

Capítulo 1

1. Introdução

1.1 Interesse no tema

Em trabalhos de investigação e de controlo de qualidade e na actividade química ligada à indústria em laboratórios, torna-se necessário caracterizar compostos sólidos, não só sob o ponto de vista químico, mas também sob o ponto de vista estrutural.

As propriedades manifestadas por uma dada forma estrutural podem ser muito diferentes das apresentadas por outras formas do mesmo composto. Assim, existe a necessidade de investigação da estrutura de um dado composto, no sentido de obter os arranjos estruturais desejados e de os caracterizar. A actividade científica dirigida nesse sentido é assinalável em muitas indústrias, nomeadamente na indústria farmacêutica e alimentar. No que respeita à indústria farmacêutica é de salientar o interesse despertado pelo polimorfismo, após ter sido descoberto que diferentes polimorfos podem ter diferente actividade biológica. Mas não é somente a biodisponibilidade que interessa considerar no medicamento. As propriedades relacionadas com o modo de preparação, com a estabilidade térmica e estrutural são aspectos a ter em conta na tecnologia farmacêutica. Por exemplo, o hábito cristalino, as dimensões dos cristais, o grau de cristalinidade facilitam ou dificultam as diferentes formulações com que o produto é lançado no mercado.

Pesquisar polimorfos e identificar a sua estabilidade relativa são um ponto muito importante em pré-formulação farmacêutica.

1.2 Caracterização Estrutural do Estado Sólido

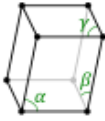

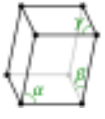
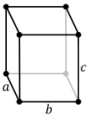
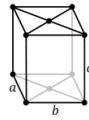
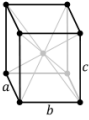
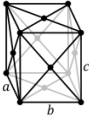
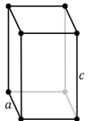
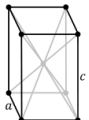


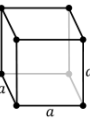
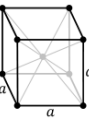
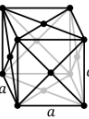
A noção intuitiva de sólido é a de um corpo rígido em que a separação média entre átomos é pequena, quando comparada à separação média entre átomos em gases e onde as posições relativas entre átomos não mudam com o tempo. Num líquido, as distâncias médias entre os átomos são da mesma ordem de grandeza que nos sólidos, mas as posições relativas entre os átomos não são fixas.

Os sólidos podem ser classificados como amorfos ou cristalinos, de acordo com o grau de ordem encontrado na sua estrutura. Nos sólidos amorfos, as moléculas estão dispostas mais ou menos ao acaso; nos sólidos cristalinos, para além da ordem posicional, a estrutura é ainda determinada pela orientação das unidades constituintes, umas relativamente às outras. Como consequência, o cristal tem uma estrutura caracterizada por uma repetição regular dos componentes, apresentando propriedades de sistemas homogéneos, simétricos e anisotrópicos. Os sólidos amorfos são homogéneos e isotrópicos e não apresentam simetria.

As estruturas cristalinas são formadas por unidades básicas e repetitivas denominadas células unitárias (menor arranjo de átomos, iões ou moléculas que pode representar um sólido cristalino). Estas células são a menor unidade paralelepédica que representa a simetria da estrutura cristalina.

A partir das células unitárias, e levando em conta os eixos de simetria e a posição do centro geométrico de cada elemento do cristal, é possível descrever qualquer cristal com base em diagramas designados por *redes de Bravais*, nome que homenageia Auguste Bravais (1811-1863), um dos pioneiros do seu estudo. Por sua vez, em função das possíveis localizações das partículas (átomos, iões ou moléculas) na célula unitária, estabelecem-se 14 estruturas cristalinas básicas, as denominadas redes de Bravais (ver Tabela 1.1).[1, 2]

Tabela 1.1 - Distribuição das redes de Bravais pelos sistemas cristalinos

	<i>Parâmetros da célula</i>	<i>Tipos de rede</i>			
		<i>Simples (P)</i>	<i>Base centrada (C)</i>	<i>Corpo centrado (I)</i>	<i>Face centrada (F)</i>
<i>Sistemas cristalinos</i>	Triclínico $\alpha \neq \beta \neq \gamma \neq 90^\circ$ $a \neq b \neq c$				
	Monoclínico $\alpha = \gamma = 90^\circ \neq \beta$ $a \neq b \neq c$				
	Ortorrômico $\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$ $a \neq b \neq c$				
	Tetragonal $\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$ $a = b \neq c$				
	Trigonal $a = b = c$ $\alpha = \beta = \gamma \neq 90^\circ$				
	Hexagonal $\alpha = \beta = 90^\circ \neq \gamma = 120^\circ$ $a = b \neq c$				
	Cúbico $\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$ $a = b = c$				

Todos os materiais cristalinos, até agora identificados, pertencem a um dos 14 arranjos tridimensionais correspondentes às estruturas cristalinas básicas de Bravais. A estrutura de cada cristal pode ser representada por uma das estruturas constantes da Tabela 1.1, agrupando-se depois num dos sete sistemas de cristalização. Cada uma das estruturas agrega uma célula unitária, contendo átomos em coordenadas específicas de cada ponto da malha cristalina.

A simetria apresentada pelos sólidos cristalinos está relacionada com a simetria molecular. Entre os compostos inorgânicos e orgânicos existe uma grande diferença em relação às simetrias encontradas nos respectivos cristais. Nos cristais inorgânicos encontram-se, predominantemente, simetrias cúbica, hexagonal, tetragonal ou trigonal, enquanto os cristais orgânicos se apresentam, essencialmente, com simetria monoclínica ou ortorrômbica. Só em casos muito especiais, por exemplo, em moléculas globulares, se encontram cristais orgânicos com simetria cúbica. Há também diferença em relação ao tipo de células encontradas num e noutro caso. Enquanto nos cristais de compostos inorgânicos se podem encontrar todos os tipos de células, nos orgânicos a célula primitiva de Bravais é predominante.[3]

1.3 Polimorfismo

1.3.1 – Definição

De acordo com a definição de McCrone's "O polimorfismo de qualquer composto é a sua habilidade para cristalizar em várias estruturas distintas".[4] Quando diferentes conformémeros da mesma molécula surgem em diferentes formas cristalinas, o fenómeno é chamado de polimorfismo conformacional. Ocasionalmente, a mesma estrutura cristalina apresenta mais do que um conformémero. [5,6]

Os diferentes cristais formados são designados de polimorfos. No caso de substâncias elementares, a designação comum é a de alótropos. O exemplo mais conhecido de polimorfismo/ alotropia é o do carbono, que pode existir na forma de grafite ou como diamante.[4] É importante distinguir estas formas, e pseudopolimorfos, nos quais há inclusão de moléculas de solvente na estrutura cristalina. Diferentes interações inter e intramoleculares, tais como as interações de van der Waals e ligações de hidrogénio, estarão presentes nas diferentes estruturas polimórficas.

1.3.2 – Aspectos gerais e importância na Indústria Farmacêutica

Muitas substâncias são capazes de adoptar uma ou mais formas cristalinas puras de forma identificável e definida ou uma forma amorfa sem estrutura definida, dependendo das condições (temperatura, solvente, tempo), sob as quais a cristalização é induzida.[6]

Os polimorfos têm assim as mesmas propriedades no estado líquido e gasoso, mas comportam-se de maneira diferente no estado sólido. Apesar de serem idênticos na sua composição química, os polimorfos de uma dada substância diferem na solubilidade, velocidade de dissolução, biodisponibilidade, estabilidade química, estabilidade física, ponto de fusão, cor, densidade e muitas outras propriedades.[7] Vale a pena realçar que diferenças morfológicas ou macroscópicas nos cristais não revelam, necessariamente, a ocorrência de polimorfismo. Estas

alterações morfológicas podem ser geradas por diferentes direcções no crescimento do cristal durante o processo de cristalização. [8]

O polimorfismo das substâncias orgânicas tem sido um assunto de intenso interesse na indústria farmacêutica. Mais de 90% dos medicamentos são utilizados em formas sólidas, como comprimidos, aerossóis, cápsulas, suspensões e supositórios. Contêm o fármaco particulado e, em geral, na forma cristalina. Várias propriedades do fármaco estão directamente ligadas à sua estrutura física e às suas propriedades químicas, como a sua capacidade de deformação, tamanho da partícula, densidades e fluxo dos pós, características coesivas, reologia, estabilidade, capacidade de transpor barreiras biológicas, entre outras. A forma sólida afecta também a estabilidade, o perfil de dissolução, a biodisponibilidade, a compressibilidade, a uniformidade de distribuição da dose, entre outras.

Uma substância na forma cristalina apresenta menor solubilidade, enquanto na forma amorfa a mesma apresenta maior solubilidade e menor estabilidade térmica. Formulações onde se encontra o fármaco parcialmente cristalino e amorfo, ou formas metaestáveis, são muito mais solúveis que as que contêm o fármaco altamente cristalino. Esta propriedade pode ser utilizada para promover um efeito terapêutico mais rápido do medicamento, aumentando a velocidade de dissolução e a absorção do fármaco. Porém, formulações contendo formas amorfas e metaestáveis são menos estáveis que as elaboradas com as formas cristalinas do fármaco e, geralmente, apresentam risco de cristalização durante o processo produtivo e a vida do produto na prateleira.

As propriedades da forma sólida podem ter um papel crucial e assim o objectivo final do desenvolvimento da forma sólida é encontrar e seleccionar aquela que tenha características óptimas para o uso pretendido.

Inicialmente, quando o API é primeiro produzido, tem que se ter a certeza que a forma sólida desejada é obtida numa forma consistente, pura e reproduzível. Subsequentemente, quando é formulado para obter o medicamento, tem de se certificar que não ocorrem transições indesejadas.

Quando a substância é armazenada, é imperativo que a forma sólida não se transforme ao longo do tempo, uma vez que desse modo propriedades importantes da substância podem mudar drasticamente. Termodinamicamente, qualquer forma metaestável transformar-se-á na forma mais estável. A cinética da transformação é específica do polimorfo. No entanto, a existência de um polimorfo mais estável não implica necessariamente que o polimorfo metaestável não se possa desenvolver. A estabilidade deve ser avaliada, no que diz respeito às condições ambientais, armazenamento e acondicionamento.

No passo final, quando o paciente toma o medicamento, a solubilidade e a velocidade de dissolução da substância serão influenciados pela sua forma sólida. Em particular, a variação na solubilidade entre diferentes polimorfos é importante para os farmacêuticos, pois pode afectar a eficácia, a biodisponibilidade e segurança do produto.

Sob os pontos de vista, quer da investigação de estruturas do estado sólido, quer da utilização dos compostos noutros estudos, é indispensável conhecer o seu comportamento com a variação de temperatura. As técnicas mais úteis para este tipo de estudo são os métodos de análise térmica. Para realizar este tipo de estudos, neste trabalho, recorreu-se à Calorimetria Diferencial de Varrimento. Para efectuar um estudo mais completo e rigoroso utilizaram-se ainda outras técnicas tais como a Termomicroscopia, a Espectroscopia de Absorção do Infravermelho e Difracção de Raios X.

Dada a importância do polimorfismo, este é um parâmetro regulamentado no desenvolvimento de novos fármacos. As autoridades regulamentares Norte Americanas, Japonesas e da União Europeia, desde os anos 60,

exigem, de forma criteriosa, no momento do registro do medicamento, a elucidação de diversas características físicas, químicas, farmacológicas e toxicológicas do fármaco. Quanto às características físico-químicas, exigem a determinação da pureza, solubilidade, propriedades cristalinas, morfologia, tamanho da partícula e área superficial. O guia da *International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use* – ICH, que trata de polimorfismo é o Q6, que define as especificações de novos fármacos e medicamentos (substâncias químicas). O guia Q6A, denominado “*Test Procedures and Acceptance Criteria for New Drug Products: Chemical Substances*” define polimorfismo como sendo a ocorrência de diferentes formas cristalinas de um mesmo fármaco. Nesta definição está incluída a solvatação ou hidratação de fármacos (pseudopolimorfismo) e as formas amorfas. O guia Q6A é acompanhado de um algoritmo de decisões, que indicam o procedimento a ser tomado aquando do surgimento de formas polimórficas num fármaco (ver ANEXO I).

1.3.3 – Aspectos Termodinâmicos: Enantiotropia e Monotropia

Baseados nas diferenças nas propriedades termodinâmicas, os polimorfos são classificados como enantiotrópicos ou monotrópicos, dependendo se uma forma se pode transformar reversivelmente noutra ou não. Num sistema enantiotrópico, a transição reversível entre polimorfos é possível à temperatura de transição definida abaixo do ponto de fusão. Num sistema monotrópico, não se observa nenhuma transição reversível entre os polimorfos, abaixo do ponto de fusão. Do ponto de vista termodinâmico, o cristal passa sempre de uma forma menos estável a uma forma mais estável. Do ponto de vista farmacêutico, a forma mais estável não é sempre a mais desejada pelos farmacêuticos, uma vez que tem estabilidade termodinâmica maior (menos solúvel) e, por conseguinte, terá menor biodisponibilidade. [9]

Durante a pré-formulação de um fármaco é importante identificar o polimorfo que é estável à temperatura ambiente e determinar que transições polimórficas podem ocorrer dentro da gama de temperaturas usada nos estudos de estabilidade e durante o processamento (secagem, moagem, etc.). Um composto polimórfico poderá ser caracterizado por meio de diagramas de fase, tais como: energia de Gibbs vs temperatura, pressão vs temperatura, solubilidade vs temperatura. Em geral, esses diagramas contêm uma grande quantidade de informação de forma compacta e pode fornecer um sumário visual e facilmente interpretável das complexas relações entre os polimorfos. [10]

A estabilidade relativa dos polimorfos depende das suas energias de Gibbs, e o polimorfo mais estável a uma dada pressão e temperatura terá menor energia de Gibbs. Sob um cenário de condições experimentais definidas (com excepção dos pontos de transição) apenas um polimorfo tem uma menor energia Gibbs. Este polimorfo é a forma termodinamicamente estável e o(s) outro(s) polimorfo(s) é(são) determinado(s) como uma forma metaestável.

Na Figura 1.1 estão representados os diagramas de energia vs temperatura para sistemas polimórficos.

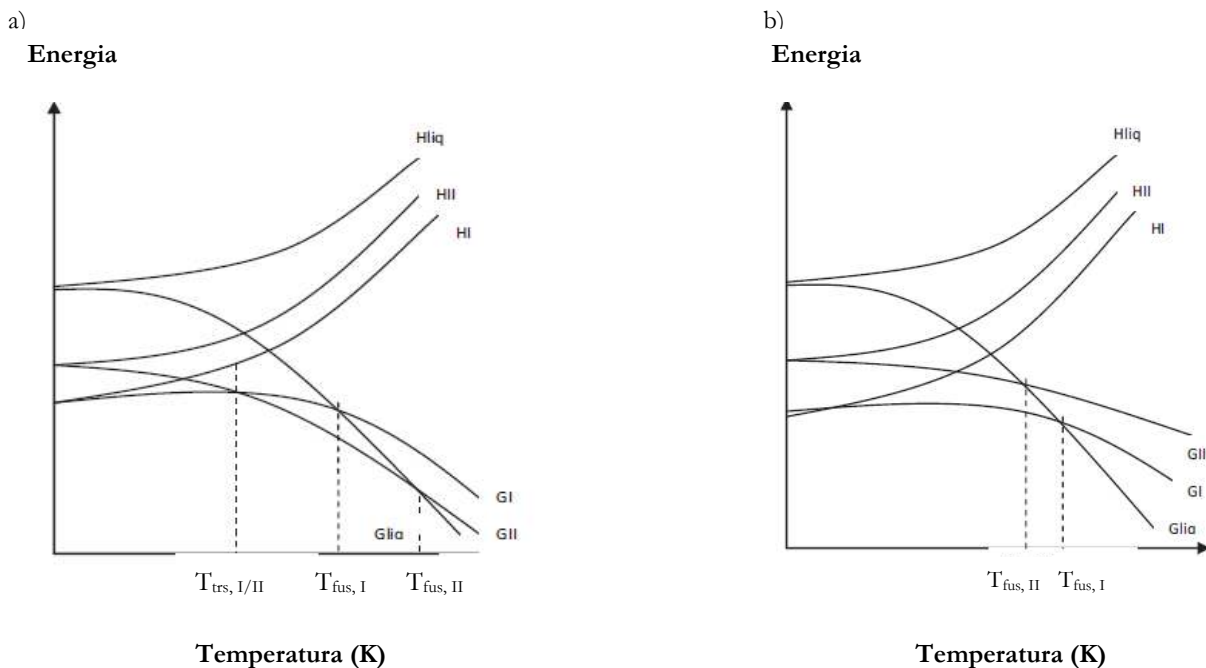


Figura 1.1 – Diagrama de fases para dois polimorfos com comportamento termodinâmico: a) enantiotrópico; b) monotrópico, pressão constante.

No diagrama da Figura 1.1, G representa a energia de Gibbs e H a entalpia. No sistema enantiotrópico, Figura 1.1a) para os polimorfos I e II, as curvas GI e GII cruzam-se no ponto de transição ($T_{tr, I/II}$) que se localiza abaixo do ponto de fusão dos respectivos polimorfos. Nesse ponto, os dois polimorfos podem coexistir como misturas em equilíbrio, tendo a mesma estabilidade. Na relação termodinâmica enantiotrópica, como descrito anteriormente, os polimorfos convertem-se um no outro de forma reversível. A curva Gliq representa a fase líquida, e a sua intersecção com as curvas GI e GII representa, respectivamente, o ponto de fusão desses polimorfos. Neste caso, o polimorfo I é a forma mais estável (tem a menor energia de Gibbs), abaixo de ponto de transição. Existe uma tendência termodinâmica para a forma menos estável se transformar na forma mais estável. No sistema monotrópico, Figura 1.1b) não há ponto de transição abaixo dos pontos de fusão dos polimorfos I e II, o que é representado pela ausência do cruzamento das curvas GI e GII. Nestas condições, para a relação termodinâmica monotrópica, o polimorfo I nunca se converterá em II, sendo o polimorfo I mais estável a todas as temperaturas. Monotropia está vinculada à existência de formas termodinamicamente metaestáveis. Burger e Ramberger compilaram algumas observações empíricas para identificação de relações de enantiotropia e monotropia. As três regras particularmente úteis que propuseram são a regra do calor de transição, do calor de fusão e da densidade. As duas primeiras exigem medidas calorimétricas, que são convenientemente realizadas por DSC. Na 1ª (calor de transição), se, a uma determinada temperatura, é observada uma transição endotérmica entre as formas cristalinas, então há um ponto de transição abaixo desta temperatura e os dois polimorfos estão relacionados enantiotropicamente. Os dois polimorfos são monotrópicos se for observada uma transição exotérmica a uma determinada temperatura e se não ocorrer nenhuma transição a uma temperatura mais elevada. Num sistema enantiotrópico, o polimorfo que tem um ponto de fusão mais elevado terá uma entalpia de fusão mais baixa; se o polimorfo que tem um ponto de fusão mais elevado tem entalpia de fusão mais alta, o

sistema é monotrópico. Se os pontos de fusão dos polimorfos diferirem mais do que 30°C, esta regra não é válida e o polimorfo que tem o ponto de fusão mais elevado poderá ter a entalpia de fusão mais elevada, num sistema enantiotrópico. Na 3ª regra (densidade), se uma modificação do cristal molecular tem uma densidade mais baixa do que outra, pode ser considerada como menos estável no zero absoluto. [11, 12]

A produção de diferentes formas polimórficas, a determinação da modificação estável e o conhecimento da relação de monotropia e enantiotropia são os estudos iniciais no processo de pré-formulação farmacêutica.[6]

1.3.4 – Aspectos Cinéticos

A obtenção de formas sólidas de um composto é frequentemente levada a cabo por cristalização em solução ou a partir de fundidos. Classicamente, o processo de cristalização é descrito em dois passos, nucleação e crescimento dos cristais, com a forma física resultante a ser a consequência da relação cinética entre estes dois processos elementares.

A Teoria Clássica da Nucleação (CNT) é a teoria mais simples e mais amplamente usada que descreve o processo de nucleação. Embora a CNT tenha sido originalmente derivada da condensação do vapor em líquido, também tem sido empregue “por analogia” para explicar a precipitação de cristais a partir de soluções sobresaturadas e fundidos. A descrição termodinâmica deste processo foi desenvolvida até ao final do século XIX por Gibbs, que definiu a variação da energia (ΔG) como a soma da variação da energia livre para a transformação de fase (ΔG_V) e a variação da energia livre para a formação da superfície (ΔG_S).

A taxa de nucleação (I), que é igual ao número de núcleos formados por unidade de tempo e por unidade de volume, é expressa na forma da equação de Arrhenius como

$$I = A \exp\left(-\frac{E}{kT}\right)$$

onde A é o factor pré-exponencial, E a energia de activação para a transformação líquido-sólido, k a constante de Boltzmann e T a temperatura absoluta. [13,14]

A nucleação pode ocorrer por dois mecanismos: o homogéneo e o heterogéneo. Na nucleação homogénea, as flutuações espontâneas na densidade do líquido permitem a formação da forma sólida mais estável, enquanto a nucleação heterogénea é impulsionada por impurezas ou pela superfície de contacto com o líquido. A nucleação heterogénea é o mecanismo predominante em processos industriais. Os processos de nucleação dependem basicamente de dois factores: a supersaturação do meio e a tensão interfacial. A supersaturação é tida como a medida de forças termodinâmicas que levam à formação da fase sólida, enquanto a tensão interfacial é uma medida termodinâmica do trabalho reversível necessário para aumentar a interface entre o líquido e o soluto. Estes factores são pontos a serem considerados na cristalização, uma vez que deles depende a taxa de crescimento de um determinado cristal e dos seus diferentes polimorfos. Ressalta-se também a importância de um

estudo detalhado do papel de cada solvente e impureza presente no processo de cristalização pois estes têm influência directa na possível formação de polimorfos durante a purificação do material.

A nucleação envolve a formação de agregados de moléculas que excederam um tamanho crítico e são, portanto, estáveis. Uma vez que o núcleo cristalino se formou, este começa a crescer pela incorporação de outras moléculas, no cristal em crescimento. A velocidade de crescimento de um cristal é directamente proporcional ao sobrearrefecimento, sobressaturação e inversamente proporcional à viscosidade da solução. Quanto mais alta é a viscosidade, mais difícil se torna a troca de matéria entre a fase líquida e a superfície do cristal e mais lento será seu crescimento. Devido a interações atractivas entre os cristais, os grandes cristais que podem ser observados durante a cristalização são normalmente formados por pequenos cristais unidos por ligações fracas. A morfologia dos cristais é determinada por condições internas e externas. A cinética de cristalização depende da velocidade de formação do núcleo, bem como da velocidade de crescimento dos cristais. O tamanho e a forma dos cristais dependem da relação entre estes dois factores. Normalmente, o arrefecimento lento resulta em cristais grandes, enquanto que o arrefecimento rápido produz cristais menores.

A forma cristalina resultante do processo de cristalização pode variar com o grau de supersaturação. A temperatura pode ser considerada como a segunda variável mais importante que afecta o resultado da cristalização num sistema polimórfico. O solvente, os aditivos (e impurezas), a interface e o pH foram classificados como factores secundários que afectam o processo de cristalização, principalmente através do seu efeito no grau de supersaturação, Figura 1.2.

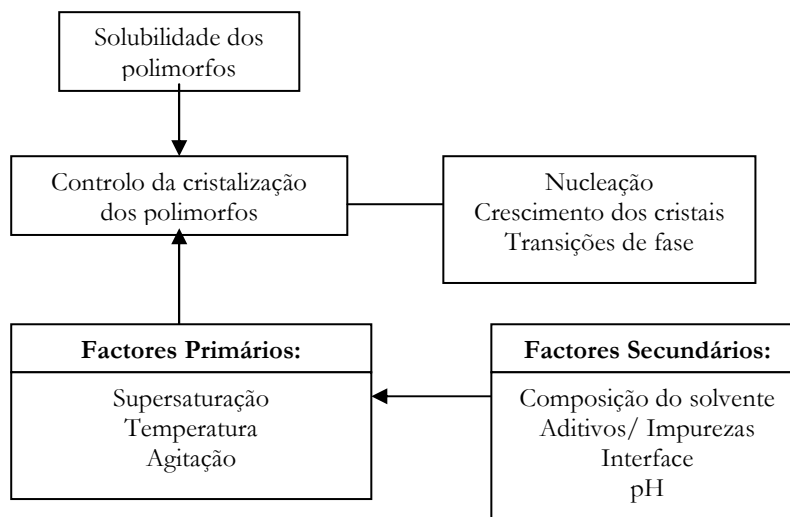


Figura 1.2 - Hierarquia dos parâmetros que controlam o processo de cristalização nos sistemas polimórficos. [10]

Em suma, para aumentar a probabilidade de descobrir todas as formas relevantes, o espaço de variáveis que contribui para a diversidade de formas sólidas deve ser abrangido o mais amplamente possível. [10]

1.3.5 – Geração de formas polimórficas

Apesar do investimento em processos para encontrar todos os polimorfos dos Ingredientes Farmacêuticos Activos (API), novos polimorfos podem ainda aparecer sem aviso. O objectivo, no que diz respeito ao desenvolvimento do estado sólido, é identificar todos os polimorfos e solvatos importantes e caracterizá-los.

Este objectivo de controlo de polimorfismo tem-se desenvolvido rapidamente. Na última década, muitos novos métodos de controlo da formação de polimorfos têm sido desenvolvidos e tem-se caracterizado um enorme número de novas formas polimórficas, parcialmente como resultado de avanços nos métodos para a caracterização de polimorfos.

É essencial executar experiências através de uma variedade de métodos, sob várias condições (Tabela 1.2). Em geral, a cristalização a partir da solução (arrefecimento ou evaporação) e recristalização a partir de compostos puros (sublimação, tratamento térmico, cristalização a partir do fundido e moagem) são os métodos de escolha para criar formas sólidas. A cristalização a partir da solução é normalmente usada para a formação de formas sólidas por diversas razões. Em primeiro lugar, pode ser descoberto um grande número de polimorfos e solvatos por mudança do solvente. Em segundo lugar, os sólidos farmacêuticos são muitas vezes expostos a diferentes solventes durante o processo e, deste modo, a tendência para a formação de solvatos/ hidratos deve ser sistematicamente estudada, de modo a desenhar processos de fabrico. Em terceiro lugar, a desidratação dos hidratos é outra técnica útil, e às vezes a única técnica para descobrir uma forma polimórfica. Finalmente, o solvato (e especialmente o hidrato) pode ser de interesse como produto comercial.

Recentemente, são referidas muitas técnicas inovadoras (por exemplo, cristalização capilar, cristalização induzida por laser e sonocristalização) que promovem a nucleação e, portanto, a descoberta de formas cristalinas activas. [15]

Tabela 1.2 – Métodos para gerar várias formas sólidas [15]

<i>Método</i>	<i>Graus de Liberdade</i>
Cristalização por arrefecimento	Solvente, perfil de arrefecimento, concentração, mistura
Evaporação do solvente	Solvente, concentração inicial, velocidade de evaporação, temperatura, pressão, humidade relativa
Precipitação	Solvente, anti-solvente, velocidade de adição do anti-solvente, mistura, temperatura
Difusão de vapor	Solventes, temperatura, concentração
Equilíbrio de suspensão	Solvente, temperatura, solubilidade, programas de temperatura, mistura, tempo de equilíbrio
Cristalização a partir do fundido	Mudanças de temperatura (mínimo, máximo, gradientes)
Sublimação	Gradiente de temperatura, pressão, tipo de superfície
Mudança de pH	Temperatura, velocidade de mudança, relação ácido/ base conjugada
Tratamento mecânico (moagem, crio-moagem)	Tempo de moagem, tipo de moinho
Liofilização	Solvente, concentração, programas de temperatura

Em geral, os processos de cristalização mais rápidos têm uma grande tendência para formar polimorfos metaestáveis do que os processos mais lentos. [7] A Figura 1.3 mostra a escala de tempo para os processos de cristalização mais tradicionais.

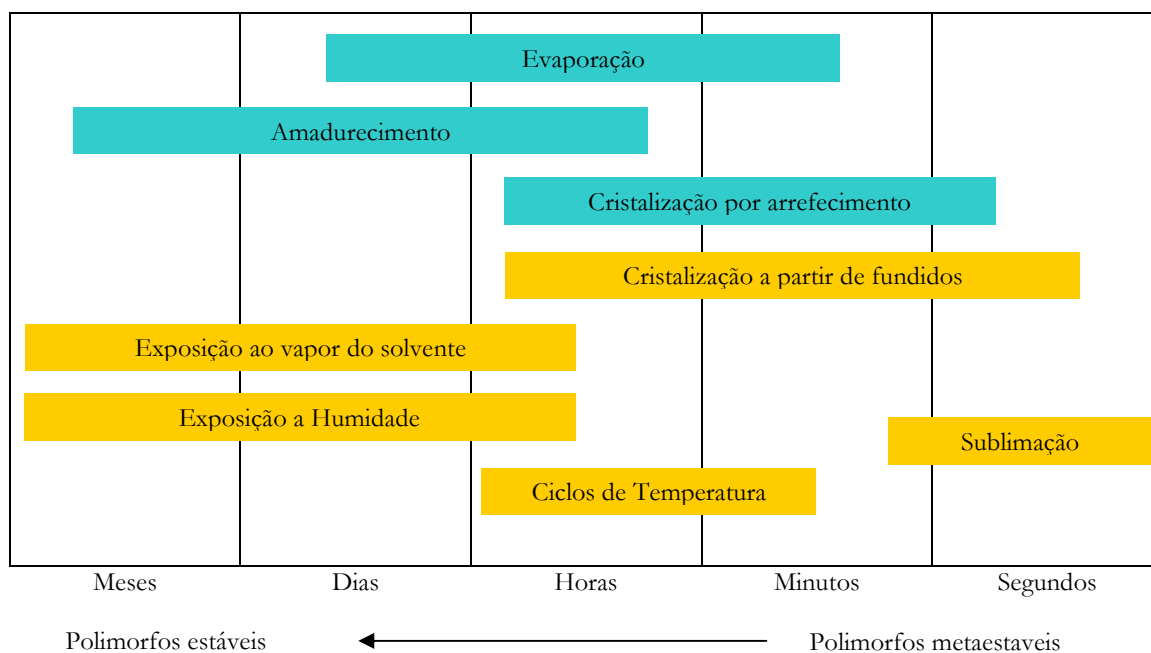


Figura 1.3 – Diferentes metodologias para obtenção de formas sólidas, mostrando a escala de tempo que pode favorecer polímeros estáveis ou metaestáveis. [7]

1.4 Compostos Estudados

Neste trabalho foram estudados dois activos farmacêuticos com larga aplicação em prática médica, a pirazinamida e o ibuprofeno. A primeira, um antituberculostático potente, é uma carboxamida com um anel aromático de pirazina, possuindo, portanto, dois átomos de azoto no anel, um em posição orto e outro meta relativamente ao grupo amida. O Ibuprofeno, um anti-inflamatório não-esteróide, é um derivado do ácido 2-propanóico. Foi também investigada uma outra carboxamida, a picolinamida, cuja estrutura difere da da pirazinamida por ter apenas no anel aromático um azoto em posição orto relativamente ao grupo amida.

Para além do interesse óbvio da investigação do polimorfismo destes compostos, o trabalho realizado insere-se num projecto mais abrangente de pesquisa de co-cristais, sendo fundamental nesse âmbito um conhecimento profundo do estado sólido das substâncias de partida.

1.4.1 – Pirazinamida

A pirazinamida (PZA) (Figura 1.4) é um membro da família da pirazina e é conhecida como um agente antituberculostático muito eficaz, recomendado pela Organização Mundial de Saúde.[16]

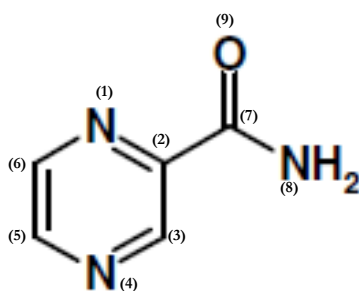


Figura 1.4 – Estrutura da pirazinamida.

O mecanismo de acção da Pirazinamida ainda não está bem elucidado. A sua actividade anti-microbiana deste composto depende parcialmente na conversão na sua forma activa, o ácido pirazinóico, em meio ácido, pela enzima pirazinamidase (PZase). A sua ingestão pode, no entanto, provocar efeitos adversos. Os mais comuns são reacções alérgicas, dores articulares, náuseas, anorexia, febre, vómitos, anemia, podendo ainda surgir alterações hepáticas. [17]

Estão descritas 4 formas polimórficas diferentes de PZA, com diferentes estruturas cristalinas: α -, β -, γ - e δ -pirazinamida, sendo também referido um quinto possível polimorfo α' , semelhante a α . [18]

No polimorfo α da Pirazinamida, sistema monoclinico ($a = 23,07 \pm 0,02$, $b = 6,72 \pm 0,01$, $c = 3,72 \pm 0,01$ Å, $\beta = 101,0 \pm 0,4^\circ$), o plano do anel e o plano do grupo amida formam um ângulo de 5° . As moléculas de PZA estão ligadas por ligações de hidrogénio $\text{NH} \cdots \text{O}$ ($2,90$ Å), formando dímeros centrossimétricos (Figura 1.5). A ligação intermolecular mais forte entre os dímeros encontra-se entre o átomo de nitrogénio do grupo carboxamida e o átomo de nitrogénio do anel de pirazina da molécula vizinha $\text{NH} \cdots \text{N}$. [19]

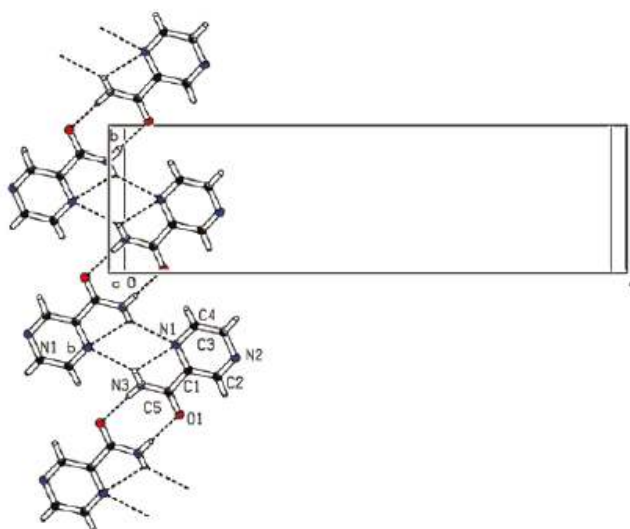


Figura 1.5 – Estrutura do polimorfo α da pirazinamida. [19]

Há pequenas, mas significativas diferenças entre os valores dos comprimentos de ligação das moléculas de pirazinamida nas formas α - e β -PZA, também cristal do sistema monoclinico ($a = 14,372 \pm 0,007$, $b = 3,711 \pm 0,003$,

$c = 10,726 \pm 0,005 \text{ \AA}$, $\beta = 101,92 \pm 0,05^\circ$), indicando que a ressonância entre o grupo amida e o anel de pirazina, dando algum carácter de ligação dupla da ligação C(2)–C(7), é menos notória na molécula β -PZA do que na α -PZA. O comprimento de ligação dupla C=O na molécula β -PZA ($1,231 \text{ \AA}$) é menor do que a correspondente na molécula α -PZA ($1,24 \text{ \AA}$). Na β -PZA, o átomo de carbono da cadeia lateral situa-se perto do plano do anel. Assim, o grupo carboxamida desvia-se cerca de $3,2^\circ$ do plano do anel, comparando com 5° na estrutura da α -PZA.[19] Na β -PZA, existem também dímeros centrossimétricos ligados por ligações de hidrogénio entre o átomo de hidrogénio da amida e o átomo de oxigénio do grupo amida (Figura 1.6).

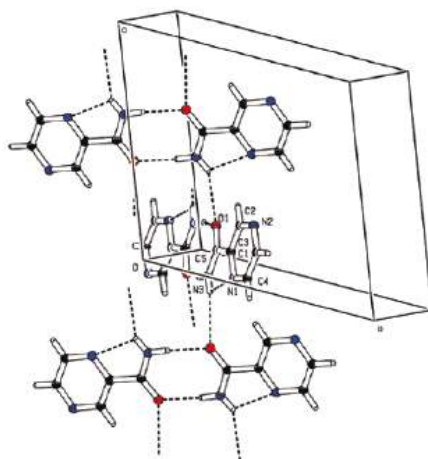


Figura 1.6 – Estrutura do polimorfo β da pirazinamida. [20]

Existem grandes diferenças entre as formas δ e β da pirazinamida, no que diz respeito às ligações C(2)–C(7) e C(7)–O(9) (estas diferenças são mais acentuadas quando comparando as formas δ e β , do que comparando as formas α e β da pirazinamida). A ressonância entre o grupo amida e o anel de pirazina (a ligação C(2)–C(7) apresenta algum carácter de ligação dupla) é maior na α -PZA do que na β -PZA. Neste pressuposto, os comprimentos de ligação obtidos para a δ -PZA (sistema triclinico, $a = 5,728 \pm 0,002$, $b = 5,221 \pm 0,003$, $c = 9,945 \pm 0,006 \text{ \AA}$, $\beta = 97,27 \pm 0,04$) parecem indicar uma ressonância reforçada entre o grupo amida e o anel de pirazina na estrutura da δ -PZA, do que na estrutura da α -PZA. O átomo de carbono C(7) do grupo carboxamida da δ -PZA situa-se muito perto do plano do anel da pirazina, uma vez que o valor do ângulo C(5)–C(2)–C(7) é de $(179,2 \pm 0,4)^\circ$. Assim, o plano do grupo carboxamida tem um desvio de apenas $0,8^\circ$ em relação ao anel de pirazina. Neste polimorfo, sistema triclinico, há associação em dímeros e a ligação de hidrogénio N(8)–H(8'') \cdots O(9) tem um comprimento de $2,90 \text{ \AA}$. Não parece existir, no entanto, nenhuma ligação de hidrogénio forte a ligar os dímeros na estrutura cristalina da δ -PZA, ao contrário do que acontece nas estruturas da α - e β -PZA (Figura 1.7).[21]

Em todos os polimorfos foi identificada a ligação de hidrogénio intramolecular N–H \cdots N.

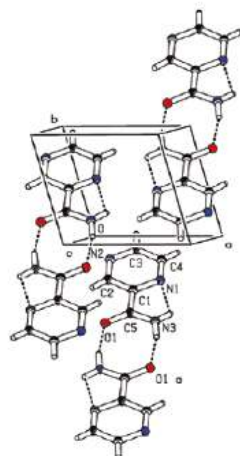


Figura 1.7 – Estrutura do polimorfo δ da pirazinamida. [21]

A Figura 1.8 apresenta a estrutura do polimorfo da pirazinamida γ . Esta é a única forma de pirazinamida conhecida, onde não há associação em unidades diméricas.

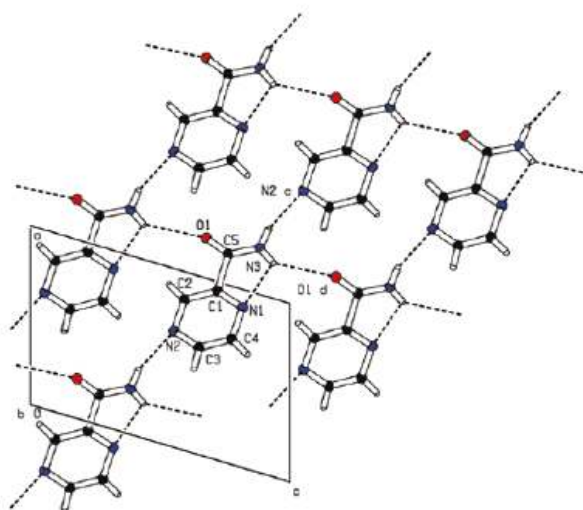


Figura 1.8 – Estrutura do polimorfo γ da pirazinamida.[22]

Apesar das estruturas cristalinas estarem publicadas, não é conhecida a relação de estabilidade entre elas, e são referidas na literatura, temperaturas de fusão semelhantes para todas as formas.

1.4.2 – Picolinamida

A picolinamida (2-piridina carboxamida), Figura 1.9, foi estudada neste trabalho devido às suas semelhanças estruturais com a pirazinamida.

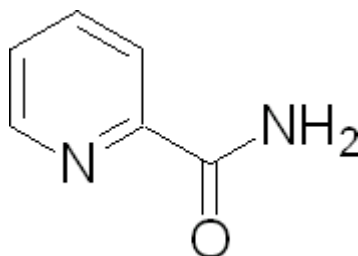


Figura 1.9 – Estrutura da Picolinamida.

A picolinamida, sólido à temperatura ambiente, muito solúvel em solução aquosa ácida, apresenta actividade biológica importante como inibidor da acção da poli(ADP-ribose) sintetase.[23]

De acordo com a análise cristalográfica por difracção de raios-X, foram identificadas duas modificações cristalinhas da picolinamida, ambas pertencentes ao grupo espacial monoclinico $P2_1/a$, com quatro moléculas na célula unitária.[24] Numa modificação (fase α ; $a = 16.42$, $b = 7.11$, $c = 5.19$ Å, $\beta = 100.2^\circ$), duas moléculas de PA estão ligadas por um par de ligações de hidrogénio $NH \cdots O$ para formar um dímero centrossimétrico, como ocorre também nos polimorfos α , β e δ da pirazinamida (Figura 1.10). Os dímeros estão ligados entre si por um segundo conjunto de ligações de hidrogénio $NH \cdots O$ tal como no polimorfo β da pirazinamida.[24] Nesta modificação, o anel não contribui para a ligação de hidrogénio e as cadeias moleculares adjacentes são mantidas juntas por forças de van der Waals. A segunda modificação cristalina da PA para a qual apenas se conhecem os parâmetros da célula (fase β ; $a = 20.04$, $b = 11.32$, $c = 5.36$ Å, $\beta = 98.6^\circ$) exhibe estrutura dimérica similar à da primeira, e segundo Takino e colaboradores terá uma associação molecular semelhante à α -pirazinamida ou seja neste caso a ligação lateral dos dímeros envolve a participação de um átomo do anel de piridina como aceitador de ligações de hidrogénio. [25]

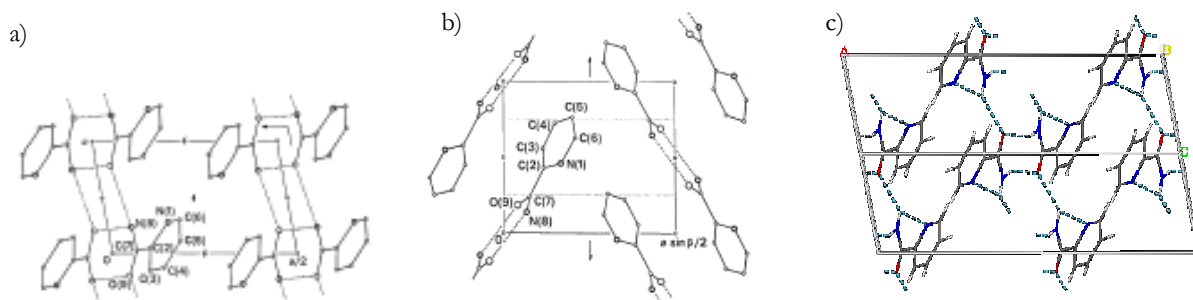


Figura 1.10 – Arranjos moleculares da PA no polimorfo α : a) formação do dímero centrossimétrico; b) formação de cadeias ou bandas; c) estrutura do polimorfo α da picolinamida. As linhas a tracejado indicam as ligações de hidrogénio. [24]

1.4.3 – Ibuprofeno

O Ibuprofeno (IBP) (Figura 1.11) é um fármaco do grupo dos anti-inflamatórios não esteróides (do subgrupo químico dos derivados do ácido propanóico), fármacos esses que têm em comum a capacidade de combater a inflamação, a dor e a febre. Tal como os outros anti-inflamatórios não esteróides, actua inibindo a produção de prostaglandinas, substâncias químicas produzidas pelo corpo que causam inflamação e contribuem para a percepção de dor pelo cérebro. Este fármaco reduz também a febre, ao bloquear a síntese de prostaglandinas no hipotálamo, responsável pela regulação da temperatura do corpo. Tem ainda propriedades anticoagulantes. Juntamente com o ácido acetilsalicílico (princípio activo da Aspirina e de outros medicamentos) e o paracetamol (princípio activo do Ben-U-Ron e de outros medicamentos), o ibuprofeno faz parte da lista de fármacos essenciais da Organização Mundial de Saúde. [26]

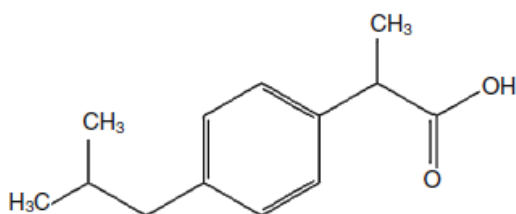


Figura 1.11 – Estrutura do Ibuprofeno.

A molécula de IBP possui um carbono quiral e são comercializadas quer a mistura racémica de S(+) – IBP e R(-) – IBP, quer o enantiómero puro. O enantiómero com interesse terapêutico é o S(+) – IBP, mas nas especialidades farmacêuticas é incorporado o R(-) – IBP, formando uma mistura racémica. [27–29]

A utilização de diversas técnicas para a cristalização à temperatura ambiente em diferentes solventes, cristalização por mudança de temperatura e cristalização por evaporação do solvente conduziram à obtenção de cristais de IBP racémico com hábitos cristalinos diferentes. [30, 31] Por exemplo, quando foi utilizada a técnica de cristalização por arrefecimento, foram observados cristais com forma de placas achatadas, usando álcoois como solvente. Os cristais obtidos a partir de acetona, éter etílico e n-hexano tinham a forma de agulhas. A cristalização por mudança de temperatura, usando o diclorometano como solvente, formou cristais de morfologia cúbica. A partir destes resultados concluiu-se que podiam ser obtidas diferentes morfologias dos cristais (hábito, tamanho, superfície) do IBP racémico, dependendo da preparação e dos solventes usados. [32] Estes cristais tinham também propriedades físicas diferentes. Mas estas diferentes formas são estruturalmente isomórficas e não há um polimorfismo cristalino verdadeiro.

A forma cristalográfica obtida nestes solventes, forma I, possui grupo espacial monoclinico $P2_1/c$. [32] Duas moléculas de ibuprofeno formam um dímero cíclico, através das ligações de hidrogénio dos grupos carboxílicos. O dímero R,S (±) – IBP é formado por ligações de hidrogénio através de um centro de inversão, com uma molécula na configuração R e outra na configuração S (Figura 1.12).

Adicionalmente à bem conhecida fase cristalina I, que funde a aproximadamente 75°C, foi recentemente encontrada outra fase cristalina (II), que funde a uma temperatura mais baixa (17°C) e é menos estável. [30] A compa-

ração das entalpias de fusão das duas formas e a ausência de transição sólido-sólido conduz à forte suspeita que estas duas variedades polimórficas formam um sistema monotrópico: a fase I é a forma estável e a fase II é a metaestável. [32]

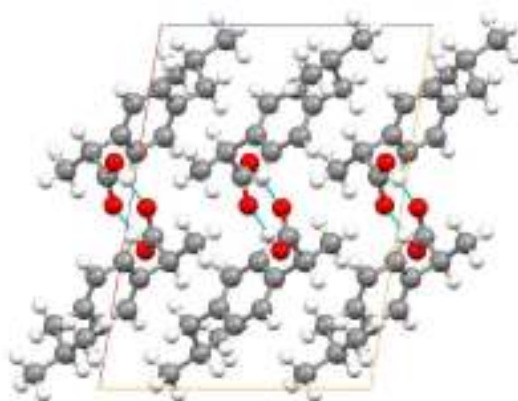


Figura 1.12 – Estrutura do polimorfo I da molécula de ibuprofeno.[33]

Capítulo 2



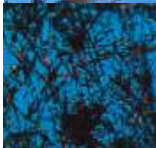
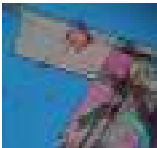


2. Resultados e Discussão

2.1 Estudo da Pirazinamida

2.1.1 – Avaliação Preliminar

Na tabela 2.1 são apresentadas imagens registradas sob luz polarizada dos sólidos obtidos por cristalização a partir das soluções, por liofilização e também da amostra de partida.

Tabela 2.1 – Pirazinamida: Imagens dos sólidos obtidos em diferentes condições experimentais (luz polarizada, ampliação 200x)

#	Hábito Cristalino (200x)	Solvente Processo de Cristalização	#	Hábito Cristalino (200x)	Solvente Processo de Cristalização
1		- Amostra comercial	4		Acetona P1
2		- P2	5		Dioxano P1
3		Água P1	6		Acetonitrilo P1

Como pode concluir-se das imagens apresentadas na tabela, os sólidos obtidos apresentam morfologias diferentes. Nas amostras obtidas em água e acetona, na amostra comercial e na obtida por liofilização, os cristais têm a forma de agulhas, apesar de apresentarem tamanhos diferentes, muito mais finos no caso do liofilizado. Os cristais que precipitaram usando dioxano e acetonitrilo como solvente apresentam-se sob a forma de placas. A caracterização dos sólidos #1 a #5 foi efectuada por difracção de raios-X de pó. Os difractogramas obtidos experimentalmente estão representados nas Figuras 2.1 a 2.4, conjuntamente com os espectros simulados que mais se lhe aproximam.

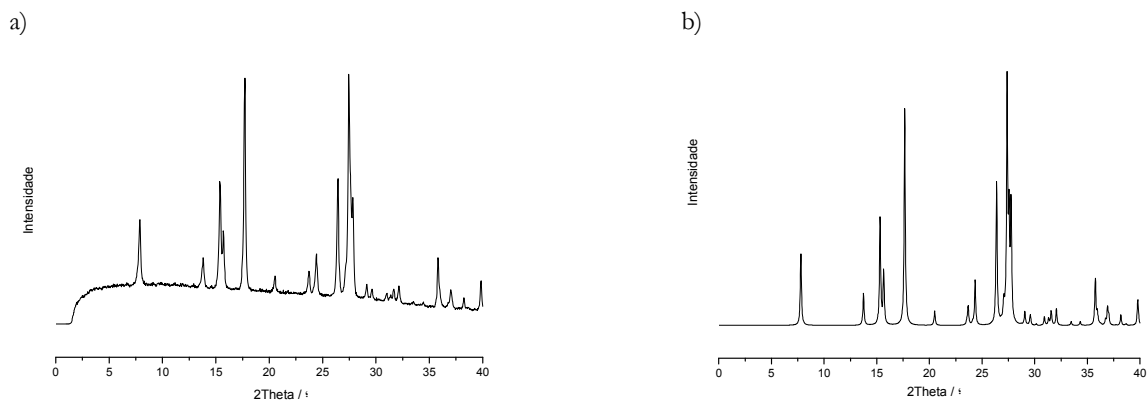


Figura 2.1 – Espectro de difracção de raios X de pó: a) pirazinamida comercial; b) simulado para a forma α .

O difractograma de pó da forma α da pirazinamida tem picos característicos a $2\theta = 7.8, 13.7, 15.3, 17.7, 24.3, 26.4, 27.4, 27.6, 27.8^\circ$. A semelhança dos perfis dos difractogramas da pirazinamida comercial com o desta forma não deixa dúvidas de que a amostra de partida é o polimorfo α .

Para a pirazinamida cristalizada em água (conforme descrito na secção 4.1.1.1) fez-se um estudo semelhante: não foram encontradas mudanças significativas na estrutura do sólido relativamente à amostra comercial pois, apesar de ter sido cristalizada a partir de água, o difractograma possui picos com localização e intensidade relativa idênticas às presentes no polimorfo alfa da pirazinamida, tendo assim sido o sólido identificado com a forma α .

Do mesmo modo, a coincidência do espectro obtido para a amostra obtida por liofilização e do simulado para a forma γ permitiu concluir que por liofilização se obteve o polimorfo γ , Figura 2.2, com picos característicos a $2\theta = 12.9, 17.3, 18.4, 23.9, 25.4, 25.9, 27.2, 27.4, 29.7, 30.3, 33.6, 39.3^\circ$.

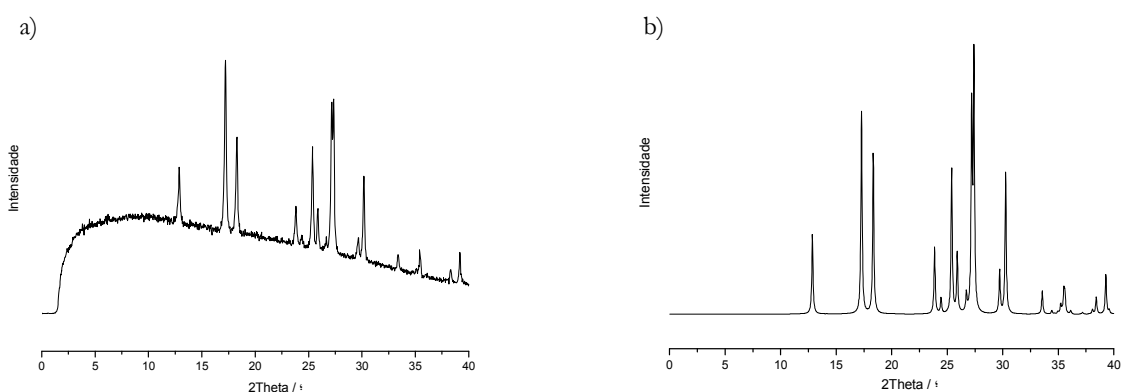


Figura 2.2 – Espectro de difracção de raios X de pó: a) amostra de pirazinamida obtida por liofilização; b) simulado para o polimorfo γ .

A cristalização de acetona origina a forma δ da pirazinamida (Figura 2.3), com picos característicos a $2\theta = 9.1, 16.4, 17.3, 18.2, 20.0, 23.5, 27.7^\circ$.

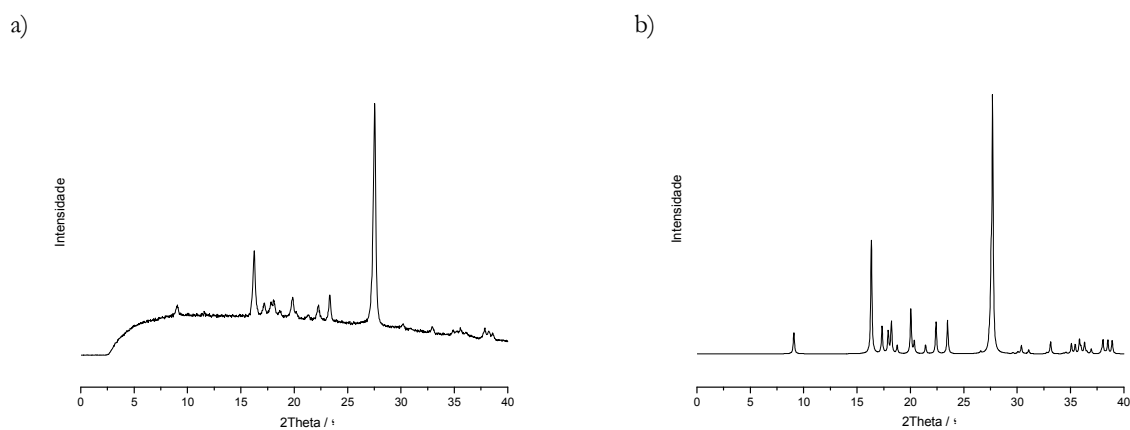


Figura 2.3 – Espectro de difracção de raios X de pó: a) pirazinamida cristalizada em acetona: b) simulado para a forma δ .

Em dioxano foi obtida uma mistura das formas β ($2\theta = 12.6, 16.8, 16.9, 25.3, 25.5, 26.7, 27.2^\circ$) e γ , como se conclui da Figura 2.4.

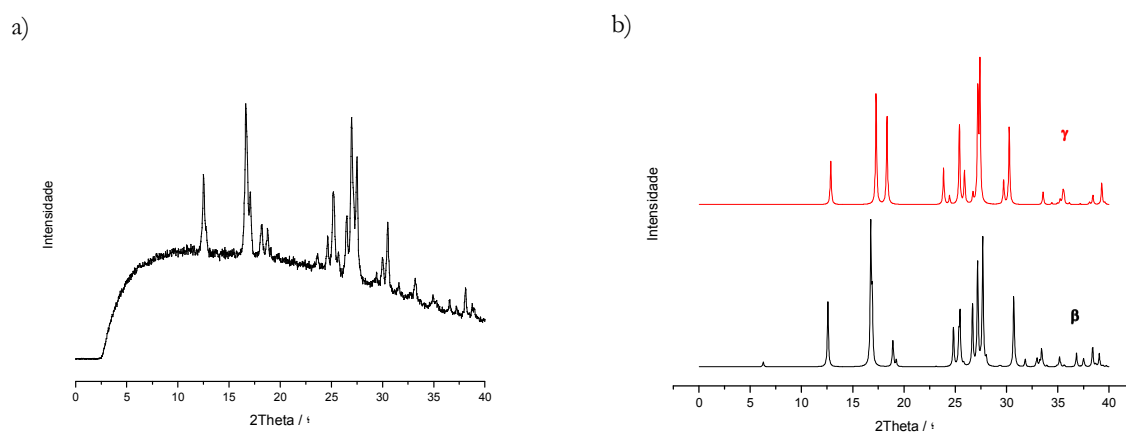


Figura 2.4 – Espectro de difracção de raios X de pó: a) amostra cristalizada em dioxano; b) espectro simulado das formas β e γ .

A amostra cristalizada em acetonitrilo não foi avaliada por este método de estudo e será discutida mais à frente. Dispomos de amostras puras dos polimorfos α , δ e γ da pirazinamida, sendo portanto possível fazer a sua caracterização por espectroscopia de infravermelho e investigar a relação de estabilidade entre as fases.

2.1.2 – Caracterização por Espectroscopia de Infravermelho

A análise por espectrofotometria de infravermelho pode ser de grande utilidade na caracterização de estruturas polimórficas, quanto à sua estrutura química, fornecendo indicação de ocorrência de modificações após o pro-

cesso de cristalização. Para poder ser utilizada com esta finalidade é necessário produzir amostras puras de cada um dos polimorfos e caracterizá-los previamente.

Nos estudos publicados sobre infravermelho da pirazinamida no estado sólido, foi utilizada a forma α [34,35] e em muitos trabalhos não é identificado o polimorfo utilizado. [36–40] Neste trabalho estamos em condições de fazer a caracterização espectroscópica das formas α , γ e δ da pirazinamida.

Neste composto são de particular relevância os modos vibracionais envolvendo os grupos N–H e C=O (grupos envolvidos na formação de ligações de hidrogênio), que serão alvo de análise mais detalhada.

Os espectros de infravermelho registados para os polimorfos α , δ e γ da pirazinamida são apresentados nas Figuras 2.5 a 2.7. Estes espectros foram obtidos em pastilha de KBr. Espectros obtidos no modo de reflectância total atenuada provaram que a preparação da pastilha não tem efeito nas formas polimórficas.

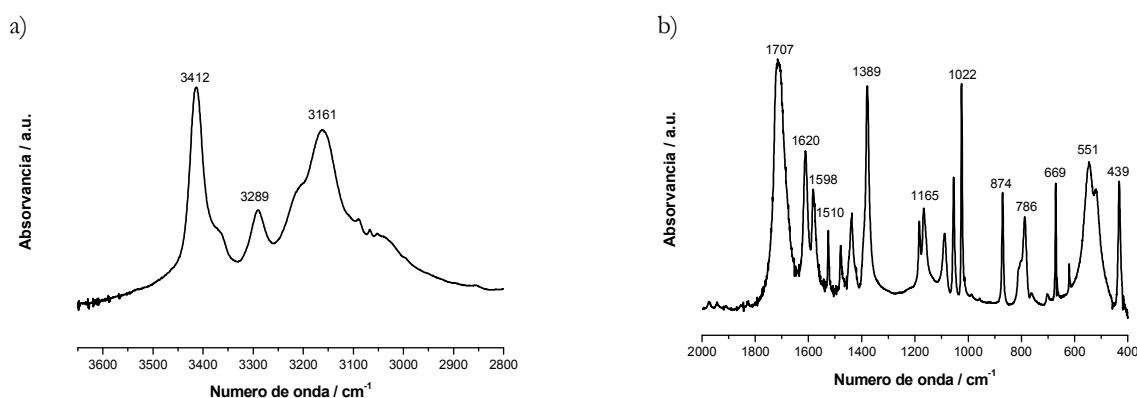


Figura 2.5 – Espectro de IV da pza comercial, polimorfo α : a) 3650 – 2800 cm^{-1} ; b) 2000 – 400 cm^{-1} .

São registadas diferenças notórias nos espectros dos três polimorfos. Iremos referir as mais significativas.

O espectro de absorção na região do infravermelho da pirazinamida comercial (Figura 2.5, polimorfo α) apresenta bandas intensas em 3412, 3289 e 3161 cm^{-1} , atribuídas à elongação do N–H, e em 1707 cm^{-1} atribuída ao grupo amida (elongação C=O e deformação angular NH_2 / amida I). No caso do polimorfo γ , Figura 2.6, a elongação do N–H dá origem a bandas em 3433, 3308, 3252 e 3166 e a vibração Amida I dá lugar a bandas em 1707 e 1686 cm^{-1} .

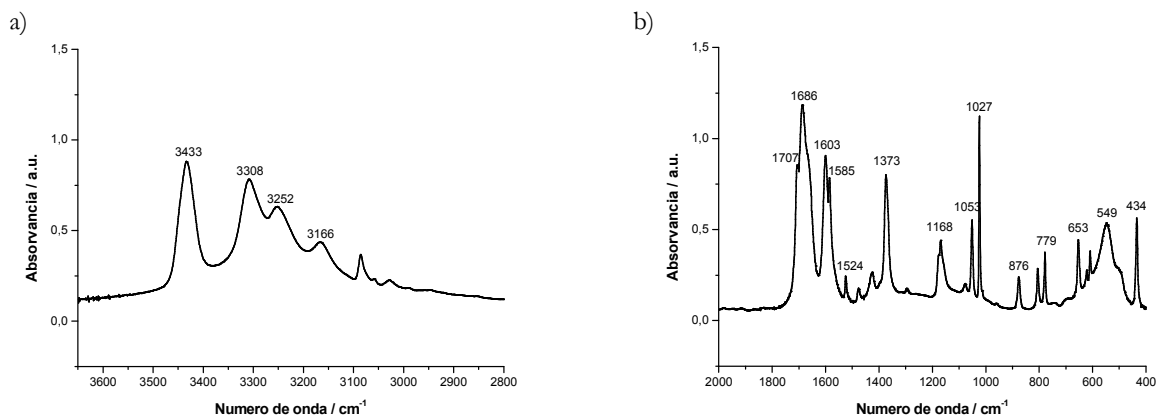


Figura 2.6 – Espectro de IV da pza liofilizada, polimorfo γ : a) 3650 – 2800 cm^{-1} ; b) 2000 – 400 cm^{-1} .

O espectro de IV do polimorfo δ , Figura 2.7, apresenta na região de elongação do N–H, um perfil próximo do polimorfo α , mas os máximos de absorvância situam-se a 3426, 3287 e 3168 cm^{-1} . Recordar que na estrutura cristalina de ambos os polimorfos estão presentes dímeros centrossimétricos os quais não existem no polimorfo γ . A vibração Amida I tem o máximo de absorvância no valor de energia mais baixo dos três polimorfos, 1674 cm^{-1} .

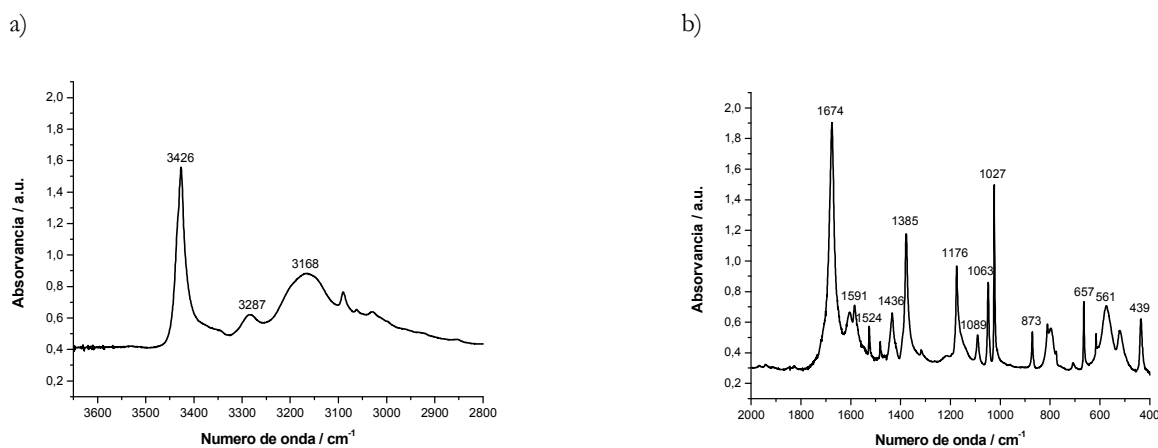


Figura 2.7 – Espectro de IV da pza cristalizada de acetona a 25°C, polimorfo δ : a) 3650 – 2800 cm^{-1} ; b) 2000 – 400 cm^{-1} .

2.1.3 – Investigação de relações de estabilidade dos polimorfos da Pirazinamida

Iniciou-se a investigação com o estudo de pza comercial, polimorfo α , por calorimetria diferencial de varrimento, com velocidade de varrimento $\beta = 10^\circ\text{C}/\text{min.}$, efectuando aquecimento entre 25°C e 197°C.

A Figura 2.8 mostra um termograma típico obtido nestas condições para a pza comercial.

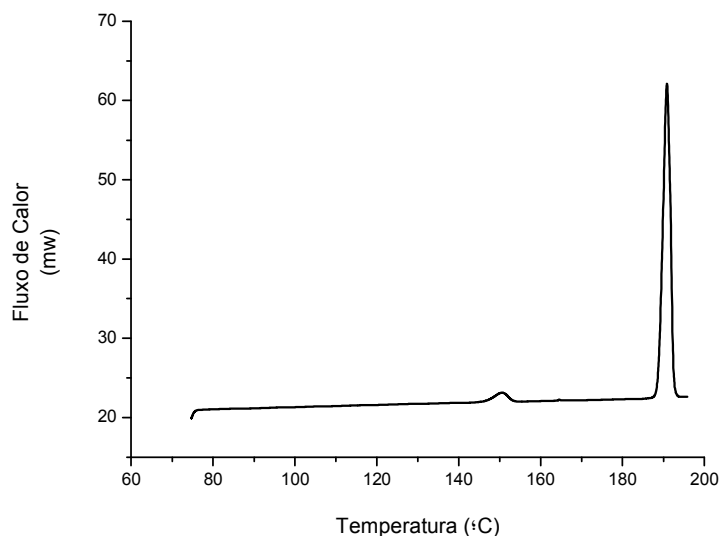


Figura 2.8 – Curva de DSC do polimorfo α da pirazinamida: aquecimento de 75°C até 197°C; $\beta = 10^\circ\text{C}/\text{min}$;
 $m = 1,22\text{mg}$.

A curva de de DSC do polimorfo α apresenta dois sinais endotérmicos. De um conjunto de 6 amostras independentes, obteve-se para o 1º pico os valores de $T_{\text{onset}} = (146,2 \pm 0,3)^\circ\text{C}$ e $\Delta H = (1,4 \pm 0,3) \text{kJ}/\text{mol}$, e para o 2º pico $T_{\text{onset}} = (188,1 \pm 0,5)^\circ\text{C}$ e $\Delta H = (28,1 \pm 0,2) \text{kJ}/\text{mol}$. A Tabela 2.2 sumaria os resultados obtidos.

Tabela 2.2 – Valores de temperatura e de entalpia das transições observadas no aquecimento da pirazinamida, polimorfo α , $\beta = 10^\circ\text{C}/\text{min}$.

#	1º Pico		2º Pico	
	T_{onset} (°C)	ΔH (kJ/mol)	T_{onset} (°C)	ΔH (kJ/mol)
1	146,2	1,5	188,3	28,0
2	146,4	1,7	188,6	28,4
3	145,9	1,2	187,8	28,1
4	146,6	0,9	187,3	28,0
5	145,8	1,6	188,1	28,3
6	146,3	1,2	188,3	27,9
Média e desvio padrão	146,2±0,3	1,4±0,3	188,1±0,5	28,1±0,2

A partir do conhecimento termodinâmico que se tem e dos valores de entalpia calculados, podemos prever que o 1º pico da curva de DSC da Figura 2.8 corresponde a uma transição de fase sólido-sólido do composto e o 2º pico corresponde à sua fusão, uma vez que o valor de entalpia deste último é muito superior, quando comparado com o primeiro. Um processo de aquecimento de 25°C até 197°C efectuado por termomicroscopia permitiu registar as imagens apresentadas na Figura 2.9.

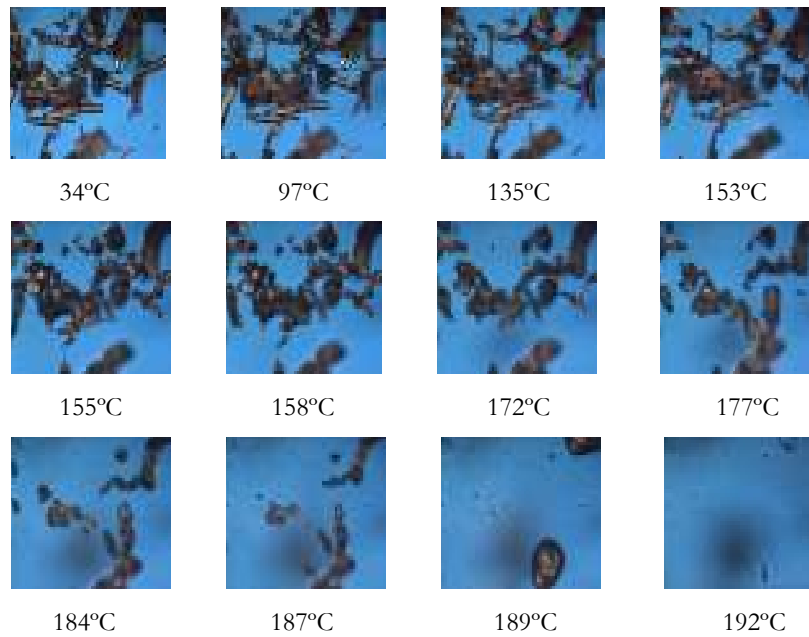


Figura 2.9 – Transições de fase observadas para a pza comercial, por termomicroscopia de luz polarizada, no decurso do aquecimento de 25°C a 197°C; $\beta = 10^\circ\text{C}/\text{min.}$, ampliação 200x.

Estas imagens confirmam a identificação das transições discutidas acima.

Seguidamente, fez-se um estudo mais pormenorizado destes resultados, realizando dois aquecimentos: um primeiro, até ao fim da transição de fase (de 25°C até 160°C), seguido de arrefecimento até 25°C e depois de aquecimento até à fusão (de 25°C até 197°C). Os resultados obtidos estão exemplificados na Figura 2.10. Nos processos de arrefecimento não foi registado qualquer pico (arrefecimento conduzido a 20°C/min., 10°C/min., 5°C/min. e 2°C/min.).

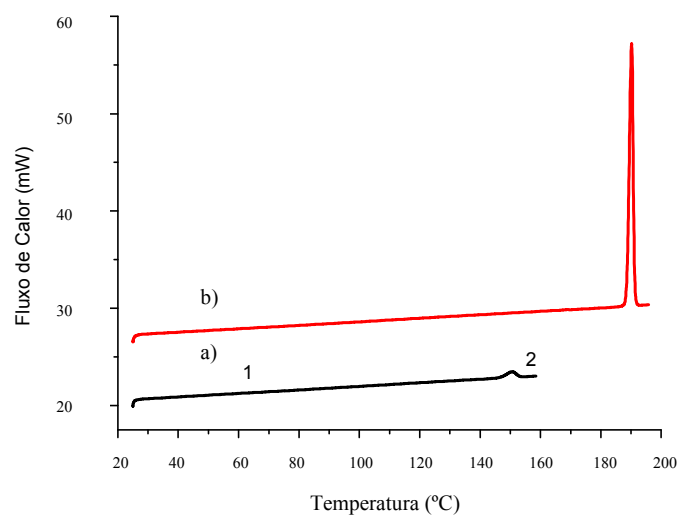


Figura 2.10 – Curva de DSC da pza comercial, com $\beta = 10^\circ\text{C}/\text{min.}$, e $m = 1,15\text{mg}$: a) 1º aquecimento de 25°C a 160°C; b) 2º aquecimento de 25°C a 197°C, após arrefecimento do sólido 2, até à temperatura ambiente.

Os resultados de quatro experiências levadas a cabo nestas condições estão indicados na Tabela 2.3.

Tabela 2.3 – Valores de temperatura e de entalpia de transição obtidos por aquecimento da pirazinamida, polimorfo α , nas condições indicadas na Figura 2.10, $\beta = 10^\circ\text{C}/\text{min}$.

#	<i>Curva a)</i>		<i>Curva b)</i>	
	T_{onset} ($^\circ\text{C}$)	ΔH (kJ/mol)	T_{onset} ($^\circ\text{C}$)	ΔH (kJ/mol)
1	146,4	1,4	188,5	28,1
2	146,2	1,2	187,9	28,4
3	146,2	1,6	188,2	27,7
4	146,5	1,4	188,4	28,2
Média e desvio padrão	$146,3 \pm 0,2$	$1,4 \pm 0,2$	$188,3 \pm 0,2$	$28,1 \pm 0,3$

Com estes resultados podemos confirmar a existência de uma transição de fase por volta dos 146°C (no 1º aquecimento), $T_{\text{onset}} = (146,3 \pm 0,2)^\circ\text{C}$, $\Delta H = (1,4 \pm 0,2) \text{ kJ}/\text{mol}$, $n = 4$ e apenas a ocorrência de fusão, por volta dos 188°C , no 2º aquecimento, $T_{\text{onset}} = (188,3 \pm 0,2)^\circ\text{C}$, $\Delta H = (28,1 \pm 0,3) \text{ kJ}/\text{mol}$. Pode concluir-se que a forma inicial da pza comercial se transforma noutra e que é esta segunda que sofre fusão.

O espectro de infravermelho da amostra obtida após a transição sólido-sólido, Figura 2.11, aponta para a transformação do polimorfo α no polimorfo γ .

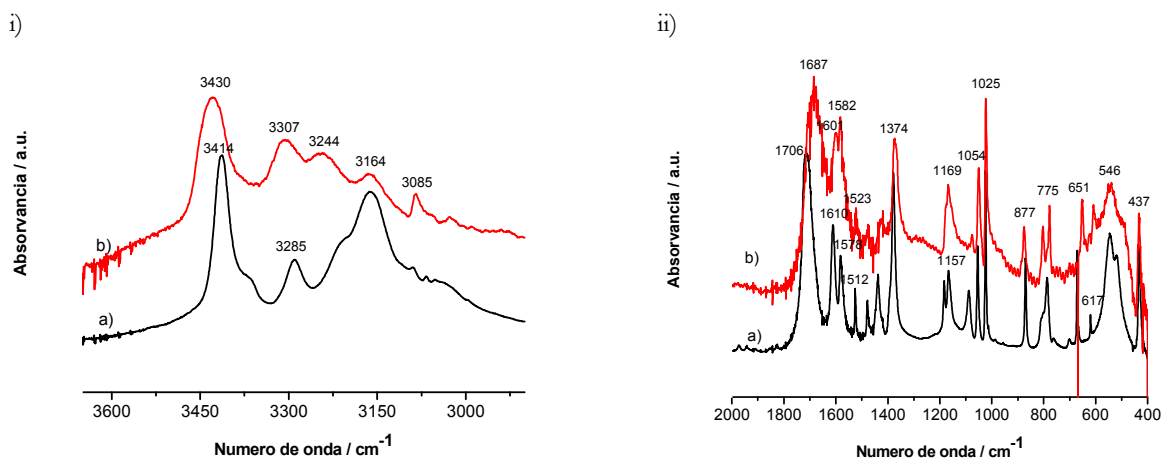


Figura 2.11 – Espectro de IV da pza comercial: a) composto de partida; b) após transição sólido-sólido: i) $3650 - 2800 \text{ cm}^{-1}$; ii) $2000 - 400 \text{ cm}^{-1}$.

Com a técnica de difracção de raios X aplicada a uma amostra de pza comercial aquecida até 160°C , confirmou-se que a forma cristalina final (após transição sólido-sólido) é a forma gama (γ -pirazinamida).

Uma amostra obtida por aquecimento do polimorfo α até 160°C foi deixada à temperatura ambiente e foi novamente analisada 3 meses depois, efectuando um aquecimento até 197°C , verificando-se que, mesmo após este tempo, não sofreu alteração: o termograma obtido é similar ao apresentado na Figura 2.10 b).

Para o polimorfo obtido por liofilização, polimorfo γ , o estudo calorimétrico por DSC conduziu a curvas exemplificadas na Figura 2.12, o que era o esperado, atendendo aos resultados já referidos.

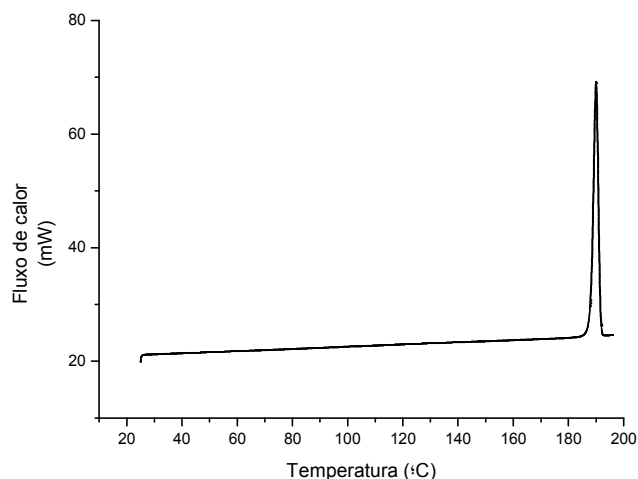


Figura 2.12 – Curva de DSC do polimorfo γ da pirazinamida; aquecimento de 25°C até 197°C; $\beta = 10^\circ\text{C}/\text{min.}$; $m = 3,03\text{mg.}$

Na curva de DSC do polimorfo γ (Figura 2.12) observa-se apenas um sinal endotérmico, correspondente à fusão da amostra. De um conjunto de 3 amostras independentes, obteve-se para o processo de fusão os valores de $T_{\text{onset}} = (188,2 \pm 0,1)^\circ\text{C}$ e $\Delta H = (28,0 \pm 0,2)\text{kJ/mol}$, Tabela 2.4.

Tabela 2.4 – Valores de temperatura e de entalpia de transição de fase registada no aquecimento da pirazinamida, polimorfo γ , $\beta = 10^\circ\text{C}/\text{min.}$

#	T_{onset} ($^\circ\text{C}$)	ΔH (kJ/mol)
1	188,1	28,0
2	188,1	27,8
3	188,3	28,2
Média e desvio padrão	$188,2 \pm 0,1$	$28,0 \pm 0,2$

Com estes resultados podemos concluir que esta forma polimórfica da pirazinamida não experimenta qualquer transformação sólido-sólido, antes da fusão.

A amostra de pza cristalizada de acetona (polimorfo δ) foi também caracterizada por calorimetria diferencial de varrimento, realizando ensaios de aquecimento até 197°C, com velocidade de $10^\circ\text{C}/\text{min.}$ (Figura 2.13).

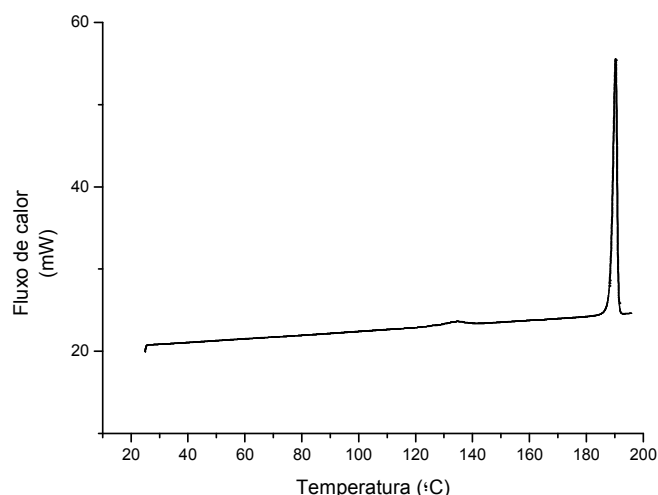


Figura 2.13 – Curva de DSC do polímero δ da pirazinamida (aquecimento de 25°C até 197°C; $\beta = 10^\circ\text{C}/\text{min}$; $m = 1,47\text{mg}$).

Podemos verificar novamente a ocorrência de duas transformações endotérmicas, sendo que a primeira corresponde a transição sólido-sólido, $T_{\text{onset}} = (130,5 \pm 0,3)^\circ\text{C}$, $\Delta H = (1,7 \pm 0,2) \text{ kJ/mol}$, $n = 5$, e a segunda à fusão, $T_{\text{onset}} = (188,3 \pm 0,1)^\circ\text{C}$, $\Delta H = (27,6 \pm 0,6) \text{ kJ/mol}$, $n = 5$. A Tabela 2.5 resume os resultados obtidos.

O polímero δ foi então aquecido até 165°C (após a transição sólido-sólido), não se tendo observado qualquer transição de fase no arrefecimento subsequente até à temperatura ambiente. O espectro de difracção de raios-X de pó da amostra resultante deste ciclo de aquecimento/ arrefecimento permitiu concluir que a forma delta se transforma no polímero gama, após aquecimento.

Tabela 2.5 – Valores de temperatura e de entalpia das transições de fase registadas no aquecimento da pirazinamida, polímero δ , $\beta = 10^\circ\text{C}/\text{min}$.

#	<i>1ª Pico</i>		<i>2ª Pico</i>	
	T_{onset} (°C)	ΔH (kJ/mol)	T_{onset} (°C)	ΔH (kJ/mol)
1	130,8	1,8	188,4	27,9
2	130,3	1,7	188,1	26,8
3	130,4	1,8	188,4	27,5
4	130,1	1,4	188,3	27,9
5	130,7	1,7	188,2	27,8
Média e desvio padrão	$130,5 \pm 0,3$	$1,7 \pm 0,2$	$188,3 \pm 0,1$	$27,6 \pm 0,6$

Na Figura 2.14 a), podemos verificar a existência de uma grande irregularidade no pico correspondente à transição sólido-sólido, o que poderá indicar a co-existência de várias transformações. Sendo assim, fez-se um novo estudo, efectuando um aquecimento até 137°C, que é a zona onde existem os vários picos (Figura 2.14 b)). O espectro de difracção de raios X de pó desta amostra confirmou tratar-se da forma γ da pirazinamida, não ocor-

rendo qualquer outra transição de fase, apesar da irregularidade apresentada nos picos, que poderá resultar de heterogeneidade das partículas sólidas.

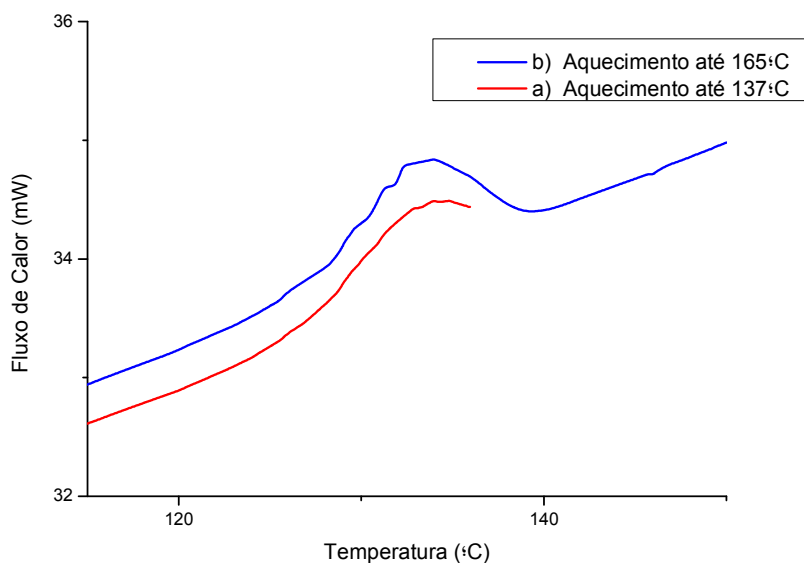


Figura 2.14 – Curvas de DSC para a pza cristalizada em acetona, $\beta = 10^{\circ}\text{C}/\text{min.}$: a) aquecimento de 25°C até 137°C , $m = 1,47$ mg; b) aquecimento de 25°C até 165°C , $m = 1,52$ mg.

Foram obtidas para a amostra de pirazinamida gerada por cristalização em acetonitrilo, amostra #6 na Tabela 2.1 as curvas de DSC apresentadas na Figura 2.15 registradas em diferentes condições experimentais: aquecimento até à fusão no caso da curva a e num ciclo de aquecimentos/ arrefecimentos no caso das curvas b. Os arrefecimentos foram realizados a $10^{\circ}\text{C}/\text{min.}$ não se registando qualquer transição de fase nesses varrimentos.

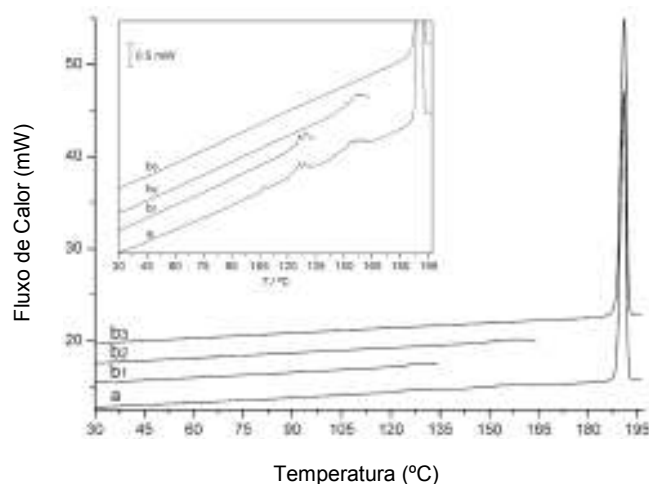


Figura 2.15 – Curvas de DSC para a pza cristalizada em acetonitrilo (polimorfos α e δ): **a** $m = 1,61$ mg, aquecimento de 25°C até 197°C ; **b1** $m = 1,81$ mg, aquecimento de 25°C até 135°C ; **b2** aquecimento de 25°C até 165°C após arrefecimento de **b1** até 25°C ; **b3** aquecimento de 25°C até 197°C após arrefecimento de **b2** até 25°C ; $\beta = 10^{\circ}\text{C}/\text{min.}$

Na Figura 2.15, observam-se duas transições endotérmicas antes do pico de fusão. Estas transformações de fase foram estudadas por espectroscopia de IV.

O espectro de IV da amostra de partida, Figura 2.16 a), confirma que na cristalização em acetonitrilo foi gerada uma mistura dos polimorfos α e δ (Figura 2.16 a)). Registou-se também espectros de IV da amostra aquecida até 135°C (como na curva de DSC **b1** da Figura 2.15), Figura 2.16 b)), seguida de arrefecimento até 25°C, e da amostra aquecida até 165°C, Figura 2.16 c).

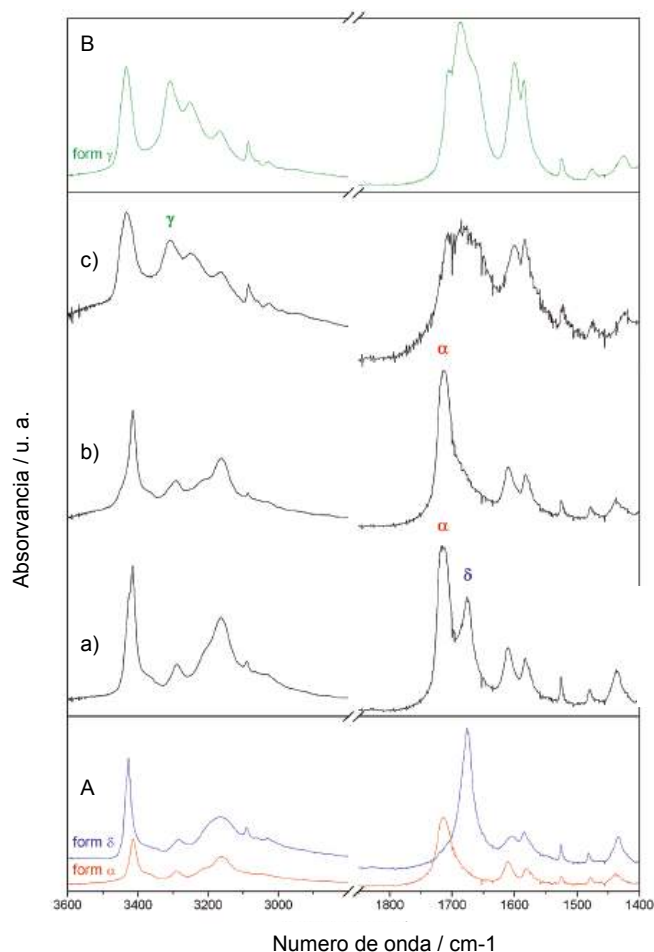


Figura 2.16 – Espectro de Infravermelho de: a) amostra de pirazinamida cristalizada em acetonitrilo; b) amostra anterior após aquecimento até 135°C; c) amostra após aquecimento até 165°C; A) espectros dos polimorfos α e δ puros; B) espectro do polimorfo γ puro.

São evidentes a partir da Figura 2.16 as transições do polimorfo δ para o polimorfo α que, posteriormente, se transforma no polimorfo γ . A identidade das fases sólidas foi ainda confirmada por difracção de raios-X, realizadas em amostras preparadas de forma similar.

Apesar de não poder ser obtida a forma polimórfica β pura, os dados de DSC e termomicroscopia realizados na amostra #5 ($\beta + \gamma$) mostram uma transição sólido-sólido endotérmica aos 95°C, $\beta = 10^\circ\text{C}/\text{min}$. (Figura 2.17), originando o polimorfo γ , como depois foi confirmado por espectroscopia de IV e pela temperatura de fusão característica.

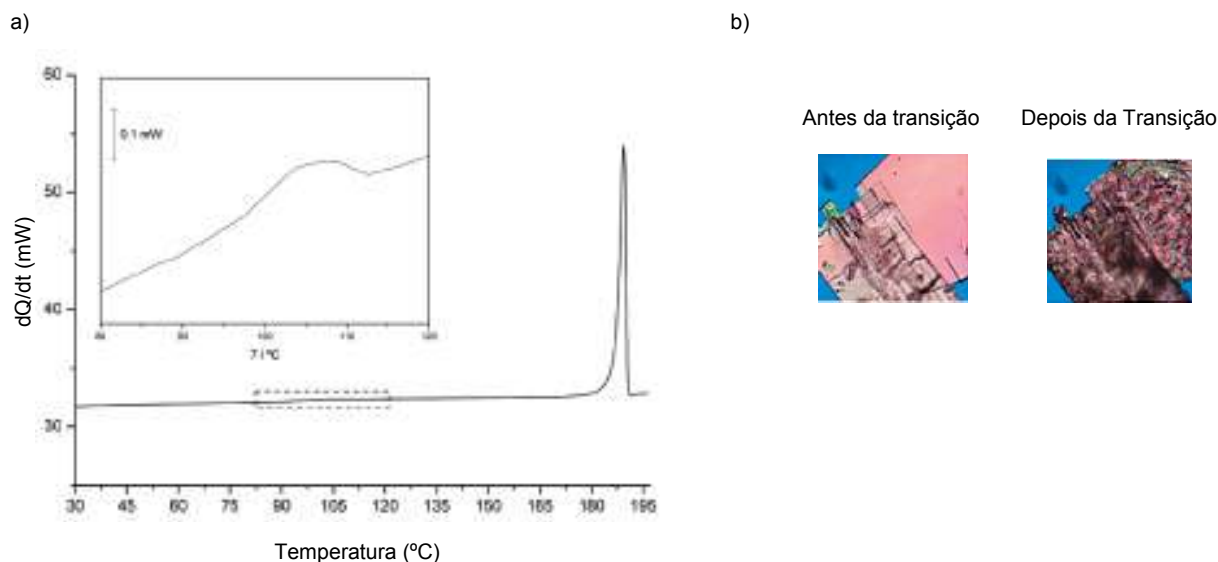


Figura 2.17 – a) Curvas de aquecimento da pza cristalizada de dioxano, polimorfos β e γ ; $m = 1,66$ mg; $\beta = 10^\circ\text{C}/\text{min}$. b) Imagens de termomicroscopia registadas antes e depois da transição sólido-sólido.

Estabilidade relativa dos polimorfos de pirazinamida

Todas as transições de fase verificadas no estudo da pirazinamida são endotérmicas e na ausência de mudanças conformacionais significativas da molécula de pza nos diferentes polimorfos, este comportamento aponta para uma relação enantiotrópica entre as fases envolvidas. [12,26,41] De acordo com Burger e Ramberger, esta regra da entalpia da transição faz previsões correctas em 99% dos casos. [26] A partir do estudo do comportamento térmico das formas α , β , δ e γ da pirazinamida, pode-se prever o diagrama energia de Gibbs em função da temperatura que se apresenta na Figura 2.18.

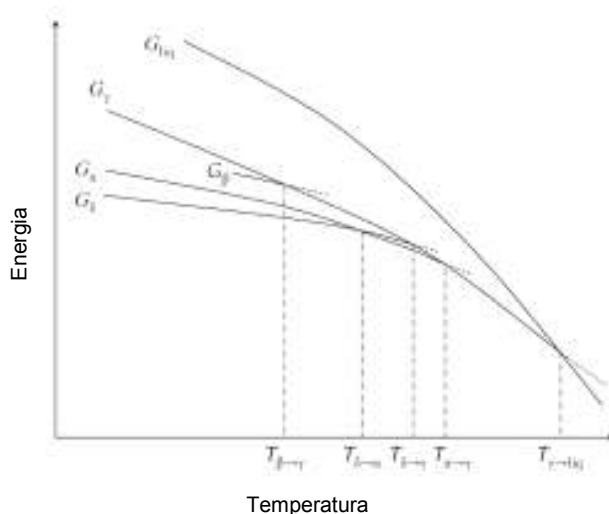






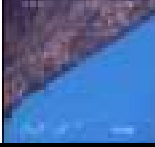
Figura 2.18 – Diagrama de energia / temperatura das formas cristalinas (α , β , δ e γ) da pirazinamida; G representa a energia de Gibbs, T a temperatura de transição.

De acordo com este diagrama o polimorfo δ é a forma sólida termodinamicamente estável à temperatura ambiente, e o polimorfo γ é a forma cristalina mais estável acima de $\sim 145^\circ\text{C}$. De realçar a elevada estabilidade cinética de todas as formas polimórficas da picolinamida.

2.2 Estudo da Picolinamida

Na tabela são apresentadas imagens registadas sob luz polarizada das formas sólidas obtidas por cristalização a partir das soluções e também da amostra de partida.

Tabela 2.6 – Picolinamida: Imagens dos sólidos obtidos em diferentes condições experimentais (luz polarizada, ampliação 200x)

#	Hábito Cristalino (200x)	Solvente Processo de Cristalização	#	Hábito Cristalino (200x)	Solvente Processo de Cristalização
1		- Amostra comercial	4		Etanol P1'
2		Acetato de etilo P1'	5		Etanol P2'
3		Acetato de etilo P2'			

Foram observadas formas cristalinas com diferentes morfologias. Quer na utilização de acetato de etilo, quer na amostra comercial, foram obtidos cristais com a forma de placas, apesar de apresentarem tamanhos diferentes. Os cristais que precipitaram usando etanol como solvente apresentam a forma de aglomerados esféricos. Devido a problemas técnicos com o difractómetro de raios-X de pó do Departamento de Física da Universidade de Coimbra, não foi possível caracterizar as amostras por este método.

2.2.1 – Estudo da Picolinamida comercial

Apenas a picolinamida comercial foi caracterizada num equipamento de difracção de raios-X de pó, sendo a amostra sujeita a moagem antes do ensaio. O difractograma obtido está representado na Figura 2.19, juntamente com o espectro simulado da forma cristalina de picolinamida que se encontra caracterizada estruturalmente.

[24] O difractograma de pó da picolinamida comercial tem picos característicos a $2\theta = 16.65, 17.37, 20.68, 25.16, 28.02, 35.00^\circ$.

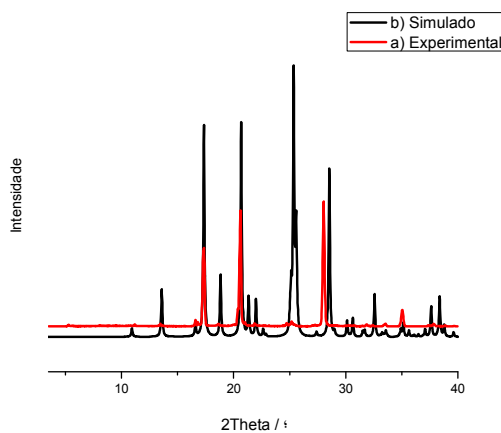


Figura 2.19 – Espectro de difracção de raios X de pó da picolinamida comercial: a) experimental; b) simulado.

Da comparação entre os dois difractogramas não é possível afirmar que nos dois casos as moléculas tenham a mesma orientação cristalográfica. Voltaremos a discutir estes resultados mais tarde.

O comportamento térmico da amostra de picolinamida comercial, foi investigado por calorimetria diferencial de varrimento e por termomicroscopia com luz polarizada.

Na Figura 2.20 é apresentada uma curva típica obtida no estudo da picolinamida comercial por calorimetria diferencial de varrimento, com uma velocidade de varrimento $\beta = 10^\circ\text{C}/\text{min.}$, realizando um aquecimento de 25°C até 115°C .

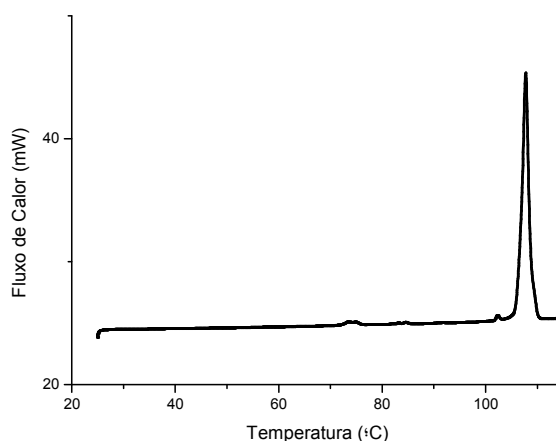


Figura 2.20 – Curva de DSC para a PA comercial: aquecimento de 25°C até 115°C ; $\beta = 10^\circ\text{C}/\text{min.}$; $m = 1,38\text{mg}$.

A curva de DSC da PA comercial, Figura 2.20, apresenta tipicamente três sinais endotérmicos. De um conjunto de 3 amostras independentes, obteve-se para o 1º pico os valores de $T_{\text{onset}} = (80,2 \pm 0,05)^\circ\text{C}$ e $\Delta H =$

($0,20 \pm 0,01$) kJ/mol, para o 2º pico os valores de $T_{\text{onset}} = (101,75 \pm 0,08)$ °C e $\Delta H = (0,22 \pm 0,01)$ kJ/mol e para o 3º pico os valores de $T_{\text{onset}} = (106,7 \pm 0,1)$ °C e $\Delta H = (18,7 \pm 0,05)$ kJ/mol, Tabela 2.7.

Tabela 2.7 – Valores de temperatura e de entalpia das transições de fase registadas no aquecimento da picolinamida, amostra comercial, $\beta = 10^\circ\text{C}/\text{min}$.

#	<i>1º Pico</i>		<i>2º Pico</i>		<i>3º Pico</i>	
	T_{onset} (°C)	ΔH (kJ/mol)	T_{onset} (°C)	ΔH (kJ/mol)	T_{onset} (°C)	ΔH (kJ/mol)
1	80,2	0,20	101,8	0,22	106,6	18,7
2	80,2	0,19	101,7	0,22	106,8	18,7
3	80,2	0,20	101,8	0,21	106,7	18,8
Média e desvio padrão	$80,2 \pm 0,05$	$0,20 \pm 0,01$	$101,75 \pm 0,08$	$0,22 \pm 0,01$	$106,7 \pm 0,1$	$18,7 \pm 0,05$

Imagens de termomicroscopia obtidas num varrimento realizado em condições idênticas, são apresentadas na Figura 2.21 e confirmam o primeiro processo endotérmico como uma transição sólido-sólido.

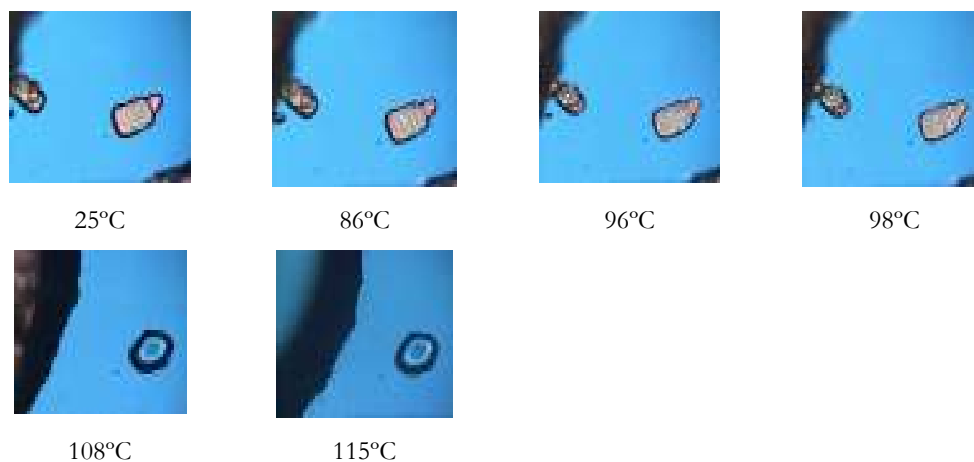


Figura 2.21 – Transições de fase observadas para a PA comercial, por termomicroscopia de luz polarizada, no decurso do aquecimento de 25°C a 115°C; $\beta = 10^\circ\text{C}/\text{min}$., ampliação 200x.

Uma vez confirmada a existência de transições sólido-sólido no aquecimento da amostra de picolinamida comercial, estudou-se este processo em mais pormenor. Fizeram-se ciclos de aquecimento/ arrefecimento até 95°C e até 105°C (temperaturas a que se verifica o fim da transição), que se encontram representadas nas Figuras 2.22 e 2.23.

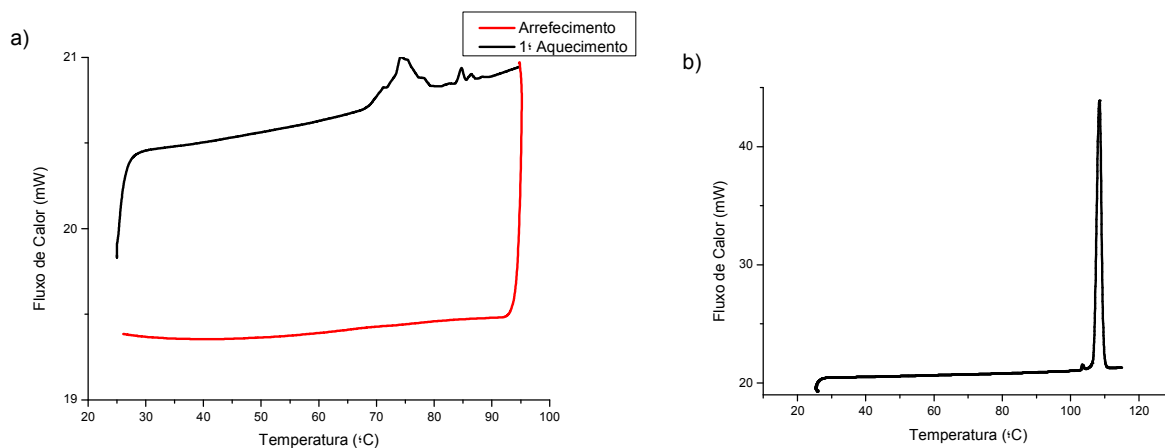


Figura 2.22 – Curvas de DSC para a PA comercial, $\beta = 10^\circ\text{C}/\text{min.}$, $m = 1,47\text{mg}$: a) aquecimento de 25°C até 95°C , seguido de arrefecimento até 25°C ; b) 2º aquecimento de 25°C até 115°C .

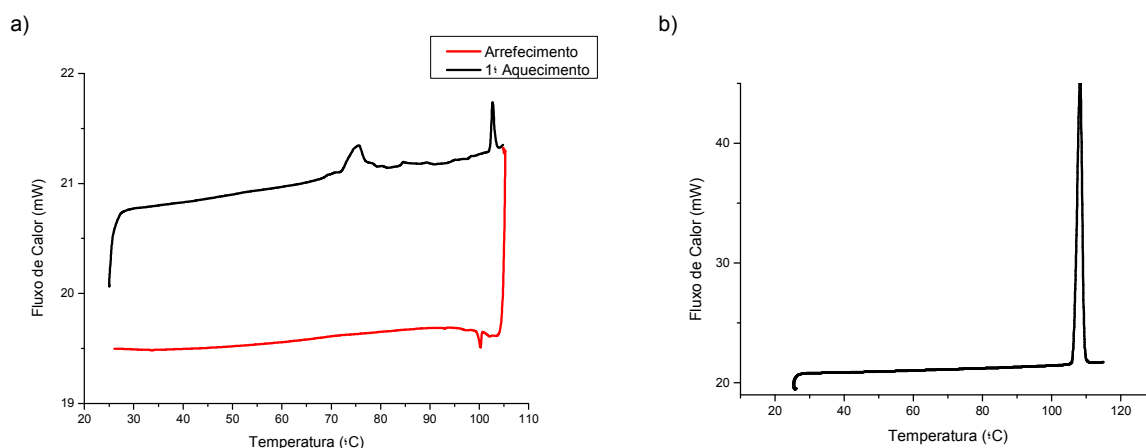


Figura 2.23 – Curvas de DSC para a PA comercial, $\beta = 10^\circ\text{C}/\text{min.}$, $m = 1,43\text{mg}$: a) aquecimento de 25°C até 105°C , seguido de arrefecimento até 25°C ; b) 2º aquecimento de 25°C até 115°C .

Como é visível na Figura 2.22 no processo de arrefecimento não é registada qualquer transição de fase, o que se confirma pela ausência de endotérmica correspondente à transição sólido-sólido na curva b). Em contrapartida no processo de arrefecimento ilustrado na Figura 2.23, regista-se um processo exotérmico, de baixa energia e no aquecimento subsequente apenas o principal pico de fusão é observado.

Antes de passar à avaliação por espectroscopia de Infravermelho dos diferentes sólidos obtidos nestes ciclos de aquecimento/ arrefecimento, referiremos os resultados de estudos por DSC dos sólidos obtidos por arrefecimento do fundido.

Nas Figuras 2.24 e 2.25 ilustram-se alguns resultados de ciclos de aquecimento/ arrefecimento a partir do fundido, $\beta = 10^\circ\text{C}/\text{min.}$ Como se vê na Figura 2.24 c) após a cristalização do fundido são obtidos dois picos de elevada entalpia com $T_{\text{onset}} = 102^\circ\text{C}$ e 106°C , que indiciam fusão de duas formas polimórficas diferentes. Com base nestes resultados é razoável interpretar a transição a 102°C como um processo de fusão. Neste sentido o ciclo aquecimento/ arrefecimento ilustrado na Figura 2.23 a) terminaria com a fusão de uma contribuição resi-

dual de uma forma sólida que no arrefecimento cristaliza no polimorfo mais abundante obtendo-se em seguida fusão desta forma pura, Figura 2.23 b). Pode concluir-se que da comparação das Figuras 2.24 e 2.25 que o arrefecimento do fundido pode resultar em formação de estruturas diferentes em ciclos diferentes.

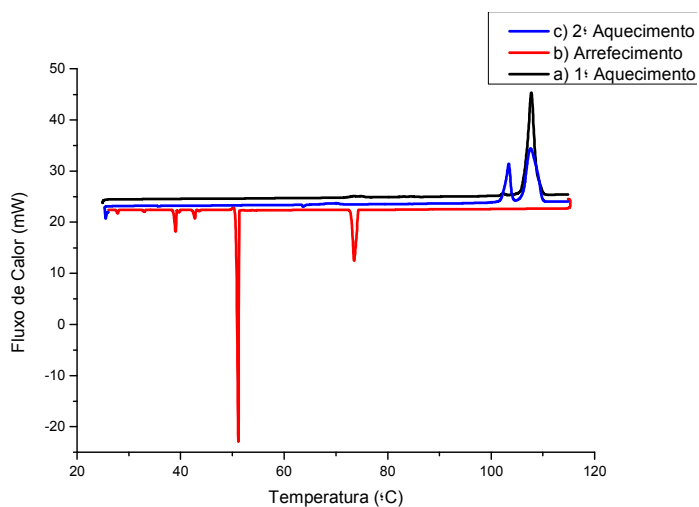


Figura 2.24 – Curvas de DSC para a PA comercial, $\beta = 10^\circ\text{C}/\text{min.}$, $m = 1,64\text{mg}$: aquecimento, seguido de arrefecimento e novo aquecimento.

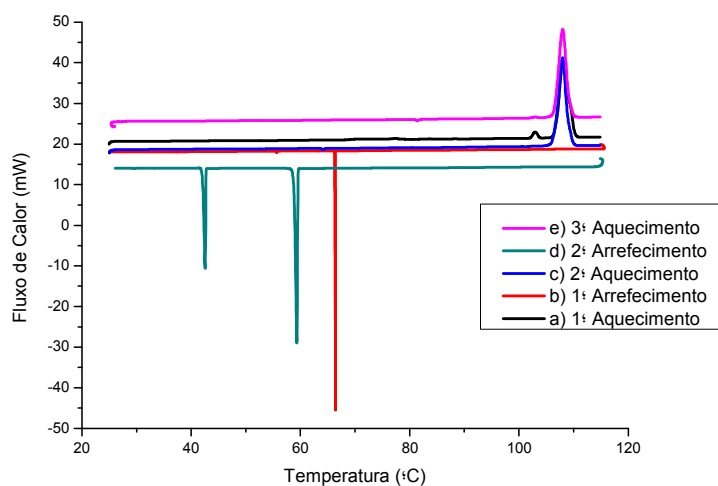


Figura 2.25 – Curvas de DSC para a PA comercial, $m = 1,47\text{mg}$: 1ªaquecimento, $\beta = 10^\circ\text{C}/\text{min.}$; 1ªarrefecimento, $\beta = 1^\circ\text{C}/\text{min.}$; 2ªaquecimento, $\beta = 10^\circ\text{C}/\text{min.}$; 2ªarrefecimento, $\beta = 10^\circ\text{C}/\text{min.}$; 3ªaquecimento, $\beta = 10^\circ\text{C}/\text{min.}$

Foram registados os espectros de FTIR/ATR da amostra obtida em ciclos de aquecimento/ arrefecimento como referidos na Figura 2.22 a) e 2.23 a). Os espectros são apresentados na Figura 2.26, onde estão também identificadas as bandas principais.

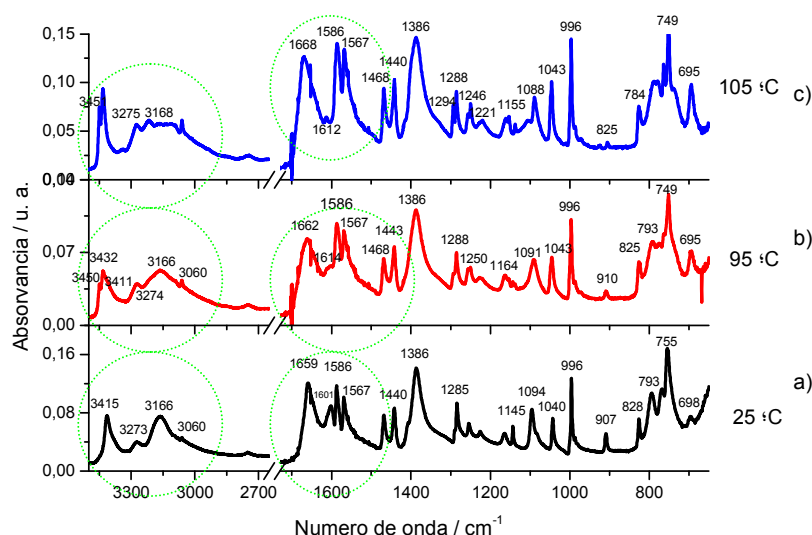


Figura 2.26 – Espectro de IV/ATR da PA comercial: a) composto de partida; b) após aquecimento até 95°C; c) após aquecimento até 105°C.

É interessante verificar a semelhança do perfil das bandas do espectro da picolinamida comercial, Figura 2.26 a) na região de alongação do N–H, com o dos espectros dos polimorfos α e δ da pirazinamida (Figuras 2.5 e 2.7). Relembremos que nestas duas fases da pirazinamida há associação molecular com a formação de dois dímeros centrossimétricos, que estão também presentes no cristal da picolinamida.

Os espectros dos sólidos resultantes dos diferentes tratamentos térmicos diferem principalmente, como esperado na região de alongação do N–H e na amida I. O espectro c) apresenta grande semelhança com o obtido por Fausto e Colaboradores [23, 25] para um cristal obtido por *annealing* dum filme de vidro a $T = 280$ K e corresponde a um polimorfo diferente do que está presente na amostra de partida.

O espectro apresentado na Figura 2.26 b), na interpretação que temos vindo a fazer, seria originado por uma mistura de polimorfos. Para a validação desta interpretação será essencial proceder ao estudo por difracção de raios-X de pó das amostras preparadas de modo idêntico.

Numa nota final, apresenta-se na Figura 2.27 A o espectro FTIR/ATR, registado após moagem da amostra de picolinamida comercial em almofariz, no procedimento habitualmente usado na preparação de pastilha para infravermelho. Como é evidente da comparação com o espectro da amostra analisada sem preparação, Figura 2.27 B, a moagem produz alteração da forma polimórfica. Lembremos que na obtenção do espectro de difracção de raios-X de pó apresentado na Figura 2.19 se procedeu à moagem do composto. Será, portanto, necessário realizar mais ensaios sobre a amostra comercial para confirmar as conclusões que a Figura 2.19 indica: as diferenças observadas nos difractogramas poderão resultar da moagem da amostra.

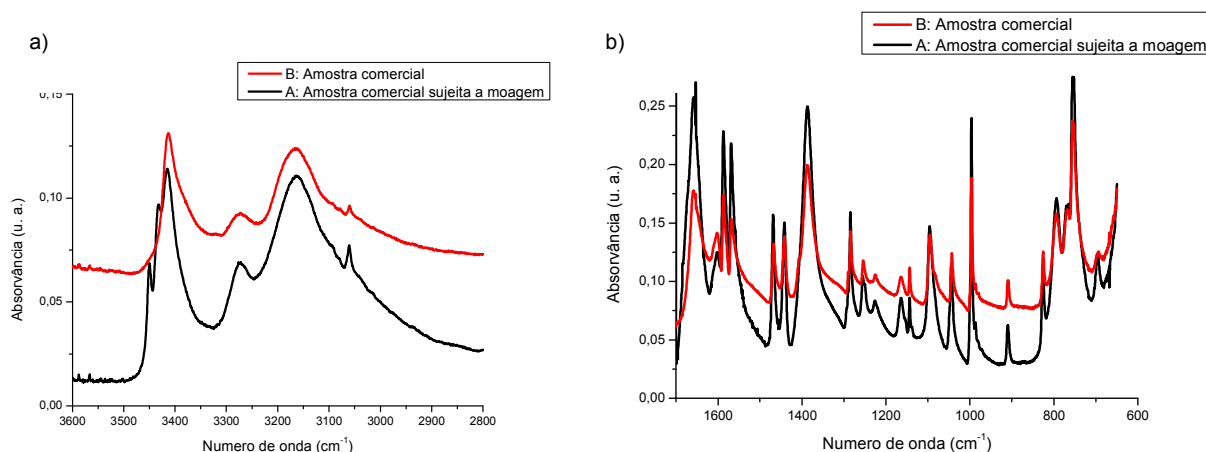


Figura 2.27 – Espectro de IV/ATR da picolinamida: a) 3600 – 2800 cm^{-1} ; b) 1700 – 600 cm^{-1} ; A: amostra comercial sujeita a moagem; B: amostra comercial.

2.2.2 – Estudo da Picolinamida cristalizada em acetato de etilo e em etanol

A investigação do comportamento térmico das diferentes amostras obtidas por cristalização em solução por calorimetria diferencial de varrimento, de 25°C até à fusão está ilustrado nas Figuras 2.28 a 2.29. Para os sólidos obtidos por cristalização em etanol e em acetato de etilo à temperatura ambiente é registado um pico de fusão largo com temperatura de onset entre 96 e 97°C e entalpia compreendida entre 15 e 18 kJ/mol. Os ensaios foram efectuados 3 semanas após a preparação das amostras e não é expectável que a largura do pico possa ser devida à contaminação com o solvente. Em ensaios realizados dois meses mais tarde verificou-se que não ocorreu alteração na amostra cristalizada de etanol, enquanto que evolução nítida teve lugar na amostra cristalizada de acetato de etilo à temperatura ambiente, Figuras 2.30 e 2.31.

Na amostra obtida por cristalização em acetato de etilo, com evaporação do solvente a 4°C, para além deste primeiro pico, é também observado um segundo pico com temperatura de onset $T_{\text{onset}} \sim 105^\circ\text{C}$. Estes resultados apontam para a existência de polimorfos gerados concomitantemente por este método de cristalização, estando previstas novas experiências para verificar a reprodutibilidade dos resultados e caso esta se confirme, a investigação do sólido obtido por difracção de raios-X de pó e de monocristal.

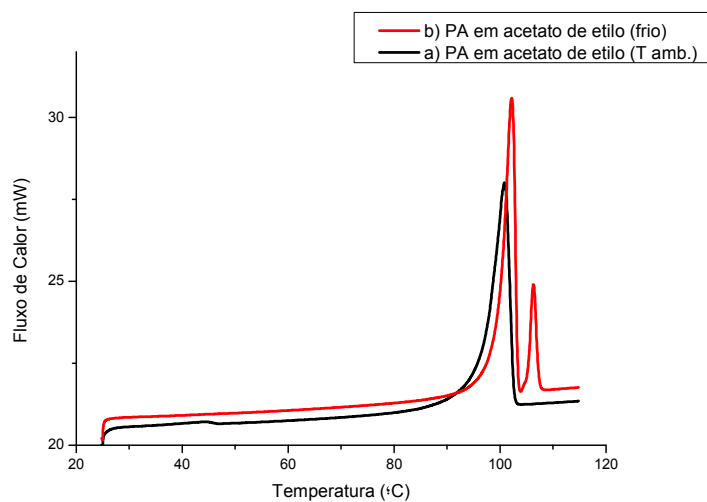


Figura 2.28 – Curvas de DSC para a PA cristalizada em acetato de etilo, $\beta = 10^{\circ}\text{C}/\text{min.}$: a) método P1', $m = 1,47$ mg; b) método P2', $m = 1,48$ mg.

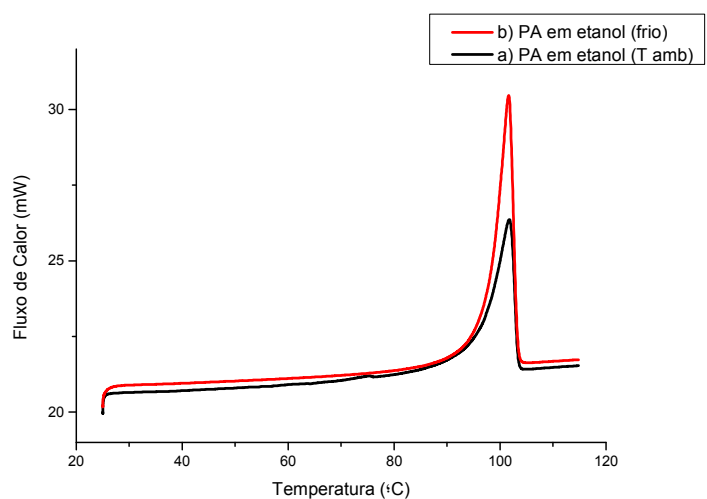


Figura 2.29 – Curvas de DSC para a PA cristalizada em etanol, $\beta = 10^{\circ}\text{C}/\text{min.}$: a) método P1', $m = 1,52$ mg; b) método P2', $m = 1,49$ mg.

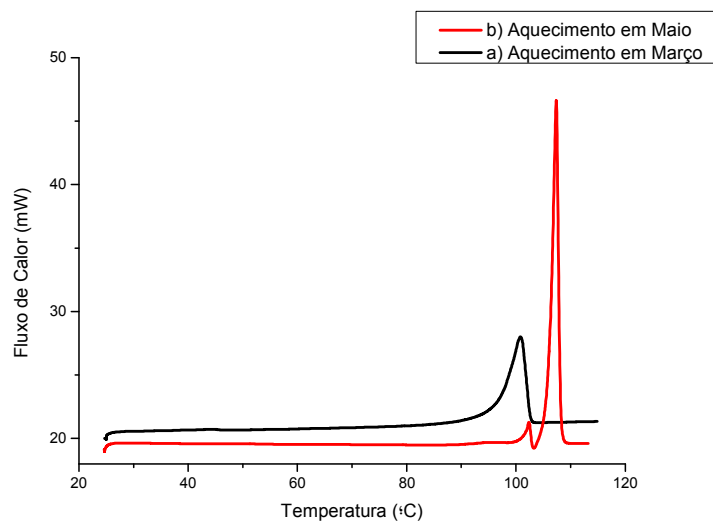


Figura 2.30 – Curvas de DSC para a PA cristalizada em acetato de etilo à temperatura ambiente, $\beta = 10^\circ\text{C}/\text{min.}$: a) aquecimento em Março, $m = 1,38 \text{ mg}$; b) aquecimento em Maio, $m = 1,35 \text{ mg}$.

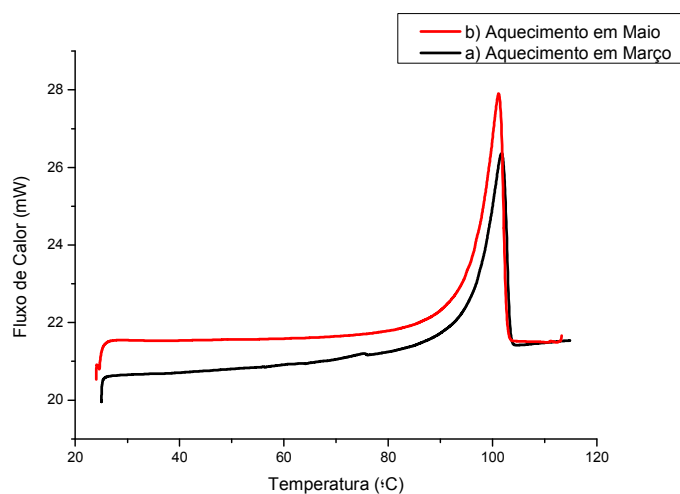


Figura 2.31 – Curvas de DSC para a PA cristalizada em etanol à temperatura ambiente, $\beta = 10^\circ\text{C}/\text{min.}$: a) aquecimento em Março, $m = 1,39 \text{ mg}$; b) aquecimento em Maio, $m = 1,44 \text{ mg}$.

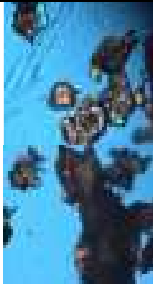



2.3 Estudo do Ibuprofeno

Como referido na secção 1.4.3, está descrito que a mesma forma polimórfica do ibuprofeno é obtida por cristalização em vários solventes e seguindo vários métodos experimentais. Os cristais têm morfologias diferentes e propriedades mecânicas diferentes. [28,30,31,42]

Neste capítulo apresentam-se os resultados preliminares dum estudo calorimétrico das amostras sólidas do ibuprofeno cristalizadas em diferentes solventes e também de amostras comerciais de duas origens distintas, realizado com o objectivo de averiguar o seu comportamento térmico.

As formas sólidas obtidas por cristalização a partir das soluções do ibuprofeno estão apresentadas na tabela seguinte.

Tabela 2.8 – Imagens de formas sólidas do Ibuprofeno obtidas em diferentes condições experimentais (luz polarizada, 200x)

#	Hábito Cristalino (200x)	Solvente Processo de Cristalização	#	Hábito Cristalino (200x)	Solvente Processo de Cristalização
1		- Comercial, Sigma	4		Acetona P2"
2		Acetona P1"	5		n-Hexano P2"
3		n-Hexano P1"			

Efectuou-se um estudo por difracção de raios-X de pó das amostras de Ibuprofeno da Sigma e da amostra cristalizada de n-Hexano à temperatura ambiente. O difractograma obtido experimentalmente para a amostra da Sigma e o simulado para a forma I estão representados na Figura 2.32. O espectro obtido para a amostra cristalizada em n-hexano era indistinguível destes.

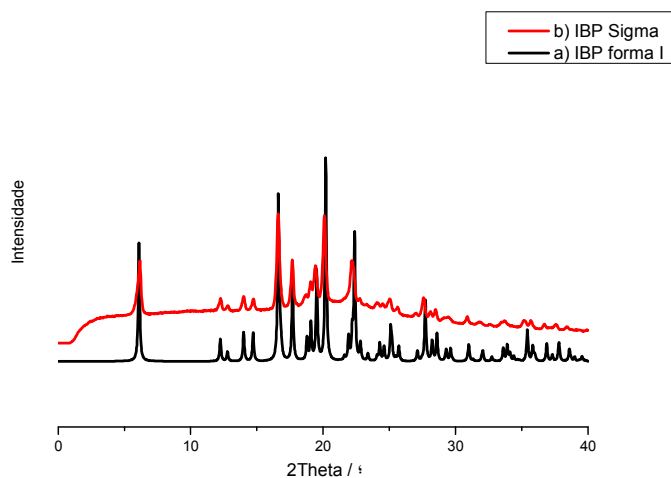


Figura 2.32 – Espectro de difracção de raios X de pó do ibuprofeno: a) forma I; b) Sigma.

Da comparação entre os dois difractogramas é possível afirmar que em ambos os casos as moléculas têm a mesma orientação cristalográfica.

Iniciou-se o estudo das amostras de ibuprofeno comercial da Sigma e da USP por Calorimetria Diferencial de Varrimento, com uma velocidade de varrimento $\beta = 10^\circ\text{C}/\text{min.}$, realizando um aquecimento de 25°C até 95°C (Figuras 2.33 e 2.34).

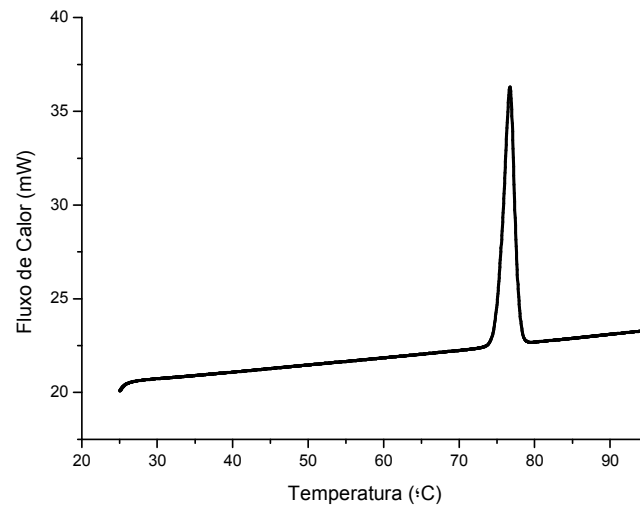


Figura 2.33 – Curva de DSC para o IBP comercial, Sigma: aquecimento de 25°C até 95°C ; $\beta = 10^\circ\text{C}/\text{min.}$; $m = 1,25\text{mg.}$

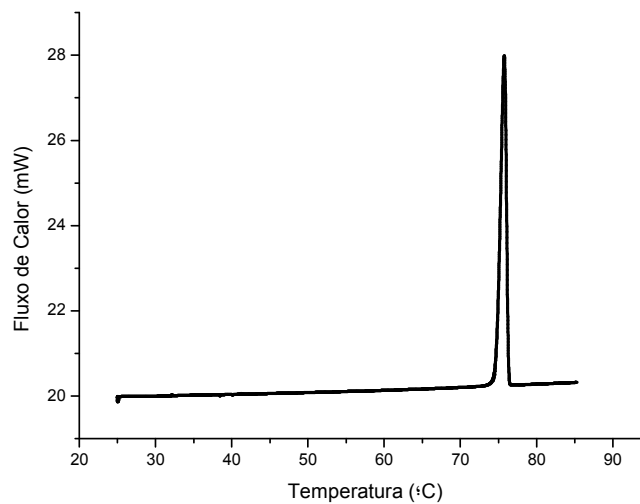


Figura 2.34 – Curva de DSC para o IBP USP: aquecimento de 25°C até 95°C ; $\beta = 10^\circ\text{C}/\text{min.}$; $m = 1,34\text{mg.}$

As curvas de DSC apresentam apenas um sinal endotérmico, estando os parâmetros característicos da curva de fusão apresentados na Tabela 2.9.

Tabela 2.9 – Valores de temperatura e de entalpia da transição de fase registada no aquecimento do ibuprofeno, amostra da Sigma e da USP, $\beta = 10^\circ\text{C}/\text{min}$.

#	<i>Sigma</i>		<i>USP</i>	
	T_{onset} ($^\circ\text{C}$)	ΔH (kJ/mol)	T_{onset} ($^\circ\text{C}$)	ΔH (kJ/mol)
1	74,7	25,1	75,2	25,7
2	75,3	25,3	75,2	25,6
3	75,1	26,0	75,2	25,6
4	75,1	24,6	75,2	25,7
Média e desvio padrão	$75,1 \pm 0,3$	$25,3 \pm 0,5$	$75,2 \pm 0,05$	$25,7 \pm 0,05$

Não há diferenças significativas entre os resultados obtidos para as duas amostras, apesar do pico de fusão da amostra da USP ser mais estreito.

O estudo das amostras ibuprofeno obtidas por cristalização de acetona (P1" e P2") foi realizado por calorimetria diferencial de varrimento, na mesma gama de temperatura, com velocidades de varrimento diferentes ($\beta = 10^\circ\text{C}/\text{min}$. e $\beta = 2^\circ\text{C}/\text{min}$., Figura 2.35).

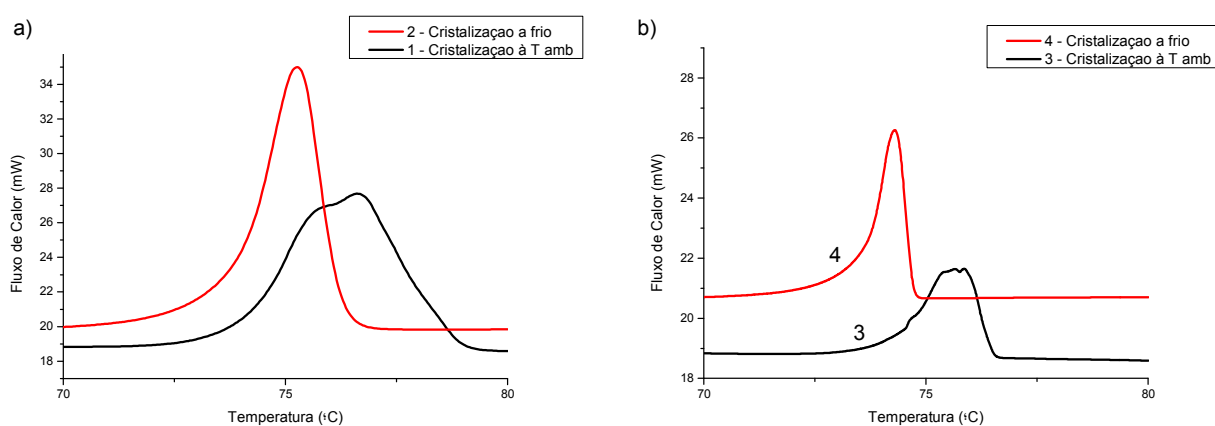


Figura 2.35 – Curva de DSC para o IBP cristalizado de acetona, procedimentos P1' e P2', aquecimento de 25°C até 95°C :

a) $\beta = 10^\circ\text{C}/\text{min}$., $m = 1,34\text{mg}$; b) $\beta = 2^\circ\text{C}/\text{min}$.; **3** $m = 1,38\text{mg}$; **4** $m = 1,35\text{mg}$.

O pico de fusão obtido a partir da amostra cristalizada à temperatura ambiente apresenta-se parcialmente dividido. Uma explicação comum para este facto é a existência de polimorfismo. Os parâmetros característicos destas curvas estão apresentados na Tabela 2.10.

Tabela 2.10 – Valores de temperatura e de entalpia da transição de fase registada no aquecimento do ibuprofeno cristalizado de acetona, $\beta = 10^\circ\text{C}/\text{min.}$ e $\beta = 2^\circ\text{C}/\text{min.}$

β	<i>Cristalização à T amb.</i>				<i>Cristalização a frio</i>			
	$10^\circ\text{C}/\text{min.}$		$2^\circ\text{C}/\text{min.}$		$10^\circ\text{C}/\text{min.}$		$2^\circ\text{C}/\text{min.}$	
#	T_{onset} ($^\circ\text{C}$)	ΔH (kJ/mol)	T_{onset} ($^\circ\text{C}$)	ΔH (kJ/mol)	T_{onset} ($^\circ\text{C}$)	ΔH (kJ/mol)	T_{onset} ($^\circ\text{C}$)	ΔH (kJ/mol)
1	74,7	21,5	75,1	20,3	73,3	22,3	73,7	23,2
2	73,9	23,3	73,1	20,1	73,3	21,9	73,8	22,8
3	75,2	22,8	73,1	21,9	74,4	22,3	73,9	22,9
4	74,9	23,7	74,5	23,7	73,8	22,3	73,9	23,1
5	75,2	24,9	74,6	24,3	74,2	21,8	74,0	23,0
6	74,9	23,5	76,0	24,1	74,3	22,4	73,6	22,9
Média e desvio padrão	$74,8 \pm 0,5$	$23,3 \pm 1,1$	$74,4 \pm 1,0$	$22,4 \pm 1,7$	$73,9 \pm 0,5$	$22,2 \pm 0,3$	$73,8 \pm 0,2$	$23,0 \pm 0,2$

A partir dos resultados apresentados na Tabela 2.10 podemos concluir que os cristais obtidos por cristalização a baixa temperatura fundem aproximadamente 1°C abaixo dos cristais obtidos por cristalização à temperatura ambiente. Verifica-se ainda que, mesmo a velocidades de varrimento diferentes, os cristais obtidos nas mesmas condições apresentam temperatura de fusão muito semelhante.

Os termogramas obtidos no estudo do ibuprofeno cristalizado de n-hexano (P1" e P2") por calorimetria diferencial de varrimento, com velocidades de varrimento diferentes ($\beta = 10^\circ\text{C}/\text{min.}$ e $\beta = 2^\circ\text{C}/\text{min.}$), estão apresentados na Figura 2.36 e na Tabela 2.11.

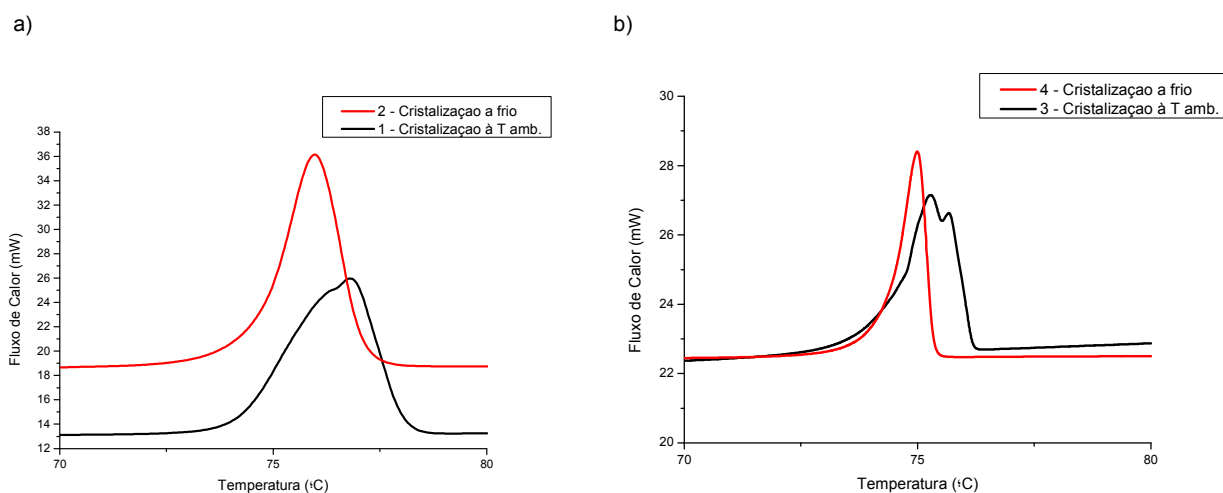


Figura 2.36 – Curva de DSC para o IBP cristalizado de n-hexano, procedimentos P1' e P2', aquecimento de 25°C até 95°C : a) $\beta = 10^\circ\text{C}/\text{min.}$; 1 m = 1,43mg; 2 m = 1,39 mg; b) $\beta = 2^\circ\text{C}/\text{min.}$; 3 m = 1,40mg; 4 m = 1,37 mg.

A partir dos resultados podemos concluir que os cristais obtidos à temperatura ambiente e os cristais obtidos com a cristalização a frio não apresentam grande diferença a nível de temperatura e entalpia de fusão. No entanto, o sinal obtido a partir da amostra cristalizada à temperatura ambiente aquecida tanto a $10^\circ\text{C}/\text{min.}$ como a $2^\circ\text{C}/\text{min.}$ apresenta-se dividido, apesar da divisão ser mais notória a $2^\circ\text{C}/\text{min.}$

Tabela 2.11 – Valores de temperatura e de entalpia da transição de fase registada no aquecimento do ibuprofeno cristalizado de n-hexano, $\beta = 10^\circ\text{C}/\text{min.}$ e $\beta = 2^\circ\text{C}/\text{min.}$

β	<i>Cristalização à T amb.</i>				<i>Cristalização a frio</i>			
	$10^\circ\text{C}/\text{min.}$		$2^\circ\text{C}/\text{min.}$		$10^\circ\text{C}/\text{min.}$		$2^\circ\text{C}/\text{min.}$	
	T_{onset} ($^\circ\text{C}$)	ΔH (kJ/mol)	T_{onset} ($^\circ\text{C}$)	ΔH (kJ/mol)	T_{onset} ($^\circ\text{C}$)	ΔH (kJ/mol)	T_{onset} ($^\circ\text{C}$)	ΔH (kJ/mol)
#								
1	74,1	22,4	74,4	23,6	74,2	24,7	74,4	24,9
2	74,4	22,3	74,8	23,4	74,6	24,2	74,2	24,7
3	74,0	22,5	74,5	23,8	74,3	24,6	74,0	24,2
4	74,3	22,7	74,7	23,7	74,3	24,3	74,5	24,0
Média e desvio padrão	74,2±0,2	22,5±0,2	74,6±0,2	23,6±0,2	74,3±0,1	24,4±0,2	74,3±0,2	24,5±0,4

A partir dos resultados obtidos por DSC, verificou-se que tanto a amostra cristalizada de acetona como a amostra cristalizada de n-hexano, ambas à temperatura ambiente, apresentavam um pico de fusão composto, o que pode indicar a ocorrência de transições sólido-sólido; e além disso, temperatura de fusão que difere da das amostras obtidas na Sigma e na USP. Sendo assim, fez-se um estudo mais pormenorizado das amostras cristalizadas de n-hexano, por comparação com as amostras de ibp da Sigma e da USP, por espectroscopia de IV, para caracterização da forma inicial. A Figura 2.37 mostra os espectros de espectroscopia de IV-ATR das amostras.

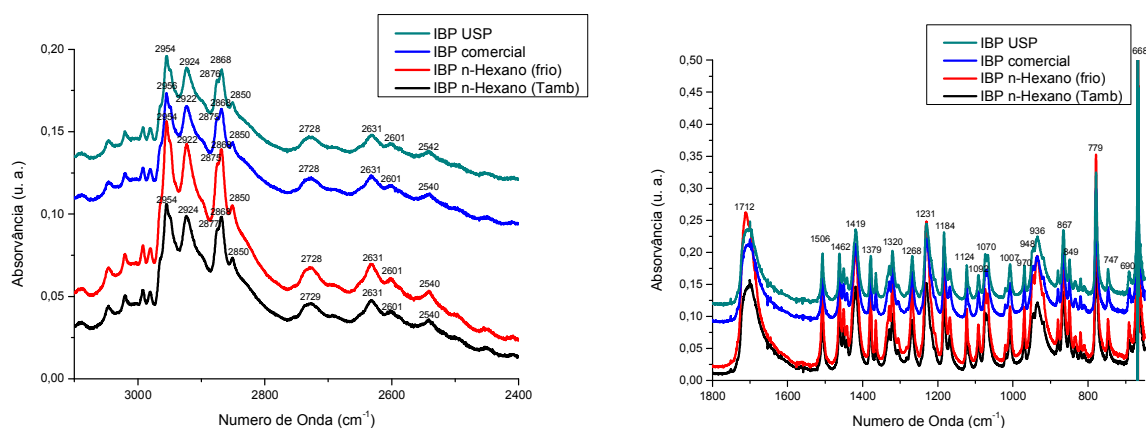


Figura 2.37 – Espectro de IV (25°C): ibp USP, ibp Sigma e ibp cristalizado de n-hexano: a) $3100 - 2400\text{ cm}^{-1}$; b) $1800 - 650\text{ cm}^{-1}$.

Os espectros de infravermelho das amostras a 25°C apontam para que se trate da mesma forma polimórfica. Espectros de difração de raios-X de pó da amostra da Sigma e da amostra obtida por cristalização em n-hexano não mostraram também diferenças. Assim sendo, a partir destes resultados não são detectadas diferenças significativas entre as amostras de partida e, então, as diferenças registadas no comportamento térmico não apontam para polimorfismo, mas para alterações na formação dos cristais, nomeadamente no crescimento e tamanho das partículas.[43–45] Estudos adicionais são necessários para confirmar esta hipótese.

Capítulo 3

3. Conclusões

Alguns pontos discutidos nesta dissertação merecem ser referidos como observações conclusivas. A Calorimetria Diferencial de Varrimento (DSC) é um valioso instrumento de investigação para caracterizar formas polimórficas. Com esta técnica recolhe-se uma grande riqueza de informação, em relação à estabilidade da substância em estudo, tipo de transformação que ocorre a uma dada temperatura por aquecimento ou arrefecimento e mecanismo que preside a cada uma das transformações observadas. Mas por si só esta técnica não é suficiente para identificar a existência de diferentes polimorfos de um mesmo composto. Daí haver a necessidade de efectuar um estudo mais completo, utilizando técnicas como a termomicroscopia, espectroscopia de absorção no infravermelho e ainda difracção de raios X de pó.

Conseguiram obter-se amostras puras de três formas polimórficas da pirazinamida: a forma alfa (PZA comercial e cristalizada em água), a forma delta (PZA cristalizada de acetona) e a forma gama (PZA obtida por liofilização), as quais foram caracterizadas por espectroscopia de infravermelho.

O polimorfo alfa da pirazinamida (α -PZA) e a forma delta (δ -PZA), por aquecimento, transformam-se no polimorfo gama (γ -PZA). A forma gama, por sua vez, por aquecimento, não sofre qualquer transformação de fase até à fusão. Foi possível também identificar a transição $\delta \rightarrow \alpha$ em amostra do polimorfo delta, quando contaminado com a forma alfa.

Podemos ainda concluir, mediante os resultados obtidos e com os conhecimentos adquiridos, que estamos perante casos de enantiotropia, sendo o polimorfo delta a forma termodinamicamente estável à temperatura ambiente. Todos os polimorfos de pirazinamida são cineticamente estáveis à temperatura ambiente.

No que diz respeito à picolinamida é interessante verificar a semelhança do perfil das bandas do espectro da picolinamida comercial na região de alongação do N-H, com o dos espectros dos polimorfos α e δ da pirazinamida. Relembremos que nestas duas fases da pirazinamida há associação molecular com a formação de dois dímeros centrossimétricos, que estão também presentes no cristal da forma I da picolinamida. Verificou-se ainda que a amostra comercial de picolinamida, quando sujeita a moagem, sofre alteração da forma polimórfica. No estudo realizado por DSC foi possível identificar pelo menos duas formas polimórficas.

Em ciclos de aquecimento/ arrefecimento verifica-se que o arrefecimento do fundido pode resultar em formação de estruturas diferentes em ciclos diferentes.

A cristalização em acetato de etilo, a 4°C, aponta para a existência de polimorfos gerados concomitantemente por este método de cristalização. Estão previstas novas experiências para verificar a reprodutibilidade dos resultados e caso esta se confirme, a investigação dos sólidos obtidos por difracção de raios-X de pó e de monocristal. Quanto ao estudo das amostras cristalizadas em etanol e acetato de etilo, em ensaios realizados dois meses após a preparação das amostras verificou-se que não ocorreu alteração na amostra cristalizada de etanol, enquanto que evolução nítida teve lugar na amostra cristalizada de acetato de etilo por evaporação do solvente à temperatura ambiente.

No estudo das amostras do ibuprofeno, a partir dos resultados obtidos por DSC, verificou-se que tanto a amostra cristalizada de acetona como a amostra cristalizada de n-hexano, ambas à temperatura ambiente, apresenta-

vam um pico de fusão composto, o que poderia indicar a presença de uma mistura de polimorfos; mas, através de um estudo mais pormenorizado, usando Espectroscopia de Infravermelho e Difracção de Raios-X de pó, esta hipótese não é aparentemente suportada podendo a divisão dos picos dever-se ao tamanho das partículas formadas durante o crescimento dos cristais. Esta hipótese terá de ser confirmada em trabalho futuro. Este é um exemplo interessante da importância da utilização combinada de diferentes métodos de estudo na investigação de polimorfismo.

Capítulo 4

4. Experimental

4.1 Materiais e Métodos

4.1.1 – Materiais:

4.1.1.1 - Preparação das amostras:

A pirazinamida utilizada neste trabalho foi fornecida pela Fluka, com uma pureza superior a 99%. As amostras de partida de picolinamida e ibuprofeno foram adquiridas à Sigma, com purezas de 98% e 99%, respectivamente, tendo-se usado também ibuprofeno, padrão USP.

Na geração das formas polimórficas da pirazinamida, foram usados diferentes processos de cristalização. No procedimento cristalização a partir de soluções, P1, usaram-se ~ 0,05 mmol do composto de partida, dissolvidas em 6 mL de um dado solvente, à temperatura ambiente; as soluções foram filtradas para uma caixa de Petri e o solvente evaporado à temperatura ambiente (~ 20°C). Foram usados como solventes água, acetona, dioxano, acetonitrilo e os sólidos obtidos foram analisados após um período de duas semanas. O segundo procedimento ensaiado, P2, consistiu num processo de liofilização, efectuado num equipamento Labconco 5; solução aquosa pré-congelada a -80°C, ciclo de liofilização: -30°C durante 2h, -10°C durante 4h, 0°C durante 6h, 5°C durante 6h, 10°C durante 48h e depois mantida à temperatura ambiente.

No caso da picolinamida, foi avaliada a formação de formas sólidas usando o procedimento P1 descrito para a pirazinamida (P1'), empregando como solventes acetato de etilo e etanol, tendo-se também estudado cristalizados a partir do fundido (P2').

Na geração das formas polimórficas do ibuprofeno, foram igualmente usados diferentes processos de cristalização, usando diferentes condições. O procedimento 1 (P1'') foi realizado da mesma forma da usada em P1 da pirazinamida. No procedimento 2 (P2''), as soluções foram preparadas da mesma forma que em P1'' e, após a filtração, foram colocadas num frigorífico a 4°C, e o solvente evaporou a esta temperatura.

Foram utilizados solventes de qualidade analítica.

4.1.2 – Métodos:

4.1.2.1 – Calorimetria Diferencial de Varrimento (DSC):

A técnica de Calorimetria Diferencial de Varrimento (DSC) ocupa um lugar de relevo de entre os métodos de investigação da estrutura dos sólidos. Trata-se de um método largamente vulgarizado, para o qual se dispõe de

equipamento que apresenta na actualidade muitas potencialidades e que permite a obtenção de propriedades termodinâmicas com elevado grau de precisão.

A Calorimetria Diferencial de Varrimento é uma técnica de análise térmica que regista a diferença de fluxo térmico entre a amostra e a referência, em função do tempo ou da temperatura, no decorrer de um programa de temperatura pré-seleccionado. É um método de variação entálpica, no qual a diferença no fornecimento de energia calorífica entre uma substância e um material de referência é medida em função da temperatura, enquanto a substância em estudo e a referência são submetidas a um mesmo programa de aquecimento, rigorosamente controlado.

Estas medidas fornecem dados qualitativos e quantitativos em processos endotérmicos (absorção de energia calorífica) e exotérmicos (libertação de energia calorífica), permitindo obter informações referentes a alterações de propriedades físicas e/ou químicas com, por exemplo, temperaturas características (temperatura de fusão, cristalização, transição vítrea), grau de cristalinidade de um polímero, diagramas de fase, entalpias de transição de fase e de reacção, estabilidade térmica e oxidativa, grau de pureza e cinética de reacções. Por este motivo, a DSC é amplamente aplicada na caracterização de materiais orgânicos e inorgânicos, cristalinos e amorfos, assim como nas indústrias farmacêutica e cosmética, alimentar, etc.

Como limitações desta técnica refira-se a dificuldade de interpretação (acontece algum processo, mas qual?), requerendo, normalmente, outros métodos complementares para a interpretação dos resultados. Para além disso, necessita de calibração em toda a gama de temperatura.

De acordo com os princípios operacionais, os calorímetros diferenciais de varrimento podem ser divididos em dois tipos: de potência compensada e de fluxo de energia calorífica. Neste trabalho utilizou-se o DSC do primeiro tipo.

Nos calorímetros diferenciais de varrimento de potência compensada (Figura 4.1), as células ou plataformas onde se colocam a amostra e a referência encontram-se equipadas individualmente com um sensor de resistência de platina, que mede a temperatura de cada uma, e uma resistência de aquecimento.

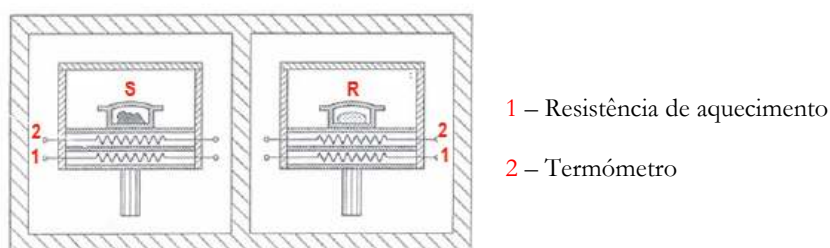


Figura 4.1 – Calorímetro diferencial de varrimento de potência compensada.

Quando é detectada uma diferença de temperatura entre a amostra e a referência, devido a uma alteração da amostra, é alterada a energia térmica ($\partial H / \partial t$) fornecida à amostra, de modo a manter um diferencial de temperaturas nulo entre ambas ($T_{\text{amostra}} = T_{\text{referência}}$). Uma vez que essa quantidade de energia é exactamente equiva-

lente à quantidade de energia absorvida ou libertada na transformação ocorrida na amostra, o seu registo fornece uma medida calorimétrica directa da energia associada à transformação.

Como todos os instrumentos de medida, os aparelhos de DSC apresentam um certo tempo de resposta, devido a alguma resistência térmica, o que se traduz pelo aparecimento de desvios da linha de base. Para aumentar o rigor das determinações, o sinal calorimétrico (SC) determinado pelo aparelho, a área do pico, é calibrado,

determinando-se uma constante de calibração K, tal que $K = \frac{SC}{Q_{real}}$, sendo Q_{real} a energia calorífica realmente

dissipado na célula. A constante K é assim função da temperatura, da atmosfera em torno das células e de quaisquer resistências que conduzam a perdas de energia calorífica. As temperaturas de fusão de padrões como o índio, estanho, chumbo, por exemplo, podem ser utilizadas para calibrar a temperatura indicada pelo equipamento, enquanto que a entalpia de fusão destas substâncias pode ser utilizada na calibração do sinal calorimétrico.

Podem realizar-se ciclos de aquecimento/ arrefecimento percorridos entre a temperatura do azoto líquido e 700°C, que é o limite superior de utilização da instrumentação deste tipo, recolhendo uma grande riqueza de informação, relativamente à estabilidade da substância em estudo, tipo de transformação que ocorre a uma dada temperatura por aquecimento ou arrefecimento, mecanismo que preside a cada uma das transformações observadas, etc.

Aproveitando as potencialidades do equipamento, fazendo variar a velocidade de varrimento, é ainda possível estudar aspectos importantes, relacionados com o mecanismo das transformações estruturais e pôr em evidência a sobreposição de sinais.

Estes equipamentos, além de possibilitarem medidas de baixos valores de variação de entalpia, possibilitam ainda a utilização de pequenas quantidades de amostra (geralmente entre 1 e 20mg).

Procedimento experimental e equipamento utilizado:

Os estudos de DSC foram realizados num calorímetro Perkin-Elmer Pyris 1, equipado com sistema de refrigeração Intracooler, com líquido de refrigeração etilenoglicol:água (1:1, v/v) a -10°C, usando azoto como gás de purga, 20mL/min.

As amostras foram preparadas em cápsulas em alumínio de 10µl e 30µl. Como célula de referência usou-se uma cápsula vazia, idêntica à usada para as amostras.

A calibração do aparelho foi feita de forma usual, à velocidade de 10°C/min., utilizada na grande maioria das amostras. A calibração da temperatura [46,47] foi realizada com padrões de elevada qualidade como o bifenilo (CRM LGC 2610, $T_{fus} = 68,93 \pm 0,03$ °C), ácido benzóico (CRM LGC 2606, $T_{fus} = 122,35 \pm 0,02$ °C), índio (Perkin-Elmer, $x = 99,99\%$, $T_{fus} = 156,60$ °C) e cafeína (substância de calibração Mettler Toledo, ME 18 872, $T_{fus} = 235,6 \pm 0,2$ °C). A calibração da entalpia foi realizada com índio ($\Delta_{fus}H = 3286 \pm 13$ J/mol).

As amostras foram estudadas em ciclos de aquecimento/ arrefecimento a várias velocidade de varrimento, como será referido posteriormente na apresentação dos resultados, e a calibração confirmada a cada caso.

4.1.2.2 – *Termomicroscopia:*

A termomicroscopia consiste na observação microscópica das amostras submetidas a aquecimento ou arrefecimento, usando luz polarizada. As transformações que podem ocorrer na amostra em estudo podem ser observadas directamente na ocular do microscópio ou registadas por meio de uma câmara fotográfica em vídeo, com a vantagem de serem gravadas e poderem ser estudadas em pormenor posteriormente. Esta técnica permite a observação dos efeitos dependentes da temperatura, como por exemplo a fusão dos cristais, detecção de formas cristalinas (polimorfismo).[48–49]

Com base no comportamento óptico, é costume dividir as substâncias em dois grandes grupos. Num, o índice de refração é independente da direcção de propagação da radiação, apresenta um valor único para uma dada substância. Estas substâncias são designadas opticamente por isotrópicas. A este grupo pertencem os sólidos amorfos e os sólidos cristalinos com arranjo reticular cúbico. O outro grupo é caracterizado por apresentar um índice de refração dependente da direcção de propagação da luz. As substâncias que a ele pertencem são designadas opticamente por anisotrópicas. Deste grupo fazem parte todos os sólidos cristalinos, com excepção daqueles que têm arranjo reticular cúbico.

Na Figura 4.2 representa-se o dispositivo utilizado na observação de uma amostra com luz polarizada.

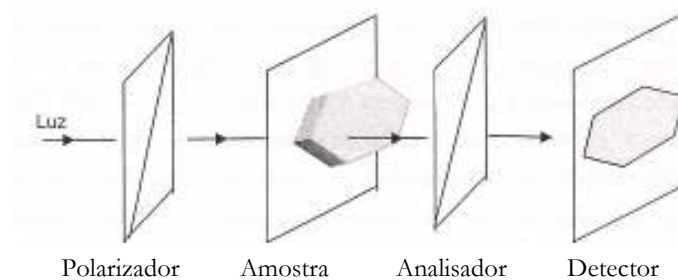


Figura 4.2 – Esquema de um sistema para observação de uma amostra com luz polarizada.

Um meio isotrópico não altera a cor da radiação que nela incide. Contudo, produz um decréscimo de intensidade da radiação que torna visíveis contornos na amostra, e, portanto, permite acompanhar variações de forma e volume que nela ocorram. As amostras anisotrópicas apresentam cor diferente da luz incidente.

Procedimento experimental e equipamento utilizado:

O equipamento usado, esquematicamente representado na Figura 4.3, é constituído por uma placa de aquecimento DSC 600 da Linkam systems, por um bloco central, constituído por uma unidade CI94, cuja função é controlar a temperatura nas etapas de aquecimento/ arrefecimento, uma unidade LNP94/2 que controla a refrigeração, uma unidade VTO232 e um computador Intel (R) Pentium (R) 4, que controla todo o sistema. A célula é aquecida com um microforno, cuja temperatura é controlada por sensores de Pt100. Para a observação

óptica foi utilizado um microscópio Leica DMRB, uma câmara de vídeo Sony CCD-IRIS/RGB modelo DXC-151 AP, um monitor Sony HR Triniton modelo PVM-2053MD e um gravador de vídeo Sony SV0-1500P VHS VCR. Na análise de imagem usou-se o software da Linkam systems, com RTVMS (*Real Time Video Measurement System*).

As amostras foram preparadas por dispersão de uma pequena quantidade do material a estudar na célula da amostra, sendo esta coberta com uma tampa. A dispersão do material na célula permite estudar o comportamento de partículas isoladas, o que poderá ser útil no caso da amostra ter comportamento heterogêneo. As imagens foram obtidas por utilização combinada de luz polarizada e de compensadores de onda, o que confere à imagem de fundo uma cor única e não negra. Usou-se uma ampliação de 200X.

As amostras foram estudadas, aquecendo a amostra entre os 25°C e a fusão, tendo sido usada uma velocidade de 10°C/min.

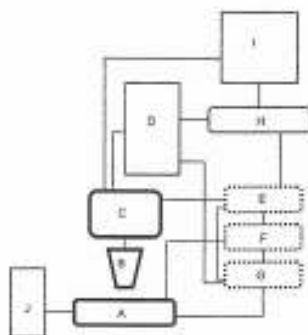


Figura 4.3 – Representação esquemática do equipamento usado em termomicroscopia: A – Placa de aquecimento, B – Microscópio, C – Câmara de vídeo, D – Computador, E – Interface gráfica, F – Sistema de controle da refrigeração, G – Interface de computador, H – Vídeo gravador, I – Monitor, J – Depósito de azoto líquido.

4.1.2.3 – Conjugação dos métodos de Termomicroscopia e DSC:

Os resultados obtidos a partir de medidas de DSC, são normalmente reprodutíveis e quantitativos, mas não podem estar sempre prontamente correlacionadas com a respectiva transformação de fase ou reacção química que ocorre na substância. Têm sido feitas tentativas para melhorar alguns métodos termoanalíticos através de uma correlação entre os seus resultados e as mudanças físicas ou químicas da substância em questão. As combinações destes dois métodos têm demonstrado grande sucesso. Os efeitos que não mostram nenhuma mudança de entalpia significativa com DSC, podem muitas vezes ser detectadas com microscopia. Por outro lado, as investigações termomicroscópicas requerem, muitas vezes, estimativas dos calores de transformação, fusão e cristalização.[50–51]

4.1.2.4 – *Espectroscopia de Absorção no Infravermelho:*

A Espectroscopia de Absorção no IV está associada ao uso de radiação electromagnética nesta região do espectro, para estudar a composição e a estrutura da matéria.

A energia associada à absorção na gama do infravermelho é capaz de promover transições vibracionais-rotacionais, vibracionais ou rotacionais. Considerando que a faixa mais usual de utilização corresponde à região do infravermelho médio (4000 a 400 cm^{-1}), o estudo das transições vibracionais é o mais importante. Para que uma molécula seja capaz de absorver no infravermelho é necessário que ela apresente variações de momento dipolar, associada ao modo vibracional considerado.[36,52–54]

Assim, quando um material for avaliado, utilizando radiação infravermelha, será obtido um espectro que relaciona absorvância *versus* comprimento de onda (normalmente é utilizado o número de onda, que é o inverso do comprimento de onda), que indica a ocorrência, ou não, de absorção pelo material de energia associada àquele comprimento de onda. Como os grupos funcionais absorvem em diferentes comprimentos de onda, é possível identificar os grupos químicos presentes na amostra.

O polimorfismo em cristais de compostos orgânicos é causado por diferentes arranjos estruturais da mesma molécula. Se as interações moleculares no cristal são bastantes fortes, decorrentes de um fenómeno como as ligações de hidrogénio, as diferenças nas formas polimórficas podem ser evidenciadas com técnicas como a Espectroscopia de Absorção no Infravermelho, IV.

Reflectância Total Atenuada (ATR):

Em 1961, Fahrenfort descreveu uma nova técnica para obtenção de espectros de infravermelho para compostos orgânicos, a Reflectância Total Atenuada (ATR – *Attenuated Total Reflectance*).

O modo de ATR é uma técnica não destrutiva, que permite a obtenção de espectros de amostras sólidas ou líquidas, tais como sólidos pouco solúveis, pós, pastas, entre outras. É também adequado para caracterização de materiais que sejam demasiado finos ou que absorvam demasiado intensamente quando analisados por espectroscopia de transmitância. Na espectroscopia de infravermelhos por ATR, a superfície da amostra é colocada em contacto com a superfície de um cristal apropriado muitas vezes feito de Germénio (Ge) ou de Seleneto de Zinco (ZnSe). A radiação infravermelha proveniente da fonte passa através do cristal. Quando o ângulo de incidência na interface amostra/ cristal excede o ângulo crítico, a reflexão total interna da radiação ocorre e uma onda evanescente é estabelecida na interface. A radiação é reflectida através do cristal, penetrando na amostra a cada reflexão, ao longo da superfície do cristal (como esquematizado na figura seguinte, Figura 4.4).

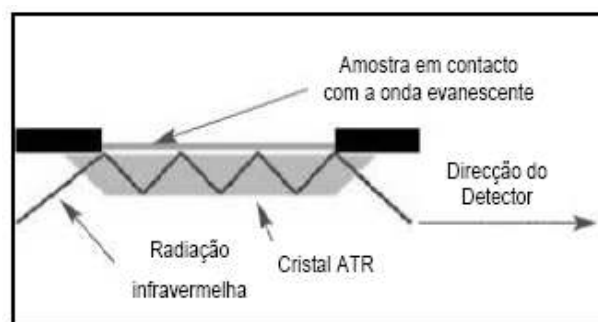


Figura 4.4 – Sistema ATR de múltipla reflexão.

O feixe de radiação perde energia no comprimento de onda em que o material da amostra absorve. Após este processo, a radiação atenuada resultante é direccionada do cristal para o percurso normal do feixe no espectrofotómetro, sendo medida pelo detector, originando o espectro da amostra. A profundidade da penetração da radiação na amostra e o número total de reflexões ao longo do cristal podem ser controlados pela variação do ângulo de incidência, assim como pela selecção do tipo de cristal.

Num espectrofotómetro ATR tem de existir um contacto muito próximo entre a amostra e a superfície do cristal, uma vez que o efeito ATR tem lugar nesta. Daí que se utilize, por vezes, uma prensa de modo a garantir um perfeito contacto entre a superfície da amostra e o cristal, como no caso dos sólidos particulados.

Nesta técnica pouca ou nenhuma preparação da amostra é requerida, o que constitui uma grande vantagem nos estudos de polimorfismo, podendo ser usada na análise de uma grande variedade de sólidos e líquidos, consoante o tipo de cristal.

É importante realçar que, apesar dos benefícios, esta técnica possui algumas limitações que incluem a sensibilidade inferior, em comparação à proporcionada pelos métodos convencionais.

Procedimento experimental e equipamento utilizado:

Os estudos de espectroscopia de absorção no infravermelho foram realizados num espectrómetro FTIR, ThermoNicolet IR300, resolução de 1cm^{-1} , com a técnica da pastilha de KBr e num PerkinElmer Spectrum 400 FT-IR/ATR, resolução de 1cm^{-1} .

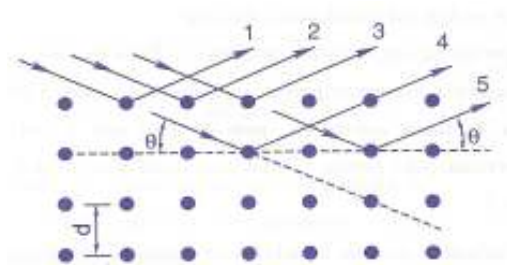
As amostras foram preparadas, misturando-se uma certa quantidade de amostra com brometo de potássio (cerca de 0,7 mg de amostra e 100 mg de KBr).

4.1.2.5 – Difracção de Raios X:

Dentre as várias técnicas de caracterização de materiais, a técnica de difracção de raios X é a mais indicada na determinação das fases cristalinas presentes nesses materiais. Isto é possível porque nos cristais, os átomos se

ordenam em planos cristalinos separados entre si por distâncias da mesma ordem de grandeza dos comprimentos de onda dos raios X.

Ao incidir um feixe de raios X num cristal, o mesmo interage com os átomos presentes, originando o fenómeno de difracção. A difracção de raios X ocorre segundo a Lei de Bragg (Equação 1), a qual estabelece a relação entre o ângulo de difracção e a distância entre os planos que a originaram (característicos para cada fase cristalina):[55]



Lei de Bragg:

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

n: número inteiro (ordem de difracção)
 λ : comprimento de onda dos raios X incidentes
d: distância interplanar
 θ : ângulo de difracção

Figura 4.5 – Difracção de raios X e a Lei de Bragg.[56]

A principal aplicação da difracção de raios X refere-se à identificação de compostos cristalinos, sejam eles orgânicos ou inorgânicos.

Os planos de difracção e as suas respectivas distâncias interplanares, bem como as densidades de átomos (electrões) ao longo de cada plano cristalino, são características específicas e únicas de cada substância cristalina, da mesma forma que o padrão difractométrico por ela gerado. Dentre as vantagens da técnica de difracção de raios X para a caracterização de fases, destacam-se a simplicidade e rapidez do método, a confiabilidade dos resultados obtidos (pois o perfil de difracção obtido é característico para cada fase cristalina), a possibilidade de análise de materiais compostos por uma mistura de fases e uma análise quantitativa destas fases.[55]

Os ensaios de difracção de raios X de pó foram realizados no Centro de Estudos de Materiais, no Departamento de Física da Universidade de Coimbra.

Procedimento experimental e equipamento utilizado:

Foi preenchido um capilar de vidro com o pó obtido pela moagem dos sólidos. As amostras foram colocadas num difractómetro de pó ENRAF-NONIUS (equipado com um detector CPS120 por INEL) e os dados foram recolhidos durante 5h, usando a geometria Debye-Scherrer. Foi usada radiação Cu K α_1 ($\lambda = 1,540598\text{\AA}$). Como calibrante externo foi usado o AlK(SO₄)₂.12H₂O.

Bibliografia

- [1] – Vencato, I., *Estruturas Cristalinas por Difração de Raios-X*, Caderno Brasileiro de Ensino de Física, Volume 5 (1988)
- [2] – Atkins, P., Paula, J., *Atkins Físico-Química*, LTC, Volume 1, 7ª Edição (2003-2004)
- [3] – Drago, R., *Physical Methods For Chemists, 2ª Ed.*, Saunders & H. B. J., College Publishers, 17 (1992) 702
- [4] – Giron, D., *Thermochimica Acta*, 248 (1995) 1
- [5] – Nangia, A., *Accounts of Chemical Research*, 41, 5 (2008) 595
- [6] – Froehlich, P.E., Gasparotto, F.S., *Journal of Basic and Applied Pharm. Sciences*, 26, 3 (2005) 205
- [7] – Llinàs, A., Goodman, J., *Drug Discovery Today*, 13, 516 (2008) 198
- [8] – Costa, L., Universidade Federal do Rio Grande do Sul, “Avaliação do Polimorfismo de Fármacos utilizados para a produção de medicamentos genéricos no Brasil” (2005)
- [9] – Lachman, L., Lieberman, H.A., et al, *Teoria e Prática na Indústria Farmacêutica*, 1 (2005) 505
- [10] – Bernstein, J., *Crystal Polymorphism, Engineering of Crystalline Materials Properties*, Springer Netherlands, (2008) 87
- [11] – Rodríguez-Spong, B., Price, C., et al, D., *Advanced Drug Delivery*, 56 (2004) 241
- [12] – Buerger, A., Ramberger, R., *Mikrochimica Acta*, 2 (1979) 259
- [13] – Erdemir, D., Lee, A., et al, *Accounts of Chemical Research*, 42 (2009) 621
- [14] – Manrich, S., Zanotto, E., et al, *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, “Aplicabilidade da Teoria Clássica da Nucleação Modificada (CD-CNT) à Cristalização de Polímeros”
- [15] – Aaltonen, J., Allesø, M., et al, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 71 (2009) 23
- [16] – Chis, V., Pîrnau, A., et al, *Chemical Physics*, 316 (2005) 153
- [17] – www.ff.up.pt/toxicologia/monografias/ano0304/Tuberculose/doc/PIRAZINAMIDA.html
- [18] – Becker, C., Dressman, J.B., et al, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 97, 9 (2008) 3709
- [19] – Takaki, Y., Sasada, Y., Watanabé, T., *Acta Crystallographica*, 13 (1960) 693
- [20] – Ro, G., Sorum, H., *Acta Crystallographica*, B28 (1972) 991
- [21] – Ro, G., Sorum, H., *Acta Crystallographica*, B28 (1972) 1677
- [22] – Nakata, K., Takaki, Y., *Memoirs of Osaka Kyoiku University. Ser. III, Natural science and applied science*, 36 (1987) 93
- [23] – Borba, A., Albrecht, M., et al, *Physical Chemistry Chemical Physics*, 10 (2008) 7010
- [24] – Takano, T., Sasada, Y., et al, *Acta Crystallographica*, 21 (1966) 514
- [25] – Borba, A., Zavaglia, A., et al, *Journal of Physical Chemistry A*, 112 (2008) 45
- [26] – Marques, L., *Departamento e Centro de Química da Universidade de Évora*, “O Ibuprofeno: Um fármaco com sucesso”
- [27] – Perlovich, G., Kurkov, S., et al, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 93 (2004) 654
- [28] – Rasenack, N., Müller, B., *International Journal of Pharmaceutics*, 245 (2002) 9
- [29] – Carvalho, P., Cass, Q., et al, *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 23, (2006) 291
- [30] – Khan, G., Jiabi, Z., *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 24(5) (1998) 463
- [31] – Rasenack, N., Müller, W., *Development and Industrial Pharmacy*, 28 (2002) 1077

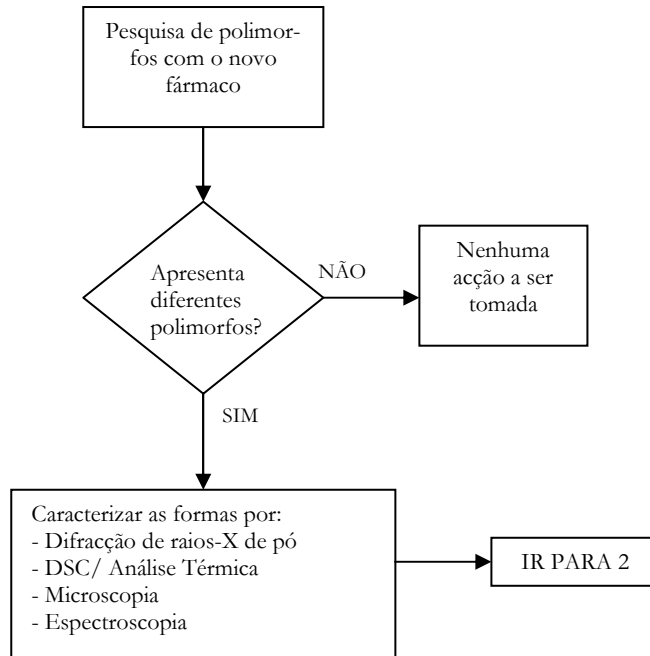
- [32] – Dudognon, E., Danède, F., et al, *Pharmaceutical Research*, 25 (2008) 2853
- [33] – www.scribd.com/doc/4003825/Fisica-Difracao-de-Raio-X (28/08/2010)
- [34] – Delgado, M., Marquez, F., et al, *Spectroscopy Lett*, 21 (1998) 841
- [35] – Lautie, A., Froment, F., et al, *Spectroscopy Lett*, 9 (1976) 289
- [36] – Chis, V., Pirnau, A., et al, *Chemical Physics*, 316 (2005) 153
- [37] – Kalkar, K., Bhosekar, M., et al, *Spectrochimica Acta, Part A*, 45 (1989) 635
- [38] – Favila, A., Gallo, M., Mitnik, D., *Journal of Molecular Modeling*, 13 (2007) 505
- [39] – Gunasekaran, S., Sailatha, E., et al, *Indian Journal of Pure and Applied Physics*, 47 (2009) 259
- [40] – Akyuz, S., *Journal of Molecular Structure*, 651 (2003) 541
- [41] – Jurnéen, P., Werngren, J., et al, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 52, 5 (2008) 1852
- [42] – Garekani, H., Sadeghi, F., et al, *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 27(8) (2001) 803
- [43] – Kawakami, K., Miyoshi, K., et al, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 95 (2006) 1354
- [44] – Lee, T., Chang, G., *Crystal Growth and Design*, 9 (2009) 3551
- [45] – Xue, Y., Zhao, Q., et al, *Journal of Colloid and Interface Science*, 243 (2001) 388
- [46] – Sabbah, R., An, W., et al, *Thermochimica Acta*, 331 (1999) 93
- [47] – Gatta, G., Richardson, J., et al, *Pure and Applied Chemistry*, 78 (2006) 1455
- [48] – Seefeldt, K., Miller, J., et al, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 96, 5 (2007) 1147
- [49] – Charsley, E., Stewart, C., et al, *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 72 (2003) 1087
- [50] – Celis, K., Driessche, I., et al, *Measurement Science Review*, 1, 1 (2001) 181
- [51] – Wiedemann, H., Bayer, G., *Journal of Thermal Analysis*, 30 (1985) 1273
- [52] – www.google.pt
- [53] – Brittain, H., *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 86, 4 (1997) 405
- [54] – Norris, T., Aldridge, P., Sekulic, S., *Analyst*, 122 (1997) 549
- [55] – Albers, A., Melchiades, F., et al, *Cerâmica*, 48, 305 (2002) 34
- [56] – Kahn, H., *PMI-2201 Difraccão de Raios X*, 1
- [57] – *Tuberculosis*, 88, 2 (2008) 141
- [58] – Akyuz, S., *Journal of Molecular Structure*, 651-653 (2003) 541
- [59] – Brittain, H. (ed), *Physical Characterization of Pharmaceutical Solids* (1995)
- [60] – Šesták, J., *Comprehensive Analytical Chemistry*, XII, XI (1984)
- [61] – Casimiro, M.H., Leal, J.P., et al, *Análise Calorimétrica aplicada a Polímeros Biológicos*, 29
- [62] – Yu-Chu M. Li, *Thermochimica Acta*, 476 (2008) 1
- [63] – Morbidoni, H., *Química Viva*, 3 (2004)
- [64] – Yoshida, S., *Pharmaceutical Society of Japan*, 11, 5 (1963) 628
- [65] – Sreevatsan, S., Pan, X., et al, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 41, 3 (1997) 636
- [66] – Wesotowski, M., Konarski, T., *Journal of Thermal Analysis*, 45 (1995) 1199
- [67] – Vippagunta, S., Brittain, H., Grant, D., *Advanced Drug Delivery*, 48 (2001) 3
- [68] – Nunes, S., Eusébio, M., et al, *International Journal of Pharmaceutics*, 285 (2004) 13
- [69] – Akalin, E., Akyuz, S., *Vibrational Spectroscopy*, 42 (2006) 333
- [70] – Szablowicz, M., Karpiński, A., et al, *Transition Metal Chemistry*, 31 (2006) 1075

- [71] – Castro, R., Maria, T., et al, *Crystal Growth & Design*, 10, (2010) 274
- [72] – Corrêa, R., Lima, D., et al, *Laboratório de Cristalografia, Instituto de Física de São Carlos/USP*
- [73] - Buerger, A., Ramberger, R., *Mikrochimica Acta*, 2 (1979) 273
- [74] – Wirth, D., Stephenson, G., *Organic Process Research & Development*, 1 (1997) 55
- [75] – Wang, Y., Li, Y., et al, *Spectrochimica Acta Part A*, 56 (2000) 2637
- [76] – Byrn, S., Pfeiffer, R., et al, *Pharmaceutical Research*, 12 (1995) 945
- [77] – Khankari, R., Grant, D., *Thermochimica Acta*, 248 (1995) 61
- [78] – Gavezzotti, A., Fillippini, G., *Journal of the American Chemical Society*, 117 (1995) 12299
- [79] – Hancock, B., Zografí, G., *Journal of Pharmaceuticals Sciences*, 86 (1997) 1
- [80] – Yu, L., *Advanced Drug Delivery Reviews*, 48 (2001) 27
- [81] – Kitamura, M., *Journal of Crystal Growth*, 237-239 (2002) 2205
- [82] – Snider, D., Addicks, W., et al, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 56 (2004) 391
- [83] – Allesø, M., Berg, F., et al, *Journal of Pharmaceuticals Sciences*, 97 (2008) 2145
- [84] – Lerdkanchanaporn, S., Dollimore, D., *Journal of Thermal Analysis*, 49 (1997) 879
- [85] – Beach, J., Park, M., et al, *Pharmaceutical Development and Technology*, 10 (2005) 413
- [86] – Passerini, N., Albertini, B., et al, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 15 (2002) 71

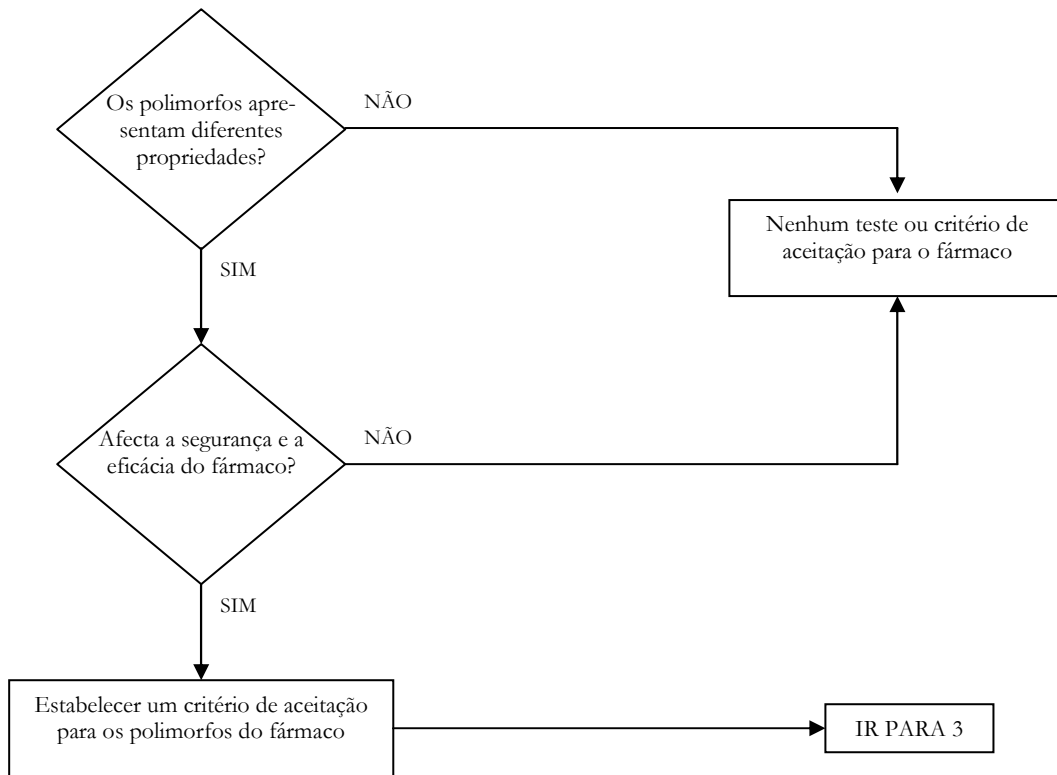
Apêndice

Algoritmo de decisão Q6A

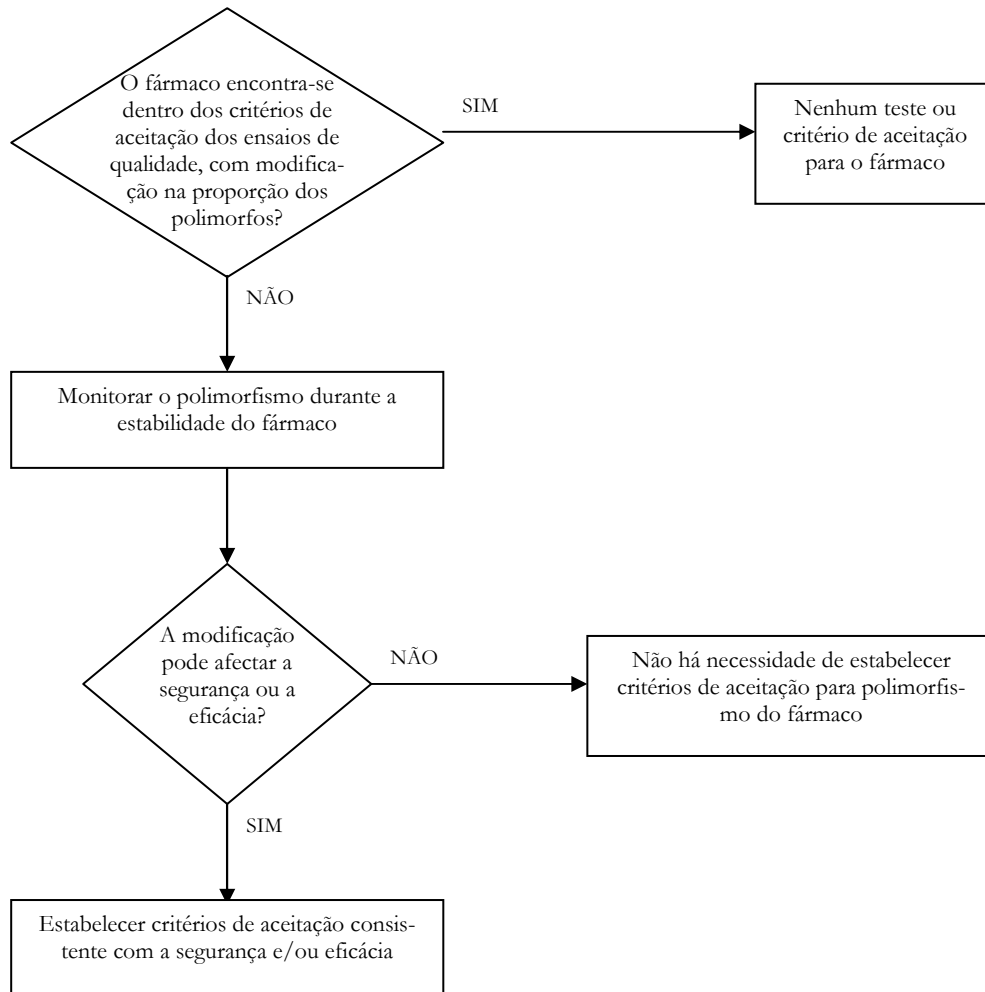
(1)



(2)



(3)



Observa-se em (1) que, primeiramente se estabelecem as características das possíveis formas cristalinas do fármaco e as suas propriedades físico-químicas, conforme o caso, bem como a sua forma de detecção pelas metodologias indicadas.

Posteriormente, a acção (2), visa estabelecer o impacto destas formas polimórficas na segurança e eficácia do fármaco, auxiliando na determinação de critérios de aceitação do fármaco e na avaliação do risco sanitário que representa tal fenómeno num caso específico. Havendo este risco, o ICH estabeleceu, em (3), vias de monitorização das alterações.