada de Fourier

GOF - “Goodness of Fit”

hkl – Índice de Miller

HPMC – hidroxipropilmetilcelulose

IARC – “International Agency for Research on Cancer”

IV – infravermelho

KBr – brometo de potássio

kV – kilovolt

MEV – microscopia eletrônica de varredura

MIR - infravermelho médio

N₂ - nitrogênio

NI – nicotinamida

NIR – infravermelho próximo

OMS – Organização Mundial de Saúde

PDRX – difratometria de raios X do pó

PEG – polietilenoglicol

PF – ponto de fusão

pKa – constante de equilíbrio ácido

PVP – polivinilpirrolidona

RAR – Receptor de ácido retinoico

R_{exp} – valor de refinamento esperado

R_{wp} - valor de refinamento final

SAR – Síndrome do Ácido Retinoico

ssNMR - Ressonância magnética nuclear do estado sólido

TC – tamanho do cristalito

TG – Termogravimetria

TM – Termomicroscopia

TOA – “termo-optical analysis”

T_{endset} – Temperatura final

T_{onset} – Temperatura inicial

T_{pico} – Temperatura do pico

ΔH_{fus} – variação da entalpia de fusão

Δ_m – perda de massa (%)

λ – comprimento de onda

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	16
2	OBJETIVOS.....	19
3	CAPÍTULO I – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	21
3.1	Técnicas Analíticas na Caracterização do Estado Sólido.....	21
3.1.1	<i>Análise Térmica</i>	22
3.1.1.1.	<u>Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)</u>	22
3.1.1.2	<u>Termogravimetria (TG)</u>	23
3.1.2	<i>Espectroscopia no Infravermelho (IV)</i>	23
3.1.3.	<i>Difratometria de Raios X do Pó (PDRX)</i>	25
3.1.3.1	<u>Rede de Bravais</u>	28
3.1.3.2	<u>Métodos de Refinamento Estrutural</u>	29
3.2	Modificação das Propriedades Físico-Químicas de Fármacos.....	30
3.2.1.	<i>Como garantir a natureza dos produtos formados?</i>	31
3.2.1.1	<u>Dispersões Sólidas</u>	32
3.2.1.2	<u>Cocristais</u>	34
3.2.1.3.	<u>Fármaco-modelo Ácido Retinoico – Modificação das propriedades físico-químicas</u>	38
3.2.3	<i>Características dos Adjuvantes</i>	43
3.2.3.1	<u>Nicotinamida</u>	43
3.2.3.2	<u>Ácido Cítrico</u>	44
3.2.3.3	<u>Ácido Sórbico</u>	45
4	CAPÍTULO II - CARACTERIZAÇÃO DO ÁCIDO RETINOICO.....	48
4.1	MATERIAIS E MÉTODOS.....	48
4.1.1	<i>Análise em nível de partículas</i>	48
4.1.1.1.	<u>Análise térmica (DSC)</u>	48
4.1.1.2.	<u>Termogravimetria (TG)</u>	49
4.1.1.3.	<u>Difração de raio X do pó (PDRX)</u>	49
4.1.2	<i>Análise em nível de moléculas</i>	49
4.1.2.1	<u>Análise de espectroscopia com absorção na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)</u>	49
4.2	RESULTADOS E DISCUSSÃO	50
4.2.1	<i>Análise em nível de partículas</i>	50
4.2.1.1	<u>Análise térmica DSC</u>	50
4.2.1.2.	<u>Difração de raios X (PDRX)</u>	51
4.2.2.	<i>Análise em nível de moléculas</i>	52
4.2.2.1	<u>Análise de espectroscopia com absorção na região do infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)</u>	52
4.2.2.2	<u>Termogravimetria</u>	54
5.	CAPÍTULO III - PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DOS LIOFILIZADOS.....	56
5.1	Materiais e Métodos.....	56
5.1.1	<i>Preparação das Misturas Físicas</i>	56

5.1.2	<i>Preparação dos Liofilizados.....</i>	57
5.1.3.	<i>Análise em nível de partículas.....</i>	57
<u>5.1.3.1</u>	<u><i>Análise por PDRX.....</i></u>	57
<u>5.1.3. 2.</u>	<u><i>Análise térmica DSC.....</i></u>	57
5.1.4	<i>Análise em nível de moléculas.....</i>	58
<u>5.1.4. 1.</u>	<u><i>Análise de espectroscopia com absorção na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR).....</i></u>	58
5. 2.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	58
5.2.1.	<i>Estudo de Caracterização do Ácido Retinoico(AR) e Ácido Sórbico (AS).</i>	58
<u>5.2.1.1</u>	<u><i>Caracterização por DSC.....</i></u>	58
<u>5.2.1.2</u>	<u><i>Caracterização por FTIR.....</i></u>	60
5.2.2.	<i>Estudo de caracterização do ácido retinoico e ácido cítrico.....</i>	61
<u>5.2.2.2</u>	<u><i>Caracterização por DSC.....</i></u>	61
<u>5.2.2.3</u>	<u><i>Caracterização por FTIR.....</i></u>	63
5.2.3	<i>Estudo de caracterização do ácido retinoico e nicotinamida.....</i>	64
<u>5.2.3.1</u>	<u><i>Caracterização por DSC.....</i></u>	64
<u>5.2.3.2</u>	<u><i>Caracterização por FTIR.....</i></u>	65
5.2.4	<i>Estudo de caracterização por PDRX de AR e seus adjuvantes tecnológicos AS, AC e NI.....</i>	67
<u>5.2.4.1</u>	<u><i>Ácido Sórbico (AS).....</i></u>	67
<u>5.2.4.2</u>	<u><i>Ácido Retinoico - Ácido Sórbico Mistura Física (ARAS MF).....</i></u>	68
<u>5.2.4.3</u>	<u><i>Ácido Retinoico - Ácido Sórbico Liofilizado (ARAS LIO).....</i></u>	68
<u>5.2.4.4</u>	<u><i>Ácido Cítrico (AC).....</i></u>	69
<u>5.2.4.5</u>	<u><i>Ácido Retinoico - Ácido Cítrico Mistura Física (ARAC MF).....</i></u>	70
<u>5.2.4.6</u>	<u><i>Ácido Retinoico - Ácido Cítrico Liofilizado (ARAC LIO).....</i></u>	71
<u>5.2.4.7</u>	<u><i>Nicotinamida(NI).....</i></u>	72
<u>5.2.4.8</u>	<u><i>Ácido Retinoico - Nicotinamida Mistura Física (ARNI MF).....</i></u>	73
<u>5.2.4.9</u>	<u><i>Ácido Retinoico - Nicotinamida Liofilizado (ARNI LIO).....</i></u>	74
5.2.5	<i>Considerações sobre a Análise Conjunta das Técnicas Analíticas utilizadas para AR e misturas com Adjuvantes Tecnológicos.....</i>	79
6	CAPÍTULO IV - PREVISÃO DA ESTABILIDADE DOS LIOFILIZADOS.....	82
6.1	MATERIAIS E MÉTODOS.....	82
<u>6.1.1.1</u>	<u><i>Estudo de cinética pelo método de Ozawa.....</i></u>	83
6.2	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	83
6.2.1	<i>Estudo da cinética de degradação pelo modelo não-isotérmico.....</i>	83
<u>6.2.2.1</u>	<u><i>Ácido Retinoico-Acido Sórbico (ARAS).....</i></u>	85
<u>6.2.2.2</u>	<u><i>Ácido Retinoico-Acido Cítrico (ARAC).....</i></u>	86
<u>6.2.2.3</u>	<u><i>Ácido Retinoico-Nicotinamida (ARNI).....</i></u>	88
	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	91
	REFERÊNCIAS.....	93

INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

Nas últimas três décadas as metodologias analíticas na área farmacêutica evoluíram de forma rápida, principalmente na área instrumental, com equipamentos acoplados a softwares numa parceria de sucesso com outras áreas da ciência, em especial a química e a ciência de materiais. Essas metodologias possuem grandes vantagens como a não utilização de solventes (“química verde”), uma tendência mundial e ecológica (LENARDAO et al., 2003).

Quando se trata da caracterização de fármacos ou produtos farmacêuticos deve-se ter em mente que as metodologias empregadas devem fornecer o maior número possível de informações e que, de preferência, sejam complementares. Essas informações serão de fundamental importância principalmente no desenvolvimento do medicamento, onde se pode fazer a seleção da melhor técnica ou da melhor formulação, a fim de obter uma boa biodisponibilidade e a manutenção das características durante todo o período de vida útil (“shelf life”) do medicamento (SILVA et al., 2009).

Essa caracterização se torna ainda mais importante quando são alteradas as propriedades físico-químicas do fármaco; muitas modificações podem ocorrer ao se aumentar a solubilidade de um fármaco, por exemplo, dependendo da técnica e da natureza dos compostos utilizados. Tais misturas podem sofrer interações completamente diferentes do objetivo inicial da pesquisa. Portanto é necessário um monitoramento através de técnicas de caracterização; esses dados podem fornecer o estado exato das misturas formadas.

A cada dia torna-se mais difícil descobrir moléculas inéditas com atividade farmacológica, portanto os olhares estão se voltando para as moléculas já consagradas como fármacos, mas que possuem algumas restrições como alta toxicidade, baixa biodisponibilidade, dentre outras (VARGAS, RAFFIN, MOURA, 2012). Numa visão inovadora os pesquisadores estão utilizando como ação principal de um fármaco o que era considerando um efeito colateral, ou ainda descobrindo novos usos com novas vias de administração (PENNA et al, 2005); é o caso do ácido retinoico (AR), objeto de estudo desse trabalho.

O AR tem seu uso consagrado na área de dermatologia, na diminuição dos sinais de envelhecimento e no tratamento da acne; porém, há cerca de 10 anos os pesquisadores começaram a investigar seu emprego no tratamento do câncer (EVANS; KYLE, 1999).

O câncer é uma patologia que se caracteriza pela multiplicação descontrolada e propagação de células anômalas pelo organismo vivo, seja animal ou vegetal. Possui como sinônimos os termos “neoplasia maligna” e “tumor maligno”, diferenciando-se dos tumores

benignos pelas suas propriedades de desdiferenciação (menos especializadas do que o tipo normal da qual se originam), poder invasivo e capacidade de fazer metástases (RANG et al., 2004).

Segundo a “International Agency for Research on Cancer” (IARC), órgão ligado à Organização Mundial de Saúde (OMS), em 2012 morreram 8,2 milhões de pessoas por câncer no mundo, um valor 8% maior do que em 2008. A projeção é que em 2015 a doença atinja 19,5 milhões de pessoas devido ao aumento da expectativa de vida da população (REUTERS, 2015).

Com relação ao mecanismo de ação o AR ativa os receptores do ácido retinoico (em inglês RAR), que se ligam a certa sequência de ácido desoxirribonucleico (DNA) e ativam/desativam os alvos genéticos. Tem função de regularizar a transcrição genética, desse modo governando múltiplas funções, como a divisão e diferenciação celular, resposta imune e desenvolvimento embrionário. Controla também o crescimento e a expansão de células cancerosas, prevenindo a proliferação de células (DRAELOS, 2009).

De modo geral os retinoides, grupo do qual o AR faz parte, possuem uma grande habilidade em controlar a diferenciação e proliferação celular. Por esse fato existe um grande interesse em estudar o efeito do AR sobre a carcinogênese. A ação antineoplásica da vitamina A foi verificada pela primeira vez na década de 60 em ratos com carcinoma pulmonar experimental. Desde então, inúmeros estudos em cultura de células ou modelo animal vêm confirmando esse efeito. Existe uma variedade de ensaios clínicos que têm avaliado a atividade do AR em doenças hematológicas malignas e em tumores sólidos epiteliais (COELHO et al., 2003); já existe no mercado um medicamento com AR para o tratamento da anemia promielocítica aguda (VESANOID, 2015).

A presente proposta visa contribuir com o conhecimento sobre a quimioterapia utilizada no tratamento do câncer, especificamente na leucemia promielocítica aguda. Na terapia medicamentosa dessa patologia já é utilizado o ácido retinoico, normalmente com remissão da doença, porém com um esquema posológico que pode ocasionar toxicidade grave, principalmente em casos de pacientes especiais como idosos e crianças, além da dificuldade de adesão ao tratamento.

A contribuição fundamenta-se no desenvolvimento de metodologias analíticas que possibilitem a caracterização e estudo de estabilidade dos produtos obtidos por liofilização do ácido retinoico e que sejam capazes de fornecer um grande número de informações.

OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Avaliar a utilização de metodologias analíticas difratometria de raios x do pó (PDRX),infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), calorimetria exploratória diferencial (DSC) e termogravimetria (TG) na caracterização do ácido retinoico e seus produtos obtidos por liofilização, além de avaliar as interações físico-químicas entre fármaco e adjuvantes tecnológicos obtidos por essa técnica.

2.2. Objetivos Específicos

- Caracterizar o AR e adjuvantes tecnológicos por DSC, TG, FTIR, PDRX;
- Avaliar as interações físico-químicas de AR e adjuvantes tecnológicos por DSC, FTIR e PDRX;
- Preparar liofilizados de AR por com diferentes adjuvantes tecnológicos;
- Avaliar as interações físico-químicas dos liofilizados de AR utilizando DSC, FTIR e PDRX.;
- Utilizar o PDRX na caracterização do hábito cristalino de AR e seu monitoramento nos liofilizados obtidos
- Caracterizar e prever a estabilidade dos liofilizados por TG;
- Analisar a contribuição das ferramentas analíticas utilizadas.



CAPÍTULO I
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Técnicas Analíticas na Caracterização do Estado Sólido

Um material no estado sólido possui estrutura tridimensional e volume definidos. Um sólido pode ocorrer em sua forma cristalina ou amorfa, além disso, podem ocorrer diferentes formas cristalinas (polimorfos) com distintas propriedades físico-químicas (KATRINCIC et al., 2009).

Uma vez que na área farmacêutica encontramos inúmeros fármacos e adjuvantes tecnológicos no estado sólido, bem como medicamentos de uso oral (YMÉN; STOREY, 2011) é necessário um controle das propriedades físico-químicas desses compostos, visto que as modificações de suas propriedades podem acarretar mudanças em suas propriedades biofarmacotécnicas com diferentes biodisponibilidades. (STORPIRTIS et al., 2009).

A caracterização do estado sólido dos fármacos é de grande importância na pesquisa, desenvolvimento e inovação com o intuito de obter o melhor custo-benefício para formas farmacêuticas de uso oral (KATRINCIC et al., 2009). As diversas implicações advindas da natureza do estado sólido de fármacos requerem investigação ampla dos agentes terapêuticos (CHIENG; RADES; AALTONEN, 2011); essas investigações podem ser conduzidas com o auxílio de ferramentas tanto teóricas quanto experimentais, onde se destacam as análises instrumentais (AALTONEN et al., 2009).

Desse modo é necessário caracterizar o estado sólido das substâncias da forma mais completa possível através da utilização adequada e integrada das diversas técnicas (YU; REUTZEL; STEPHENSON, 1998).

As técnicas utilizadas podem ser de cinco tipos (STORPIRTIS et al, 2009):

1. Técnicas de Determinação da Estrutura Cristalina – para estudo das propriedades cristalinas é utilizada a difração de raios X do pó (PDRX) com fontes convencionais ou radiação síncroton.
2. Técnicas Termoanalíticas – as mais utilizadas para estudo de interações e do polimorfismo são a calorimetria exploratória diferencial (DSC), a análise térmica diferencial (DTA), termomicroscopia (TM) (em inglês “termo-optical analysis” - TOA) e a termogravimetria (TG).
3. Técnicas Espectroscópicas – espectroscopia de infravermelho (IV), Raman e ressonância magnética nuclear do estado sólido (ssNMR).

4. Técnicas para Caracterização Morfológica – microscopia óptica (com e sem a luz polarizada) e eletrônica de varredura (MEV).
5. Técnicas para Avaliação de Desempenho – dissolução intrínseca.

Recomendam-se no mínimo duas técnicas complementares. As técnicas mais aplicadas são: difração de raios x do pó (PDRX), calorimetria exploratória diferencial (DSC), infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) e microscopia (CHIENG; RADEST; AALTONEN, 2011).

Das técnicas citadas serão detalhadas IV, PDRX, DSC e TG, pois quando analisados seus resultados conjuntamente podem-se obter informações detalhadas e complementares.

3.1.1. Análise Térmica

O princípio das técnicas termoanalíticas consiste na medida de uma propriedade física de uma substância e/ou seus produtos de reação em função da temperatura, enquanto a substância é submetida a um programa controlado de aquecimento (IONASHIRO, 2005; DENARI; CAVALHEIRO, 2012). Os fatores, tais como massa, volume e natureza da amostra, tamanho e forma da partícula, pressão, razão de aquecimento e natureza do gás da arraste possuem importante influência nas características da curva registrada (KEATTCH; DOLLIMORE, 1975).

São muito versáteis e com inúmeras aplicações como avaliação da cristalinidade, compatibilidades, degradação, dessolvatação, construção de diagrama de fases, estabilidade, fusão, interações, polimorfismo entre outras (STORPIRTIS et al, 2009). Possuem as vantagens de não necessitar de preparação da amostra e ter um custo menor, somente necessitando de um gás de arraste, que pode ser ar sintético (quando se deseja observar oxidação, por exemplo) ou nitrogênio.

As técnicas termoanalíticas DSC e TG, são de grande importância no estudo de pré-formulação, na caracterização e previsão da estabilidade, respectivamente (IOSHINARO, 2005).

3.1.1.1. Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

Na técnica DSC 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 (IONASHIRO, 2005). É derivada da análise térmica diferencial (DTA), sendo consideradas semelhantes e complementares, pois permitem avaliar as diferenças de entalpia durante o aquecimento ou resfriamento.

Existem duas modalidades de medição na técnica DSC: calorimetria exploratória diferencial com compensação de potência e com fluxo de calor (BERNAL et al., 2002).

Berbenni et al (2001) utilizaram DSC para caracterização físico-química do AR, tendo observado que ocorrem dois eventos na curva DSC, o primeiro a 183 °C atribuído ao evento de fusão do fármaco e o segundo em torno de 150 °C devido a transição de fase cristalina .

Caviglioli et al (2006) também utilizaram DSC na caracterização do ácido retinoico, porém avaliaram o polimorfismo ao submeter o fármaco a diferentes solventes, pressões e temperaturas tendo observado a ocorrência de transição polimórfica da forma I para a II do ácido retinoico, sendo que a forma I apresenta um leve pico endotérmico em 146 °C, antes do ponto de fusão do fármaco (em torno de 183 °C), o que não ocorreu na forma II.

3.1.1.2. Termogravimetria (TG)

A termogravimetria (TG) é uma técnica analítica na qual é analisada de forma contínua a massa da amostra, onde a atmosfera é controlada em função da temperatura ou do tempo. Com esse método é possível o fornecimento de informações sobre reações de decomposição e oxidação e de processos físicos como vaporização, sublimação e dessorção (HATAKEYAMA; QUINN, 1997; SKOOG; HOLLER; NIEMAN, 2002).

É uma técnica quantitativa e qualitativa, capaz de produzir resultados rápidos e reprodutíveis, onde o registro da análise é representado pela curva termogravimétrica (SOUZA, 2001).

3.1.2. Espectroscopia no Infravermelho (IV)

A espectroscopia no infravermelho, também descrita como espectroscopia vibracional, baseia-se na interação da radiação infravermelha com a matéria e ocorre com o acoplamento do campo elétrico oscilante da vibração molecular e o da radiação incidente. No espectro eletromagnético, a faixa de radiação do infravermelho ocorre na faixa entre o visível e microondas, sendo que a região de maior interesse para fins analíticos está entre 4000 a 400

cm-1. Essa técnica pode ser utilizada na identificação de compostos puros, detecção e identificação de impurezas, análise da estabilidade química de fármacos dentre outros (MENDHAM et al, 2002; FORATO et al., 2010).

A espectroscopia no infravermelho (IV) é utilizada para avaliar se ocorrem mudanças dos picos e bandas característicos da amostra após o desenvolvimento tecnológico, que pode envolver secagem, congelamento, adição de variados adjuvantes tecnológicos e solventes, fatores esses que podem modificar as propriedades do estado sólido. Fornece vibrações características que são empregadas para a elucidação de estruturas moleculares ou a modificação dessas vibrações relacionadas a algum tipo de interação química dos componentes de uma formulação ou alteração na estabilidade (OLIVEIRA, 2009).

Com relação à espectroscopia Raman o sinal obtido é referente ao espalhamento de fótons em função da frequência, quando uma radiação monocromática (laser) é incidida na amostra, baseia-se no fenômeno da dispersão inelástica, ao contrário da espectroscopia no infravermelho médio (MIR) e próximo (NIR), onde o sinal obtido é referente à absorção de energia pelos compostos químicos (STORPIRTIS et al., 2009).

Sendo o sinal obtido muito fraco na espectroscopia Raman, o equipamento utiliza uma fonte monocromática e de alta intensidade, bem como filtros para remover a radiação que interfere na qualidade do resultado (STORPIRTIS et al., 2009). O espectro Raman é complementar ao MIR, sinais que são pouco intensos no MIR são muito intensos no Raman e vice-versa, sendo o espectro obtido na mesma faixa do MIR (LARKIN, 2011).

Com relação à evolução dos equipamentos de IV, no final da década de 70 houve uma mudança radical. Inicialmente, os equipamentos possuíam como base os princípios dispersivos (presença de prismas, redes de difração, fendas, etc); logo ocorreu uma substituição por equipamentos baseados em princípios interferométricos, a chamada transformada de Fourier (FTIR) (ALVES, 2009).

A instrumentação que utiliza FTIR apresenta algumas vantagens sobre as demais como o fato de todos os números de onda ser observados simultaneamente, velocidades rápidas de varredura, melhora da razão sinal/ruído, menor tempo de contato da amostra com a radiação incidente minimizando os problemas de decomposição térmica (ALVES, 2009).

3.1.3. Difractometria de Raios X do Pó (PDRX)

A técnica de PDRX é de grande importância no estudo do estado sólido, pois é possível observar se ocorreu modificação no difratograma, na intensidade dos picos, surgimento ou desaparecimento, modificação nos ângulos do cristalito, nos planos de difração, aumento ou diminuição da cristalinidade (amorfização), entre outros, após modificações físico-químicas, por exemplo.

É necessário deixar claro o conceito de “amorfo”, compreendido de modo diverso no meio farmacêutico. Segundo Cullity e Stock (2001) um material cristalino possui planos de simetria com ângulos de valores que se repetem, desse modo têm-se picos intensos no difratograma. Quando os valores nesses ângulos não se repetem, não são observados picos intensos caracterizando o que conhecemos como material “amorfo”.

A técnica fundamenta-se na disposição ordenada dos átomos presentes em um material sólido cristalino que faz com que esses átomos se ordenem em planos cristalinos separados entre si por distâncias interplanares (d) da mesma ordem de grandeza dos comprimentos de onda dos raios X. O feixe de raios X incide na amostra e interage com os elétrons dos átomos gerando padrões de difração. O ordenamento dos átomos no sólido define a estrutura cristalina (STORPIRTIS et al, 2009).

O fenômeno de difração obedece a Lei de Bragg que considera dois ou mais planos de uma estrutura cristalina, as condições para que ocorra a difração de raios X e vai depender da diferença de caminho percorrida pelos raios X e o comprimento de onda da radiação incidente.

Esta condição é expressa pela lei de Bragg (CALLISTER, 2008), que é representada na Equação 1 a seguir.

$$n \lambda = 2 d \sin \theta, \quad \text{(Equação 1)}$$

onde

λ - comprimento de onda da radiação incidente,

“n” - número inteiro (ordem de difração),

“d” - distância interplanar para o conjunto de planos “h k l” (índice de Miller) da estrutura cristalina e

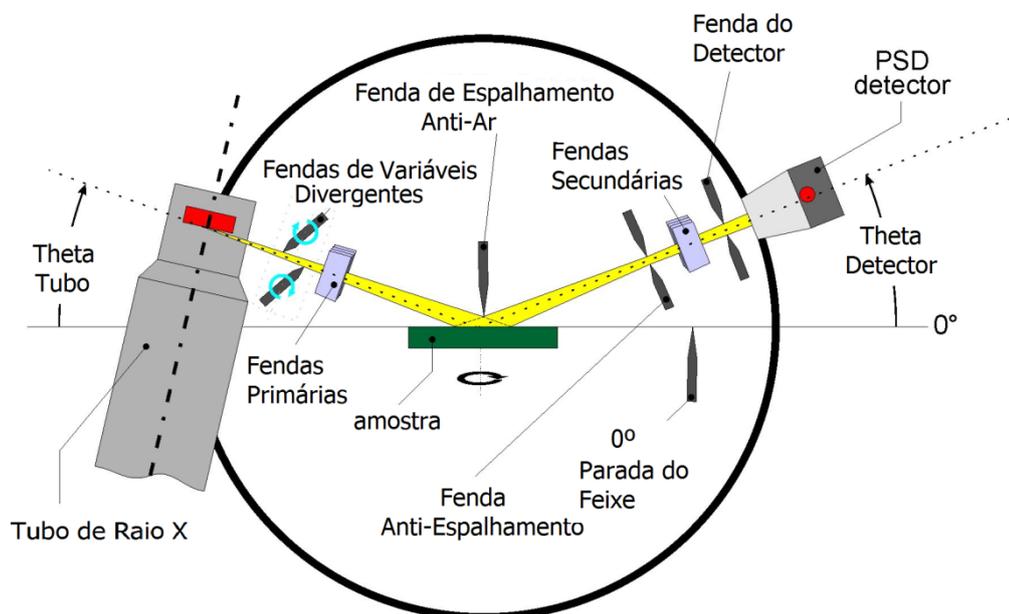
θ - ângulo de incidência dos raios X medido entre o feixe incidente e os planos cristalinos.

A difração leva em conta apenas as fases cristalinas que contribuem para a intensidade do pico em um padrão de difração. A contribuição total de raios X também vem do ruído de fundo inerente, assim como a partir de fases amorfas, cujos perfis não geram picos típicos.

Os raios X são gerados em um difratômetro (Figura 1), ao aplicar uma diferença de potencial da ordem de 35 kV entre um cátodo e um alvo metálico que funcionam como ânodo, mantidos no vácuo. O difratômetro é constituído basicamente por um tubo de raios X, um porta-amostras onde incide a radiação e um detector móvel, geralmente de cintilação.

No difratômetro a captação do feixe difratado é feita por meio de um detector de acordo com um arranjo geométrico denominado de geometria Bragg-Brentano (Figura 1).

FIGURA 1 – Arranjo Geométrico de Bragg-Brentano



Fonte: GEOMETRIA DE BRAGG-BRENTANO [2014?]

Quando o filamento de tungstênio do cátodo é aquecido, liberam-se elétrons, por efeito termo iônico, que são acelerados através do vácuo pela diferença de potencial entre o cátodo e o ânodo, ganhando, assim, energia cinética. Quando os elétrons se chocam com o alvo metálico (por exemplo, de molibdênio), liberam-se raios X. Contudo, a maior parte da energia cinética (em torno de 98%) é convertida em calor, razão pela qual o alvo metálico deve ser resfriado externamente (CALLISTER, 2008).

A mudança no tamanho do cristalito e na rede cristalina afetam a forma e a largura das reflexões de Bragg, quanto maior o tamanho do cristalito, mais largo será o pico de difração e quanto maior o número de partículas com mesma rede cristalina, mais intenso será o pico de difração (BAIG et al., 1999).

Essas mudanças também influenciam as propriedades físico-químicas de fármacos e, portanto, devem ser conhecidos e monitorados (SCHULTHEISS; NEWMAN, 2009; CHIENG; RADES; AALTONEN, 2011). Sendo assim, a elucidação da estrutura cristalina de fármacos possibilita a avaliação do empacotamento e conformação das moléculas, bem como o conhecimento das interações intra e intermoleculares (CHIENG; RADES; AALTONEN, 2011).

A técnica de PDRX foi utilizada por diversos autores para caracterizar modificações

biofarmacotécnicas feitas com o AR, sendo destacados a seguir alguns desses trabalhos.

Berbenni et al (2001) verificaram se ocorreu mudança no difratograma com tratamento térmico do ácido retinoico (130 °C - 66 h - N₂). Após aquecimento observaram a mudança do padrão de difração, com formação de nova fase sólida diferente das originais (monoclínica e triclínica).

Ascenso et al (2001) utilizaram o método para confirmar se ocorreu um verdadeiro complexo de inclusão entre ácido retinoico e ciclodextrina, tendo o complexo se apresentado mais amorfo que o ácido retinoico. Uma explicação pode ser atribuída a ocorrência de ligação não-covalente entre o ácido retinoico e a ciclodextrina tornando o complexo menos estável e a intensidade dos picos menor.

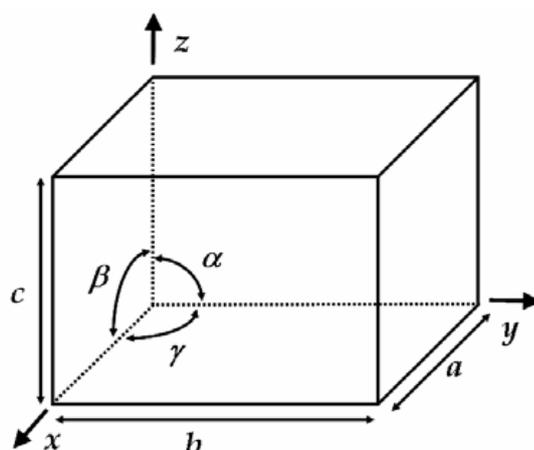
Caviglioli et al (2006) puderam diferenciar através do método as formas polimórficas I (monoclínica) e II (triclínica) do AR através dos distintos padrões de difração.

3.1.3.1. Rede de Bravais

É importante conhecer quais os tipos de redes cristalinas existentes e suas características ao se estudar os materiais cristalinos.

O volume de uma célula cristalina pode ser calculado utilizando os parâmetros da cela unitária; α , β e γ para designar os ângulos, respectivamente, entre os eixos b e c , c e a e a e b , c , conforme mostrado na Figura 2.

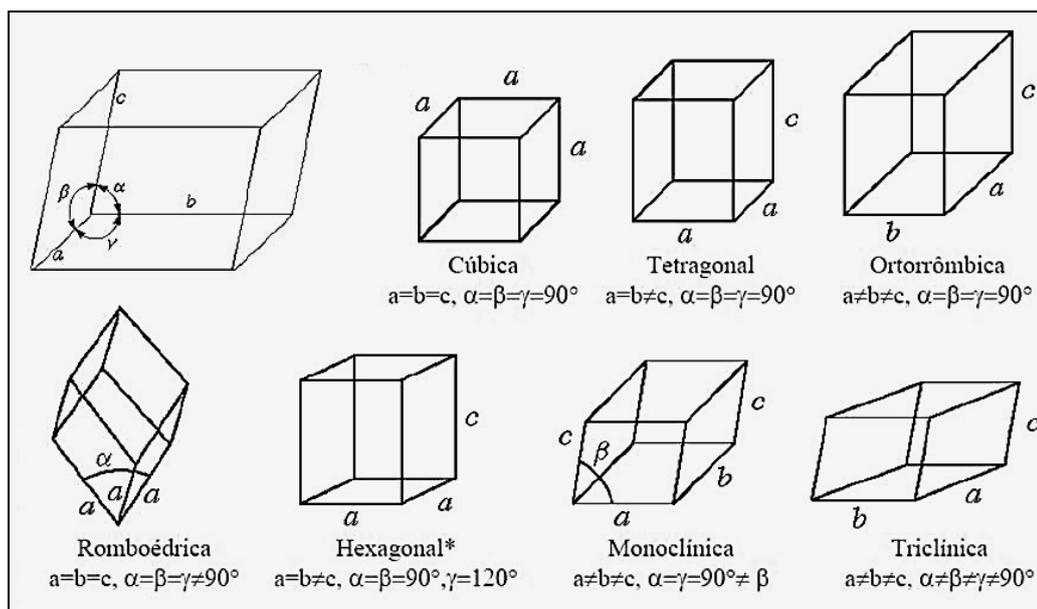
FIGURA 2 – Eixos de uma célula unitária cristalina



Conhecendo-se os parâmetros da cela unitária e os índices de Miller (h k l) associados aos planos cristalográficos responsáveis pela difração de raios X é possível calcular o valor da distância interplanar (CALLISTER, 2008).

Rede de Bravais é a denominação dada às configurações básicas que resultam da combinação dos sistemas de cristalização, mostrando a disposição dos átomos nas células unitárias. Existem 7 tipos de redes cristalinas possíveis (Figura 3), destas podemos identificar 14 tipos de células unitárias possíveis (WYCKOFF, 1971).

FIGURA 3 - Rede de Bravais



3.1.3. 2. Métodos de Refinamento Estrutural

As informações fornecidas por um difratograma podem ser analisadas de diversas maneiras, sendo que na área farmacêutica esses conhecimentos são relativamente novos, sendo utilizados a mais tempo pela ciência dos materiais.

Dentre as análises utilizadas o método Rietveld é a mais utilizada. O método envolve um ajuste matemático de um padrão experimental com o modelo (teórico ou padrão) através do método de mínimos quadrados. Faz um ajuste empírico a partir da forma do pico; o método utiliza as funções matemáticas de pico, com grande grau de precisão (Gaussian, Lorentzian, Voight, Pseudo-Voight, Pearson VII, etc) (YOUNG, 2000) para “modelar” a forma do pico para aplicação da função adequada é preciso observar se o pico de difração assemelha-se a uma curva gaussiana ou não e dessa forma escolher o melhor modelo.

Pode também ser usada a função parâmetro fundamental (FP), a qual oferece algumas vantagens, uma vez que leva em consideração diversos parâmetros importantes, tais como física, óptica do difratômetro, estrutura cristalina e fração de volume da fase cristalina.

Em ambos os casos a qualidade do processo de ajuste é avaliado de acordo com o critério do método dos mínimos quadrados (RIETVELD, 1969; CULLITY;STOCK, 2001).

Os parâmetros utilizados no refinamento são de grande importância na análise por PDRX, sendo que os mais utilizados são:

- R_{exp} - análise estatística dos dados para fazer uma previsão do valor final do refinamento, ou seja, do R_{wp} .
- R_{wp} - é o R ponderado. Indica se o refinamento foi bom; quanto mais próximo de R_{exp} estiver o R_{wp} , melhor será o refinamento. Para um ajuste perfeito R_{exp} e R_{wp} devem ser iguais.
- GOF (Goodness of Fit) - compara o valor de R_{wp} obtido no refinamento com o esperado

Quanto menor o valor de GOF mais “exigente” foi o critério de refinamento usado.

Ajuste Le Bail – parâmetro de refinamento que extrai intensidades (índice hkl) a partir de dados de difração de pó. Isto é feito a fim de encontrar as intensidades que são adequados para determinar a estrutura atômica de um material cristalino e para refinar a célula unitária. Também chamado de “Profile Matching”.

Para o método de Le Bail, a célula unitária e o grupo espacial aproximado de amostra devem ser pré-determinados. O algoritmo envolve refinamento da célula unitária, os parâmetros de perfil, e as intensidades dos picos para coincidir com o padrão de difração medido. Ele geralmente fornece um método rápido para refinar a célula unitária, que permite melhor planejamento experimental e fornece uma estimativa mais confiável para as intensidades das reflexões permitidas para diferentes simetrias do cristal (YOUNG; LARSON; PAIVA-SANTOS, 1995; ARAÚJO et al, 2005).

O método Le Bail e os demais citados foram utilizados no presente trabalho para o tratamento dos dados através do software TOPAS.

3.2 Modificação das Propriedades Físico-Químicas de Fármacos

No passado a visão de pesquisar novos fármacos estava sempre ligada à síntese ou biossíntese de novas moléculas. Muitas moléculas descobertas apresentavam alguma restrição *in vivo* como toxicidade, baixa biodisponibilidade, entre outros. Além disso, existe sempre o desafio de manter as condições originais do fármaco ou medicamento quando ocorrem

instabilidades.

Dessa forma os pesquisadores na indústria e academia passaram a lançar um novo “olhar” para as moléculas já existentes e a investir em tecnologias de modificação das propriedades físico-químicas desses compostos. Dentre as causas da baixa biodisponibilidade de fármacos se destaca a baixa solubilidade aquosa (VARGAS; RAFFIN; MOURA, 2012).

Tendo baixa biodisponibilidade o fármaco chega ao local de ação em quantidades inadequadas (LIPINSKI, 2002). Para que se tenha uma boa biodisponibilidade é preciso que o fármaco sofra liberação e dissolução, atravessando as membranas celulares e atingindo assim a circulação sistêmica (AMIDON, 1995; WENLOCK et al, 2003).

Por definição a solubilidade é a concentração de um soluto em uma solução saturada, a uma determinada temperatura. É determinada por princípios cinéticos e termodinâmicos, como o tempo e grau de saturação da solução (SINKO, 2008).

A solubilidade pode ser aumentada com a diminuição do tamanho das partículas, com o aumento da temperatura no meio, com mudança de pH do meio (por exemplo, fármacos, com um pKa na faixa ácida são mais solúveis em meio alcalino), a formação de misturas eutéticas, e sais, bem como a utilização de certos adjuvantes tecnológicos (ALSENZ; KANSY, 2007).

Além dessas, inúmeras outras estratégias têm sido utilizadas, podendo-se citar como exemplo a produção de dispersões sólidas, microemulsões, cocrystalis, nanopartículas, formação de complexos de inclusão com ciclodextrinas.

3.2.1. Como garantir a natureza dos produtos formados?

No intuito de modificar as propriedades físico-químicas de um fármaco muitas vezes são obtidos produtos com propriedades diversas, mesmo utilizando metodologias de obtenção idênticas. Nos casos onde são utilizadas técnicas de secagem e adjuvantes tecnológicos de uso comum na indústria farmacêutica os produtos formados só terão sua natureza bem definida após uma completa e criteriosa caracterização, etapa determinante no processo de desenvolvimento do fármaco, da qual dependerão as demais. Esse é o caso das tecnologias de obtenção de sais, dispersões sólidas, cocrystalis, por exemplo. A escolha das ferramentas analíticas adequadas e complementares será fundamental para esse tipo de questionamento.

Considerando o foco de interesse desse trabalho duas tecnologias serão compreendidas de forma detalhada: dispersões sólidas e cocrystalis.

3.2.1.1 Dispersões Sólidas

Dispersões sólidas são sistemas nos quais um fármaco com baixa solubilidade aquosa encontra-se disperso em um carreador hidrofílico (nas dispersões sólidas os adjuvantes tecnológicos são chamados de carreadores) ou matriz no estado sólido, a fim de melhorar a solubilidade e aumentar a taxa de dissolução do fármaco (VASCONCELOS; SARMENTO; COSTA, 2007; ALVES et al, 2012).

O termo *dispersões sólidas* foi inicialmente proposto pelos pesquisadores Sekiguchi e Obi, em 1961, quando investigaram misturas eutéticas e sua influência na dissolução do fármaco sulfonamida e um carreador hidrossolúvel (JATWANI et al., 2012).

As dispersões sólidas também têm sido utilizadas para aumentar a estabilidade química de fármacos em solução ou suspensão (SETHIA; SQUILLANTE, 2003; ALVES, et al., 2012).

É uma metodologia que possui as vantagens de ser de fácil obtenção, menor custo de matérias-primas e equipamentos e maior combinação de doses (VARGAS; RAFFIN; MOURA, 2012).

As dispersões sólidas se classificam, conforme sua técnica de obtenção, em primeira, segunda ou terceira geração (STORPIRTIS et al. 2009).

- Primeira Geração - Formação de misturas eutéticas com carreadores hidrofílicos (ex. uréia, manitol).
- Segunda Geração - Formação de produto amorfo (carreadores como polietilenoglicol, polivinilpirrolidona e derivados da celulose)
- Terceira Geração - Mistura com surfactantes (ex. Gelucire 14/44, polissorbatos, etc,) que promovem o aumento da solubilidade através da diminuição da tensão interfacial.

A formação de misturas eutéticas ocorre com a reunião de dois sólidos que, em determinada proporção e temperatura, fundem, originando uma mistura com ponto de fusão menor que os compostos isoladamente. Essa mistura então se cristaliza em pequenas partículas, melhorando a dissolução do fármaco, devido ao aumento da área superficial (LEUNER; DRESSMAN, 2000; SETHIA, SQUILLANTE, 2003).

Quanto às técnicas de preparação de dispersões sólidas as mais utilizadas são fusão

com carreador, evaporação do solvente, secagem por aspersão (“spray dryer”), extração por fluido supercrítico, malaxagem e liofilização (VARGAS; RAFFIN; MOURA, 2012).

Como carreadores podem ser utilizados polímeros como polivinilpirrolidona (PVP), polietilenoglicóis (PEGs) ou polímeros de celulose. Em alguns casos pode ocorrer a formação de *soluções sólidas*, em que o polímero se apresenta como uma rede amorfa, no qual o fármaco é aprisionado. Pode também ocorrer uma plastificação onde as moléculas do soluto são envolvidas por um polímero, formando uma camada e resultando numa redução da sua temperatura de transição vítrea (LEUNER; DRESSMAN, 2000).

Quando são utilizados os polímeros (PVP), (PEGs) ou polímeros de celulose, é comum serem formadas *soluções sólidas*. Em alguns casos de utilização de PVP o fármaco pode tornar-se mais amorfo, um estado termodinamicamente mais instável, liberando o fármaco mais rapidamente. A diminuição da cristalinidade do fármaco pode ocorrer pela formação de pontes de hidrogênio (FORD, 1986; MATSUMOTO; ZOGRAFI, 1999).

No caso de polímeros hidrofílicos, tais como derivados de celulose (HPMC - hidroxipropilmetilcelulose, carboximetilcelulose - CMC, etc.), polímeros semi-sintéticos (alginate, goma xantana, quitosana, etc) e os polímeros acrílicos (carbômeros) (LOPES; LOBO; COSTA, 2005), quando em contato com a água, atuam como um plastificante (COLOMBO et al., 2000).

Existem no mercado medicamento que são produzidos através de dispersões sólidas. É o caso do medicamento GrisPEG (antifúngico), Cesamet (antiemético), Sporanox (antifúngico) e o Kaletra, usado na terapia antirretroviral (HIV). Como pode ser observado no Quadro 1, os carreadores utilizados foram o PEG e PVP. Quanto às tecnologias destacaram-se o “spray dryer” e a extrusão à quente.

Quadro 1 - Medicamentos com tecnologia de dispersões sólidas.

Medicamento	Fármaco	Carreador	Tecnologia	Indústria	Ano de Aprovação
GrisPEG	griseofulvina	PEG 400 e 8000, PVP	Fusão a quente	Pedinol Pharm Inc.	1975
Cesamet	nabilona	PVP	Desconhecida	Meda Pharmaceuticals	1985
Sporanox	itraconazol	PEG	Spray Drying	Jansen	1996
Kaletra	lopinavir/ ritonavir	PEG, PVP	Extrusão à quente	Abbott	2005

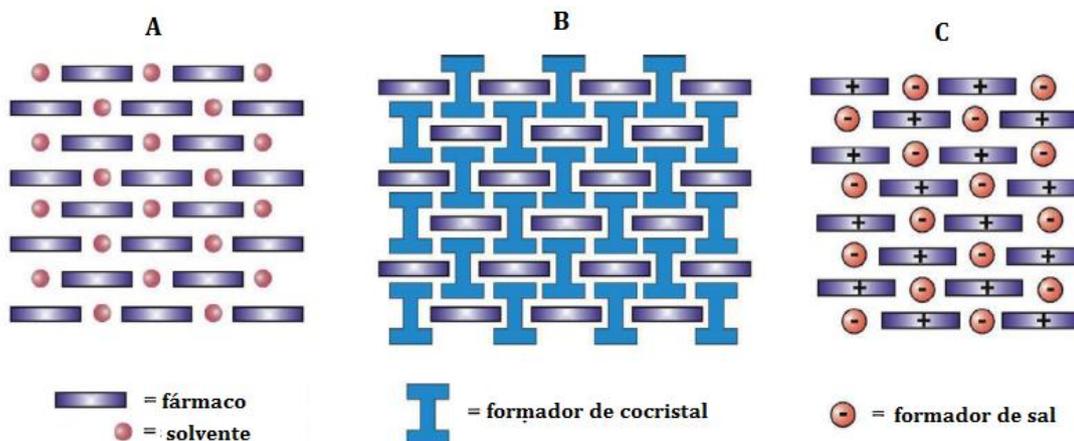
Fonte: Adaptado de “New Jersey Centre for Biomaterials” (2015) e VO; PARK; LEE (2013).

3.2.1.2 Cocristais

Cocristais podem ser definidos como “um complexo cristalino de dois ou mais constituintes moleculares neutros ligados em conjunto na rede cristalina através de interações não covalentes, incluindo muitas vezes ligações de hidrogênio” (JONES; MOTHERWELL; TRASK, 2006) ou "sólidos cristalinos compostos por duas ou mais moléculas na mesma rede cristalina” (FDA, 2013) ou ainda como “sólidos cristalinos com múltiplos componentes composto de um fármaco e um ou mais compostos, conhecidos como coformadores”.

Os cocristais estão intrinsecamente relacionados com outros sólidos multicomponentes farmacologicamente relevantes, como os sais, solvatos ou hidratos (Figura 4).

FIGURA 4 - Representação Esquemática de Solvatos/Hidratos, Cocristais e Sais.



Solvatos/Hidratos (A)/ Cocristais (B) /Sais (C).

Fonte: Adaptado de FRISCIC, JONES (2010).

Diferentemente dos sais e solvatos/hidratos os cocristais possuem características como ligações de hidrogênio, além de uma estrutura cristalina própria.

Ao compararmos os cocristais com outras formas sólidas utilizadas na área farmacêutica, os primeiros possibilitam uma maior variedade de modificações, permitindo a utilização simultânea de vários grupos funcionais de um mesmo composto, além de possibilitar o desenho da estrutura de interesse e sua obtenção, em alguns casos, através de técnicas livres de solvente, a chamada “química verde” (SHAN; ZAWOROTKO, 2008; JAMES et al., 2012).

Na formação de cocristais é importante a seleção adequada do coformador, tornando o estudo mais racional, dinâmico e menos dispendioso. O critério mais comumente utilizado é observar a formação de “*synthons supramoleculares*”, quando ocorre dentro do cocrystal a formação de uma supermolécula utilizando fragmentos moleculares específicos que irão desempenhar um papel importante na formação dos cocristais (THAKURIA et al., 2013).

Nas técnicas de preparação de cocristais são utilizados os mesmos princípios de cristalização, onde em solução supersaturada uma substância começa a sofrer nucleação com formação de “clusters” (agregados) e consequente cristalização. É no estágio de nucleação que os átomos se arranjam de uma forma definida e periódica que define a estrutura do cristal. A velocidade de nucleação e de crescimento é comandada pela existência de supersaturação

na solução (JONES; MOTHERWELL; TRASK, 2006)

Deve-se primeiro verificar quais os grupos funcionais que estão presentes na molécula do fármaco e posteriormente selecionar os possíveis coformadores que possuem grupos funcionais compatíveis com o fármaco. Devido à finalidade da formação de cocristsais farmacêuticos, os conformadores devem ser inócuos e serem compostos reconhecidos pela FDA (REDDY, NANGIA, LYNCH, 2004). Os cocristsais têm demonstrando ser muito úteis na melhoria de estabilidade, solubilidade, velocidade aparente de dissolução, biodisponibilidade, bem como nas propriedades mecânicas do fármaco (AAKERÖY; FASULO; DESPER, 2007).

É importante ressaltar que a solubilidade de fármacos ionizáveis é altamente dependente do seu grau de ionização (dissociação), uma vez que a hidrofiliabilidade das espécies ionizadas é maior em relação às espécies não-ionizadas. O grau de dissociação, por sua vez, é dependente do pKa do composto e do pH da solução. Neste contexto, valores de pH acima do pKa de um ácido fraco e abaixo do pKa de bases fracas culminam em um aumento significativo da solubilidade como resultado da ionização. Desta forma, a manipulação das formas sólidas visando ao aumento da solubilidade pelos princípios da dependência do pH pode ser atingida através da obtenção de sais ou cocristsais com compostos ionizáveis (NEHM; RODRÍGUEZ-SPONG; RODRÍGUEZ-HORNEDO, 2006).

A estratégia tradicional de formulação de sal para melhorar a solubilidade de fármacos torna-se ineficiente quando se trata de moléculas que não possuem grupos funcionais ionizáveis, têm porções sensíveis que são propensas à decomposição/racemização e/ou não são suficientemente ácido/base para permitir a formação de sal. Essas moléculas são possíveis de serem moduladas através da produção de cocristsais. Para os fármacos não ionizáveis ou compostos com valores de pKa em uma faixa onde a formação de sal possível é muito limitada, a produção de um cocrystal é uma alternativa interessante (BABU; NANGIA, 2011; ELDER; HOLM; DIEGO, 2013)

Variadas técnicas de preparação de cocristsais são encontradas na literatura, como por exemplo, Arenas-García et al. (2010), formaram vinte cocristsais de acetazolamida utilizando como coformadores o ácido 4-hidroxibenzóico e a nicotinamida através do gotejamento de solvente (acetona, acetonitrila e água) seguido de trituração. Os cocristsais foram caracterizados através de difração de raios-X do pó (PDRX), espectroscopia no infravermelho (IV) e termogravimetria - calorimetria exploratória diferencial (TGA-DSC).

Bethune, Schultheiss e Henck (2011) produziram cocristsais em concentrações estequiométricas de 1:1 e 2:1 de pterostilbeno com piperazina ou ácido glutárico como

coformadores. Foi utilizada a trituração em moinho de bolas, adicionados de solventes (etanol ou nitrometano) e resfriados ou evaporados lentamente. As caracterizações foram feitas através de difratometria de raios x do pó (PDRX), sendo os padrões de difração analisados através do software PANalytical X'Pert Pro Data.

Patel et al. (2012) também produziram e caracterizaram nove cocristais de tenoxicam utilizando o método de moagem com gotejamento de solvente. A caracterização foi feita utilizando DSC, PDRX, IV, RAMAN e ressonância magnética nuclear de estado sólido (ssNMR). Os cocristais foram preparados através de misturas físicas de tenoxicam com quatorze compostos numa proporção estequiométrica de 1:1 de ácido maleico, ácido malônico, ácido succínico, sacarina, ácido adípico, ácido oxálico, ácido flufenâmico, ácido 4-hidroxibenzoico, ácido 2,4-di-hidroxibenzoico, ácido salicílico, ácido glicólico, ácido α -cetoglutárico, ácido sórbico, e ácido L-tartárico.

Alhalaweh e Velaga (2010) utilizaram alguns modelos de fármacos, coformadores e solventes etanol, metanol, água e acetato de etila para testar a viabilidade de utilizar a secagem em “spray dryer” como técnica de preparação de cocristais. A técnica foi comparada com a evaporação do solvente ao ar, tendo sido mais eficiente a formação de cocristais na secagem por “spray dryer”. Os autores acreditam que os cocristais podem nuclear e crescer mais facilmente em regiões supersaturadas de fármaco devido à rápida evaporação dos solventes e uma maior interação entre o fármaco e o coformador na fase líquida. Houve a formação de cocristais com carbamazepina – ácido glutárico (1:1) (etanol), teofilina – nicotinamida (1:1) (etanol), uréia – ácido succínico (1:1) (água), cafeína - ácido glutárico (1:1) (água) e cafeína – ácido oxálico (2:1) (metanol).

Uma nova técnica de cristalização que tem sido utilizada é a cristalização por suspensão (“slurry”) onde fármaco e coformador são suspensos em determinado solvente e deixados sob agitação durante certo tempo.

Baseia-se no princípio do equilíbrio químico entre o coformador e o cocristal em suspensão; para isso é necessária proporção estequiométrica, dessa forma sendo utilizado fármaco e coformadores na proporção equimolar; quanto mais próximos forem os pesos moleculares entre fármaco e coformadores, maior será a facilidade de reação. É considerada uma técnica rápida e de fácil obtenção dos cocristais (TAKATA et al., 2008; KOJIMA et al.; 2010).

Ao longo dos últimos 20 anos, o número de publicações descrevendo os avanços no campo da engenharia de cristais, na produção e caracterização de cocristais, têm aumentado

significativamente. No entanto, apenas na última década os cocristais encontraram seu espaço entre os produtos farmacêuticos, principalmente devido à sua capacidade de modular as propriedades físico-químicas, sem comprometer a integridade estrutural do fármaco (SCHULTHEISS; NEWMAN, 2009).

Desse modo se encontram no mercado alguns medicamentos produzidos com a tecnologia de cocristais, como é o caso da carbamazepina (Tegretol[®]), cloridrato de fluoxetina (Prozac[®]) e itraconazol (Sporanox[®]) (VISHWESHWAR et al., 2005).

3.2.1.3. Fármaco-modelo Ácido Retinoico – Modificação das propriedades físico-químicas

O AR foi o fármaco escolhido para ter suas propriedades físico-químicas modificadas, sendo seus produtos objetos de análise desse trabalho.

Está incluído na Portaria 344, de 12 de maio de 1998 que aprova o Regulamento Técnico sobre substâncias e medicamentos sujeitos a controle especial, devido a seu caráter teratogênico (BRASIL, 1998).

Ocorre em pequenas quantidades no organismo humano, tendo receptores na pele e tubo digestivo, sendo possível que os efeitos biológicos observados pela aplicação tópica sejam mediados pelos primeiros receptores (DRAELOS, 2009).

Cerca de 300 genes podem ser ativados pelos retinoides; podendo atuar indiretamente sem se ligar ao DNA possivelmente através de um complexo proteico (COSTA, 2012).

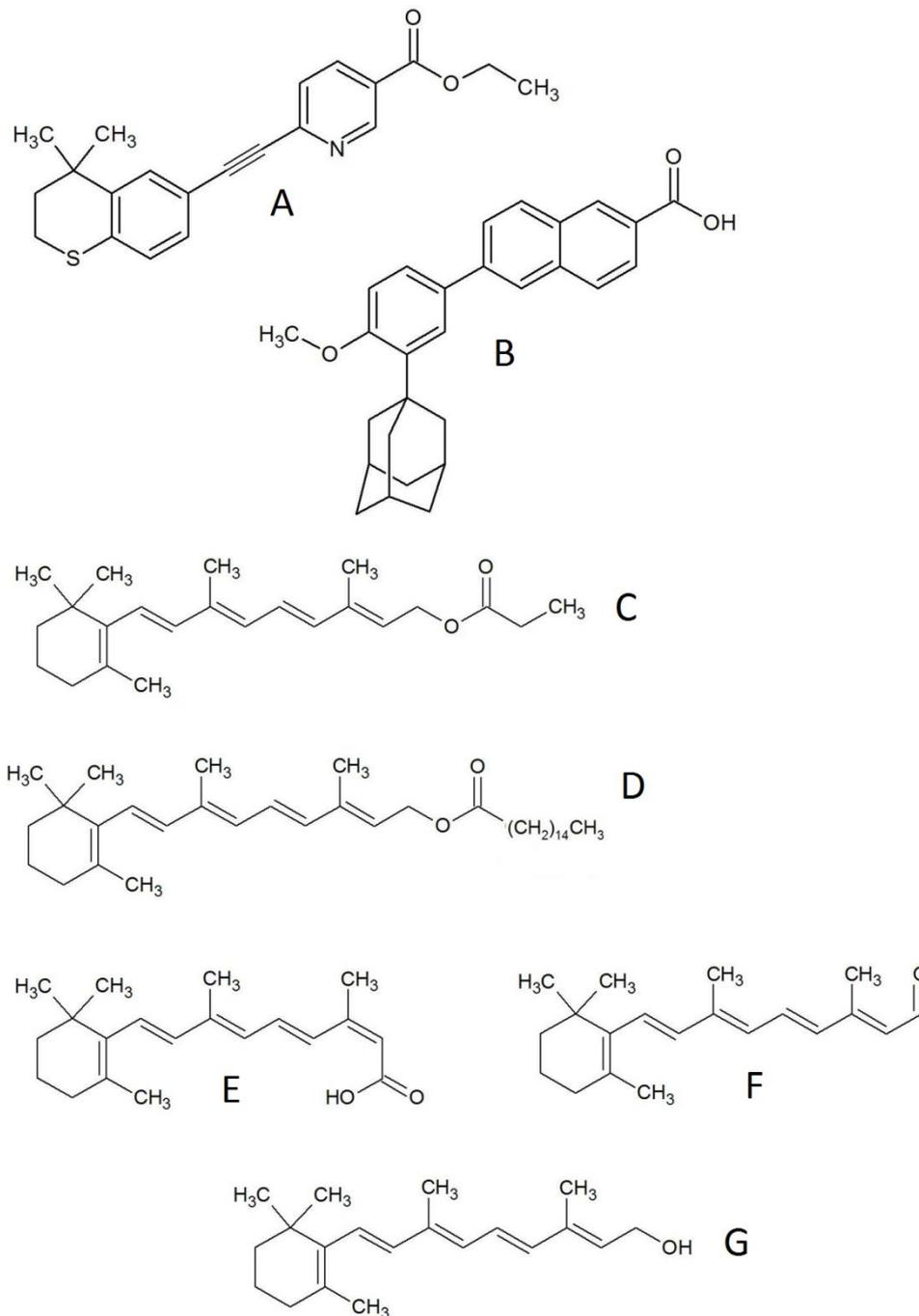
Possui vários sinônimos como vitamina A ácida, tretinoína ou ácido all-trans retinoico (COSTA, 2012). É um pó cristalino, amarelo ou laranja claro, praticamente insolúvel em água, pouco solúvel em etanol e solúvel em diclorometano e pKa 5,0. Possui a nomenclatura ácido 3,7-dimetil-9-(2,6,6-trimetil-1-ciclohexen-1-il)-2,4,6,8-nonatetraenóico (Figura 4), apresenta fórmula molecular $C_{20}H_{28}O_2$ e massa molar de $300,4 \text{ g mol}^{-1}$ (SWEETMAN, 2005).

Facilmente oxidável, isomeriza rapidamente, é fotodegradável e termicamente instável, desse modo aconselha-se armazenar em embalagem hermética, protegido da luz em temperatura inferior a 25°C (BRISAERT; EVERAERTS; PLAIZIER-VERCAMMEN, 1995; BRITISH PHARMACOPOEIA, 2009).

É utilizado há 40 anos no tratamento da acne (uso tópico), onde desempenha um papel fundamental reduzindo as lesões, com ação comedolítica, além de facilitar a eliminação de comedões já existentes e controlar a oleosidade da pele (BRISAERT; LAIZIER-

VERCAMMEN, 2000). É também utilizado no tratamento de peles fotoenvelhecidas, onde ativa a proliferação e a renovação celular (DRAELOS, 2009).

Faz parte do grupo dos retinoides, compostos que têm a estrutura básica central formada pela vitamina A e seus metabólitos oxidados, além de compostos sintéticos com mecanismos de ação similares aos retinoides, como o adapaleno e tazaroteno (Figura 5).

FIGURA 5 - Estruturas químicas dos principais retinoides

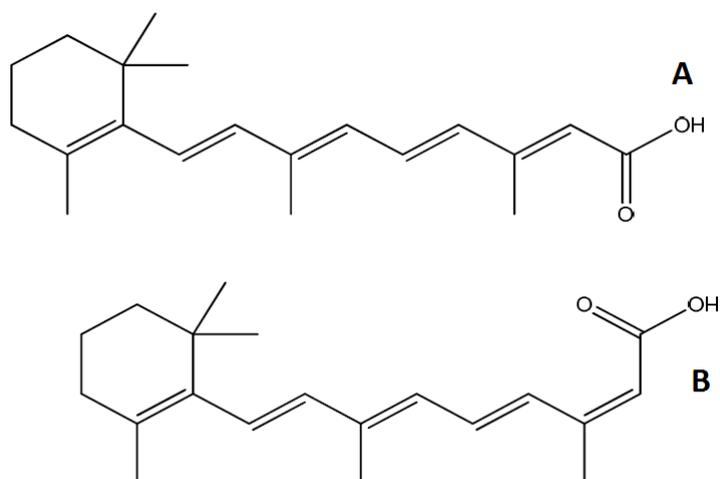
Identificação das Estruturas: Tazaroteno (A) , Adapaleno (B) , Retinil propionato (C) , Retinil palmitato (D) , Tretinoína (E), Retinaldeído (F) e Retinol (G),

Fonte: Adaptado de DRAELOS, 2009.

O esqueleto dos retinoides naturais constitui-se por um anel não aromático de seis átomos de carbono com a cadeia lateral poliprenoide e com grupo funcional contendo carbono e oxigênio em sua porção terminal (DINIZ; LIMA; FILHO, 2002).

Os retinoides com potencial atividade farmacológica são compostos pelo ácido all-trans retinoico (ácido retinoico ou tretinoína) (Figura 6A), o ácido 13 – cis retinoico (isotretinoína) (Figura 6B) e o 9 – cis retinoico (BOYD, 1989).

FIGURA 6 - Fórmula estrutural da tretinoína e isotretinoína



A – ácido all-trans retinoico (tretinoína) / B – ácido 13-cis retinoico (isotretinoína).

Foi observado que ocorre a interconversão da tretinoína em seu isômero isotretinoína e vice-versa, quando expostos à luz em estudos de estabilidade de formulações dermatológicas (MAIO; FRÖEHLICH; BERGOLD, 2003), necessita ser protegidas da luz e do calor durante o armazenamento e de um rigoroso controle de qualidade dos produtos acabados (KRIL et al., 1990).

São relatadas na literatura (STAM, 1972) duas formas polimórficas cristalinas do ácido retinoico, a forma monoclinica (I) e a triclinica (II) com os dados cristalográficos referentes aos dois polimorfos apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 - Dados cristalográficos dos polimorfos do ácido retinoico

	Forma I	Forma II
Sistema Cristalino	monoclínico	triclínico
Grupo Espacial	P2/n	P1
Parâmetros de Célula	a = 8.078	a = 8.04
	b = 34.103	b = 28.49
	c = 7.387	c = 5.996
	$\alpha = 90$	$\alpha = 51$
	$\beta = 118.76$	$\beta = 71.6$
	$\gamma = 90$	$\gamma = 96.1$
Volume da Célula (Å³)	1784	930

Fonte: Adaptada de Stam et al (1972).

É pouco provável que um fármaco possua uma única estrutura cristalina e suas formas polimórficas podem diferir nas propriedades físico-químicas, mecânica e biofarmacêutica resultando em estabilidade e biodisponibilidade diferentes no produto final (STORPIRTIS, 2009).

Portanto, é necessária uma caracterização da forma sólida durante a fase de desenvolvimento do medicamento, sendo um aspecto fundamental para o monitoramento do estado sólido na fabricação do mesmo (SHETE et al., 2010).

Há cerca de 10 anos começaram a surgir pesquisas com AR visando modular suas propriedades biofarmacotécnicas e dentre elas o aumento da solubilidade, com o foco para uso interno e aplicação no tratamento do câncer.

Existem relatos na literatura onde pesquisadores utilizando o ácido retinoico desenvolveram nanopartículas para injeção em tumores (ALMOUAZEN et al., 2012), nanocápsulas para uso tópico (OURIQUE et al., 2008), emulsão fosfolipídica para administração parenteral (HWANG et al., 2004), nanodiscos (REDMOND; NGUYEN; RYAN, 2007), micelas com quitosana (FATTAHI et al., 2012) microesferas (PARK et al., 2005), peguilação (KNOP; STUMPF; SCHUBERT, 2013), entre outros.

O AR (VERSADOID) existe no mercado na forma de cápsulas, sendo utilizado no tratamento da leucemia promielocítica aguda, ocorrendo em 25% dos pacientes tratados a chamada “*Síndrome do Ácido Retinoico*” (SAR), caracterizada por aumento exagerado dos

glóbulos brancos no sangue febre, dispneia, hipotensão, derrame pleural e pericárdico, edema, insuficiência hepática e renal. Considerando que o medicamento em geral conduz a remissão da doença torna-se de fundamental importância estudar formas de diminuir esses efeitos colaterais (VESANOID, 2015).

Desse modo a motivação para essa pesquisa foi o estudo de metodologias analíticas que forneçam uma ampla gama de informações complementares e que viabilizem o desenvolvimento futuro de uma forma farmacêutica sólida de AR com maior biodisponibilidade em menor dosagem.

3.2.3. Características dos Adjuvantes

O conceito clássico de adjuvantes como substâncias inertes, simples facilitadoras da administração, vem caindo em desuso. Após inúmeros estudos e com a evolução das técnicas analíticas, os pesquisadores sabem hoje que é comum ocorrer importantes interações entre fármaco e adjuvante, podendo ser de ordem negativa ou positiva. Como exemplo de interação positiva os adjuvantes podem melhorar a biodisponibilidade dos fármacos incorporados em formas farmacêuticas orais sólidas (PESSANHA et al., 2012).

A escolha de excipientes multifuncionais (também chamados adjuvantes tecnológicos) para promover modificações físico-químicas no fármaco ou na formulação tem se tornado uma tendência mundial e podem ser de grande valia quando se tratam de formulações orais, onde os adjuvantes devem ser inócuos e possuir estrutura química semelhante a moléculas já existentes ou conhecidas do organismo (PESSANHA et al., 2012). Além disso, devem possuir grupamentos funcionais reativos como grupamentos hidroxila, carbonila, amina, amida, dentre outros.

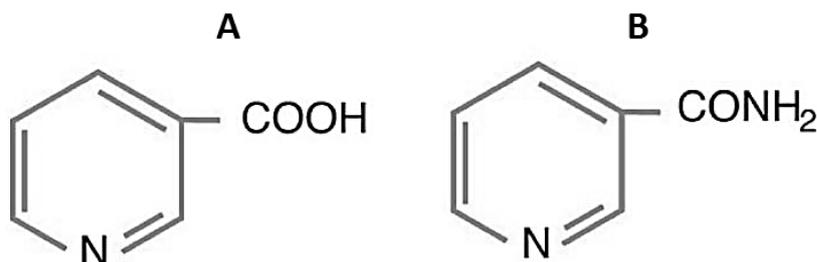
Com esse pensamento será dado destaque aos adjuvantes tecnológicos abaixo.

3.2.3.1 Nicotinamida

A nicotinamida (NI) ou niacinamida (Figura 7) é quimicamente a 3-piridina-carboxiamida, também conhecida como vitamina B₃ e pertence ao grupo das vitaminas do complexo B. É a amida correspondente ao ácido nicotínico (niacina). O termo vitamina B₃ também é usado para identificar o ácido nicotínico.

O ácido nicotínico (niacina) e a nicotinamida têm o mesmo efeito vitamínico, contudo, possuem ações farmacológicas e usos terapêuticos diferentes (MARIA; MOREIRA, 2011)

FIGURA 7- Estrutura química do ácido nicotínico e nicotinamida



ácido nicotínico (A)/ nicotinamida (B)

A vitamina B₃ juntamente com a coenzima NAD e NADH participa em inúmeras reações bioquímicas, como a produção de ATP na cadeia respiratória. Apresenta também funções terapêuticas, sendo usada na preparação de cosméticos, na prevenção de diabetes e com bons resultados no tratamento de inflamações cutâneas.

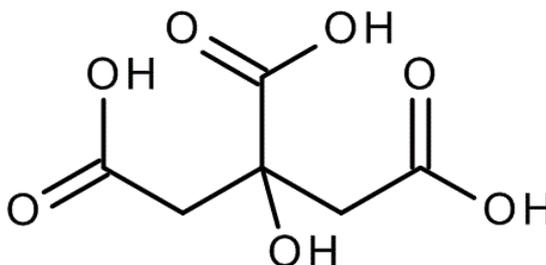
Apresenta quatro polimorfos. Os pontos de fusão descritos para as formas I, II, III e IV são 126-128, 112-117, 107-111 e 101-103 °C, respectivamente (MIWA et al., 1999). O polimorfismo pode ser explicado pelo fato do grupo amida assumir diferentes conformações rotatórias.

Ao utilizar NI como excipiente para modificação das propriedades físico-químicas, observou-se que o hidrogênio do grupamento amida pode interagir com átomo de oxigênio de fármacos, bem como o par de elétrons do nitrogênio da amida pode interagir com átomos de hidrogênio também dos fármacos, sendo que a dupla ligação da amida favorece a doação do par de elétrons do nitrogênio, o que justifica a reatividade desse grupamento (BORBA; GÓMEZ-ZAVAGLIA; FAUSTO, 2008).

Observa-se, portanto que o nitrogênio aromático da NI é “peça-chave” para seu bom desempenho como modificador das propriedades físico-químicas do fármaco (ALVES, 2012).

3.2.3.2 Ácido Cítrico

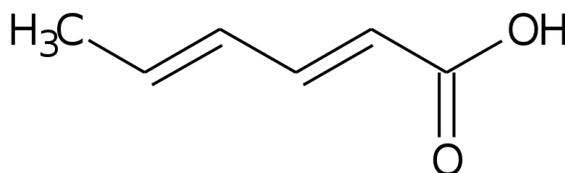
O ácido cítrico (AC) ou citrato de hidrogênio, quimicamente chamado de ácido 2-hidroxi-1,2,3-propanotricarboxílico (Figura 8), é um ácido orgânico fraco, que pode ser encontrado nos frutos cítricos. É usado como conservante natural (antioxidante), sendo conhecido também como acidulante dando um sabor ácido e refrescante na preparação de alimentos e de bebidas (PASTORE, 2010).

Figura 8- Estrutura química do ácido cítrico

Na temperatura ambiente, o ácido cítrico é um pó cristalino branco. Pode existir na forma anidra (sem água), ou como monohidrato. A forma anidra cristaliza em água quente, enquanto a forma monohidratada cristaliza em água fria. O monohidrato pode ser convertido na forma anidra aquecendo-se acima de 74°C. Quimicamente, o AC compartilha as características de outros ácidos carboxílicos (CANATTA, 2008).

3.2.3.3 Ácido Sórbico

O ácido sórbico (AS) ou ácido 2,4-hexadienóico (Figura 9), composto orgânico encontrado na natureza e utilizado como conservante alimentar. É um sólido incolor, pouco solúvel na água e facilmente sublimável.

Figura 9 - Estrutura química do ácido sórbico

É um ácido graxo insaturado, de cadeia linear trans, com peso molecular 112,13g.mol⁻¹. As ligações duplas conjugadas são as responsáveis pela reatividade do composto justificando-se sua atividade antimicrobiana e seu uso como conservante na indústria de alimentos (SOFOS; BUSTA, 1993).

Apresenta-se como grânulos brancos cristalinos que fluem livremente, com um odor característico. É levemente solúvel em água (0.25g/100 a 30 °C) e completamente solúvel em

álcool. Os sorbatos são os sais de ácido sórbico, sorbato de potássio e sorbato de cálcio, frequentemente utilizados (LÜCK; JAGER; RACZEK, 2000).

CAPÍTULO II

CARACTERIZAÇÃO DO
ÁCIDO RETINOICO

4. CARACTERIZAÇÃO DO ÁCIDO RETINOICO

Esse capítulo aborda o estudo das características físico-químicas do AR utilizando como técnicas analíticas DSC, TG, PDRX e FTIR a fim de compreender o comportamento do fármaco isolado para posteriormente comparar as modificações ocorridas quando em contato com os adjuvantes tecnológicos.

O estudo foi dividido em dois níveis analíticos utilizando o ácido retinoico. Os níveis de avaliação foram: análise em nível de moléculas (FTIR) e análise em nível de partículas (DSC, TG e PDRX).

4.1 MATERIAIS E MÉTODOS

Utilizou-se nesse estudo o fármaco ácido retinoico (Pharma Nostra, lote 20140405), grau farmacêutico e os equipamentos balança analítica Sartorius modelo 2842; sistema de Análise Térmica DSC – Shimadzu; TGA 50 Shimadzu, espectrômetro de IV Shimadzu IV Prestige-21; difratômetro de raios-X modelo D2 PHASER da Bruker.

4.1.1. Análise em nível de partículas

4.1.1.1. Análise térmica (DSC)

As curvas de DSC foram obtidas utilizando um calorímetro diferencial exploratório de marca DSC-50 – Shimadzu, sendo o aparelho calibrado para a temperatura utilizando como padrões os pontos de fusão de índio (156,6 °C) e zinco (419,6 °C). A calibração para energia foi feita com base na entalpia de fusão do índio ($\Delta H_{\text{fus}} = 28,54 \text{ J g}^{-1}$).

As amostras foram colocadas em cadinho de alumínio com aproximadamente 2 mg de ácido retinoico e aquecidas na razão de 5,10 e 20 °C/min na temperatura de 25 à 250 °C, sob atmosfera inerte de nitrogênio com razão de 50 mL/min. A análise dos dados obtidos por DSC foi realizada utilizando o software TASYs.

4.1.1. 2. Termogravimetria (TG)

As curvas TG foram obtidas com um modelo de equilíbrio térmico TGA 50 (Shimadzu) na faixa de temperatura de 25-900 °C, cadinhos de alumina com 2 mg de AR, sob atmosfera de nitrogênio e ar sintético (50 mL min⁻¹, respectivamente). Na caracterização do AR foi realizado razões de aquecimento de 10, 20 e 40 °C min⁻¹.

4.1.1.3. Difração de raio X do pó (PDRX)

Os padrões de difração de raios X do AR e suas misturas físicas com os adjuvantes tecnológicos AS, AC e NI, bem como os liofilizados foram registrados em um difratômetro D2 PHASER (Bruker AXS-CuK α , geometria θ -2 θ , voltagem de 30 kV e corrente de 10 mA, tamanho do passo de 0,02°2 θ - 2 θ °/min, fenda principal = 2 mm x 12 mm e fenda de recebimento = 0,2 mm x 12 mm, com monocromador de grafite). As varreduras para as amostras foram realizadas nas faixas angulares de 5° a 55° (2 θ). Para uma melhor apresentação dos difratogramas de raios X, as intensidades foram plotadas com o auxílio do programa PRISM 3.0.

Para cálculo do tamanho dos cristalitos (TC), dos valores dos índices de Miller (hkl) e das distâncias interplanares (d), foi utilizado o programa Diffract TOPAS 3.2, empregando-se a equação de parâmetros fundamentais (FP) para “TC” e o método de Le Bail para “d”.

4.1.2. Análise em nível de moléculas

4.1.2. 1. Análise de espectroscopia com absorção na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

A análise foi realizada através da trituração de quantidade suficiente do AR com brometo de potássio (KBr) para formar um pó muito fino. Realizou-se a compressão deste pó, obtendo-se um sedimento bastante fino o qual foi submetido à análise espectroscópica.

O espectro IV foi registrado fazendo passar a radiação através do sedimento colocado no interferômetro. A amostra absorveu uma parte da radiação de IV e o restante foi transmitida. A transformação de Fourier do interferograma resultante é convertida num espectro utilizando um computador.

Os espectros de FTIR do ácido retinoico, foi registrado na faixa de frequência 600-4000 cm⁻¹ utilizando SHIMADZU espectrômetro FTIR - 8400 S com uma resolução de 4 cm⁻¹

e com uma velocidade de digitalização de 2 mm / s.

4. 2. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.2.1. Análise em nível de partículas

4.2.1. 1. Análise térmica DSC

As curvas de DSC do AR (Figura 10) apresentaram dois eventos endotérmicos, que são característicos do fármaco e já descritos na literatura (TAN et al.,1992; BERBENNI et al., 2001; MENDONÇA et al., 2014), onde o evento 1 se refere a uma transição cristalina da estrutura monoclinica para triclinica e o evento 2, característico do pico de fusão do fármaco (dados numéricos apresentados na Tabela 2). Esses eventos foram reproduzíveis em todas as razões estudadas.

À medida que se aumentou a razão de aquecimento, observou-se um deslocamento da temperatura de fusão do AR para temperaturas maiores, bem como uma variação da entalpia, em especial no evento 2 (Figura 10), na razão de 20 °C.min⁻¹. Nessa razão de aquecimento, também foi possível evidenciar melhor o evento 1 referente a transição cristalina da estrutura monoclinica

Essas variações já foram descritas por Bernal et al. (2002), que observaram intensificação da magnitude dos picos com o aumento da razão de aquecimento e consequente aumento na relação variação da entalpia/variação da temperatura. Esse aumento é justificado pelo maior número de reações que ocorrem com aumento da entalpia.

Figura 10 - Curva de DSC do fármaco ácido retinoico na razão de aquecimento 5, 10 e 20 °C.min⁻¹.

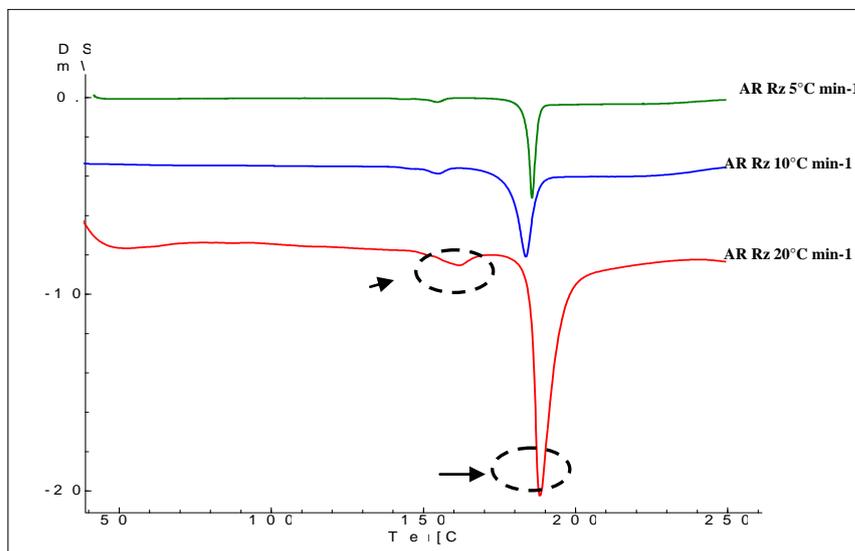


Tabela 2 - Dados DSC de AR nas razões de aquecimento 5, 10 e 20 °C.min⁻¹.

Razão Aquecimento (C°.min ⁻¹)	Evento	° T _{onset}	° T _{pico}	° T _{endset}	Energia (J.g ⁻¹)
5	1	151,94	155,99	158,13	-4,63
5	2	184,58	186,15	188,14	-85,03
10	1	151,18	155,37	158,92	-3,67
10	2	179,47	184,05	187,65	-77,34
20	1	152,58	162,32	168,64	-8,41
20	2	185,94	188,56	195,45	-115,19

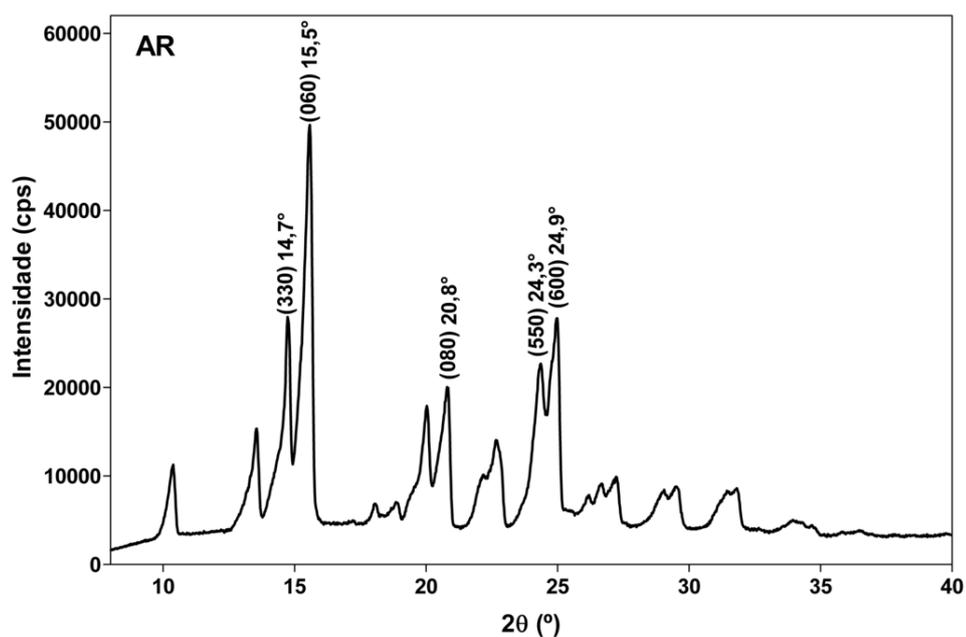
4.2.1.2. Difração de raios X (PDRX)

Na Figura 11 se observa o difratograma de raios X do ácido retinoico. É verificado um padrão característico de material cristalino, com picos agudos, sendo as reflexões mais intensas em valores de 2θ iguais a: 14,7°, 15,5°(100%), 20,8°, 24,3° e 24,9° com seus respectivos planos de difração para uma melhor apresentação dos difratogramas de raios X.

Dessa forma, observou-se que esta estrutura se cristaliza num sistema monoclinico (grupo espacial C2) com parâmetros de célula unitária $a = 21,2579002\text{Å}$, $b = 34,0912018\text{Å}$, c

= 2,9166999Å e $\beta = 90^\circ$ com $V(\text{Å})^3 = 2113,75$. Os parâmetros de qualidade do ajuste foram: $R_{wp} = 16,84\%$ e $GOF = 15,28\%$.

Figura 11 - Difratoograma de raios X do ácido retinoico (AR) com planos de difração e posição angular



4.2.2. Análise molecular

4.2.2.1. Análise de espectroscopia com absorção na região do infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

O espectro FTIR de AR (Figura 12) apresentou bandas características do fármaco, já descritos na literatura (BERBENNI et al., 2001; ASCENSO et al.; 2011, LIMA et al., 2014) e que estão detalhados na Tabela 3.

Figura 12 - Espectro com absorção na região do infravermelho (FTIR) do AR

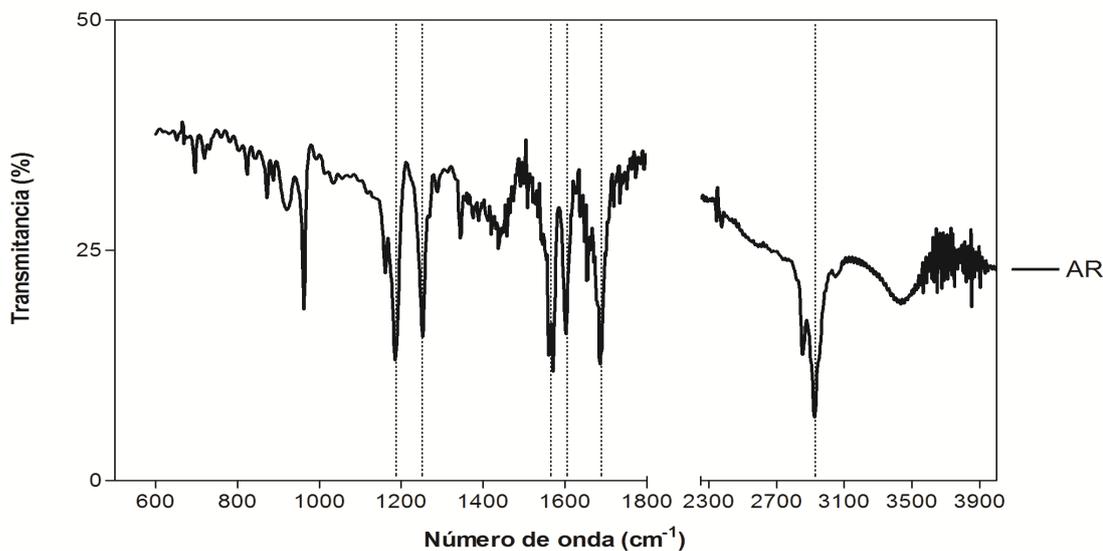


Tabela 3 - Assinalamentos vibracionais característicos do AR

Número de Onda*	Numero de Onda neste estudo	Grupo químico
1184-1251	1186-1253	C=O-OH
2931	2925	CH ₃
1685	1686	C=O
1570-1600	1565-1604	C=C
962	962	CH=CH

*Fonte: BERBENNI, 2001

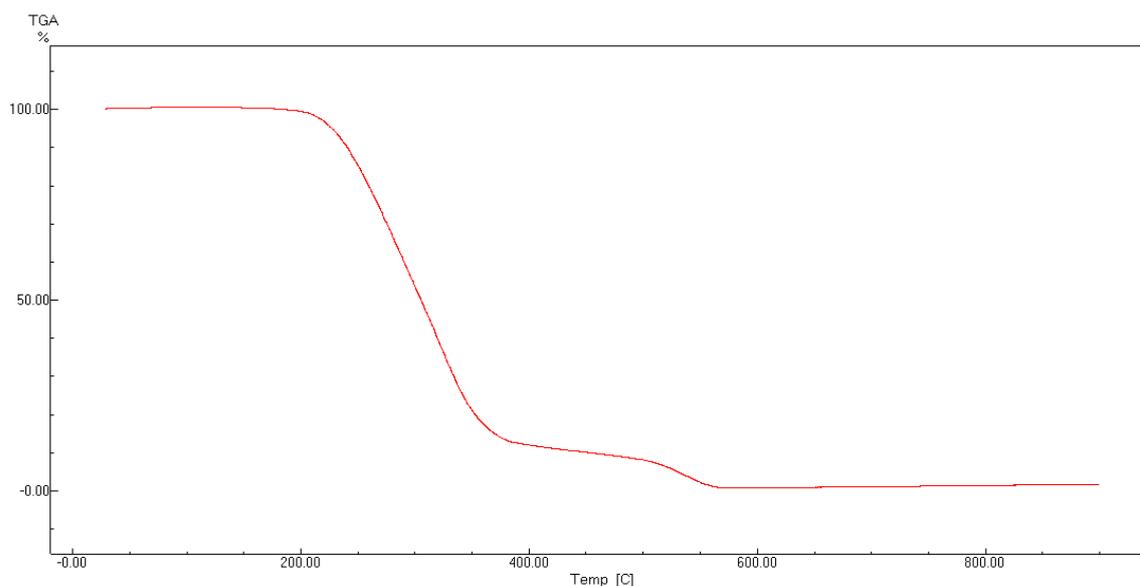
Com relação à reatividade da molécula de AR é importante destacar a conjugação que ocorre entre as ligações duplas conjugadas e o grupamento carbonila. Normalmente esse grupamento absorve em torno de 1725-1700 cm^{-1} , porém por efeito da conjugação essa absorção se dá em frequência mais baixa, sendo absorvida em 1685 cm^{-1} (PAVIA et al., 2010)

Outra absorção de relevância refere-se à deformação CH=CH do anel trimetilciclohexeno do AR e que ocorre a 962 cm^{-1} (Tabela 3).

4.2.2. 2. Termogravimetria

A curva termogravimétrica do AR apresenta dois estágios de decomposição térmica na razão de aquecimento de 10 °C da amostra conforme mostrado na Figura 13.

Figura 13 - Curva termogravimétrica do AR na razão de aquecimento 10 °C.min⁻¹ em atmosfera de ar sintético



Os cálculos para determinação da perda de massa foram determinados através da sobreposição da curva derivada da TG, a qual permite melhor visualização das etapas, bem como o cálculo realizado pela tangente.

Foi considerado como estágio principal de degradação o primeiro estágio, que apresentou uma perda de massa de $\Delta m = 86,47\%$ ($T_{onset} = 202,82\text{ °C}$ e $T_{endset} = 385,83\text{ °C}$). Assim, o estágio de decomposição do AR inicia-se, logo, após a fusão.

Com base nas informações acima, onde o perfil do AR está bem definido nas técnicas analíticas utilizadas é possível avaliar com maior precisão as mudanças ocorridas nos liofilizados, bem como a natureza das interações físico-químicas

CAPÍTULO III

**PREPARAÇÃO E
CARACTERIZAÇÃO DOS
LIOFILIZADOS**

5 PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DOS LIOFILIZADOS

Na busca da melhoria das propriedades de um fármaco a caracterização é uma etapa de grande importância, pois quanto maior o número de informações sobre o produto obtido, tais como propriedades físico-químicas, interações fármaco-excipientes, características do cristal, melhor será a compreensão dos mecanismos envolvidos no produto formado e maiores as possibilidades de propor modificações nas técnicas de desenvolvimento.

No presente capítulo são apresentados os liofilizados ácido retinoico- ácido cítrico liofilizado (ARAC LIO), ácido retinoico- ácido sórbico liofilizado (ARAS LIO) e ácido retinoico- nicotinamida liofilizado (ARNI LIO), os quais serviram de modelo para avaliar as interações físico-químicas utilizando as mesmas análises descritas no Capítulo II.

Realizou-se ainda o estudo de interações existentes entre AR e adjuvantes tecnológicos nas misturas físicas, cujos resultados foram utilizados como base de comparação das interações dos liofilizados.

Foi dado um destaque especial nas análises por PDRX utilizando diferentes parâmetros que forneceram informações elucidativas, as quais foram complementadas com as informações obtidas nas demais análises. Por uma questão didática os resultados e discussão de PDRX foram colocados em separado.

5.1 Materiais e Métodos

Utilizou-se nesse estudo o fármaco ácido retinoico (AR) (já descrita no item 4.1), os adjuvantes tecnológicos ácido sórbico (AS) (Labsynth, lote 1410222), ácido cítrico (AC) (Via Farma, lote GA2620BGIE) e a nicotinamida (NI) (Pharma Nostra, lote 130703) grau farmacêutico e os equipamentos balança analítica Sartorius modelo 2842; liofilizador LioBras modelo L101.

5.1.1. Preparação das Misturas Físicas

As amostras de ácido retinoico (AR) e os adjuvantes tecnológicos ácido sórbico (AS), ácido cítrico (AC), e nicotinamida (NI) foram preparados por mistura física em proporção 1:1 equimolar (mol/mol). As misturas físicas foram denominadas ARAS (ácido retinoico – ácido sórbico), ARAC (ácido retinoico – ácido cítrico), e ARNI (ácido retinoico – nicotinamida).

Foi escolhida a proporção equimolar pelo fato de tanto o fármaco quanto os adjuvantes

terem pesos moleculares pequenos e próximos, desse modo obtendo resultados mais precisos.

5.1.2 Preparação dos Liofilizados

Os liofilizados foram produzidos a partir de uma solução aquosa na proporção molar 1:1 (m/m) de fármaco e adjuvantes tecnológicos em água destilada, tendo como base 3 g de AR. A escolha da proporção molar foi feita pela mesma razão já descrita em 5.1.1.

Foi adicionado o adjuvante tecnológico em 5,0 mL de água com agitação magnética. Ainda sob agitação foi adicionado o AR aos poucos, intercalando com mais 3 mL de água destilada. A mistura foi mantida sob agitação por 10 min a fim de garantir a homogeneidade da amostra. Após as amostras foram colocadas em placas de Petry e congeladas num freezer a -20 °C durante 24 h. Após as placas, foram colocadas no liofilizador com temperatura de -40 °C e vácuo de 1250 mmHg por mais 24 h, sendo após as amostras acondicionadas ao abrigo da luz e da umidade.

5.1.3. Análise em nível de partículas

5.1.3.1 Análise por PDRX

A metodologia utilizada nas análises por PDRX dos liofilizados, misturas físicas, AR e adjuvantes tecnológicos foram feitas conforme descrito no item 4.1.1.4.

5.1.3.2. Análise térmica DSC

A metodologia para o DSC foi feita do mesmo modo que em 4.1.1.1, porém somente com a razão de aquecimento de 10 °C/min. Nas misturas físicas e liofilizados foi utilizada uma massa de amostra tendo como referência 2 mg de AR e sua proporção molar com os adjuvantes tecnológicos.

5.1.4. Análise molecular

5.1.4. 1. Análise de espectroscopia com absorção na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

As análises por FTIR dos liofilizados, misturas físicas, fármaco e adjuvantes tecnológicos foram feitas conforme descrito no item 4.1.2.1.

5. 2. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.2.1. Estudo de Caracterização do Ácido Retinoico(AR) e Ácido Sórbico (AS)

5.2.1.1 Caracterização por DSC

O termograma na Figura 15 revelou uma provável interação física entre AR e AS, com deslocamento para regiões de menor temperatura e eventos de fusão mais alargados, tanto na mistura física quanto no liofilizado, tendo ambas apresentado um perfil similar. Comparando o pico de fusão do AR isolado com a mistura física observou-se uma diferença de 14 °C e com o liofilizado a diferença foi de 17 °C, evidenciando essa interação.

A curva ARAS MF apresentou dois eventos de fusão, porém de forma não linear, provavelmente em decorrência da disposição das partículas no cadinho, oriundas de dois componentes diferentes. Logo após o segundo evento de fusão ocorreu também a fusão característica do fármaco.

O mesmo não ocorreu no liofilizado ARAS LIO, sendo sua curva mais linear provavelmente em decorrência do processamento a que foi submetido, tornando a amostra mais homogênea.

Quando avaliada a entalpia de fusão de ARAS LIO (Tabela 4) observou-se um aumento da energia (57%) em relação ao fármaco, o que sugere que o sistema se tornou mais estável. A mesma comparação quando feita com a mistura física demonstrou que o sistema aumentou sua energia mais ainda (73%), o que se justifica pelo fato dos componentes da mistura estar em sua organização original, mais estável.

Desse modo pode-se dizer que houve uma interação física entre AS e AR, em ambas, mistura física e liofilizado.

Figura 14 - Comparativo dos perfis das curvas de DSC de AR, AS e seus respectivos liofilizados e misturas físicas obtidas na razão de 10 °C.min⁻¹

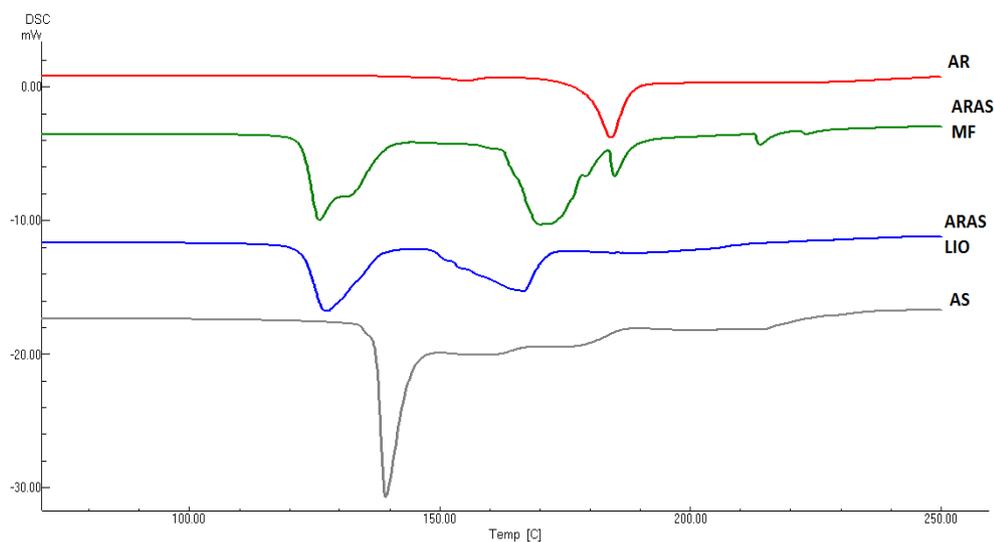


Tabela 4 - Dados das curvas de DSC do AR, AS e seus respectivos liofilizados e misturas físicas obtidas na razão de 10 °C.min⁻¹

	° T _{onset}	° T _{pico}	° T _{endset}	Energia (J.g ⁻¹)
AR EVENTO 1	151,18	155,37	158,92	-3,67
AR EVENTO 2	179,47	184,05	187,65	-77,34
ARAS MF FUSÃO	122,87			
EVENTO 1		126,02	138,76	-183,08
ARAS MF FUSÃO	164,69			
EVENTO 2		170,08	178,16e	-133,85
ARAS LIO FUSÃO	122,80			
EVENTO 1		127,37	138,03	-136,59
ARAS LIO FUSÃO	150,49			
EVENTO 2		166,73	170,79	-121,17
AS	137,28	139,27	143,81	-155,49

5.2.1.2 Caracterização por FTIR

Nos espectros FTIR da Figura 16 relativos à mistura física e liofilizado de AR e AS, não se observou modificações dos picos característicos de fármaco e adjuvante tecnológico, sendo que ambos possuem a porção final da molécula idêntica, tendo as ligações duplas conjugadas com grupamento carbonila. Esse fato se confirma pela grande similaridade dos espectros de AR e AS.

A Tabela 5 mostrou valores de número de onda dos grupamentos característicos de AR com valores semelhantes, tanto na mistura física quanto no liofilizado, confirmando o já descrito para a Figura 15.

São observadas ainda pequenas diminuições de intensidade dos picos nas misturas, mas que podem ser atribuídos à diminuição da concentração. Desse modo os resultados demonstram que não ocorreu interação química entre AR e AS, nem na mistura física, nem nos liofilizados.

Figura 15 – Espectros FTIR de AS, ARAS MF, ARAS LIO e AR.

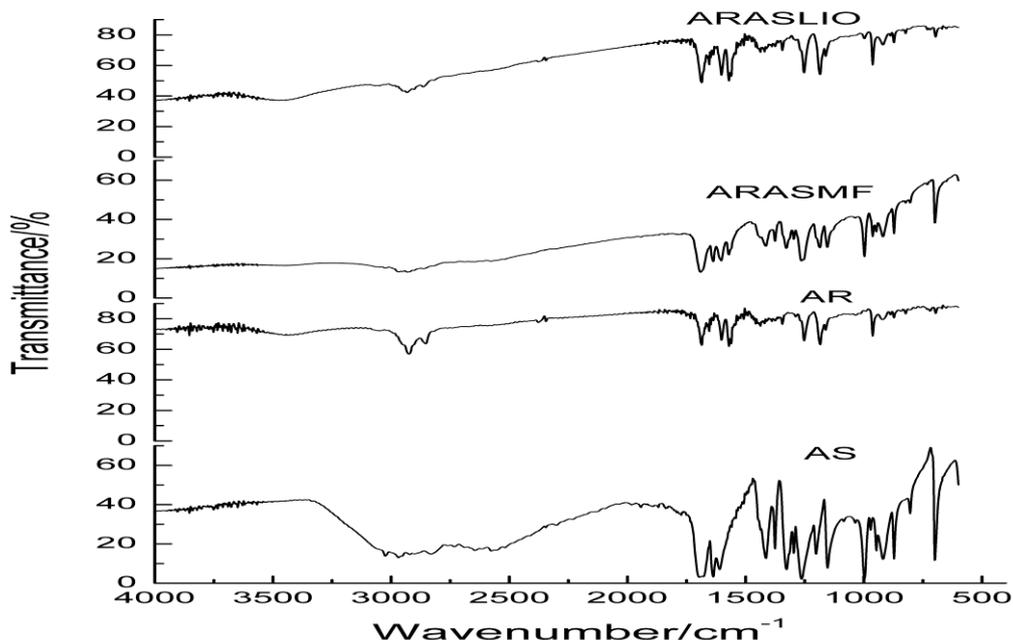


Tabela 5 - Assinalamentos vibracionais característicos de AR comparado com mistura física e liofilizado com AR e AS

	DADOS DA LITERATURA*	AR	ARAS MF	ARAS LIO
COOH	1184-1251	1186-1253	1187	1187
CH ₃	2931	2925	2930	2930
C=O	1685	1686	1683	1687
C=C	1570-1600	1565-1604	1570-1604	1570-1604
CH=CH	962	962	997	997

*BERBENNI et al (2001).

5.2.2. Estudo de caracterização do ácido retinoico e ácido cítrico

5.2.2.2 Caracterização por DSC

A Figura 16 apresenta as curvas DSC de AR e AC isolados, em mistura física e liofilizados. Observou-se a diminuição acentuada do pico de fusão do fármaco, tanto na mistura física quanto no liofilizado. Poderia se supor que essa diminuição fosse devido à baixa concentração de AR na mistura, haja vista que foi feita em proporção molar, porém quando avaliada a quantidade de AC usado em comparação com os demais adjuvantes, esse se encontra mais proporcional ao AR do que aos outros. Ao se analisar as entalpias de fusão (Tabela 6) de AR com a mistura física e liofilizado, houve uma diminuição da energia em torno de 93-94%. Com relação ao pico de fusão do AC não houve deslocamento, somente do AR, com pequeno deslocamento para temperatura mais baixa (em torno de 10 °C).

É importante destacar a visualização de um pequeno evento em 56 °C relativo ao AC, que ocorre também na mistura física e liofilizado, porém de difícil visualização na Figura 17, em função da distorção que ocorre ao plotar as curvas conjuntamente, sendo o evento melhor observado quando analisadas as curvas DSC de AC e misturas em separado (curvas não mostradas).

Em ARAC LIO ocorreu duas transições de fases, sendo a primeira bem evidente, com pico de fusão em 65,32 °C (apresentado na Tabela 6) e a segunda (não apresentado na tabela 6) com início do evento em 73,97 °C e final em 97,24 °C, possivelmente relacionada a uma transição vítrea, com variação da linha de base.

Essas informações deixam evidentes as interações físicas ocorridas.

Figura 16 - Comparativo dos perfis das curvas de DSC do AR obtidas na razão de $10\text{ C}^\circ \cdot \text{min}^{-1}$ da mistura física e liofilizado com AC.

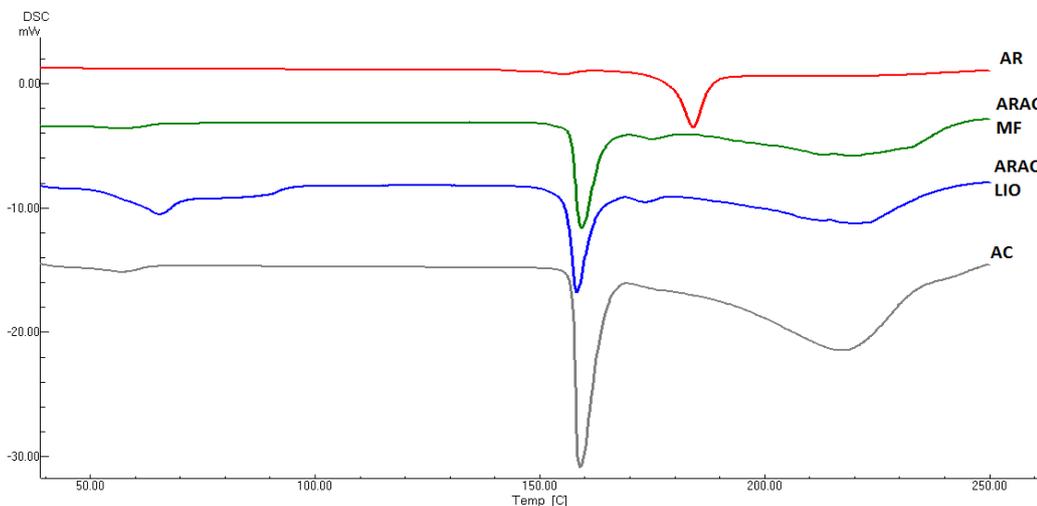


Tabela 6 - Comparativo das curvas de DSC do AR obtidas na razão de $10\text{ C}^\circ \cdot \text{min}^{-1}$ da mistura física e liofilizado com AC.

	T_{onset}	T_{pico}	T_{endset}	Energia ($\text{J} \cdot \text{g}^{-1}$)
AR EVENTO 1	151,18	155,37	158,92	-3,67
AR EVENTO 2	179,47	184,05	187,65	-77,34
ARAC MF FUSÃO	156,88			
EVENTO 1		159,43	163,67	-109,53
ARAC MF FUSÃO	171,45			
EVENTO 2		175,01	179,17	-4,59
ARAC LIO FUSÃO	57,61	65,32	69,61	-38,72
ARAC LIO FUSÃO	155,97			
EVENTO 1		158,36	162,3	-111,71
ARAC LIO FUSÃO	169,51			
EVENTO 2		173,45	177,14	-5,14
AC FUSÃO	157,14	159,03	163,95	-208,85

5.2.2.3 Caracterização por FTIR

No espectro FTIR referente ao AC (Figura 17) observam-se bandas de absorção entre 1749-3496 cm^{-1} , referentes às vibrações do grupo hidroxila (OH) e carbonila (COO), assim como o pico referente a COO aromático entre 1358-1380 cm^{-1} , característicos do adjuvante e de acordo com os encontrados por Canatta (2008).

Analisando o espectro de ARAC MF (Figura 17 e Tabela 7), observa-se que os picos referentes ao AR permaneceram, apenas com discretos deslocamentos de comprimento de onda, assim como alguns alargamentos de picos são observados. Esses resultados revelam que provavelmente não ocorreram interações químicas entre AR e AC na mistura física.

O mesmo não foi observado ao analisar o espectro ARAC LIO, onde ocorreu um intenso alargamento com diminuição da intensidade do pico entre 1184-1251 cm^{-1} (estiramento vibracional de COOH), bem como as bandas características da absorção do grupo alceno conjugado (1570 e 1600 cm^{-1}), que sofreu uma diminuição da intensidade. Além disso, ocorreu a supressão dos picos referentes à carbonila (C=O) em 1685 cm^{-1} e ao CH₃ em 2931 cm^{-1} . Esse perfil deixa evidente a interação química ocorrida no liofilizado (ARAC), com provável formação de pontes de hidrogênio, já descritas por Yang et al. (2008) e Wojnarowska et al. (2010) e confirmada por Elbagerma et al. (2011) que produziram um cocrystal de ácido cítrico e paracetamol (1:2) e propõem que a ligação se dá por duas pontes de hidrogênio, uma delas entre a hidroxila fenólica do paracetamol e o hidrogênio da carbonila do ácido carboxílico do AC e a segunda ponte de hidrogênio ocorreria entre a outra hidroxila fenólica e o hidrogênio do carbono quaternário C-OH do AC.

Além disso, a própria estrutura do AC (Figura 8 – Capítulo I) com quatro hidroxilas demonstra ser uma molécula bastante reativa.

Figura 17 – Espectros FTIR de AC, ARAC MF , ARAC LIO e AR.

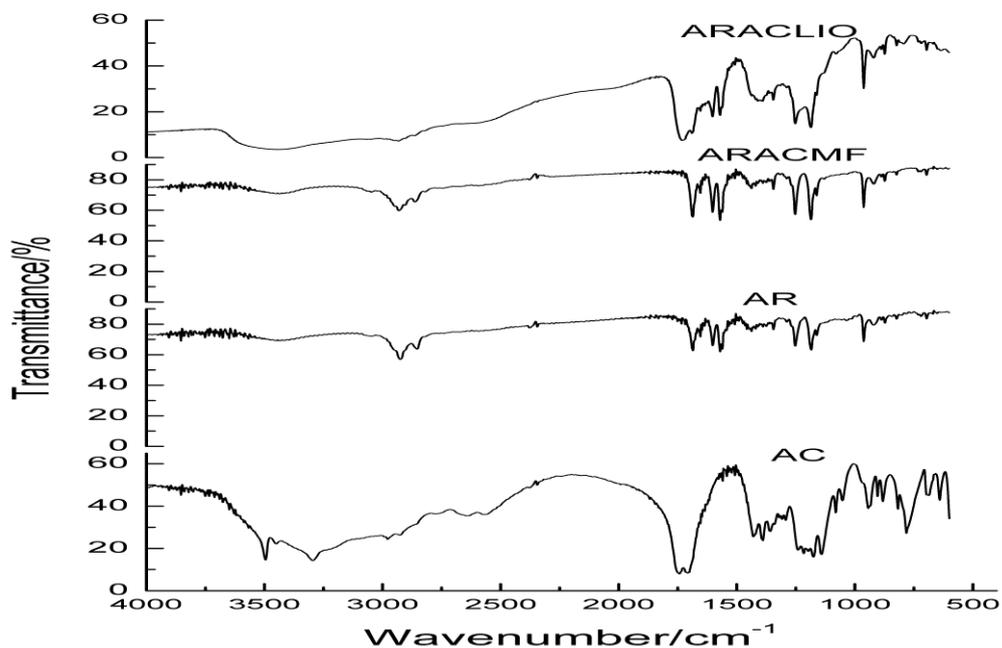


Tabela 7. Assinalamentos vibracionais característicos do AR comparados com mistura física e liofilizado ARAC

	DADOS DA LITERATURA*	AR	ARAC MF	ARAC LIO
COOH	1184-1251	1186-1253	1185	1186
CH ₃	2931	2925	2931	-
C=O	1685	1686	1683	-
C=C	1570-1600	1565-1604	1570-1603	1570-1603
CH=CH	962	962	962	962

*BERNENNI et al (2001)

5.2.3. Estudo de caracterização do ácido retinoico e nicotinamida

5.2.3.1 Caracterização por DSC

A Figura 18 apresenta as curvas DSC obtidas para AR e NI, substâncias isoladas, misturas física e liofilizado (dados na Tabela 8), onde ocorre o pico de fusão de NI, com pequeno deslocamento para temperatura menor e a supressão do pico do fármaco, tanto para a

mistura física quanto para o liofilizado. É possível ter ocorrido solubilização do fármaco devido à utilização de adjuvantes tecnológicos com ponto de fusão anterior à fusão do fármaco, nesse caso tratando-se de um processo físico. O mesmo já foi relatado por Oliveira et al (2010) e confirmado por Castro et al (2011) e Alves (2012), nas análises por DSC de naproxeno-nicotinamida e ibuprofeno-nicotinamida, respectivamente.

Figura 18 - Comparativo dos perfis das curvas de DSC do AR obtidas na razão de 10 C°.min⁻¹ da mistura física e liofilizado com NI.

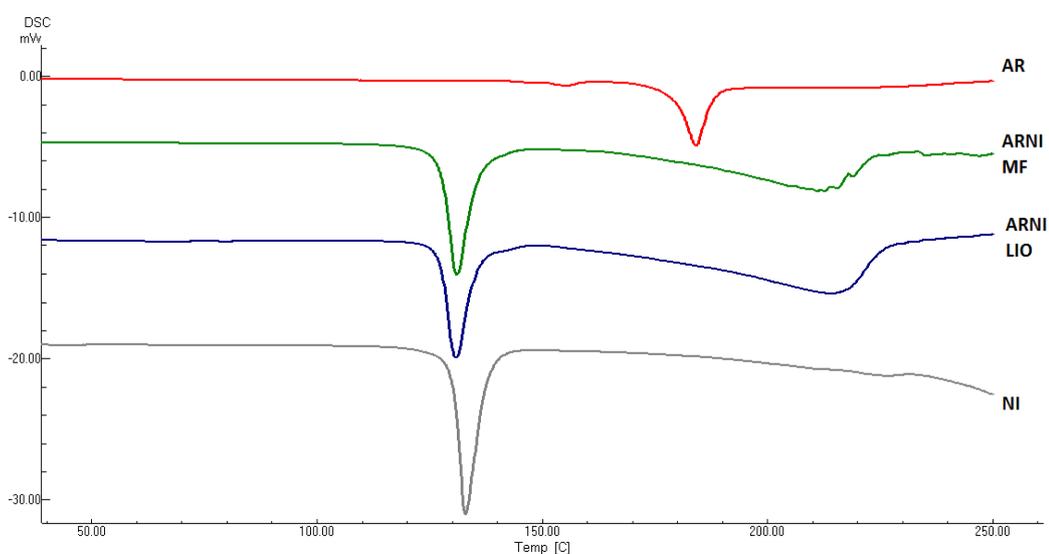


Tabela 8 - Comparativo das curvas de DSC de AR e NI mistura física e liofilizado obtidas na razão de 10 C°. min⁻¹

	T_{onset}	T_{pico}	T_{endset}	Energia (J.g⁻¹)
AR EVENTO 1	151,18	155,37	158,92	-3,67
AR EVENTO 2	179,47	184,05	187,65	-77,34
ARNI MF	130,03	133,98	138,71	-204,45
ARNI LIO	127,50	130,86	135,44	-128,83
NI	130,50	132,94	137,53	-169,05

5.2.3.2 Caracterização por FTIR

Analisando os espectros FTIR (Figura 19 e Tabela 9) para as misturas ARNI MF e ARNI LIO observa-se que os picos referentes ao AR podem ser vistos com pequenas modificações de intensidade nas absorvâncias referentes aos grupamentos CCO e alceno. Em

relação às bandas de CH₃ (2932 cm⁻¹) do AR e NH₂(3363 cm⁻¹), não foi observado deslocamento característico de pontes de hidrogênio.

Figura 19 – Espectros FTIR de NI, ARNI MF, ARNI LIO e AR.

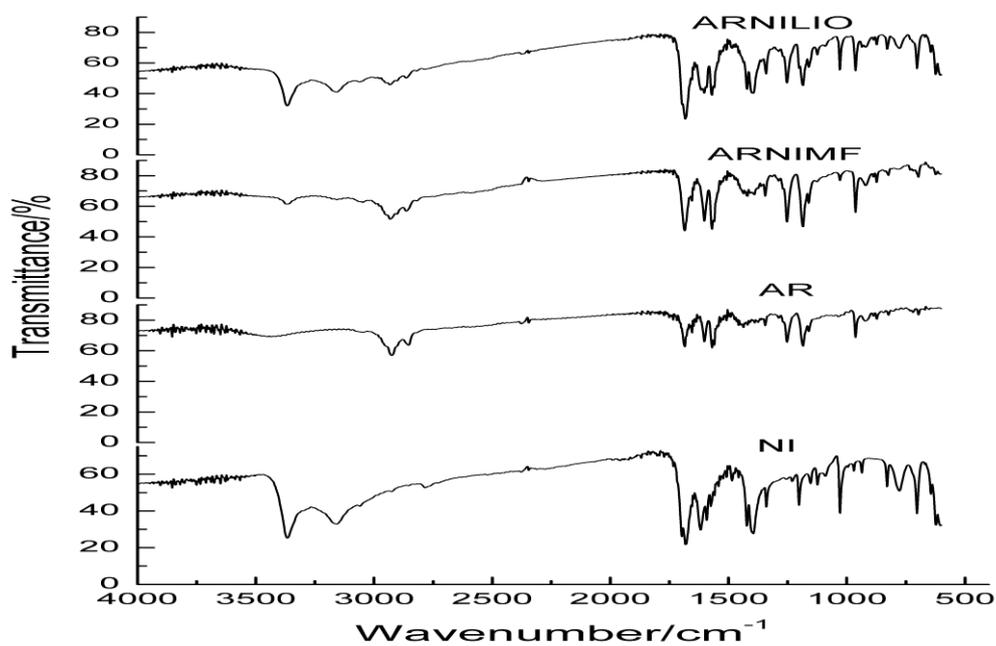


Tabela 9 - Assinalamentos vibracionais característicos do AR comparados com mistura física e liofilizado com NI

	DADOS DA LITERATURA*	AR	ARNI MF	ARNI LIO
COOH	1184-1251	1186-1253	1184	1186
CH ₃	2931	2925	2931	2932
C=O	1685	1686	1684	1683
C=C	1570-1600	1565-1604	1570-1603	1569-1603
CH=CH	962	962	963	962
NH ₂	3364		3363	3363

*BERNENNI et al (2001)

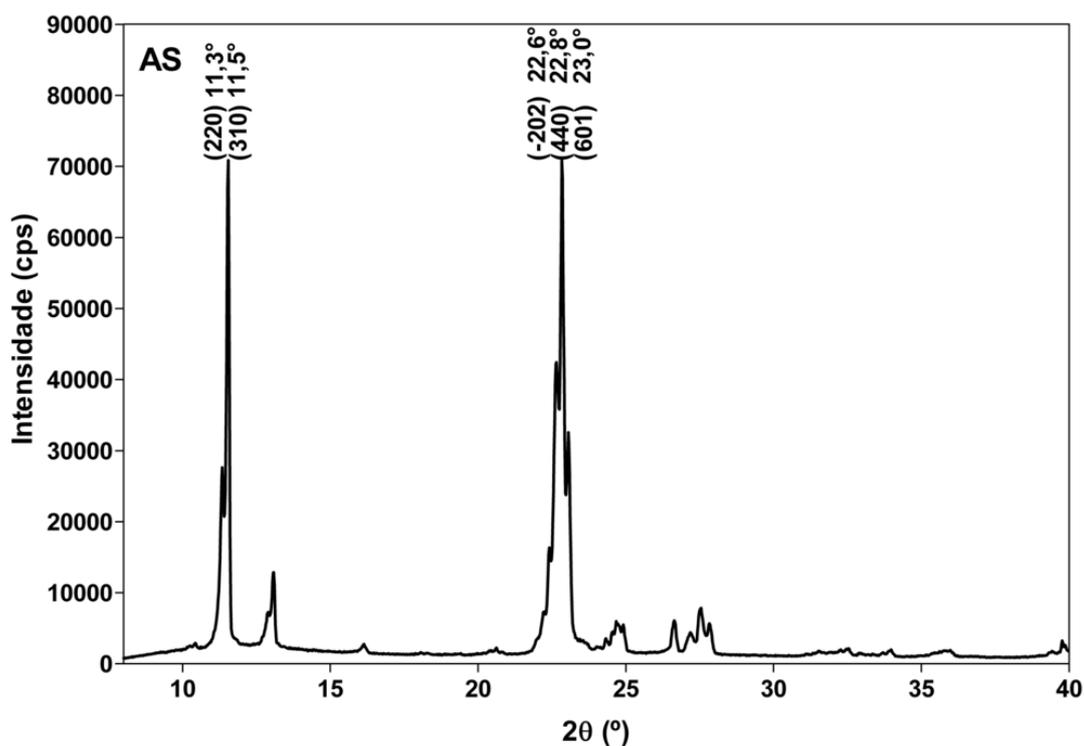
5.2.4 - Estudo de caracterização por PDRX de AR e seus adjuvantes tecnológicos AS, AC e NI.

5.2.4.1 Ácido Sórbico (AS)

Na Figura 20 observa-se o difratograma de raios X do AS com padrão característico de material cristalino, com picos agudos, sendo as reflexões mais intensas em valores de 2θ iguais a $11,3^\circ$, $11,5^\circ$, $22,6^\circ$, $22,8^\circ$ (100%) e $23,0^\circ$ com seus respectivos planos de difração e doubletos nas 1ª e 2ª e tripleto nas 3ª, 4ª e 5ª posições angulares respectivamente.

Verificou-se que essa estrutura se cristaliza num sistema monoclinico (grupo espacial C2) com parâmetros de célula unitária $a = 25,0002995\text{\AA}$, $b = 20,0314007\text{\AA}$, $c = 8,5267000\text{\AA}$ e $\beta = 85,308^\circ$ com $V(\text{\AA})^3 = 4255,78489$. Os parâmetros de qualidade do ajuste foram: $R_{wp} = 27,27\%$ e $GOF = 18,11\%$.

**Figura 20 – Difratograma de raios X do ácido sórbico (AS)
com planos de difração e posição angular**

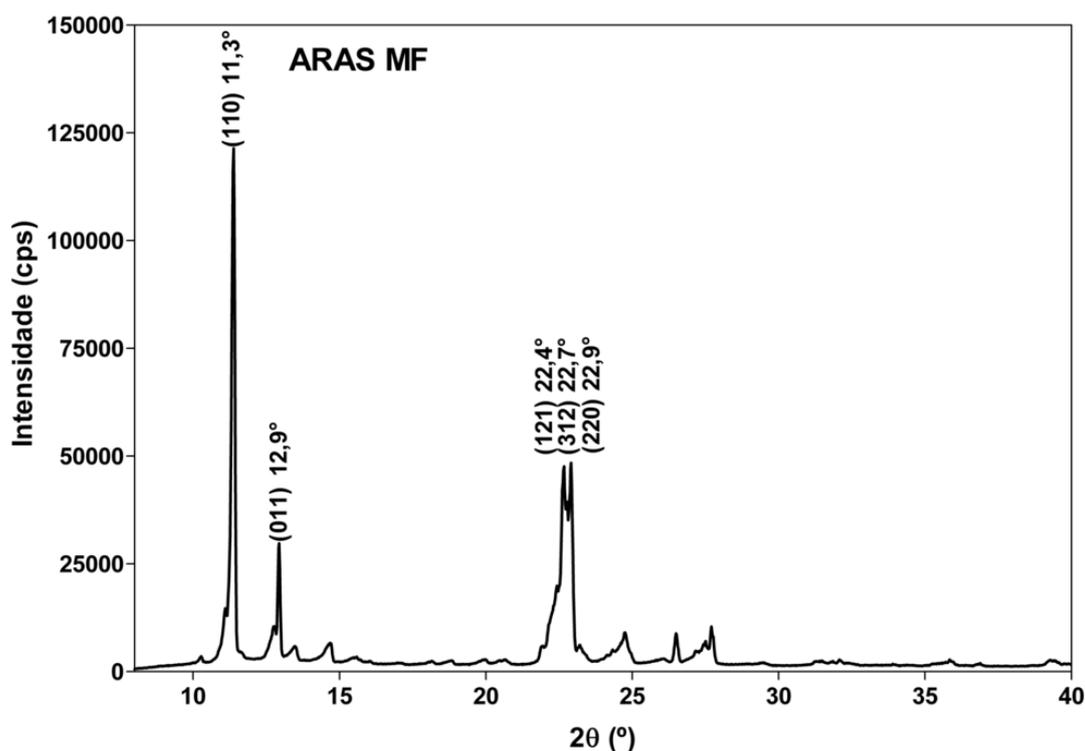


5.2.4.2 Ácido Retinoico - Ácido Sórbico Mistura Física (ARAS MF)

Na Figura 21 observa-se o difratograma de raios X da mistura física do ARAC MF também com padrão característico de material cristalino, sendo as reflexões mais intensas em valores de 2θ iguais a: $11,3^\circ(100\%)$, $12,9^\circ$, $22,4^\circ$, $22,7^\circ$ e $22,9^\circ$ com seus respectivos planos de difração e tripleto nas 3^a, 4^a e 5^a posições angulares.

A estrutura se cristaliza num sistema monoclinico (grupo espacial P2) com parâmetros de célula unitária $a = 18.1837006\text{\AA}$, $b = 8.5888996\text{\AA}$, $c = 11.3701000\text{\AA}$ e $\beta = ^\circ$ e $V(\text{\AA})^3 = 82.71$. Os parâmetros de qualidade do ajuste foram: $R_{wp} = 22,51\%$ e $GOF = 16,56\%$.

Figura 21 – Difratograma de raios X da mistura física ácido retinoico - ácido sórbico (ARAS MF) com planos de difração e posição angular

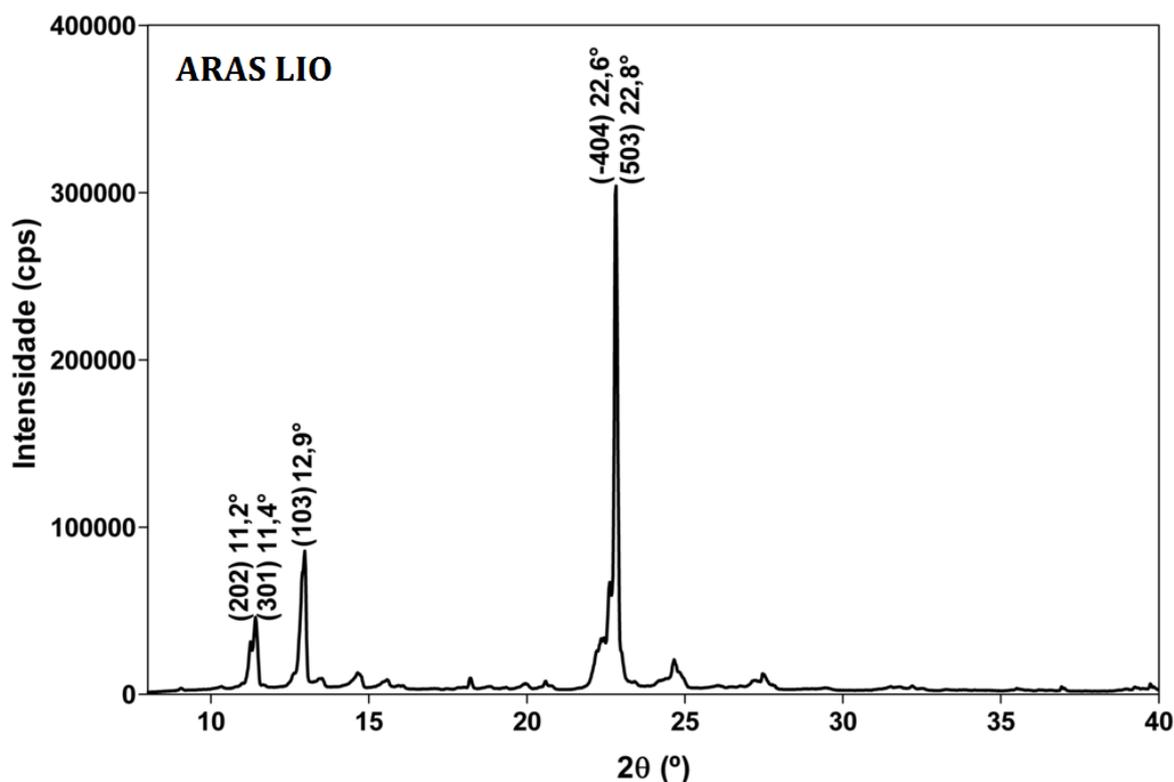


5.2.4.3 Ácido Retinoico - Acido Sórbico Liofilizado (ARAS LIO)

Na Figura 22 observa-se o difratograma de raios X do liofilizado do ARAS LIO, sendo também observado um padrão característico de material cristalino, com as reflexões mais intensas em valores de 2θ iguais a $11,2^\circ$, $11,4^\circ$, $12,9^\circ$, $22,6^\circ$ e $22,8^\circ(100\%)$ e seus respectivos planos de difração, com dois dubletos nas 1^a, 2^a e 4^a e 5^a posições angulares, respectivamente.

A estrutura se cristaliza num sistema monoclinico (grupo espacial P2) com parâmetros de célula unitária $a = 24.7152902\text{\AA}$, $b = 3.4102128\text{\AA}$, $c = 22.0974066\text{\AA}$ e $\beta = 95.20839^\circ$ com $V(\text{\AA})^3 = 1854.77676$. Os parâmetros de qualidade do ajuste foram: $R_{wp} = 7,78\%$ e $GOF = 7,67\%$.

Figura 22 – Difratoograma de raios X do liofilizado do ácido retinoico - ácido sórbico (ARAS LIO) com planos de difração e posição angular

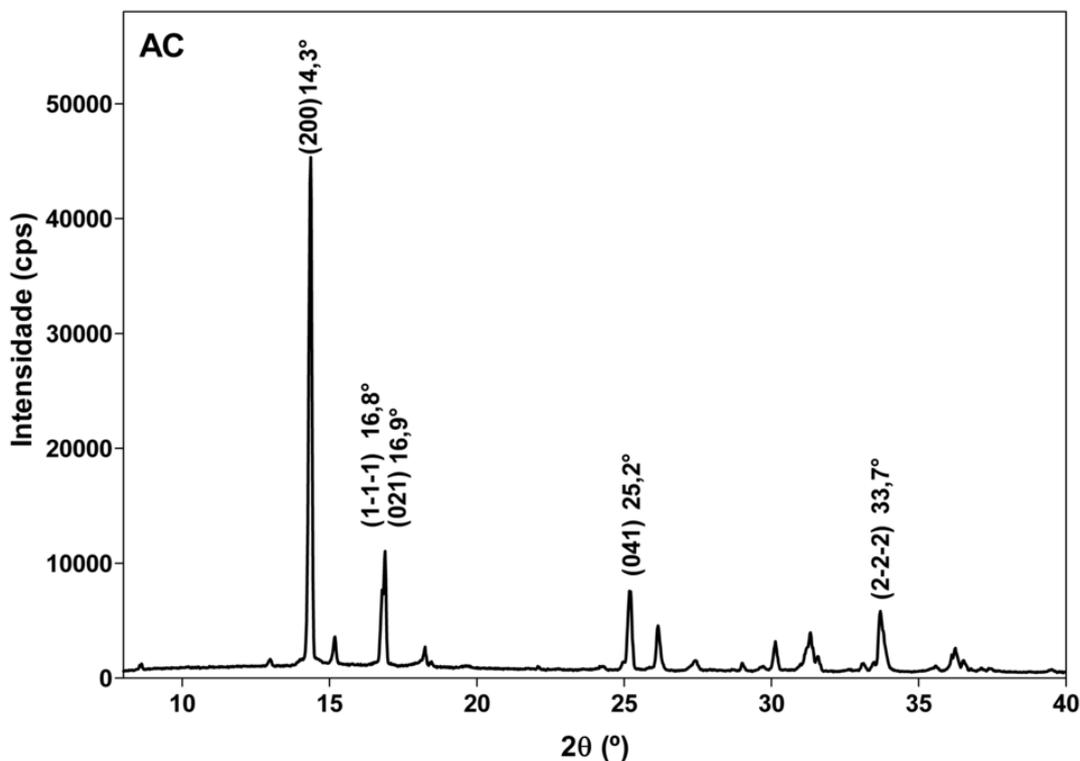


5.2.4.4 Ácido Cítrico (AC)

Na Figura 23 vê-se o difratograma de raios X do AC, com um padrão característico de material cristalino (picos agudos), sendo as reflexões mais intensas em valores de 2θ iguais a $14,3^\circ$ (100%), $16,8^\circ$, $16,9^\circ$, $25,2^\circ$ e $33,7^\circ$ e seus respectivos planos de difração, com dubletos nas 2ª e 3ª posições angulares.

Verificou-se que essa estrutura se cristaliza num sistema monoclinico (grupo espacial C2) com parâmetros de célula unitária $a = 12,4659004\text{\AA}$, $b = 16,6161003\text{\AA}$, $c = 6,7529001\text{\AA}$ e $\beta = 82,65690^\circ$ com $V(\text{\AA})^3 = 1387,28499$. Os parâmetros de qualidade do ajuste utilizados foram $R_{wp} = 34,35\%$ e $GOF = 13,33\%$.

Figura 23 – Difratoograma de raios X do ácido cítrico (AC) com planos de difração e posição angular

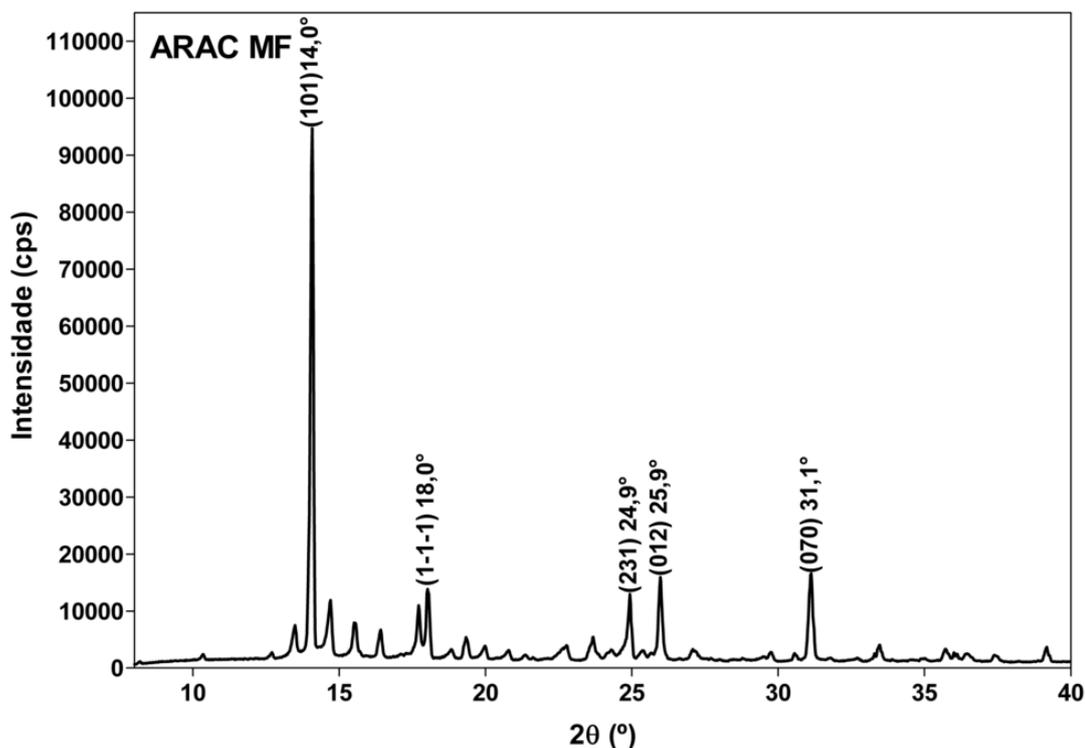


5.2.4.5 Ácido Retinoico - Ácido Cítrico Mistura Física (ARAC MF)

Na Figura 24 observa-se o difratograma de raios X da mistura física ARAC MF com um padrão característico de material cristalino, sendo as reflexões mais intensas em valores de 2θ iguais a $14,0^\circ$ (100%), $18,0^\circ$, $24,9^\circ$, $25,9^\circ$ e $31,1^\circ$ com seus respectivos planos de difração.

A estrutura se cristaliza num sistema monoclinico (grupo espacial P2) com parâmetros de célula unitária $a = 9,3952999\text{\AA}$, $b = 20,1434002\text{\AA}$, $c = 7,1777\text{\AA}$ e $\beta = 76,469^\circ$ com $V(\text{\AA})^3 = 1320,69877$. Os parâmetros de qualidade do ajuste foram $R_{wp} = 29,91\%$ e $GOF = 17,39\%$.

Figura 24 – Difratoograma de raios X da mistura física ácido retinoico - ácido cítrico (ARAC MF) com planos de difração e posição angular

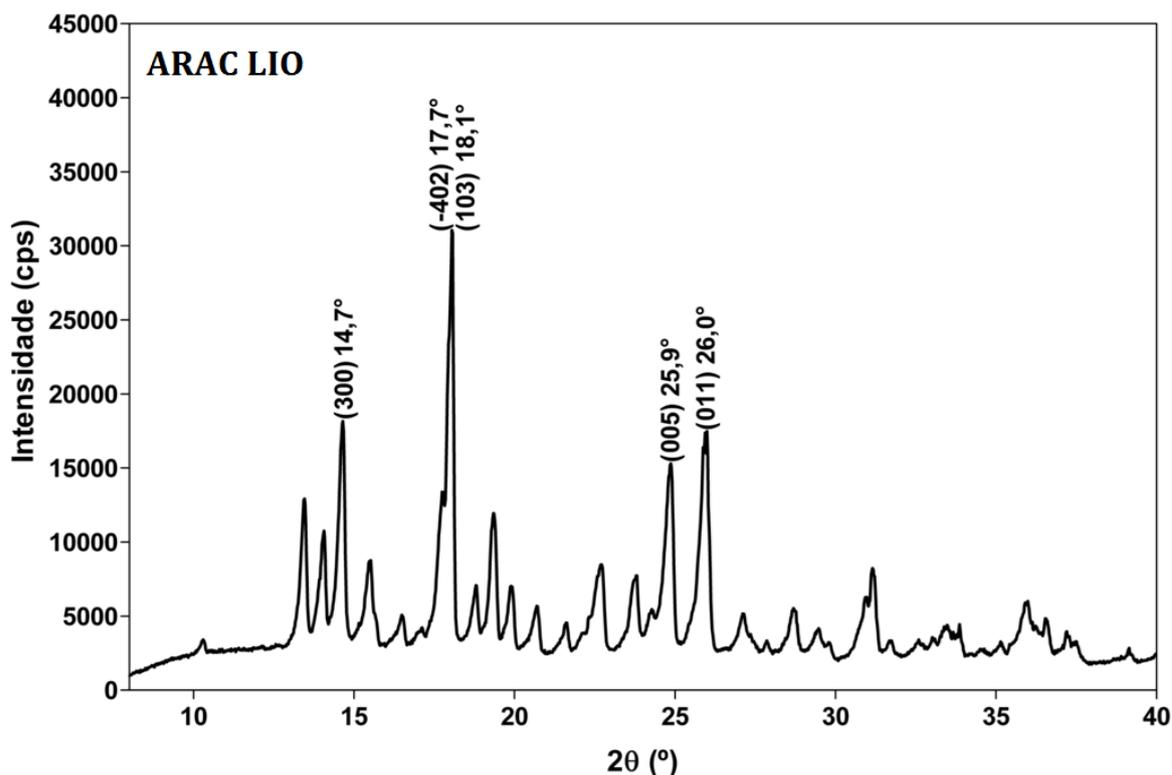


5.2.4.6 Ácido Retinoico - Ácido Cítrico Liofilizado (ARAC LIO)

Na Figura 25 observa-se o difratograma de raios X do liofilizado do ARAC LIO com um padrão característico de material cristalino, com picos agudos, sendo as reflexões mais intensas em valores de 2θ iguais a $14,7^\circ$, $17,7^\circ$, $18,1^\circ$ (100%), $25,9^\circ$ e $26,0^\circ$, e seus respectivos planos de difração, com dois dubletos nas 2ª, 3ª e 4ª e 5ª posições angulares.

A estrutura se cristaliza num sistema monoclinico (grupo espacial P2) com parâmetros de célula unitária $a = 19,8878002\text{Å}$, $b = 3,5039999\text{Å}$, $c = 18,8381004\text{Å}$ e $\beta = 114,202^\circ$ com $V(\text{Å})^3 = 1197,38319$. Os parâmetros de qualidade do ajuste foram $Rwp = 9,27\%$ e $GOF = 6,5\%$.

Figura 25 – Difratoograma de raios X do liofilizado do ácido retinoico - ácido cítrico (ARAC LIO) com planos de difração e posição angular



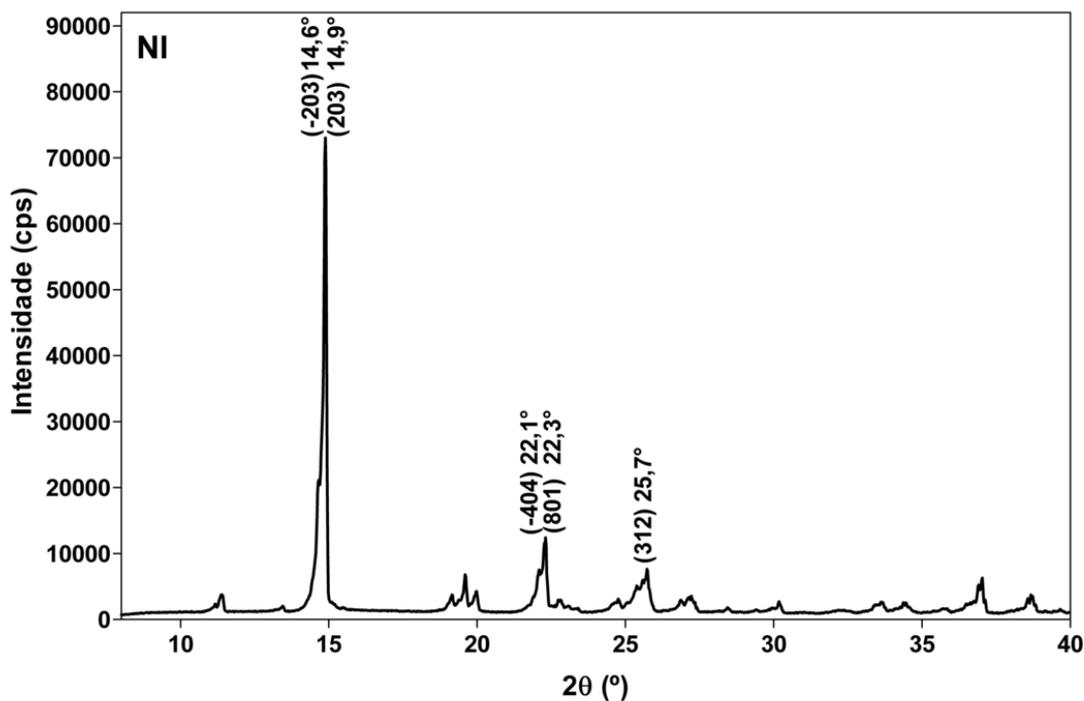
5.2.4.7 Nicotinamida (NI)

Na Figura 26 observa-se o difratograma de raios X da NI, com um padrão característico de material cristalino, sendo as reflexões mais intensas em valores de 2θ iguais a $14,6^\circ$, $14,9^\circ$ (100%), $22,1^\circ$, $22,3^\circ$ e $25,7^\circ$, e seus respectivos planos de difração, com duplete nas 1ª e 2ª e duplete nas 3ª e 4ª posições angulares.

A estrutura se cristaliza num sistema monoclinico (grupo espacial C2) com parâmetros de célula unitária $a = 31,9115009\text{\AA}$, $b = 3,8373001\text{\AA}$, $c = 20,6818008\text{\AA}$ e $\beta = 81,282^\circ$ com $V(\text{\AA})^3 = 2503,30882$. Os parâmetros de qualidade do ajuste foram $R_{wp} = 12,27\%$ e $\text{GOF} = 6,38\%$.

}

Figura 26 – Difratoograma de raios X da nicotinamida (NI) com planos de difração e posição angular

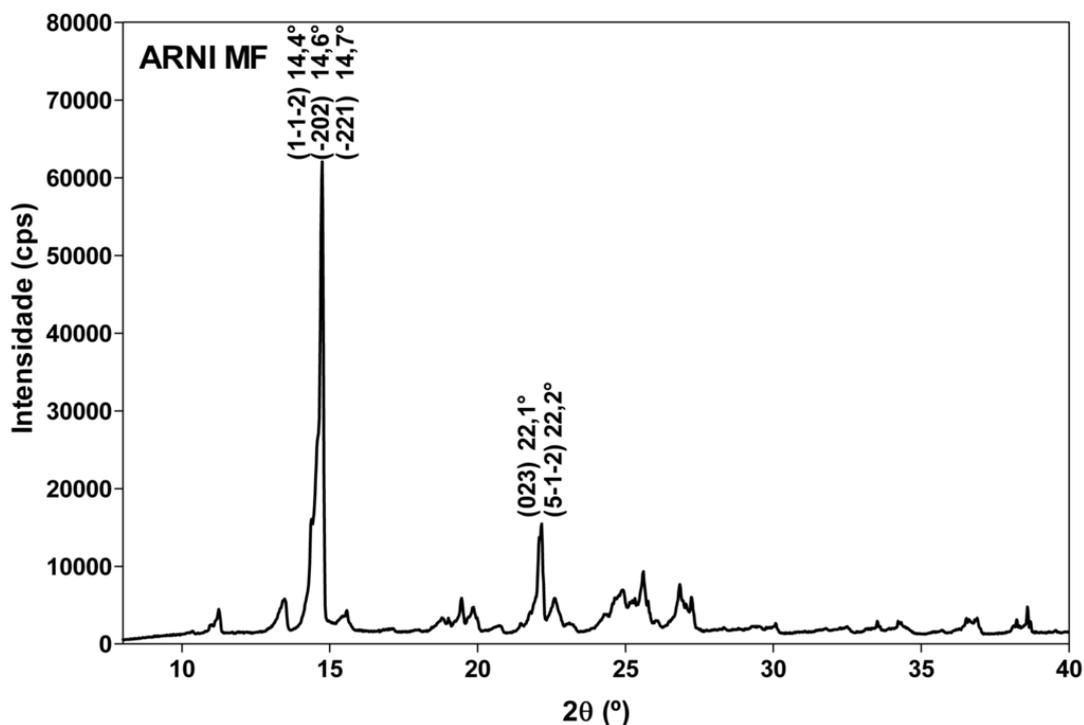


5.2.4.8 Ácido Retinoico - Nicotinamida Mistura Física (ARNI MF)

Na Figura 27 observa-se o difratograma de raios X da mistura física do ARNI MF com um padrão característico de material cristalino, sendo as reflexões mais intensas em valores de 2θ iguais a $14,4^\circ$, $14,6^\circ$, $14,7^\circ$, $22,1^\circ$ e $22,2^\circ$, e seus respectivos planos de difração, com tripleto nas 1^a, 2^a e 3^a posições angulares e um duplete nas 4^a e 5^a posições.

A estrutura se cristaliza num sistema monoclinico (grupo espacial P2) com parâmetros célula unitária $a = 28.1035004\text{\AA}$, $b = 14.6838999\text{\AA}$, $c = 14.4841003\text{\AA}$ e $\beta = 82.818^\circ$ com $V(\text{\AA})^3 = 5930.24254$. Os parâmetros de qualidade do ajuste foram $R_{wp} = 14,93\%$ e $GOF = 9,17\%$.

Figura 27 – Difratoograma de raios X da mistura física ácido retinoico - nicotinamida (ARNI MF) com planos de difração e posição angular

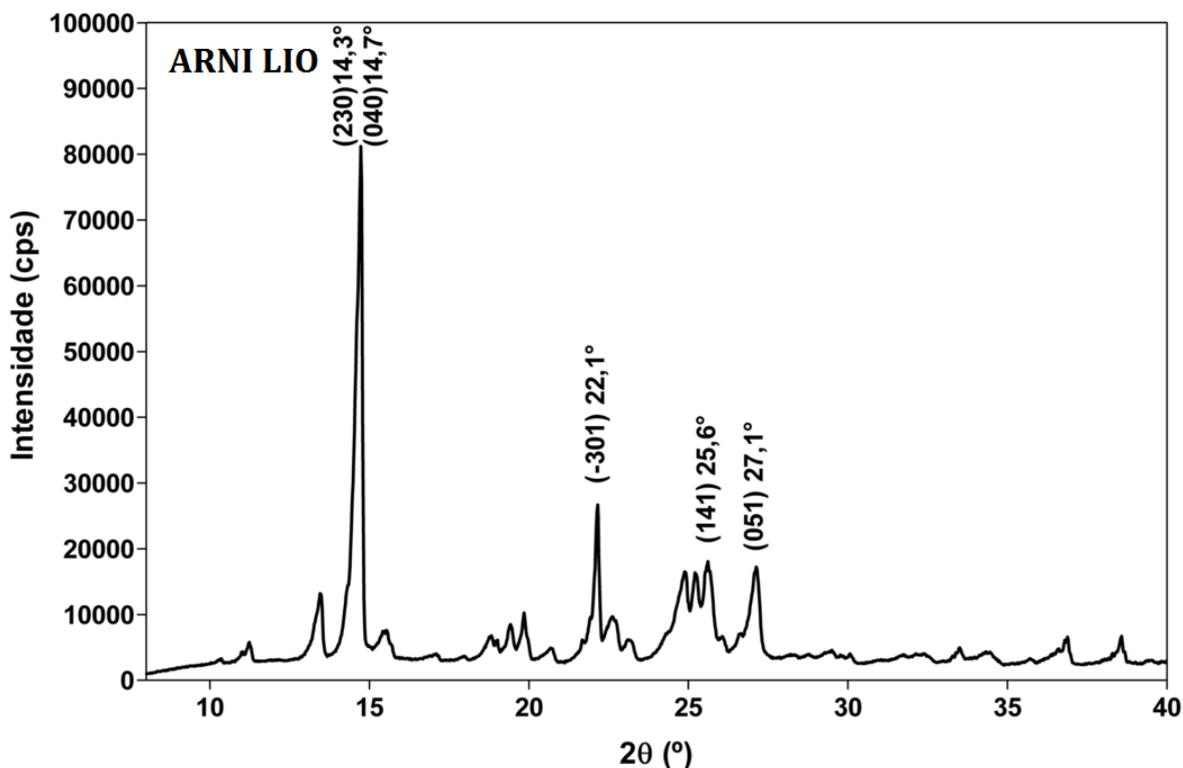


5.2.4.9 Ácido Retinoico - Nicotinamida Liofilizado (ARNI LIO)

Na Figura 28 observa-se o difratograma de raios X do liofilizado do ARNI LI, com um padrão característico de material cristalino, sendo as reflexões mais intensas em valores de 2θ iguais a $14,3^\circ$, $14,7^\circ$ (100%), $22,1^\circ$, $25,6^\circ$ e $27,1^\circ$, e seus respectivos planos de difração, com um duplete nas 1ª e 2ª posições angulares.

A estrutura se cristaliza num sistema monoclinico (grupo espacial P2) com parâmetros de célula unitária $a = 19.8726997\text{Å}$, $b = 23.7448006\text{Å}$, $c = 4.5869999\text{Å}$ e $\beta = 98.312^\circ$ com $V(\text{Å})^3 = 2141.74602$. Os parâmetros de qualidade do ajuste foram $R_{wp} = 15,84\%$ e $GOF = 13,28\%$.

Figura 28 – Difratoograma de raios X do liofilizado do ácido retinoico - nicotinamida (ARNI LIO) com planos de difração e posição angular



Na Tabela 10 são mostrados os valores calculados do tamanho do cristalito e distâncias interplanares de AR e AC, bem como de suas misturas físicas e liofilizados. Observa-se que a reflexão na posição angular 14,7° em 2θ de AR é igual a reflexão na posição 14,7° em 2θ de ARAC LIO, com uma proximidade entre suas distâncias interplanares de 6,01Å e 6,04Å, respectivamente. Apesar disso tem-se uma diferença acentuada em relação ao tamanho do cristalito, sendo 28,5 e 92,3nm, para AR e ARAC LIO, respectivamente. De acordo com Cullity e Stock (2001), quanto menor o cristalito, maior a largura total do pico a meia altura. Essa afirmação torna-se clara ao se observar as reflexões na posição 14,7° em 2θ (Figura 11 e 26), onde o pico nesta referida reflexão é mais largo em AR que em ARAC LIO, respectivamente.

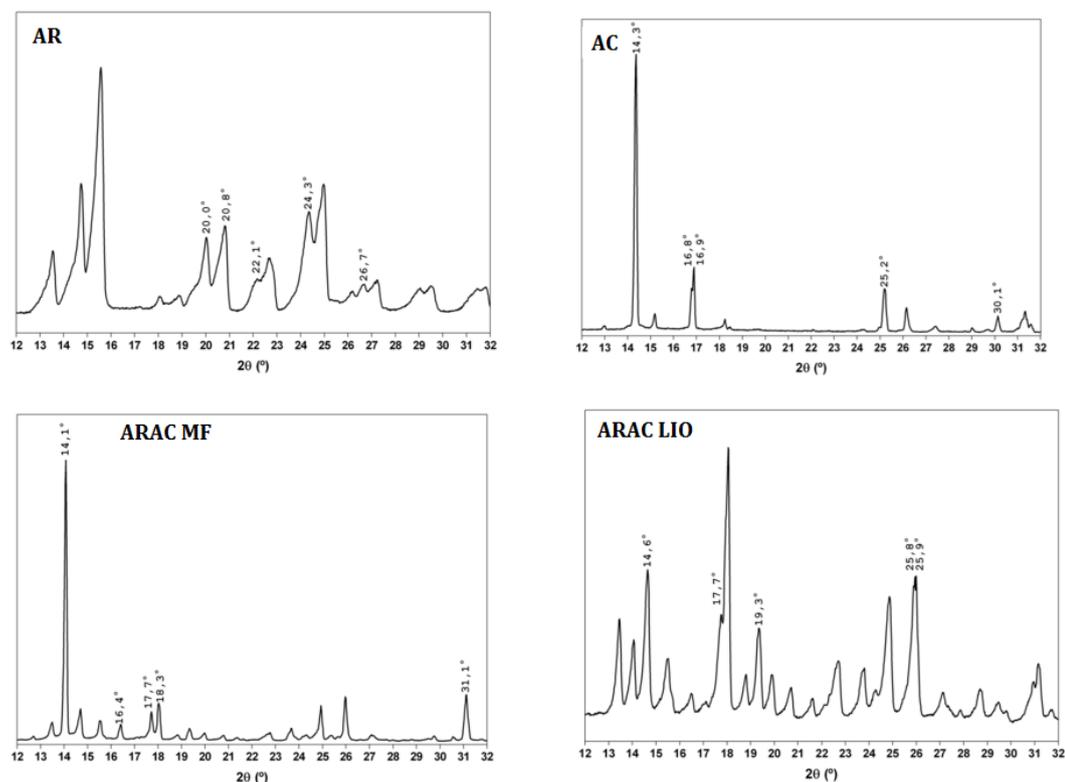
O mesmo acontece com a reflexão na posição 24,9° em 2θ de AR, em relação a reflexão na posição 24,9° em 2θ de ARAC MF, onde temos tamanhos de cristalitos diferentes 44,7 e 105,1nm para AR e ARAC MF, respectivamente. Ocorrem picos mais alargados em AR e mais agudos em ARAC MF (Figuras 11 e 25, respectivamente) e distâncias interplanares diferentes (3,54Å e 4,86Å, respectivamente).

Ainda destacam-se reflexões com maiores intensidades nas posições angulares $14,1^\circ$, $16,4^\circ$, $17,7^\circ$, $19,3^\circ$ e $31,1^\circ$ em 2θ registrados em ARAC MF e nas posições $14,6^\circ$, $17,7^\circ$, $19,3^\circ$, $25,8^\circ$ e $25,9^\circ$ em 2θ encontrados em ARAC LIO, que não são registrados nem em AR nem em AC. E reflexões nas posições $20,0^\circ$, $20,7^\circ$, $22,1^\circ$, $24,3^\circ$ e $26,6^\circ$ em 2θ e nas posições $14,3^\circ$, $16,7^\circ$, $16,8^\circ$, $25,2^\circ$ e $30,1^\circ$ em 2θ registrados em AR e AC respectivamente, que não aparecem registros nem em ARAC MF (Figura 25) e nem em ARAC LIO (Figura 26).

Elbagerma et al (2010) também observaram que na preparação estequiométrica de cocrystal entre ácido salicílico e DL-fenilalanina houve reflexões em posições angulares diferentes das atribuídas ao ácido e ao coformador.

Do mesmo modo Schultheiss et al (2010) utilizaram o nutracêutico pterostilbene, com propensão a formação de cocrystal, juntamente com cafeína e carbamazepina e observaram que os padrões de PDRX dos dois polimorfos da cafeína: pterostilbene (forma I e II) eram muito semelhantes, no entanto a forma II apresentou reflexões adicionais em comparação com a forma I.

Figura 29 – Difrátogramas de comparação da presença e ausência das reflexões com maiores intensidades de posições angulares de AR e AC x ARAC MF e ARAC LIO.



Com relação aos parâmetros de rede de AR e AC foram diferentes entre ARAC MF e ARAC LIO (Figura 29 e Tabela 10), onde apesar dos sistemas cristalinos serem os mesmos (monoclínicos), os grupos espaciais se apresentaram diferentes (C2 e P2 respectivamente), além dos diferentes volumes das células unitárias. Esses achados sugerem que, embora haja presença tanto de AR quanto de AC nas amostras analisadas, houve a formação de cocristais entre AR e AC, tanto na mistura física quanto no liofilizado.

Tabela 10 – Valores de tamanho do cristalito e das distâncias interplanares para AR, AC, ARAC MF e ARAC LIO.

AR			AC			ARAC MF			ARAC LIO		
2 θ (°)	TC (nm)	d _{hkl} (Å)									
14,7	28,5	6,0	14,3	517, 5	6,1	14,0	406, 6	6,3	14,7	92,3	6,0
15,5	49,9	5,6	16,8	1,4	5,3	18,0	175, 0	6,0	17,7	20,4	4,9
20,8	40,5	4,2	16,9	239, 2	5,2	24,9	105, 1	4,8	18,1	122, 3	4,9
24,3	14,8	3,6	25,2	165, 4	3,5	25,9	143, 0	3,6	25,9	79,6	3,4
24,9	44,7	3,5	33,7	81,7	2,6	31,1	138, 7	3,4	26,0	88,6	3,4

TC = tamanho do cristalito, d = distância interplanar

Na Tabela 11 são apresentados os valores calculados do tamanho do cristalito e das distâncias interplanares do AR, AS, bem como de sua mistura física e produto liofilizado.

Foi observado que a reflexão na posição angular 11,3° em 2 θ de AS, quando comparado com a posição 11,3° em 2 θ de ARAS MF e a posição 11,2° em 2 θ de ARAS LIO mostraram diferentes tamanhos de cristalitos (0,3 nm, 245,7 nm e 100,3 nm, respectivamente). É possível que essa diferença seja devido às diferentes formas de obtenção dos materiais, estando a mistura física sujeita a calor e atrito devido ao processo de trituração e o liofilizado sujeito ao congelamento e sublimação.

Os difratogramas de AR (Figuras 11 – Capítulo II), AS (Figura 21), ARAS MF (Figura 22) e ARAS LIO (Figura 23) apresentaram picos com intensidades diferentes, porém com valores de distâncias interplanares similares (7,8 Å; 7,7 Å e 7,7 Å).

Do mesmo modo a posição 22,6° em 2 θ de AS, comparado a mesma posição em ARAS MF e ARAS LIO, tem-se tamanhos de cristalito diferentes (31,5nm; 60,3nm e 69,3nm respectivamente) e distâncias interplanares iguais (3,9Å, 3,9Å e 3,9Å, respectivamente).

Dessa forma, os difratogramas ARAS MF (Figura 22) e ARAS LIO (Figura 23) evidenciaram picos característicos, tanto do AR quanto do AS isoladamente.

Observamos que mesmo os sistemas cristalinos sendo iguais (monoclínico), os parâmetros de rede do AR e AS em relação a ARAS MF e ARAS LIO apresentaram diferentes volume de células e de grupos espaciais (C2 e P2) , evidencia-se que temos reflexões de posições angulares distintas dentro de um mesmo difratograma.

Tabela 11 – Valores de tamanho do cristalito e das distâncias interplanares para AR, AS, ARAS MF e ARAS LIO.

AR			AS			ARAS MF			ARAS LIO		
2 θ (°)	TC (nm)	d _{hkl} (Å)									
14,7	28,5	6,0	11,3	0,3	7,8	11,3	245,7	7,7	11,2	100,3	7,8
15,5	49,9	5,6	11,5	299,8	7,6	12,9	200,5	6,8	11,4	99,3	7,4
20,8	40,5	4,2	22,6	31,5	3,9	22,4	18,5	3,9	12,9	267,2	6,8
24,3	14,8	3,6	22,8	122,2	3,9	22,7	60,3	3,9	22,6	69,3	3,9
24,9	44,7	3,5	23,0	108,4	3,8	22,9	128,9	3,8	22,8	11,6	3,9

TC = tamanho do cristalito, d = distância interplanar

Na Tabela 12 são mostrados os valores calculados do tamanho do cristalito e distâncias interplanares do AR, NI bem como de sua mistura física e produto liofilizado. É observado que a reflexão na posição angular 14,7° em 2 θ de AR comparado a da posição 14,7° em 2 θ de

ARNI MF e da posição 14,7° em 2θ de ARNI LI, temos TC diferentes (28,5nm, 194,8nm e 156,4nm respectivamente), e “d” similares 6,0Å, 5,9Å e 5,9Å. Sendo uma das reflexões de posições angulares que identificam o AR tanto na ARNI MF quanto no produto ARNI LIO.

Temos ainda a reflexão na posição angular 22,1° em 2θ de NI comparado a mesma posição de ARNI MF e ARNI LIO, onde vemos TC diferentes (55,2nm, 0,7nm e 171,9 respectivamente), mas com mesma “d” e igual a 4,0Å, identificando a NI tanto na ARNI MF quanto no produto ARNI LIO.

Ainda com mesmo sistema cristalino (monoclínico) ocorreram grupos espaciais, volumes de célula unitária e parâmetros de rede diferentes, evidenciando-se nos difratogramas mostrados nas Figuras 7 e 10, com picos característicos tanto de AR quanto de NI na rede policristalina de ARNI MF e ARNI LIO.

Tabela 12 – Valores de tamanho do cristalito e das distâncias interplanares para AR, NI, ARNI MF e ARNI LIO.

AR			NI			ARNI MF			ARNI LIO		
2θ (°)	TC (nm)	d _{hkl} (Å)									
14,7	28,5	6,0	14,6	1,1	6,6	14,4	231, 6	6,1	14,3	5010, 0	6,1
15,5	49,9	5,6	14,9	255, 6	5,9	14,6	0,5	6,0	14,7	156,4	5,9
20,8	40,5	4,2	22,1	55,2	4,0	14,7	194, 8	5,9	22,1	171,9	4,0
24,3	14,8	3,6	22,3	194, 2	3,9	22,1	0,7	4,0	25,6	21,6	3,5
24,9	44,7	3,5	25,7	59,8	3,4	22,2	110, 7	4,0	27,1	41,1	3,3

TC = tamanho do cristalito, d = distância interplanar

5.2.5 – Considerações sobre a Análise Conjunta das Técnicas Analíticas utilizadas para AR e misturas com Adjuvantes Tecnológicos

Analisando as amostras de AR, AS e suas misturas por DSC nota-se que houve uma intensa interação física entre AR e AS, tanto na mistura física quanto no liofilizado, com

influência de ambas as partes, com aumento de entalpia de fusão do fármaco. Porém quando analisadas as mesmas amostras por FTIR não se observa interação química, tendo aparecido os picos e bandas característicos de AR e AS, tanto nas misturas físicas, quanto no liofilizado. O mesmo ocorre quando analisadas por PDRX, onde não ocorrem mudanças com as misturas, apenas uma diminuição da intensidade dos picos, sugerindo uma diminuição na cristalinidade provavelmente em decorrência das técnicas de obtenção das misturas. Com base nessas informações pode-se concluir que ao ser produzido ARAS LIO houve a formação de dispersão sólida cristalina.

Ao analisar as amostras de AR, AC e suas misturas por DSC se observa um quadro bem diferente do anterior, com intensas interações físicas e formação de um novo evento anterior à fusão do AR, tanto na mistura física quanto no liofilizado. Ao se analisar as mesmas amostras por PDRX são observados a formação de novos picos, diferentes de AR e AS, sugerindo a formação de um cocrystal, esse dado justifica o novo evento de fusão encontrado nas análises de DSC. Quando analisadas as amostras por FTIR observa-se uma intensa interação química em ARAC LIO, com indícios de formação de pontes de hidrogênio, já descrita na literatura como a ligação preferencial na formação de um cocrystal (JONES; MOTHERWELL; TRASK, 2006). A utilização das três técnicas forneceu informações importantes e complementares, porém a técnica por PDRX forneceu a confirmação da formação do cocrystal, inclusive na mistura física. É provável que os cocrystal formados em ARAC MF e ARAC LIO sejam de naturezas diferentes pelo fato de no segundo terem sido formadas pontes de hidrogênio, o que não ocorreu no primeiro, demonstrando que a liofilização foi eficiente para promover essa modificação físico-química e que o AC mostrou-se uma molécula reativa em contato com o AR, o que se justifica pela natureza molecular de ambos.

Analisando as amostras de AR, NI e suas misturas por DSC se observa que houve uma interação física de NI sobre AR, com solubilização do fármaco, tanto na mistura física quanto no liofilizado. Porém quando analisadas as mesmas amostras por FTIR não foram observadas interações químicas, bem como as análises por PDRX demonstraram picos característicos de AR e NI, não tendo ocorrido mudança de cristalinidade. Com base nessas informações pode-se concluir que ao ser produzido ARNI LIO houve a formação de dispersão sólida cristalina.



CAPÍTULO IV

**ESTUDO DA ESTABILIDADE
DOS LIOFILIZADOS**

6 ESTUDO DA ESTABILIDADE DOS LIOFILIZADOS

Na pesquisa e desenvolvimento de um medicamento, o estudo de estabilidade é uma etapa fundamental que deve acompanhar os demais estudos, norteando o andamento da pesquisa. Na avaliação da estabilidade podem ser utilizados fatores extrínsecos como temperatura, umidade, luz, ou intrínsecos como as propriedades físico-químicas do fármaco e adjuvantes (MEIRELES, L.M.A., 2014).

No presente capítulo foi conduzido um estudo de previsão da estabilidade dos liofilizados ARAC LIO, ARAS LIO e ARNI LIO, cuja preparação e caracterização físico-químicas foram descritas no Capítulo III. Os liofilizados foram comparados com fármaco, adjuvantes tecnológicos e suas respectivas misturas físicas.

A técnica escolhida para o presente estudo foi a termogravimetria, por ser um método rápido, fácil, que utiliza pequenas quantidades de amostra e fornece informações complementares ao estudo de caracterização físico-química.

O estudo cinético é uma ferramenta importante na estimativa da estabilidade de fármacos e adjuvantes. Nesse trabalho os eventos térmicos de decomposição foram avaliados pelo método dinâmico, através da análise dos perfis de degradação nas temperaturas selecionadas *versus* tempo, assim como descrito nos trabalhos de Murakami et al. (2009). A utilização do teste de estabilidade no presente estudo é justificado principalmente pelo fato das dispersões sólidas apresentarem a propensão de separação de fases, com redução da estabilidade.

6.1 MATERIAIS E MÉTODOS

As matérias-primas utilizadas nesse estudo foram descritas no item 5.1; as amostras estão descritas nos itens 5.1.1 e 5.1.2 (Capítulo III).

6.1.1. Termogravimetria (TG)

As amostras foram analisadas na Termobalança TGA 50 (Shimadzu). As curvas TG foram obtidas com um modelo de equilíbrio térmico na faixa de temperatura de 25 - 900 ° C, cadinhos de alumina contendo 3 mg de AR, sob atmosfera de ar sintético (50 e 20 mL min⁻¹, respectivamente) e nas razão de aquecimento de 10, 20 e 40 °C min⁻¹.

6.1.1.1 Estudo de cinética pelo método de Ozawa

Com as informações obtidas a partir das curvas termogravimétricas dinâmicas de AR, adjuvantes tecnológicos, misturas físicas e liofilizados foi possível determinar os parâmetros cinéticos de energia de ativação (E_a), ordem da reação (n) e fator pré exponencial de Arrhenius (A) utilizando o modelo de Ozawa.

6. 2. RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.2.1. Estudo da cinética de degradação pelo modelo não-isotérmico

A partir dos dados obtidos nos estudos de termogravimetria dinâmica (TG), aplicou-se o modelo Ozawa para determinação dos parâmetros cinéticos, tais como a energia de ativação aparente (E_a), fator de frequência (A) e a ordem da reação (n). De acordo com a teoria da colisão, a energia cinética média das moléculas aumenta com o aumento da temperatura. Desse modo uma maior fração de moléculas terá energia suficiente para ultrapassar a barreira de energia de ativação (LOFTSSON, 2014).

Os parâmetros cinéticos de decomposição térmica do AR foram analisados sob três razões de aquecimento (10, 20 e 40 °C.min⁻¹), considerando-se diferentes frações decompostas.

As curvas termogravimétricas do AR apresentaram perfis de decomposição térmica similares em todas as razões de aquecimento das amostras, evidenciando duas etapas com deslocamento da temperatura inicial à medida que razão de aquecimento variou (Figura 30 e Tabela 13). Na determinação dos parâmetros cinéticos, consideramos a primeira etapa de decomposição como sendo o fator determinante para o estudo de decomposição desse fármaco, que é caracterizado por uma perda de massa em uma velocidade rápida com variação de 86,47% e 96,00%, calculadas pelo método da derivada nas razões de 10 e 40 °C.min⁻¹, respectivamente.

Figura 30 - Curvas termogravimétricas do AR nas razões de aquecimento 10, 20 e 40 °C.min⁻¹ em atmosfera de ar sintético.

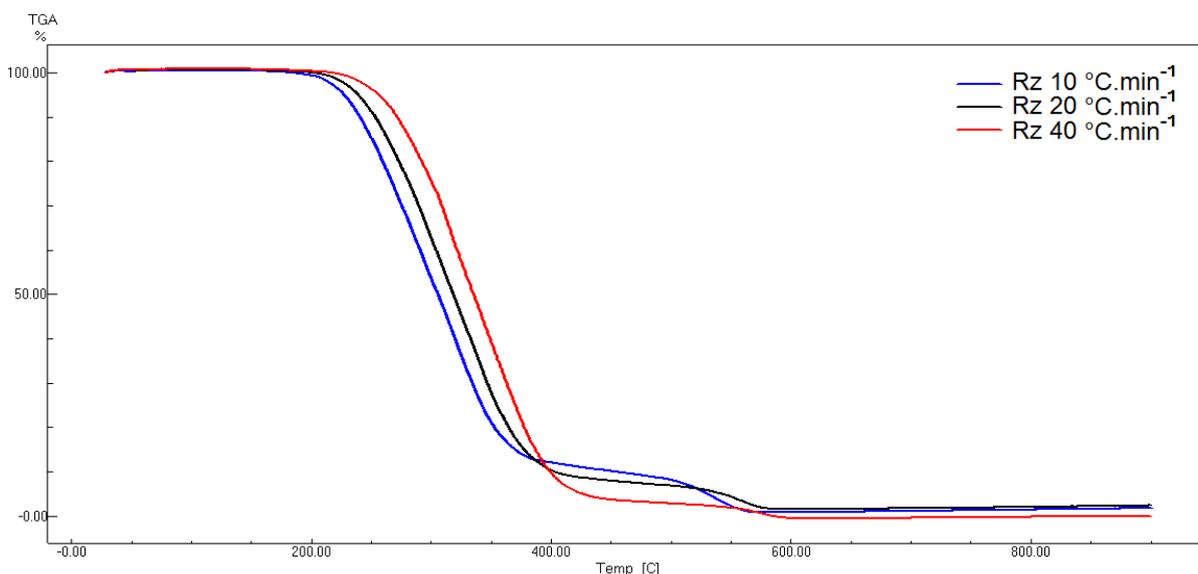


Tabela 13 - Dados termogravimétricos da etapa principal de degradação calculados pelo método da derivada

Razões (°C.min ⁻¹)	DERIVADA		
	T _{Onset} (°C)	T _{Endset} (°C)	Perda de massa (%)
10	202,82	385,83	86,47
20	204,00	408,15	90,39
40	211,86	437,55	96,00

Através dos dados calculados utilizando o modelo de Ozawa se podem observar variações nos valores de energia de ativação (E_a) e fator de frequência (A), conforme ilustrados na Tabela 14. O comportamento térmico do AR em diferentes velocidades de aquecimento foi determinado através dos parâmetros cinéticos, nos quais mostraram variações na energia de ativação entre 98,72 e 134,90 KJ.mol⁻¹. A análise dos parâmetros cinéticos referentes às diferentes frações de decomposição (α), evidenciou que a razão de aquecimento influenciou diretamente na energia ativação e fator de frequência, onde a razão de aquecimento superior promoveu uma decomposição mais rápida com o tempo de residência curto. A comparação entre as diferentes razões de decomposição confirmou que a reação de

decomposição do AR prosseguiu em duas etapas com mecanismo cinético de segunda ordem ou ordem superior.

Tabela 14 – Valores dos parâmetros cinéticos determinados pelo modelo de Ozawa

α	E_a (KJ.mol ⁻¹)	A (min ⁻¹)	N
0,7 – 0,9	98,72 +- 1,33	8,18 x 10 ⁸	4,4
0,5 – 0,7	114,93 +- 7,59	2,17 x 10 ¹⁰	3,7
0,3 – 0,5	134,90 +- 4,97	5,49 x 10 ¹¹	2,4

Fração de degradação (α) /Energia de ativação (E_a) /Fator de frequência (A) / Ordem da Reação (N)

6.2.2. Estudo de estabilidade dos produtos liofilizados

6.2.2.1. Ácido Retinoico-Acido Sórbico (ARAS)

As curvas TG de ARAS LIO e ARAS MF apresentaram diferenças em seus perfis quando comparadas com a de AR. A curva do fármaco apresentou variação principalmente em T_{onset} da etapa principal de degradação, a qual apresentou uma perda de massa de $\Delta m = 86,4\%$ ($T_{onset} = 202,8\text{ °C}$ e $T_{endset} = 385,8\text{ °C}$).

Ao comparar esse estágio nos perfis térmicos de ARAS LIO e ARAS MF observa-se que ocorreram em valores de T_{onset} inferiores ao do AR e percentuais de perda de massa diferentes (Figura 31 e Tabela 15). Esse fato pode ser explicado através do comportamento cinético de degradação do AS, que apresentou rápida perda de massa por volatilização, característica de mecanismo de reação de ordem zero, a qual influenciou na estabilidade de ARAS MF e ARAS LIO (valores de T_{onset} menores), mostrando que essa interação foi provocada pelas propriedades térmicas do adjuvante tecnológico.

As amostras ARAS MF e ARAS LIO apresentaram um perfil térmico semelhante ao do AS, principalmente os valores de T_{onset} . Este fato pode ter ocorrido devido a maior quantidade do AS na relação fármaco:adjuvante (m/m) utilizada na preparação das amostras, assim o perfil térmico do AS tornou-se mais evidenciado.

Figura 31 - Curvas termogravimétricas de AR e AS, sua mistura física e liofilizado na razão de aquecimento de 10 °C.min⁻¹.

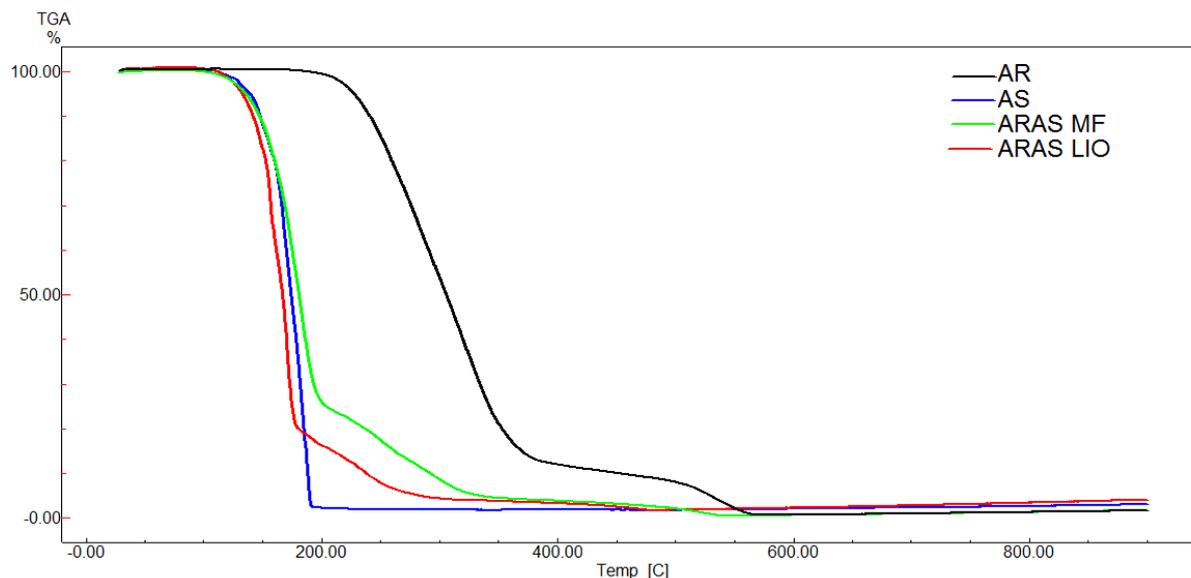


Tabela 15 - Dados termogravimétricos de AR e AS , sua mistura física e liofilizado na razão de aquecimento de 10 °C.min⁻¹.

Amostra	Etapa	T _{onset} (°C)	T _{endset} (°C)	Δ _m (%)
AR	1	202,82	385,83	86,47
	2	501,04	567,95	7,216
AS	1	123,25	194,91	96,36
ARAS MF	1	117,01	204,60	73,86
	2	219,42	325,41	17,28
	3	392,34	536,51	3,24
ARAS LIO	1	114,53	180,88	79,58
	2	196,56	270,08	10,87
	3	364,66	474,38	1,76

*Etapa Principal de Δ_m da Curva TG de AR – etapa 1

6.2.2.2. Ácido Retinoico-Acido Cítrico (ARAC)

O perfil térmico da curva TG de ARAC LIO apresentou-se diferente quando comparado com os de ARAC MF, AC e AR, principalmente na T_{onset} da etapa principal de degradação do fármaco, a qual apresentou uma perda de massa de Δ_m= 61,5 % (T_{onset} =166,84 °C e T_{endset} =238,13 °C), enquanto a etapa principal de degradação do fármaco na

curva TG de AR apresentou uma perda de massa de $\Delta m = 86,4\%$ ($T_{onset} = 202,8\text{ }^{\circ}\text{C}$ e $T_{endset} = 385,8\text{ }^{\circ}\text{C}$). (Figura 32). Os dados da Tabela 16 mostraram que ARAC LIO e ARACMF apresentaram comportamentos térmicos distintos de AR e AC em relação à temperatura da etapa principal, bem como ao número de etapas. A correlação dos dados termogravimétricos de AR-AC LIO com os dados de PDRX, da curva de DSC e do espectro de FTIR apresentados no Capítulo III, mostraram que a interação de AR com AC ao utilizar a técnica de liofilização favoreceu a formação de um cocristal, com características térmicas próprias, diferentes de AR, AC e ARAC MF.

Figura 32 - Curvas termogravimétricas de AR e AC, sua mistura física e liofilizado na razão de aquecimento de $10\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$.

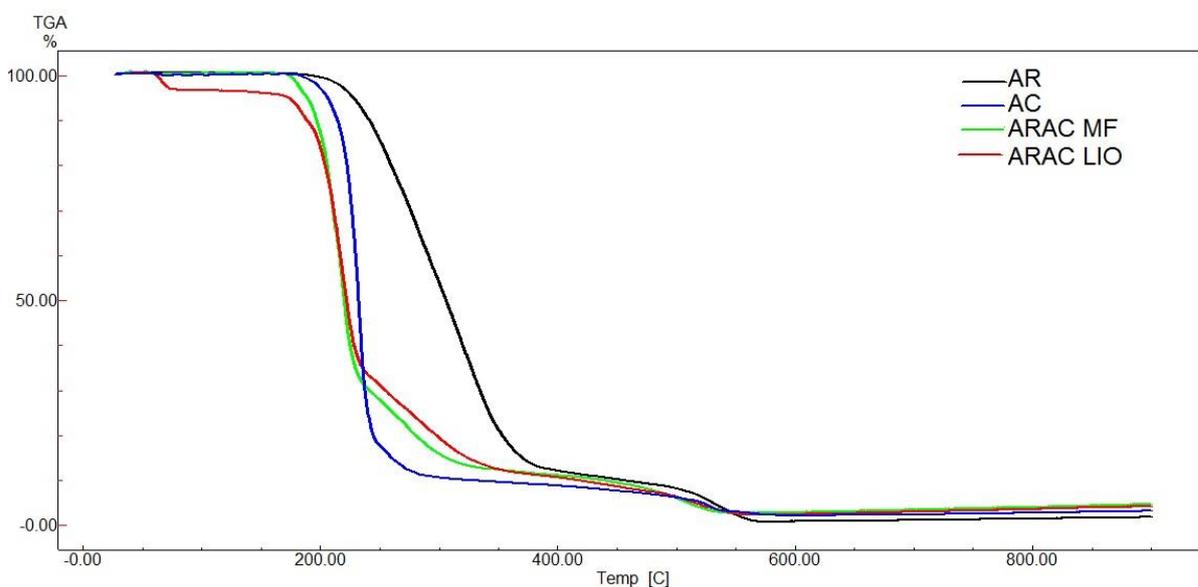


Tabela 16 – Dados termogravimétricos de AR e AC , sua mistura física e liofilizado na razão de aquecimento de 10 °C.min⁻¹.

Amostra	Etapa	T _{onset} (°C)	T _{endset} (°C)	Δ _m (%)
AR	1	202,82	385,83	86,47
	2	501,04	567,95	7,216
AC	1	178,91	271,94	87,52
	2	503,40	541,60	2,84
ARAC MF	1	171,26	238,80	69,55
	2	243,27	311,70	15,07
	3	445,89	534,45	6,62
ARAC LIO	1	56,54	76,71	3,64
	2	166,84	238,13	61,52
	3	248,00	347,07	18,93
	4	491,02	549,78	4,31

6.2.2.3. Ácido Retinoico-Nicotinamida (ARNI)

Na Figura 33 estão representadas as curvas termogravimétricas das mistura física e liofilizado do ácido retinoico com nicotinamida na razão de aquecimento de 10 °C.min⁻¹.

Figura 33 - Curvas termogravimétricas de AR e NI, sua mistura física e liofilizado na razão de aquecimento de 10 °C.min⁻¹.

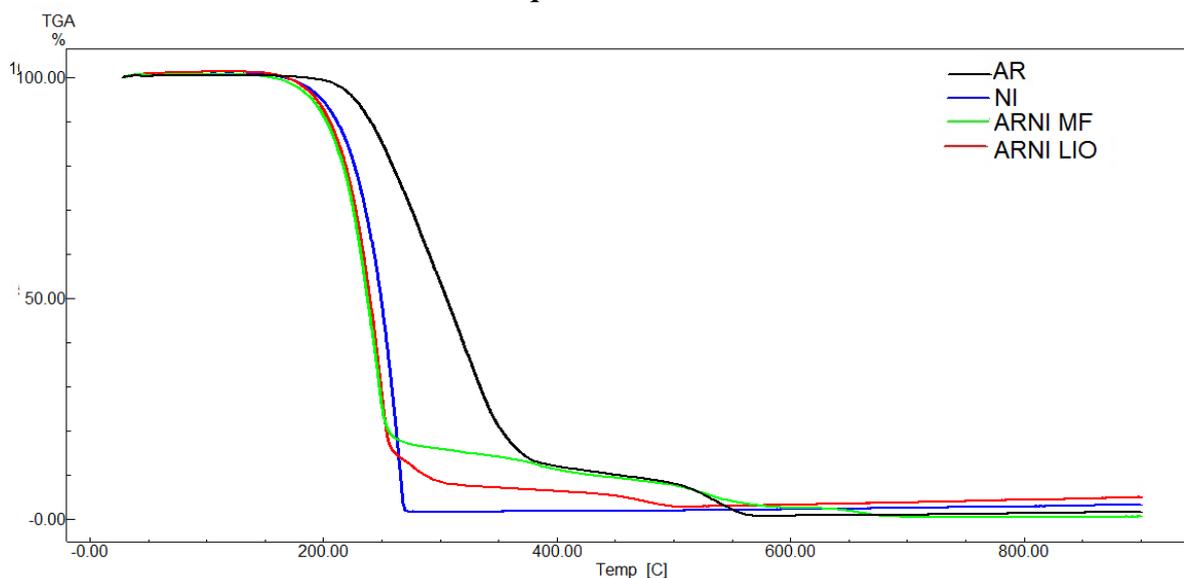


Tabela 17 - Dados termogravimétricos das mistura física e liofilizado do ácido retinoico com nicotinamida na razão de aquecimento de 10 °C.min⁻¹.

Amostra	Etapa	T_{onset}(°C)	T_{endset}(°C)	Δ_m (%)
AR	1	202,82	385,83	86,47
	2	501,04	567,95	7,216
NI	1	166,57	272,21	98,22
ARNI MF	1	169,15	263,32	80,77
	2	312,49	398,94	4,21
	3	482,71	563,78	4,91
	4	630,97	684,73	1,77
ARNI LIO	1	160,43	259,62	85,04
	2	259,62	301,17	7,11
	3	435,66	494,64	2,60

Os perfis das curvas TG das amostras apresentaram quando comparadas com AR, principalmente nos valores T_{onset} da etapa principal de degradação do fármaco, com uma perda de massa de $\Delta m = 86,4\%$ ($T_{onset} = 202,8\text{ °C}$ e $T_{endset} = 385,8\text{ °C}$). Esse mesmo estágio nas curvas TG de ARNI MF e ARNI LIO ocorreu em T_{onset} e Δm inferiores ao AR da ordem de $\Delta m = 80,8\%$ ($T_{onset} = 169,15\text{ °C}$ e $T_{endset} = 263,32\text{ °C}$) e $\Delta m = 85,04\%$ ($T_{onset} = 160,43\text{ °C}$ e $T_{endset} = 259,62\text{ °C}$), respectivamente (Figura 33 e Tabela 17), caracterizada por uma maior velocidade de perda de massa. Esse comportamento pode ser explicado pela volatilização característica do adjuvante tecnológico NI justifica a interação com redução da estabilidade em relação ao AR. No entanto o ARNI LIO apresentou um perfil térmico diferentes com antecipação da T_{onset} e maior perda de massa quando comparado a sua mistura física, evidenciando a influência do processo na estabilidade térmica.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Ao finalizar esse trabalho pode-se concluir que as ferramentas analíticas utilizadas forneceram informações importantes e complementares na caracterização e compreensão das interações ocorridas no fármaco ao serem produzidos liofilizados, em especial o PDRX, que foi fundamental ao demonstrar a formação do cocrystal em ARAC LIO e ARAC MF, sem o qual seria possível somente verificar a modificação físico-química ocorrida.

Além disso, os dados de tamanho do cristalito e de rede cristalina com a manutenção do sistema monoclinico usualmente encontrado no AR e demais fármacos são de relevância à continuidade do projeto, no controle das propriedades físico-químicas originais em todo o processo de desenvolvimento do medicamento.

Entretanto as informações fornecidas por DSC e FTIR contribuem enormemente, esclarecendo e confirmando os resultados encontrados no PDRX.

As técnicas analíticas também revelaram que o AC mostrou-se um adjuvante tecnológico mais reativo com o AR que os demais e que sua estrutura química foi o diferencial para os resultados, definindo o tipo de ligação preferencial.

A previsão da estabilidade dos liofilizados por TG forneceu importantes informações revelando que o liofilizado com AC mostrou-se mais instável que os demais liofilizados, com intensa antecipação de sua temperatura inicial de degradação.

A análise por TG do fármaco AR revelou também que sua reação de degradação é de ordem superior, segundo o modelo cinético de Osawa.

Desse modo concluímos que as ferramentas analíticas utilizadas mostraram-se rápidas e de grande importância na pesquisa do AR com os adjuvantes tecnológicos, além de seguirem a tendência da “química verde”, mais ecológica e econômica.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

- AAKERÖY, C.B.; FASULO, M.E.; DESPER, J. Cocrystal or salt: does it really matter? **Mol Pharm.**, Kansas, v.4, n.3, p.317-322, 2007.
- AALTONEN, J. et al. **Eur. J. Pharm. Biopharm.**, v.71, p.23-37, 2009.
- ALHALAWEH, A.; VELAGA, S. P. Formation of cocrystals from stoichiometric solutions of incongruently saturating systems by spray drying. **Cryst. Growth Des.**, v.10, n. 8, p.3302 – 3305, 2010.
- ALMOUAZEN, E. et al. Development of a nanoparticle-based system for the delivery of retinoic acid into macrophages. **Int. J. Pharm.**, v.430, p. 207– 215, 2012.
- ALSENZ, J.; KANSY, M. High throughput solubility measurement in drug discovery and development. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v.59, n.7, p.546-567, 2007.
- ALVES, O. L. **Espectroscopia infravermelho com transformada de Fourier: Feliz combinação de velhos conhecimentos de óptica, matemática e informática**. Unicamp, Campinas, 2009. Disponível em:
<http://lges.iqm.unicamp.br/images/vIVencia_lges_meprotec_espec_fourier.pdf> Acesso em 15 julho 2015.
- ALVES, L. D. S. et al. Avanços, propriedades e aplicações de dispersões sólidas no desenvolvimento de formas farmacêuticas. **Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl**, v.33, n.1, p.17-25, 2012.
- ALVES, A. A. S. **Investigação de cocristais de (R,S)- e (S)-Ibuprofeno**. 2012. 97 p. Dissertação (Mestrado em Química). Universidade de Coimbra, Coimbra.
- AMIDON, G. L. et al. A theoretical basis for a biopharmaceutic drug classification: the correlation of in vitro drug product dissolution and in vivo bioavailability. **Pharm. Res.**, v.12, n.3, p.413-420, 1995.
- ARAUJO, J.C. et al. Determinação dos parâmetros microestruturais de amostras de caulinitas usando o método de refinamento do perfil de difração de raios x. **R. Esc. Minas**, v.58, n.4, p.299 – 307, 2005.
- ARENAS-GARCIA, J.I. et al. Co-crystals of active pharmaceutical ingredients – acetazolamide. **Cryst.Growth Des.**, v.10, n.8, p.3732-3742, 2010.
- ASCENSO, A. et al. Complexation and full characterization of the tretinoin and dimethyl-beta-cyclodextrin complex. **AAPS PharmSciTech.**, v.12, p.553–63, 2011.
- BABU, N. J.; NANGIA, A. Solubility advantage of amorphous drugs and pharmaceutical cocrystals. **Cryst.Growth Des.**, v. 11, p. 2662-2679, 2011.

BAIG et al. Relationships Among Carbonated Apatite Solubility, Crystallite Size and Microstrain Parameters. **Calcif. Tissue Int.** v. 64, p. 437–449, 1999.

BERBENNI, et al. Thermoanalytical and spectroscopic characterisation of solid-state retinoic acid. **Int J Pharm.**, v.221, p.123–141, 2001.

BERNAL, C.; COUTO, A.B.; BREVIGLIERI, S.T.; CAVALHEIRO, E.T.G. Influência de alguns parâmetros experimentais nos resultados de análises calorimétricas diferencias-DSC. **Química Nova**, v.25, n. 5, p. 849-855, 2002.

BETHUNE, S. J.; SCHULTHEISS, N.; HENCK, J-O. Improving the poor aqueous solubility of nutraceutical compound pterostilbene through cocrystal formation. **Cryst.Growth Des.**, v. 11, p. 2817–2823, 2011.

BOYD, A. S. An Overview of the retinoids. **Am. J. Med.**, v.86, p.568–564, 1989.

BORBA, A.; GÓMEZ-ZAVAGLIA, A.; FAUSTO, R.. Molecular structure, vibrational spectra, quantum chemical calculations and photochemistry of picolinamide and isonicotinamide isolated in cryogenic inert matrixes and in the neat low-temperature solid phases. **J. Phys. Chem. A.**, v. 112, n. 1, p. 45–57, 2008.

BRASIL. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria n.º 344, de 12 de maio de 1998.** Aprova o Regulamento Técnico sobre substâncias e medicamentos sujeitos a controle especial. Disponível em:
<http://www.anvisa.gov.br/hotsite/talidomida/legis/Portaria_344_98.pdf> Acesso em 16 jul 2015.

BRISAERT, M.G.; EVERAERTS, I.; PLAIZIER-VERCAMMEN, J. A. Chemical stability of tretinoin in dermatologicals preparations. **Pharmaceutica Acta Helvetiae**, v.70, p. 161-166, 1995.

BRISAERT, M.G.; PLAIZIER-VERCAMMEN, J.A. Investigation on the photostability of a tretinoin lotion and stabilization with additives., **Int. J. Pharm.**, v.199, p. 49 – 57, 2000.

BRITISH PHARMACOPOEIA COMMISSION. **British pharmacopoeia 2009.** London: The Stationery Office, 2009. v. 1-2, p. 1381-1385.

CALLISTER JUNIOR, W. D. **Ciência e Engenharia de Materiais: Uma introdução.** 7. ed. São Paulo: LTC, 2008. 366 p.

CANATTA, M.G. **Síntese e caracterização do complexo formado através da reação entre o dicloreto de difenilestanho e ácido cítrico e sua atividade fungicida.** 2008. 51 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Universidade Federal de Lavras, Programa de Pós Graduação em Agroquímica, Lavras.

CASTRO, R. A. E. et. al. Naproxen cocrystals with pyridinecarboxamide isomers. **Cryst Growth & Design.**, v.11, n.12, p. 5396-5404, 2011.

CAVIGLIOLI, G. et al. Study of retinoic acid polymorphism. **J. Pharm. Sci.**,v. 95, n. 10, p. 2207-2221, 2006.

CHIENG,N.; RADEST,T; AALTONEN,J. An Overview of recent studies on the analysis of pharmaceutical I polymorphs. **J. Pharm. Biom. Anal.**, v.55,n.4,p.618-644, 2011.

COELHO, S.M. et al. Ácido retinoico: Uma terapia promissora para carcinoma tireoideano desdiferenciado? **Arq. Bras. Endocrinol. Metab**, São Paulo, v.47, n.2, abr.2003. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-27302003000200013> Acesso: em 18 jul. 2015.

COLOMBO, Paolo et al. Swellable matrices for controlled drug delivery:gel-layer behaviour, mechanisms and optimal performance. **Pharm. Sci.Technol. To.**, v.3, n. 6, p.198-204, 2000.

COSTA. A. **Tratado Internacional de Cosmecêutico**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2012. p.75 e 307

CULLITY, B. D.; STOCK, S. R. **Elements of X Ray Diffraction**. 3. ed. New Jersey: Prentice Hall, 2001. 664 p.

DENARI, G. B.; CAVALHEIRO, E. T. G. **Princípios e aplicações de análise térmica**. São Carlos: IQSC,2012. 40 p.

DINIZ, D. G. A.; LIMA, E. M.; FILHO, N. R. A. Isotretinoína: perfis farmacológico, farmacocinético e analítico. **Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.**, v.30, n. 4, p.415 – 430, 2002.

DRAELOS, Z. D. **Cosmecêuticos**. 2.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2009. p.1 e 45-54.

ELBAGERMA, M. A. et al. Characterization of new cocrystals by Raman Spectroscopy, Powder X-ray Diffraction, Differential Scanning Calorimetry, and Transmission Raman Spectroscopy. **Crystal Growth & Design**, v. 10, n. 5, p. 2360-2371, 2010.

ELBAGERMA, M. A. et al. Identification of a new cocrystal of citric acid and paracetamol of pharmaceutical relevance. **Cryst. Eng. Comm.**, v.13, p,1877–1884, 2011.

ELDER, D.P.; HOLM, R.; DIEGO, H. L. Use of pharmaceutical salts and cocrystals to address the issue of poor solubility. **Int. J. Pharm.**, v.453, p.88-100, 2013.

EVANS, T.R.J.; KAYLE, S.B. Retinoids: present role and future potential. **Brit. J. Cancer**, Britânia, v.80, p.1-8, mar.1999.

FATTAHI, A. et al. Preparation and characterization of micelles of oligomeric chitosan linked to all-trans retinoic acid. **Carbohydrate Polymers**, v.87(2), p.1176-1184, 2012.

FDA. **Guidance for Industry: Regulatory Classification of Pharmaceutical Cocrystals**. April, 2013. Disponível em:<<http://www.fda.gov/downloads/Drugs/Guidances/UCM281764.pdf>> Acesso em 17 jul 2015.

FORATO, L. A. et al. **A Espectroscopia na região do Infravermelho e algumas aplicações**. São Carlos: Embrapa Instrumentação Agropecuária, 2010. 14 p. Disponível em: < <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/884592/1/DOC512010.pdf>>

Acesso em 15 julho 2015.

FORD, J.L. The current status of solid dispersions. **Pharm. Acta Helv.**, v.61, n.3, p.69-88,1986.

FRISCIC, T.; JONES, W. Benefits of cocrystallisation in pharmaceutical materials science: an update. **J.Pharm.Pharmacol.**, v.62, p. 1559-1647, 2010.

GEOMETRIA DE BRAGG-BRENTANO [2014?]. Disponível em:< <http://cdalpha.univ-lyon1.fr/materiel/d8/d8car.htm>> Acesso em 04 set 2015.

HATAKEYAMA, T.; QUINN, F. X. **Thermal Analysis: fundamentals and applications to polymer science.** New York: John Wiley & Sons, 1997. 158 p.

HWANG, S.R. et al. Phospholipid-based microemulsion formulation of all-trans-retinoic acid for parenteral administration. **International Journal of Pharmaceutics**, v.276, n.1-2, p.175-183, 2004.

IONASHIRO, M. **Giolito: Fundamentos da Termogravimetria, Análise Térmica Diferencial e Calorimetria Exploratória Diferencial.** São Paulo: Giz Editorial,2005. 96 p.

JAMES, S. L et al. Mechanochemistry: opportunities for new and cleaner synthesis. **Chemistry Society Reviews**, v. 41, n. 1, p. 413-447, 2012.

JATWANI et al. An overview on solubility enhancement techniques for poorly soluble drugs and solid dispersion as an eminent strategic approach. **IJPSR**, v.3, n.4, p. 942-956, 2012.

JIANG, L. et al. Preparation and solid-state characterization of dapsone drug–drug cocrystals. **Cryst.Growth Des.**, v. 14, p.4562–4573, 2014.

JONES, W.; MOTHERWELL, W.D.S.; TRASK, A. V. Pharmaceutical cocrystals: An emerging approach to physical property enhancement. **MRS Bulletin**, v. 31, p.875-879, 2006.

KATRINCIC, L.M. et al. Characterization, selection, and development of an orally dosed drug polymorph from an enantiotropically related system. **Int. J.Pharm.**, v.366, p,1-13, 2009.

KEATTCH, C. J. ; DOLLIMORE, D. **An introduction to thermogravimetry.** 2. ed. New York: John Willey & Sons, 1975. 164 p.

KNOP, K.; STUMPF, S. ; SCHUBERT, U. S. Drugs as matrix to detect their own drug delivery system of PEG-b-PCL block copolymers in matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, v. 27, p.2201 - 2212, 2013.

KOJIMA, Y. et al. High-throughput cocrystal slurry screening by use of in situ Raman microscopy and multi-well plate. **Int. J. Pharm.**, v. 399, p. 52–59, 2010.

KRIL, M.B. et al. Determination of tretinoin in creams by high-performance liquid chromatography. **J. Chromatogr.**, v.522, p.227–234, 1990.

LARKIN, P. **IV and Raman Spectroscopy** – Principles and spectral interpretation. San Diego: Elsevier, 2011. 228 p.

LENARDAO, E. J. et al. "Green chemistry": os 12 princípios da química verde e sua inserção nas atividades de ensino e pesquisa. **Quím. Nova**, São Paulo, v. 26, n.1, p. 123-129, jan.2003.

LEUNER, C.; DRESSMAN, J. Improving drug solubility for oral delivery using solid dispersions (Review Article). **Eur. J. Pharm. Biopharm.**, v.50, n.1, p.47-60, 2000.

LIMA, I.P.B. et.al. Compatibility study of tretinoin with several pharmaceutical excipients by thermal and non-thermal techniques. **J. Therm. Anal. Calorim.**, v.120, p.733-747, dez.2014.

LIPINSKI, C. A. Poor Aqueous Solubility—An Industry Wide Problem in Drug Discovery. **American Pharmaceutical Review**, n. 5, v. 3, p. 82–85, 2002.

LIVA, A. A. M. et al. Drug–polymer interaction in the all-trans retinoic acid release from chitosan microparticles. **J. Therm. Anal. Calorim.**, v.87, p. 899–903, 2007.

LOFTSSON, T. **Drug Stability for Pharmaceutical Scientists**. 1. ed. Elsevier, p. 170, 2014.

LOPES, C. M.; LOBO, J.M, S.; COSTA, P. Formas farmacêuticas de liberação modificada: polímeros hidrofílicos. **Rev. Bras. Cienc. Farm.**, v.41, n. 2, p.143-154, 2005.

LÜCK, E.; JAGER, M.; RACZEK, N. "**Sorbic Acid**" in *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*. Wiley-VCH: Weinheim, 2000.

MAIO, V.M. P.; FRÖEHLICH, P. E.; BERGOLD, A.M. Interconversão tretinoína/isotretinoína: Um problema no preparo de formulações farmacêuticas. **Lat. Am. J. Pharm.**, v.22, n.3, p.249-254, 2003.

MARIA, C.A.B.; MOREIRA, R.F.A. A intrigante bioquímica da niacina – uma revisão crítica. **Quím. Nova**, v. 34, n.10, p.1739-1752, 2011.

MATSUMOTO, T.; ZOGRAFI, G. Physical properties of solid molecular dispersions of indomethacin with poly-(vinylpyrrolidone) and poly(vinylpyrrolidone-co-vinyl lactate) in relation to indomethacin crystallization. **Pharm. Res.**, v.16, n.11, p.1722-1728, 1999.

MEIRELLES, L.M.A. Estabilidade de Medicamentos: Estado da Arte. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. XI, n.4, p.6 - 26, 2014.

MENDHAM, J. ET AL. **VOGEL: ANÁLISE QUÍMICA QUANTITATIVA**, 6ª ED. RIO DE JANEIRO: LTC – EDITORA, 2002.462 P.

MIWA, Y. et al. Experimental Charge Density and Electrostatic Potential in Nicotinamide. **Acta Crystallogr.**, v. B55, n. 1, p. 78-84, 1999.

MURAKAMI, F. S. et al. Estudo de estabilidade de comprimidos gastro-resistentes contendo 20 mg de Omeprazol. **LATAMJPHARM**, v.4, p. 519 – 527, 2008.

NEHM, S., RODRIGUEZ-SPONG, B., RODRIGUEZ-HORNEDO, N. Phase solubility diagrams of cocrystals are explained by solubility product and solution complexation. **Cryst Growth Des.**, v.6, p. 592–600, 2006.

NEW JERSEY CENTRE FOR BIOMATERIALS (NJCBM). **Basic and translational research and developing new biomaterials**. Disponível em : <http://www.njbiomaterials.org/NJCB_Files/File/Skin%20Workshop/3.%20McKelvery_Presentation.pdf> Acesso em 04 set 2015.

OLIVEIRA, G.M. **Simetria de Moléculas e Cristais: Fundamentos da espectroscopia vibracional**. Porto Alegre:Bookman, 2009.

OLIVEIRA, M. A. et al. Análise Térmica aplicada à Caracterização da Sinvastatina em Formulações Farmacêuticas. **Quim. Nova**, v.33, n.8, p.1653-1657, 2010.

OURIQUE, A.F. et al. Tretinoin-loaded nanocapsules: Preparation, physicochemical characterization, and photostability study. **Int. J.Pharm.**, v.352, n.1, p.1- 4, 2008.

PARK, K. et al. Chemoprevention of 4-NQO-induced oral carcinogenesis by co-administration of all-trans retinoic acid loaded microspheres and celecoxib. **Journal of Controlled Release**, v. 104(1), pp.167-179, 2005.

PASTORE, N.S. **Avaliação de diferentes fontes de nitrogênio e concentração de sacarose na produção de ácido cítrico por *Aspergillus niger* usando manipueira como substrato**. 2010. Dissertação (mestrado) – Programa de Pós Graduação “Stricto Sensu” em Engenharia Química, Toledo.

PATEL, J. et al. Preparation, structural analysis, and properties of tenoxicam cocrystals. **Int. J.Pharm.**, v. 436, p. 685-706, 2012.

PAVIA, D.L et al.**Introdução à espectroscopia**. 4ª ed. São Paulo: Cengage Learning, 2010.

PENNA, G.O. et al. Thalidomide in the treatment of erythema nodosum leprosum (ENL): systematic review of clinical trials and prospects of new investigations. **An. Bras. Dermatol.**, Brasília,v.80, n.5, p.511-522, set/out.2005.

PESSANHA, A. F.V. et al. Influence of functional excipients on the performance of drugs in dosage forms. **Braz. J. Pharm.**, v.93, n.2, p.136-145, 2012.

RANG, H.P. et al. **Farmacologia**. 5. ed. Rio de Janeiro: Editora Elsevier; 2004.768 p.

REDMOND, K. A.; NGUYEN, T.; RYAN, R. O. All - trans-retinoic acid nanodisks. **Int. J. Pharm.**, v.339, n.1, p.246-250, 2007.

REDDY, L. S.; NANGIA, A.; LYNCH, V.M. Phenyl-perfluorophenyl synthon mediated cocrystallization of carboxylic acids and amides. **Cryst.Growth Des.**, v. 4, n.1, p.89-94, 2004.

REUTERS. **Mortes por câncer no mundo cresceram 8% em quatro anos, segundo a OMS.**2015. Disponível

em:<<http://www1.folha.uol.com.br/equilibrioesaude/2013/12/1384605-mortes-por-cancer-no-mundo-cresceram-8-em-quatro-anos-segundo-a-oms.shtml>> Acesso em 17 jul 2015.

RIETVELD, H.M. A profile refinement method for nuclear and magnetic structures. **J. Appl. Crystallogr.** , v.2, p.65-71, 1969.

SETHIA, S.;SQUILLANTE, E. Solid dispersions revival with greater possibilities and applications in oral drug delivery. **Critical reviews in therapeutic drug carrier systems**, v.20, n.2-3, p. 215-247, 2003.

SEKIGUCHI, K.; OBI, N. Studies on absorption of eutectic mixtures. I. A comparison of the behavior of eutectic mixtures of sulphathiazole and that of ordinary sulphathiazole in man. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v.9, n.11, p.866-872, 1961.

SCHULTHEISS, N.; NEWMAN, A. Pharmaceutical cocrystals and their physicochemical properties. **Cryst.Growth Des.**, v. 9, p. 2950–2967, 2009.

SCHULTHEISS, N., BETHUNE, S. , HENCK, J.. Nutraceutical cocrystals: utilizing pterostilbene as a cocrystal former. **CrystEngComm**, v.12, p.2436–2442, 2010.

SHAN, N.; ZAWOROTKO, M.J. The role of cocrystals in pharmaceutical science. **Drug Discovery Today**, v.13, p. 440-446, 2008.

SHETE, G. et al. Solid State Characterization of Commercial Crystalline and Amorphous Atorvastatin Calcium Samples. **AAPS PharmSciTech**, v.11, n. 2, p. 598–609, 2010.

SINKO, P.J. **MARTIN: .Físico-farmácia e ciências farmacêuticas.** 5. ed, Porto Alegre: Artmed, 2008. 810 p.

SILVA, K.E.R. et al. Modelos de avaliação da estabilidade de fármacos e medicamentos para a indústria farmacêutica. **Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.**, São Paulo,v.30, n.2, p.129-135, set. 2009.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.;NIEMAN, T. A. **Princípios de Análise Instrumental.** 5 ed. Porto Alegre: Bookman, 2002.

SOFOS, J.N., BUSTA, F.F. **Sorbic Acid and Sorbates.**In:DAVIDSON, P.M; BRANEN, A.L. **Antimicrobials in Foods.** New York: Marcel Dekker Inc. , 1993. Cap. 3, p. 49-94.

SOUZA, F.S. **Estudos térmicos e de dissolução de medicamentos hipoglicemiantes e cimetidina.** 2001, Dissertação (mestrado) – UFPB/CCS/DCF/LTF, João Pessoa.

STAM, C.H. Crystal structure of a monoclinic modification and the refinement of a triclinic modification of vitamin A acid (retinoic acid), C₂₀H₂₈O₂. **Acta Crystallogr. Sect. B Struct. Crystallogr. Crystal Chemistry**, v. 28, p. 2936 , 1972.

STORPIRTIS, S. et al. **Biofarmacotécnica.** Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2009.

SWEETMAN, S.C. **Martindale: the complete drug reference**. 34 ed. London: Pharmaceutical Press, 2005. p.2756

TAKATA, N. et al. Cocrystal screening of stanolone and mestanolone using slurry crystallization. **Cryst. Growth Des.**, v. 8, n. 8, p. 3032–3037, 2008.

TAN, X.; METZER, N.; LINDENBAUM, S. Solid-state stability studies of 13-cis-retinoic acid and all-trans retinoic acid using microcalorimetry and HPLC analysis. **Pharmaceutical Research** v.9, p.1203–1208, 1992.

THAKURIA et al. Use of In Situ Atomic Force Microscopy to Follow Phase Changes at Crystal Surfaces in Real Time. **Angew. Chem. Int. Ed.**, v. 52, p.10541 –10544, 2013.

VARGAS, M. R.W; RAFFIN, F. N.; MOURA, T. F.A.L. Strategies used for to improve aqueous solubility of simvastatin: a systematic review. **Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.**, São Paulo, v. 33, n. 4, p.497-507, ago. 2012.

VESANOID: Tretinoína: Cápsulas. Responsável Técnico Guilherme N. Ferreira. Rio de Janeiro: Produtos Roche Químicos e Farmacêuticos S.A, 2013. Bula de Remédio. Disponível em:

<http://www.anvisa.gov.br/datavisa/fila_bula/frmVisualizarBula.asp?pNuTransacao=10239652013&pIdAnexo=1891818> Acesso em 18 jul 2015.

WENLOCK, M. C. et al. A comparison of physiochemical property profiles of development and marketed oral drugs. **J. Med. Chem.**, v. 46, n. 7, p.1250–1256, 2003.

WOJNAROWSKA, Z. et al. Study of the Amorphous Glibenclamide Drug: Analysis of the Molecular Dynamics of Quenched and Cryomilled Material. **Mol. Pharm.**, v. 7, n.5, p.1692–1707, 2010.

WYCKOFF, R. W. G., **Crystal Structures**, John Wiley & Sons, New York, 1971.

YOUNG, R.A. **The Rietveld Method - Crystallography**. Oxford: Oxford University Press, 2000.741 p

YANG, X. et al. Detecting and Identifying the Complexation of Nimodipine with Hydroxypropyl- β -Cyclodextrin Present in Tablets by Raman Spectroscopy. **J.Pharm.Sci.**, v.97, n.7, p. 2702-2719, 2008.

YMÉN, I.; STOREY, R.A. **Solid state characterization of pharmaceuticals**. New Jersey: Wiley, 2011.

YOUNG, R. A.; LARSON, A. C.; PAIVA-SANTOS, C. O., **User's guide to program DBWS-9807a for Rietveld analysis of X ray and neutron powder diffraction patterns with a 'pc' and various others computers**. Georgia: School of Physics, Institute of Technology Atlanta, 1995.

YU, L.; REUTZEL, S.M.; STEPHENSON, G.A. Physical characterization of polymorphic drugs: an integrated characterization strategy. **Pharm. Sci. Technol. To.**, v.1, n3, p.118-127,1998.

VARGAS, M. R.W; RAFFIN, F. N.; MOURA, T. F.A.L. Strategies used for to improve aqueous solubility of simvastatin: a systematic review. **Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.**, São Paulo, v. 33, n. 4, p.497-507, ago. 2012

VASCONCELOS, Teófilo; SARMENTO, Bruno; COSTA, Paulo. Solid dispersions as strategy to improve oral bioavailability of poor water soluble drugs. **Drug Discovery Today**, v. 12, n.23/24, p.1068-1075, 2007.

VESANOID: Tretinoína: Cápsulas. Responsável Técnico Guilherme N. Ferreira. Rio de Janeiro: Produtos Roche Químicos e Farmacêuticos S.A, 2013. Bula de Remédio. Disponível em:

<http://www.anvisa.gov.br/datavisa/fila_bula/frmVisualizarBula.asp?pNuTransacao=10239652013&pIdAnexo=1891818> Acesso em 04 set 2015.

VISHWESHWAR, P. et al. Crystal engineering of pharmaceutical co-crystals from polymorphic active pharmaceutical ingredients. **Chemical Communications**, v.36, p.4601-4603, 2005.

VIANA, O.S et al. Kinect analysis of the thermal decomposition of Efavirenz and compatibility studies with selected excipients. **Lat. Am. J. Pharm.** , v.27, n.2, p.211-216, 2008.

VO, C. L.; PARK, C.; LEE, B. Current trends and future perspectives of solid dispersions containing poorly water-soluble drugs. **Eur.J. Pharm. Biopharm.**, v. 85, p.799–813, 2013.