



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM INOVAÇÃO TERAPÊUTICA

THAÍSA CARDOSO DE OLIVEIRA

**ESTUDO INTEGRADO INTERAÇÕES FÁRMACO-FÁRMACO: estudo
de caso com fármacos antirretrovirais de uso pediátrico**

Recife

2017

THAÍSA CARDOSO DE OLIVEIRA

**ESTUDO INTEGRADO INTERAÇÕES FÁRMACO-FÁRMACO: estudo
de caso com fármacos antirretrovirais de uso pediátrico**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Inovação Terapêutica da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Inovação Terapêutica. Área de concentração: Fármacos, Medicamentos e Insumos Essenciais para a Saúde.

Orientadora: Profa. Dra. Mônica Felts de La Roca Soares

Recife

2017

Catálogo na Fonte:
Bibliotecária Natália Nascimento, CRB4/1743

Oliveira, Thaísa Cardoso de.

Estudo integrado interações fármaco-fármaco: estudo de caso com fármacos antirretrovirais de uso pediátrico. / Thaísa Cardoso de Oliveira. – 2017.

81 f. : il., fig.; tab.

Orientadora: Mônica Felts de La Roca Soares.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Programa de Pós-graduação em Inovação terapêutica, 2017.

Inclui referências.

1. Interação fármaco-fármaco. 2. Estudos de pré-formulação. 3. Cinética não-isotérmica. 4. Mecanismo de decomposição. I. Soares, Mônica Felts de La Roca. (Orient.). II. Título.

587

CDD (22.ed.)

UFPE/CB – 2023-177

THAÍSA CARDOSO DE OLIVEIRA

**ESTUDO INTEGRADO INTERAÇÕES FÁRMACO-FÁRMACO: estudo
de caso com fármacos antirretrovirais de uso pediátrico**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Inovação Terapêutica da Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Biociências, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Inovação Terapêutica. Área de concentração: Medicamentos e Insumos Essenciais para a Saúde.

Aprovado em: 24 de fevereiro de 2017.

BANCA EXAMINADORA

Prof^ª. Dr^ª. Mônica Felts de La Roca Soares (Orientadora)
Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

Prof. Dr. Adley Antonini Neves de Lima (Examinador Externo)
Universidade Federal do Rio Grande do Norte - UFRN

Prof. Dr. Lívio César Cunha Nunes (Examinador Externo)
Universidade Federal do Piauí - UFPI

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente ao Criador, por fornecer as ferramentas adequadas para a minha caminhada de autodescoberta.

Minha eterna gratidão aos meus pais, Raimundo Neto e Marina; e aos meus irmãos, Tácio e Thayanne, por todo o amor incondicional.

Ao meu amor e grande amigo, Sonny Mateus, por estar pacientemente ao meu lado independente da situação. Essa vitória é também sua.

Gratidão aos meus orientadores Mônica Felts e José Lamartine por me guiarem na vida científica e serem meus exemplos de pesquisadores, além de todas as orientações essenciais para o desenvolvimento deste trabalho.

Ao Professor Adriano Antunes por todo o suporte fornecido e valiosas contribuições para esse trabalho.

Sou grata à minhas amigas Pauline Santos, Barbara Queiroz, Verônica Sátiro, Paula Batista, Marciana Cordeiro, Laisa Lis, Zenaide Negreiros e Isabel Célia por me ouvirem e apoiarem sempre que foi e é preciso.

Gratidão à família NCQMC em especial aos meus queridos amigos Hannah Lyra, Ana Carolina, Dayanne Casimiro, Amanda Damasceno, Amanda Quintas, Camila Figueiredo, Izak Araujo e João Pontes; obrigada por estarmos juntos nessa caminhada.

Agradeço à Daniela Nadvorny pela ajuda no desenvolvimento dos estudos de modelagem molecular e pelos valiosos ensinamentos científicos e não-científicos.

Ao Laboratório de Ensaio Farmacêuticos e Toxicidade (LEFT) em especial à Valéria Matos, Paula Passos, Yasmim Gomes e Gabriela Trindade, por todo apoio e aprendizados adquiridos com vocês.

Agradecimentos à Heitor Ornaghi e Felipe Ornaghi da UFRGS e Paulo Dantas da UFPE que generosamente me ajudaram a entender os cálculos de cinética isoconversional e metodologia de Criado.

Ao PPGIT, especialmente ao secretário Paulo Brito, por todo suporte fornecido durante esse mestrado.

Ao Departamento de Farmácia e CETENE pelo apoio estrutural e tecnológico.

À FACEPE, pelo suporte financeiro fornecido durante esse mestrado.

E a todos que direta ou indiretamente contribuíram para o desenvolvimento deste estudo.

*“Aprender é a única coisa que a mente
nunca se cansa, nunca tem medo e nunca se
arrepende”*

(Leonardo da Vinci)

RESUMO

O estudo das possíveis interações entre fármacos compreende uma etapa relevante associada aos desenvolvimentos de formulações que combinam dois ou mais fármacos. Nesta perspectiva, esse estudo teve como objetivo avaliar as possíveis interações físico-químicas de misturas contendo zidovudina (AZT), lamivudina (3TC) e nevirapina (NVP) por meio de técnicas térmicas, espectroscópicas e teóricas. Para tanto, foram feitas as misturas físicas (MFs) AZT+3TC, AZT+NVP, NVP+3TC e AZT+3TC+NVP nas proporções 1:1 e realizados estudos por meio de análise térmica, espectroscopia no infravermelho (IR) e Raman, de modelagem molecular, análises por cinéticas de degradação isoconversional pelos métodos de Flynn-Wall-Ozawa (FWO), Kissinger-Akahira-Sunose (KAS) e Friedman (FR) além da determinação do mecanismo de decomposição pelo método de Criado. Evidências de interação entre os fármacos devido a alterações nas curvas de todas as misturas em relação aos respectivos fármacos isolados foram sugeridas por DSC. Em relação a decomposição das misturas, NVP+3TC decompõe-se em temperatura anterior aos respectivos insumos. Curvas DSC com diferentes proporções das MFs evidenciaram que as interações ocorrem de fato para NVP+3TC e AZT+3TC. Os estudos de modelagem molecular auxiliaram na compreensão da interação dos fármacos, no qual AZT e 3TC conseguem interagir devido ao estabelecimento de forças eletrostáticas, enquanto NVP, que possui maior porcentagem de cargas positivas em sua estrutura, não consegue interagir com AZT e 3TC. Observou-se boa correlação entre as energias de ativação (E_a) calculadas para os fármacos e misturas pelos métodos de FWO, KAS e FR, compreendendo-se uma etapa relevante para se verificar as interações entre os IFAs. As misturas NVP+3TC e AZT+NVP foram menos estáveis termicamente que os respectivos componentes isolados, enquanto AZT+3TC manteve as características dos insumos que a compõem. O estudo do mecanismo de decomposição das misturas em relação aos respectivos fármacos evidenciou que AZT+3TC teve mecanismo de decomposição semelhante ao AZT e 3TC. Já NVP+3TC e AZT+3TC+NVP tiveram mecanismos diferentes ao apresentado pelos insumos isolados. As alterações da E_a das misturas em relação aos respectivos fármacos influenciaram em seus mecanismos de decomposição, consequência das interações entre os fármacos. O presente trabalho demonstrou-se como forma eficiente para avaliar a interação fármaco-fármaco, utilizando-se modelagem molecular, cinética de decomposição isoconversional e determinação do mecanismo de reação como etapas relevantes desse processo.

Palavras-chave: Interação fármaco-fármaco; estudos de pré-formulação; cinética não-isotérmica; mecanismo de decomposição.

ABSTRACT

The study of possible drug interactions comprises a relevant step in the development of formulations combining two or more drugs. In this perspective, this study aimed at the chemical-chemical interactions of mixtures containing zidovudine (AZT), lamivudine (3TC) and nevirapine (NVP) using thermal, non-thermal and theoretical techniques. To do this, the physical mixtures (MFs) AZT+3TC, AZT+NVP, NVP+3TC and AZT+3TC+NVP were made and conventional studies were carried out by means of thermal analysis, infrared (IR) and Raman spectroscopy; by molecular modeling, and refined the drug-drug interaction, comprising kinetic analyzes of isoconversional degradation by the methods of Flynn-Wall-Ozawa (FWO), Kissinger-Akahira-Sunose (KAS) and Friedman (FR). Conventional studies have shown evidence of interaction between drugs due to changes in the enthalpic characteristics of all mixtures relative to the respective drugs. However, in relation to the anticipation of decomposition, it was possible to understand only the behavior of NVP+3TC, which decomposes before the respective drugs. Molecular modeling studies aimed in the understanding of drug interaction in which AZT and 3TC are able to interact due to the establishment of electrostatic forces, corroborating with data in the FTIR spectrum, while NVP has difficulty interacting with AZT and 3TC. A correlation was found between the activation energies (E_a) calculated for the drugs and mixtures by the FWO, KAS and FR methods. The results obtained in the kinetics of thermal degradation by isoconversional methods comprised a relevant step to verify that the interactions of NVP+3TC and AZT+NVP promoted a decrease in the thermal stability of the drugs that make up, in the case of AZT+3TC+NVP and AZT+3TC showed higher activation energies at the beginning of the mass loss process, but there was a tendency of E_a decrease with increasing mass loss, accelerating the decomposition process of the drugs. Regarding the study of the mechanism of decomposition of the mixtures in relation to the respective drugs, it was evidenced that the mixture AZT+3TC had the mechanism of decomposition anticipated in relation to AZT. When alone, the two components of the NVP+3TC mixture have the same mechanism of decomposition, however, when mixed this mechanism is changed, similar behavior is observed for AZT+3TC+NVP. Such behaviors suggest that the changes in E_a of the mixtures in relation to the respective drugs modified the mechanism of decomposition of the mixtures, as a consequence of the interactions between the drugs. The present work demonstrates a new way to evaluate the drug-drug interaction, using together analyzes by DSC, TG, FTIR, Raman, molecular modeling, kinetics of isoconversional decomposition and determination of the mechanism of reaction.

Keywords: drug-drug interactions; preformulation studies; non-isothermal kinetics; drug decomposition mechanism.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Estruturas moleculares do AZT, 3TC e NVP.....	15
Figura 2 - Protocolo de estudos para investigação das interações entre fármacos e excipientes.....	21
Figura 3 - Representação gráfica das cinéticas de decomposição térmica isotérmica e não-isotérmica.....	29
Figura 4 - Decomposição térmica do AZT.....	40
Figura 5 - Curvas DSC dos fármacos AZT, 3TC e NVP, suas misturas binárias (AZT+3TC; AZT+NVP; NVP+3TC) e ternária (AZT+3TC+NVP) nas proporções equimolares 1:1 e 1:1:1.....	46
Figura 6 - Curvas TG dos fármacos AZT, 3TC e NVP, misturas físicas binárias (AZT+3TC; AZT+NVP; NVP+3TC) e ternária (AZT+3TC+NVP) obtidas sob atmosfera dinâmica de N ₂ (100mL/min) e aproximação das curvas AZT, AZT+3TC, AZT+NVP e AZT+3TC+NVP.....	49
Figura 7 - Espectros IV de AZT, 3TC, NVP suas misturas binárias e ternária.....	52
Figura 8 - Espectros Raman de AZT, 3TC, NVP, misturas binárias e ternária.....	53
Figura 9 - Curvas DSC dos IFAs AZT, NVP e diferentes proporções destes.....	54
Figura 10 - Curvas DSC dos IFAs 3TC, NVP e diferentes proporções destes.....	54
Figura 11 - Curvas DSC dos IFAs AZT, 3TC e diferentes proporções desses IFAs.....	55
Figura 12 - Diagrama de fases para a MF AZT+3TC.....	56
Figura 13 - Tempo de ligações de hidrogênio para a mistura ternária: (a) AZT+3TC+NVP, misturas binárias: (b) NVP+3TC, (c) AZT+3TC e (d) AZT+NVP.....	57
Figura 14 - Energia Total das misturas binárias AZT+3TC, AZT+NVP, NVP+3TC e ternária AZT+3TC+NVP.....	59
Figura 15 - Relação fração de decomposição e tempo para as MF AZT+3TC, AZT+NVP, NVP+3TC e AZT+3TC+NVP em relação aos IFAs AZT, 3TC e NVP.....	61
Figura 16 - Dependência da Energia de ativação (KJmol ⁻¹) pela fração de conversão calculados pelos métodos de FWO, KAS e FR para os insumos AZT, 3TC e NVP.....	62
Figura 17 - Dependência da Energia de ativação (KJmol ⁻¹) pela fração de conversão calculados pelos métodos de FWO, KAS e FR da MF AZT+3TC em relação aos fármacos AZT e 3TC.....	63

Figura 18 - Dependência da Energia de ativação (KJmol^{-1}) pela fração de conversão calculados pelos métodos de FWO, KAS e FR da MF AZT+NVP em relação aos fármacos AZT e NVP.....	64
Figura 19 - Dependência da Energia de ativação (KJmol^{-1}) pela fração de conversão calculados pelos métodos de FWO, KAS e FR da MF NVP+3TC em relação aos fármacos NVP e 3TC.....	64
Figura 20 - Dependência da Energia de ativação (KJmol^{-1}) pela fração de conversão calculados pelos métodos de FWO, KAS e FR da MF AZT+3TC+NVP em relação aos fármacos AZT, 3TC e NVP.....	65
Figura 21 - Curvas mestras ($Z(\alpha)$) de diferentes modelos cinéticos e dados experimentais referentes à degradação térmica de AZT+3TC, AZT+NVP, NVP+3TC e AZT+3TC+NVP em comparação aos IFAs AZT, 3TC e NVP utilizando-se os dados de E_a de FWO para os cálculos matemáticos.....	67
Figura 22 - Curvas mestras ($Z(\alpha)$) de diferentes modelos cinéticos e dados experimentais referentes à degradação térmica de AZT+3TC, AZT+NVP, NVP+3TC e AZT+3TC+NVP em comparação aos IFAs AZT, 3TC e NVP utilizando-se os dados de E_a de FR para os cálculos matemáticos.....	67

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Principais técnicas de análise de interação fármaco-fármaco, vantagens e desvantagens.....	19
Tabela 2 - Estudos de interações entre fármacos, metodologias de preparo, formas de caracterização e seus resultados.....	23
Tabela 3 - Exemplos de utilização de cinética de decomposição térmica em estudos de interação fármaco-fármaco e fármaco-excipientes.....	35
Tabela 4 - Expressões algébricas para $g(\alpha)$ e $f(\alpha)$ frequentemente utilizadas para mecanismos das reações no estado sólido.....	39
Tabela 5 - Temperaturas e valores de ΔH envolvidos no processo de fusão dos fármacos isolados (AZT, 3TC e NVP), misturas binárias (AZT+3TC; AZT+NVP; NVP+3TC) e ternária (AZT+3TC+NVP)	47
Tabela 6 - Parâmetros térmicos dos IFAs isolados (AZT, 3TC e NVP), misturas binárias (AZT+3TC; AZT+NVP; NVP+3TC) e ternária (AZT+3TC+NVP)	49

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

3TC	Lamivudina
ADF	Associação de dose fixa
AIDS	Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AZT	Zidovudina
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
CETENE	Centro de Ciências Estratégicas do Nordeste
DRX	Difração de raios-X
DSC	Calorimetria exploratória diferencial
DTG	Termogravimetria Derivativa
EFZ	Efavirenz
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
ICH	<i>International Guidance of Humanization</i>
IFA	Insumo Farmacêutico Ativo
IV	Espectroscopia vibracional na região do infravermelho
ITRNNs	Inibidores da Transcriptase Reversa Não-Análogos de Nucleosídeos
ITRNs	Inibidores da Transcriptase Reversa Análogos de Nucleosídeos
MF	Mistura física
NVP	Nevirapina
RAMAN	Espectroscopia RAMAN
TGA	Análise termogravimétrica
WHO	World Health Organization

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2.1	FORMULAÇÕES COM ASSOCIAÇÃO DE DOSE.....	16
2.2	ESTUDOS DE PRÉ FORMULAÇÃO	17
2.3	ESTUDO DE INTERAÇÃO FÁRMACO-FÁRMACO.....	17
2.4	CINÉTICA DE DECOMPOSIÇÃO TÉRMICA	27
2.4.1	Método integral de Flynn-Wall-Ozawa	31
2.4.2	Método de Kissinger-Akahira-Sunose	32
2.4.3	Método de Friedman	32
2.4.4	Estudos cinéticos de decomposição térmica	33
2.4.5	Estudos cinéticos de decomposição térmica envolvendo fármacos.....	34
2.5	MODELOS CINÉTICOS DE DECOMPOSIÇÃO TÉRMICA.....	37
2.5.1	Método de Criado	38
2.6	DINÂMICA MOLECULAR.....	39
2.7	FÁRMACOS DE ESCOLHA PARA ESTUDO DAS INTERAÇÕES FÁRMACO-FÁRMACO: ZIDOVUDINA, LAMIVUDINA E NEVIRAPINA.....	40
3	OBJETIVOS	42
3.1	OBJETIVO GERAL.....	42
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	42
4	MATERIAL E MÉTODOS	43
4.1	AMOSTRAS	43
4.2	PREPARO DAS AMOSTRAS.....	43
4.3	ESTUDOS CONVENCIONAIS DAS INTERAÇÕES FÁRMACO-FÁRMACO	43
4.3.1	Calorimetria Exploratória Diferencial	43
4.3.2	Termogravimetria	43
4.3.3	Espectroscopia vibracional na região do infravermelho - FTIR	44
4.3.4	Espectroscopia por espalhamento de luz monocromática – RAMAN.....	44
4.4	ANÁLISE COMPLEMENTAR DAS INTERAÇÕES FÁRMACO-FÁRMACO.....	44
4.4.1	Avaliação da miscibilidade	44
4.4.2	Dinâmica molecular	44
4.5	AVALIAÇÃO DAS INTERAÇÕES FÁRMACO-FÁRMACO POR MEIO DOS ESTUDOS CINÉTICOS E DE MECANISMO DA REAÇÃO.....	45

4.5.1	Determinação da energia de ativação por modelos isoconversionais	45
4.5.2	Determinação do mecanismo de decomposição pelo método de Criado	45
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	46
5.1	ESTUDOS CONVENCIONAIS DAS INTERAÇÕES FÁRMACO-FÁRMACO ...	46
5.1.1	Calorimetria exploratória diferencial.....	46
5.1.2	Termogravimetria	48
5.1.3	Espectroscopia vibracional da região do infravermelho	51
5.1.4	Espectroscopia Raman.....	52
5.2	ESTUDOS COMPLEMENTARES DA INTERAÇÃO FÁRMACO-FÁRMACO ...	54
5.2.1	Curvas DSC de diferentes proporções dos IFAs	54
5.2.2	Avaliação das interações fármaco-fármaco por dinâmica molecular	57
5.2.2.1	<i>Estudo das ligações de hidrogênio.....</i>	<i>57</i>
5.2.2.2	<i>Estudo da energia total das misturas</i>	<i>59</i>
5.3	ESTUDO DAS INTERAÇÕES FÁRMACO-FÁRMACO POR CINÉTICA DE DECOMPOSIÇÃO E DETERMINAÇÃO DO MECANISMO DE REAÇÃO	60
5.3.1	Cinética de decomposição isoconversional.....	60
5.3.2	Determinação dos modelos de decomposição pelo método de Criado.....	66
6	CONCLUSÃO	70
7	PERSPECTIVAS.....	71
	APÊNDICE A - ENERGIAS DE ATIVAÇÃO PELOS MÉTODOS DE FWO, KAS E FR DOS FÁRMACOS AZT, 3TC E NVP PARA CADA UMA DAS FRAÇÕES DE CONVERSÃO (2.5 A 50%).....	72
	APÊNDICE B - ENERGIAS DE ATIVAÇÃO PELOS MÉTODOS DE FWO, KAS E FR DAS MISTURAS BINÁRIAS (AZT+3TC, AZT+NVP E NVP+3TC) E TERNÁRIA (AZT+3TC+NVP) PARA CADA UMA DAS FRAÇÕES DE CONVERSÃO (2.5 A 50%).	73
	REFERÊNCIAS.....	74

1 INTRODUÇÃO

Uma etapa relevante dos estudos de pré-formulação é a avaliação de interações entre os componentes de uma formulação, pois os mesmos podem alterar a estabilidade química e física, influenciando, conseqüentemente, na segurança e eficácia do produto final (GHADERI; NEMAT; SIAHI-SHADBAD, 2015). Devido a isso, já se tem na literatura uma série de estudos sobre a interação fármaco-excipientes (DE OLIVEIRA et al., 2013; SANTOS et al., 2015; SOARES et al., 2011). No entanto, aqueles que tratam sobre múltiplos insumos farmacêuticos ativos (IFAs) para o desenvolvimento de formulações com associação de doses e estudos de interação fármaco-fármaco no estado sólido, ainda são escassos (ALVES-SILVA et al., 2014; BATE et al., 2009; BHUTANI; MARIAPPAN; SINGH, 2004).

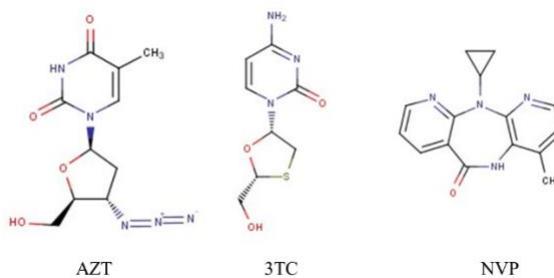
Dentre os diversos recursos dos estudos de pré-formulação, a análise térmica se estabeleceu nos últimos anos como uma importante ferramenta devido a sua capacidade em fornecer informações sobre as propriedades físico-químicas no qual os resultados são obtidos de forma rápida e eficiente (KNOPP et al., 2016). Com isso, informações sobre o comportamento de dois ou mais fármacos entre si ou com excipientes podem ser rapidamente adquiridas e interpretadas (CHADHA; BHANDARI, 2014). Neste contexto, a cinética de decomposição térmica é um processo amplamente utilizado para fornecer informações sobre as propriedades químicas de um fármaco, podendo gerar conhecimento para as etapas de produção e processamento de formulações (WANG; YOU, 2014).

Os métodos de decomposição térmica do tipo isocorvencional partem do princípio de que a energia de ativação (E_a) pode variar relação ao mecanismo de decomposição e por meio de cálculos matemáticos se estimam as variações de E_a de acordo com a fração de decomposição (α) (FLYNN; WALL, 1966; HENRIQUE et al., 2015; JAIN; MEHRA; RANADE, 2016; OZAWA, 1992). Estes métodos são amplamente utilizados em estudos de decomposição de materiais que não possuem homogeneidade em sua estrutura, sendo, portanto, adequados para a determinação dos parâmetros cinéticos em sistemas heterogêneos (OTHMAN et al., 2016). Outras técnicas, tais como FTIR e simulações computacionais podem fornecer informações complementares a respeito de sistemas em estudo (ROJEK; WESOLOWSKI; SUCHACZ, 2013).

A exemplo de sistemas heterogêneos em que estes métodos são aplicados, a associação de zidovudina (AZT), lamivudina (3TC) e nevirapina (NVP) é uma das terapias com combinação de dose mais recomendadas para a terapia antirretroviral pediátrica (BAMFORD et al., 2015). Neste contexto, o presente trabalho teve como objetivo investigar as interações

físico-químicas entre AZT, 3TC e NVP (Figura 1) por meio de ferramentas de estudo preliminares e refinados a fim de fornecer subsídios para o desenvolvimento de um novo protocolo de estudo para associações de dose.

Figura 1 - Estruturas moleculares do AZT, 3TC e NVP.



Fonte: Autoria própria, molécula desenhada a partir do software Marvin (2016).

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 FORMULAÇÕES COM ASSOCIAÇÃO DE DOSE

Formulação com associação de dose (ADF) ou dose-fixa combinada (FDC) é o termo adotado para referir-se quando dois ou mais fármacos são unidos em uma única fórmula farmacêutica. Essa estratégia é delineada quando uma significativa parcela da população necessita de uma determinada combinação para se obter uma terapia adequada (BRASIL, 2010; SOARES-SOBRINHO et al., 2007). Ainda, medicamentos com associação dose-fixa são uma realidade para uma série de terapias, tais como, hipertensão, diabetes, tuberculose, HIV, infecções bacterianas, entre outros. Entre as principais vantagens da combinação de fármacos, tem-se: sinergismo do efeito terapêutico, redução do número de dosagens e promoção de melhoria na adesão do paciente à terapia, minimizar a resistência dos microrganismos pelos fármacos, como é o caso de terapias anti-HIV e antituberculose (DESAI et al., 2012; SKOTNICKI et al., 2014).

No entanto, a associação tem a desvantagem de gerar menor flexibilidade de doses (KUENTZ; HOLM; ELDER, 2015). Além disso, o surgimento de efeitos adversos que não estão relacionados aos descritos nos medicamentos convencionais que contém os fármacos são riscos relevantes para as terapias ADF e necessitam ser amplamente estudados (BRASIL, 2010). Um clássico sobre o tema trata-se da formação de acetilcodeína a partir da interação entre codeína e aspirina (JACOBS et al., 1966). Outro estudo avalia a combinação de isoniazida com rifampicina, comprovando-se a formação de um produto de degradação proveniente de rifampicina que tinha sua concentração aumentada quando em presença da isoniazida (SINGH et al., 2000).

Para tanto, são necessários estudos que garantam a segurança, eficácia e qualidade dos componentes da formulação. O desenvolvimento de metodologias analíticas para determinação simultânea com aplicação de degradação forçada, a avaliação das interações fármaco-excipientes e fármaco-fármaco no estado sólido, são alguns exemplos (APARNA et al., 2010; CHADHA; BHANDARI, 2014; ELDER; KUENTZ; HOLM, 2015; GUPTA; CHADHA, 2015; KIM et al., 2014; SILVA et al., 2015).

Garantir que uma determinada população utilize medicamentos de forma segura é um dos objetivos mais relevantes por parte de organizações reguladoras de diversos países. Para tanto, há alguns guias provenientes destas organizações para desenvolvimento de formulações com

combinações de dose por parte da Food and Drug Administration (FDA), World Health Organization (WHO), European Medicines Agency (EMA) e Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) (BRASIL, 2010; EMEA, 2015; FDA, 2006; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2005).

Em algumas regulamentações comenta-se que para formulações que possuem dois ou mais IFAs é necessário avaliar a interação entre seus componentes, conhecimento este que deve ser adquirido durante os estudos de pré-formulação (BRASIL, 2010; FDA, 2006). No entanto, poucos guias comentam detalhadamente sobre o procedimento que deve ser adotado para tais investigações. O guia que mais detalha sobre o procedimento a ser executado na etapa de pré-formulação de DFC foi publicado pela Organização Mundial de Saúde. Nesta regulamentação enfatiza-se que é necessário avaliar a degradação dos insumos por reações de em meios ácidos, básicos, hidrolíticos, oxidativos e fotolíticos. Sobre reações no estado sólido, o guia informa que este tipo de degradação também pode ser considerado, indicando que a amostra deve ser exposta a temperaturas entre 60 e 120°C ou 5-10°C abaixo da temperatura de fusão dos IFAs. Além disso, não há qualquer sugestão de avaliação do comportamento dos IFAs quando em misturas (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2005).

2.2 ESTUDOS DE PRÉ FORMULAÇÃO

Pré-formulação correspondem às primeiras etapas a serem realizadas para o desenvolvimento racional de formas farmacêuticas. Esse estudo tem como objetivo investigar exaustivamente as propriedades físico-químicas, biofarmacêutica, físico-mecânica do(s) IFA(s), além das características dos excipientes e materiais de embalagem. Tal avaliação é necessária para o desenvolvimento de uma formulação biodisponível, estável e que possa ser produzida em larga escala (LIEBERMAN; LACHMAN; SCHWARTZ, 1989).

2.3 ESTUDO DE INTERAÇÃO FÁRMACO-FÁRMACO

Nos dias atuais, com o advento de formulações contendo múltiplos IFAs, o estudo das possíveis interações é um fator crítico para o desenvolvimento de formas farmacêuticas. O conhecimento adquirido em estudos de pré-formulação é relevante para verificar as características intrínsecas do fármaco, além de avaliar seu comportamento em determinadas condições (LAU, 2001; SILVA et al., 2009; WANG; YOU; YU, 2015).

Estudos da interação fármaco-fármaco podem ser compreendidos como etapas preliminares relevantes para o desenvolvimento de novas formulações que combinam dois ou mais fármacos. Tais avaliações podem prever, por exemplo, quais tipos de interações físico-químicas são observados num determinado sistema, além de apontar possíveis modificações estruturais. Podem ainda verificar se há alteração na estabilidade e biodisponibilidade ou ainda, fornecer informações a respeito da eficácia terapêutica e perfil de segurança da associação (BHUTANI; MARIAPPAN; SINGH, 2004; TITA et al., 2014).

Caso seja confirmada a existência de interação entre os IFAs, deve-se priorizar o desenvolvimento de estratégias para impedir o comprometimento a eficácia terapêutica. Neste assentido, a comunidade científica detém elevado arsenal de técnicas capazes detectar possíveis interações entre fármacos, alguns dos quais estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 - Principais técnicas de análise de interação fármaco-fármaco, vantagens e desvantagens.

Técnica	Finalidade	Vantagens	Desvantagens
DSC	- Avaliar interações a partir de antecipação do T_{onset} de fusão comparando-se o material isolado e em misturas. - Avaliar o aparecimento, desaparecimento e deslocamento de picos como sinais de interação.	- Necessita-se de 2 a 5mg de amostra; - Técnica rápida, resultados são obtidos em aproximadamente 2 horas; - Fácil detecção das alterações de entalpia;	- A amostra é destruída durante a análise; - Dificuldade na interpretação dos resultados; - Não é capaz de ter precisão quando dois eventos acontecem na mesma região de temperatura;
TGA	- Avaliar a interferência dos componentes no perfil de decomposição do material.	- Necessita-se de pequena quantidade de amostra; - Obtém-se uma análise em aproximadamente 3,5 horas; - Pode ser acoplado a FTR e MS;	- A amostra é destruída durante a análise; - Dificil interpretação quando dois eventos acontecem na mesma faixa de temperatura;
DRX	- Pode detectar interações relacionadas a alteração da cristalinidade / amorfização das moléculas e alterações polimórficas;	- Método não destrutivo;	- Não informa sobre a estrutura química da molécula e possíveis alterações;
FTIR	- Pode detectar interações relacionadas a interações entre grupos funcionais devido ao aparecimento/desaparecimento, mudança da posição ou alteração da intensidade bandas de absorção;	- Necessita-se de aproximadamente 1 mg de amostra; - Os resultados são adquiridos de após a análise;	- A umidade do meio pode interferir nos resultados;
ssRMN	- Pode promover informações valiosas quanto a natureza química da interação;	- Método não destrutivo;	Elevado tempo de análise;
HPLC	- É possível separar as substâncias provenientes da degradação;	- Pode ser acoplado à espectrometria de massas para auxiliar na identificação/caracterização das moléculas.	- Utiliza-se de elevada quantidade de solventes; - Necessita-se de elevado tempo de análise; - As amostras só são recuperadas posteriormente se utilizar uma coluna preparativa.

Legenda: DSC: Calorimetria exploratória diferencial; TG: termogravimetria; DRX: Difração de raios-X; FTIR sigla em inglês de espectroscopia vibracional na região do infravermelho por transformada de fourrier; MEV: Microscopia eletrônica de varredura; HPLC: sigla em inglês de Cromatografia líquida de alta eficiência; RMN: Ressonância magnética nuclear;

Fonte: Adaptado de (CHADHA; BHANDARI, 2014; GHADERI et al., 2016).

As técnicas termoanalíticas se estabeleceram ao longo dos anos como importantes ferramentas nos estudos de pré-formulação, principalmente devido a sua capacidade em

fornecer informações detalhadas sobre as propriedades físico-químicas e energéticas de uma substância de forma rápida e eficiente (KNOPP et al., 2016). Informações sobre o comportamento de dois ou mais fármacos ou de fármacos com excipientes podem ser adquiridos e interpretados sem a necessidade de elevada quantidade de experimentos e solventes. Estas técnicas, portanto, podem ser útil como pesquisa introdutória e complementar para estudos mais amplos, como análise de degradação forçada em meios reacionais com detecção por métodos cromatográficos, por exemplo (CHADHA; BHANDARI, 2014).

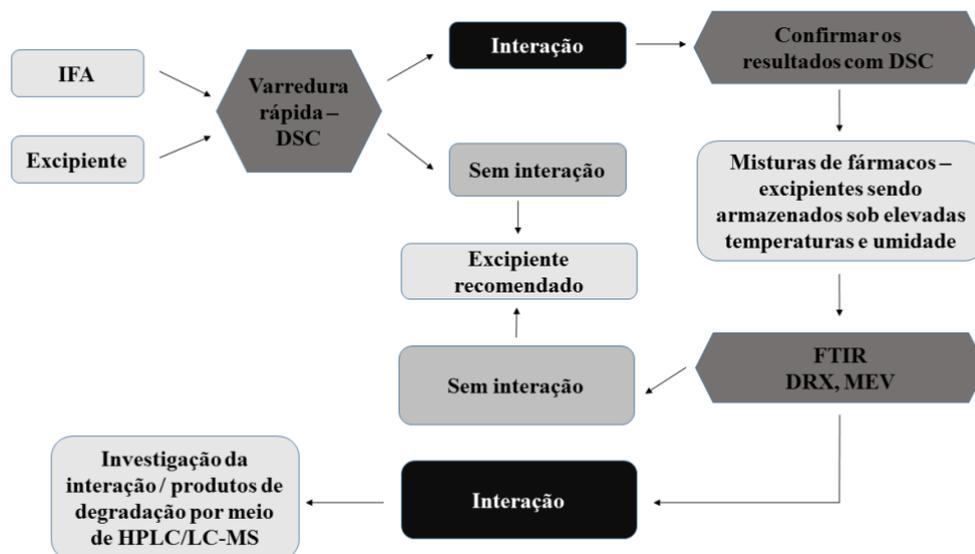
Os métodos termoanalíticos são amplamente utilizados para avaliar decomposição térmica, estabilidade térmica, polimorfismo, pureza de uma substância, avaliação de formulações, entre outros (TITA et al., 2014). São contemplados nesse grupo métodos como calorimetria exploratória diferencial (DSC), termogravimetria (TG), análise térmica diferencial (DTA), análise mecânica térmica (TMA), entre outros (MONTHE; AZEVEDO, 2009).

DSC é uma das técnicas mais empregadas para avaliação das interações. É muitas vezes utilizada como parâmetro inicial de análise, no qual a antecipação de fusão da mistura em relação aos componentes isolados muitas vezes já são indícios de interação (MURA; GRATTEI; FAUCCI, 2002). Apesar de apresentar uma série de vantagens, a interpretação dos resultados pode ser subjetiva em alguns casos, para tanto, é preciso analisar os resultados de forma cuidadosa e sempre comparando as curvas DSC do insumo sozinho com a curva DSC da mistura realizadas nas mesmas condições (BHARATE; BHARATE; BAJAJ, 2010).

A análise termogravimétrica (TGA) ou termogravimetria (TG) é uma técnica na qual a massa de um material é medida como uma função da temperatura ou do tempo. A TGA pode ser utilizada para avaliar tanto a decomposição e estabilidade térmica de materiais sob diferentes condições, como também a cinética dos processos (físico-químicos) que ocorrem na amostra. Em geral, somente com análises por TGA é difícil elucidar o mecanismo de degradação térmica de um material (BORBA et al., 2014).

Vários autores já propuseram protocolos para delineamento das interações entre fármacos e excipientes, um exemplo destes protocolos que podem ser utilizados como base para os estudos fármaco-fármaco é representado pela Figura 2.

Figura 2 - Protocolo de estudos para investigação das interações entre fármacos e excipientes.



Fonte: Adaptado de (CHADHA; BHANDARI, 2014).

Assim como foi demonstrado no fluxograma representado na Figura 2, análises por FTIR, DRX e MEV são utilizados como análises complementares aos estudos de interação fármaco-fármaco, no entanto, muitas vezes não são técnicas comprobatórias.

A espectroscopia vibracional na região do infravermelho, por exemplo, é uma técnica simples e cujos resultados são obtidos de forma rápida. Uma análise detalhada do espectro das misturas em relação aos seus componentes isolados pode evidenciar o deslocamento, surgimento, desaparecimento ou ainda variações na intensidade e largura das bandas de absorção. Tais comportamentos podem ser importantes para a elucidação do mecanismo da interação (GHADERI et al., 2016). No entanto, alguns trabalhos conseguem visualizar interações nas misturas apenas quando a submetem à algum tipo de estresse, enquanto a análise à 25°C da mistura apresenta-se apenas como uma sobreposição dos espectros de ambos os insumos (ALVES-SILVA et al., 2014; SILVA et al., 2015).

Em 2010, Fulias e colaboradores investigaram através das técnicas de DSC, espectroscopia na região do infravermelho e cinética térmica a interação entre cefadroxil com alguns excipientes. Na ocasião, os resultados de DSC indicaram a existência de interação entre cefadroxil e estearato de magnésio, com desaparecimento do pico endotérmico de fusão característico do IFA e por cinética térmica, com diminuição significativa da energia de ativação da mistura. No entanto, não foram observadas diferenças significativas nos espectros IV das misturas (FULIAS et al., 2010).

Existem vários estudos que investigam a interação entre fármaco e excipientes e excipiente-excipientes para o delineamento de novas formas farmacêuticas, no entanto, estudos

envolvendo múltiplos fármacos ainda são relativamente escassos (BLAJOVAN et al., 2016; SILVA et al., 2015). A Tabela 2 descreve alguns estudos de interações fármaco-fármaco disponíveis.

Tabela 2 - Estudos de interações entre fármacos, metodologias de preparo, formas de caracterização e seus resultados.

Combinações de fármacos	Proporções / preparo	Condições	Caracterização	Resultados
AZT, 3TC e EFZ (SOARES et al., 2016)	MB e MT nas proporções 1:1 e 1:1:1 (p/p);	15 min de agitação em vortex;	FTIR, RMNss e modelagem molecular;	-Não houve sinal de interação observado nos espectros de FTIR da mistura ternária; - Os espectros de RMNss não apresentaram sinais de interação entre os IFAs; - Não foi verificado sinais de interação entre os IFAs por meio das análises teóricas;
Artemeter, pirimetamina e sulfadoxina (GUPTA; CHADHA, 2015)	MB (1:1, 1:8, 8:1), proporção molar, misturando manualmente em <i>vials</i>	- Após o preparo da mistura; - Em câmara de estabilidade (UR 70% à 45°C) por 60 dias; - UR de 70% à 25°C e por 60 dias.	DSC, DRX, FTIR, calorimetria de microreação	Não foi observado interações entre os fármacos
Bisoprolol e valsartana (SKOTNICKI et al., 2014)	BISO e VAL foram misturadas nas proporções de 10 a 95% (p/p); 20 min de agitação em almofariz de vidro	Foi testado a forma cristalina e amorfa de BISO com duas formas amorfas de VAL;	TGA, DSC-MT, DSC, RMNss e RMN em solução;	A interação entre os IFAs gerou um novo produto amorfo, sinal de interação entre bisoprolol e valsartana.

Itraconazol e Benzinidazol (ALVES-SILVA et al., 2014)	1:1 (proporção de massa); Interação fármaco-fármaco e fármaco-excipientes	Mistura física -MF, mistura molhada - MM, mistura fotoestressada e mistura aquecida - MA	DSC, DTG, FTIR, MO, estudos termogravimétricos isotérmicos	- Por meio do DSC e DTG foi observado alterações no pico de fusão das misturas e alteração no pico de degradação de 330 para 239°C do BNZ, respectivamente. - A MO evidenciou a presença de aglomerados amarelo-escuros da MF. - O espectro FTIR das MA de ITZ-BNZ apresentou alteração nas bandas de absorção de ITZ. - A cinética de degradação isotérmica evidenciou diminuição da Ea da mistura comparada a ITZ e BNZ.
Nifedipina e atenolol (HANDA; SINGH; SINGH, 2014)	Fármacos, mistura física e medicamento DFC vendido comercialmente;		Fotodegradação em câmara de fotoestabilidade, análise por HPLC, isolamento e caracterização do PD ₁	- Foram encontrados três PD de NIF na presença de ATL - Foi possível isolar e caracterizar o Nif-PD ₁ , e verificar que apresentou potencial carcinogênico semelhante ao NIF.
Curcumina (CC) + piperina (PP), CC + quercetina, CC + silibina (CHIDAMBARAM; KRISHNASAMY, 2014)	Misturas de 100mg de cada uma das amostras foram colocadas em um vial, adicionado água e agitado;	As misturas foram mantidas a 50°C por 4 semanas (Teste de estresse isotérmico)	Características organolépticas, espectroscopia IV e HPLC;	- A combinação de CC-piperina, CC-quercetina e CC-silibina não mostrou nenhum sinal significativo de instabilidade de natureza física ou química.

Lamivudina (3TC) e efavirenz (EFZ) (GOMES et al., 2013)	Fármacos individuais e mistura física 1:1 (p/p)	-	RMNss, FTIR, DSC, DRX, análise termo-óptica;	- DSC e análise termo-óptica evidenciaram interação entre os IFAs devido a antecipação dos picos de fusão; - Não foi observado diferença entre os fármacos e a mistura; - A interação entre EFZ e 3TC foi comprovada por meio de RMN;
Rifampicina, isoniazida, pirazinamida e etambutol (LAVOR et al., 2012)	Misturas físicas binárias na proporção 1:1 (p/p)	Os pós foram homogeneizados por 10 min	DSC, DTA, TG/DTG	- O DSC apresentou-se inconclusivo em algumas misturas devido à sobreposição do evento de decomposição de um fármaco com a fusão de outro. - As misturas binárias apresentaram-se menos estáveis que os IFAs isolados;
Artemeter (ART) e lumefantrine (LU) (BATE et al., 2009)	Comprimidos DFC de ART-LU com prazo de validade expirado		desintegração, espectrometria Raman	-Os fármacos ART E LU permaneceram estáveis após a data de validade, sem sinal de interações.
Isoniazida e etambutol (BHUTANI; MARIAPPAN; SINGH, 2004)	Mistura físicas e comprimidos	40°C, UR 70%	HPLC, LC MS/MS, FTIR	- Não foi verificado interação no estado sólido.

Legenda: MB= mistura binária; MT = mistura ternária; RMNss = ressonância magnética nuclear no estado sólido; BISO = bisoprolol; VAL = Valsartana; IFA = insumo farmacêutico ativo; UR = umidade relativa; BNZ= benzinidazol; ITZ = itraconazol; MF = mistura física; MFx = mistura fotoestressada; MA= mistura aquecida; MM= mistura molhada; MO = microscopia óptica; NIF = Nifedipina; ATL= atenolol; PD₁ = produto de degradação 1; NIF-PD₁= produto de degradação 1 relacionado à Nifedipina; ART= artemeter; LU=lumefantrine; DFC = dose fixa combinada.

Alguns estudos de interação fármaco-fármaco presentes na literatura avaliam alterações químicas dos compostos tendo como objetivo buscar indícios de reações diferentes daquelas intrínsecas aos fármacos, gerando maior subsídio para estudos de interações no estado sólido (GOMES et al., 2013; GUPTA; CHADHA, 2015; SOARES-SOBRINHO et al., 2010).

Seguindo o mesmo princípio de misturas fármaco-excipientes, quando uma mistura de dois fármacos é empregada, a interação pode ocorrer, e as propriedades físicas e químicas da mistura e dosagem podem ser seriamente afetadas. Se não existe qualquer interação, de forma física ou química, a mistura deve apresentar as mesmas propriedades térmicas que as amostras individuais (DE OLIVEIRA et al., 2013).

Os componentes, por exemplo, podem apresentar complexação e/ou adsorção. A adsorção pode ser física, quando o adsorvato está ligado à superfície por meio de forças de van der Waals fracas; ou química, quando as forças de valência são mais fortes, também chamada de quimiossorção. A adsorção de moléculas pode tornar o fármaco indisponível para dissolução e difusão e isso poderia, por sua vez, reduzir a biodisponibilidade (WU et al., 2011). Já a formação de complexos pode alterar as propriedades físico-químicas do substrato e do ligante, incluindo solubilidades em água, absorvidade molar, além disso, pode perturbar os mecanismos cinéticos de degradação.

Um estudo que avalia o comportamento de misturas binárias contendo rifampicina, isoniazida, pirazinamida e etambutol por meio das curvas DSC e TG verificou que em todos os casos foi observado um comportamento singular em relação ao perfil dos fármacos isolados com significativo desaparecimento ou deslocamento da temperatura inicial de decomposição, o que gerou indícios de que as misturas são menos estáveis que os componentes individuais, a interação entre a combinação de fármacos poderia diminuir a biodisponibilidade e gerar prejuízos a terapia, não garantindo sua segurança e eficácia (LAVOR et al., 2012).

Um estudo sobre a interação do 3TC com efavirenz (EFV) no estado sólido descreveu que características da mistura física binária tais como antecipação da temperatura de fusão e deslocamento da decomposição, além de outras técnicas de caracterização confirmam a hipótese de interações físico-químicas entre esses fármacos. Com isso, foi sugerido que os comprimidos constituídos pela associação entre 3TC e EFV fossem formulados em multicamadas (GOMES, 2013).

A investigação do comportamento de artemeter, pirimetamina e sulfadoxina com o propósito de desenvolver uma formulação dose-fixa combinada levou os autores a realizarem análises com misturas binárias e ternárias entre os ingredientes ativos por meio de DSC, DRX, FTIR e calorímetro de microreação. As análises citadas levaram os autores a afirmar que não

houve indícios de interações físico-químicas entre as misturas binárias, contudo, para a mistura ternária foi verificado comportamento sugestivo de interação entre os componentes (GUPTA, 2015). Uma análise crítica sobre o artigo em questão permite sugerir que o exame de curvas TG das amostras teria sido um artifício significativo para detalhar o perfil de decomposição e a influência de cada componente na mistura.

A maioria dos estudos de interações utilizam a proporção 1:1, equimolar ou peso/peso, negligenciando a importância de se buscar a proporção de fármacos que interfere diretamente na interação. Um estudo que testou diferentes proporções das misturas de fármacos verificou que análises por DSC foram eficientes no entendimento da proporção de fármacos que gerou maiores sinais de interação (SKOTNICKI et al., 2014).

Alguns trabalhos também tentaram estressar as misturas no estado sólido a fim de intensificar as interações entre os fármacos, submetendo as misturas ao aquecimento e/ ou elevada umidade por um tempo pré-estabelecido (15, 30 ou 60 dias). Tais estudos são chamados de testes de estresse isotérmico (TSI), no qual as possíveis interações podem ser identificadas por FTIR, MEV, DRX e/ou RMN. Um ponto negativo dos TSI são o elevado tempo em que se submete as amostras, não sendo indicado quando se deseja resultados rápidos (ALVES-SILVA et al., 2014; HANDA; SINGH; SINGH, 2014; SKOTNICKI et al., 2014).

Poucos trabalhos relacionados aos estudos de interação fármaco-fármaco fizeram uso de cinética de decomposição térmica, um método simples e de rápida obtenção dos resultados. Mas, alguns estudos sobre as interações fármaco-excipientes comprovam a importância de verificar a manutenção/alteração da energia de ativação (E_a) envolvida no processo de decomposição dos fármacos quando estes fazem parte de uma mistura. Este tipo de investigação permite avaliar de forma aprofundada a cinética de reação das misturas físicas (MF) em relação aos IFAs isolados, permitindo estabelecer se a MF mantém a estabilidade térmica dos respectivos IFAs que compõem. (GHADERI et al., 2016; GHADERI; NEMATI; SIAHI-SHADBAD, 2015).

2.4 CINÉTICA DE DECOMPOSIÇÃO TÉRMICA

A aplicação da cinética de decomposição térmica para avaliação da estabilidade térmica de materiais é uma realidade em diferentes áreas como indústria eletrônica, espacial e de combustíveis, engenharia de polímeros, engenharia de materiais, e nos últimos anos vem sendo aplicado às ciências farmacêuticas como forma de verificar o perfil de degradação de IFAs e de

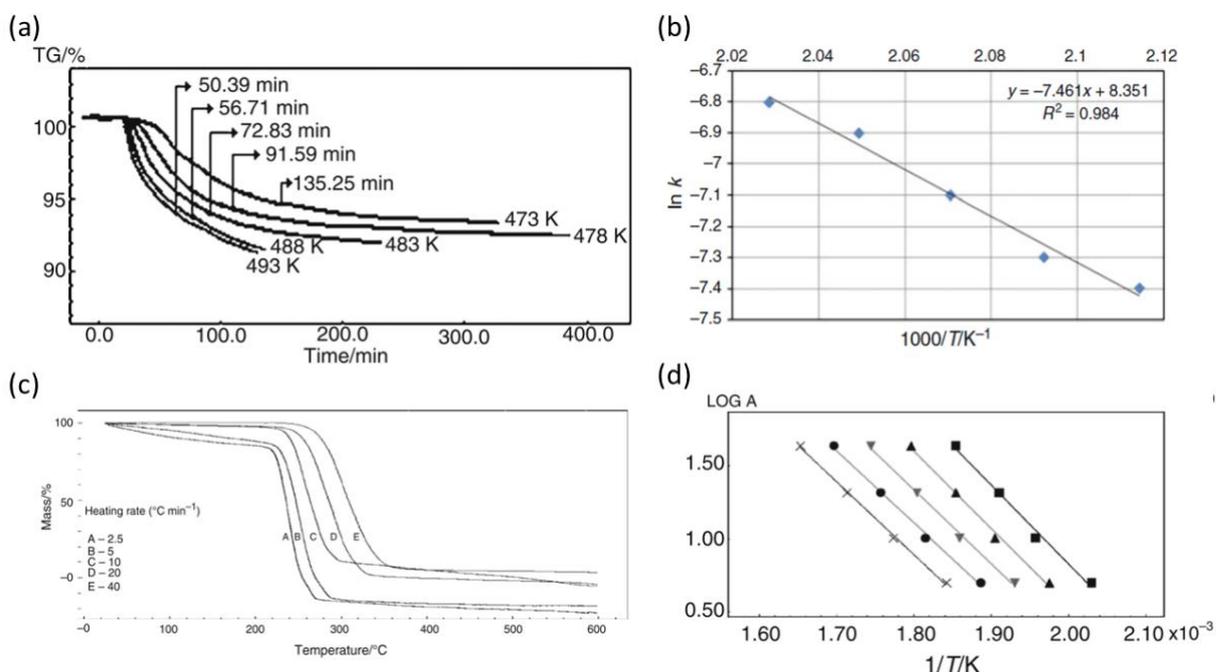
novos sistemas de uso terapêutico, como nanopartículas (HENRIQUE et al., 2015; JAIN; BASNIWAL, 2013; OTHMAN et al., 2016; ULLAH et al., 2015).

A cinética de decomposição térmica pode fornecer informações valiosas no que diz respeito à compreensão das propriedades químicas de um fármaco, podendo gerar conhecimento para a produção, processamento e estocagem de formulações (WANG; YOU, 2014). Pode-se executar a partir de experimentos termogravimétricos de dois tipos: método isotérmico (ou método de Arrhenius) e não-isotérmico (ou dinâmico) (MATOS; MERCURI; BARROS, 2009). De acordo com a forma de se obter os parâmetros cinéticos, tais métodos podem ser ainda classificados como modelos de ajuste linear ou modelos livres (KHAWAM; FLANAGAN, 2006a).

O método isotérmico com modelo de ajuste linear é realizado por meio de experimentos nos quais são selecionados 3 a 5 pontos a partir do início da temperatura de decomposição (T_{onset}) do material para que temperatura se mantenha constante até se tenha a porcentagem de perda de massa desejada, por exemplo 5, 8 ou 10%, dependendo do mecanismo de decomposição da amostra. A partir disso pode-se construir um gráfico contendo linhas retas em que x e y correspondem a $\ln \kappa$ versus $1/T$ (onde κ é a taxa constante de aquecimento e T é a temperatura em kelvin). A energia de ativação, E_a , e o fator pré-exponencial, A , são obtidos pela inclinação da reta a partir de $-E_a/R$ (R é a constante dos gases, $8,314 \text{ Jmol}^{-1}\text{K}^{-1}$) e pelo intercepto de $\ln A$ (FELIX et al., 2008).

O método não-isotérmico com modelo de ajuste linear é obtido por meio de análises de uma amostra em diferentes razões de aquecimento (β) e, a partir das curvas TG obtidas, pode-se construir o gráfico que correlaciona $\log \beta$ versus $1/T$, podendo-se calcular os parâmetros cinéticos E_a e A por meio da inclinação das retas geradas (OZAWA, 1965). A Figura 3 representa os gráficos obtidos a partir de análises isotérmicas 3(a) e não isotérmicas 3(c).

Figura 3 - Representação gráfica das cinéticas de decomposição térmica isotérmica (a e b) e não-isotérmica (c e d).



Legenda: (a): curvas TG obtidas isotermicamente com diferentes temperaturas em K para o fármaco salbutamol; (b): gráfico de $\ln k$ versus $1/T$ (K) obtido a partir das curvas isotérmicas do piroxicam; (c): curvas TG obtidas nas razões de aquecimento para o fármaco epiisopiloturina e (d): gráfico que representa o $\log \beta$ versus $1/T$ (K).

Fonte: Adaptado de (DE MELO et al., 2014; FELIX et al., 2008; TIÇA et al., 2013)

O método isotérmico apresenta algumas desvantagens, uma delas é a necessidade de uma nova amostra para a avaliação de perda de massa em cada uma das temperaturas determinadas, sendo um desafio reproduzir as mesmas características em todos os experimentos (MONTHE; AZEVEDO, 2009). Além disso, geralmente o tempo de análise para aquisição dos dados pelo método isotérmico são longos, gerando maiores custos com gás e manutenção (MATOS; MERCURI; BARROS, 2009). Uma vantagem do método não-isotérmico em relação ao isotérmico é que a temperatura de início de reação (T_{onset}) pode ser obtida de forma mais precisa.

Um dos métodos não-isotérmico com modelo de ajuste linear mais utilizados é proposto por Ozawa. Este método resolve a equação de Arrhenius por integração, assumindo que nem a energia de ativação, nem o modelo cinético se alteram durante a reação, obtendo-se, então os parâmetros cinéticos relativos à reação global (OZAWA, 1965). Devido a isso, tais parâmetros seriam obtidos de forma fidedigna apenas se permanecerem constantes durante toda a reação de decomposição (CRIADO, 2008).

Para muitas substâncias no estado sólido, as reações não possuem uma única etapa sendo que, a combinação de etapas sucessivas ou paralelas resultam em variações nos valores de E_a

no decorrer da reação. Outro caso refere-se às reações no estado sólido relacionadas à fenômenos específicos, como: formação de soluções sólidas, eutéticos, formação de gases na superfície sólida; tais reações devem ter atenção especial, pois não são tão simples quanto a reação de uma molécula transformando-se em outra ($A \rightarrow B$). Nesses casos, o modelo de ajuste linear não é capaz de descrever de forma fidedigna as características das reações no estado sólido (VYAZOVKIN; WIGHT, 1997).

Os parâmetros cinéticos só podem ser obtidos de forma confiável de forma que sejam independentes do modelo da reação. Os métodos isoconversionais, são chamados de modelos de cinética livre ou modelos livres (*model-free kinetics*). Esses métodos partem do princípio de que os parâmetros cinéticos podem variar com processo de decomposição, e por meio dele se obtém as variações de E_a com a fração de decomposição ou taxa de conversão (α) (FLYNN; WALL, 1966; JAIN; MEHRA; RANADE, 2016). Sendo essa uma das principais características que os diferem dos métodos de ajuste linear. A cinética de reação por modelos isoconversionais é utilizada inclusive em estudos de decomposição de materiais poliméricos, os quais não possuem homogeneidade em sua estrutura molecular; sendo, portanto, métodos adequados para a determinação dos parâmetros cinéticos de misturas de fármacos (CHEN et al., 2009; OTHMAN et al., 2016; OU et al., 2010).

Os estudos isoconversionais também são classificados em isotérmicos e não-isotérmicos. Nos estudos isoconversionais não-isotérmicos é necessário fazer uma série de experimentos no qual uma amostra é submetida a diferentes razões de aquecimento. Sendo, então, aplicado o princípio do método por meio de alguns cálculos matemáticos.

Equações cinéticas de reações de decomposição térmica de materiais no estado sólido são expressas genericamente de acordo com a Equação (1):

$$\frac{d\alpha}{dt} = k(T)f(\alpha) \quad (1)$$

No qual α é a taxa de conversão durante a decomposição térmica, t é tempo, T é temperatura absoluta, $k(T)$ é uma constante dependente da temperatura e $f(\alpha)$ é o modelo de reação em função da fração de decomposição. A fração de decomposição, α , é definida como a razão da perda de massa perdida no processo de decomposição (VYAZOVKIN et al., 2011). A taxa de conversão em um experimento não isotérmico de um material no estado sólido pode ser definida pela Equação (2):

$$\alpha = \frac{m_0 - m}{m_0 - m_\infty} \quad (2)$$

onde m é a perda de massa a cada instante de uma dada temperatura T ou tempo t , m_0 é massa inicial, e m_∞ é a massa final.

A constante dependente da temperatura, $k(T)$, segue a lei de Arrhenius, podendo ser representada pela Equação 3:

$$k(T) = Ae^{-E_a/RT} \quad (3)$$

onde A é o fator pré-exponencial, E_a é a energia de ativação aparente e R é a constante dos gases ($8.314 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$) (ISLAM et al., 2016). Combinando-se as Equações (1) e (3), tem-se a Equação (4):

$$\frac{d\alpha}{dt} = Ae^{-E_a/RT} \quad (4)$$

Se a temperatura aumenta em uma razão constante (β), tem-se a Equação (5):

$$\frac{d\alpha}{dt} = \frac{1}{\beta} Ae^{-E_a/RT} f(\alpha) \quad (5)$$

Resolvendo-se a Equação (5) pode-se determinar os parâmetros cinéticos de decomposição térmica, E_a e A . Entre as diferentes formas de resolver esta equação, tem-se métodos integrais e diferenciais, entre eles: Flynn-Wall-Ozawa (FWO), Kissinger, Friedman (FR), Kissinger-Akahira-Sunose, Coats-Redfern, Krevelen, Mac-T. Para se obter uma correlação dos dados mais próxima da realidade, procura-se utilizar pelo menos dois métodos cinéticos (OTHMAN et al., 2016).

2.4.1 Método integral de Flynn-Wall-Ozawa

O método de (F-W-O) pode ser utilizado para determinar a E_a sem o conhecimento prévio do mecanismo de reação. Este é chamado de modelo isoconversional porque a E_a pode variar de acordo com α , sendo amplamente utilizado para interpretação de dados cuja reação é

complexa. Ao integrar a Equação (5), obtém-se a função integral de conversão, $g(\alpha)$, representada pela Equação (6).

$$g(\alpha) = \int_0^\alpha \frac{d\alpha}{dt} = \frac{A}{\beta} \int_{T_0}^T e^{-E_a/RT} dT \quad (6)$$

onde T é definido como:

$$T = T_0 + \beta T \quad (7)$$

Logaritmando a Equação (6) e utilizando a aproximação de Doyle (DOYLE, 1965), tem-se:

$$\ln \beta = \ln \left(\frac{AE_a}{g(\alpha)R} \right) - 2.315 - \frac{0.457E_a}{RT} \quad (8)$$

onde, a inclinação de $\ln(\beta)$ *versus* $1/T$ em diferentes razões de aquecimento podem ser utilizadas para se determinar energia de ativação, E_a , para uma dada α (FLYNN; WALL, 1966; OZAWA, 1992).

2.4.2 Método de Kissinger-Akahira-Sunose

O método de Kissinger-Akahira-Sunose é expresso como:

$$\ln \left(\frac{\beta}{T^2} \right) = \ln \left(\frac{AE_a}{Rg(\alpha)} \right) - \frac{E_a}{RT} \quad (9)$$

no qual, o gráfico de $\ln(\beta)/T^2$ *versus* $1/T$ forma um conjunto de retas sendo possível calcular a E_a pela inclinação das retas obtidas (AKAHIRA; SUNOSE, 1971; KISSINGER, 1956, 1957).

2.4.3 Método de Friedman

A equação de Friedman também pode ser obtida pelo rearranjo da Equação (5), dessa forma, tem-se:

$$\ln \left[\beta \frac{d(\alpha)}{dT} \right] = \ln \left[\frac{d(\alpha)}{dt} \right] = \ln [Af(\alpha)] - \frac{E}{RT} \quad (10)$$

Os valores de $d(\alpha)/dt$ são obtidos numericamente utilizando-se a interpolação dos dados experimentais. O gráfico de $\ln(d\alpha/dt)$ versus $1/T$ em diferentes razões de aquecimento (β) gera um conjunto de linhas retas cujas inclinações são equivalentes à E_a/R (RAVI; VARGESE; TEWARI, 2012).

2.4.4 Estudos cinéticos de decomposição térmica

Nos últimos anos, cinética de decomposição térmica por métodos isoconversionais vem sendo aplicada a uma série de temas com o intuito de se avaliar a estabilidade térmica de uma determinada substância ou sistema, tais estudos vêm sendo bem aceitos por revistas com elevado fator de impacto.

A fim de se avaliar a influência da proporção dos reticulantes N,N-metilenobisacrilamida (MBA) e N-isopropilacrilamida (NIPAM) na composição de hidrogéis termo-responsíveis desenvolvidos a base de quitosana, foram feitos estudos cinéticos de decomposição não-isotérmica pelos métodos de FWO, Kissinger e Coats-Redfern. Maiores valores de E_a foram atribuídos a substância com melhor ação reticulante para os hidrogéis de quitosana. Os dados da E_a pelos métodos de FWO e Kissinger coincidiram entre si e indicaram que maiores valores de E_a foram obtidos com as maiores concentrações de NIPAN E MBA na composição dos hidrogéis (OTHMAN et al., 2016).

Nanocristais de celulose obtidos de diferentes formas de hidrólise foram avaliados por DRX, microscopia de força atômica, análise termogravimétrica e cinética térmica. Dependendo do tipo de extração, foram obtidos dois tipos de celulose: celulose tipo I e celulose tipo II com características diferentes de tamanho de partícula e cristalinidade. Ao estudar essas amostras por cinética de decomposição térmica pelos métodos de FWO e Kissinger, foi verificado que o comportamento térmico varia de acordo com a forma de síntese e com o tipo de celulose que abundante nos nanocristais (HENRIQUE et al., 2015).

Utilizando-se estudos cinéticos de decomposição térmica pelos métodos de FWO e FR foi realizado comparação do comportamento térmico de complexos de metálicos de níquel (NiL) e cobalto (CoL) com derivados de ácido barbitúrico como ligantes. A avaliação da energia de ativação pela taxa de decomposição foi importante para se avaliar as múltiplas etapas

de decomposição dos complexos, além disso, foi observado que os complexos NiL apresentaram-se mais estáveis termicamente que CoL (LI et al., 2009).

A cinética de decomposição térmica de complexos sintetizados com quitosana-cobalto em comparação à própria quitosana foi estudada por meio dos métodos de FWO e FR associados a análise do sistema por TG, FTIR, DRX e avaliação do mecanismo de decomposição. A variação da E_a por α era semelhante nos métodos de FWO e FR, confirmando a credibilidade dos resultados. Além disso, as variações nos valores de E_a indicaram que o processo de decomposição era dividido em três etapas: volatilização de moléculas de baixo peso molecular, desacetilação da cadeia principal e quebra da ligação glicosídica da quitosana (OU et al., 2010).

Entre outros trabalhos que mostram a importância de estudos cinéticos tem-se: investigação das propriedades térmica de nanocompósitos antibacterianos contendo PLLA/triclosan/ hidroxiapatita (DAVACHI et al., 2016); avaliação da estabilidade térmica de nanocompósitos de argila associados a nanotubos de carbono (CHEN et al., 2009); estudo do comportamento térmico de madeiras (BIANCHI et al., 2010).

2.4.5 Estudos cinéticos de decomposição térmica envolvendo fármacos

Dos artigos envolvendo estudos das interações fármaco-fármaco que se encontram na Tabela 2, apenas um envolveu uso de cinética de decomposição térmica. No entanto, alguns estudos sobre a interação fármaco-excipientes já abordam e comprovam a importância de verificar as possíveis variações da energia de ativação (E_a) envolvida no processo de decomposição dos fármacos quando estes fazem parte de uma mistura (GHADERI et al., 2016; GHADERI; NEMATI; SIAHI-SHADBAD, 2015). Baseado nisso, foi realizada uma busca de artigos que utilizem cinéticas de decomposição aplicadas aos estudos de interação fármaco-excipientes os quais são apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 - Exemplos de utilização de cinética de decomposição térmica em estudos de interação fármaco-fármaco e fármaco-excipientes.

Amostras/referências	Cinética	Condições	Resultados	Conclusão
DOX e dextrose (GHADERI et al., 2016)	FWO, KAS e FR;	Obteve-se curvas DSC em diferentes razões de aquecimento;	- E _a DOX pura: 420,3, 425,9 e 425,8 KJmol ⁻¹ para FR, FWO e KAS, respectivamente; - E _a mistura DOX + dextrose: 217,88, 228,13 e 226,69 KJmol ⁻¹ para FR, FWO e KAS, respectivamente;	As E _a calculadas pelos três métodos obtiveram boa correlação; As E _a foram muito maiores para o cloridrato de doxepina puro que para a mistura com dextrose, evidência de interação.
DOX + LMH versus DOX + LAN (GHADERI et al., 2015)	FWO, KAS e FR	Obteve-se curvas DSC em diferentes razões de aquecimento das misturas DOX+LAH e DOX+LAN	- E _a da mistura DOX+LAH: 181,3, 181,8, 183,5 KJmol ⁻¹ para FR, FWO e KAS, respectivamente; - E _a da mistura DOX+LAN: 286,6, 293,4 e 286,5 KJmol ⁻¹ para FR, FWO e KAS, respectivamente;	A simples alteração do tipo de lactose pode alterar a energia de ativação e, conseqüentemente, a estabilidade térmica do sistema.
ITZ e BNZ (ALVES-SILVA et al., 2014)	Método isotérmico	A partir da curva TG em diferentes razões de aquecimento. Comparou-se os IFAs isolados com a mistura ITZ+BNZ.	A E _a do ITZ, BNZ e mistura ITZ+BNZ foi 206,4, 140,9 e 124,2 KJmol ⁻¹ .	Os resultados cinéticos evidenciaram interação entre ITZ e BNZ, corroborando com análises de DSC e FTIR.
EPI e lactose (DE MELO et al., 2014)	Método não-isotérmico de Ozawa;	A partir das curvas TG em diferentes razões de aquecimento. Comparou-se a cinética de decomposição de EPI e a mistura física EPI+LA;	-Após análise com diversos excipientes por meio de DSC e TG, foi obtido cinéticas apenas do excipiente que apresentou antecipação no DSC e TG, lactose. A E _a da lactose e EPI+LA foi 88,9 e 93,2 KJ mol ⁻¹ , respectivamente;	Apesar das análises por DSC e TG da EPI e EPI+LA evidenciarem indícios de interação, análises cinéticas provaram que a E _a da mistura não diminuiu e de forma complementar ao FTIR, conclui-se de que EPI e lactose são compatíveis.

CFX e excipientes (FULIAS et al., 2010)	Cinética por FWO	A partir das curvas DSC em diferentes razões de aquecimento	A MF de CFX com estearato de magnésio, que apresentou desaparecimento do pico de fusão relacionado ao CFX, teve E_a calculada de 257,99 KJ/mol. Enquanto o CFX teve E_a de 358,33 KJ/mol.	Análises por cinética térmica comprovaram interação entre CFX e estearato de magnésio.
---	------------------	---	---	--

Legenda: DOX, cloridrato de doxepina; LMH, lactose monohidratada; LAN, lactose anidra; ITZ, itraconazol; BNZ, benzinidazol; EPI, epiisopiloturina; FWO, Flynn-Wall-Ozawa; KAS, Kissinger-Akahira-Sunose; FR, Friedman; DSC, calorimetria exploratória diferencial; MF, mistura física, CFX, cefadroxil.

A Tabela 3 evidencia a relevância dos estudos cinéticos para a pesquisa sobre interações entre as substâncias pesquisadas. Em alguns casos, DSC e TG permaneceram inconclusivos e a análise da E_a envolvida no processo de decomposição das misturas quando comparado aos insumos sozinhos foi uma estratégia eficiente e confirmatória. Por exemplo, quando se observa no DSC o pico de fusão de um fármaco sobreposto ao de degradação do outro componente da mistura, a aplicação de modelos cinéticos pode ser relevante para verificar a influência de cada componente na mistura (ALVES-SILVA et al., 2014; DE MELO et al., 2014).

Trabalhos sobre interação fármaco-fármaco que correlacionam cinética de decomposição térmica por métodos isoconversionais (FWO, KAS e FR) a partir de dados termogravimétricos ainda são ausentes, tal fato sugere a importância de estudos que utilizem essa abordagem.

2.5 MODELOS CINÉTICOS DE DECOMPOSIÇÃO TÉRMICA

Nos modelos de ajuste linear já se obtém as médias de todos os parâmetros cinéticos como energia de ativação (E_a), fator de frequência (A) e mecanismo da reação (n). No entanto, em modelos isoconversionais não é necessário determinar o mecanismo de decomposição para a obtenção da E_a pela taxa de decomposição (α). Por isso, quando se faz estudos isoconversionais e deseja determinar o mecanismo de decomposição é necessário realizar outros cálculos matemáticos (VYAZOVKIN et al., 2011).

Do mesmo modo que reações heterogêneas possam possuir diferentes valores de E_a , uma mesma amostra pode possuir diferentes mecanismos de reação com a extensão de decomposição. A utilização dos dados obtidos de métodos isoconversionais são importantes ferramentas para a determinação dos possíveis mecanismos de decomposição de um material no estado sólido (VYAZOVKIN; WIGHT, 1997).

As cinéticas de muitas reações no estado sólido foram descritas por determinados modelos, tais modelos são expressões matemáticas do que pode ser observado experimentalmente. Baseado no mecanismo da reação, os modelos podem ser classificados como: nucleação, contração geométrica, difusão e ordem da reação. Os principais modelos estão descritos na Tabela 4 (KHAWAM; FLANAGAN, 2006b).

O modelo de nucleação, por exemplo, engloba fenômenos como cristalização, transição cristalográfica, decomposição, adsorção e desolvatação. Os cristais têm energias locais flutuantes devido a impurezas, superfícies, deslocamentos (AVRAMI, 1939).

Modelos baseados na ordem da reação são os modelos mais simples uma vez que são similares àqueles utilizados em cinéticas homogêneas. Nesses modelos, a taxa de reação é

proporcional à concentração, quantidades ou frações remanescentes dos reagentes elevados a uma potência específica (inteira ou fracional) que corresponde à ordem de reação (n) (KHAWAM; FLANAGAN, 2006b).

2.5.1 Método de Criado

Para determinar o cinético mais provável para as reações de degradação térmica de sólidos, uma das metodologias mais utilizadas foi proposta por Criado e colaboradores, tais estudo permitem a comparação dos dados experimentais com as curvas padrão teóricas (CRIADO, 1978).

Tal método utiliza-se de uma curva mestra, expressa ela Equação (11) (CRIADO; MÁLEK; ORTEGA, 1989; CRIADO; MORALES, 1977):

$$Z(\alpha) = \frac{\left(\frac{d\alpha}{dt}\right)}{\beta} \pi(x)T \quad (11)$$

no qual $x = E_a/RT$ e $\pi(x)$ é uma expressão obtida por aproximação e que não pode ser expressa por fórmulas analíticas simples, sendo proposto uma relação entre $\pi(x)$ e a função $P(x)$ pela Equação (12):

$$\pi(x) = x e^x P(x) \quad (12)$$

A partir de combinações matemáticas e aproximações integrais, obtém-se a Equação (13), chamada de equação rotacional, $P(x)$:

$$P(x) = \frac{e^{-x}}{x} \frac{x^3 + 18x^2 + 86x + 96}{x^4 + 20x^3 + 120x^2 + 240x + 120} \quad (13)$$

Combinando as Equações (1), (11) e (12), obtém-se:

$$Z(\alpha) = f(\alpha) g(\alpha) \quad (14)$$

Ao combinar as Equações (5) e (14), tem-se:

$$Z(\alpha) = \frac{d\alpha}{dT} \frac{E_a}{R} e^{\frac{E_a}{RT}} P(x) \quad (15)$$

A partir da Equação 15 é possível representar os dados experimentais, construir a curva mestra $Z(\alpha)$ e comparar com os mecanismos de decomposição obtidos com os modelos representados na Tabela 4.

Tabela 4 - Expressões algébricas para $g(\alpha)$ e $f(\alpha)$ frequentemente utilizadas para mecanismos das reações no estado sólido.

Modelo	Forma diferencial $f(\alpha) = \frac{1}{k} \frac{d\alpha}{dt}$	Forma integral $g(\alpha) = kt$
Modelos de nucleação		
Lei dos pós (P2)	$2\alpha^{(1/2)}$	$\alpha^{(1/2)}$
Lei dos pós (P3)	$3\alpha^{(2/3)}$	$\alpha^{(1/3)}$
Lei dos pós (P4)	$3\alpha^{(3/4)}$	$\alpha^{(1/4)}$
Avrami-Erofe'ev (A2), nucleação e crescimento unidimensional	$2(1-\alpha)[- \ln(1-\alpha)]^{1/2}$	$[- \ln(1-\alpha)]^{1/2}$
Avrami-Erofe'ev (A3), nucleação e crescimento bidimensional	$3(1-\alpha)[- \ln(1-\alpha)]^{2/3}$	$[- \ln(1-\alpha)]^{1/3}$
Avrami-Erofe'ev (A4), nucleação e crescimento tridimensional	$3(1-\alpha)[- \ln(1-\alpha)]^{3/4}$	$[- \ln(1-\alpha)]^{1/4}$
Modelos geométricos de contração		
Contração de área (R2)	$2(1-\alpha)^{1/2}$	$[1-(1-\alpha)^{1/2}]$
Contração de volume (R3)	$3(1-\alpha)^{2/3}$	$[1-(1-\alpha)^{1/3}]$
Modelos de difusão		
Difusão unidimensional (D1)	$1/2\alpha$	α^2
Difusão bidimensional (D2)	$[- \ln(1-\alpha)]^{-1}$	$[(1-\alpha)\ln(1-\alpha)] + \alpha$
Difusão tridimensional (D3), equação de Jander	$3(1-\alpha)^{2/3}/2(1-(1-\alpha)^{1/3})$	$[1-(1-\alpha)^{1/3}]^2$
Difusão tridimensional (D4), equação de Ginstling-Brounshtein	$(3/2)((1-\alpha)^{-1/3}-1)$	$1-(2\alpha/3)-(1-\alpha)^{2/3}$
Modelos baseados na ordem da reação		
Ordem zero (F0/R1)	1	α
Primeira ordem (F1)	$(1-\alpha)$	$-\ln(1-\alpha)$
Segunda ordem (F2)	$(1-\alpha)^2$	$(1-\alpha)^{-1}-1$
Terceira ordem (F3)	$(1-\alpha)^3$	$0.5((1-\alpha)^{-2}-1)$

Fonte: Adaptado de (BIANCHI et al., 2010; KHAWAM; FLANAGAN, 2005).

2.6 DINÂMICA MOLECULAR

A utilização da dinâmica molecular está em expansão em diversas áreas. Nas últimas décadas vem se tornando uma importante ferramenta na área farmacêutica, incluindo-se uma correlação com estudos experimentais (ABRAHAM et al., 2015). Podem ser um artifício eficiente aos estudos fármaco-fármaco devido a capacidade de complementar análises que mostram indícios de interação.

Alguns estudos publicados recentemente comprovaram os benefícios da utilização de dinâmica molecular para melhor compreender interações entre fármacos e fármacos-polímeros. Num estudo sobre possíveis interações fármaco-fármaco foi possível verificar que as moléculas de AZT, 3TC e EFZ em mistura ternária tiveram fraca interação entre si, sendo confirmado

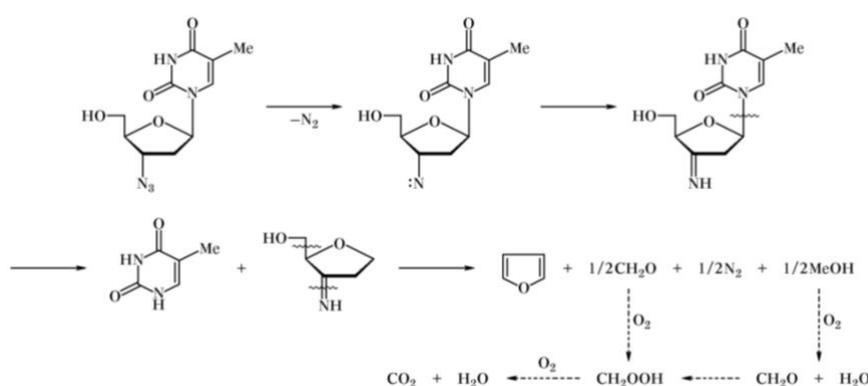
além da dinâmica molecular, por meio de espectroscopia vibracional na região do infravermelho e RMN (SOARES et al., 2016). Em outra oportunidade, por meio de simulações computacionais, também foi possível estudar a forma com a qual pilocarpina interage em mistura física os polímeros, quitosana e goma de caju (CORDEIRO et al., 2016).

2.7 FÁRMACOS DE ESCOLHA PARA ESTUDO DAS INTERAÇÕES FÁRMACO-FÁRMACO: ZIDOVUDINA, LAMIVUDINA E NEVIRAPINA

Zidovudina (AZT), azidotimidina ou 3'-azido-3'-desoxetimidina (Figura 1) é um fármaco amplamente utilizado para a terapia antirretroviral por ser capaz de inibir a replicação da transcriptase reversa do vírus da imunodeficiência adquirida (HIV). Faz parte classe inibidores da transcriptase reversa análogos de nucleosídeos (RIVAS; SANCHEZ-CORTES; GARCÍA-RAMOS, 2002). O AZT apresenta-se semelhante à timina, no qual a diferença marcante está relacionada com a presença do grupamento azida (N_3) no anel ribose (SOUZA; STORPIRTIS, 2004).

A rota de decomposição térmica do AZT encontra-se delineada na literatura, no qual a fase determinante está relacionada a decomposição do grupo azida seguido pela quebra da ligação N-glicosídica formando timina como material residual e furano como volátil (NEDEL'KO et al., 2003).

Figura 4 – Decomposição térmica do AZT.



Fonte: Adaptado de (NEDEL'KO et al., 2003).

Lamivudina (3TC) ou 2',3'- didesoxinucleosídeo é uma citidina sintética que faz parte da classe dos fármacos antirretrovirais inibidores da transcriptase reversa análogos de nucleosídeo (DU et al., 2015).

Um estudo publicado por Bedse e colaboradores comenta que, dependendo da condição aplicada, os três locais susceptíveis a decomposição do 3TC são o grupo amino da nucleobase, a ligação N-glicosídica e o enxofre do anel oxatiol (BEDSE; KUMAR; SINGH, 2009). De fato, estudos que comentam sobre decomposição térmica de fármacos análogos de nucleosídeos com estruturas semelhantes ao 3TC comentam que a quebra da ligação N-glicosídica seria a rota mais provável para decomposição térmica (WANG; YOU, 2015; WANG; YOU; YU, 2015).

Nevirapina é uma dipiridodiazepinona (11-ciclopropil-5,11-dihidro-4-metil-6H-dipirido[3,2-b:2',3'-e][1,4]diazepin-6-ona) cuja fórmula molecular é $C_{15}H_{14}N_4O$ de massa molar 266,30 g/mol. Faz parte da classe inibidores da transcriptase reversa não-análogos de nucleosídeo, sendo amplamente utilizada em associação com outros dois fármacos análogos de nucleosídeo como primeira escolha para a terapia antirretroviral pediátrica (PEREIRA et al., 2007).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Utilizar os IFAs zidovudina (AZT), lamivudina (3TC) e nevirapina (NVP) como modelos para o desenvolvimento de um protocolo para análise da interação fármaco-fármaco para ser aplicado nos estudos de pré-formulação a fim de verificar as possíveis interações físico-químicas entre os componentes.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ▶ Realizar estudos convencionais para investigação das possíveis interações fármaco-fármaco por meio de DSC, TG, espectroscopia por FTIR e Raman;
- ▶ Elucidar possíveis interações no estado sólido das misturas binárias e ternária por meio de análises complementares com modelagem molecular e avaliação da miscibilidade entre os IFAs;
- ▶ Avaliar a influência das interações fármaco-fármaco por intermédio de determinação da cinética de decomposição térmica das misturas binárias e ternária e do mecanismo de decomposição pelo método de Criado.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 AMOSTRAS

Os IFAs zidovudina (lote n° DY070041, pureza de 97,9%) e lamivudina (lote n° 071208, pureza 100%) foram doados pelo LAFEPE e nevirapina (NVP) de lote n° 20140201, pela Farmanguinhos.

4.2 PREPARO DAS AMOSTRAS

As misturas físicas (MF) binárias e ternária foram preparadas nas proporções equimolares 1:1 e 1:1:1 usando gral e pistilo. A proporção 1:1:1 (M/M/M) foi escolhida para maximizar a probabilidade de interações entre as matérias, sem correlacionar com proporções farmacológicas dos ativos AZT, 3TC e NVP 60, 30 e 50 mg (2:1,5:2,5).

4.3 ESTUDOS CONVENCIONAIS DAS INTERAÇÕES FÁRMACO-FÁRMACO

4.3.1 Calorimetria Exploratória Diferencial

As curvas DSC foram obtidas em Calorímetro exploratório diferencial da Shimadzu® DSC-60 interligado ao software Shimadzu TA-60WS com atmosfera de nitrogênio (N₂) e razão de aquecimento de 10 °C min⁻¹, na faixa de temperatura de 25 a 500°C. As amostras foram colocadas em porta amostra de alumínio com aproximadamente 2 mg. Índio e zinco foram utilizados para calibrar a escala de temperatura e a resposta de entalpia (DE MELO et al., 2014). Os sinais de interação foram classificados como: (-) = quando não se verifica antecipação no T_{onset} de fusão ou antecipação menor que 1°C; (+) = mínima, antecipação do T_{onset} de fusão entre 1°C e 4,9 °C; (++) = média, antecipação do T_{onset} de fusão entre 5 e 9,9°C; (+++) = forte, antecipação do T_{onset} de fusão igual ou maior que 10°C (ALVES-SILVA et al., 2014).

4.3.2 Termogravimetria

Para a termogravimetria (TG) as análises foram realizadas por meio de termobalança, modelo TGA Q60 da marca Shimadzu®, em atmosfera de N₂ com fluxo de 100 mLmin⁻¹, sendo a massa da amostra de cerca de 2.0 mg (± 0.3), acondicionadas em cadinho de platina na faixa

de temperatura de 25-900 °C na razão de aquecimento de 10°C.min⁻¹. Oxalato de cálcio foi utilizado para calibrar a escala de temperatura e a perda de massa (DE MELO et al., 2014).

4.3.3 Espectroscopia vibracional na região do infravermelho - FTIR

Os espectros de absorção na região do infravermelho foram obtidos das misturas físicas binárias e ternária no comprimento de onda de 4000-400 cm⁻¹, em pastilhas de KBr, utilizando equipamento FTIR-SHIMADZU modelo IRTracer-100, a temperatura de 25°C (PORFÍRIO et al., 2015).

4.3.4 Espectroscopia por espalhamento de luz monocromática – RAMAN

As análises por espectroscopia Raman foram obtidas das misturas físicas binárias e ternária e respectivos fármacos individualmente. O equipamento utilizado foi Witec Alpha 300S, equipado com laser a 532 nm (saída de 100 mW) e lentes objetivas de 20x (AYALA et al., 2007).

4.4 ANÁLISE COMPLEMENTAR DAS INTERAÇÕES FÁRMACO-FÁRMACO

4.4.1 Avaliação da miscibilidade

Foram realizadas curvas DSC de diferentes proporções entre AZT e 3TC a fim de avaliar a miscibilidade dessa mistura. As curvas DSC foram obtidas em Calorímetro exploratório diferencial da Shimadzu® DSC-60 interligado ao software Shimadzu TA-60WS com atmosfera de nitrogênio (N₂) e razão de aquecimento de 10 °C min⁻¹, na faixa de temperatura de 25 a 500°C. As amostras foram colocadas em porta amostra de alumínio com aproximadamente 2 mg. Índio e zinco foram utilizados para calibrar a escala de temperatura e a resposta de entalpia (DE MELO et al., 2014).

4.4.2 Dinâmica molecular

As simulações computacionais das misturas binárias e ternária foram desenvolvidas nas temperaturas de 25 e 100°C através de um processo de aquecimento. O tempo de simulação foi de 100 ps e a pressão de 1 bar foi mantida constante. Dez moléculas de cada fármaco foram

colocadas em uma caixa de simulação de 64 nm³. Os programas utilizados foram GROMACS e GROMOS 53A6. Os parâmetros analisados foram: ligações de hidrogênio e energia total (ABRAHAM et al., 2015; BERENDSEN; VAN DER SPOEL; VAN DRUNEN, 1995). Os cálculos foram realizados em parceria com a Dra. Daniela Nadvorny.

4.5 AVALIAÇÃO DAS INTERAÇÕES FÁRMACO-FÁRMACO POR MEIO DOS ESTUDOS CINÉTICOS E DE MECANISMO DA REAÇÃO

4.5.1 Determinação da energia de ativação por modelos isoconversionais

As análises foram realizadas por meio de termobalança, modelo TGA Q60 da marca Shimadzu® nas razões de aquecimento 2.5, 7.5 e 20°C/min. Os experimentos foram conduzidos a faixa de temperatura de 25 a 800°C/min, utilizando amostras de aproximadamente 2 mg. Os parâmetros cinéticos de decomposição térmica foram determinados pelos métodos isoconversionais propostos por Flynn-Wall-Ozawa (FLYNN; WALL, 1966; OZAWA, 1965), Friedman (JORAID, 2007) e Kissinger-Akahira-Sunose (AKAHIRA; SUNOSE, 1971; KISSINGER, 1956, 1957). As energias de ativação (E_a) foram determinadas de acordo com as normas ASTM E1641-16 para as frações de decomposição (α) 2.5 a 90%, com intervalo de 5% sendo selecionado para o estudo as frações 2.5 a 50% (ASTM E1641-16, 2016; GHADERI; NEMATI; SIAHI-SHADBAD, 2015; HENRIQUE et al., 2015).

4.5.2 Determinação do mecanismo de decomposição pelo método de Criado

Os mecanismos de decomposição térmica no estado sólido das misturas binárias e ternária foram calculados a partir da metodologia proposta por Criado (CRIADO; MÁLEK; ORTEGA, 1989), utilizando-se as equações apresentadas na seção 5.4.1. Foram realizadas análises a partir dos dados de decomposição térmica integrais de FWO e diferenças de Friedman.

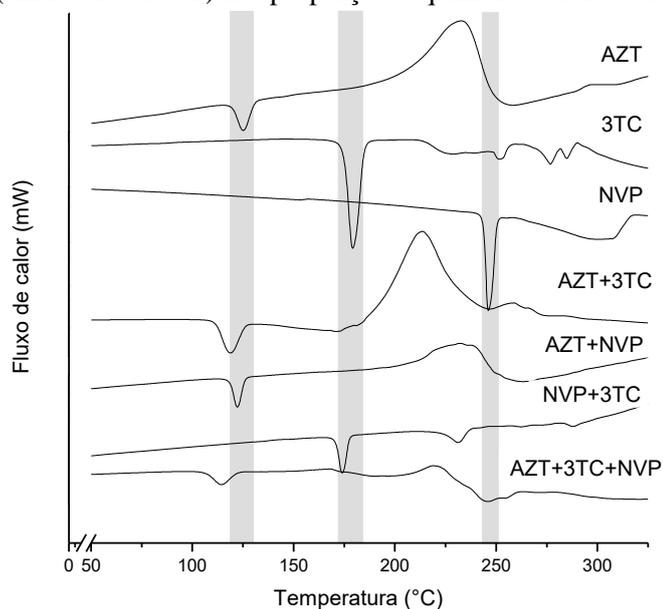
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 ESTUDOS CONVENCIONAIS DAS INTERAÇÕES FÁRMACO-FÁRMACO

5.1.1 Calorimetria exploratória diferencial

A Figura 5 mostra o perfil calorimétrico dos IFAs isolados, de suas misturas binárias e ternária na faixa de 50 a 350°C.

Figura 5 - Curvas DSC dos fármacos AZT, 3TC e NVP, suas misturas binárias (AZT+3TC; AZT+NVP; NVP+3TC) e ternária (AZT+3TC+NVP) nas proporções equimolares 1:1 e 1:1:1.



Fonte: Autoria própria

Os dados referentes às temperaturas de fusão inicial e final (T_{onset} e T_{endset}) e de decomposição para os fármacos isolados apresentados na Tabela 5 são concordantes com os dados encontrados na literatura (Figura 5) (DE OLIVEIRA et al., 2013; GOMES et al., 2013; PORFÍRIO et al., 2015). Para todas as misturas binárias e ternária foi observado antecipação do T_{onset} de fusão em relação aos fármacos isolados (Tabela 5, Figura 5).

Tabela 5 - Temperaturas e valores de ΔH envolvidos no processo de fusão dos fármacos isolados (AZT, 3TC e NVP), misturas binárias (AZT+3TC; AZT+NVP; NVP+3TC) e ternária (AZT+3TC+NVP).

IFAs e misturas	T_{onset} (°C)	T_{endset}	T_{pico} (°C)	ΔH (J/g)	Interação térmica
AZT	119,8	130,7	125,1	29,4	
3TC	175,2	184,8	179,2	119,6	
NVP	243,9	250,2	246,1	124,3	
AZT+3TC	111,6	126,1	118,8	127,0	++ / -
AZT+NVP	118,7	125,6	122,2	23,3	+ / -
NVP+3TC	170,9	177,4	173,9	27,5	+ / +++
AZT+3TC+NVP	107,2	121,6	114,4	21,0	+++ / -

Legenda: Interação térmica em relação ao 1ºIFA/ 2ºIFA, (+): mínima; (++) : média; (+++): forte; (-): não foi possível verificar.

A curva DSC da MF AZT+3TC apresentou antecipação do T_{onset} de fusão em 8,2°C para o AZT, com pico alargado, seguido pelo desaparecimento do pico endotérmico de fusão referente ao 3TC. Esse comportamento provavelmente deve-se ao fato do 3TC solubilizar-se no AZT fundido. Comportamento semelhante ao observado em um estudo que avalia misturas físicas contendo o fármaco doxepina com o excipiente (GHADERI et al., 2016).

Para AZT+NVP, a antecipação do T_{onset} de fusão referente ao AZT foi de 1,1 °C, o que sugere a ausência de interação entre estes dois IFAs. Também não foi possível a determinação do pico endotérmico característico de fusão do NVP nessa mistura, pois os eventos de decomposição do AZT ocorrem simultaneamente ao evento de fusão do NVP. Comportamento semelhante foi observado em um estudo de interação fármaco-fármaco, motivo pelo qual uma análise por DSC se manteve inconclusiva, necessitando-se de estratégias complementares (GUPTA; CHADHA. 2015).

Em relação à MF NVP+3TC, foi observada a antecipação do T_{onset} de fusão de 4,3 e 19,54°C para o 3TC e NVP, respectivamente. A elevada antecipação do T_{onset} de fusão do NVP é um forte indício de interação com o 3TC, além disso, o pico de fusão referente ao NVP na mistura apresentou uma significativa diminuição de sua intensidade. Este último resultado observado está relacionado com a variação da entalpia do fármaco isolado em relação à MF, onde uma menor quantidade de calor foi necessária para fundir o NVP. Este mesmo fenômeno já foi observado em outros trabalhos (LAVOR et al., 2012).

Por fim, os eventos entálpicos da MF AZT+3TC+NVP apresentaram o primeiro pico endotérmico na faixa de fusão do AZT, com antecipação de 12,0°C do T_{onset} de fusão em relação a este IFA, sendo classificado como interação forte (+++) com os demais componentes do

sistema. Um segundo pico observado entre 168,5 e 212,0°C, o qual possui um formato extremamente alargado, o que sugere uma interação entre 3TC e NVP. Nesse caso, podem ser descritas duas hipóteses. A primeira delas, os eventos de 3TC e NVP poderiam ter se aproximado de forma a não serem detectados pelo equipamento como eventos diferentes. Numa segunda hipótese, o AZT pode ter sido capaz de solubilizar uma determinada pequena quantidade de 3TC e NVP e o material cristalino remanescente fundiu-se sendo representado por um pico endotérmico alargado (ALVES-SILVA et al.. 2014).

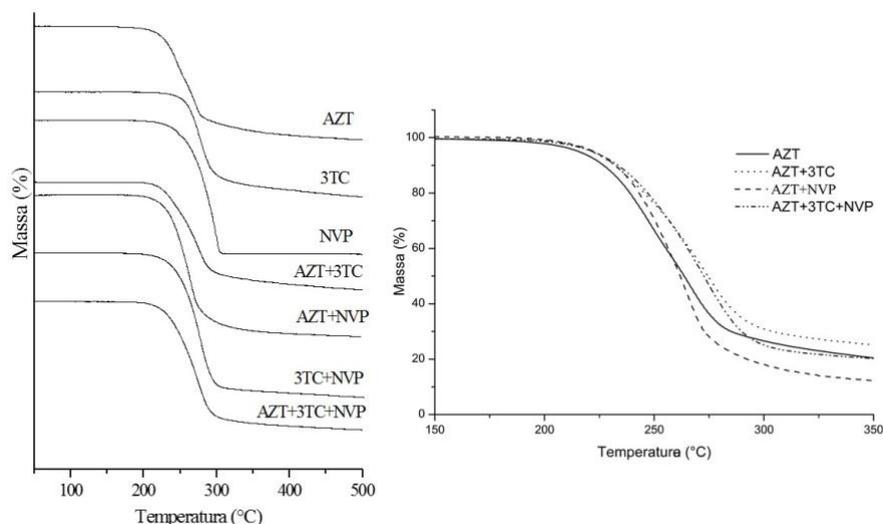
De modo geral, a antecipação da faixa de fusão dos fármacos juntamente com o desaparecimento do sinal de fusão do segundo componente da mistura pode influenciar no aumento da solubilidade do sistema. Como o NVP faz parte do grupo II no sistema de classificação biofarmacêutica (baixa solubilidade e elevada permeabilidade), o fenômeno observado poderia promover aumento de solubilidade para NVP, hipótese esta que corrobora com estudos da literatura os quais verificam um aumento considerável da taxa de dissolução para misturas de fármacos (GALA et al.. 2015; GORNIK et al.. 2011). No entanto, uma desvantagem a ser considerada é de que a antecipação do T_{onset} de fusão deixaria as moléculas mais susceptíveis à decomposição (ALVES et al.. 2015; DE OLIVEIRA et al.. 2012; GUPTA; CHADHA. 2015).

Para se obter uma conclusão plausível das interações entre os componentes é necessário conciliar as análises de DSC com outras técnicas. Estudos termogravimétricos, por exemplo, podem fornecer informações quanto à influência das misturas no processo de decomposição dos fármacos (ALVES-SILVA et al., 2014).

5.1.2 Termogravimetria

A Figura 6 e a Tabela 6 apresentam respectivamente as curvas termogravimétricas e as temperaturas de perda de massa dos IFAs isolados, misturas binárias e ternária.

Figura 6 - Curvas TG dos fármacos AZT, 3TC e NVP, misturas físicas binárias (AZT+3TC; AZT+NVP; NVP+3TC) e ternária (AZT+3TC+NVP) obtidas sob atmosfera dinâmica de N₂ (100mL/min) e aproximação das curvas AZT, AZT+3TC, AZT+NVP e AZT+3TC+NVP.



Fonte: Autoria própria.

Conforme observado na Figura 6, os eventos térmicos dos três fármacos se constituem em faixas muito próximas de temperatura, o que torna a influência de cada componente no processo de degradação das misturas muito complexo.

Tabela 6 - Parâmetros térmicos dos IFAs isolados (AZT, 3TC e NVP), misturas binárias AZT+3TC; AZT+NVP; NVP+3TC) e ternária (AZT+3TC+NVP).

	T _{onset} (°C)	T _{endset} (°C)	Δm (%)	T _{10%} ^a	T _{15%} ^b	DTG _{pico}
AZT	234,2 ^c	246,4 ^c	39,2 ^c	228,8 ^c	234,5 ^c	244,4 ^c
	264,8 ^d	277,4 ^d	36,3 ^d			270,5 ^d
3TC	259,5	292,5	57,4	261,8	266,7	275,7
NVP	285,2	303,4	100,0	247,2	256,5	298,3
AZT+3TC	241,5 ^c	248,2 ^c	27,7 ^c	233,2 ^c	240,0 ^c	242,4 ^c
	256,2 ^d	286,6 ^d	62,4 ^d			274,4 ^d
AZT+NVP	247,1	275,4	83,3	232,1	238,3	265,1
NVP+3TC	249,8	289,8	83,5	240,5	248,0	275,4
AZT+3TC+NVP	239,3	285,8	75,5	234,8	242,0	272,4

Legenda: a: Temperatura de 10% de perda de massa; b: Temperatura de 15% de perda de massa; c: primeira etapa de decomposição; d: segunda etapa de decomposição.

O comportamento térmico dos IFAs individuais apresentaram-se concordantes com os da literatura (DE OLIVEIRA et al., 2013; GOMES et al., 2013; PORFÍRIO et al., 2015). Em

relação às misturas, verifica-se que o T_{onset} de decomposição de AZT+3TC, AZT+NVP e AZT+3TC+NVP mantém-se em temperaturas intermediárias aos valores de T_{onset} de decomposição dos IFAs que a compõem. Ou seja, não foi observado antecipação do T_{onset} de decomposição das misturas em relação aos IFAs isolados, bem como alterações em 10 e 15% de perda de massa. Este comportamento sugere que cada componente pode estar decompondo-se de forma independente (ALVES-SILVA et al., 2014). No entanto, foi verificada uma ligeira antecipação na temperatura de pico do DTG em relação aos IFAs isolados, o que aponta para uma antecipação da temperatura em que ocorre maior perda de massa. Para maior esclarecimento deste fenômeno, os estudos cinéticos de degradação térmica foram realizados e serão apresentados mais adiante.

O processo de decomposição do AZT está relacionado com perda do grupamento azida como primeiro evento de decomposição seguido de quebra da ligação N-glicosídica tendo a timina como produto e liberação de furano e 2-furano-metanol como voláteis (ARAUJO et al., 2003; NEDEL'KO et al., 2003). A primeira etapa de decomposição pode influenciar diretamente na decomposição química dos demais componentes da mistura, como pode ser o caso do NVP cuja faixa de fusão ocorre na mesma região de decomposição do AZT. Essa quebra da ligação N-glicosídica como uma das etapas de reação é uma característica observada para outros fármacos análogos de nucleosídeos purínicos, inclusive para 3TC cuja diferença é a liberação de citosina (WANG; YOU, 2015, 2014; WANG; YOU; YU, 2015)..

Como observado na Tabela 6, só é possível distinguir os dois eventos de decomposição do AZT na MF AZT+3TC, o que pode sugerir duas hipóteses: (1) o evento do segundo componente nas MFs AZT+NVP e AZT+3TC+NVP pode influenciar um processo de aceleração na decomposição do AZT, acarretando na decomposição ininterrupta, evidência de interação; ou, (2) as duas etapas de decomposição do AZT ficaram apenas escondidas no processo de decomposição do outro componente da mistura.

A mistura NVP+3TC foi a única que apresentou antecipação do T_{onset} de decomposição em 9,7 e 35,4°C em relação ao 3TC e NVP isolados, respectivamente. Os demais parâmetros térmicos também possuem temperaturas antecipadas (Tabela 6). Em conjunto ao comportamento observado nas curvas DSC dessa amostra (Tabela 5), corroboram com os indícios de que NVP e 3TC interagem de tal forma que o contato físico entre eles influenciam diretamente na aceleração do processo de decomposição destes quando em mistura.

Uma explicação para este fenômeno é de que provavelmente a decomposição do 3TC leva a uma maior flexibilidade das moléculas de NVP, fazendo com que este fármaco inicie o seu processo de decomposição numa temperatura antecipada (DE MELO et al., 2014).

Com exceção da MF NVP+3TC, os parâmetros termogravimétricos apresentaram-se pouco conclusivos no que se refere ao estudo de interação das misturas AZT+3TC, AZT+NVP e AZT+3TC+NVP. Desta forma faz-se necessária a confirmação ou revogação por meio de análises complementares.

5.1.3 Espectroscopia vibracional da região do infravermelho

A Figura 7 apresenta os espectros no infravermelho de AZT, 3TC, NVP, misturas binárias e ternária.

O espectro no infravermelho do AZT mostra-se concordantes com a literatura. Possuindo banda em 3464 cm^{-1} referente estiramento do O-H, bandas de estiramento N-H em 3310 cm^{-1} . Banda de absorção em 1684 cm^{-1} referente a vibração de estiramento C=O. Duas bandas características ao grupamento azida (-N=N=N) em 2119 cm^{-1} e 2085 cm^{-1} e banda de estiramento do C-O em 1273 cm^{-1} (JINDAL; MEHTA, 2015; PORFÍRIO et al., 2015).

O espectro referente ao 3TC apresenta banda de estiramento O-H em 3327 cm^{-1} e banda de estiramento de amina primária (-NH₂) em 3206 cm^{-1} , banda em 3074 cm^{-1} e 2960 referentes ao grupos C-H aromático (sp²) e alifáticos (sp³). Bandas em 1647 cm^{-1} atribuído a carbonila de amida (C=O), estando em congruente com estudos que relatam sobre o fármaco (GOMES et al., 2013).

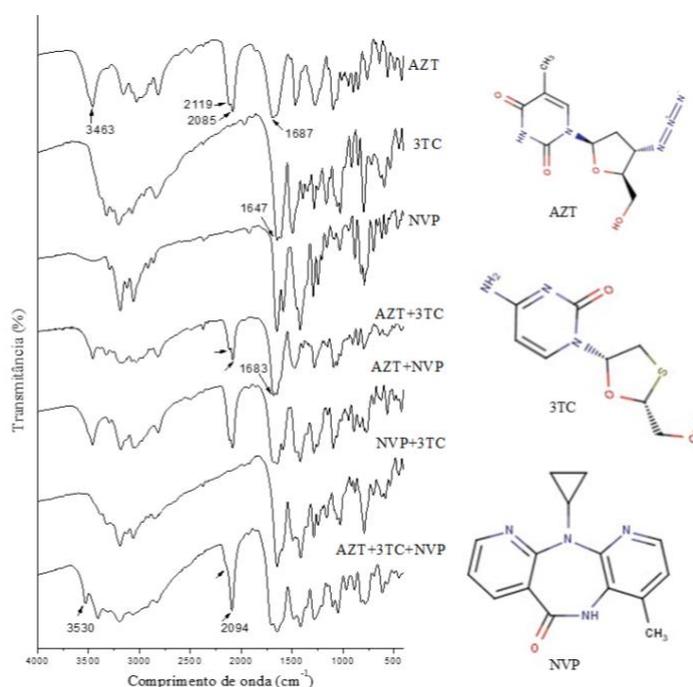
O espectro do NVP isolado também se manteve concordante com estudos anteriores (JINDAL, 2015; CHADHA, 2010; PEREIRA, 2007) possuindo os seguintes grupamentos característicos: em 3295 cm^{-1} e 3189 cm^{-1} referentes aos estiramentos N-H e C-N do anel, respectivamente. Banda de alongamento do C-H em 2915 cm^{-1} . Banda de estiramento em 1650 cm^{-1} referente a carbonila de amida (C=O) e dobramento N-H em 1590 cm^{-1} ; verifica-se ainda absorção de estiramento de amina aromática (C-N) em 1295 cm^{-1} .

O espectro da mistura binária AZT+3TC apresenta bandas características de estiramento das carbonilas deslocadas para 1683 cm^{-1} de forma acoplada. Este comportamento pode estar associado à capacidade de formação de ligações de hidrogênio. No que se refere a mistura ternária, verifica-se alterações nas bandas características do AZT, com deslocamento da banda de -NH para 3530 cm^{-1} além de uma alteração nas duas bandas características ao grupamento azida, que sofrem deslocamento para 2094 e 2154 cm^{-1} . No entanto, em relação a deformação simétrica desse grupo permanece sem modificações significativas, apresentando-se em 1282 , 1287 e 1286 cm^{-1} para AZT+3TC e AZT+NVP e AZT+3TC+NVP, respectivamente. Uma vez

que não foi possível observar variações nos espectros da mistura AZT+3TC em relação ao 3TC isolado, sugere-se que a ausência de interação entre ambos.

Além disso, os espectros também não apresentaram diferenças para as misturas AZT+NVP e NVP+3TC em relação aos fármacos isolados, apenas foram verificadas sobreposições das bandas já existentes. Este último comportamento descrito também evidencia a não interação entre os componentes dos sistemas, o que já foi observado em outros trabalhos da literatura (GUPTA; CHADHA, 2015).

Figura 7 - Espectros IV de AZT, 3TC, NVP suas misturas binárias e ternária.

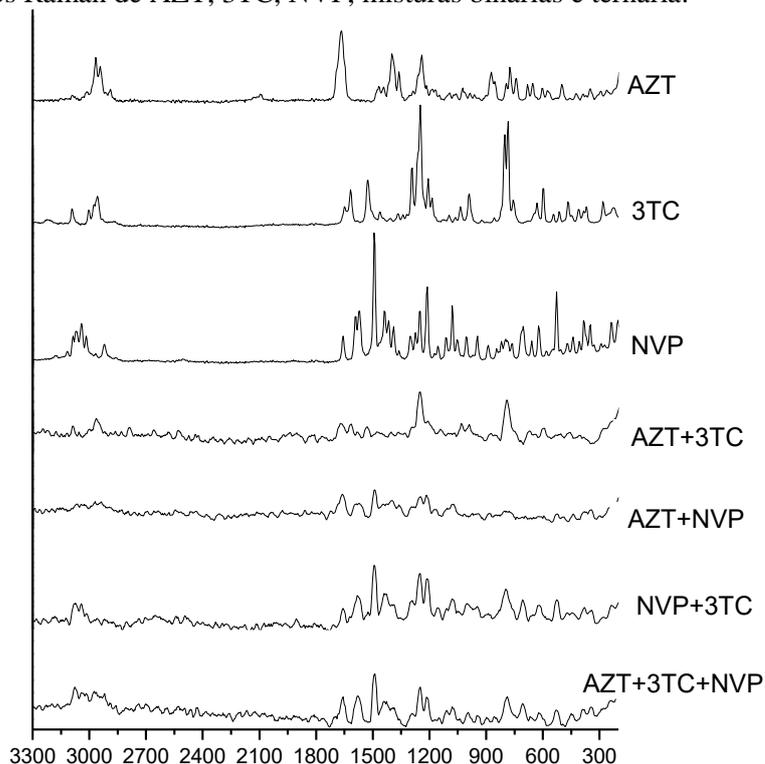


Fonte: Autoria própria.

5.1.4 Espectroscopia Raman

A Figura 8 representa os espectros Raman das MF AZT+3TC, AZT+NVP, NVP+3TC e AZT+3TC+NVP comparados aos espectros dos seus respectivos IFAs.

Figura 8 - Espectros Raman de AZT, 3TC, NVP, misturas binárias e ternária.



Fonte: Autoria própria.

Os espectros dos IFAs AZT e 3TC mostraram-se concordantes com a literatura (DU et al., 2015; RAMKUMAAR et al., 2012). Entre os principais modos vibracionais que caracterizam o AZT, destaca-se banda em 1670 cm^{-1} atribuída à vibração de alongamento da ligação C=O. Em relação ao 3TC, são observados os modos vibracionais de alongamento de C=O em 1654 cm^{-1} , alongamento de C=N em 1526 cm^{-1} .

Entre os aspectos característicos do espectro do NVP pode-se destacar um modo vibracional correspondente ao $\nu(\text{NH})$ em 3173 cm^{-1} , bandas de estiramento de ligações duplas do anel piridina encontram-se em 1589 cm^{-1} , e em torno de 1420 cm^{-1} verifica-se deformações associadas ao anel ciclopropil, deformações correspondentes ao $\nu(\text{CH}_2)$. Tais características do espectro Raman do NVP mostram-se concordante com a literatura (AYALA et al., 2007).

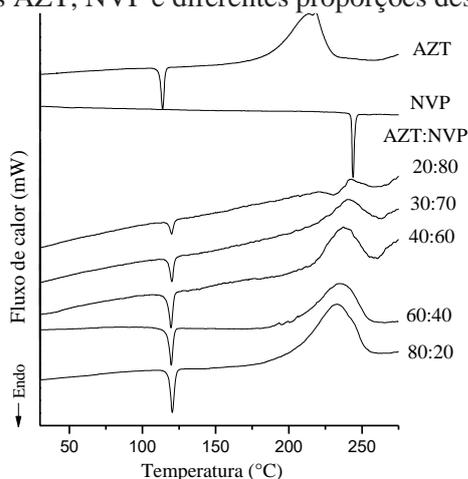
Os espectros Raman das misturas físicas AZT+3TC, AZT+NVP, NVP+3TC e AZT+3TC+NVP apresentam-se apenas como sobreposições dos espectros dos insumos individuais. Não sendo observado, por essa técnica, indícios de interação entre os componentes da mistura.

5.2 ESTUDOS COMPLEMENTARES DA INTERAÇÃO FÁRMACO-FÁRMACO

5.2.1 Curvas DSC de diferentes proporções dos IFAs

Devido ao comportamento apresentado pelos IFAs, foram feitas análises por DSC em diferentes proporções de AZT+NVP, NVP+3TC e AZT+3TC (Figuras 8, 9 e 10).

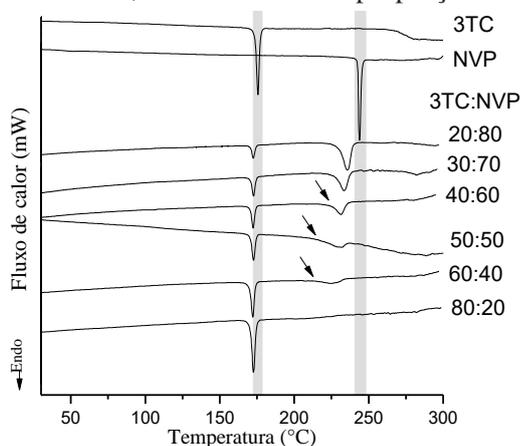
Figura 9 - Curvas DSC dos IFAs AZT, NVP e diferentes proporções destes.



Fonte: Autoria própria.

Como pode ser visto na Figura 9, o comportamento da MF AZT+NVP em diferentes proporções não pôde ser analisado pois o pico de decomposição do AZT se sobrepõem ao de fusão do NVP. Além disso, a proporção AZT:NVP 20:80 é a única em que pode ser verificado um pico característico de fusão do NVP. Desta forma, resultados mais conclusivos devem ser obtidos através de outras técnicas complementares.

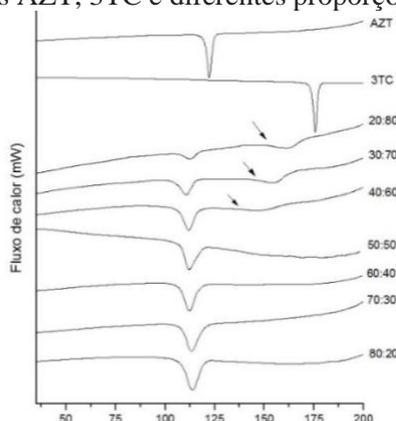
Figura 10 - Curvas DSC dos IFAs 3TC, NVP e diferentes proporções destes.



Fonte: Autoria própria.

À medida que se aumenta a concentração de 3TC na mistura, verifica-se um aumento progressivo da antecipação do T_{onset} de fusão referente ao NVP (Figura 10). Dentre as proporções averiguadas, a MF 3TC:NVP 60:40 apresentou a maior antecipação deste parâmetro (de 242,7 para 216,59°C). Esse comportamento analisado em conjunto com a curva TG dessa MF na proporção 1:1 indicam que a provável interação entre NVP e 3TC, o pode favorecer a decomposição dos insumos. Comportamento semelhante já foram observados na interação do ibuprofeno com lactose e polivinilpirrolidona (PVP). Na ocasião foi verificado que a adição de 5% de lactose promoveu antecipação de 76,2 para 73,7°C do T_{onset} de fusão do ibuprofeno (MASWADEH, 2016).

Figura 11 - Curvas DSC dos IFAs AZT, 3TC e diferentes proporções desses IFAs.



Fonte: Autoria própria.

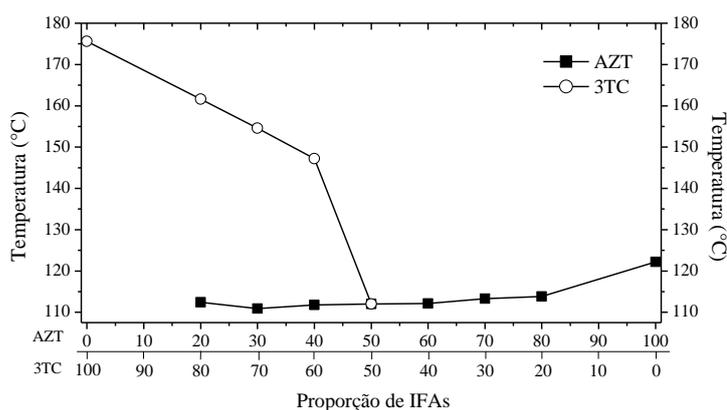
Como citado anteriormente, o comportamento da MF AZT+3TC pode estar relacionado a dissolução do 3TC pelo AZT fundido. Para verificar tal fenômeno, experimentos em diferentes proporções de ambos foram realizados. Os resultados mostraram que mesmo nas misturas em que há maior proporção de 3TC em relação ao AZT, é verificada uma possível interação entre os insumos. Além disso, foi observado que o aumento da proporção de AZT leva à diminuição da intensidade do pico de fusão do 3TC e a partir de 50:50, não é possível mais identificar indícios de 3TC cristalino na mistura (Figura 11).

Outro sinal de possível interação observado nas diferentes proporções de MF de AZT+3TC refere-se à alteração do pico de fusão do AZT, o qual, além de apresentar T_{onset} de fusão antecipado em relação à curva do AZT isolado, tem seu formato alterado, apresentando-se como um pico alargado.

Um estudo que investigou a interação entre 3TC e alguns excipientes como estearato de magnésio, talco e polivinilpirrolidona K-30 (PVP K-30) verificou que as características térmicas do IFA são mantidas. Além disso, as curvas de DSC das misturas físicas entre 3TC com os excipientes não apresentaram deslocamento ou diminuição da intensidade dos picos referentes ao 3TC, mantendo seu pico em formato fino conforme seu perfil original (SINGH; NATH, 2011). Desta forma, as curvas de DSC da MF AZT+3TC podem indicar alguma interação específica entre AZT e 3TC.

Alguns autores sugerem que tal interação seria um fator negativo para a estabilidade térmica dos insumos (GHADERI et al., 2016). Apesar disso, interações no estado sólido nem sempre são indicativos de incompatibilidade entre os componentes podendo, inclusive, ser um comportamento desejável para o desenvolvimento de sistemas de vetorização de fármacos (BRUNI et al., 2010; TITA et al., 2014).

Figura 12 - Diagrama de fases para a MF AZT+3TC.



Fonte: Autoria própria.

Por meio da avaliação do diagrama de fases, é possível verificar de forma clara a interferência da proporção dos IFAs no comportamento térmico da MF. À medida que ocorre o aumento da proporção de AZT na mistura, é observado maior antecipação do Tonset de fusão do 3TC que não conseguiu solubilizar-se ao AZT fundido, a quantidade de 3TC remanescente apresenta-se com sua estrutura molecular enfraquecida, fundindo-se numa temperatura antecipada. Esse comportamento acontece até que a proporção de AZT na mistura seja suficiente para interagir com todo o 3TC (Figura 12). Esse comportamento indica que há miscibilidade entre os fármacos, mas para comprovação de formação de uma verdadeira mistura eutética ou solução sólida cristalina seria necessário um estudo mais aprofundado com outras proporções fármaco-fármaco e outras razões de aquecimento, além de análise de DRX e FTIR.

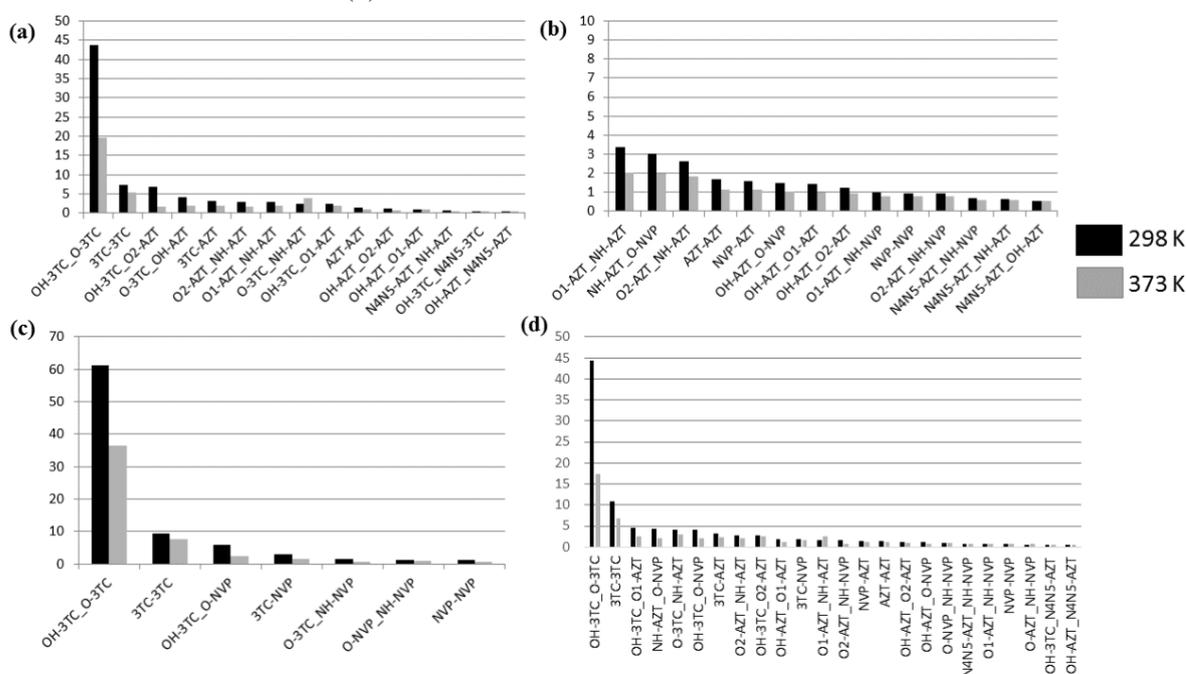
Um estudo que avalia a interação entre a mistura de fenofibrato com ácido acetilsalicílico realizada nas mesmas condições da MF AZT+3TC obteve diagrama de fases com comportamento semelhante ao observado por AZT+3TC, no qual ocorre uma aproximação do pico de fusão do segundo fármaco para cada vez mais próximo do pico de fusão do primeiro fármaco até que numa determinada proporção formam-se um único pico (GORNIK et al., 2011).

5.2.2 Avaliação das interações fármaco-fármaco por dinâmica molecular

5.2.2.1 Estudo das ligações de hidrogênio

A fim de compreendermos de forma mais clara as possíveis interações entre os grupos funcionais de cada uma das moléculas que formam os sistemas das MFs, foram realizados estudos computacionais. As análises dos resultados se deram em função do tempo de ligação de hidrogênio e a influência temperatura neste parâmetro. A Figura 13 representa o tempo médio de ligações de hidrogênio intermoleculares entre os diferentes grupos funcionais das misturas binárias e ternária.

Figura 12. Tempo de ligações de hidrogênio para misturas binárias: (a) AZT+3TC, (b) AZT+NVP, (c) NVP+3TC e mistura ternária: (d) AZT+3TC+NVP.



Fonte: Resultados obtidos em parceria com Dra. Daniela Nadvorny.

Diferentes possibilidades de formação de ligações de hidrogênio podem ser esperadas, uma vez que os IFAs AZT, 3TC e NVP possuem grupos funcionais capazes de interagir dessa forma. Apesar disso, os resultados demonstram que as moléculas iguais tendem a formar ligações de hidrogênio entre si, não sendo observados valores significativos entre AZT e 3TC, AZT e NVP, NVP e 3TC e AZT, 3TC e NVP. Este resultado corrobora com o observado pela análise experimental de infravermelho. Além disso, o aumento da temperatura para 373 K mostrou desfavorecer a formação das ligações de hidrogênio. Este comportamento já é esperado, uma vez que o aumento da temperatura leva o sistema a um nível de maior energia.

O 3TC, por exemplo, possui maior preferência por formar ligações de hidrogênio com outra molécula de 3TC. Nas simulações em que este fármaco se encontra presente, foram observados os maiores valores de tempo de ligação de hidrogênio entre suas próprias moléculas. Em todas elas, o maior tempo de ligação de hidrogênio está relacionado a interação da hidroxila com carbonila do próprio 3TC enquanto que o segundo maior considera a interação entre duas moléculas de 3TC como um todo.

Além disso, o tempo de ligação da hidroxila com carbonila do 3TC à 298K é 61, 43 e 43 ps para NVP+3TC, AZT+3TC e AZT+3TC+NVP, respectivamente, ou seja, diminui na presença do AZT. Para as mesmas combinações à 373K o tempo de ligação é 45, 20 e 17 ps, diminuindo com o aumento da temperatura, fenômeno este o qual já foi explicado anteriormente. Tais valores se apresentam diferentes para NVP+3TC quando comparado a AZT+3TC e AZT+3TC+NVP, esse comportamento sugere que o 3TC possui tendência a interagir com o AZT quando este está presente na mistura.

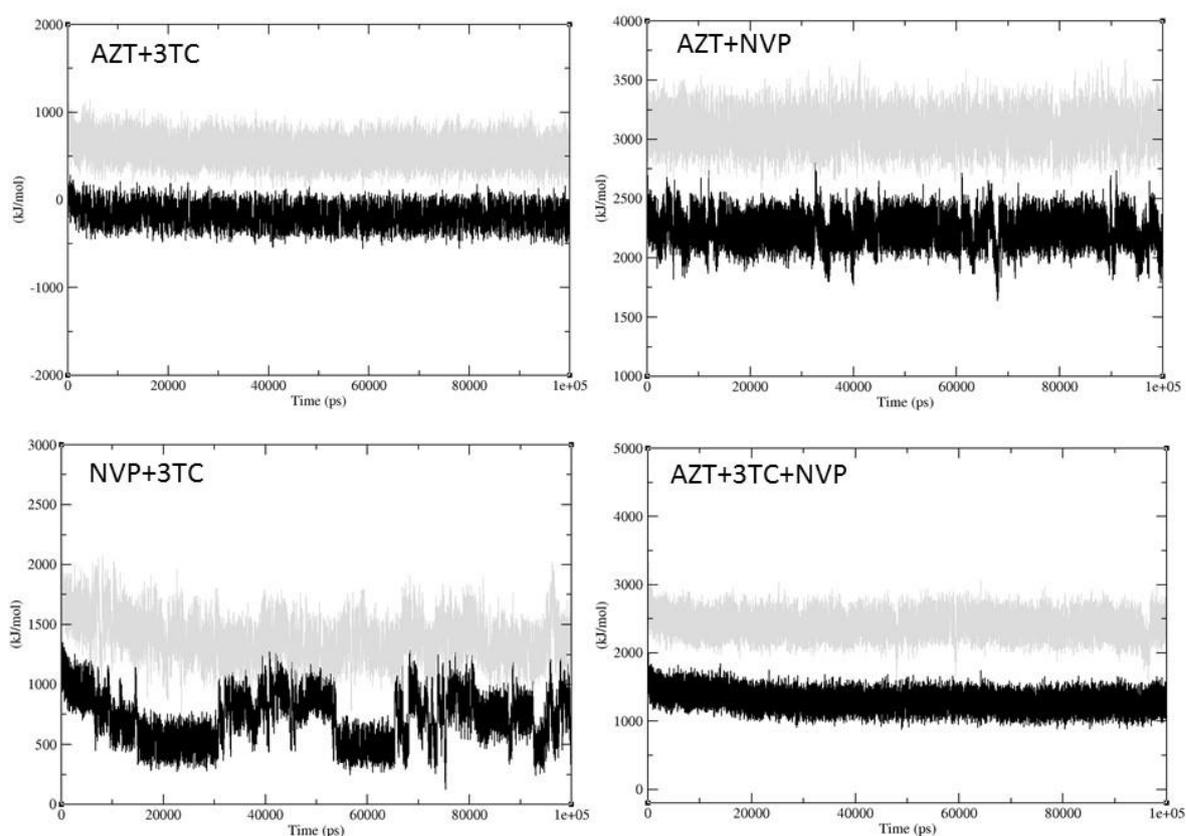
Apesar das ligações de hidrogênio terem sido pouco significativas, outros tipos de interação podem existir, tais como interações eletrostáticas. Uma possível interação entre os grupamentos carbonila e hidroxila presentes nas moléculas de AZT e 3TC, por exemplo, podem refletir em sutis modificações das bandas de absorção do espectro de infravermelho, o que corrobora com os dados experimentais discutidos anteriormente (SOARES et al., 2016).

Já o NVP possui quatro nitrogênios e um grupo carbonila em sua geometria, o que provavelmente leva este a possuir regiões com densidade de carga negativas distribuídas ao longo de sua estrutura e ausência de sítios com densidade de carga positiva, o que pode dificultar sua interação com outros compostos (CHADHA et al., 2010; CORDEIRO et al., 2016). O que também é concordante com o fato do NVP apresentar baixos tempos de ligação de hidrogênio tanto com AZT quanto com 3TC.

5.2.2.2 Estudo da energia total das misturas

A Figura 14 evidencia os cálculos de energia total das misturas binárias e ternária nas temperaturas 298 e 373K, representados pela coloração preto e cinza, respectivamente. Neste caso, foi analisada a energia total, variação da energia e temperatura durante o tempo de simulação.

Figura 14 - Energia Total das misturas binárias AZT+3TC, AZT+NVP, NVP+3TC e ternária AZT+3TC+NVP. Preto e cinza são as simulações em 298 e 373 K, respectivamente.



Fonte: Resultados obtidos em parceria com Dra. Daniela Nadvorny.

De acordo com os resultados ao longo das simulações, as misturas apresentam a seguinte ordem crescente de energia total: $AZT+3TC < NVP+3TC < AZT+3TC+NVP < AZT+NVP$. Estes resultados são concordantes com os descritos anteriormente, uma vez que os sistemas de menor energia também possuem maior tempo de ligação de hidrogênio (AZT+3TC, NVP+3TC e AZT+3TC+NVP). Ainda neste contexto o sistema AZT+NVP, o qual possui o menor tempo de ligações de hidrogênio, também se mostrou com maior energia. Segundo o parâmetro variação de energia, as misturas que apresentaram menores variações seguiram a ordem:

$AZT+3TC < AZT+3TC+NVP < AZT+NVP$ e $NVP+3TC$. Além disso, o aumento da temperatura leva o sistema a um nível de maior energia, o que também já foi descrito anteriormente (Figura 14).

A menor energia observada para $AZT+3TC$ pode ser atribuída a presença de grupos receptores e doadores presentes tanto na molécula de AZT quanto de 3TC que promovem possíveis interações (SOARES et al., 2016). Tal característica pode ter influenciado também no fato de $AZT+3TC$ ter possuído menor variação de energia no decorrer das simulações. Comportamento semelhante é observado na mistura ternária, sugerindo que as características que levaram à interação entre $AZT+3TC$ possam ter permanecido na mistura ternária.

$AZT+NVP$ foi a mistura com maior energia total. Esse comportamento pode ser referente à capacidade limitada de NVP interagir com AZT e podendo ter influenciado as duas combinações que possuem AZT e NVP, $AZT+NVP$ e $AZT+3TC+NVP$, a apresentarem maiores valores de energia total.

Por fim, a mistura ternária apresentou um comportamento intermediário entre $AZT+3TC$ e $AZT+NVP$, possivelmente devido a interações de grupos doadores e receptores de $AZT+3TC$ fornecerem menores variações com o tempo de simulação. No entanto, a presença de NVP promoveu aumento da energia total para valores próximos a $AZT+NVP$, ou seja, NVP pode ter influenciado negativamente para a estabilização da energia do sistema ternário.

A elevada interação entre AZT e 3TC observada nos estudos de dinâmica molecular podem explicar o comportamento das misturas $AZT+3TC$ e $AZT+3TC+NVP$ nas análises por DSC, no qual o insumo 3TC permaneceu miscível ao AZT fundido.

Apesar dos resultados teóricos terem apontado os sítios entre os quais podem ocorrer as ligações de hidrogênio e determinar a estabilidade dos sistemas, ainda é necessário averiguar as possíveis consequências da dificuldade de interação do NVP com AZT e 3TC. Para isso, foram realizadas análises da cinética de decomposição térmica.

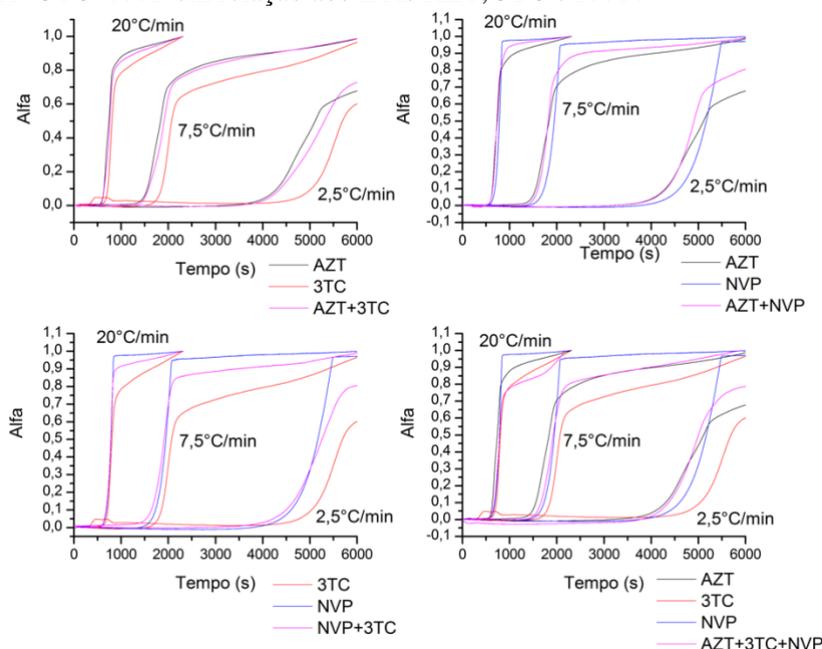
5.3 ESTUDO DAS INTERAÇÕES FÁRMACO-FÁRMACO POR CINÉTICA DE DECOMPOSIÇÃO E DETERMINAÇÃO DO MECANISMO DE REAÇÃO

5.3.1 Cinética de decomposição isoconversional

Devido à pouca elucidação das interações fármaco-fármaco por análises tradicionais, foram feitos estudos cinéticos por modelos isoconversionais de FWO, KAS e FR a fim de avaliar de forma detalhada o comportamento dos IFAs nas misturas.

A Figura 15 representa a relação entre perda de massa (%) e tempo (segundos) para os IFAs em comparação com as MF nas razões de aquecimento utilizadas para o cálculo das cinéticas de decomposição térmica.

Figura 15 - Relação entre fração de decomposição e tempo para as MF AZT+3TC, AZT+NVP, NVP+3TC e AZT+3TC+NVP em relação aos IFAs AZT, 3TC e NVP.



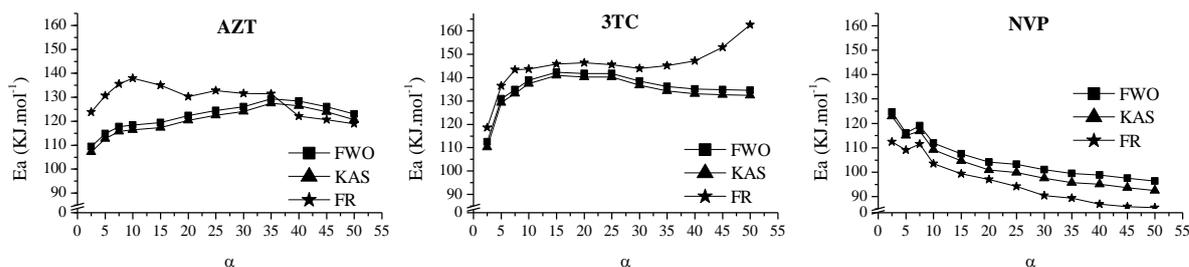
Fonte: Autoria própria.

As MF AZT+3TC, AZT+NVP e AZT+3TC+NVP apresentaram curvas próximas ao AZT. Já a MF NVP+3TC necessitou de menor tempo para o início de perda de massa em comparação às curvas dos respectivos IFAs (Figura 15).

Os valores de E_a correspondentes às frações de decomposição (α) 2,5 a 50% de cada um dos IFAs isolados e suas misturas calculados pelos métodos de Flynn-Wall-Ozawa (FWO), Friedman (FR), Kissinger-Akahira-Sunose (KAS) encontram-se nos Apêndices A e B, respectivamente. Os valores de energia de ativação para os modelos cinéticos de FWO e KAS seguem tendências semelhantes. Em algumas frações de conversão, o método de FR obteve valores ligeiramente maiores, o que pode estar relacionado ao fato deste método resolver a equação de Arrhenius por meio de cálculos diferenciais, enquanto FWO e KAS serem modelos integrais. No geral, pode-se verificar boa correlação entre os três métodos, indicando concordância entre os resultados obtidos e provando que os valores de E_a estimados possuem acurácia. Outro indicativo corresponde à obtenção de coeficientes de correlação (r^2) próximos à 0,9 nos três métodos (FLYNN; WALL, 1966; GHADERI; NEMATI; SIAHI-SHADBAD, 2015; JAIN; MEHRA; RANADE, 2016).

Até então, não há na literatura estudos que sobre a determinação da cinética de decomposição térmica dos IFAs AZT, 3TC e NVP pelos métodos de FWO, KAS e FR. Portanto, antes de comentar sobre a influência de cada IFA nas misturas, é necessário estudar detalhadamente o comportamento térmico de cada insumo individualmente.

Figura 16 - Dependência da Energia de ativação (KJ.mol^{-1}) pela fração de conversão calculados pelos métodos de FWO, KAS e FR para os insumos AZT, 3TC e NVP.



Fonte: Autoria própria.

Como pode-se verificar na Figura 16, a energia de ativação (E_a) dos insumos ao longo da decomposição dependem da fração de decomposição (α). De acordo com os modelos cinéticos de FWO e KAS, AZT segue uma tendência de aumento de E_a até 35% de perda de massa (aumento de 109,4 para 129,3 KJ/mol , de 107,1 para 127,5 KJ/mol e de 130,6 para 138,9 KJ/mol pelos métodos de FWO, KAS e FR, respectivamente). Após essa etapa, houve diminuição da E_a nas frações seguintes, o que ser correspondente à transição entre a primeira e segunda etapa de decomposição, relacionado ao processo de quebra a ligação N-glicosídica.

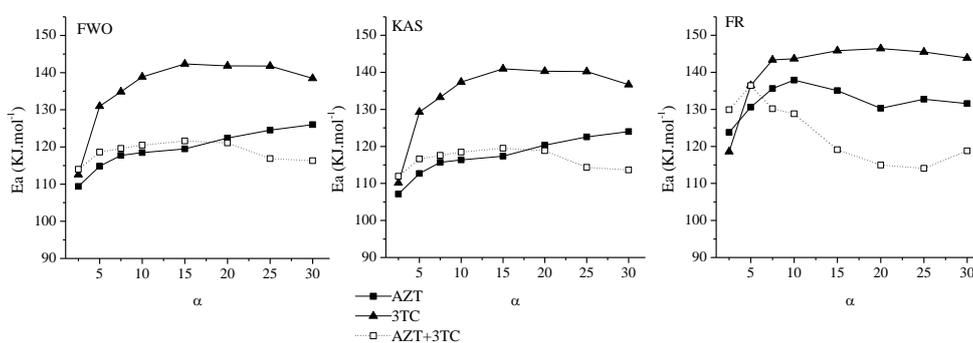
Essa característica de aumento da E_a até uma determinada fração de conversão também pode ser observada para 3TC podendo ser devido ao 3TC possuir estrutura molecular semelhante ao AZT, mas a decomposição ocorre em uma única etapa (WANG; YOU, 2015). O 3TC é o IFA que possui maiores valores de E_a que AZT e NVP (Figura 16), essa característica pode ter relação com a elevada capacidade de formar ligações de hidrogênio consigo mesmo, como observado nos estudos de modelagem molecular. Para promover a ruptura das ligações é necessária maior energia influenciando, portanto, em elevados valores de E_a .

Já NVP possui maiores valores de E_a apenas no início do seu processo de decomposição, e a partir de $\alpha=7,5\%$ ocorre o decaimento da E_a , de 124,6 a 96,4 KJ/mol , de 122,9 a 92,5 KJ/mol e de 112,4 a 85,5 KJ/mol para FWO, KAS e FR, respectivamente (Figura 16). Essa característica pode estar relacionada ao fato do NVP decompor-se em uma única etapa e logo após o evento de fusão (DE OLIVEIRA et al., 2013).

A decomposição térmica de amostras com multicomponentes são exemplos de processos complexos com reações paralelas, competitivas e consecutivas (FERDOSIAN et al.,

2016). As alterações nos valores de E_a podem ser atribuídos a mudanças no mecanismo durante o processo de decomposição, esse comportamento é observado em outros trabalhos (DAVACHI et al., 2016; HENRIQUE et al., 2015). A fim de se verificar a influência de cada IFA na mistura, foi representado a relação entre a E_a e a fração de decomposição de cada uma das MF em comparativo aos respectivos componentes individuais para os modelos FWO, KAS e FR na faixa de α equivalente a 2,5 a 30% (Figuras 17, 18, 19 e 20).

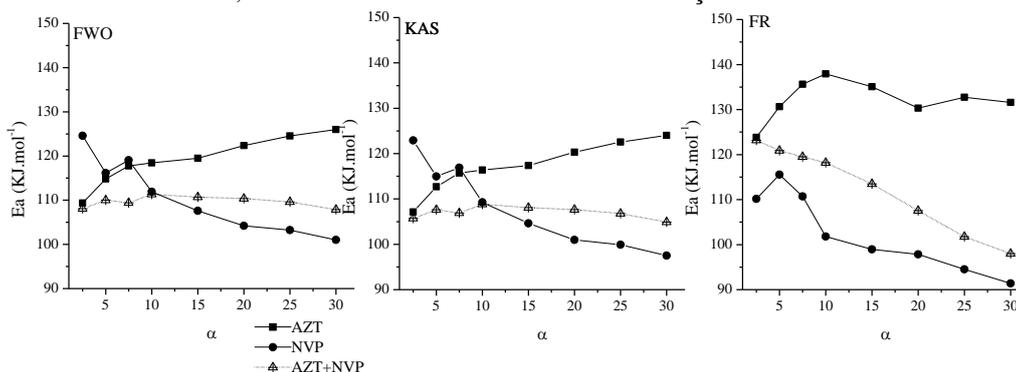
Figura 17 - Dependência da Energia de ativação (KJmol^{-1}) pela fração de conversão calculados pelos métodos de FWO, KAS e FR da MF AZT+3TC em relação aos fármacos AZT e 3TC.



Fonte: Autoria própria.

A MF AZT+3TC apresentou E_a de 114,0 e 111,9 KJ mol^{-1} em $\alpha = 2,5\%$ para FWO e KAS, respectivamente. Nessa mesma faixa, a E_a de AZT é 109,4 e 107,1 KJ mol^{-1} e de 3TC é 112,6 e 110,2 KJ mol^{-1} para FWO e KAS, respectivamente (Figura 17). Entre $\alpha = 5$ e 15%, a E_a permaneceu com valores próximos ao AZT. A partir de $\alpha = 20\%$ houve diminuição da E_a em relação à ambos. Para o modelo de FR, a E_a de AZT+3TC apresentou-se menor que os IFAs sozinhos a partir de $\alpha = 7,5\%$. O comportamento de miscibilidade entre estes dois insumos verificado por DSC não influenciou na diminuição da estabilidade térmica, corroborando com os dados da curva TG dessa MF, que não apresentou antecipação no T_{onset} de decomposição.

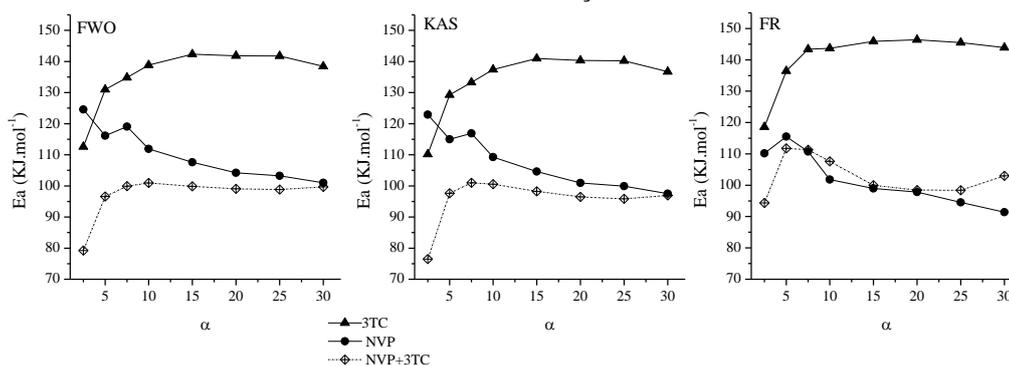
Figura 18 - Dependência da Energia de ativação (KJmol^{-1}) pela fração de conversão calculados pelos métodos de FWO, KAS e FR da MF AZT+NVP em relação aos fármacos AZT e NVP.



Fonte: Autoria própria.

Para a MF AZT+NVP, foi observado menores valores de E_a em relação ao AZT e NVP entre $\alpha = 2,5$ e 10%, após essa faixa os valores de E_a permaneceram próximos aos do NVP nas demais frações de decomposição. Por ser o fármaco de menor E_a , esse comportamento pode facilitar o processo de decomposição do AZT (Figura 18). Essa MF não apresentou antecipação no T_{onset} de decomposição nas curvas TG, mas foi observado antecipação da temperatura de máxima perda de massa, no qual o DTG_{pico} foi deslocado de 270,5 e 298,3°C (temperatura de DTG_{pico} para AZT e NVP, respectivamente) para 265,1°C (AZT+NVP), esse conjunto de informações podem ser indícios de que houve diminuição da estabilidade térmica da mistura.

Figura 19. Dependência da Energia de ativação (KJmol^{-1}) pela fração de conversão calculados pelos métodos de FWO, KAS e FR da MF NVP+3TC em relação aos fármacos NVP e 3TC.

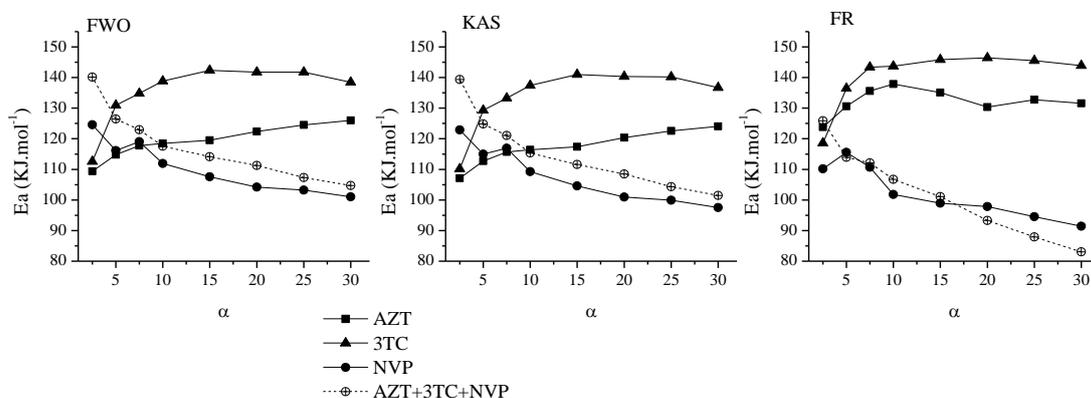


Fonte: Autoria própria.

A MF NVP+3TC teve menor E_a que ambos os componentes, esse comportamento comprova que a MF pode ser menos estável termicamente do que NVP e 3TC (Figura 19). É possível correlacionar esses dados com os resultados de DSC e TG para essa MF, no qual a hipótese levantada anteriormente é confirmada: a antecipação da faixa de fusão da mistura pode ter influenciado na antecipação do processo de decomposição e a interação entre NVP e 3TC

diminuiu a estabilidade térmica dessa MF, facilitando o processo de decomposição dos IFAs. (GHADERI; NEMATI; SIAHI-SHADBAD, 2015).

Figura 20 - Dependência da Energia de ativação (KJmol^{-1}) pela fração de conversão calculados pelos métodos de FWO, KAS e FR da MF AZT+3TC+NVP em relação aos fármacos AZT, 3TC e NVP.



Fonte: Autoria própria.

A mistura AZT+3TC+NVP segue tendência semelhante ao NVP, podendo ser indicio de que esse seja o IFA de maior influência na decomposição dessa MF (Figura 20). Nos modelos de FWO e KAS, um comportamento singular é observado para a mistura ternária, no qual em $\alpha=2,5\%$ a E_a é maior que os IFAs sozinhos. A partir de $\alpha=5\%$, a mistura segue um decaimento acelerado de E_a , tal fato é indicativo de que AZT e 3TC possam ter sido prejudicados na mistura devido a rápida decomposição do NVP.

De forma resumida, as MF AZT+NVP e NVP+3TC possuem indícios de diminuição da estabilidade térmica com menores valores de E_a já a partir de $\alpha = 2,5\%$, evidenciando a importância de se avaliar faixas de perda de massa iniciais. E apesar de AZT+3TC+NVP ter maior E_a em $\alpha = 2,5\%$, sua diminuição é brusca nas frações de decomposição seguintes, tal comportamento pode promover a decomposição de forma mais acelerada tanto para AZT quanto 3TC. O comportamento da MF AZT+3TC verificado no DSC não influenciou na diminuição da estabilidade dos componentes.

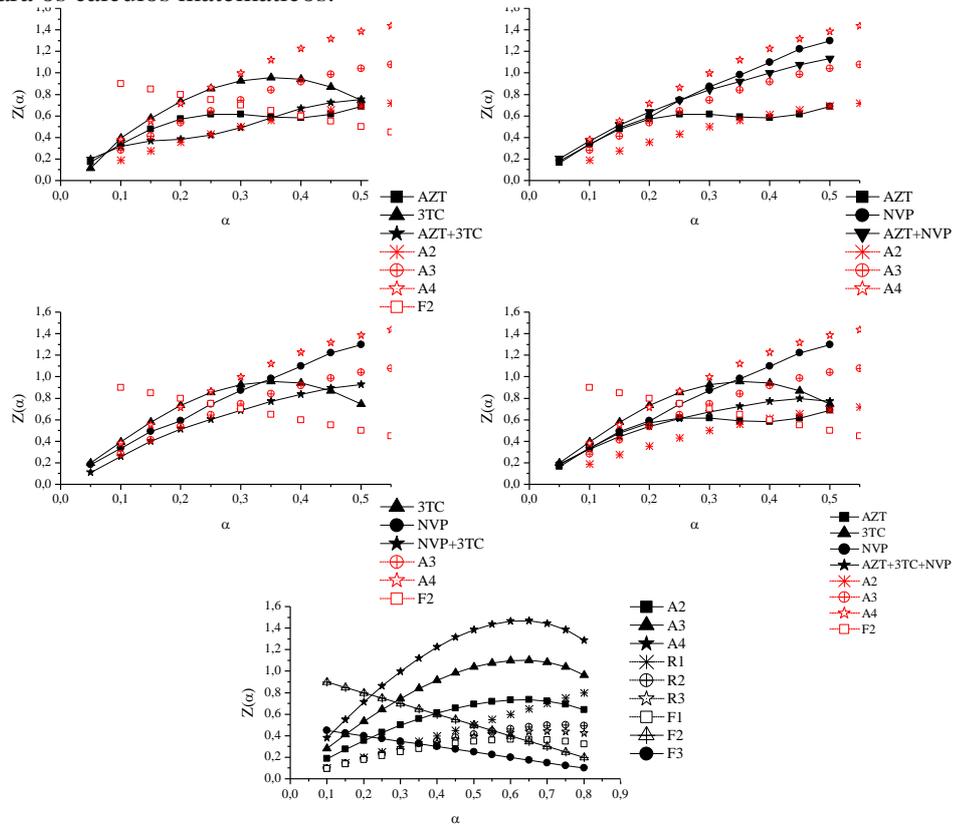
Até então, não se teve conhecimento de trabalhos publicados que avaliam a interação fármaco-fármaco por meio de cinética isoconversional. No entanto, alguns estudos fármaco-excipientes mostram a relevância da utilização dessa estratégia. Ao investigar pelos métodos de FWO, KAS e FR, a interação entre doxepina com dois tipos de lactose, lactose monohidratada e anidra, verificou-se que a combinação com lactose monohidratada levou a uma maior diminuição da energia de ativação do que com lactose anidra (GHADERI et al., 2015). Estudo semelhante avaliou a interação entre cloridrato de doxepina e dextrose e verificou que a mistura apresentou-se menos estável termicamente (GHADERI et al., 2016).

5.3.2 Determinação dos modelos de decomposição pelo método de Criado

O método de Criado foi proposto nesse trabalho a fim de verificar o mecanismo de decomposição das misturas em relação aos respectivos fármacos sozinhos ou se houve alteração dos mecanismos. Vale ressaltar que a utilização do método de Criado para estudos de interação fármaco-fármaco é uma aplicação inédita. Além disso o estudo do mecanismo de decomposição dos fármacos AZT, 3TC e NVP por tal modelo ainda não foi observado na literatura.

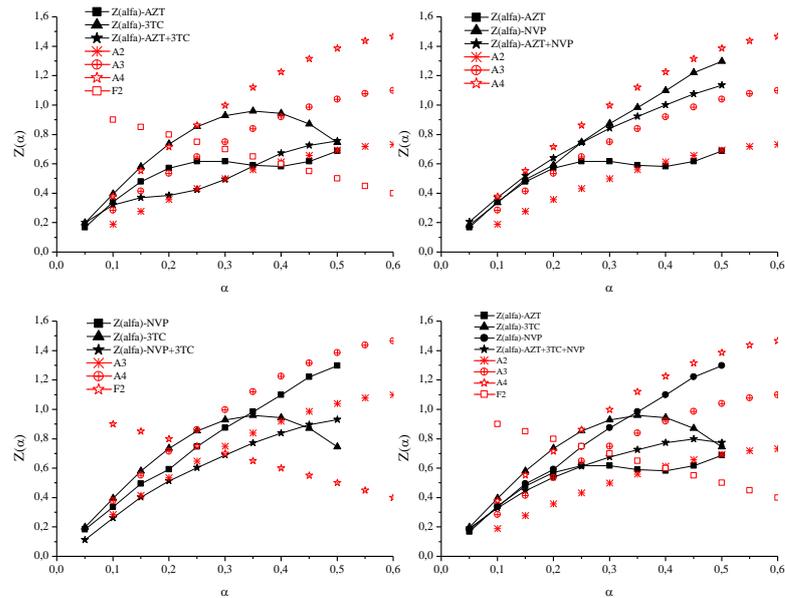
Conforme apresentado na seção 2.5.1, o método de Criado utiliza-se de curvas teóricas chamadas de curvas mestras, $Z(\alpha)$, para se comparar as curvas mestras obtidas experimentalmente (CRIADO; GOTOR; MÁLEK, 2003). Para verificar a acuraria dos resultados, o mecanismo de decomposição das amostras foi calculado com os dados obtidos do método de FWO e FR (Figuras 23 e 24, respectivamente). Nas Figuras 21 e 22 são apresentadas as comparações entre as curvas mestras experimentais (cor preto) e as curvas mestras teóricas (cor vermelha) que mais se assemelham aos mecanismos dos fármacos AZT, 3TC, NVP e das combinações AZT+3TC, AZT+NVP, NVP+3TC e AZT+3TC+NVP para as taxas de decomposição $\alpha = 5$ a 50%. A figura 20(c) representa os modelos cinéticos teóricos propostos por Criado e colaboradores (CRIADO; MÁLEK; ORTEGA, 1989).

Figura 21. Curvas mestras ($Z(\alpha)$) de diferentes modelos cinéticos e dados experimentais referentes à degradação térmica das MF em comparação aos IFAs AZT, 3TC e NVP utilizando-se os dados de Ea de FWO para os cálculos matemáticos.



Fonte: Autoria própria.

Figura 22. Curvas mestras ($Z(\alpha)$) de diferentes modelos cinéticos e dados experimentais referentes à degradação térmica das MF em comparação aos IFAs AZT, 3TC e NVP utilizando-se os dados de Ea de FR para os cálculos matemáticos.



Fonte: Autoria própria.

Apesar dos modelos FWO e FR obterem a E_a por meio de equações integrais e diferenciais, respectivamente, os mecanismos de decomposição calculados apresentam-se semelhantes (Figuras 21 e 22).

Entre $\alpha=5$ a 50%, o AZT segue três modelos: de $\alpha= 5$ a 25% está relacionado ao mecanismo A3 que significa degradação por nucleação e crescimento bidimensional, entre $\alpha=25$ e 35% ao modelo F1 e após $\alpha=35\%$ por A2 (nucleação e crescimento unidirecional). O 3TC também segue dois mecanismos de decomposição, no qual até 30% é regido pelo mecanismo A4 que é relacionado a degradação por nucleação e crescimento tridimensional e, após essa etapa, o mecanismo F2 prevalece, tal mecanismo está relacionado a degradação dependente da concentração de duas substâncias ou à concentração de uma substância elevada ao quadrado. Já a decomposição do NVP está relacionada apenas ao mecanismo A4 (nucleação e crescimento tridimensional). No geral, as reações dos IFAs estudados seguem o método de Avrami, referentes a processo de degradação por nucleação e crescimento (AVRAMI, 1939).

A mistura AZT+3TC se assemelha ao mecanismo de decomposição do AZT, no entanto o mecanismo A3 foi deslocado de $\alpha = 5$ a 25% para $\alpha = 5$ a 15%, sendo alterado para o mecanismo A2. Tal fato sugere que a mistura de AZT com 3TC teve o mecanismo de decomposição antecipado em relação ao AZT sozinho.

A mistura AZT+NVP apresentou-se com mecanismo A3 entre $\alpha=5$ a 50%, semelhante ao mecanismo de NVP, A4. O mecanismo referente ao AZT+3TC+NVP até $\alpha= 25\%$ é A3, esta etapa é equivalente ao mecanismo que rege a decomposição do AZT na mesma faixa. Após $\alpha= 25\%$, a mistura ternária segue tendências entre A2 e A3. Esse comportamento após $\alpha= 25\%$ pode estar relacionado a decomposição competitivas de 3TC e NVP. Para essa amostra, não é possível verificar um dos três mecanismos de AZT, F1 entre $\alpha= 15$ e 25%, podendo estar subposto aos mecanismos dos outros IFAs, uma evidência disso é que na mistura AZT+NVP já não é possível verificar as etapas referentes ao AZT.

Quando sozinhos, os dois componentes da mistura NVP+3TC, possuem mesmo mecanismo de decomposição, A4, no entanto, quando em mistura o mecanismo observado foi A3. Esse comportamento pode estar relacionado com a mistura ter antecipação do T_{onset} de decomposição e apresentar menores valores de E_a , diminuindo a estabilidade térmica e favorecendo a decomposição dos insumos quando em mistura.

Por fim, verificou-se que em relação ao mecanismo de decomposição das misturas em relação aos respectivos fármacos. A mistura AZT+3TC teve o mecanismo de decomposição antecipado em relação ao AZT sozinho. Quando em mistura, NVP+3TC possui mecanismo é alterado, comportamento semelhante é observado para AZT+3TC+NVP. Tais evidências

sugerem que as alterações na Ea das misturas em relação aos respectivos fármacos modificaram o mecanismo de decomposição das misturas, consequência das interações entre os fármacos.

6 CONCLUSÃO

Estudos convencionais de interação fármaco-fármaco evidenciaram a possibilidade de interação entre os IFAs AZT, 3TC e NVP, no entanto, não forneceram entendimento detalhado do comportamento das misturas, devido a elevada sobreposição de eventos ou ausência de evidências concretas.

Misturas contendo diferentes proporções dos insumos mostraram que interações entre AZT e 3TC e entre NVP e 3TC de fato ocorrem. Com os estudos teóricos de dinâmica molecular foi possível averiguar que a interação entre as moléculas AZT e 3TC se dá devido a interações eletrostáticas entre grupos carbonilas e hidroxilas e que a dificuldade de NVP interagir com os demais IFAs pode ser devido a sua elevada densidade de cargas negativas.

A avaliação da interação fármaco-fármaco por meio de estudos cinéticos isoconversionais e de mecanismo de decomposição pelo método de Criado evidenciou a influência de cada componente na decomposição das misturas. Sendo possível determinar que, AZT+3TC não apresentou indícios de alterações da E_a e do mecanismo de decomposição. Por outro lado, AZT+NVP e NVP+3TC mostraram-se menos estáveis termicamente, devido a alterações tanto da E_a , quanto mudança do mecanismo de reação. Devido ao comportamento dessas últimas amostras citadas, a mistura ternária possuiu estabilidade térmica comprometida, influenciando na aceleração da decomposição dos insumos.

O presente trabalho apresenta-se como uma forma eficiente para avaliar a interação fármaco-fármaco, utilizando-se cinética de decomposição isoconversional, determinação do mecanismo de reação e modelagem molecular em conjunto estudos clássicos da interação no estado sólido - por DSC, TG, FTIR e Raman.

7 PERSPECTIVAS

- Avaliar a miscibilidade entre AZT e 3TC por meio da equação de Florry-Huggies e analisar os parâmetros entálpicos.
- Aplicar a cinética de reação isoconversional utilizando-se de curvas DSC dos IFAs AZT, 3TC, NVP e suas diferentes combinações.

APÊNDICE A - Energias de ativação pelos métodos de FWO, KAS e FR dos fármacos AZT, 3TC e NVP para cada uma das frações de conversão (2.5 a 50%).

Ea (KJ mol⁻¹)												
α (%)	2.5	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	Média
Método	AZT											
FWO	109.4	114.8	118.5	119.5	122.3	124.5	125.9	129.3	128.4	126.0	122.9	122.0
KAS	107.1	112.7	116.4	117.3	120.3	122.5	124.0	127.5	126.4	123.9	120.6	119.9
FR	130.6	137.6	138.9	134.5	129.0	127.7	127.3	130.3	126.5	119.6	119.9	129.3
Média	115.7	121.7	124.5	123.7	123.9	124.9	125.7	129.0	127.1	123.1	121.2	
	3TC											
FWO	112.6	131.0	138.8	142.3	141.7	141.7	138.4	136.2	135.1	134.8	134.5	135.2
KAS	110.2	129.3	137.4	140.9	140.3	140.2	136.7	134.23	133.1	132.7	132.4	133.4
FR	140.6	142.3	153.9	151.1	144.5	139.3	132.6	129.9	128.7	131.4	140.9	139.6
Média	121.1	134.1	143.3	144.8	142.2	140.4	135.9	133.5	132.3	132.9	135.9	
	NVP											
FWO	124.6	116.1	111.9	107.6	104.2	103.2	101.0	99.4	98.9	97.51	96.4	105.5
KAS	122.9	115.0	109.3	104.6	100.9	99.9	97.4	95.7	95.1	93.7	92.5	102.5
FR	112.4	109.0	103.5	99.4	96.9	94.2	90.4	89.4	86,9	85.9	85.5	95.8
Média	119.9	113.4	108.2	103.9	100.7	99.1	96.3	94.8	93.7	92.4	91.4	

APÊNDICE B - Energias de ativação pelos métodos de FWO, KAS e FR das misturas binárias (AZT+3TC, AZT+NVP e NVP+3TC) e ternária (AZT+3TC+NVP) para cada uma das frações de conversão (2.5 a 50%).

Ea (KJ mol⁻¹)												
α (%)	2.5	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	Média
Método	AZT+3TC											
FWO	114.0	118.6	120.5	121.6	121.1	116.9	116.3	116.5	117.3	120.1	124.1	118.82
KAS	111.9	116.6	118.5	119.5	118.9	114.3	113.7	113.8	114.6	117.5	121.6	116.44
FR	137.5	134.4	123.7	119.0	118.5	119.0	122.2	125.1	129.3	135.3	140.5	127.67
Média	121.1	123.2	120.9	120.0	119.5	116.7	117.4	118.5	120.4	124.3	128.7	
	AZT+NVP											
FWO	108.1	110.0	111.3	110.7	110.4	109.6	107.9	107.0	104.5	103.2	101.6	107.6
KAS	105.7	107.6	108.8	108.1	107.7	106.8	104.9	103.9	101.2	99.9	98.1	104.8
FR	123.2	120.9	118.2	113.5	107.6	101.8	98.0	92.6	88.7	87.3	86.5	103.5
Média	112.3	112.8	112.8	110.7	108.5	106.0	103.6	101.1	98.1	96.8	95.4	
	NVP+3TC											
FWO	80.4	100.7	103.6	101.6	100.0	99.4	100.5	100.3	101.9	104.4	105.8	99.9
KAS	76.5	97.6	100.5	98.2	96.5	95.9	96.9	96.6	98.3	100.8	102.3	96.4
FR	94.3	111.8	107.6	100.0	98.4	98.4	103.0	106.2	112.4	121.0	123.8	106.9
Média	83.7	103.4	103.9	99.9	98.3	97.9	100.2	101.0	104.2	108.7	110.6	
	AZT+3TC +NVP											
FWO	108.1	108.6	110.0	110.7	109.6	109.6	107.9	107.0	104.5	103.2	101.6	107.3
KAS	105.7	106.2	107.4	108.1	106.8	106.8	104.9	103.9	101.2	99.9	98.1	104.5
FR	125.9	114.0	106.8	101.1	93.3	87.9	83.0	81.1	79.6	80.7	82.8	94.2
Média	113.2	109.6	108.1	106.6	103.2	101.4	98.6	97.3	95.1	94.6	94.2	

REFERÊNCIAS

- ABRAHAM, M. J. et al. Gromacs: High performance molecular simulations through multi-level parallelism from laptops to supercomputers. **SoftwareX**, v. 1–2, p. 19–25, 2015.
- AKAHIRA, T.; SUNOSE, T. Joint conversion of four electrical institutes. **Sci Technol**, v. 16, p. 22–31, 1971.
- ALVES-SILVA, I. et al. Preformulation studies of itraconazole associated with benzimidazole and pharmaceutical excipients. **Thermochemica Acta**, v. 575, p. 29–33, 2014.
- APARNA, P. et al. Identification, isolation, and characterization of potential degradation products in a triple combination lamivudine, zidovudine, and nevirapine. p. 331–335, 2010.
- ARAÚJO, A. A. S. et al. Thermal analysis of the antiretroviral zidovudine (AZT) and evaluation of the compatibility with excipients used in solid dosage forms. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 260, n. 2, p. 303–314, 2003.
- ASTM E1641-16. Standard Test Method for Decomposition Kinetics by Thermogravimetry Using the Ozawa/Flynn/Wall Method. p. 1–7, 2016.
- AVRAMI, M. Kinetics of Phase Change I: General Theory. **Journal of Chemical Physics**, 1939.
- AYALA, A. P. et al. Vibrational spectra and quantum mechanical calculations of antiretroviral drugs: Nevirapine. **Journal of Molecular Structure**, v. 828, n. 1–3, p. 201–210, 2007.
- BAMFORD, A. et al. Paediatric European Network for Treatment of AIDS (PENTA) guidelines for treatment of paediatric HIV-1 infection 2015: Optimizing health in preparation for adult life. **HIV Medicine**, v. 44, p. 1–42, 2015.
- BATE, R. et al. Physical and chemical stability of expired fixed dose combination artemether-lumefantrine in uncontrolled tropical conditions. **Malaria journal**, v. 8, p. 33, 2009.
- BEDSE, G.; KUMAR, V.; SINGH, S. Study of forced decomposition behavior of lamivudine using LC, LC-MS/TOF and MSn. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 49, p. 55–63, 2009.
- BERENDSEN, H. J. C.; VAN DER SPOEL, D.; VAN DRUNEN, R. GROMACS: A message-passing parallel molecular dynamics implementation. **Computer Physics Communications**, v. 91, n. 1–3, p. 43–56, 1995.
- BHARATE, S. S.; BHARATE, S. B.; BAJAJ, A. N. Interactions and incompatibilities of pharmaceutical excipients with active pharmaceutical ingredients: a comprehensive review. **Journal of excipients and food chemistry**, v. 1, n. 3, p. 3–26, 2010.
- BHUTANI, H.; MARIAPPAN, T. T.; SINGH, S. An explanation for the physical instability of a marketed fixed dose combination (FDC) formulation containing isoniazid and ethambutol and proposed solutions. **Drug development and industrial pharmacy**, v. 30, n. 6, p. 667–672, 2004.

BIANCHI, O. et al. Avaliação da Degradação Não-Isotérmica de Madeira Nonisothermal Degradation of Wood Using Thermogravimetric Measurements. **Polímeros**, v. 20, p. 395–400, 2010.

BLAJOVAN, R. et al. Study of thermal induced excipient–excipient interactions. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 126, n. 1, p. 171–179, 2016.

BORBA, P. A. A. et al. Pharmaceutical approaches involving carvedilol characterization, compatibility with different excipients and kinetic studies. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 115, n. 3, p. 2507–2515, 2014.

BRASIL. Guia para registro de novas associações em dose fixa. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**, 2010.

BRUNI, G. et al. Drug-excipient compatibility studies in binary and ternary mixtures by physico-chemical techniques. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 102, n. 1, p. 193–201, 2010.

CHADHA, R. et al. Solvated crystalline forms of nevirapine: thermoanalytical and spectroscopic studies. **AAPS PharmSciTech**, v. 11, n. 3, p. 1328–1339, 2010.

CHADHA, R.; BHANDARI, S. Drug-excipient compatibility screening-Role of thermoanalytical and spectroscopic techniques. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 87, p. 82–97, 2014.

CHEN, S. et al. Thermal degradation behavior of hydrogenated nitrile-butadiene rubber (HNBR)/clay nanocomposite and HNBR/clay/carbon nanotubes nanocomposites. **Thermochimica Acta**, v. 491, n. 1–2, p. 103–108, 2009.

CHIDAMBARAM, M.; KRISHNASAMY, K. Drug-drug/drug-excipient compatibility studies on curcumin using non-thermal methods. **Advanced Pharmaceutical Bulletin**, v. 4, n. 3, p. 309–312, 2014.

CORDEIRO, M. S. F. et al. Biopolymers and pilocarpine interaction study for use in drug delivery systems (DDS). **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, 2016.

CRIADO, J. M. Critical Study of the Isoconversional Methods of Kinetic Analysis. v. 92, p. 199–203, 2008.

CRIADO, J. M.; GOTOR, F. J.; MÁLEK, J. a Unified Theory for the Kinetic Analysis of Solid State Reactions Under Any Thermal Pathway. v. 72, p. 901–906, 2003.

CRIADO, J. M.; MÁLEK, J.; ORTEGA, A. Applicability of the master plots in kinetic analysis of non-isothermal data. **Thermochimica Acta**, v. 147, n. 2, p. 377–385, 1989.

CRIADO, J. M.; MORALES, J. Thermal decomposition reactions of solids controlled by diffusion and phase-boundary processes: possible misinterpretation of the mechanism from thermogravimetric data. **Thermochimica Acta**, v. 19, n. 3, p. 305–317, 1977.

DAVACHI, S. M. et al. Investigating thermal, mechanical and rheological properties of novel antibacterial hybrid nanocomposites based on PLLA/triclosan/nano-hydroxyapatite. **Polymer**, v. 90, p. 232–241, 2016.

DE MELO, C. M. et al. A compatibility study of the prototype epiisopiloturine and pharmaceutical excipients aiming at the attainment of solid pharmaceutical forms. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 120, p. 689–697, 2014.

DE OLIVEIRA, G. G. G. et al. Analysis of phase transition and dehydration processes of nevirapine. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 108, n. 1, p. 53–57, 2012.

DE OLIVEIRA, G. G. G. et al. Compatibility studies of nevirapine in physical mixtures with excipients for oral HAART. **Materials Science and Engineering C**, v. 33, n. 2, p. 596–602, 2013.

DESAI, D. et al. Formulation design, challenges, and development considerations for fixed dose combination (FDC) of oral solid dosage forms. **Pharmaceutical Development and Technology**, v. 7450, n. January, p. 1–12, 2012.

DOYLE, C. D. Series Approximations to the equation of thermogravimetric data. **Nature**, v. 207, p. 290–291, 1965.

DU, Y. et al. Vibrational spectroscopic study of polymorphism and polymorphic transformation of the anti-viral drug lamivudine. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 137, p. 1158–1163, 2015.

ELDER, D. P.; KUENTZ, M.; HOLM, R. Pharmaceutical excipients - quality, regulatory and biopharmaceutical considerations. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 87, p. 88–99, 2015.

EMEA. **Guideline on clinical development of fixed combination medicinal products**, 2015.

FDA. Guidance for Industry- Fixed Dose Combinations , Antiretrovirals for the Treatment of HIV Guidance for Industry Fixed Dose Combinations , Previously Approved Antiretrovirals for the Treatment of HIV. **Food and Drug Administration, Rockville, MD**, n. October, p. 1–36, 2006.

FELIX, F. S. et al. Thermal behavior study and decomposition kinetics of salbutamol under isothermal and non-isothermal conditions. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 95, n. 3, p. 877–880, 2008.

FERDOSIAN, F. et al. Thermal performance and thermal decomposition kinetics of lignin-based epoxy resins. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, v. 119, p. 124–132, 2016.

FLYNN, J. H.; WALL, L. A. General treatment of the thermogravimetry of Polymers. **Journal of Research of the national Bureau of standards**, v. 70A, n. 6, p. 487–523, 1966.

FULIAS, A. et al. Thermoanalytical Study of Cefadroxil and its Mixtures with Different Excipients. v. 1, n. 12, p. 3–7, 2010.

GALA, U. et al. Characterization and Comparison of Lidocaine-Tetracaine and Lidocaine-Camphor Eutectic Mixtures Based on Their Crystallization and Hydrogen-Bonding Abilities. **AAPS PharmSciTech**, v. 16, p. 528–536, 2015.

GHADERI, F. et al. Physicochemical evaluation and non-isothermal kinetic study of the drug-excipient interaction between doxepin and lactose. **Powder Technology**, v. 286, p. 845–855,

2015.

GHADERI, F. et al. DSC kinetic study of the incompatibility of doxepin with dextrose: Application to pharmaceutical preformulation studies. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 123, n. 3, p. 2081–2090, 2016.

GHADERI, F.; NEMATI, M.; SIAHI-SHADBAD, M. R. Physicochemical evaluation and non-isothermal kinetic study of the drug – excipient interaction between doxepin and lactose. **Powder Technology**, v. 286, p. 845–855, 2015.

GOMES, E. C. L. et al. Chemical interactions study of antiretroviral drugs efavirenz and lamivudine concerning the development of stable fixed-dose combination formulations for AIDS treatment. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 24, n. 4, p. 573–579, 2013.

GORNIK, A. et al. Phase diagram and dissolution studies of the fenofibrate – acetylsalicylic acid system. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 104, p. 1195–1200, 2011.

GUPTA, S.; CHADHA, R. Evaluation of compatibility among artemether, pyrimethamine and sulphadoxine using analytical and isothermal calorimetry techniques. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 120, p. 759–769, 2015.

HANDA, T.; SINGH, S.; SINGH, I. P. Characterization of a new degradation product of nifedipine formed on catalysis by atenolol: A typical case of alteration of degradation pathway of one drug by another. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 89, p. 6–17, 2014.

HENRIQUE, M. A. et al. Kinetic study of the thermal decomposition of cellulose nanocrystals with different polymorphs, cellulose I and II, extracted from different sources and using different types of acids. **Industrial Crops & Products**, v. 76, p. 128–140, 2015.

ISLAM, M. A. et al. A thermogravimetric analysis of the combustion kinetics of karanja (*Pongamia pinnata*) fruit hulls char. **Bioresource Technology**, v. 200, p. 335–341, 2016.

JACOBS, A. L. et al. Formation of Acetylcodeine from Aspirin and Codeine. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 55, p. 893–895, 1966.

JAIN, A. A.; MEHRA, A.; RANADE, V. V. Processing of TGA data: Analysis of isoconversional and model fitting methods. **Fuel**, v. 165, p. 490–498, 2016.

JAIN, D.; BASNIWAL, P. K. Forced degradation and impurity profiling: Recent trends in analytical perspectives. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 86, p. 11–35, 2013.

JINDAL, N.; MEHTA, S. K. Nevirapine loaded Poloxamer 407/Pluronic P123 mixed micelles: Optimization of formulation and in vitro evaluation. **Colloids and surfaces. B: Biointerfaces**, v. 129, p. 100–106, 2015.

JORAID, A. A. Estimating the activation energy for the non-isothermal crystallization of an amorphous Sb_{9.1}Te_{20.1}Se_{70.8} alloy. **Thermochimica Acta**, v. 456, n. 1, p. 1–6, 2007.

KHAWAM, A.; FLANAGAN, D. R. Role of isoconversional methods in varying activation energies of solid-state kinetics: II. Nonisothermal kinetic studies. **Thermochimica Acta**, v.

436, n. 1–2, p. 101–112, 2005.

KHAWAM, A.; FLANAGAN, D. R. Basics and applications of solid-state kinetics: a pharmaceutical perspective. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 95, p. 472–498, 2006a.

KHAWAM, A.; FLANAGAN, D. R. Solid-State Kinetic Models : Basics and Mathematical Fundamentals. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 110, p. 17315–17328, 2006b.

KIM, J.-Y. et al. Influence of pharmaceutical excipients on stability of pramipexole dihydrochloride monohydrate in tablets. **Journal of Pharmaceutical Investigation**, v. 44, n. 3, p. 177–185, 2014.

KISSINGER, H. E. Variation of peak temperature with heating rate in differential thermal analysis. **Journal of Research of the National Bureau of Standards**, v. 57, p. 217, 1956.

KISSINGER, H. E. Reaction Kinetics †. **Analytical Chemistry**, v. 29, p. 1702–1706, 1957.

KNOPP, M. M. et al. Recent advances and potential applications of modulated differential scanning calorimetry (mDSC) in drug development. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 87, p. 164–173, 2016.

KUENTZ, M.; HOLM, R.; ELDER, D. P. Methodology of oral formulation selection in the pharmaceutical industry. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 87, p. 136–163, 2015.

LAU, E. **Handbook of Modern Pharmaceutical Analysis: Preformulation studies**. [s.l.: s.n.]. v. 3

LAVOR, E. P. et al. Application of thermal analysis to the study of anti-tuberculosis drug compatibility. Part 1. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 108, n. 1, p. 207–212, 2012.

LI, X. et al. Thermal decomposition kinetics of nickel(II) and cobalt(II) azo barbituric acid complexes. **Thermochimica Acta**, v. 493, p. 85–89, 2009.

LIEBERMAN, H. A.; LACHMAN, L.; SCHWARTZ, J. B. **Pharmaceutical dosage forms: Tablets**. 2. ed. New York: Marcel Dekker, 1989.

MASWADEH, H. M. Incompatibility study of ibuprofen in ternary interactive mixture by using differential scanning calorimetry. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 123, p. 1963–1971, 2016.

MATOS, J. DO R.; MERCURI, L. P.; BARROS, G. Análise térmica aplicada a fármacos e medicamentos. In: STORPIRTIS, S. et al. (Eds.). . **Biofarmacotécnica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2009.

MONTHE, CHEILA GOLCALVES; AZEVEDO, ALINE DAMICO. **Análise térmica de materiais**. Artliber E ed. São Paulo: [s.n.].

MURA, P.; GRATTERI, P.; FAUCCI, M. T. Compatibility studies of multicomponent tablet formulations: DSC and experimental mixture design. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 68, n. 2, p. 541–551, 2002.

NEDEL'KO, V. V et al. Thermal Decomposition of 3'-Azidothymidine. **Russian Journal of Organic Chemistry**, v. 39, p. 727–730, 2003.

OTHMAN, M. B. H. et al. Kinetic investigation and lifetime prediction of Cs–NIPAM–MBA-based thermo-responsive hydrogels. **Carbohydrate Polymers**, v. 136, p. 1182–1193, 2016.

OU, C. Y. et al. Thermal degradation kinetics of chitosan-cobalt complex as studied by thermogravimetric analysis. **Carbohydrate Polymers**, v. 82, p. 1284–1289, 2010.

OZAWA, T. A New Method of Analyzing Thermogravimetric Data. **Bulletin of the Chemical Society of Japan**, v. 38, n. 11, p. 1881–1886, 1965.

OZAWA, T. Estimation of activation energy by isoconversion methods. **Thermochimica Acta**, v. 203, n. C, p. 159–165, 1992.

PEREIRA, B. G. et al. Pseudopolymorphs and intrinsic dissolution of nevirapine. **Crystal Growth and Design**, v. 7, n. 10, p. 2016–2023, 2007.

PORFÍRIO, L. O. et al. Compatibility study of hydroxypropylmethylcellulose films containing zidovudine and lamivudine using thermal analysis and infrared spectroscopy. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 120, p. 817–828, 2015.

RAMKUMAAR, G. R. et al. Molecular geometry, vibrational spectra, atomic charges, frontier molecular orbital and Fukui function analysis of antiviral drug zidovudine. **Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 99, p. 189–195, 2012.

RAVI, P.; VARGESE, A. A.; TEWARI, S. P. Isoconversional kinetic analysis of decomposition of nitropyrazoles. **Thermochimica Acta**, v. 550, p. 83–89, 2012.

RIVAS, L.; SANCHEZ-CORTES, S.; GARCÍA-RAMOS, J. V. Conformational study of AZT in aqueous solution and adsorbed on a silver surface by means of Raman spectroscopy. **Journal of Raman Spectroscopy**, v. 33, p. 6–9, 2002.

ROJEK, B.; WESOLOWSKI, M.; SUCHACZ, B. Detection of compatibility between baclofen and excipients with aid of infrared spectroscopy and chemometry. **Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 116, p. 532–538, 2013.

SANTOS, F. L. A et al. A study of photostability and compatibility of the anti-chagas drug Benznidazole with pharmaceuticals excipients. **Drug development and industrial pharmacy**, v. 41, n. 1, p. 63–69, 2015.

SILVA, K. E. R. et al. Modelos de avaliação da estabilidade de fármacos e medicamentos para a indústria farmacêutica. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 30, n. 2, p. 129–135, 2009.

SILVA, L. A. D. et al. Evaluation of carvedilol compatibility with lipid excipients for the development of lipid-based drug delivery systems. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 1, p. 2337–2344, 2015.

SINGH, A. V.; NATH, L. K. Evaluation of compatibility of lamivudine with tablet excipients and a novel synthesized polymer. **Journal of Materials and Environmental Science**, v. 2, n. 3, p. 243–250, 2011.

SINGH, S. et al. The reason for an increase in decomposition of rifampicin in the presence of isoniazid under acid conditions. **Pharmacy and Pharmacology Communications**, v. 6, n. 9, p. 405–410, 2000.

SKOTNICKI, M. et al. Bisoprolol and Bisoprolol-Valsartan Compatibility Studied by Differential Scanning Calorimetry, Nuclear Magnetic Resonance and X-Ray Powder Diffractometry. **Pharmaceutical Research**, v. 32, n. 2, p. 414–429, 2014.

SOARES-SOBRINHO, J. L. et al. Delineamento de alternativas terapêuticas para o tratamento da doença de chagas. **Revista de Patologia Tropical**, v. 36, p. 103–118, 2007.

SOARES-SOBRINHO, J. L. et al. A preformulation study of a new medicine for Chagas disease treatment: physicochemical characterization, thermal stability, and compatibility of benznidazole. **AAPS PharmSciTech**, v. 11, n. 3, p. 1391–1396, 2010.

SOARES, M. F. D. L. R. et al. Thermal characterization of antimicrobial drug ornidazole and its compatibility in a solid pharmaceutical product. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 104, n. 1, p. 307–313, 2011.

SOARES, M. F. R. et al. Theoretical and experimental studies of the stability of drug-drug interact. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 168, p. 45–51, 2016.

SOUZA, J. DE; STORPIRTIS, S. Atividade anti-retroviral e propriedades farmacocinéticas da associação entre lamivudina e zidovudina. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 40, n. 1, p. 9–19, 2004.

TITA, B. et al. Compatibility study between indomethacin and excipients in their physical mixtures. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 118, n. 2, p. 1293–1304, 2014.

TIȚA, B. et al. Thermal stability of piroxicam: Part 2. Kinetic study of the active substance under isothermal conditions. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 112, n. 1, p. 367–374, 2013.

ULLAH, A. et al. Kinetic analysis on the synthesis of Mg_{0.95}Zn_{0.05}TiO₃ microwave dielectric ceramic by polymeric precursor method. **Ceramics International**, v. 41, n. 10, p. 15089–15096, 2015.

VYAZOVKIN, S. et al. ICTAC Kinetics Committee recommendations for performing kinetic computations on thermal analysis data. **Thermochimica Acta**, v. 520, n. 1–2, p. 1–19, 2011.

VYAZOVKIN, S.; WIGHT, C. A. Kinetics in solids. **Annual review of physical chemistry**, v. 48, p. 125–149, 1997.

WANG, X.-J.; YOU, J.-Z. Study on the molecular structure and thermal stability of purine nucleoside analogs. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, v. 111, p. 1–14, 2015.

WANG, X.-J.; YOU, J.; YU, F. Study on the thermal decomposition of emtricitabine. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 115, p. 344–352, 2015.

WANG, X.; YOU, J. The mechanism and kinetics of the thermal decomposition of telbivudine. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, v. 108, p. 228–233, 2014.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Guidelines for registration of fixed-dose combination medicinal products. **WHO Technical Report Series**, n. 929, p. No. 929, 2005.

WU, Y. et al. Reactive impurities in excipients: profiling, identification and mitigation of drug-excipient incompatibility. **AAPS PharmSciTech**, v. 12, n. 4, p. 1248–63, 2011.