

UNIVERSIDADE FEDERAL FLUMINENSE
CENTRO DE ESTUDOS GERAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

KELLEN CHRISTINA DUTRA DE SOUZA

**PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE ESTRUTURAS
POLIMÓRFICAS DA TOLBUTAMIDA E NIFEDIPINA**

NITERÓI
2005

KELLEN CHRISTINA DUTRA DE SOUZA

**PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE ESTRUTURAS
POLIMÓRFICAS DA TOLBUTAMIDA E NIFEDIPINA**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação
em Química da Universidade Federal Fluminense,
como requisito parcial para obtenção do **Grau de
Mestre**. Área de Concentração: Química Analítica

Orientador: Prof^ª. Dr^ª. ANA MARIA TEIXEIRA

Co-orientador: Dr^ª MARIA LUISA ALEIXO GONÇALVES

NITERÓI

2005

A Deus, por ter me dado mais esta oportunidade.

Aos meus pais e irmãos, sempre presente nos meus pensamentos e na minha vida. Amo eles!!!

Aos meus avós e tios(as) e primos(as), por torcerem por mim.

A prof^a. Dr^a. Ana Maria e Dr^a. Maria Luisa por acreditarem em mim e ajudar a tornar realidade mais este sonho.

AGRADECIMENTOS

As minhas Orientadoras Prof.^a Dr.^a Ana Maria Teixeira e Dr.^a Maria Luisa Aleixo, por acreditar na minha capacidade e em meu trabalho, pela orientação, incentivo, apoio oferecido e pela oportunidade de realizar este projeto. Serviram como motivação para que eu realizasse mais este sonho.

Aos Professores Dr. Alan Riga (Cleveland State University) e Dr. Kennedy Alexander (University of Toledo) pelo apoio e motivação sempre oferecido desde quando comecei a estudar sobre polimorfismo, e que muito contribuíram para a minha formação profissional.

Aos amigos da Universidade de Toledo; Amanda, Márcia, Pinaki, Paroma, Indranil, Jayeeta, Jinal e Lalit, pelo apoio e carinho que me ajudou a superar todos os obstáculos de estar num país diferente.

À Judy Riga e família, por terem me recebido tão bem em Cleveland, acreditando em mim, dando-me incentivo e muito carinho e tornando-se minha segunda família.

As minhas amigas, Verônica Salim, Ana Luisa e Natália, pelas tardes inteiras de muito estudo e pela sua preocupação e incentivo.

Aos amigos do Laboratório da UFF, Deusa Angélica, Damiana e Frederico pela ajuda sempre a tempo.

À Professora Silvia (UFF) pelas palavras de incentivo e pela confiança de poder usufruir de seu laboratório.

Às minhas amigas July e Isabela pelo companheirismo e incentivo.

A todos os amigos, que torceram por mim, dando incentivo e carinho quando eu mais precisei.

A FAPERJ, pela concessão de bolsa de estudo que muito me ajudou durante a realização deste trabalho.

KELLEN CHRISTINA DUTRA DE SOUZA

PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE ESTRUTURAS POLIMÓRFICAS DA
TOLBUTAMIDA E NIFEDIPINA

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação
em Química da Universidade Federal Fluminense,
como requisito parcial para obtenção do **Grau de
Mestre**. Área de Concentração: Química Analítica

Aprovada em julho de 2005.

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Ana Maria Teixeira - Orientadora
Universidade Federal Fluminense

Dr^a. Maria Luisa Aleixo Gonçalves – Co-orientadora
UFF/CNPq

Prof. Dr. Robson Roney
Universidade Estácio de Sá - Faculdade de Farmácia

Prof^a. Dr^a. Luciana de Paula Barros Gonçalves
Fundação Oswaldo Cruz – Farmanguinhos

Dr. Carlos Eduardo Martins Carvalho
Universidade Federal Fluminense

NITERÓI

2005

SUMÁRIO

DEDICATÓRIA

AGRADECIMENTOS

FOLHA DE APROVAÇÃO

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE TABELAS

RESUMO

ABSTRACT

1 INTRODUÇÃO	15
1.1 SUBSTÂNCIAS POLIMÓRFICAS.....	15
1.2 PSEUDOPOLIMORFISMO.....	17
1.3 ESTRUTURAS CRISTALINAS DE UM SÓLIDO.....	17
1.4 FÁRMACOS POLIMORFOS E SUA BIODISPONIBILIDADE.....	19
1.5 ESTRUTURA AMORFA DE UM FÁRMACO.....	21
1.6 POLIMORFISMO NA INDÚSTRIA FARMACÊUTICA.....	22
1.7 PREPARAÇÃO DE SUBSTÂNCIAS POLIMÓRFICAS.....	25
1.7.1 Métodos de cristalização	25
1.7.2 Cristalização mediada por solventes	26
1.8 MÉTODOS DE CARACTERIZAÇÃO E DETECÇÃO DE POLIMORFOS.....	28
1.8.1 Cristalografia: Difração de raios-x	28
1.8.2. Análise Térmica	29
1.8.3. Espectrofotometria de Infravermelho	31
1.8.4. Microscopia óptica e eletrônica	32

1.8.5. Espectroscopia vibracional: Espectroscopia Raman	33
2 JUSTIFICATIVA E OBJETIVO DESTE TRABALHO	34
2.1 OBJETIVO GERAL.....	34
2.2 OBJETIVO ESPECÍFICO.....	34
3 METODOLOGIA	35
3.1 DESCRIÇÃO E JUSTIFICATIVA DA METODOLOGIA.....	35
3.2 MATERIAL.....	36
3.3 MÉTODOS.....	36
3.3.1 Avaliação da solubilidade dos fármacos tolbutamida e nifedipina	36
3.3.2 Obtenção das formas cristalinas dos fármacos tolbutamida e nifedipina	37
3.3.3 Obtenção da nifedipina no estado amorfo	38
3.4 CARACTERIZAÇÃO DAS ESTRUTURAS POLIMÓRFICAS DA NIFEDIPINA E TOLBUTAMIDA.....	39
3.4.1 Calorimetria diferencial de varredura (DSC)	39
3.4.2 Difractometria de Raios-X	40
3.4.3 Espectrofotometria de Infravermelho	40
3.4.4 Espectroscopia Raman	41
3.4.5 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	41
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	42
4.1 AVALIAÇÃO DAS SOLUBILIDADES DOS FÁRMACOS NIFEDIPINA E TOLBUTAMIDA EM VÁRIOS SOLVENTES.....	42
4.1.1 Nifedipina	42
4.1.2 Tolbutamida	43
4.2 CRISTALIZAÇÃO E TEMPO DE APARECIMENTO DOS PRIMEIROS CRISTAIS DA NIFEDIPINA E TOLBUTAMIDA.....	44
4.3 CARACTERIZAÇÃO DAS FORMAS CRISTALINAS OBTIDAS A PARTIR DA TOLBUTAMIDA MP E NIFEDIPINA MP.....	45
4.3.1 Calorimetria diferencial de varredura	45
4.3.1.1 Tolbutamida.....	45
4.3.1.2 Nifedipina.....	51
4.3.2 Estudo da estabilidade da Nifedipina amorfa (Nifedipina A2) por DSC	56
4.3.3 Caracterização por difratometria de raios-x	59

4.3.3.1 Tolbutamida.....	59
4.3.3.2 Nifedipina.....	62
4.3.4 Caracterização por espectrofotometria de infravermelho.....	65
4.3.4.1 Tolbutamida.....	65
4.3.4.2 Nifedipina.....	68
4.3.5 Espectroscopia RAMAN.....	71
4.3.5.1 Tolbutamida.....	71
4.3.5.2 Nifedipina.....	72
4.3.6 Microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	73
4.3.6.1 Tolbutamida.....	73
4.3.6.2 Nifedipina	75
4.4 PROPOSTA DE UM PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO PARA A PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE SUBSTÂNCIAS POLIMÓRFICAS.....	77
5 CONCLUSÃO.....	81
6 REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA.....	82
7 ANEXO.....	86

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Sistemas cristalinos fundamentais.....	18
Figura 2- Curva de DSC de um material polimérico usando as convenções de picos endotérmicos e exotérmicos.....	30
Figura 3- Curva de TG da decomposição térmica do carbonato de cálcio obtida a $10^{\circ}\text{Cmin}^{-1}$ em N_2 na vazão de 50mLmin^{-1}	31
Figura 4- Micrografia de três polimorfos da Sulfamerazina.....	33
Figura 5- Curva de DSC da Tolbutamida MP: 5.0 mg, vazão de nitrogênio de $50\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, taxa de aquecimento de $10^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$	45
Figura 6- Curva de DSC da estrutura polimórfica da Tolbutamida A2: 5.0 mg, vazão de nitrogênio de $50\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, taxa de aquecimento de $10^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$	47
Figura 7- Curva de DSC da estrutura polimórfica da Tolbutamida B2: 5.0 mg, vazão de nitrogênio de $50\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, taxa de aquecimento de $10^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$	48
Figura 8- Curva de DSC da estrutura polimórfica da Tolbutamida A1 e Tolbutamida B1. Massa de amostra: 5.0 mg, vazão de nitrogênio de $50\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, taxa de aquecimento de $10^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$, numa escala de 25°C a 160°C	48
Figura 9- Curva de DSC da estrutura polimórfica da Tolbutamida C: 5.0 mg, vazão de nitrogênio de $50\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, taxa de aquecimento de $10^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$	49
Figura 10- Curva de DSC da estrutura polimórfica da Tolbutamida D: 5.0 mg, vazão de nitrogênio de $50\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, taxa de aquecimento de $10^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$, numa escala de 25°C a 160°C	49
Figura 11- Curva de DSC da forma cristalina da Nifedipina MP: 5.0 mg, vazão de nitrogênio de $50\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, taxa de aquecimento de $20^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$	51
Figura 12- Curva de DSC da estrutura amorfa da nifedipina (Nifedipina A2): 5.0 mg, vazão de nitrogênio de $50\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, taxa de aquecimento de $20^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$, numa escala de 25°C a 210°C	52

Figura 13- Curva de DSC da Nifedipina MP e da Nifedipina A1, analisadas no Laboratório de Química da Universidade de Toledo, EUA: 5.0 mg, vazão de nitrogênio de 50 mL.min ⁻¹ , taxa de aquecimento de 20°C. min ⁻¹ , numa escala de 25°C a 200°C.....	53
Figura 14- Curva de DSC e TG da Nifedipina B2: 5.0 mg, vazão de nitrogênio de 50 mL.min ⁻¹ , taxa de aquecimento de 20°C. min ⁻¹ , numa escala de 25°C a 210°C.....	54
Figura 15- Curva de DSC da Nifedipina C: 5.0 mg, vazão de nitrogênio de 50 mL.min ⁻¹ , taxa de aquecimento de 20°C. min ⁻¹ , numa escala de 25°C a 210°C.....	54
Figura 16- Curva de DSC da Nifedipina D: 5.0 mg, vazão de nitrogênio de 50 mL.min ⁻¹ , taxa de aquecimento de 20°C. min ⁻¹ de 25°C a 210°C.....	55
Figura 17- Curva de DSC da Nifedipina A2 realizada logo após o preparo da amostra no estado amorfo.....	57
Figura 18- Sobreposição das curvas de DSC do estado amorfo da Nifedipina A2 em dias subseqüentes a seu preparo: [1] amostra recém preparada, [2] após três dias, [3] após 7 dias, [4] após 10 dias, [5] após 14 dias, [6] após 21 dias e [7] após 30 dias: 5.0 mg, vazão de nitrogênio de 50 mL.min ⁻¹ , taxa de aquecimento de 20°C. min ⁻¹ de 25°C a 230°C.....	58
Figura 19- Difratoogramas da Tolbutamida A1 e da Tolbutamida B1.....	59
Figura 20- Difratoogramas de raio-X da Tolbutamida MP, Tolbutamida C e Tolbutamida D.....	61
Figura 21- Difratoogramas de raio-x da Nifedipina MP (a), Nifedipina A2 (b), Nifedipina B2 (c), Nifedipina C (d), Nifedipina D (e).....	64
Figura 22- Espectro de absorção na região do infravermelho da Tolbutamida MP.....	66
Figura 23- Espectro de absorção na região do infravermelho da Tolbutamida A2	66
Figura 24- Espectro de absorção na região do infravermelho da Tolbutamida B2.....	67
Figura 25- Espectro de absorção na região do infravermelho da Tolbutamida C.....	67
Figura 26- Espectro de absorção na região do infravermelho da Tolbutamida D.....	67
Figura 27- Espectro de absorção na região do infravermelho da Nifedipina MP.....	68
Figura 28- Espectro de absorção na região do infravermelho da Nifedipina A2 (amorfa).....	69
Figura 29- Espectro de absorção na região do infravermelho da Nifedipina B2	69
Figura 30- Espectro de absorção na região do infravermelho da Nifedipina C.....	70
Figura 31- Espectro de absorção na região do infravermelho da Nifedipina D.....	70

Figura 32- Espectro Raman (1) Tolbutamida MP; (2) Tolbutamida A1; (3) Tolbutamida B1.....	72
Figura 33- Espectro Raman da (1) Nifedipina MP, (2) Nifedipina A1; (3) Nifedipina A1 pulverizada; (4) Nifedipina A1-N; (5) nifedipina A1-N pulverizada; (6) Nifedipina B1; (7) Nifedipina B1 pulverizada	73
Figura 34- Fotomicrografias da Tolbutamida MP, Tolbutamida A1, Tolbutamida B1, Tolbutamida C e Tolbutamida D.....	74
Figura 35- Fotomicrografias da Nifedipina MP, Nifedipina B2, Nifedipina A1 e Nifedipina C e D.....	76
Figura 36- Estrutura química da Tolbutamida.....	86
Figura 37- Estrutura química da Nifedipina.....	87

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Geometria dos sistemas cristalinos.....	19
Tabela 2- Determinação da solubilidade da Nifedipina MP (p.f. 172-174°C) nos solventes: água, 1,4-dioxano, acetona e clorofórmio.....	42
Tabela 3- Determinação da solubilidade da Tolbutamida MP (125-130°C) em acetonitrila, 1-octanol, hexano, diclorometano, clorofórmio, etanol e água.....	43
Tabela 4- Tempo de aparecimento dos primeiros cristais observado visualmente.....	44
Tabela 5- Repetibilidade da tolbutamida MP, através da curva de DSC.....	46
Tabela 6- Valores de temperaturas de transição observadas nas curvas de DSC para a tolbutamida.....	50
Tabela 7- Repetibilidade da nifedipina MP, através da curva de DSC.....	51
Tabela 8- Valores de temperaturas de transição observadas nas curvas de DSC para a nifedipina.....	55
Tabela 9- Resultados obtidos nas curvas de DSC para acompanhamento da estabilidade da Nifedipina amorfa.....	58

RESUMO

Neste estudo foram preparados polimorfos do fármaco tolbutamida, um hipoglicemiante oral usado no tratamento dos *Diabetes Mellitus* tipo II. Foram também preparados polimorfos da nifedipina, fármaco usado no tratamento das desordens cardiovasculares, como angina pectoris e hipertensão. A preparação dos polimorfos foi mediada por solvente, ou seja, foi em função do solvente usado nas etapas de cristalização e de precipitação das espécies. Um método de resfriamento rápido por nitrogênio líquido também foi utilizado. Técnicas analíticas como a espectrofotometria de infravermelho, a calorimetria diferencial de varredura, a difratometria de raio-X e a microscopia eletrônica de varredura foram úteis para a caracterização dos produtos obtidos experimentalmente. Os resultados comprovaram que dois polimorfos da tolbutamida foram preparados, ambos com estrutura cristalina. No caso da nifedipina, dois polimorfos foram preparados e a caracterização mostrou que um destes foi obtido num estado amorfo enquanto o outro estava sob forma cristalina. A instabilidade da nifedipina no estado amorfo foi monitorada pela técnica de calorimetria diferencial de varredura que, através de diferentes curvas, mostrou uma transformação rápida para uma estrutura cristalina. Esta mesma técnica aliada à termogravimetria confirmou a obtenção de um terceiro produto da nifedipina, de estrutura cristalina, que foi considerado um pseudopolimorfo por ser uma espécie solvatada. Ao final do procedimento experimental e da avaliação dos resultados foi sugerido um esquema, passo a passo, para obtenção e caracterização de polimorfos de uma substância.

Palavras-chave: polimorfismo, fármacos, cristalização, transformação polimórfica, cristais, nifedipina, tolbutamida.

ABSTRACT

In this study the polymorphs of tolbutamide, an oral hypoglycemic used on *Diabetes Mellitus* type II treatment, and of nifedipine, a drug used in the cardiovascular disorders treatment, were prepared. All crystalline forms were obtained by crystallization from different solvents. Tolbutamide was isolated only in crystalline forms and nifedipine in two crystalline forms and in the amorphous form prepared by melting and subsequent cooling. The polymorphs from each drug were characterized by powder x-ray diffraction (PDRX), infrared spectroscopy (IR), Raman spectroscopy (FT-RAMAN), scanning electron microscopy (SEM) and differential scanning calorimetry (DSC). The results proved that two different crystalline forms of tolbutamide were obtained and two crystalline form to nifedipine, one of them as a pseudo-polymorph. The characterization confirmed that melting and quickly cooling procedure prepared amorphous nifedipine. Differential scanning calorimetry technique generated curves whose data proved that the amorphous nifedipine is a very unstable form. Thermogravimetry confirmed a pseudo-polymorphs preparation of nifedipine. In spite of the modification observed on the profile of X-ray diffraction, because of the solvent present, was possible to prove that this solvated form have an crystalline structure. A methodology was proposed step by step to prepare and characterize polymorphs of a substance.

Keywords: polymorph, drug, crystallization, polymorphic transformation, crystal, nifedipine, tolbutamide.

1 INTRODUÇÃO

1.1 SUBSTÂNCIAS POLIMÓRFICAS

Muitas substâncias podem existir sob diferentes formas cristalinas e também podem se apresentar no estado amorfo, não possuindo forma definida, sendo por conseguinte irregular em suas três dimensões ¹.

A capacidade de uma molécula em se cristalizar sob duas ou mais formas é definida como polimorfismo. As diferentes formas, apesar de apresentarem a mesma composição química, possuem estruturas cristalinas diferentes. Quando moléculas de solvente estão presentes na estrutura cristalina, o fenômeno é denominado pseudopolimorfismo ¹.

Embora uma substância ativa exista sob duas ou mais formas cristalinas, apenas uma destas formas é termodinamicamente estável, a uma determinada temperatura e pressão. As outras formas se converteriam à forma estável com o passar do tempo. Todas as outras estruturas polimórficas são consideradas metaestáveis, ou seja, são fases que não se transformam na fase de equilíbrio, embora tenham mais energia que esta. Como exemplo, podemos citar o vidro, que não se cristaliza em virtude da energia necessária para iniciar esta transformação. A energia adicional ou de ativação, que deve ser fornecida para cristalizar o vidro, é usada para romper as ligações antes dos átomos poderem se rearranjar. Embora, em virtude da formação das novas ligações, seja desenvolvida uma energia maior que a de ativação, esta última não está disponível no início da reação. Logo, o vidro permanece amorfo até que alguma fonte externa, calor ou radiações de alta intensidade, forneça esta energia ².

Em geral, a forma estável de uma substância polimórfica exibe um ponto de fusão mais alto, menor solubilidade com o máximo de estabilidade química, ou seja, ela mantém sua integridade química dentro de limites especificados e mantém as mesmas propriedades e características durante o período de armazenamento e uso.

Considerando que estruturas polimórficas envolvem substâncias com a mesma estrutura química, transformações de uma forma em outra não envolvem uma mudança na estrutura molecular do fármaco. As estruturas polimórficas podem ser interconvertidas por transformações de fase, que são induzidas através de calor ou processos mediados por solventes. Como, em geral, as diferentes formas cristalinas não possuem o mesmo fator de empacotamento atômico, essas transformações de fase são acompanhadas por variações de volume e densidade. As transformações de uma estrutura em outra envolvem apenas pequenos movimentos atômicos, pois as combinações do reagente e do produto coincidem, mas mesmo assim, é necessário romper as ligações existentes e rearranjar os átomos segundo uma nova estrutura cristalina².

Devido a sua diferença de empacotamento molecular, formas cristalinas de um material polimorfo possuem diferentes propriedades físicas que diferenciam uma forma cristalina de outra. Abaixo serão relatadas as propriedades físicas que mostram as diferenças entre várias estruturas polimórficas:¹

1- Propriedades de empacotamento: volume de densidade molar; índice de refração; condutividade elétrica, térmica e higroscopicidade.

2- Propriedades termodinâmicas: temperatura de fusão e sublimação; energia interna (energia estrutural); entalpia; entropia; energia livre; solubilidade e capacidade calorífica.

3- Propriedades espectroscópicas: transições eletrônicas, vibracionais (Raman), rotacionais e transição de spin nuclear.

4- Propriedades cinéticas: taxa de dissolução; taxas de reações no estado sólido e estabilidade oxidativa.

5- Propriedades de superfícies: energia livre de superfície; tensão interfacial e morfologia cristalina.

6- Propriedades mecânicas: endurecimento; força de tensão; compatibilidade; manuseio; fluxo; manipulação e mistura.

1.2 PSEUDOPOLIMORFISMO

A expressão pseudopolimorfismo se aplica a hidratos e solvatos obtidos numa cristalização. As implicações do pseudopolimorfismo se referem ao fato de que algumas moléculas de solvente podem estar presentes na estrutura cristalina de uma substância, interferindo na sua cristalização^{3,4}.

Se a água for a molécula solvatante, isto é, se um hidrato for formado, a interação entre a substância e a água, que ocorre na fase cristalina, reduz a quantidade de energia liberada quando o hidrato sólido dissolve-se em água. Conseqüentemente, cristais hidratados tendem a exibir uma solubilidade aquosa inferior à de suas formas não hidratadas. Esse decréscimo em solubilidade pode levar à precipitação de fármacos de soluções⁵.

Quando outros solventes, que não a água, estão presentes no retículo cristalino, a substância é denominada solvato. De modo geral, é indesejável utilizar solvatos para fins farmacêuticos, dado que a presença de vapores orgânicos pode ser vista como impureza desnecessária no produto. No caso de vapores orgânicos serem tóxicos, obviamente, sob nenhuma circunstância a substância será apropriada para fins farmacêuticos.

A presença de pseudopolimorfos deve ser identificada, uma vez que a maioria dos polimorfos pode ser obtida mudando-se o solvente de cristalização⁵.

Estudos mostraram⁶ que no caso da ampicilina anidra e da ampicilina tri-hidratada, a 37°C, a solubilidade da forma anidra em água é 25% maior que a da forma tri-hidratada (10 e 8 mg/ml para as formas anidra e tri-hidratada, respectivamente). Estudos in vitro e in vivo, evidenciaram a maior absorção da fase anidra quando comparada com a fase tri-hidratada.

Esses resultados evidenciam a necessidade de se controlar e detectar todas as possíveis formas cristalinas de um fármaco, evitando o aparecimento de diferentes fases cristalinas, de fases amorfas e solvatadas, em função da interação das espécies do soluto com o solvente.

1.3 ESTRUTURAS CRISTALINAS DE UM SÓLIDO

As substâncias no estado sólido podem ser cristalinas ou amorfas ou uma combinação de ambas. As substâncias cristalinas são aquelas nas quais as moléculas estão dispostas

segundo uma ordem definida, que se repete indefinidamente ao longo de toda a partícula. Uma das propriedades características dos cristais é o ponto de fusão, que é definido como a temperatura na qual a rede cristalina é desestruturada, fazendo com que as moléculas ganhem, a partir do aquecimento, energia suficiente para vencer as forças de atração que mantêm o cristal coeso. Conseqüentemente, o cristal, cujas moléculas são mantidas por força fracas, tem pontos de fusão baixos, enquanto cristais com estruturas mantidas por forças de atração mais fortes, como numerosas pontes de hidrogênio, têm elevados pontos de fusão ⁷.

No estado sólido, os átomos de uma molécula podem existir em um dos sete arranjos cristalinos fundamentais: triclínico, monoclínico, ortorrômbico, romboédrico, tetragonal, hexagonal ou cúbico ^{7,8}.

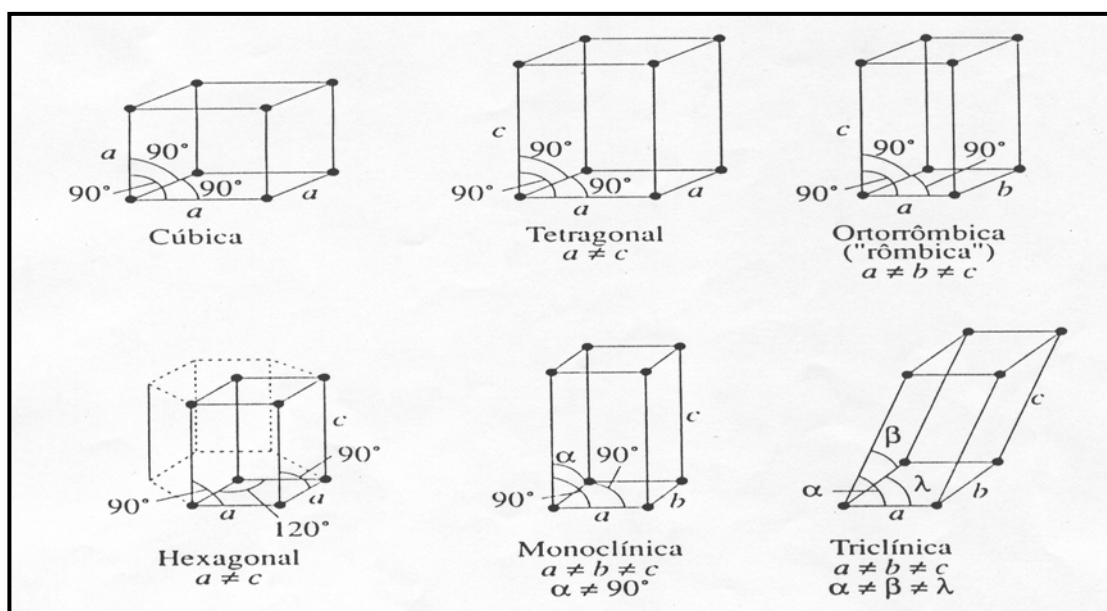


Figura 1- Sistemas cristalinos fundamentais.

Qualquer empacotamento atômico deverá se encaixar em um dos sete principais tipos de cristais. Estes estão intimamente associados com o modo pelo qual o espaço pode ser dividido em volumes iguais, pela interseção de superfícies planas. O mais simples e mais regular deles envolve três conjuntos, mutuamente perpendiculares, de planos paralelos, igualmente espaçados entre si, de forma a dar uma série de cubos. Outros métodos de divisão do espaço incluem as combinações mostradas na tabela 1 ⁷.

Tabela 1- Geometria dos sistemas cristalinos ⁷.

Sistema	Eixos	Ângulos axiais
Cúbico	$a_1 = a_2 = a_3$	Todos os ângulos = 90°
Tetragonal	$a_1 = a_2 \neq c$	Todos os ângulos = 90°
Ortorrômico	$a \neq b \neq c$	Todos os ângulos = 90°
Monoclínico	$a \neq b \neq c$	2 ângulos = 90° ; 1 ângulo $\neq 90^\circ$
Triclínico	$a \neq b \neq c$	Todos os ângulos diferentes; nenhum igual a 90° .
Hexagonal	$a_1 = a_2 = a_3 \neq c$	Ângulo = 90° e 120°
Romboédrico	$a_1 = a_2 = a_3$	Todos ângulos iguais, mas não 90° .

Numa definição simples, cristais são arranjos atômicos ou moleculares cuja estrutura se repete numa forma periódica tridimensional, a qual é devida à coordenação atômica no interior do material. Algumas vezes, esta repetição controla a forma externa do cristal, mas em todos os casos, o arranjo atômico persiste mesmo que as superfícies externas sejam alteradas. Por exemplo, a estrutura interna de um cristal de quartzo não é alterada, quando as suas superfícies são degradadas para formar grãos de areia. Analogamente, há um arranjo hexagonal das moléculas de água, quer nos cubos de gelo, quer nos flocos de neve.

Outro exemplo é apresentado pelo carbono que pode existir como grafite ou como diamante. Diferenças visuais não caracterizam polimorfismo, pois a cristalização de uma substância ocorre em três diferentes direções e um composto pode produzir cristais morfologicamente diferentes porque cresceu preferencialmente numa determinada direção ⁷.

1.4 FÁRMACOS POLIMORFOS E SUA BIODISPONIBILIDADE

Estruturas polimórficas de um fármaco geralmente apresentam diferenças significativas de solubilidade, processabilidade e estabilidade física e química. Estas diferenças físico-químicas irão modificar o comportamento da molécula quando em um meio biológico, inclusive podendo alterar sua biodisponibilidade.

Fármaco é definido como uma substância química que é o princípio ativo de um medicamento, ou seja, é o princípio ativo de um produto farmacêutico, tecnicamente obtido e elaborado, com propriedades profiláticas, curativas, paliativas ou para fins de diagnóstico ⁹.

Quando um fármaco é administrado por via intravenosa, é colocado diretamente no sangue e, por esta razão, poderemos ter certeza de que todo o fármaco alcançou a circulação sistêmica. Em consequência, diz-se que o fármaco foi 100% biodisponível. Contudo quando o fármaco é administrado por outra via de administração, não existe uma garantia de que a totalidade da dose chegou até a circulação sistêmica de forma intacta. A fração de fármaco administrado que chega de forma inalterada à circulação sistêmica é denominada de dose biodisponível. A quantidade relativa da dose administrada de um fármaco em particular, que atinge a circulação sistêmica de forma intacta, e a velocidade com que isso acontece são eventos conhecidos como biodisponibilidade. A biodisponibilidade define, conseqüentemente, a velocidade e a extensão com as quais um fármaco é absorvido. Por isso, a biodisponibilidade apresentada por um fármaco é muito importante no sentido de determinar se o fármaco alcançou o sítio de ação em uma concentração terapeuticamente eficaz ⁵.

Vários fatores podem alterar a biodisponibilidade de um fármaco, entre eles podemos citar ¹⁰:

-Fatores fisiológicos: idade; presença de patologias associadas; trato gastro-intestinal; pH; tempo de esvaziamento gástrico; tipo de dieta; viscosidade do conteúdo do tubo gastro-intestinal; secreções e líquidos co-administrados; presença de sais biliares e permeabilidade do fármaco através da membrana.

-Fatores físico-químicos: natureza química (solubilidade); polimorfismo (metaestáveis); estado físico (estrutura amorfa e estrutura cristalina); solvatos, hidratos e anidros; tamanho da partícula (granulometria) e a quiralidade.

-Fatores relacionados à forma farmacêutica: excipientes; natureza química; capacidade de adsorção; quantidade empregada na formulação; fatores tecnológicos; tipo de processo; tempo e velocidade de agitação; tipo de granulação; temperatura de secagem e força de compressão.

Vários fatores físico-químicos podem realmente comprometer os estágios de desenvolvimento de um fármaco e, por isto, os fabricantes empregam estudos de biodisponibilidade para comparar diferentes formulações, de modo a determinar qual delas apresenta o padrão de absorção mais desejável. Posteriormente, estes estudos podem ser

usados para comparar a biodisponibilidade de um medicamento em diferentes lotes e comparar a biodisponibilidade em formas farmacêuticas diferentes, como, por exemplo, comprimidos, cápsulas, elixir; ou de uma mesma forma farmacêutica produzida por diferentes fabricantes.

Um exemplo típico da influência do polimorfismo na biodisponibilidade de fármacos é dado pelo de palmitato de clorafenicol. Esse fármaco existe em três formas cristalinas designadas como A, B e C. À temperatura e à pressão normal, a forma A é o polimorfo estável, B é um polimorfo metaestável, e C, o polimorfo instável. Este último é muito instável para ser incorporado em uma forma farmacêutica. O polimorfo B, porém é suficientemente estável. Neste sentido foram estudados os perfis plasmáticos de clorafenicol em suspensões administradas por via oral contendo proporções variáveis das estruturas polimórficas A e B. O nível de absorção do clorafenicol aumentou à medida que a proporção do polimorfo B de palmitato de clorafenicol foi aumentada em cada suspensão. O fato foi atribuído à maior velocidade de dissolução *in vivo* da estrutura polimórfica metaestável B. Após ser dissolvido, o palmitato de clorafenicol é hidrolisado, formando-se clorafenicol livre em solução, o qual é absorvido. A estrutura polimórfica A se dissolve de modo tão lento e, conseqüentemente, é hidrolisada a clorafenicol *in vivo* de maneira tão vagarosa, que este polimorfo é quase ineficaz⁸.

1.5 ESTRUTURA AMORFA DE UM FÁRMACO

Sólidos amorfos têm propriedades muito diferentes das observadas nas respectivas formas cristalinas de uma determinada substância. Os cristais, por exemplo, apresentam ponto de fusão, ao passo que a estrutura amorfa não apresenta, uma vez que não existe retículo cristalino^{11,12}.

As substâncias de elevada massa molecular são constituídas de moléculas de tal tamanho e flexibilidade que o alinhamento perfeito, de modo a formar cristais, é impossível. Em substâncias desse tipo é comum existir regiões organizadas circundadas por desordem, o que é conhecido como matérias ou substâncias semicristalina. Para esse tipo de substâncias não é possível produzir um produto totalmente cristalino. Todavia, é possível obter produtos com diferentes graus de cristalinidade, dependendo das condições e do processo de obtenção.

Esse fato pode afetar as propriedades das substâncias e, conseqüentemente o seu funcionamento, quando incorporadas em produtos farmacêuticos. Para substâncias de baixa massa molecular, a estrutura amorfa pode ocorrer quando o processo de solidificação for muito rápido, de tal forma que as moléculas não tiveram oportunidade de alinhar-se de forma correta para formar um cristal ¹².

Estados amorfos podem aparecer em diversos estágios do processo de cristalização ou secagem de uma substância. O aumento da atividade biológica e mudanças na estabilidade de um fármaco são dois fatores importantes que estão relacionados com o seu estado amorfo.

1.6 POLIMORFISMO NA INDÚSTRIA FARMACÊUTICA

Na indústria farmacêutica, o polimorfismo é considerado um parâmetro fundamental na fabricação de um medicamento porque a obtenção de um fármaco sob uma ou outra forma cristalina implica nas propriedades físico-químicas desta substância as quais irão afetar diretamente o processamento do medicamento. A escolha imprópria pode influenciar na biodisponibilidade, na estabilidade química e física do fármaco e ter implicações no desenvolvimento e estabilidade da forma farmacêutica, levando-se em consideração as alterações ocorridas nas características dos cristais ¹.

A indústria farmacêutica se defronta com todas as implicações do polimorfismo e do pseudopolimorfismo, pois como dito anteriormente, estes interferem em várias propriedades que são de grande importância na formulação de uma droga, como por exemplo, a taxa de dissolução de um fármaco que é uma propriedade que qualifica uma forma cristalina e desqualifica a outra, como uma substância ativa adequada ¹³.

Além das sérias implicações que poderá causar na vida de uma sociedade, o polimorfismo têm influência direta no aspecto econômico de uma indústria farmacêutica, pois envolve patentes de diferentes formas de uma mesma substância ou, então, de novas formas de substâncias já comercializadas.

O laboratório Glaxo Wellcome teve um caso de tribunal bastante prolongado contra o laboratório Novopharm. Este último queria fabricar e comercializar um novo polimorfo de um fármaco patenteado pela Glaxo, adequada ao tratamento de úlcera. A diferente forma cristalina, em questão, era terapeuticamente equivalente àquela comercializada pela Glaxo.

Embora este “novo” fármaco não fosse uma nova substância descoberta pelo laboratório Novopharm, mas, sim, uma nova forma cristalina, a Glaxo perdeu o caso e, hoje, o Novopharm e outras indústrias comercializam a droga que é o genérico conhecido como Zantac¹³.

Devido ao grande impacto econômico que poderá ser causado na vida de uma empresa, a pesquisa na área de polimorfismo é intensa e extremamente atual, pois antigas substâncias podem apresentar novos polimorfos e formas completamente desconhecidas poderão surgir a partir de qualquer deslize no procedimento de cristalização^{13,14}.

Os excipientes também podem apresentar transformações polimórficas sendo um fator preocupante para a indústria farmacêutica. Durante muito tempo os excipientes foram considerados substâncias inertes associadas ao fármaco e que tinham apenas a finalidade de veicular o ativo dentro da forma farmacêutica a qual eles ajudavam a estruturar. Hoje, mediante a tantos estudos viabilizados em biodisponibilidade e bioequivalência tem-se a certeza de que eles promovem a absorção através de propriedades físicas e químicas e que a falta de uma avaliação na fase pré-farmacotécnica pode originar medicamentos que não produzam um efeito terapêutico satisfatório¹.

A escolha do excipiente adequado para determinada fórmula é fundamental para a eficácia terapêutica do medicamento manipulado. Esta escolha deve se basear nas características das substâncias contidas na fórmula, bem como na possibilidade de interação das mesmas com o excipiente. O farmacêutico deve escolher sempre o excipiente que não sofra qualquer tipo de interação, assegurando com isso biodisponibilidade e conseqüentemente, o efeito farmacológico.

Sabe-se que vários medicamentos perdem sua eficiência durante o tempo de estocagem devido à ocorrência de transformação de fase. A transformação de um polimorfo em outro é uma transição de fase que pode ocorrer durante o processamento ou durante a estocagem. Se a transição de um polimorfo em outro for irreversível, ou seja, apenas uma das estruturas polimórficas é a estável, e quaisquer polimorfos formados conseqüentemente se transformarão na forma mais estável, têm-se polimorfos monotrópicos. Algumas substâncias, porém, apresentam polimorfos enantiotrópicos, o que significa que, sob diferentes condições de temperatura e pressão, a substância pode sofrer transformação reversível envolvendo mais de uma forma estável. Contudo, este tipo de comportamento é menos usual. Considerando o polimorfismo monotrópico, que é o mais usual, a forma estável verdadeira é aquela que

apresenta o ponto de fusão mais alto: as demais formas são indicadas como formas metaestáveis. Isto significa que tais formas metaestáveis existem apenas por um período de tempo finito e, desta maneira, podem parecer estáveis.

Quando é dada a oportunidade, se converterão à forma estável verdadeira. Dependendo das condições sob as quais são armazenadas, diferentes formas metaestáveis podem existir durante um período de tempo muito curto ou durante muitos meses, antes de transitar definitivamente para a forma estável verdadeira ⁸.

Um outro aspecto interessante se refere à transformação de fase pela qual uma substância passa quando submetida aos processos de secagem, moagem ou trituração, compactação e outros. Esta transformação compromete a fabricação de comprimidos, o que é um exemplo de como o polimorfismo interfere na apresentação de um medicamento ⁸.

Mullins e Macek ¹⁵ estudaram as propriedades farmacológicas de duas formas da novobiocina, um potente antibacteriano. Os autores observaram que a forma cristalina não é ativa, ou melhor, não é absorvida, porém é mais estável do que a mesma substância no estado amorfo, a qual é facilmente absorvida e bastante ativa. Sugeriram que este comportamento deveria ser devido a diferença de solubilidade, já que o sólido amorfo é dez vezes mais solúvel que o sólido cristalino, em uma solução de HCl 0,1M, a 25°C. Como a estrutura amorfa da novobiocina converte-se lentamente na forma cristalina, o medicamento, com o tempo, vai se tornando cada vez menos ativo e deve ser considerado que nem métodos químicos tradicionais e nem mesmo muitos testes farmacológicos *in vitro*, detecta estas alterações. No caso da novobiocina, a adição de metilcelulose na formulação trouxe um aumento da estabilidade do medicamento, prevenindo a cristalização da substância no estado amorfo.

A investigação do polimorfismo de drogas e de excipientes, é portanto, um dos principais parâmetros a ser considerado ao se propor qualquer trabalho na indústria farmacêutica, que vise a produção de uma droga. O desconhecimento das diferentes formas cristalinas e a influência destas no preparo de uma droga poderá acarretar em grandes prejuízos para a saúde de uma sociedade e trazer grande impacto comercial na vida de um fabricante. É vital que um pesquisador envolvido em formulações seja capaz de selecionar, para uso, a estrutura polimórfica correta de um fármaco.

1.7 PREPARAÇÃO DE FORMAS CRISTALINAS DE SUBSTÂNCIAS POLIMÓRFICAS

1.7.1 Métodos de cristalização

Os cristais são obtidos por meio da indução de alterações do estado líquido para o estado sólido, existindo dois métodos para isso. O primeiro deles consiste no resfriamento de uma amostra fundida abaixo do seu ponto de fusão. Alguns dos exemplos de cristalização mediante resfriamento, no âmbito farmacêutico, são a formação de supositórios, cremes e medicamentos semi-sólidos matriciais de uso oral. O outro método de cristalização consiste em promover uma alteração no sistema de uma solução da substância de tal forma que leve à obtenção de um sólido. À temperatura e pressão determinadas, todo e qualquer soluto dissolve-se em qualquer líquido até uma determinada quantidade máxima, obtendo-se uma solução saturada. Para formar cristais a partir de uma solução é necessário atingir uma situação na qual exista mais soluto presente do que aquele que pode ser dissolvido, a uma temperatura específica. Por fim, isso resultará na formação de um sólido em equilíbrio com a solução saturada. Assim, para fazer com que o sólido precipite a partir de uma solução saturada pode-se proceder segundo umas das seguintes formas⁵:

- Remoção de líquido por meio de evaporação;
- Resfriamento da solução, uma vez que a maioria das substâncias torna-se menos solúvel com a diminuição da temperatura;
- Adição de outro líquido miscível com a solução, no qual o soluto tenha baixa solubilidade.

Muitos fármacos são cristalizados mediante adição de água como anti-solvente, a uma solução do fármaco em um líquido orgânico. Se o fármaco, por exemplo, for quase insolúvel em água, e solúvel em etanol, o fármaco pode ser cristalizado adicionando-se água a uma solução quase saturada desse fármaco em etanol.

Os processos pelos quais os cristais formam-se são denominados nucleação e crescimento. Nucleação é a formação de uma pequena massa sobre a qual o cristal pode aumentar, enquanto que crescimento refere-se à adição de mais moléculas do soluto, no sítio de nucleação.

Para conseguir a nucleação e o crescimento, é necessário ter uma solução saturada, ou seja, uma solução na qual a quantidade de soluto dissolvida exceda sua solubilidade verdadeira. As soluções saturadas não são termodinamicamente estáveis e, sob esta circunstância, o sistema tenderá ao equilíbrio retornando à condição de verdadeira solubilidade, vindo o soluto a precipitar. Porém, em algumas situações o processo de nucleação pode ser lento ².

Quando as condições de cristalização são alteradas de alguma forma, é possível que as moléculas passem a formar cristais com um padrão de arranjo estrutural diferente do obtido sob as condições originais do processo. Esta alteração de condições pode significar um solvente diferente, modificação na agitação ou a presença de diferentes tipos de impurezas.

1.7.2 Cristalização mediada por solventes

As transformações polimórficas mediadas por solventes são bastante convenientes para se preparar diferentes formas cristalinas de uma substância, devido à sua facilidade operacional.

A técnica de dissolução de uma forma metaestável com posterior cristalização, através da variação de solventes, é bastante eficiente para: se descobrir e preparar a forma mais estável de uma determinada substância; eliminar a forma metaestável em uma mistura de estruturas polimórficas; determinar a estabilidade relativa dos polimorfos e verificar a pureza dos mesmos ¹⁶.

A escolha do solvente adequado para o processo de cristalização de uma substância polimórfica é feita através de tentativas experimentais. Assim devem ser levados em consideração os seguintes aspectos:

- O solvente deve solubilizar, a quente, uma quantidade de sólido consideravelmente maior que aquela solubilizada a frio, isto é, próximo ao ponto de ebulição deve solubilizar uma grande quantidade de sólido e apenas uma pequena quantidade à temperatura ambiente ou um pouco abaixo desta.
- O solvente deve solubilizar, facilmente a frio, a maioria das impurezas pois estas ficarão retidas na solução quando a substância de interesse se cristalizar. Se algumas

impurezas em pequena quantidade não forem solúveis, nem a frio nem a quente, serão separadas na primeira filtração feita à quente onde o fármaco foi solubilizado.

- O solvente não deve reagir quimicamente com o sólido a purificar, ou seja, deve ser quimicamente inerte.
- O solvente deve possuir um ponto de ebulição relativamente baixo, para que possa ser facilmente removido da substância recristalizada.
- A polaridade do solvente deve ser semelhante a do soluto.

Em igualdade de circunstâncias a escolha do solvente deve ser feita atendendo a fatores como facilidade de manipulação, inflamabilidade e custo.

A determinação de solubilidades para efeitos de cristalização de um fármaco polimórfico deve ser feita considerando-se o mecanismo de dissolução deste, pois quando o soluto é adicionado ao solvente para formar uma solução líquida, começa o processo de destruição da estrutura cristalina do soluto. Pouco a pouco, partículas do solvente atacam a superfície do retículo cristalino, removendo partículas do soluto, rodeando-as e, finalmente, dispersando-as. O resultado é a destruição da estrutura cristalina do soluto e a alteração da estrutura do solvente, pois agora existirão partículas do soluto onde antes havia apenas solvente ¹⁶.

A facilidade com que tudo isso ocorre depende das intensidades relativas das forças entre as partículas do soluto (interações soluto-soluto); das forças entre as partículas do solvente (interações solvente-solvente) antes do processo de dissolução; e das forças entre as partículas do soluto e as do solvente (interações soluto-solvente) após a dissolução.

À medida que ocorre a dissolução, as forças soluto-soluto e solvente-solvente são substituídas pelas forças soluto-solvente.

Assim, solubilidade pode ser conceituada como a capacidade de uma substância de se dissolver em outra, mas essa capacidade no que diz respeito à dissolução de um sólido em um líquido é limitada, ou seja, existe um máximo de soluto que podemos dissolver em certa quantidade de um solvente. A temperatura é um fator preponderante neste processo e, desta forma, teremos diferentes valores de solubilidade em função da temperatura.

1.8 MÉTODOS DE CARACTERIZAÇÃO E DETECÇÃO DE POLIMORFOS

Os métodos analíticos mais importantes para identificar e caracterizar as substâncias polimórficas são a cristalografia, análise térmica, espectroscopia vibracional, microscopia, estudos de solubilidade e ressonância magnética nuclear. Deve-se notar que a análise por cristalografia de cristal único é bastante adequada para confirmar a suspeita de polimorfos pois permite reconhecer, isoladamente, as formas cristalinas de uma substância.

Entretanto pelo alto custo do equipamento, o uso da técnica torna-se inviável para muitos laboratórios de pesquisa e indústrias. Desta forma, a caracterização de polimorfos é feito, em geral, utilizando-se outras técnicas analíticas que, em conjunto, geram dados capazes de confirmar a presença de diferentes formas cristalinas.

1.8.1 Cristalografia: Difração de raios-x

Quando a excitação de um átomo conduz à remoção de um elétron de uma camada interna, o átomo volta ao estado fundamental por transferência de um elétron das camadas externas para a interna havendo, conseqüentemente, emissão de energia sob a forma de raio-X. Cada átomo de um cristal difrata em todas as direções um feixe de raios-X incidente. A condição para que se observe a difração de um feixe de raios-X pelo cristal é dada pela lei de Bragg:^{7,17}

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

onde n é um número inteiro, d é a distância entre planos paralelos, λ é o comprimento de onda do raio X e θ é o ângulo de incidência.

A posição dos feixes difratados por um cristal depende apenas das dimensões e forma da unidade repetitiva deste cristal e do comprimento de onda do feixe incidente. As intensidades dos feixes difratados, dependem igualmente, do tipo de átomos presentes no cristal e de sua localização na unidade fundamental repetitiva, ou seja, a célula unitária. Não há, portanto, duas substâncias que tenham exatamente o mesmo modelo de difração, considerando-se tanto a direção quanto a intensidade de todos os feixes difratados. Entretanto,

a literatura ¹⁸ cita a existência de compostos orgânicos complexos que possuem modelos quase idênticos.

A difratometria de raios-X é um método rápido e eficiente de avaliar se uma amostra se encontra no estado amorfo ou cristalino. Permite identificar as fases cristalinas presentes numa amostra e as vezes é o único meio de determinar, entre possíveis polimorfos de uma substância, a forma predominante, como é o caso do grafite e do diamante, por exemplo. A comprovação da formação de solvatos também é uma possibilidade do método ^{17,18}.

1.8.2 Análise Térmica:

As técnicas de análise térmica são amplamente utilizadas para caracterização de substâncias farmacêuticas no estado sólido. São técnicas que avaliam as propriedades físicas de uma amostra em função da temperatura ou do tempo, enquanto esta substância é submetida a um programa controlado de temperatura. Embora exista um número grande de técnicas termoanalíticas, as mais usadas são a calorimetria diferencial de varredura (DSC) e a termogravimetria (TG) ^{19,20}.

Este conjunto de técnicas permite determinar características térmicas de materiais puros ou em mistura, medindo suas propriedades endotérmicas, como por exemplo, fusão, ebulição, sublimação, vaporização, dessolvatação, transição de fase sólido-sólido e degradação química, ou medindo propriedades exotérmicas, como por exemplo, cristalização e decomposição oxidativa.

A calorimetria diferencial de varredura (DSC), mede a diferença de energia fornecida à substância em análise e a um material de referência em função da temperatura, enquanto estas são submetidas a uma programação controlada de temperatura ²⁰. É aplicada para investigações de mudanças termodinâmicas que ocorram durante o aquecimento da substância.

Na técnica de DSC, a amostra e a referência, que é um cadinho de alumínio vazio, são aquecidas a uma taxa controlada, e o fluxo de calor necessário para mantê-las na mesma temperatura é medido durante o acontecimento de um fenômeno físico ou químico que ocorra com a amostra. As curvas de DSC são registradas como fluxo de calor versus temperatura. A área do sinal é diretamente proporcional a quantidade de calor liberado (evento exotérmico)

ou absorvido (evento endotérmico) e a integração desse sinal fornece a quantidade de calor envolvida em J/g ou cal/g.

Na avaliação de substâncias que apresentam diferentes formas cristalinas é possível determinar a mudança de estrutura cristalina, as temperaturas de fusão e dessolvatação, que aparecem em sinais endotérmicos e exotérmicos na curva de DSC. Permite ainda a discriminação entre os sistemas polimórficos como monotropismos ou enantiotropismos e auxilia na previsão e análise para a descoberta de hidratos e solvatos. Estudos de sorção-dessorção também podem ser avaliados por esta técnica provendo maiores detalhes para a caracterização de estruturas polimórficas^{19,20}.

A figura 2 apresenta uma curva típica de DSC. Transições endotérmicas, são representadas por sinais descendentes enquanto que transições exotérmicas são reconhecidas por sinais ascendentes.

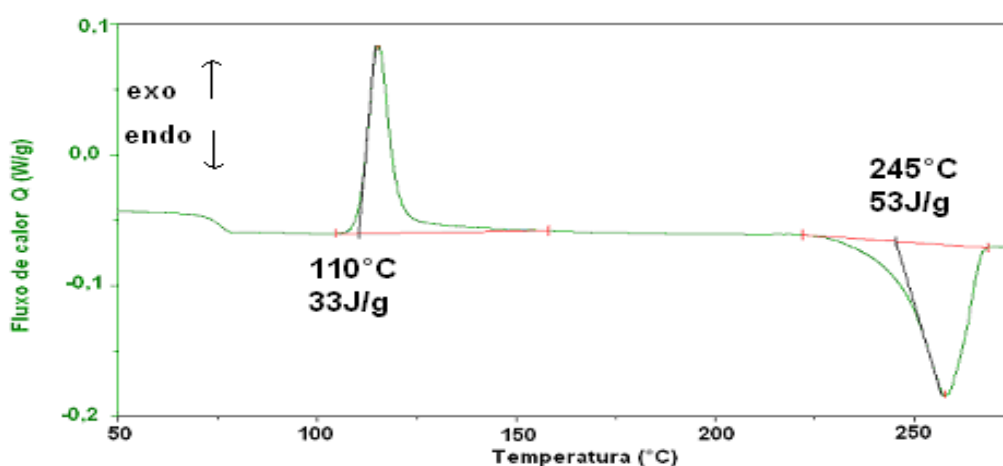


Figura 2- Curva de DSC de um material polimérico usando as convenções de picos endotérmicos e exotérmicos.

A termogravimetria (TG), mede a perda ou ganho de massa em função da temperatura aplicada sendo restrita às transições que envolvem tanto ganho quanto perda de massa. É muito usada na análise de processos de dessolvatação e decomposição de substâncias. Estudos de comparação de estabilidade das estruturas cristalinas, também podem ser avaliados por esta técnica, pois em geral, quanto mais alta for a temperatura de decomposição de um determinado composto, maior será a sua estabilidade à temperatura ambiente. É um método útil, também, para quantificação de conteúdo volátil de um sólido podendo ser usada como

técnica para quantificação de umidade e distinção entre as formas solvatadas e anidras de um determinado composto²⁰.

A figura 3 apresenta uma curva de TG ilustrando a decomposição térmica do carbonato de cálcio que é um exemplo típico da aplicação da termogravimetria. A perda de massa é ocasionada pela liberação de dióxido de carbono e a massa residual corresponde ao óxido de cálcio que é o produto desta decomposição.

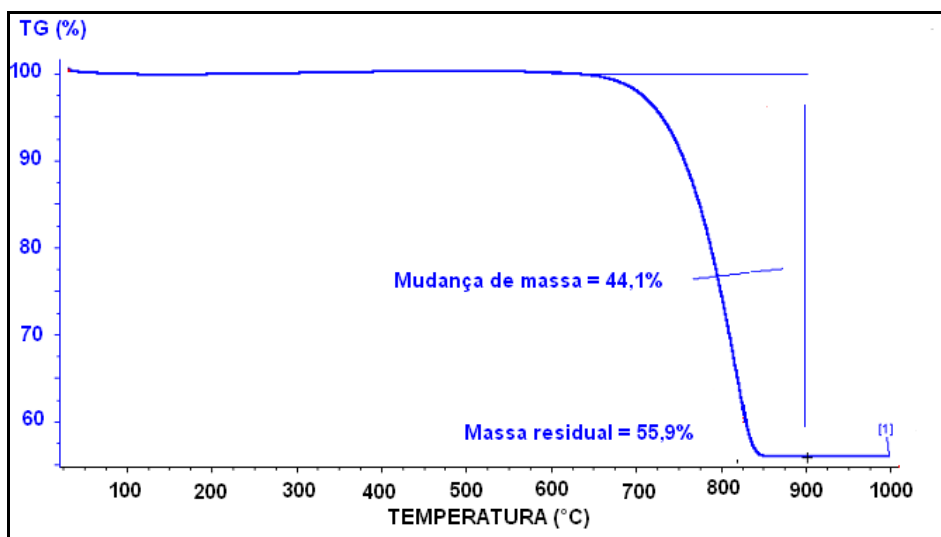


Figura 3-Curva de TG da decomposição térmica do carbonato de cálcio obtida a $10^{\circ}\text{Cmin}^{-1}$ em N_2 na vazão de 50mLmin^{-1} .

1.8.3 Espectrofotometria de Infravermelho

A espectrofotometria de absorção na região do infravermelho é uma técnica espectroscópica fundamental que permite a identificação de uma substância orgânica ou mineral pelos grupos funcionais presentes no material em análise. Baseia-se na medida da energia absorvida para a vibração de cada uma das ligações químicas presentes na substância²⁰.

A amostra é submetida a uma radiação de comprimento de onda na região do infravermelho. A faixa de radiação utilizada na química orgânica é a que vai de $0,6$ a $2,5\ \mu$ (4000 a $500\ \text{cm}^{-1}$). Um espectro de infravermelho apresenta grande quantidade de sinais, chamados de bandas e é característico de uma molécula como um todo, porém os

grupamentos e ligações apresentam absorções que geram bandas de formato característico da estrutura da molécula ²⁰.

1.8.4 Microscopia óptica e eletrônica

A microscopia é uma técnica importante para a caracterização de polimorfos, pois através dela pode-se observar a forma cristalina de uma substância, como por exemplo, o tamanho e a forma dos cristais ²⁰.

O microscópio óptico tem a iluminação e o conjunto de lentes como seus elementos básicos. Para materiais opacos à luz, observa-se uma superfície polida e utiliza-se a luz refletida na amostra. A superfície polida pode ou não sofrer ataque químico para evidenciar a presença de alguns cristais. O aumento máximo de um microscópio óptico é da ordem de 2000 vezes. Conseqüentemente, alguns elementos estruturais por serem muito pequenos, tornam-se difíceis de serem observados neste tipo de microscópio. Neste caso, emprega-se o microscópio eletrônico de varredura (MEV).

O microscópio eletrônico de varredura, MEV (scanning electron microscope, SEM) é um equipamento que alcança um aumento máximo muitas vezes maior que o óptico. Permite a obtenção de informações estruturais como tamanho e forma dos cristais. Na figura 4, observam-se micrografias retiradas da literatura ¹¹, de três polimorfos da Sulfamerazina, que foram preparados utilizando diferentes solventes. Polimorfo I apresenta cristais grandes sob formas de agulhas, polimorfo II apresenta cristais de menor dimensão cuja forma não é definida; e polimorfo III apresenta cristais grandes e arredondados. Nestas micrografias pode-se observar que os três polimorfos do fármaco Sulfamerazina cresceram em dimensões diferentes depois de serem submetidos ao processo de cristalização utilizando diferentes solventes, não possuindo, portanto a mesma estrutura cristalina.

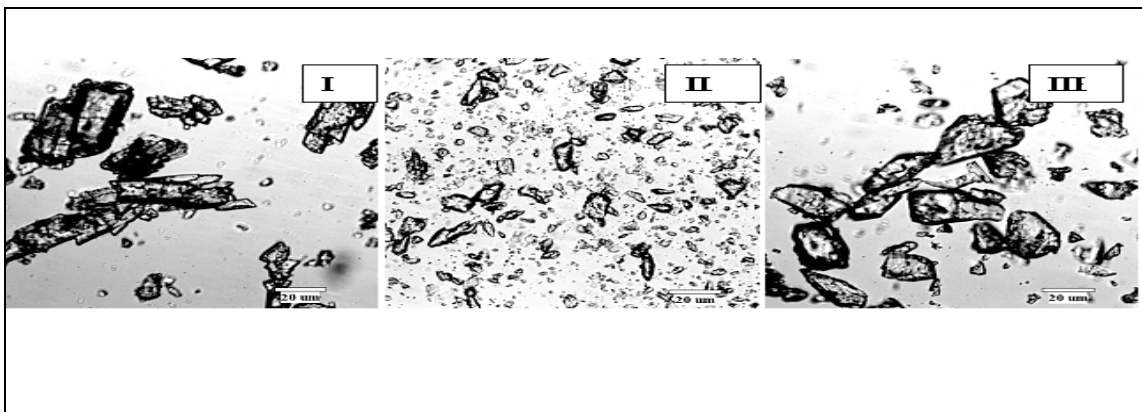


Figura 4- Micrografia de três polimorfos da Sulfamerazina ¹¹.

1.8.5 Espectroscopia vibracional: Espectroscopia Raman

O espectro Raman é obtido fazendo-se a luz monocromática de um *laser* incidir sobre a amostra que se deseja estudar. A luz espalhada é dispersa por uma rede de difração no espectrômetro e suas componentes são recolhidas num detector que converte a intensidade da luz em sinais elétricos que são interpretados na forma de um espectro Raman ²⁰.

A espectroscopia Raman permite uma caracterização mais fácil das diferenças estruturais e também pode ser usada como um método de diferenciação de polimorfos ou solvatos, pois devido à sua habilidade em obter dados em frequências vibracionais muito baixas, pode dar informações sobre a rede vibracional de um cristal.

2 JUSTIFICATIVA E OBJETIVO DESTE TRABALHO

Para a definição deste trabalho foi realizado um levantamento bibliográfico, referente aos últimos 20 anos, que mostrou poucos artigos sobre polimorfismo em fármacos, de autoria de pesquisadores brasileiros. Diante da importância do assunto para a tecnologia farmacêutica nacional, houve o interesse em iniciar e investir na Universidade Federal Fluminense, num grupo de trabalho nesta área visando a implementação e consolidação de uma linha de pesquisa.

2.1 OBJETIVO GERAL

Propor um protocolo para preparação e caracterização de substâncias polimórficas, que no caso deste estudo, se referem a tolbutamida e nifedipina.

2.2 OBJETIVO ESPECÍFICO

- Avaliar a cristalização da tolbutamida e nifedipina em diferentes solventes e tempo de crescimento de cristais.
- Caracterizar estruturas polimórficas por métodos como a calorimetria diferencial de varredura (DSC), difratometria de raio-x (DRX), microscopia eletrônica de varredura (MEV) e espectrofotometria de infravermelho (IR).

3 METODOLOGIA

3.1 DESCRIÇÃO E JUSTIFICATIVA DA METODOLOGIA

A metodologia proposta para este trabalho foi dividida em duas etapas.

Etapa 1 – Estágios realizados no Laboratório de Química da Universidade de Farmácia de Toledo (*College of Pharmacy, University of Toledo*) em Ohio-EUA, coordenado pelo Professor Dr. Kenneth S. Alexander e no Laboratório de Química da Universidade de Cleveland (*Cleveland State University*), coordenado pelo Professor Dr. Alan Riga. Neste estágio, que perdurou por quatro meses, foram desenvolvidos trabalhos experimentais com apresentação de técnicas para cristalização, separação e caracterização de substâncias polimórficas usadas como fármacos.

Para esta etapa de capacitação foram escolhidos a tolbutamida, fármaco usado como hipoglicemiante oral e a nifedipina usada no tratamento de desordens cardiovasculares, como angina pectoris e hipertensão. São duas substâncias que apresentam polimorfismo e já tem formas cristalinas caracterizadas na literatura, entretanto, ainda tem potencial para novos estudos.

A escolha dos fármacos teve como base a disponibilidade destas substâncias no Laboratório de Química da Universidade de Farmácia de Toledo e o fato de não terem sido, ainda, totalmente explorados na literatura. Uma descrição detalhada da tolbutamida e da nifedipina é apresentada no apêndice 1.

Etapa 2- A segunda parte do trabalho foi realizada no laboratório de aplicação analítica e tecnológica da UFF, onde foram aplicados os conhecimentos adquiridos para o desenvolvimento dos experimentos e acrescentando novas informações. Foi dado uma

continuidade aos trabalhos desenvolvidos na etapa 1, no sentido de que foram mantidos os fármacos nifedipina e tolbutamida. Entretanto, foram acrescentados outros solventes.

3.2 MATERIAL

As matérias primas (MP) Tolbutamida (Lote N°61K1629), e Nifedipina 98% TLC (Lote N°N7634-25G), foram adquiridas na Sigma-Aldrich Co.,USA.

O Nitrogênio líquido usado durante os processo de resfriamento foi obtido no laboratório de química da Universidade de Toledo (University of Toledo; USA) e também na Universidade Federal Fluminense (UFF).

Os solventes foram utilizados diretamente como recebidos, não sendo realizados processos de purificação. As origens dos mesmos estão descritas a seguir.

- Acetonitrila (Lote N°MI4808);Mallinckrodt Baker Inc., Phillipsburg, NJ 08865.
- 1-octanol (Lote N°945058);Fisher Scientific, Fair Lawn, NJ 07410.
- 1,4 - Dioxano (Lote N°M20630); J. T. Baker.
- Hexano (Lote N° 312081R);Tedia Brazil, NJ 02.952.343/0001-81.
- Diclorometano(Lote N° 208150R);Tedia Brazil, NJ 02.952.343/0001-81.
- Clorofórmio(Lote N° 204080);Tedia Brazil, NJ 02.952.343/0001-81.
- Etanol (Lote N° 406096R);Tedia Brazil, NJ 02.952.343/0001-81.
- Acetona (Lote N° 111073);Tedia Brazil, NJ 02.952.343/0001-81.
- Água destilada.

3.3 MÉTODOS

3.3.1 Avaliação da solubilidade dos fármacos tolbutamida e nifedipina em diferentes solventes

A solubilidade da nifedipina e tolbutamida foi avaliada, experimentalmente, colocando-se uma quantidade do soluto em presença do solvente em teste sob agitação da

solução. Os resultados observados, visualmente, foram registrados de acordo com o comportamento do soluto:

- Solúvel: se o composto dissolveu-se completamente.
- Pouco solúvel: se o composto dissolveu-se parcialmente.
- Insolúvel: se o composto não dissolveu.

No caso do composto ter sido pouco solúvel ou insolúvel, a solução foi aquecida de modo a avaliar a solubilidade a quente.

Quando a solubilidade de um fármaco num determinado solvente tem valor desconhecido, a escolha do solvente torna-se um procedimento de tentativas e erro ¹⁶. Neste caso a escolha leva em conta fatores como facilidade de manipulação, inflamabilidade e custo.

A solubilidade da Nifedipina foi avaliada para os seguintes solventes: 1,4- dioxano; acetona e clorofórmio. A proporção usada foi de 0,5 mL do solvente para 20 mg de nifedipina.

Para avaliar a solubilidade da Tolbutamida foram utilizados os solventes: acetonitrila; 1-octanol; hexano; diclorometano; clorofórmio; etanol e água. A proporção usada foi de 0,5 mL do solvente para 20 mg de tolbutamida.

3.3.2 Obtenção das formas cristalinas dos fármacos tolbutamida e nifedipina

As amostras de tolbutamida e nifedipina adquiridas na Sigma-Aldrich foram denominadas para melhor entendimento deste estudo, como tolbutamida MP e nifedipina MP, por serem as substâncias utilizadas como matéria-prima para obtermos as demais estruturas polimórficas após se submeterem aos processos de cristalização.

As formas cristalinas obtidas de cada fármaco nos diferentes solventes foram denominadas por letras (A,B etc), porém as formas A e B de ambos os fármacos foram preparadas na, etapa, 1 e 2 deste trabalho e, por isto, serão denominadas de A1,A2 e B1,B2, respectivamente.

Todas as amostras foram preparadas quatro vezes avaliar a repetibilidade dos experimentos.

- **Tolbutamida A1, A2:** Aproximadamente 1 g da matéria-prima foi pesado e dissolvido em 2 mL de acetonitrila previamente aquecida até 60°C. A solução resultante foi reservada para ser cristalizada à temperatura ambiente. Após 24 horas, os cristais formados foram filtrados e secos a vácuo por quatro dias até obter-se um material completamente seco.

- **Tolbutamida B1, B2:** A preparação desta amostra foi obtida da mesma forma que a Tolbutamida A, porém utilizou-se como solvente 1-octanol.

- **Tolbutamida C e Tolbutamida D:** A preparação seguiu o mesmo procedimento anterior, porém utilizou-se como solventes clorofórmio e etanol, respectivamente.

- **Nifedipina B1, B2:** Aproximadamente 1g da matéria-prima foi pesado e colocado num becher. Em seguida, adicionou-se o solvente 1,4-dioxano, sob agitação constante, até obter-se uma solução saturada, o que aconteceu com a adição de 17 mL do solvente. A solução foi deixada à temperatura ambiente por 4 dias, para que o solvente evaporasse completamente, observando-se o aparecimento de cristais. O material cristalizado foi removido usando-se uma espátula, e, em seguida, seco com papel de filtro para assegurar a eliminação de todas as moléculas do solvente presentes na superfície do cristal.

- **Nifedipina C:** Aproximadamente 1g da matéria-prima foi pesado e colocado num becher. Em seguida, adicionou-se acetona, sob agitação constante, até obter-se uma solução saturada, o que ocorreu com a adição de 6 mL do solvente. A solução foi deixada à temperatura ambiente por 4 dias, para a evaporação completa do solvente, observando-se o aparecimento de cristais da mesma forma anterior.. O material cristalizado foi removido usando uma espátula e, em seguida, seco com papel de filtro.

-**Nifedipina D:** Aproximadamente 1g da matéria-prima foi pesado e colocado num becher. Em seguida, adicionou-se clorofórmio, sob agitação constante, até a obtenção de uma solução saturada, o que ocorreu com a adição de 9 mL do solvente. A solução foi deixada à temperatura ambiente por 4 dias, sendo o procedimento de secagem igual ao anterior.

3.3.3 Obtenção da nifedipina no estado amorfo

- **Nifedipina A1, A2 :** Aproximadamente 1g da matéria-prima foi pesado e colocado em uma folha de alumínio. Em seguida a amostra foi levada à placa de aquecimento até fusão, a 173°C. A amostra fundida foi transferida para um recipiente de metal onde em seguida

adicionou-se nitrogênio líquido por 4-5 minutos. Uma substância vítrea foi obtida. O material foi pulverizado usando-se grau e pistilo.

3.4 CARACTERIZAÇÃO DAS ESTRUTURAS POLIMÓRFICAS DA NIFEDIPINA E TOLBUTAMIDA.

Os métodos analíticos utilizados para caracterizar as substâncias polimórficas nifedipina e tolbutamida foram: difratometria de raios-x (DRX), calorimetria diferencial de varredura (DSC), espectrofotometria de infravermelho, espectroscopia vibracional (Raman) e microscopia eletrônica de varredura (MEV).

Neste trabalho será dada ênfase ao método de análise térmica, isto é, a calorimetria diferencial de varredura (DSC), por ser um método simples e que caracteriza com eficiência as substâncias farmacêuticas no estado sólido, determinando suas transições polimórficas e as temperaturas de fusão e de dessolvatação cujos eventos aparecem em sinais endotérmicos e exotérmicos na curva de DSC.

3.4.1 Calorimetria diferencial de varredura (DSC)

Para o estudo de caracterização das estruturas polimórficas dos fármacos tolbutamida e nifedipina por calorimetria diferencial de varredura, foram utilizados o instrumento MDSC 2910 da *Thermal Advantage*® (*TA-Instruments*) e o software 2000 *Universal Analysis*®, do Laboratório de Análise Térmica da Universidade do Estado de Cleveland (CSU), Ohio e o instrumento STA-PC 409 *Luxx da Netzsch* e o software da série *Proteus*, também do mesmo fabricante, no Departamento de Química Analítica da Universidade Federal Fluminense (UFF), RJ.

As temperaturas e respostas calorimétricas de ambos equipamentos foram realizadas com padrões metálicos de alta pureza: índio ($156,6 \pm 0,2^\circ\text{C}$) e zinco ($419,5 \pm 0,3^\circ\text{C}$).

Foram aplicadas as mesmas condições analíticas já apresentadas na literatura²¹.

Para análise das formas cristalinas da Tolbutamida, foram realizados os seguintes procedimentos:

- Cadinhos de alumínio não hermético com tampas (40 μ L)
- Massa de amostra de aproximadamente 5 mg

- Taxa de aquecimento de $10^{\circ}\text{Cmin}^{-1}$.
- Faixa de aquecimento de 25°C à 160°C .
- Vazão de nitrogênio de 50mLmin^{-1} .

Para análise das diferentes formas da Nifedipina foram realizados os seguintes procedimentos:

- Cadinhos de alumínio não hermético com tampas ($40\mu\text{L}$)
- Massa de amostra de aproximadamente 5 mg
- Taxa de aquecimento de $20^{\circ}\text{C min}^{-1}$.
- Faixa de aquecimento de 25°C à 210°C .
- Vazão de nitrogênio de 50mLmin^{-1} .

3.4.2 Difratomia de Raios-X

Neste estudo foi utilizado um difratômetro XDS 2000 da Scintag Inc. U.S.A, no laboratório de Análises de Difração de Raios-x da Universidade de Toledo, Ohio; U.S.A e o um difratômetro Philips XPERT-PRO; no laboratório do Instituto Nacional de Tecnologia (INT), RJ, Brasil.

As amostras de tolbutamida e nifedipina foram expostas à radiação de $\text{CuK}\alpha_1$ ($\lambda = 1.5406 \text{ \AA}$), 40 KV, 30 mA e com passo de 0.0250 com o tempo de 1 s., a uma taxa de varredura de 5 para 40° .

Todas as amostras foram finamente pulverizadas e colocadas em um suporte de plástico que é usado para este propósito.

3.4.3 Espectrofotometria de Infravermelho

As análises de espectrofotometria de infravermelho das formas obtidas dos fármacos Nifedipina e Tolbutamida foram realizadas utilizando-se um equipamento 4020 Galaxy Series FT-IR, numa resolução entre 1 e 4 cm^{-1} e gás nitrogênio, no laboratório de Análises por Infravermelho do Departamento de Química, Universidade de Cleveland, Ohio; U.S.A. Os resultados foram analisados usando um software GRAMS/32.

Cada amostra foi misturada ao KBr na proporção de 1:100 e preparada em pastilha de acordo com o procedimento descrito na literatura²⁰.

3.4.4 Espectroscopia Raman

As análises das estruturas cristalinas dos fármacos Nifedipina e Tolbutamida por espectroscopia Raman foram feitas em uma unidade construída pelo Dr. John F. Turner, Departamento de Química da Universidade de Cleveland (CSU), Ohio, USA.

- Número do Pixel: pixel 667 = 1000 cm⁻¹, 80nm range from pixel 0 to 1340.
- Excitação: Raman (Stokes) @ 785 nm.
- Os espectros foram adquiridos em 1000 cm⁻¹.

3.4.5 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Foi utilizado neste estudo, o microscópio eletrônico de varredura, Philips XL 30, do laboratório do Departamento de Química da Universidade de Cleveland (CSU), Ohio; e o microscópio eletrônico de varredura JEOL, JSM6460LV, do laboratório da COPPE (UFRJ); para obter fotomicrografias das diferentes formas da nifedipina e tolbutamida.

As amostras foram aderidas a um pequeno pedaço de fita adesiva de carbono montada em uma placa de metal, colocada sob vácuo antes de ser revestida com uma película fina do ouro-paládio e observadas com uma aceleração de voltagem de 15 KV.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 AVALIAÇÃO DAS SOLUBILIDADES DOS FÁRMACOS NIFEDIPINA E TOLBUTAMIDA EM VÁRIOS SOLVENTES

4.1.1 Nifedipina

Neste trabalho, o comportamento da nifedipina foi observado experimentalmente nos solventes 1,4-dioxano, água, acetona e clorofórmio. A tabela 2 sumariza os resultados encontrados.

Tabela 2- Determinação da solubilidade da Nifedipina MP (p.f. 172-174°C) nos solventes: água, 1,4-dioxano, acetona e clorofórmio.

Solventes	Solubilidade à Temp. ambiente	Solubilidade à quente
Água (p.e. 100°C)	Insolúvel	Insolúvel
1,4-dioxano (p.e. 101,1°C)	Solúvel	Solúvel
Acetona (p.e. 56,5°C)	Solúvel	Solúvel
Clorofórmio (p.e. 61-62°C)	Solúvel	Solúvel

Observou-se que a nifedipina se solubiliza imediatamente nos solventes 1,4-dioxano, acetona e clorofórmio à temperatura ambiente, não sendo necessário o aquecimento das soluções. Entretanto, é insolúvel na água mesmo a quente e, portanto, este solvente, não foi

utilizado no processo de cristalização deste fármaco. Os dados de solubilidade observados experimentalmente estão de acordo com a literatura^{22,23}.

Para a preparação das estruturas polimórficas da nifedipina através do processo de cristalização, foram citadas pela literatura²⁴ a utilização dos solventes aqui experimentados, além do uso do acetato de etila e diclorometano. Porém, apenas a estrutura solvatada obtida em 1,4-dioxano e a amorfa foram bem caracterizadas.

4.1.2 Tolbutamida

O comportamento de solubilidade da tolbutamida foi observado experimentalmente para os solventes: água, etanol, clorofórmio, diclorometano, hexano, 1-octanol e acetonitrila.

À temperatura ambiente, a tolbutamida, se solubilizou parcialmente nos solventes etanol, diclorometano e clorofórmio, sendo insolúvel nos solventes acetonitrila, 1-octanol, hexano e água, conforme apresentado na tabela 3. Todas as soluções foram aquecidas até atingir a ebulição. O solvente diclorometano, por ser bastante volátil, evaporou rapidamente o que permitiu o aparecimento imediato de cristais e, por isto, não foi um dos solventes utilizados na cristalização desta substância. A tolbutamida foi insolúvel em hexano e em água, mesmo a quente, inviabilizando o processo de cristalização deste fármaco. A tabela 3 resume os dados de solubilidade observados.

Tabela 3- Determinação da solubilidade da Tolbutamida MP (125-130°C) em acetonitrila, 1-octanol, hexano, diclorometano, clorofórmio, etanol e água.

Solventes	Solubilidade à Temp. ambiente	Solubilidade à quente
Acetonitrila (p.e. 81,6°C)	Insolúvel	Solúvel
1-octanol (p.e. 194-195°C)	Insolúvel	Solúvel
Hexano (p.e. 69°C)	Insolúvel	Insolúvel
Diclorometano (p.e. 39,7°C)	Pouco solúvel	Solúvel
Clorofórmio (p.e. 61-62°C)	Pouco solúvel	Solúvel
Etanol (p.e. 78,5°C)	Pouco solúvel	Solúvel
Água (p.e 100°C)	Insolúvel	Insolúvel

O comportamento da tolbutamida tanto à temperatura ambiente quanto sob aquecimento, nos solventes acetonitrila, 1-octanol, clorofórmio e etanol, indicou estes solventes como meios adequados para o processo de cristalização deste fármaco.

4.2 CRISTALIZAÇÃO E TEMPO DE APARECIMENTO DOS PRIMEIROS CRISTAIS DA NIFEDIPINA E TOLBUTAMIDA.

A cristalização da nifedipina e da tolbutamida foi realizada com base no comportamento de solubilidade observado. O tempo de aparecimento dos cristais foi determinado visualmente, após o arrefecimento das soluções preparadas como descrito no item 3.3.2. Quanto a preparação da nifedipina amorfa (Nifedipina A), não foi utilizado nenhum tipo de solvente, pois esta estrutura amorfa foi obtida após fusão, como descrito no item 3.3.3.

A tabela 4 apresenta os resultados encontrados para o aparecimento dos primeiros cristais das duas substâncias.

Tabela 4- Tempo de aparecimento dos primeiros cristais observado visualmente.

Estruturas Polimórficas da Nifedipina e Tolbutamida	Tempo de aparecimento dos primeiros cristais (min)
Nifedipina B (solvente 1,4-dioxano)	20
Nifedipina C (solvente acetona)	Maior que 180
Nifedipina D (solvente clorofórmio)	Maior que 180
Tolbutamida A (solvente acetonitrila)	30
Tolbutamida B (solvente 1-octanol)	50
Tolbutamida C (solvente clorofórmio)	35
Tolbutamida D (solvente etanol)	15

O tempo de aparecimento dos primeiros cristais de cada uma das substâncias foi diferente em cada solvente utilizado.

O aparecimento dos primeiros cristais da nifedipina em 1,4-dioxano foi bastante rápido cerca de 20 minutos (Nifedipina B). Para a tolbutamida, a cristalização no etanol também foi

considerada rápida, porém, os cristais formados eram visualmente opacos. Já no caso do solvente clorofórmio, o tempo foi bem maior e os cristais também se apresentaram opacos. De acordo com a literatura ¹⁶, o tempo de crescimento dos primeiros cristais de uma substância polimórfica, pode ser um dos fatores limitantes para se avaliar as transformações de uma forma em outra. No caso de um solvente desconhecido, a cristalização ainda é baseada numa tentativa de erro e acerto e, nesta etapa, perde-se muito tempo.

4.3 CARACTERIZAÇÃO DAS FORMAS CRISTALINAS OBTIDAS A PARTIR DA TOLBUTAMIDA MP E NIFEDIPINA MP

4.3.1 Calorimetria diferencial de varredura

Neste estudo, foram observadas as transições polimórficas e as temperaturas de fusão e dessolvatação dos fármacos tolbutamida e nifedipina após cristalização utilizando diferentes solventes. A estabilidade da nifedipina amorfa também foi analisada por esta técnica.

4.3.1.1 Tolbutamida

A tolbutamida MP e suas formas cristalinas obtidas por diferentes solventes foram analisadas por DSC nas condições descritas no item 3.3.2.

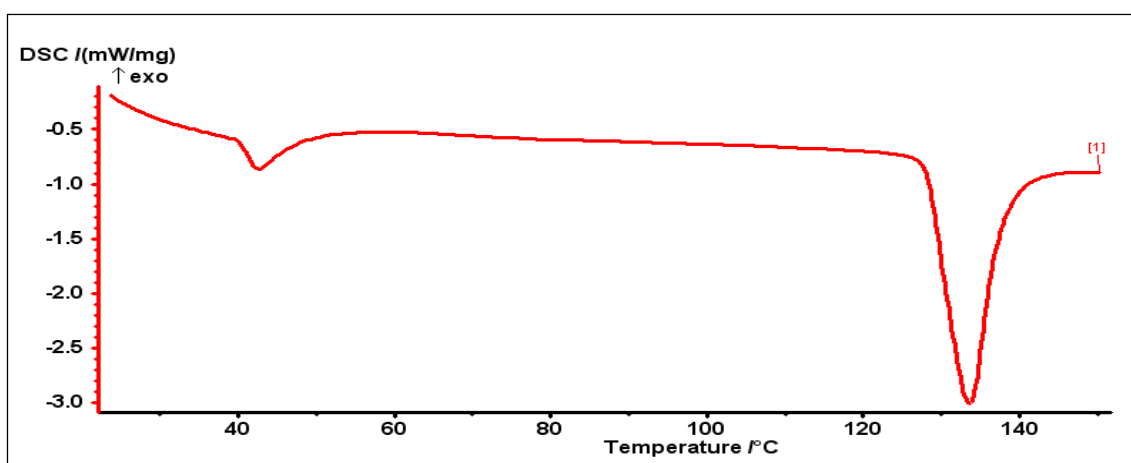


Figura 5- Curva de DSC da Tolbutamida MP: 5,0 mg, vazão de nitrogênio de 50 mL.min⁻¹, taxa de aquecimento de 10°C. min⁻¹.

A curva de DSC para a tolbutamida MP (Figura 5) apresentou dois sinais endotérmicos nas temperaturas de 41 e 129°C. De acordo com a literatura^{21,25,26}, o primeiro sinal é atribuído a um rearranjo das ligações de hidrogênios da estrutura molecular da tolbutamida e o segundo sinal se refere à temperatura de fusão do material cristalino que ocorre na faixa de 126-132°C.

A análise por DSC da tolbutamida MP foi replicada seis vezes e os resultados estão apresentados na tabela 5. Como a precisão das medidas é de $\pm 2^\circ\text{C}$ para o equipamento utilizado, é possível observar que não houve variação significativa nos resultados.

Tabela 5- Repetibilidade da tolbutamida MP, através da curva de DSC.

Tolbutamida MP	Sinal 1	Sinal 2
	T (°C)	T(°C)
1	41	128
2	41	129
3	40	129
4	40	128
5	41	129
6	40	128
Média	41	129

Na curva de DSC da tolbutamida A2 (figura 6), pode-se observar a presença dos dois sinais endotérmicos que apareceram na curva de DSC da tolbutamida MP, a 40 e 127°C. O perfil de DSC da tolbutamida A2 é idêntico ao descrito na literatura para a tolbutamida na estrutura denominada de forma I^{25,27}.

De acordo com a literatura mais recente, a tolbutamida A1 e A2, obtida neste trabalho, é bastante parecida com a forma A denominada pelos autores Chakravarty *et. al.*²¹, que também foi preparada usando o solvente acetonitrila e ambas com curvas de DSC semelhante ao da forma da tolbutamida MP aqui utilizada.

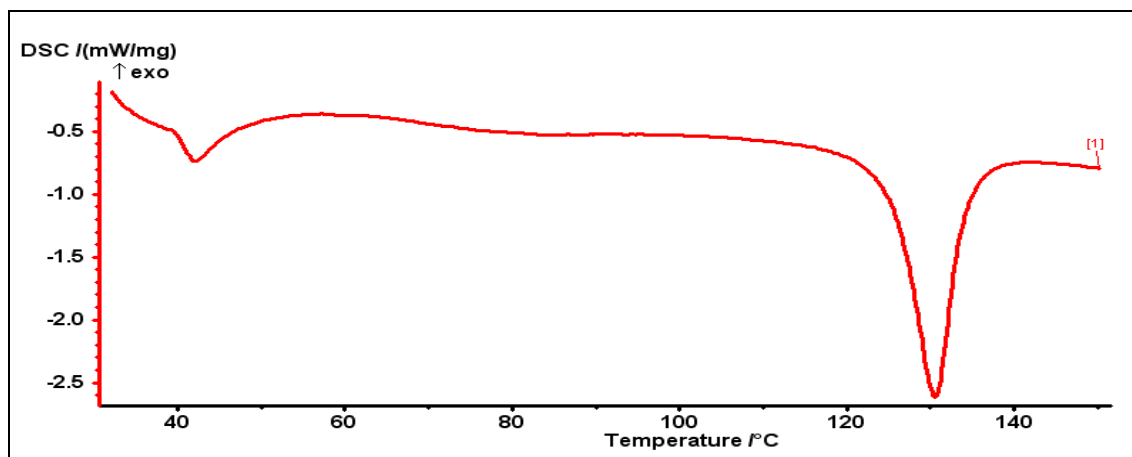


Figura 6- Curva de DSC da estrutura polimórfica da Tolbutamida A2: 5,0 mg, vazão de nitrogênio de 50 mL.min⁻¹, taxa de aquecimento de 10°C. min⁻¹.

A curva de DSC da tolbutamida B2 (figura 7) é bastante diferente da curva de DSC da tolbutamida A2 (figura 7). Também são observados dois sinais endotérmicos, o primeiro próximo a 40, e o segundo em 113°C. O primeiro evento também deve ser explicado pelo rearranjo das ligações hidrogênio, como na tolbutamida A2, e o segundo, referente a temperatura de fusão desta estrutura obtida. A pequena diferença entre os pontos de fusão encontrados para essa estrutura B2 deve estar relacionada com a presença do solvente 1-octanol que não se conseguiu retirar totalmente da amostra.

A mudança no ponto de fusão, que aconteceu bem antes da faixa de 126-132°C, já indica a possibilidade de formação de uma forma cristalina diferente da tolbutamida A2. O perfil da curva de DSC da tolbutamida B2 está de acordo com aquele apresentado em 1984, por Rowe e Anderson²⁸, e denominado de forma III, onde o segundo pico referente à fusão se encontra na faixa de 98-118°C. Chakravarty *et.al.*²¹ apresentaram uma nova estrutura cristalina da tolbutamida denominado de forma O, o qual foi também preparado usando-se o solvente 1-octanol. O ponto de fusão para esta espécie está também na faixa de temperatura determinada por Rowe e Anderson, ou seja, entre 98-118°C. Sendo assim, em função do ponto de fusão sugere-se que a tolbutamida B, obtida neste trabalho, é uma outra forma cristalina da tolbutamida já conhecida e caracterizada na literatura²¹. Entretanto, a confirmação será feita por meio de outras técnicas de caracterização.

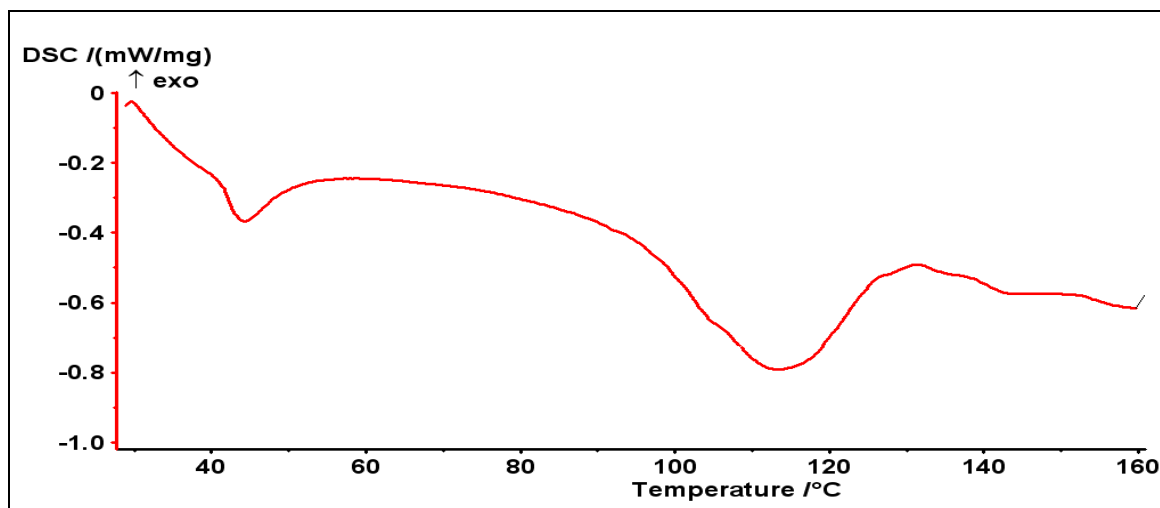


Figura 7- Curva de DSC da estrutura polimórfica da Tolbutamida B2: 5,0 mg, vazão de nitrogênio de $50 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, taxa de aquecimento de $10^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$

A figura 8 apresenta as curvas de DSC para a tolbutamida A1 e B1. Ambas as amostras possuem dois picos endotérmicos, sendo que o primeiro pico aparece aproximadamente na mesma temperatura (40°C) que o verificado para a tolbutamida A2 e B2. Entretanto, o segundo pico, referente a temperatura de fusão das amostras, também são diferentes como observado anteriormente para A2 e B2.

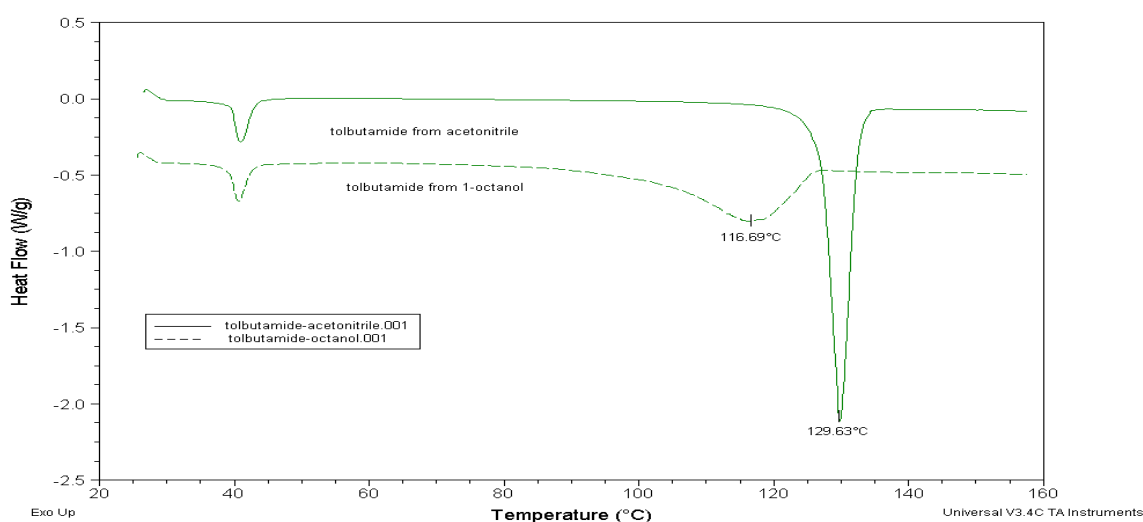


Figura 8- Curva de DSC da estrutura polimórfica da Tolbutamida A1 e Tolbutamida B1. Massa de amostra: 5,0 mg, vazão de nitrogênio de $50 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, taxa de aquecimento de $10^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$, numa escala de 25 a 160°C .

Nas curvas de DSC da tolbutamida C (figura 9) e tolbutamida D (figura 10) observa-se também a presença de dois picos endotérmicos, como nos demais casos. Ambas as amostras possuem curvas de DSC semelhantes à curva da tolbutamida MP, porém, não se pode afirmar se alguma mudança ocorreu em suas estruturas cristalinas se levarmos em consideração apenas esta análise.

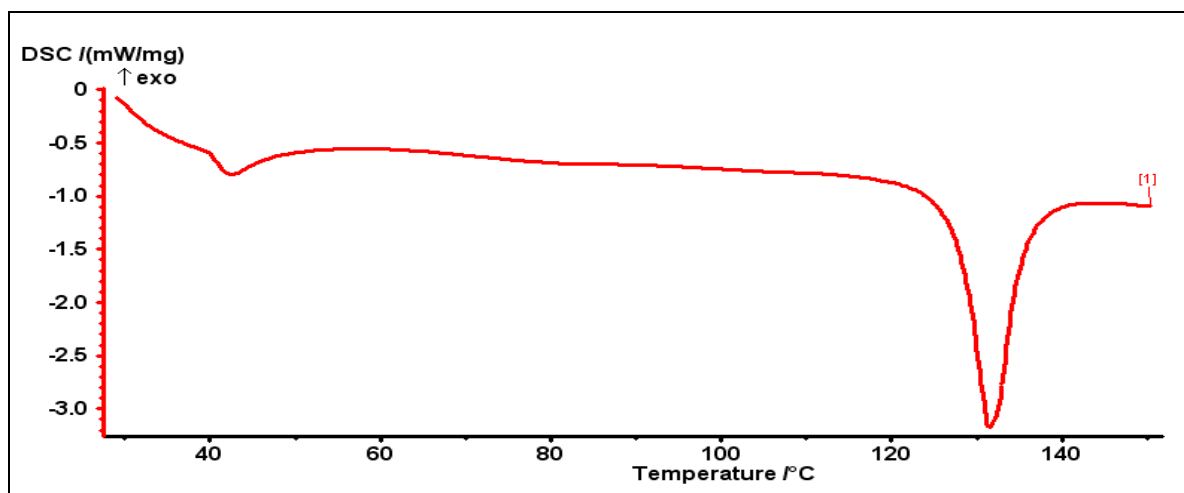


Figura 9- Curva de DSC da estrutura polimórfica da Tolbutamida C (solvente clorofórmio): 5,0 mg, vazão de nitrogênio de 50 mL.min⁻¹, taxa de aquecimento de 10°C. min⁻¹.

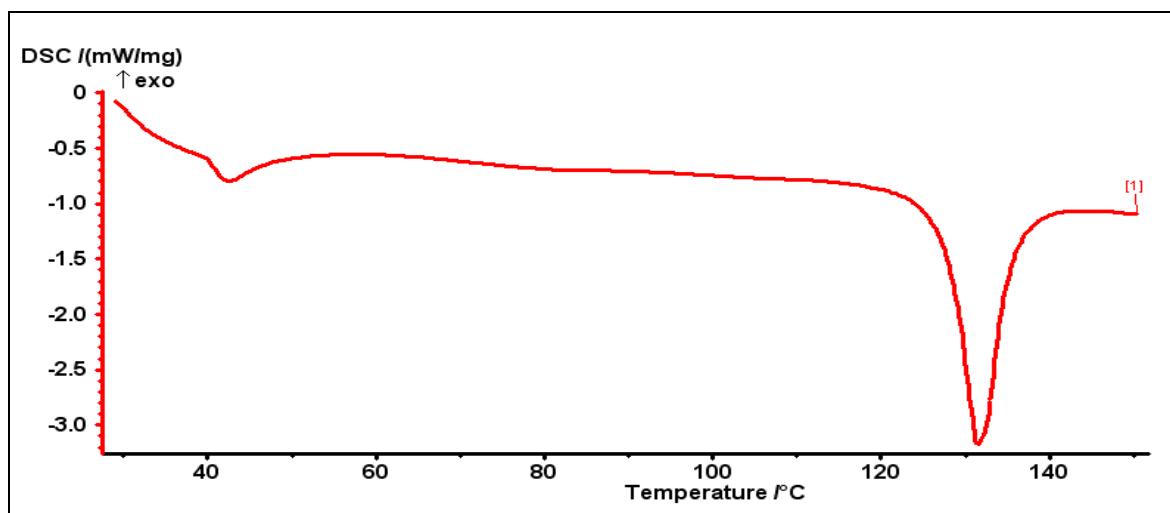


Figura 10- Curva de DSC da estrutura polimórfica da Tolbutamida D (solvente etanol): 5,0 mg, vazão de nitrogênio de 50 mL.min⁻¹, taxa de aquecimento de 10°C. min⁻¹, numa escala de 25 a 160°C.

As observações realizadas nas curvas de DSC para as diferentes formas da tolbutamida são resumidas na tabela 6.

Tabela 6- Valores de temperaturas de transição observadas nas curvas de DSC para a tolbutamida.

Polimorfo	Pico 1 (°C)	Pico 2 (°C)
Tolbutamida MP	41	129
Tolbutamida A1	40	128
Tolbutamida A2	40	127
Tolbutamida B1	40	110
Tolbutamida B2	40	113
Tolbutamida C	40	128
Tolbutamida D	40	128

Comparando-se os valores de ponto de fusão para as formas A1 e A2, bem como, para as formas B1 e B2 é possível avaliar a necessidade de um controle rígido das condições experimentais para a reprodutibilidade de resultados. As amostras em duplicata foram cristalizadas em diferentes laboratórios e mostrou uma variação no ponto de fusão, embora, os valores estejam dentro da faixa aceita para a tolbutamida. No caso das formas C e D, que foram cristalizadas no mesmo laboratório e parecem ser semelhantes entre si, o valor da temperatura referente ao ponto de fusão foi o mesmo. Por outro lado, deve-se considerar que o ponto de fusão não é um parâmetro significativamente diferencial já que a faixa de temperatura aceita para o ponto de fusão é muito grande. Se apenas este parâmetro for considerado, poder-se-ia julgar que as formas C e D são semelhantes à tolbutamida MP e, portanto, não representam formas cristalinas diferentes deste fármaco. Entretanto, a estrutura cristalina das formas C e D deverá ser caracterizada por técnicas, como a difratometria de raio-X, por exemplo para confirmar a existência de polimorfismo ou não.

4.3.1.2 Nifedipina

A curva de DSC da nifedipina MP (Figura 11), apresentou apenas um pico endotérmico que é referente à temperatura de fusão (172 °C). O valor está de acordo com o certificado de análise desta matéria-prima enviado pela Sigma-Aldrich, que determinou a faixa de 172-174°C.

A análise por DSC da nifedipina MP foi replicada cinco vezes nas mesmas condições e os resultados obtidos estão descritos na tabela 7. Pode-se observar uma boa repetibilidade dos resultados.

Tabela 7- Repetibilidade da nifedipina MP, através da curva de DSC (margem de erro de $\pm 2^\circ\text{C}$).

Nifedipina MP	T (°C)
1	172
2	172
3	172
4	172
5	172
Média	172

Também foram analisadas as curvas de DSC da nifedipina A2, nifedipina B2, nifedipina C e D.

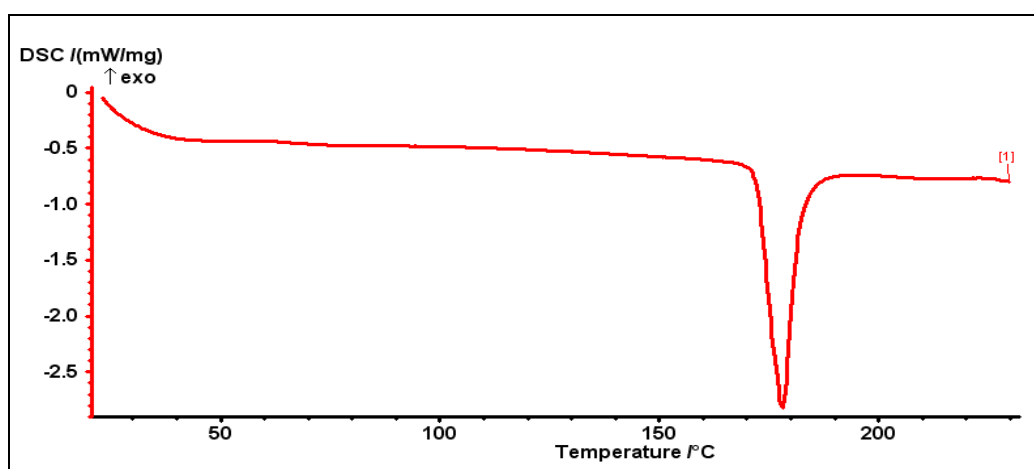


Figura 11-Curva de DSC da forma cristalina da Nifedipina MP: 5,0 mg, vazão de nitrogênio de 50 mL.min⁻¹, taxa de aquecimento de 20°C. min⁻¹.

A nifedipina A2 obtida após fusão e resfriamento rápido (figura 12), apresentou dois sinais na curva de DSC, um exotérmico a temperatura de 91°C e outro endotérmico a 171°C. O primeiro pode ser explicado pela transição do estado amorfo em cristalino, acelerado pela ação da temperatura, e o segundo referente a temperatura de fusão da nifedipina cristalina. Sendo a nifedipina amorfa bastante irregular, esta tende a se organizar e se converter à forma mais estável, que é a cristalina, por isto observa-se, na curva de DSC a presença do primeiro sinal exotérmico, que caracteriza a estrutura como sendo amorfa.

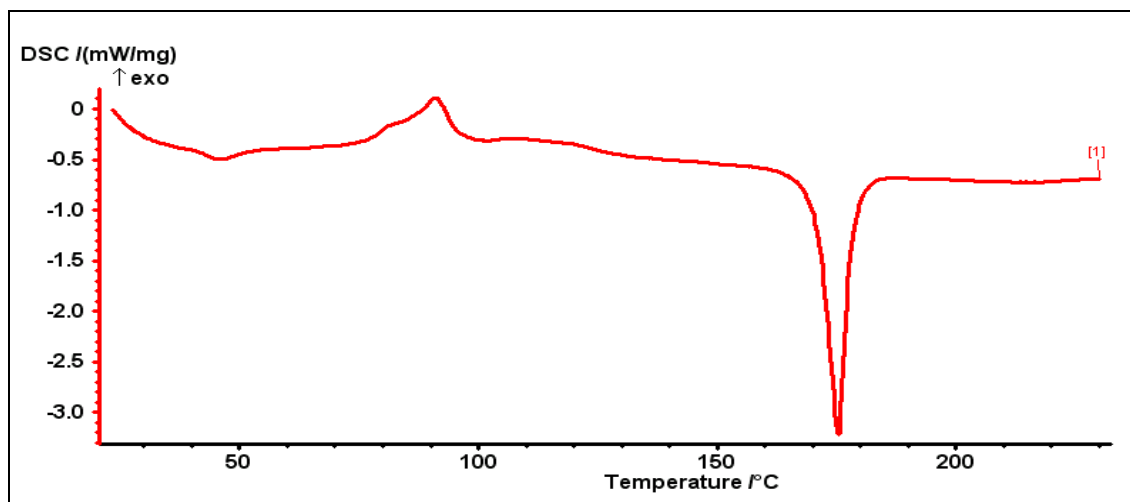


Figura 12-Curva de DSC da estrutura amorfa da nifedipina (Nifedipina A2): 5,0 mg, vazão de nitrogênio de 50 mL.min⁻¹, taxa de aquecimento de 20°C. min⁻¹, numa escala de 25 a 210°C.

No estágio realizado no laboratório de Química da Universidade de Toledo, Ohio, EUA, foram geradas curvas de DSC da nifedipina MP e amorfa (Nifedipina A1) usando-se os mesmos procedimentos e resultados semelhantes foram observados nas curvas de DSC (figura 13). Entretanto, a curva para a amostra que permaneceu alguns dias guardada em dessecador, revelou o desaparecimento do sinal exotérmico. Esta informação indicou que a nifedipina no estado amorfo é instável, mesmo a temperatura ambiente, e que apresenta uma cinética rápida de transformação.

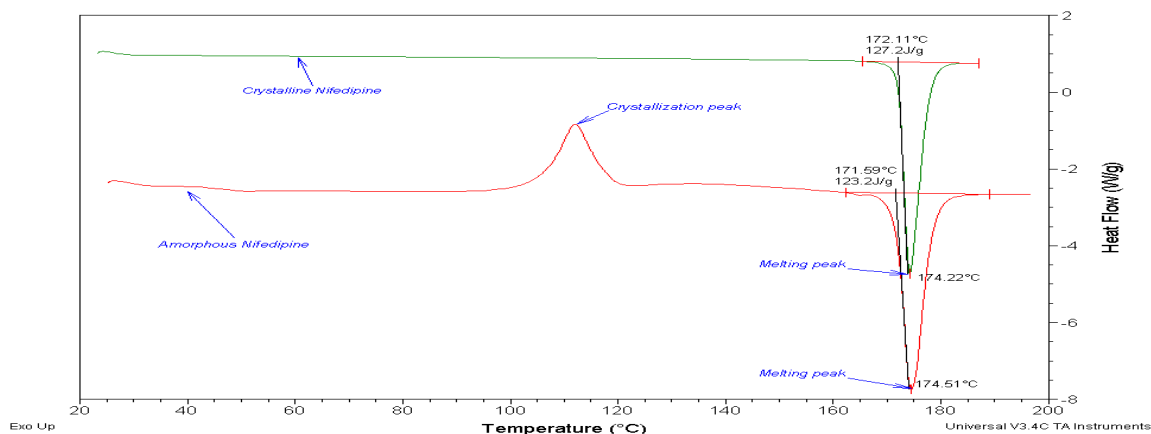


Figura 13- Curva de DSC da Nifedipina MP e da Nifedipina A1, analisadas no Laboratório de Química da Universidade de Toledo, EUA: 5,0 mg, vazão de nitrogênio de 50 mL.min⁻¹, taxa de aquecimento de 20°C. min⁻¹, numa escala de 25 a 200°C.

Na curva de DSC da nifedipina B2 (figura 14) se observou a presença de dois sinais endotérmicos. O primeiro à temperatura de 150 e o segundo a 172°C. Na análise da curva de termogravimetria (TG) se pode observar que ocorreu uma perda de massa de 11 % na mesma faixa de temperatura em que ocorreu o primeiro sinal endotérmico no DSC. Esta observação caracteriza uma provável perda de solvente que se incorporou a estrutura cristalina da nifedipina. Esse fato sugere a formação de um solvato, ou seja, a amostra obtida deve ser um pseudopolimorfo²⁹. O segundo sinal a 172°C refere-se à temperatura de fusão da nifedipina. Na literatura²⁴ foi relatada, pela primeira vez, a espécie solvatada desta substância,

utilizando-se o solvente 1,4-dioxano, com as mesmas características da nifedipina B2, aqui apresentada.

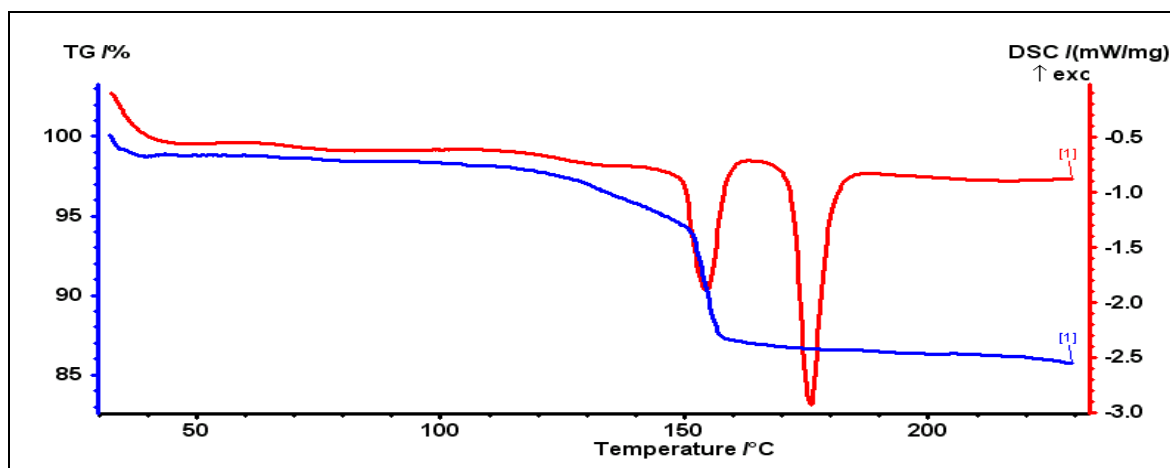


Figura 14-Curva de DSC e TG da Nifedipina B2: 5,0 mg, vazão de nitrogênio de 50 mL.min⁻¹, taxa de aquecimento de 20°C. min⁻¹, numa escala de 25 a 210°C.

Na curva de DSC da nifedipina C (figura 15) e nifedipina D (figura 16) observa-se a presença de apenas um sinal endotérmico referente à temperatura de fusão da nifedipina nas duas formas cristalinas, ou seja, a aproximadamente 172°C para ambas as amostras. Não foi observado picos de dessolvatação, sugerindo que estes solventes não interferiram na estrutura cristalina da nifedipina. Os sinais referentes à fusão são idênticos ao da nifedipina MP não se podendo afirmar se ocorreu alguma mudança na estrutura cristalina dessas amostras, utilizando-se apenas os dados desta técnica de caracterização.

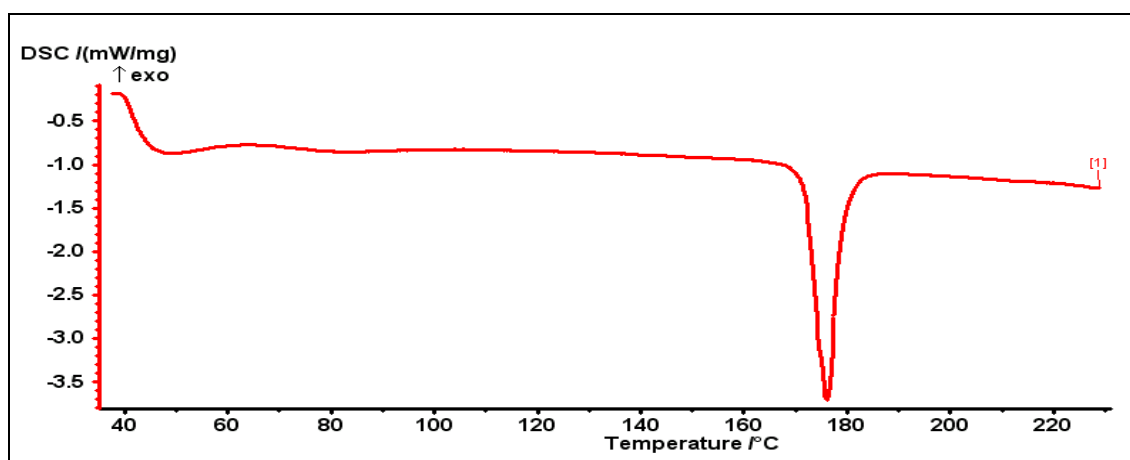


Figura 15- Curva de DSC da Nifedipina C: 5,0 mg, vazão de nitrogênio de 50 mL.min⁻¹, taxa de aquecimento de 20°C. min⁻¹, numa escala de 25 a 210°C.

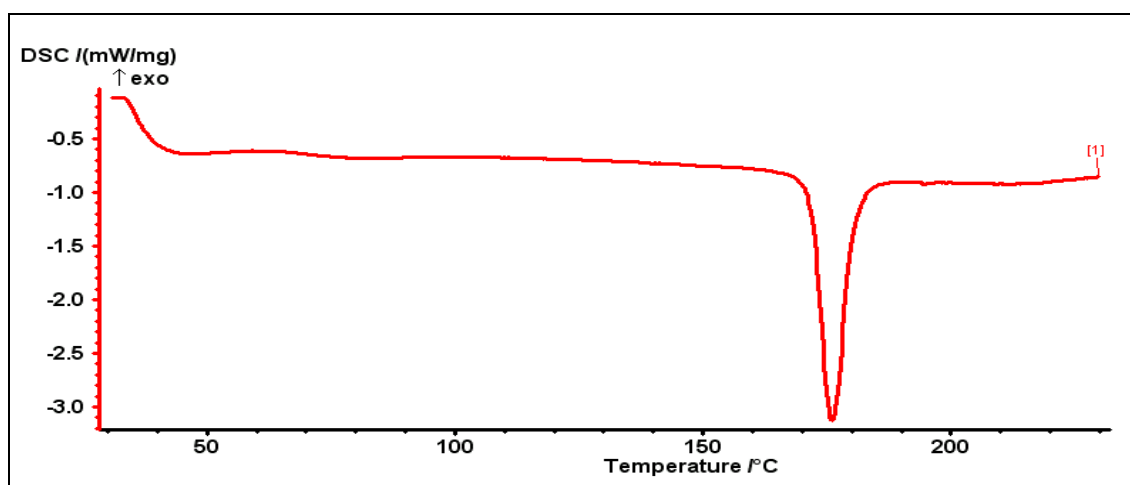


Figura 16- Curva de DSC da Nifedipina D: 5,0 mg, vazão de nitrogênio de 50 mL.min⁻¹, taxa de aquecimento de 20°C. min⁻¹ de 25 a 210°C.

Os valores obtidos a partir da curva de DSC são apresentados na tabela 8. Uma margem de erro de $\pm 2^\circ\text{C}$ deve ser levada em consideração.

Tabela 8- Valores de temperaturas de transição observadas nas curvas de DSC para a nifedipina.

Amostra	Ponto de fusão (°C)
Nifedipina MP	172
Nifedipina A1	172
Nifedipina A2	171
Nifedipina B2	172
Nifedipina C	172
Nifedipina D	172

Ao contrário da tolbutamida, os valores de ponto de fusão da nifedipina determinados experimentalmente se encontram numa faixa estreita de temperatura incluindo-se, neste caso, a nifedipina no estado amorfo. Interessante notar que as curvas de DSC obtidas nos laboratórios de Ohio e da UFF apresentaram o mesmo valor de ponto de fusão para a nifedipina MP. Considerando que o ponto de fusão é uma propriedade específica da

substância e a nifedipina vem mostrando uma faixa de valores bem estreita para esta propriedade, há de pensar que esta espécie química se encontra num grau de pureza maior que no caso da tolbutamida, cujos valores estavam um pouco mais dispersos.

No caso da nifedipina, as curvas de DSC foram úteis não só para fornecer a temperatura de fusão da amostra, mas, também, para indicar se a substância estava no estado amorfo ou cristalino e, ainda, se houve a formação de solvatos.

4.3.2 Estudo da estabilidade da Nifedipina amorfa (Nifedipina A2) por DSC

Como dito anteriormente, a nifedipina amorfa (Nifedipina A2), tende a se reestruturar facilmente com o passar do tempo, até se apresentar sob uma forma cristalina^{24,29,30,31}.

A área do sinal endotérmico ou exotérmico na curva de DSC representa em J/g, a quantidade de calor envolvida em um evento físico ou químico e esta quantidade de calor é proporcional a quantidade de amostra que sofre o evento. Analisando-se, por exemplo, um fármaco no estado amorfo por DSC, por um período de tempo, e acompanhando-se a diminuição da área do sinal de transformação, é possível verificar o tempo necessário para que este passe do estado amorfo para uma forma cristalina e, portanto, conhecer a estabilidade do mesmo. A calorimetria diferencial de varredura é então, uma técnica ótima para o acompanhamento de uma transição de fase, ou seja, permite que se avalie a estabilidade de uma substância estocada em relação ao tempo.

Caira e colaboradores²⁴ acompanharam por DSC a transformação do estado amorfo para cristalino da nifedipina. Verificaram que, dependendo da temperatura e da umidade relativa de acondicionamento a velocidade de transformação de uma fase em outra era diferente, além do que o sinal exotérmico que representa essa transformação também aparece em temperaturas diferentes. A nifedipina amorfa estocada a 25°C com 60% de umidade apresenta curva de DSC com sinal exotérmico em torno de 91 a 98°C, enquanto que aquela armazenada a 40°C, e mesmo percentual de umidade, apresenta um sinal de transformação sólido-sólido em torno de 110°C. Sugeriram não ser uma conversão muito simples, dado que na curva de DSC apareciam sinais endotérmicos e exotérmicos menos intensos o que podia indicar que a transição ocorria através de intermediários. Confirmaram essa suspeita realizando análises por microscopia com aquecimento.

A nifedipina amorfa obtida neste estudo foi preparada de acordo com metodologia descrita no item 4.3.3 e imediatamente analisada por DSC. A curva resultante apresentada na figura 17 indica um sinal exotérmico a 91°C referente a cristalização. A nifedipina, sob uma forma cristalina, fundiu em 171°C, evento representado pelo sinal endotérmico na mesma curva.

Ampliando a curva de DSC da nifedipina amorfa recém preparada na faixa de temperatura da transformação sólido-sólido, verificou-se nitidamente a presença do sinal intenso em 91°C que se sobrepõe a um outro sinal, também exotérmico, próximo a 114°C. Interessante é que a amostra aqui obtida apresenta, para o evento exotérmico, características parecidas com as duas formas de estocagem acima citadas, sem, entretanto, ser acondicionada, uma vez que foi analisada imediatamente. A área total do sinal foi medida em 54,8J/g.

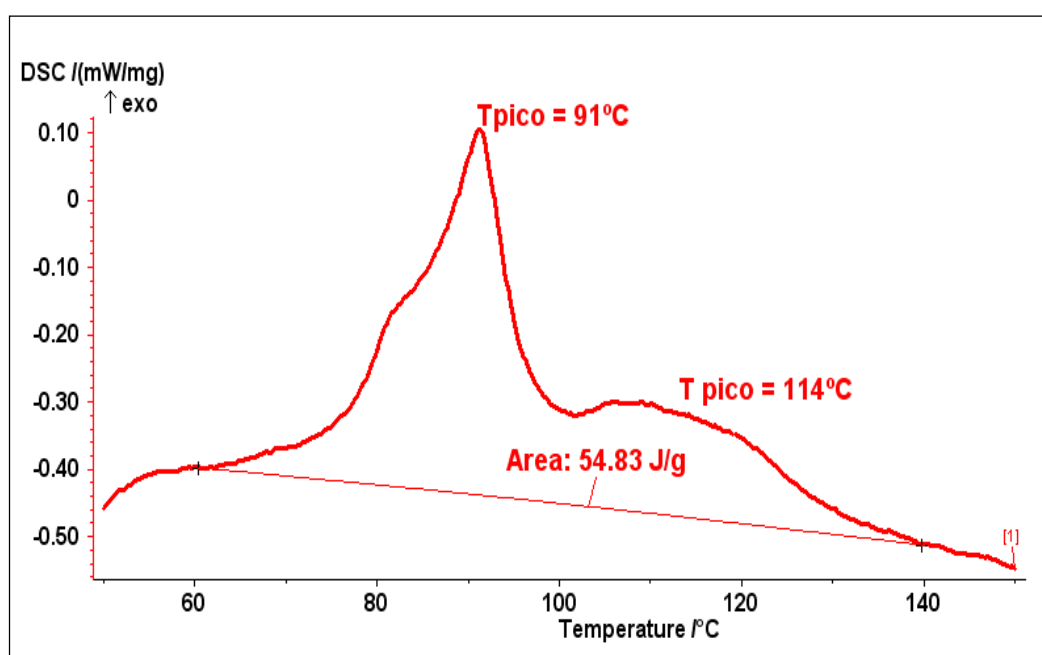


Figura 17- Curva de DSC da Nifedipina A2 realizada logo após o preparo da amostra no estado amorfo.

Após três dias mantidas à temperatura ambiente em dessecador com sílica, a amostra gerou a curva de DSC que foi realizada sob as mesmas condições que a amostra recém preparada. Observou-se sinal da transformação de fase, com pico de área de 9,1 J/g, na

temperatura de 104°C (Figura 18). Em três dias a diminuição drástica da área, indicou que a nifedipina amorfa se transforma muito rapidamente, à temperatura ambiente, em sua forma mais estável.

Curvas de DSC foram geradas para amostragens em sete, dez, quatorze, vinte e trinta dias. Do terceiro ao décimo-quarto dia, a curva de DSC indicou manutenção da área deste sinal. Após 20 dias a área diminuiu para 3,5 J/g e após 30 dias o sinal não era mais detectado nesta temperatura (tabela 9).

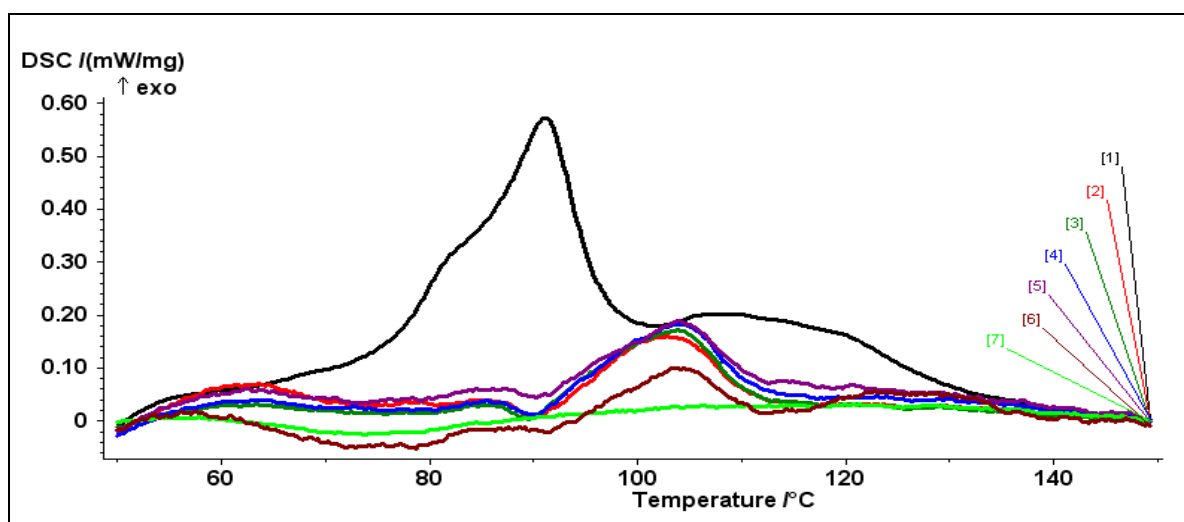


Figura 18- Sobreposição das curvas de DSC do estado amorfo da Nifedipina A2 em dias subsequentes a seu preparo: [1] amostra recém preparada, [2] após três dias, [3] após 7 dias, [4] após 10 dias, [5] após 14 dias, [6] após 21 dias e [7] após 30 dias: 5.0 mg, vazão de nitrogênio de 50 mL.min⁻¹, taxa de aquecimento de 20°C. min⁻¹ de 25 a 230°C.

Tabela 9- Resultados obtidos nas curvas de DSC para acompanhamento da estabilidade da Nifedipina amorfa.

DSC	Nifedipina Amorfa	
Dia da análise	T do pico exotérmico (°C)	Área do sinal exotérmico (J/g)
1º dia	91 e 114	55
3º dia	104	9
7º dia	104	11
10º dia	104	10

14° dia	104	8
21° dia	104	4
30° dia	-	-

Em relação a observação de mudança de temperatura do sinal exotérmico que na amostra recém-preparada ocorreu em 91 e em 114°C e que após 3 dias passou a ocorrer em 104°C, pode-se explicar da seguinte forma: a nifedipina A2 analisada logo após sua preparação se apresentava no estado amorfo. Após três dias, em repouso em dessecador, se transformou em uma forma cristalina um pouco mais estável que o estado amorfo, cuja transformação para a forma cristalina mais estável, ocorreu mais lentamente, à temperatura ambiente, e apresentava sinal de transformação para uma forma cristalina mais estável a 104°C. A forma cristalina mais estável é aquela da nifedipina MP que apresenta ponto de fusão em torno de 172°C. Esta explicação está de acordo com as observações realizadas por Hirayama e colaboradores³² e confirmada mais recentemente por Keymolen e colaboradores³³.

4.3.3 Caracterização por difratometria de raios-x

De acordo com Cullity¹⁸, uma comparação qualitativa entre perfis de difratograma de raio-X pode ser feita com base nos três picos mais intensos. Sendo assim, tanto no caso da tolbutamida quanto para a nifedipina, foram considerados os três picos de maior intensidade e os seus respectivos valores de 2θ .

4.3.3.1 Tolbutamida

O difratograma de raio-x das amostras de tolbutamida A1 e tolbutamida B1 são apresentados na figura 19.

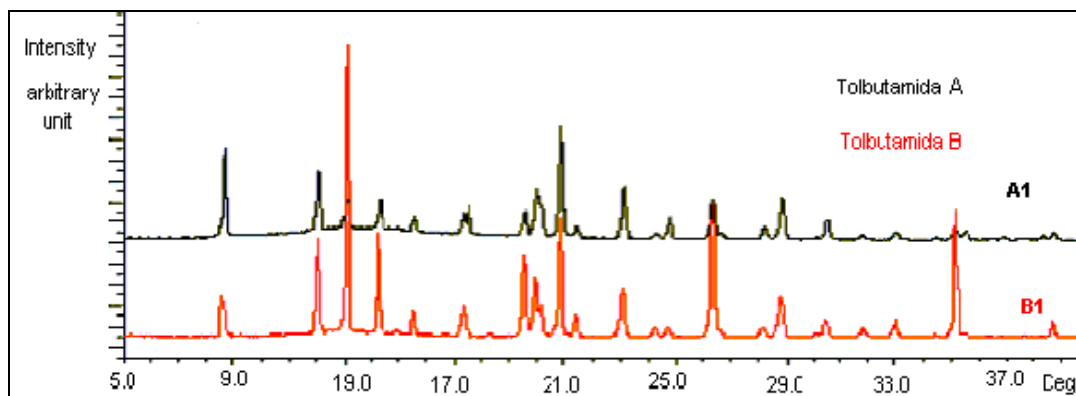


Figura 19- Difratomogramas da Tolbutamida A1 e da Tolbutamida B1.

Os perfis dos difratogramas mostram duas substâncias cristalinas, com picos bem definidos, sendo que a tolbutamida B1 possui picos mais intensos em 13°, 14,5°, 19,5°, 26,5° e 35°. Este difratograma é bastante semelhante aquele atribuído a forma III da tolbutamida, citada na literatura^{25,26}, que foi cristalizada em etanol (60°C) e caracterizada por Kimura *et al*²⁶. O difratograma aqui obtido também está de acordo com aquele apresentado por Chakravarty *et al*²¹ que relatou a obtenção de um polimorfo denominado forma O, cristalizado em 1-octanol.

O perfil de difração de raio-x da tolbutamida A1 é bastante semelhante ao difratograma apresentado para a forma I, cristalizada em benzeno (70°C), como descrito na literatura^{25,26}. Estas observações indicam que a tolbutamida A1 e B1 obtidas experimentalmente neste trabalho são estruturas polimórficas já caracterizadas na literatura e, se analisadas juntamente com as curvas de DSC (figuras 8), podem ser consideradas realmente como polimorfos de uma substância.

Os difratogramas das amostras da tolbutamida MP, tolbutamida C e tolbutamida D, são apresentados a seguir (figura 20).

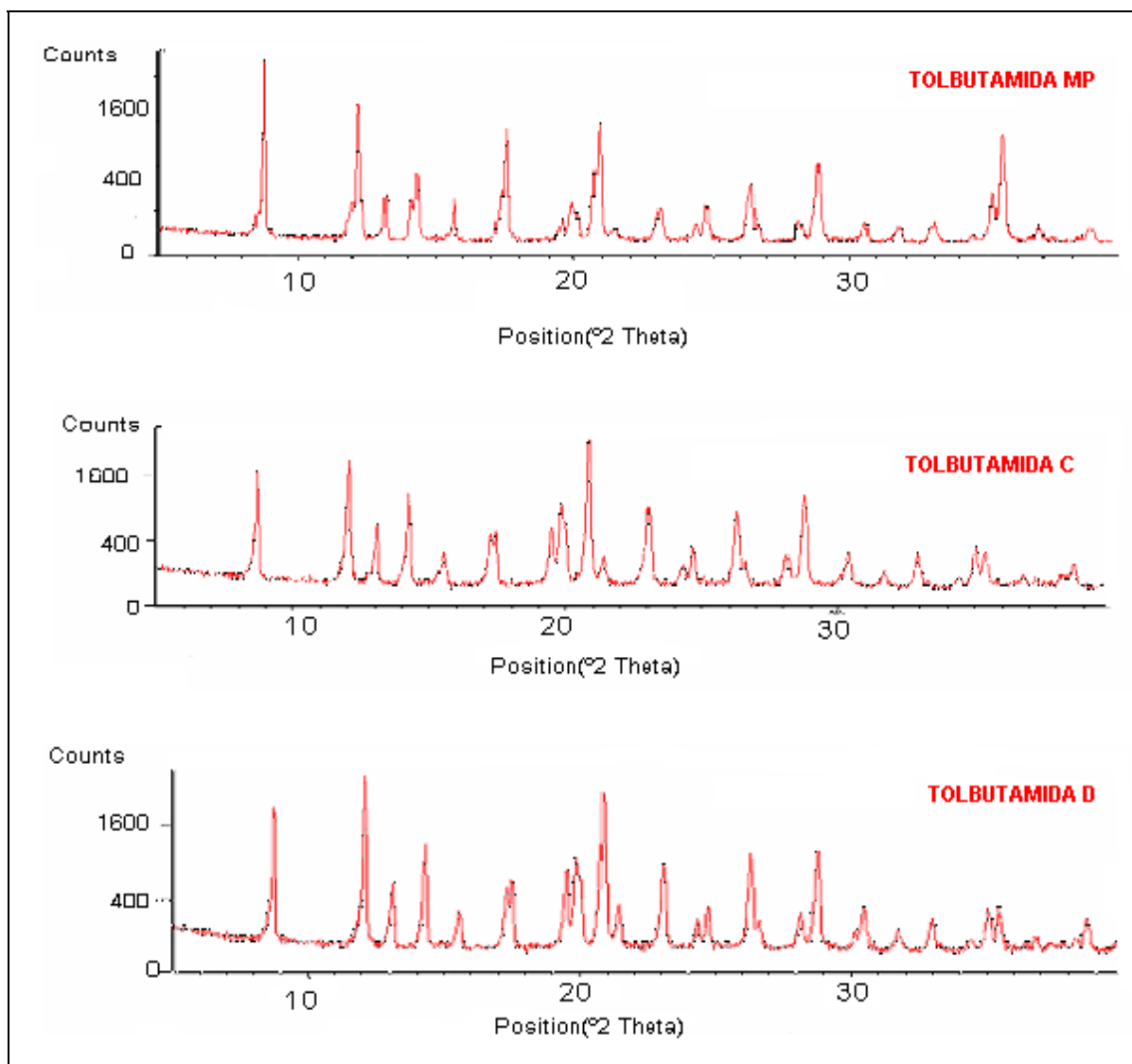


Figura 20- Difratomogramas de raio-X da Tolbutamida MP, Tolbutamida C e Tolbutamida D.

A tolbutamida C e D apresentaram um perfil de difração de raio-X bem semelhantes entre si mas com algumas diferenças em relação a intensidade dos picos da tolbutamida MP (figura 20). Entretanto, não se pode afirmar, somente por esta técnica, se tais formas apresentam estruturas cristalinas diferentes da tolbutamida MP, pois deve-se levar em consideração, não apenas a intensidade dos picos e sim a posição destes, para afirmar se houve ou não mudança na cristalinidade dessas substâncias. Portanto, ainda não se pode afirmar que a tolbutamida C e D são polimorfos, já que possuem um perfil de difração de raio-X e curva de calorimetria diferencial de varredura (DSC) bastante semelhantes.

A tolbutamida nas formas MP, A, C e D apresentou com maior intensidade os picos com 2θ em valores próximos a 8,75; 12 e 21. Em todas estas formas, o grupo dos três picos

mais intensos foi sempre o mesmo. Este parâmetro caracteriza a tolbutamida nas formas MP, A, C e D como possuindo a mesma estrutura cristalina, não sendo, portanto, polimorfos entre si. Quanto a tolbutamida na forma B1, o grupo dos três picos mais intensos é formado por 2θ em torno de 19, 21 e 26,5, o que torna a tolbutamida na forma B diferente das demais. Considerando-se que a curva de DSC mostrou que o ponto de fusão da tolbutamida B1 não pertence aos limites da faixa das demais, têm-se neste caso, dois parâmetros concordantes e indicativos de que a forma B1 se apresenta como um polimorfo da tolbutamida.

4.3.3.2 Nifedipina

De acordo com a literatura ²⁴, a nifedipina MP é a que possui a estrutura cristalina mais estável, por isso é a forma utilizada na produção deste medicamento. O difratograma de raio-x da nifedipina MP é apresentado na figura 21(a).

O difratograma de raio-X da nifedipina A2 (figura 21(b)), confirma a natureza amorfa desta substância. A formação da nifedipina amorfa foi atribuída à perda de cristalinidade causada pela fusão e subsequente resfriamento rápido da nifedipina MP, durante o preparo. Pode-se observar no difratograma da figura 21(b) que a estrutura amorfa está apenas começando a se modificar para uma estrutura cristalina, pois ainda não há formação de nenhum pico discernível. Esta mudança rápida na sua cristalinidade deve-se ao fato de que a nifedipina amorfa é bastante instável e rapidamente tende a se modificar para uma estrutura mais estável e ordenada.

A Nifedipina B2 como verificado pela curva de DSC, apresenta moléculas do solvente 1,4- dioxano interferindo na sua estrutura cristalina, sendo, portanto um pseudopolimórfico e, por isto, possui alguns picos bastante distintos e característicos, como pode-se observar na figura 21(c).

Os perfis das amostras da nifedipina C (figura 21 (d)) e nifedipina D (figura 21 (e)) são bastante diferentes quanto a intensidade dos picos.

A literatura ^{24,34,35} relata apenas a diferença do perfil de difração de raio-x em relação à sua natureza, ou seja, para saber se a amostra é amorfa, solvatada ou cristalina e por isto, esta técnica não é adequada para ser usada separadamente. Comparando os perfis de difração de raio-x e as curvas de calorimetria diferencial de varredura (DSC) da nifedipina C e D, não se

pode afirmar se ambas são substâncias polimórficas, já que não possuem diferenças na curva de DSC, como mostrado anteriormente.

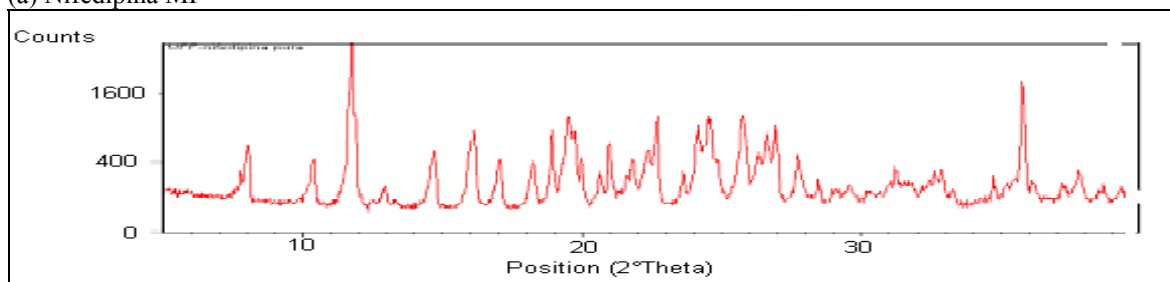
Os difratogramas das amostras da nifedipina MP, nifedipina A2, nifedipina B2, nifedipina C e D, são apresentados a seguir (figura 21).

Os perfis dos difratogramas para as diferentes formas da nifedipina mostraram claramente o estado amorfo sob o qual foi obtida a nifedipina A, mas, por outro lado, tais difratogramas não apresentaram particularidades que permitiram caracterizar com facilidade o aparecimento de polimorfos.

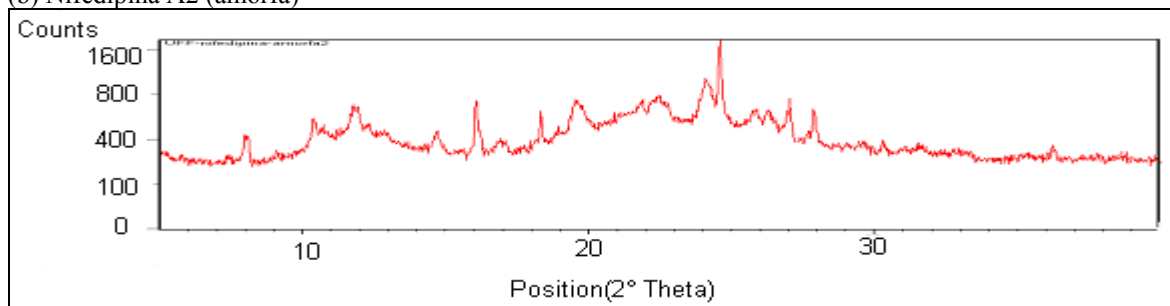
Na figura 21(a), para 2θ em torno de 11,7, aparece o pico que, segundo a literatura²⁴ é característico da nifedipina MP. Este pico aparece com intensidade muito baixa nos demais difratogramas e questionou-se se os produtos cristalizados seriam realmente nifedipina ou uma outra espécie química que teria surgido, mediante a decomposição desta substância, durante o processo de cristalização. Salienta-se também a observação de um pico, cujo 2θ está em torno de 24,65, o qual mereceu especial atenção porque apareceu com intensidade significativa para todas as formas cristalizadas, sendo o mais significativo no difratograma da nifedipina amorfa. Segundo a literatura²⁴ este mesmo pico foi encontrado para a nifedipina solvatada, obtida em meio de 1-4 dioxano, porém, apareceu para a nifedipina MP com baixa intensidade. O fato poderia ser indicativo de que:

- a nifedipina cristalizada estaria numa estrutura diferenciada da MP;
- que o solvato estaria sob a mesma estrutura das demais formas cristalinas; e que,
- a nifedipina no estado amorfo estaria impura, ou seja, contaminada num baixo teor com nifedipina no estado cristalino sendo responsável pelo aparecimento do pico em questão.

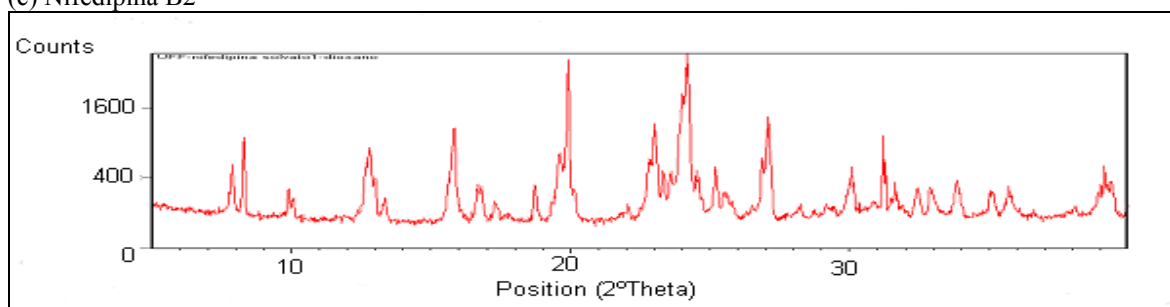
(a) Nifedipina MP



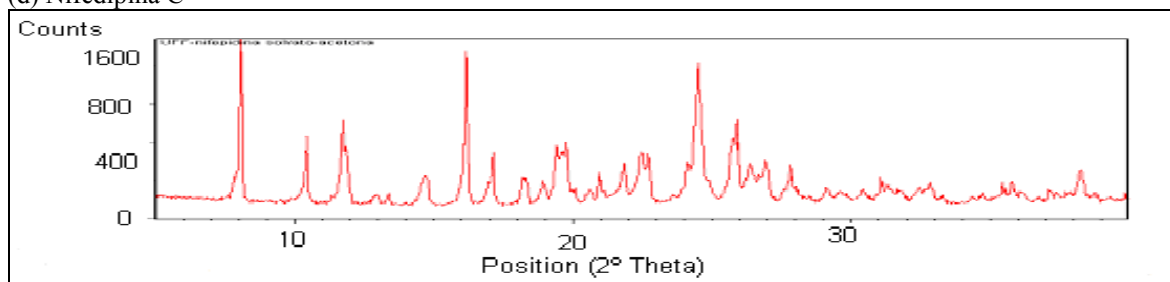
(b) Nifedipina A2 (amorfa)



(c) Nifedipina B2



(d) Nifedipina C



(e) Nifedipina D

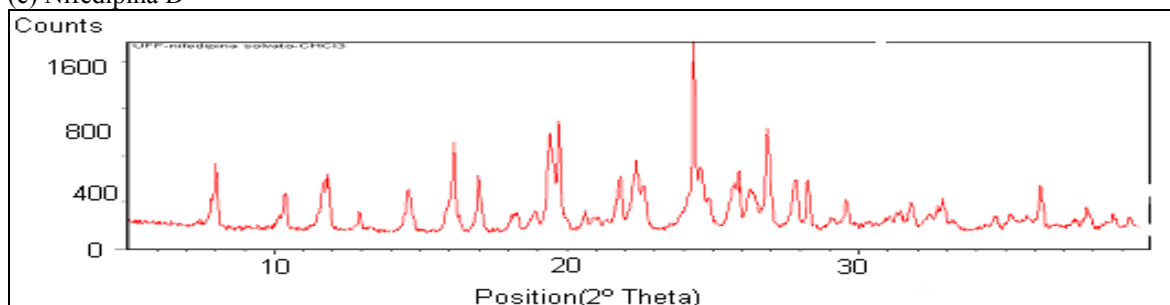


Figura 21- Difratoformas de raio-x da Nifedipina MP (a), Nifedipina A2 (b), Nifedipina B2 (c), Nifedipina C (d), Nifedipina D (e).

Sendo assim, à luz dos difratogramas não foi possível obter informações conclusivas a respeito de polimorfos da nifedipina. Entretanto, as curvas de DSC geraram dados complementares indicando que a nifedipina B2 é um pseudopolimorfo e que a nifedipina A se encontra no estado amorfo.

4.3.4 Caracterização por espectrofotometria de infravermelho

As análises por espectrofotometria de infravermelho são essenciais na caracterização de estruturas polimórficas, quanto a sua estrutura química indicando se houve ou não modificação após o processo de cristalização³⁶.

As amostras foram preparadas em forma de pastilha. Para esse tipo de análise é necessário que cada amostra seja misturada e homogeneizada em geral, com o sal KBr para então ser moldada uma pastilha sob pressão. Esse tipo de procedimento pode acarretar mudanças na estrutura cristalina em análise. O ideal seria ter-se utilizado a análise por infravermelho com acessório de reflectância difusa (Diffuse reflectance IR Fourier Transform-DRIFT)³⁵ em que a amostra é gentilmente misturada ao KBr e analisada diretamente sem passar pelo processo de fabricação de pastilha. Entretanto não se dispunha de tal acessório e o único objetivo, da análise por infravermelho, era o de saber se cada forma cristalina apresentava a mesma estrutura química, ou seja, se os procedimentos de obtenção de diferentes estruturas cristalinas não provocaram modificações em sua estrutura química.

4.3.4.1 Tolbutamida

O espectro de absorção na região do infravermelho da tolbutamida MP (figura 22) apresenta absorções intensas em 3320, 3099 e 1650 cm^{-1} atribuídas ao grupo funcional N-H; em 1661 cm^{-1} , atribuída ao grupo C=O proveniente da amida e absorções na região entre 1330-1140 cm^{-1} atribuída ao grupo sulfona (SO_2), presentes na estrutura química da tolbutamida.

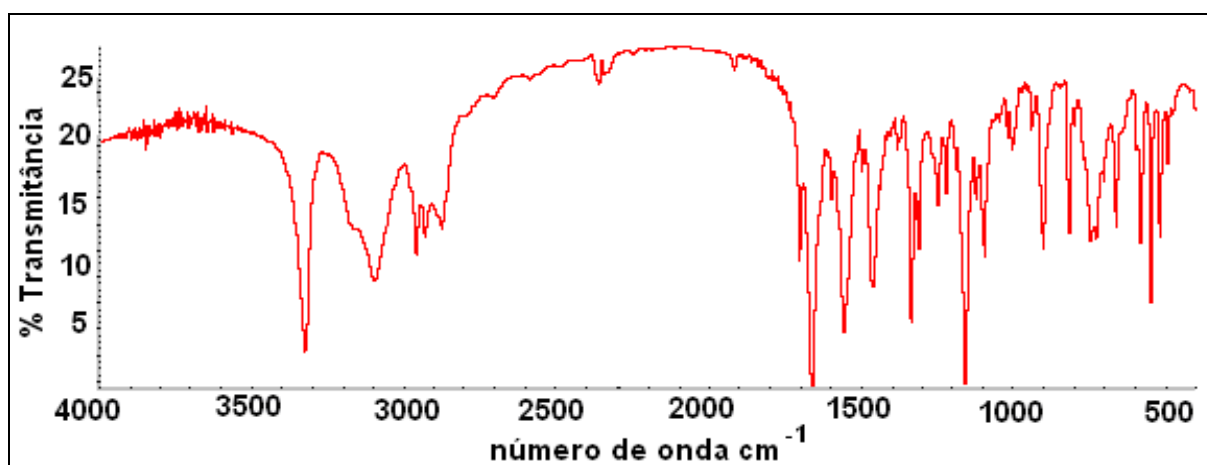


Figura 22-Espectro de absorção na região do infravermelho da Tolbutamida MP.

No espectro de infravermelho da Tolbutamida A2, B2, C e D pode-se observar que não foram encontradas mudanças significativas na composição química destas substâncias, pois apesar de terem sido cristalizadas com diferentes solventes, possuem as mesmas absorções características dos grupos funcionais presentes na Tolbutamida MP.

De acordo com a literatura ²¹, esta técnica isolada não é eficaz para diferenciar as estruturas polimórficas, porém, é útil para averiguar se as principais bandas características da estrutura química da tolbutamida MP estão presentes nas demais estruturas cristalinas. Mesmo depois do processo de cristalização, utilizando-se diferentes solventes, a composição química é a mesma como mostrado nas figuras 23, 24, 25 e 26.

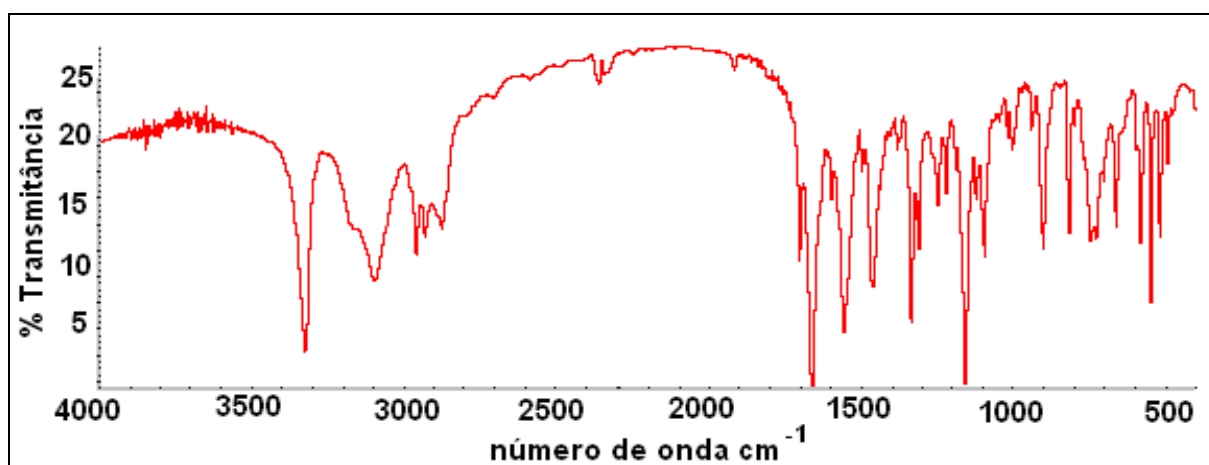


Figura 23 - Espectro de absorção na região do infravermelho da Tolbutamida A2.

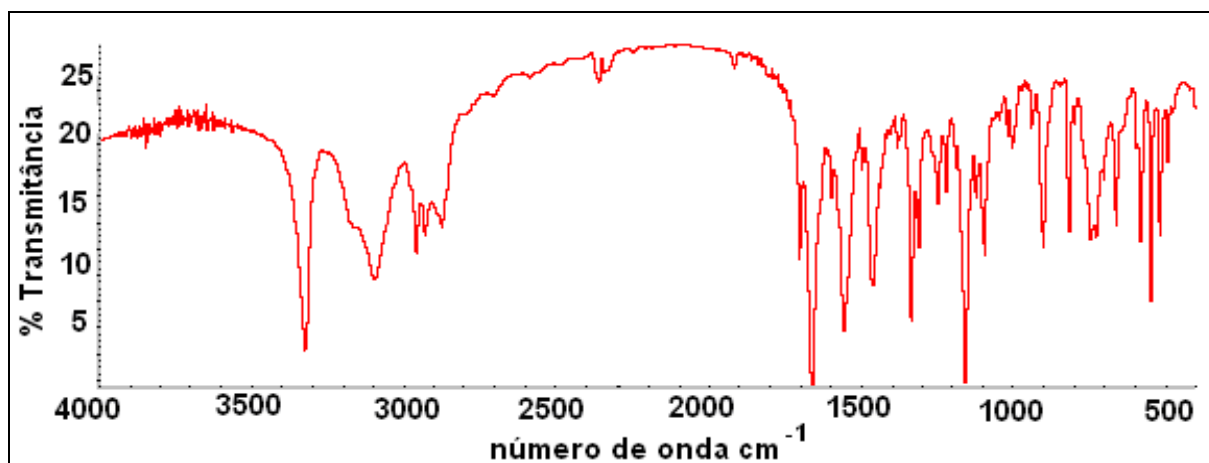


Figura 24- Espectro de absorção na região do infravermelho da Tolbutamida B2.

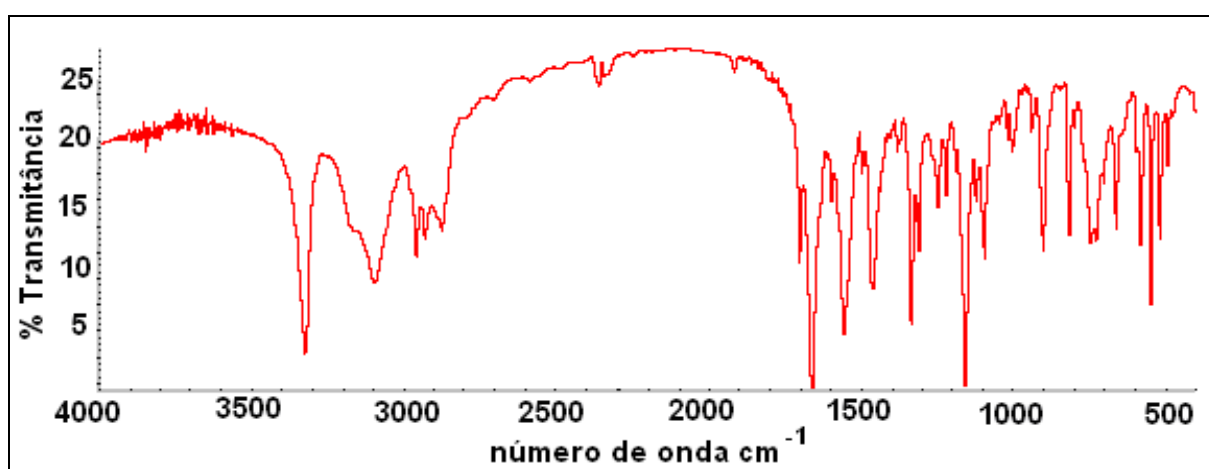


Figura 25- Espectro de absorção na região do infravermelho da Tolbutamida C.

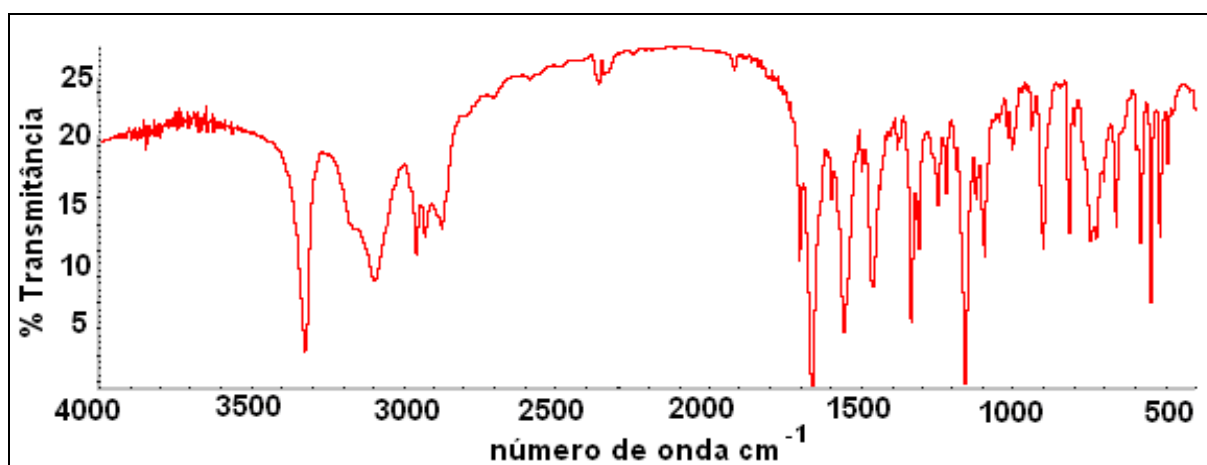


Figura 26- Espectro de absorção na região do infravermelho da Tolbutamida D.

4.3.4.2 Nifedipina

O espectro de absorção na região do infravermelho da Nifedipina MP (figura 27) apresenta as bandas atribuídas aos seus modos vibracionais (cm⁻¹): na região entre 3000-3100, atribuído ao grupo N-H a absorção em 1688 atribuída ao grupo C=O proveniente ao grupo funcional éster.

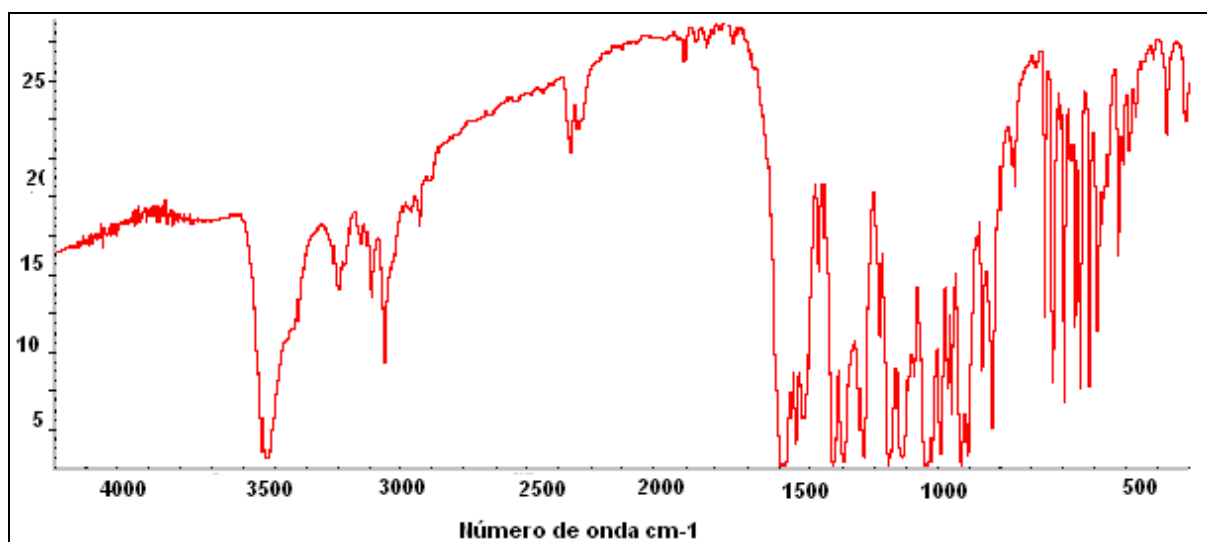


Figura 27- Espectro de absorção na região do infravermelho da Nifedipina MP.

Nos espectros de absorção na região do infravermelho da nifedipina A2, B2, C e D (figuras 28,29,30,31) pode-se observar que não há diferenças claras e bem definidas entre estas estruturas, pois ambas possuem as mesmas absorções características dos grupos funcionais presentes na molécula da nifedipina MP. Porém, no espectro da nifedipina B2 observou-se algumas bandas em 2815.61 cm^{-1} , 1227.97 cm^{-1} e entre $1120-1150\text{ cm}^{-1}$ atribuídas à presença do solvente 1,4-dioxano, que interferiu na estrutura cristalina gerando uma estrutura pseudopolimórfica da nifedipina B2 (solvato), mas não modificou sua estrutura química.

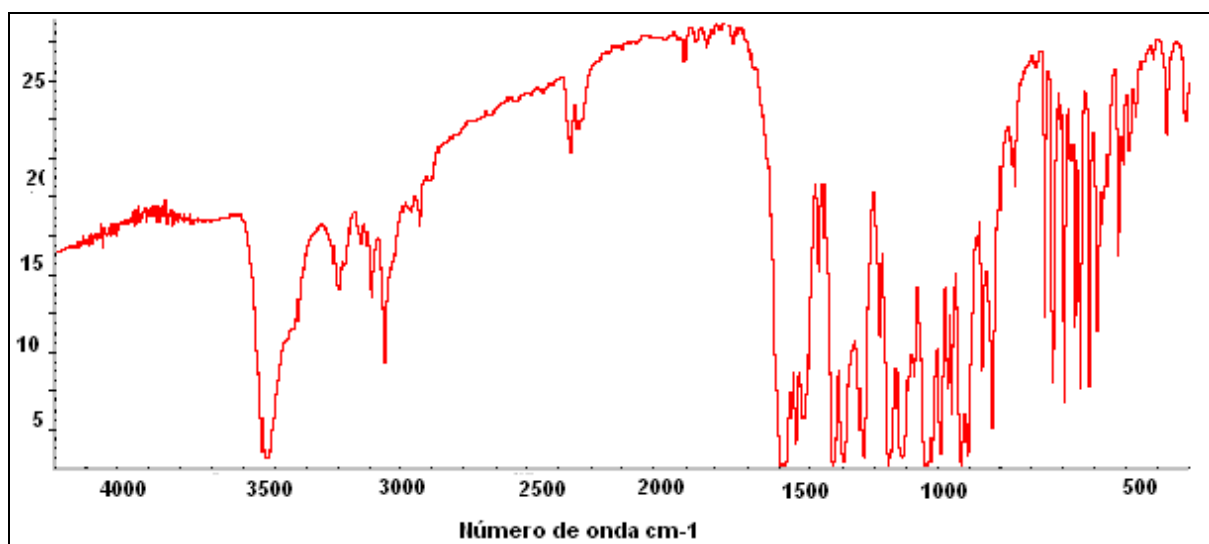


Figura 28-Espectro de absorção na região do infravermelho da Nifedipina A2 (amorfa).

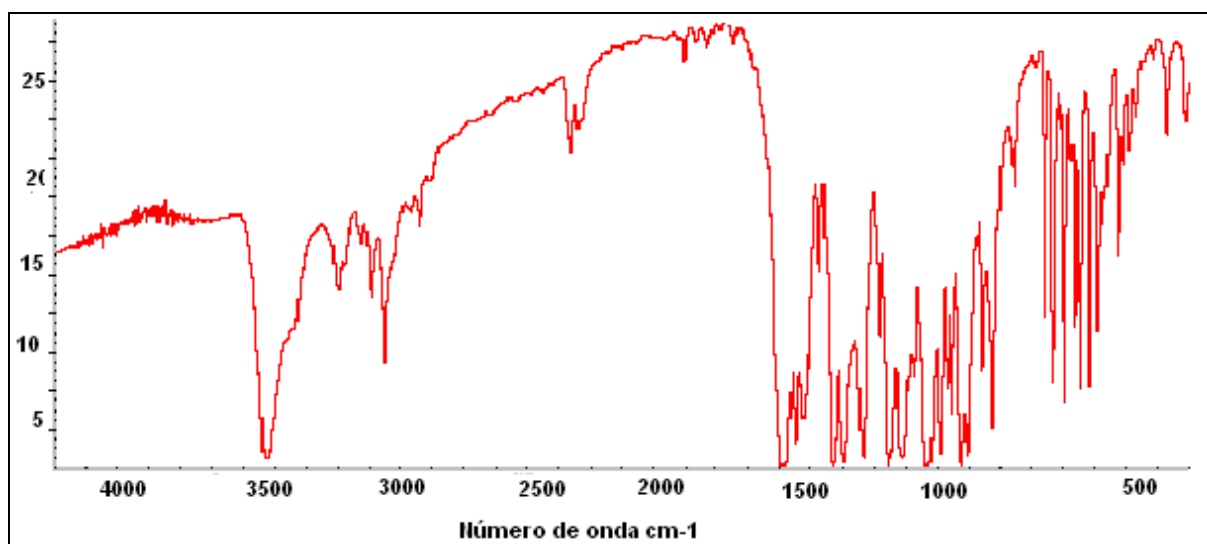


Figura 29- Espectro de absorção na região do infravermelho da Nifedipina B2.

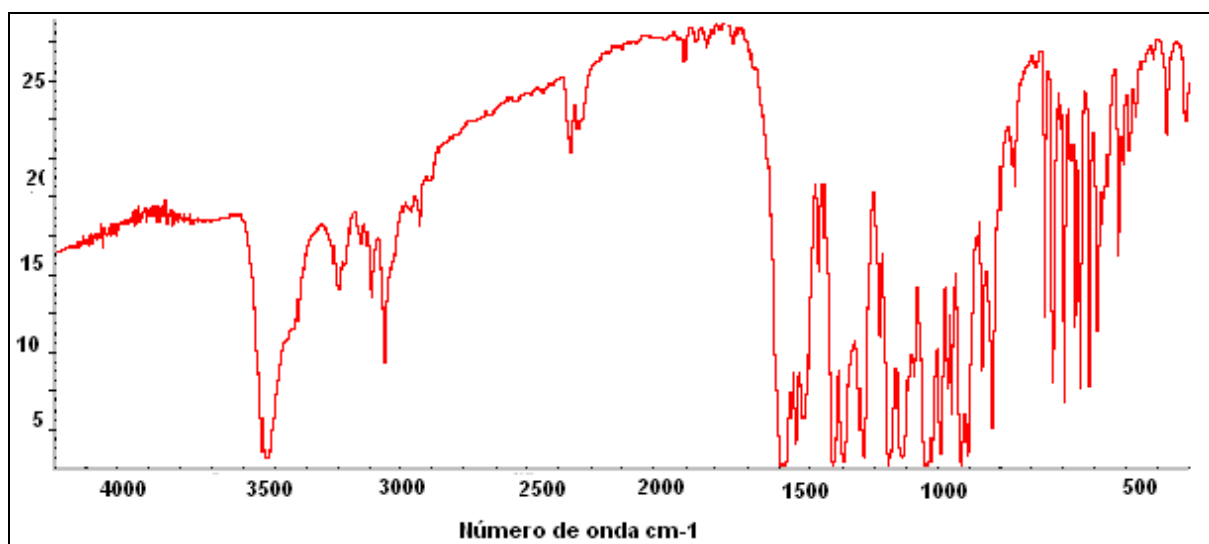


Figura 30- Espectro de absorção na região do infravermelho da Nifedipina C.

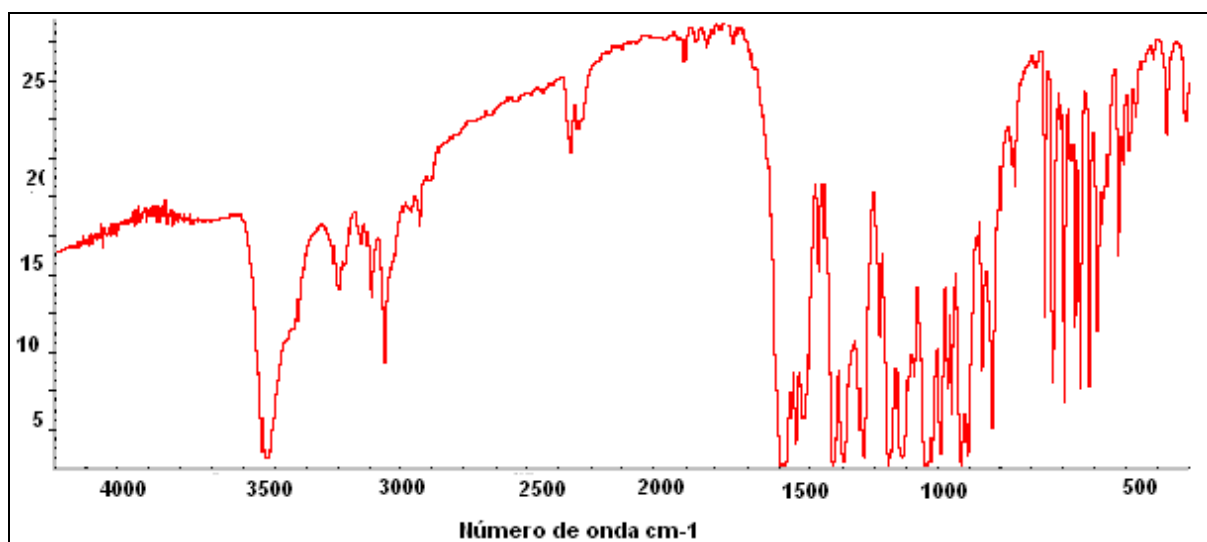


Figura 31- Espectro de absorção na região do infravermelho da Nifedipina D.

Analisando os espectros de infravermelho pode-se observar que todas as amostras de tolbutamida e nifedipina caracterizadas não sofreram modificações nas suas estruturas químicas após cristalização utilizando-se diferentes solventes, pois as bandas características destas moléculas são observadas em todos os casos. Sendo assim, a hipótese aventada de uma decomposição da nifedipina, durante o processo de cristalização, não se confirma.

4.3.5 Espectroscopia RAMAN

Neste estudo, a técnica de caracterização por espectroscopia Raman, serviu apenas de complemento para confirmar que as estruturas vibracionais das amostras de nifedipina e tolbutamida possuem a mesma estrutura química mesmo sofrendo a interferência de alguns solventes²⁰.

Comparando este método de caracterização com a espectrofotometria de infravermelho, observa-se que devido ao fato das moléculas de Nifedipina e Tolbutamida, não possuírem centro de inversão na sua simetria, ambos os espectros de Raman e Infravermelho são bastante parecidos, pois analisam os movimentos vibracionais dos compostos e fornecem as informações necessárias sobre a estrutura química da amostra. A maioria dos equipamentos de espectrofotometria de infravermelho não faz análise em regiões de baixa energia e, portanto, neste estudo, foi explorado o comportamento das ligações na região de 0 a 1340 cm⁻¹) das amostras de nifedipina e tolbutamida, por espectroscopia Raman.

4.3.5.1 Tolbutamida

Foram analisadas por essa técnica, além da tolbutamida MP, as estruturas cristalinas da tolbutamida A1 e B1. Avaliando-se os espectros gerados, observou-se que no caso da tolbutamida MP e da tolbutamida A1 e B1 (figura 32) não há diferenças significativas entre suas estruturas vibracionais, confirmando que a utilização da acetonitrila e do 1-octanol durante a cristalização, não interferiu na estrutura química destas substâncias.

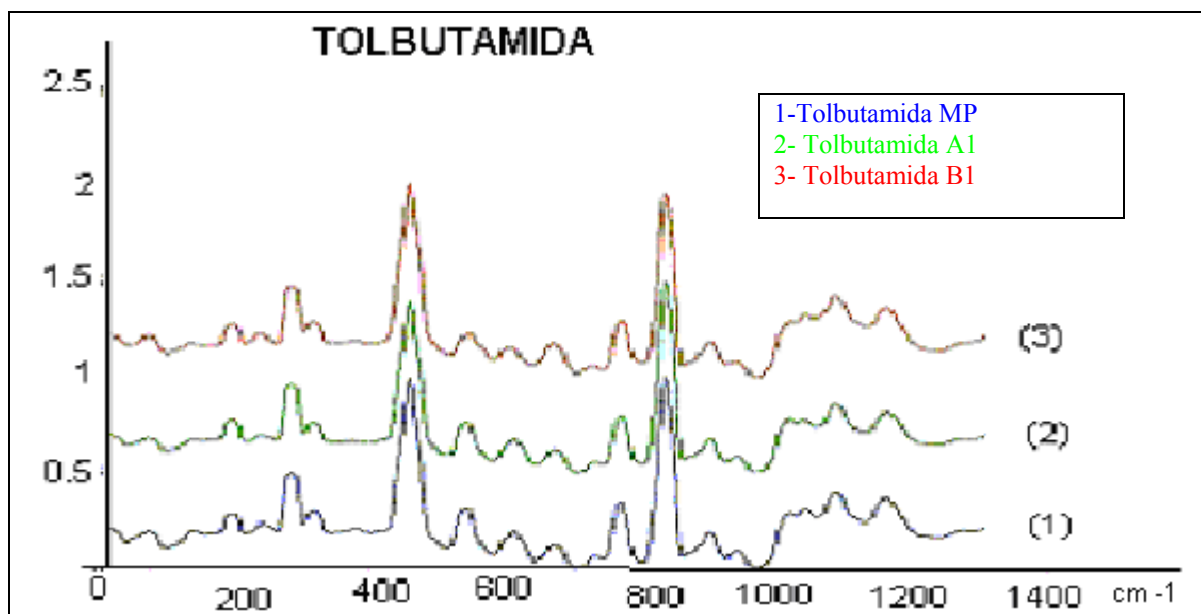


Figura 32- Espectro Raman (1) Tolbutamida MP; (2) Tolbutamida A1; (3) Tolbutamida B1 .

4.3.5.2 Nifedipina

A nifedipina MP e suas estruturas polimórficas foram também analisadas por espectroscopia Raman. Todas as amostras de nifedipina foram pulverizadas em gral para que suas partículas ficassem mais finamente divididas, com exceção da amostra de nifedipina MP que já se apresentava desta forma.

A figura 33 apresenta os espectros Raman da nifedipina MP (espectro 1); da nifedipina amorfa (nifedipina A1), (espectro 3) e a nifedipina B1 (espectro 7). Comparando-se tais espectros observou-se que não são visíveis diferenças significativas entre suas estruturas vibracionais, confirmando que as diferentes formas de preparo e o uso do solvente 1,4-dioxano (nifedipina B1) durante a cristalização, não interferiram na estrutura química desta substância.

Entretanto, como a pulverização poderia acarretar em alguma modificação na estrutura da amostra, resolveu-se realizar análises das mesmas sem pulverizá-las. A amostra de nifedipina B1 apresentou espectro semelhante ao da mesma amostra pulverizada (figura 33, espectro 6 e 7), o mesmo acontecendo com a amostra de nifedipina A1 (figura 33, espectros 2 e 3).

Como a caracterização, por espectroscopia Raman, da nifedipina A1 foi realizada para uma amostra preparada há um mês antes da caracterização e como já citado anteriormente, a transformação para uma forma mais estável, é muito rápida, preparou-se então uma nova nifedipina amorfa (nifedipina A1-N) realizando-se a análise imediatamente (figura 33, espectro 4). Em seguida, uma amostra foi pulverizada e novamente caracterizada (figura 33, espectro 5). As mesmas observações foram constatadas, ou seja, as estruturas químicas não se modificaram, pois apresentaram um perfil bastante semelhante.

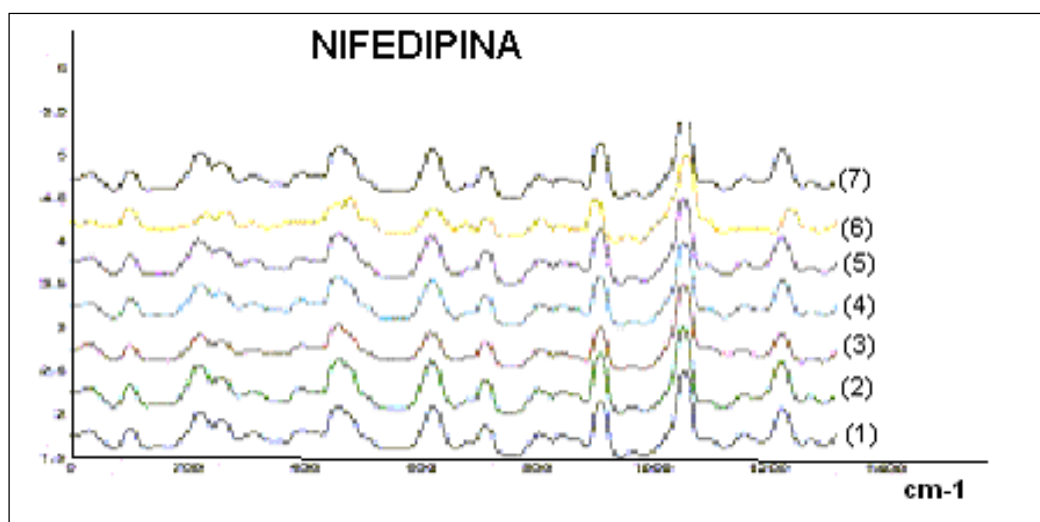


Figura 33- Espectro Raman da (1) Nifedipina MP, (2) Nifedipina A1; (3) Nifedipina A1 pulverizada; (4) Nifedipina A1-N; (5) nifedipina A1-N pulverizada; (6) Nifedipina B1; (7) Nifedipina B1 pulverizada

4.3.6 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

4.3.6.1 Tolbutamida

Através das fotomicrografias obtidas para caracterizar a tolbutamida MP, A1 e B1 (figura 34), pode-se observar diferenças significativas na morfologia das estruturas.

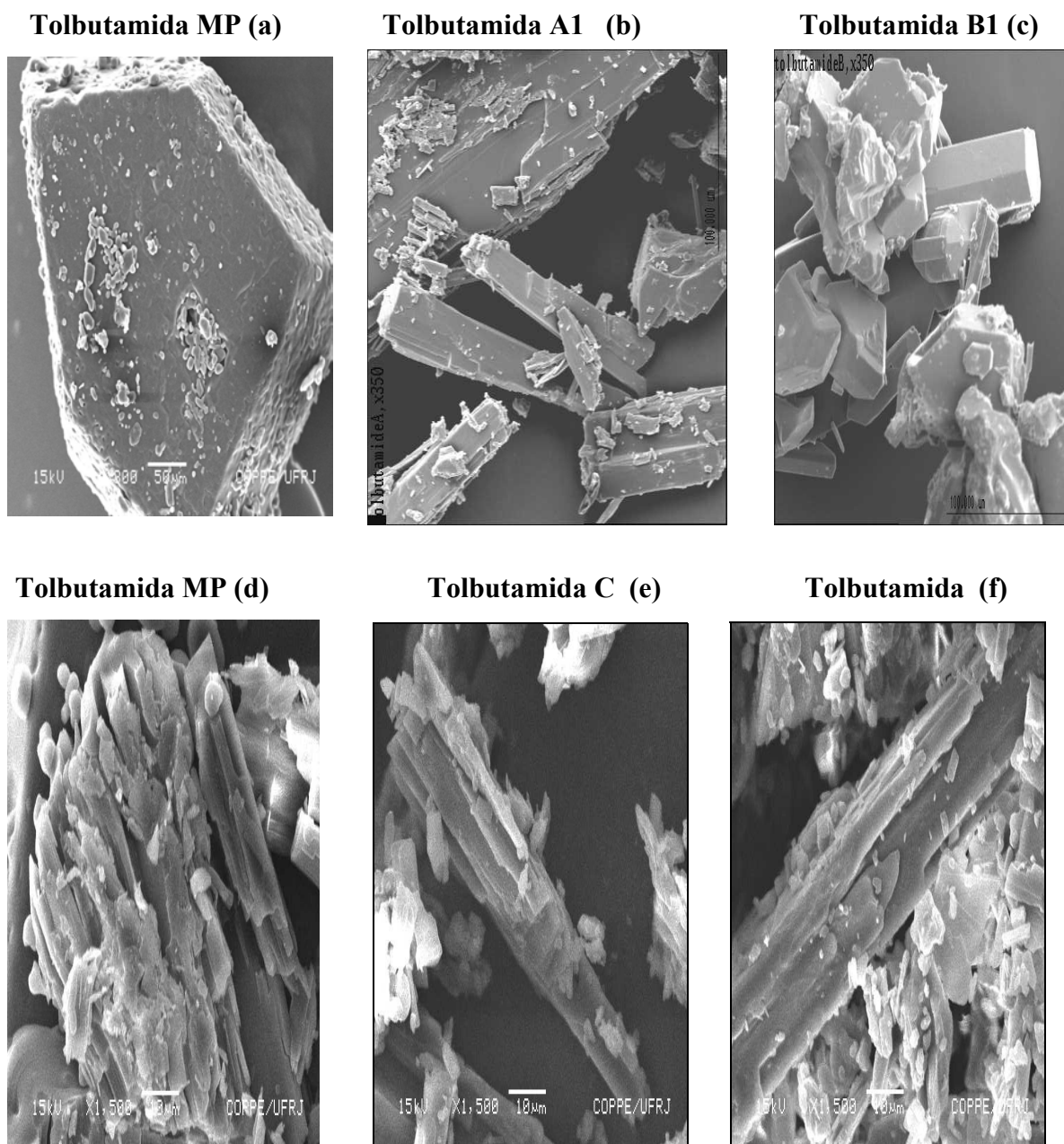


Figura 34- Fotomicrografias da Tolbutamida MP, Tolbutamida A1, Tolbutamida B1, Tolbutamida C e Tolbutamida D.

Comparando-se as micrografias (a) e (b) observa-se grande semelhança entre as partículas da tolbutamida MP e A1. As partículas se apresentam sob forma de placas juntamente com partículas muito pequenas e sem forma definida. Na micrografia (c) referente a tolbutamida B1, ao contrário do que foi citado por Chakravart²¹, não se observa a formação de aglomerados, mas, o aparecimento de cristais bem definidos. A morfologia das partículas da tolbutamida nas formas C e D foram comparadas com a tolbutamida MP apresentada na

figura 34(e) para que se mantivesse a mesma magnitude do aumento. É clara a semelhança entre as micrografias, as quais mostram partículas sob a forma de bastões.

Morfologicamente, a tolbutamida nas formas MP, A1, C e D são semelhantes entre si, sendo que a B1 possui morfologia diferente. A microscopia juntamente com as demais técnicas de caracterização vem confirmar que a forma denominada B1 é uma das estruturas cristalinas sob a qual a tolbutamida pode se apresentar. As demais formas se equivalem e representam uma segunda estrutura cristalina da tolbutamida.

4.3.6.2 Nifedipina

Através das fotomicrografias obtidas para avaliar a nifedipina (figura 35), pode-se observar diferenças significativas na morfologia das suas estruturas.

As micrografias da figura 35 mostram clara semelhança entre as formas C, D e MP da nifedipina, embora, no caso desta última a observação tenha sido dificultada pela pobre dispersão das partículas. Uma dispersão ruim também ocorreu para a nifedipina amorfa, onde se observam placas “espessas” irregulares em sua forma. Tais partículas reservam alta semelhança com aquelas obtidas por Caira et al ²⁴. Por outro lado, esta mesma literatura mostra uma nifedipina solvatada com partículas sob a forma de cristais regulares, o que não foi observado neste trabalho, pois de acordo com a micrografia 35, a forma solvatada da nifedipina foi obtida em partículas pouco regulares, com larga distribuição de tamanho mas que permitiu um grau maior de dispersão.

A microscopia possibilitou a incorporação de dados que confirmam a semelhança entre a nifedipina nas formas MP, C e D e a distinção entre a nifedipina no estado amorfo e a espécie solvatada.

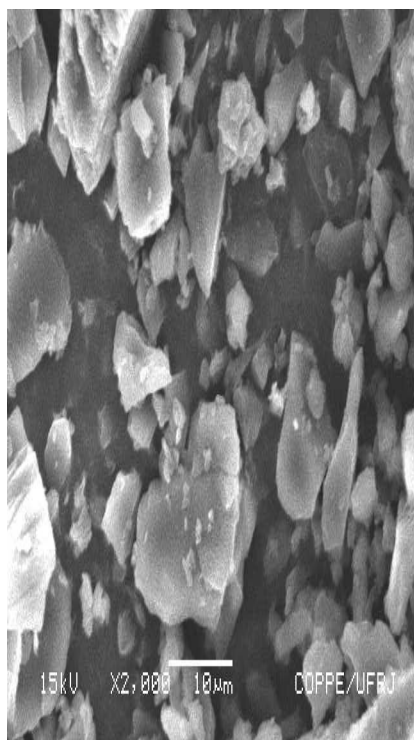
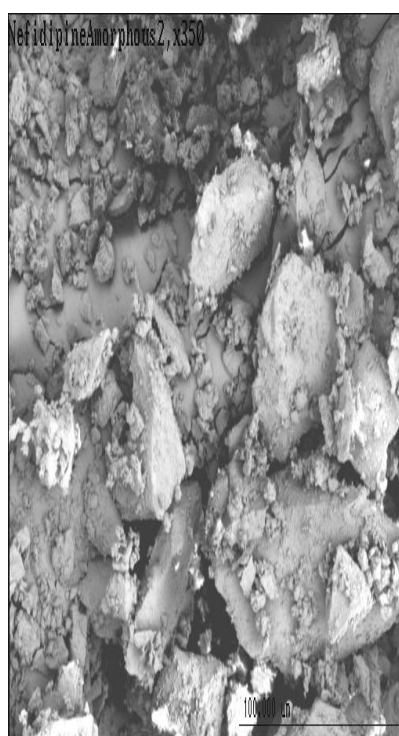
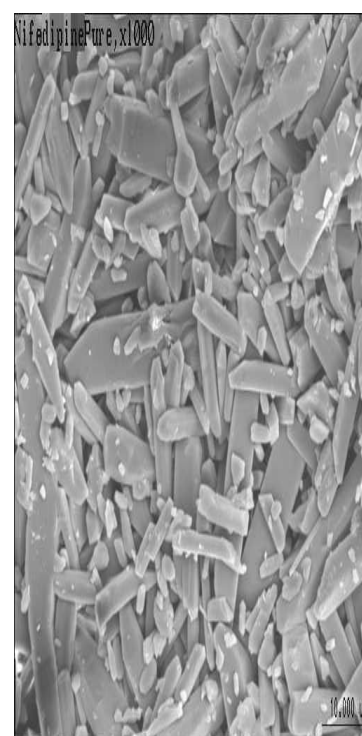
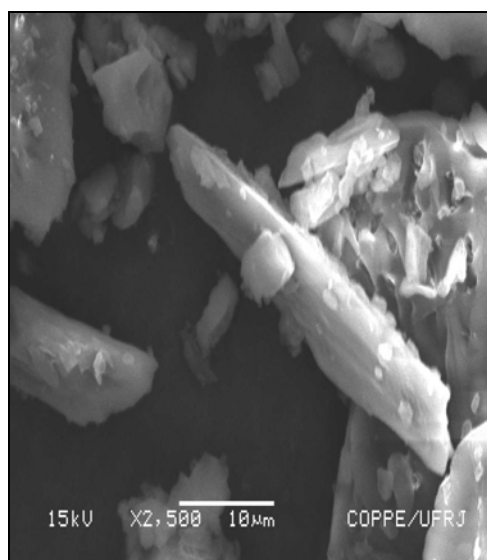
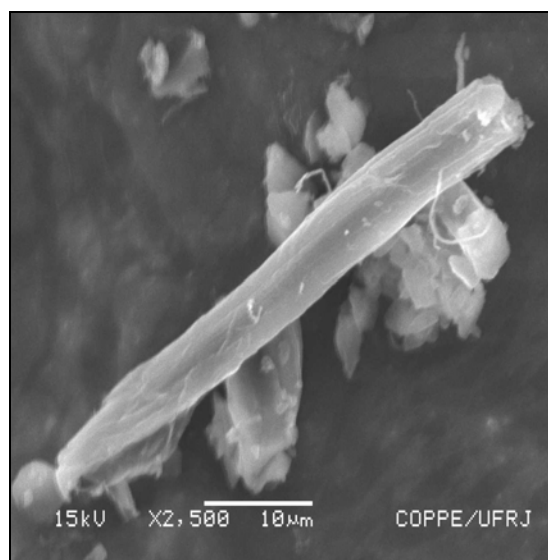
Nifedipina B2 (Solvato)**Nifedipina A1 (Amorfa)****Nifedipina MP****Nifedipina C****Nifedipina D**

Figura 35- Fotomicrografias da Nifedipina MP, Nifedipina B2, Nifedipina A1 e Nifedipina C e D.

4.4 PROPOSTA DE UM PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO PARA A PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE SUBSTÂNCIAS POLIMÓRFICAS.

Teve-se como meta redigir, ao final deste trabalho, um procedimento operacional padrão que permita preparar e caracterizar substâncias que sejam polimórficas e aventar, com significativa segurança, se este mesmo produto pode ser considerado um ou mais polimorfos.

Sabe-se que através da técnica de cristalografia de um único cristal, pode-se caracterizar, com precisão, as diferentes formas cristalinas de uma substância polimórfica, porém por ser uma análise de alto custo e o equipamento quase nunca está disponível em indústrias e laboratórios de pesquisa, foi proposto neste trabalho outros métodos de análise para caracterização de substâncias polimórficas.

Sendo assim, à luz da capacitação adquirida ao longo deste trabalho propõe-se a seqüência lógica descrita a seguir:

- I- Avaliação da solubilidade do fármaco, utilizando-se vários solventes e observando-se o comportamento do soluto. Se a substância for solúvel à temperatura ambiente, deve-se fazer uma solução saturada e deixar o solvente evaporar; se a substância for solúvel apenas a quente, deixa-se a solução arrefecer lentamente até à temperatura ambiente e verifica-se se há formação de cristais;
- II- Cristalização do fármaco: nesta etapa deve-se levar em consideração todos os parâmetros para se obter uma boa cristalização, como mencionado no item 1.7.1. Caso a solubilidade do fármaco não seja conhecida, a escolha do solvente adequado será feita por tentativas experimentais e assim devem ser levados em consideração alguns aspectos que foram citados no item 1.7.2.
- III- Caracterização das estruturas polimórficas, utilizando as técnicas:
 - III.1- Espectrofotometria na região de infravermelho: técnica adequada a caracterização da estrutura química do material polimórfico em estudo, entretanto, dependendo da substância, pode não fornecer informações para diferenciar estruturas cristalinas de uma substância, mas sim, analisar se houve ou não decomposição da amostra a ser analisada após o processo de cristalização. A espectroscopia Raman pode ser usada como técnica auxiliar para o mesmo propósito;

III.2- Calorimetria diferencial de varredura (DSC): técnica que permite, além de determinar a temperatura de fusão, em amostras cristalinas, é possível verificar a ocorrência de transições de fase (amorfo – cristalino) e verificar a presença de solvatos. Também é possível, por esta técnica avaliar a estabilidade das estruturas polimórficas com o passar do tempo.

III.3- Termogravimetria (TG): técnica que aliada à calorimetria diferencial de varredura fornece informações relativas a processos de dessolvatação, sendo complementar à caracterização de pseudopolimorfos.

III.4- Difractometria de raio-x em pó: técnica que diferencia os polimorfos permitindo verificar se a substância se apresenta no estado amorfo ou cristalino e, além disto, permite comparar a fase predominantes na microestrutura de diferentes materiais;

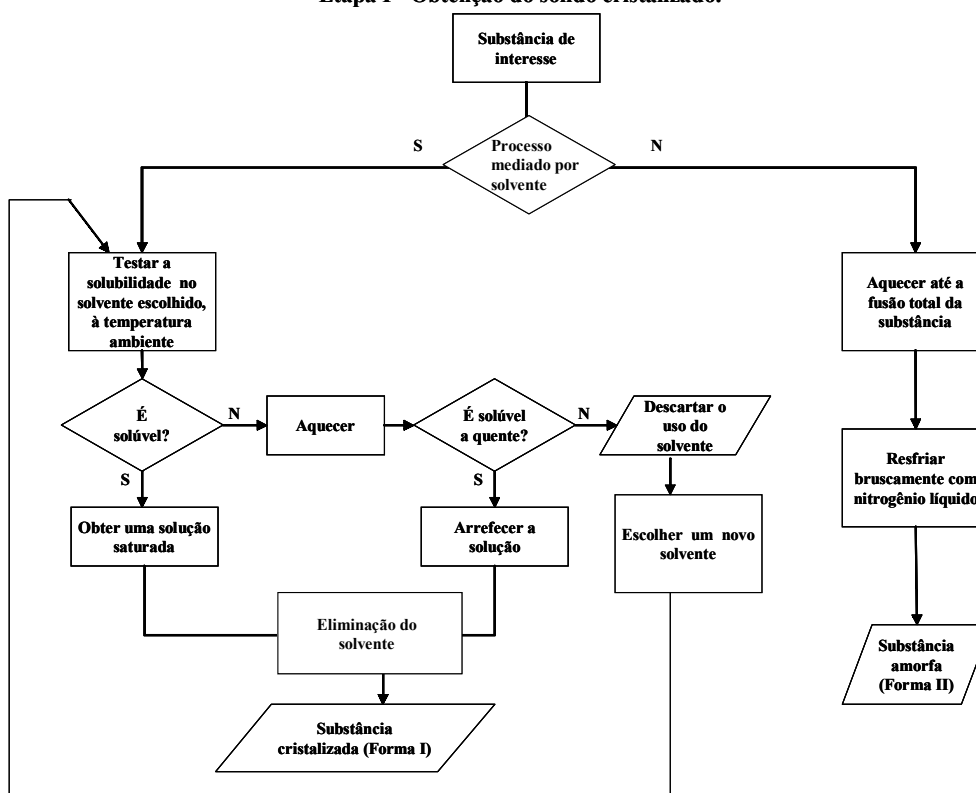
III.5- Microscopia eletrônica de varredura (MEV): útil para observar, através de fotomicrografias, a morfologia, a distribuição de tamanho de partículas e a formação de agregados.

Ao término deste procedimento, a hipótese do aparecimento de polimorfos estará embasada ou anulada, dando subsídios para o profissional continuar com uma segunda etapa, a qual é referente à avaliação da pureza de cada amostra recristalizada e ao estudo de estabilidade de todas as estruturas polimórficas, de modo a escolher a forma mais adequada para a fabricação de um medicamento. Embora esta segunda etapa seja de suprema importância, ela não foi realizada no trabalho aqui apresentado devido ao curto período que é permitido ao aluno do curso de mestrado para o desenvolvimento de seus trabalhos experimentais.

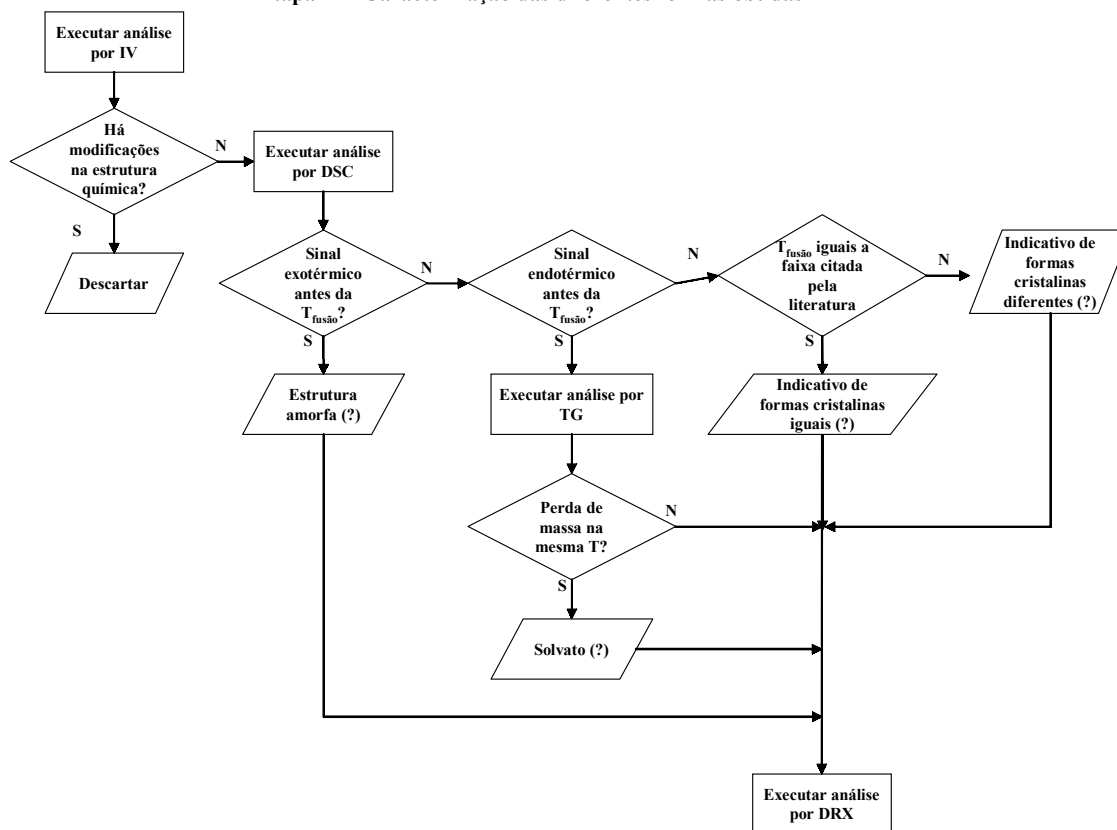
Sabe-se que já existe um procedimento feito pelo FDA “Food and Drug Administration”³⁷, porém o procedimento operacional padrão mencionado acima é uma maneira fácil e simples de se preparar e caracterizar substâncias polimórficas para tentar obter a estrutura polimórfica desejável.

Através do fluxograma abaixo, pode-se observar um esquema para a obtenção de polimorfos de uma substância, feito em três etapas.

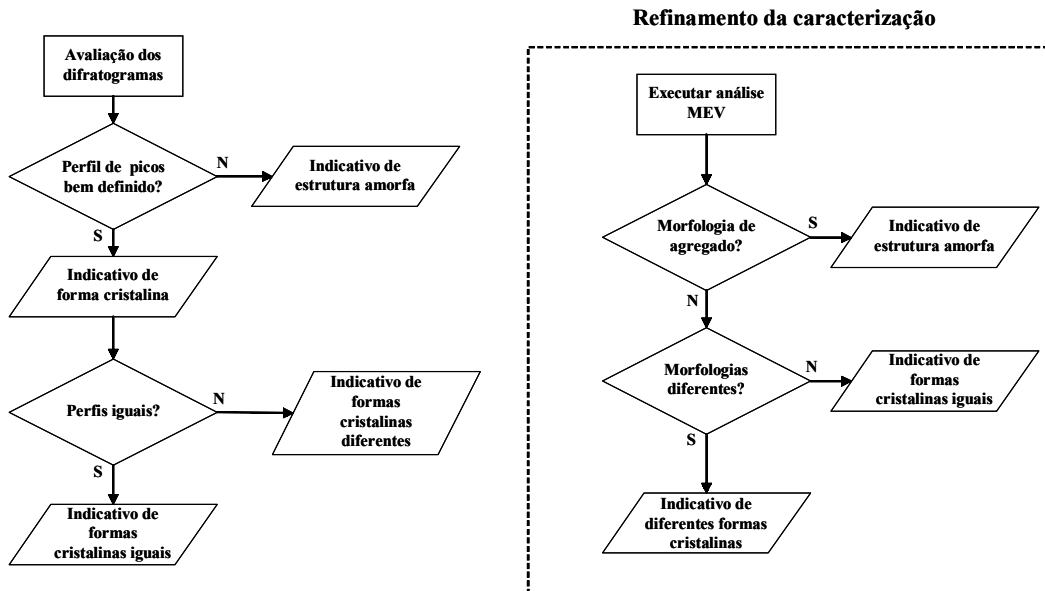
Etapa I - Obtenção do sólido cristalizado.



Etapa II – Caracterização das diferentes formas obtidas



Etapa III – Confirmação das estruturas obtidas



5. CONCLUSÃO

Ao fim das atividades desenvolvidas e à luz dos objetivos traçados na concepção deste estudo, pode-se concluir que :

- Quanto ao alcance de resultados experimentais: os procedimentos propostos neste trabalho permitiram a obtenção de polimorfos dos fármacos tolbutamida e nifedipina como comprovado por um conjunto de técnicas de caracterização. Para o caso da tolbutamida foram preparados dois polimorfos e, em relação a nifedipina, foram preparados dois polimorfos além de um pseudopolimorfo. Dentre os polimorfos obtidos, um se apresentou no estado amorfo e os demais se apresentaram com uma estrutura cristalina. As informações geradas pelos resultados inerentes a cada técnica utilizada mostraram que, exceto para o caso da cristalografia de cristal único, torna-se necessário a utilização de um conjunto de técnicas para assegurar a ocorrência de espécies polimórficas. Entretanto, a calorimetria diferencial de varredura se sobressai como técnica de caracterização porque gera dados de energia que permitem reconhecer a existência de eventos responsáveis pela formação de solvatos bem como pela formação de uma substância no estado amorfo ou com estrutura cristalina. Tal técnica, mesmo utilizada isoladamente, gera um conjunto de dados com mais informações quando comparadas com as demais, contudo, não é decisiva.

- Quanto ao interesse de investimento na área de polimorfismo: os resultados alcançados mostraram que experimentos inerentes a preparação e caracterização de polimorfos de fármacos são viáveis de realização dentro do grupo de trabalho estabelecido na Universidade Federal Fluminense, gerando capacitação para profissionais da área de farmácia, injetando no mercado profissionais com conhecimento diferenciado e de grande importância para o mercado nacional. Deve ser levado em conta que, o assunto polimorfismo de fármacos não é abordado de maneira significativa nos cursos de graduação.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Grant.D.J.W. Theory and Origin of Polymorphism. In: BRITTAIN, H.G. **Polymorphism in Pharmaceutical Solids**. New York. Marcel Dekker, Inc.1999.v.95:cap.1,p.1-33.
2. VLACK , V. H. L. Reações no estado sólido. In: **Princípios de Ciência dos Materiais**. São Paulo, Ed. Edgard Blucher Ltda,1970. Cap.10, p.269-290.
3. MORRIS, K. R. Structural Aspects of Hydrates and Solvates. In: BRITTAIN, H.G. **Polymorphism in Pharmaceutical Solids**. New York. Marcel Dekker, Inc.1999.v.95:cap.4,p.125-181.
4. BECKMAN,W. **Crystallization of Pharmaceutical Compounds-Polymorphs, Pseudo-Polymorphs and Particle Formation**. Eng. Life. Sci., v. 3, p. 113-120,2003.
5. AULTON, M.E. **Delineamento de Formas Farmacêuticas**. Trad. George G. Ortega, Porto Alegre, Ed. Artemed ,2005.
6. POOLE, J. W.; OWEN, G.; SILVERIO, J.; FREYHOF, J. N.;ROSENMAN, S. B.; Current Therap. Res.,v.10, p.292, 1968.
7. VLACK , V.H.L. Arranjos Atômicos. In:**Princípios de Ciência dos Materiais**. São Paulo, Ed. Edgard Blucher Ltda,1970. Cap.3, p.45-75.
8. BRITTAIN, H.G. Structural Aspects of Polymorphism. In: **Polymorphism in Pharmaceutical Solids**. New York. Marcel Dekker, Inc.1999.v.95:cap.3,p.73-124.
9. ANVISA(Agência Nacional de Vigilância Sanitária). Resolução RDC nº233 de 17 de agosto de 2005. Disponível em <<http://e-egis.bvs.br>>. Acesso em 15/08/2005.
10. ABOUT, H..M. **Dissolution, Bioavailability e Bioequivalence**. Easton: Mack Publishing Company,1989. Disponível em <[http:// www.geocoties.com/vanials2001/biodisponibilidade](http://www.geocoties.com/vanials2001/biodisponibilidade)>. Acesso em: 06/01/2005.

11. BRITAIN, H.G. Generation of Polymorphs, Hydrates, Solvates, and Amorphous Solids. In: **Polymorphism in Pharmaceutical Solids**. New York. Marcel Dekker, Inc.1999.v.95:cap.5,p.183-225.
12. YU, L. **Amorphous pharmaceutical solids: preparation, characterization and stabilization**. Advanced Drug Delivery Reviews ,v. 48, p. 27-42, 2001.
13. KNAPMAN, K. **Polymorphic Predictions**. American Chemical Society, Modern Drug Discovery, vol.3(2) p. 53-57, 2000.
14. BERNSTEIN, J. **Polymorphism in drug design and delivery**. Prog. Clin. Biol.,v.289, p.203-215, 1989.
15. MULLINS, J. D.; MACEK, T. J. IN: HALEBLIAN, J.; MCCRONE. W.; J. Pharm. Sci., v. 58, p. 911,1969.
16. GU C.; YOUNG Jr. V.; GRANT D.J.W. **Polymorph Screening: Influence of Solvents on the Rate of Solvent-mediated Polymorphic Transformation**. Journal of Pharmaceutical Sciences, vol.90, p. 1978-1890; 2001.
17. BLEICHER, L.; SASAKI, J. M. **Introdução à difração de raios-x em cristais**; Universidade Federal do Ceará,p.1-20, 2000.
18. B,D, Cullity. **Elements of x-ray diffraction**. Addison-Wesley publishing Co. England,1959, Cap. 14, pg. 379-387.
19. GIRON, D. **Thermal analysis and calorimetric methods in the characterization of polymorphs and solvates**. Thermochemica Acta, v. 248,p.1-59,1995.
20. BRITAIN, H. G. Methods for the Characterization of Polymorphs and Solvates. In: **Polymorphism in Pharmaceutical Solids**. New York. Marcel Dekker, Inc.1999.v.95:cap.6, p.227-278.
21. CHAKRAVARTY P., ALEXANDER. K.S., RIGA, A.T., Chatterjee K. **Crystals forms of tolbutamide from acetonitrile and 1-octanol: effect of solvent, humidity and compression pressure**. International Journal of Pharmaceutics, v. 288,p. 335-348 ; 2005.
22. The Merck Index. 13th ed. Whitehouse Station: The Index Merck; 2001.
23. Martindale; **The Complete Drug Reference**; 33th ed. ; Edited by Sean C Sweetman. Published by the Pharmaceutical Press, 2002.

24. CAIRA M. R. et al. **Structural Characterization, Physicochemical Properties, and Thermal Stability of Three Crystal Forms of Nifedipine.** Journal of Pharmaceutical Sciences, v. 92, n°12, p. 2519-2533; 2003.
25. LEARY, J.R., ROSS S.D., THOMAS M.J.K., **On Characterization of the Polymorphs of Tolbutamide.** Pharm Weekblad. Sci. Ed. **3**, pp 62-66 ;1981.
26. KIMURA K., FUMITOSHI H., UEKAMA K. **Characterization of Tolbutamide Polymorphs (Burger's Forms II and IV) and Polymorphic Transition Behavior.** J. Pharm Sci. **88**, 4, pp 385-390.; 1999.
27. SIMMONS D.L.; RANZ R.J.; GYANCHANDANI N.D.; PICOTTE P. **Polymorphism in Pharmaceuticals II (Tolbutamide),** Can. J. Pharm. Sci. **7**(4), pp 121-123 1972.
28. ROWE E.L., ANDERSON B.D. **Thermodynamic Studies of Tolbutamide Polymorphs.** J. Pharm Sci. **73**, 11, pp 1673-1675.; 1984.
29. ECKERT T., MULLER J. **On polymorphic forms of Nifedipine from super cooled melts.** *Arch Pharm* ; vol..310, p. 116-118; 1977.
30. ASO Y., YOSHIOKA S., OTSUKA T., KOJIMA S. **The physical stability of amorphous nifedipine determined by isothermal microcalorimetry.** Chem. Pharm. Bull, vol. 43, p. 300-303; 1995.
31. ASO Y., YOSHIOKA S., OTSUKA T., KOJIMA. S. **Feasibility of using isothermal microcalorimetry to evaluate the physical stability of amorphous nifedipine and Phenobarbital.** Them Acta, vol. 380, p. 199-204.; 2001.
32. HIRAYAMA F., WANG Z., UEKAMA K. **Effect of 2-hydroxyl- β -cyclodextrin on crystallization and polymorphic transition of nifedipine in the solid state.** Pharm Res, vol. 11, p. 1766-1770; 1994.
33. KEYMOLEN, B., FORD, J.L, POWEL, M.W., RAJABI-SIAHBOOMI, A.R. **Investigation of the polymorphic transformations from glassy nifedipine.** Thermoch. Acta, vol.397, p.103-117; 2003.
34. VIPPAGUNTA S.R. **Solid state characterization of nifedipine solid dispersions .** International Journal of Pharmaceutics **236**, 111-123 ; 2002
35. RUSTICHELLI, C.;GAMBERINI, G.; FERIOLI, V.; GAMBERI,C.M.; FICARRA, R.;TOMMASINI S. **Solid-state study of polymorphic drugs: carbamazepine.** J. Pharm. Biomed. Anal., v. 23, p. 41-54; 2000.

36. BRITTAIN,G.H.; MORRIS,R.,K.; BUGAY,E.,D.; THAKUR, B., A.; SERAJUDDIN,M.,T.,A. **Solid-state NMR and IR for the analysis of pharmaceutical solids: polymorphs of fosinopril sodium.** Journal of Pharmaceutical & Biomedical Analysis, v.1-I, p.1063-1069,1993.
37. J. Guidance for Industry; **ANDAS: Pharmaceutical Solid Polymorphism**; Food and Drug Administration, December,2004.
38. BURGER A. **Zur Polymorphie Oraler Antidiabetika.** Sci. Pharm. **43**, pp161-168; 1975.

7 ANEXO 1

1 – Sobre a Tolbutamida

A tolbutamida ($C_{12}H_{18}N_2O_3S$) é um pó cristalino branco de ponto de fusão entre 126-132°C, insolúvel em água e solúvel em álcool e clorofórmio (Figura 36)^{22,23}.

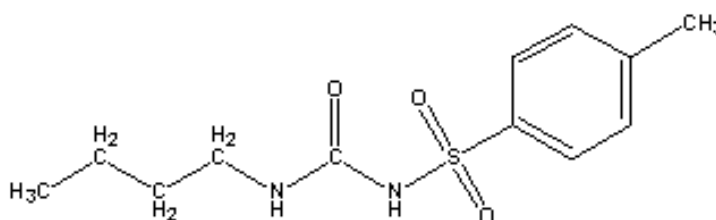


Figura 36 - Estrutura química da Tolbutamida

A tolbutamida é um hipoglicemiante oral pertencente à família das sulfoniluréias (clorpropamida, glicazida, glibenclamida) que é utilizada no tratamento dos *Diabetes Mellitus* tipo II (não-insulino-dependente). Causa aumento da secreção de insulina e redução do limiar de sensibilidade das células beta à glicose e, em função de seus efeitos extra-pancreáticos, reduz a insulino-dependência dos tecidos periféricos (resistência à insulina). Após sua administração oral, a tolbutamida é totalmente absorvida pela mucosa digestiva, iniciando seu efeito dentro de 1 a 2 horas, para alcançar o máximo de 2 a 5 horas após. Possui meia-vida longa (5 horas), elevada taxa de ligação com proteínas plasmáticas (95%) e biodisponibilidade ampla (85% a 100%)^{23,38}.

2- Sobre a Nifedipina

A nifedipina ($C_{17}H_{18}N_2O_6$) existe na forma de cristais amarelos de ponto de fusão entre 172-177°C.(Figura 37).A droga é praticamente insolúvel em água, solúvel em acetona e clorofórmio, pouco solúvel em etanol e altamente sensível à luz^{22,23}.

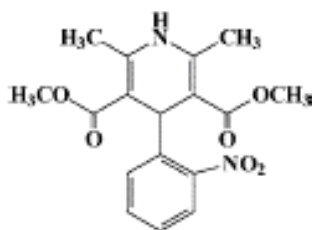


Figura 37- Estrutura química da Nifedipina

A nifedipina é usada no tratamento de distúrbios cardiovasculares, como angina pectoris e hipertensão. É um inibidor da entrada dos íons de cálcio (bloqueador dos canais lentos)³¹. Acredita-se que bloqueie a entrada do íon cálcio ao longo das zonas selecionadas sensíveis à voltagem, chamadas "canais lentos", através das membranas celulares do músculo liso, cardíaco e vascular. Ao reduzir a concentração de cálcio intracelular, dilata as artérias coronárias, artérias e arteríolas periféricas, e pode reduzir a frequência cardíaca, diminuir a contratilidade miocárdica e retardar a condução nodal átrio-ventricular. As concentrações de cálcio sérico permanecem inalteradas. É um potente vasodilatador periférico, provoca um aumento reflexo da frequência cardíaca em resposta a sua ação vasodilatadora. Absorve-se com rapidez, mas a biodisponibilidade é reduzida de forma significativa (40%) devido ao grande metabolismo de primeira passagem. Sua união às proteínas é muito alta (de 92 a 98%). Nenhum metabólito ativo é conhecido. O início da ação é evidenciado aos 20 minutos de sua administração oral, e o tempo até a concentração máxima é de 30 a 60 minutos. Elimina-se em 80% por via renal como metabólitos e 20% por via fecal²³.

