

Eduardo Gomes Rodrigues de Sousa

**Estudo Espectroscópico do Efavirenz Puro e em Sistemas
Incrementadores de Dissolução**

Rio de Janeiro

2012

Eduardo Gomes Rodrigues de Sousa

**Estudo Espectroscópico do Efavirenz Puro e em Sistemas
Incrementadores de Dissolução**

Apresentação da Dissertação de Mestrado,
como um dos requisitos para obtenção do
título de Mestre, ao Programa de Pós-
graduação em Gestão, Pesquisa e
Desenvolvimento na Indústria Farmacêutica,
do Instituto de Tecnologia em Fármacos -
FIOCRUZ

Orientadora: Prof^a. Dr^a Erika Martins de Carvalho

Co-orientadora: Prof^a. Dr^a Tereza Cristina dos Santos

Rio de Janeiro

2012

Ficha catalográfica elaborada pela
Biblioteca de Medicamentos e Fitomedicamentos/ Farmanguinhos / FIOCRUZ – RJ

S725

Sousa, Eduardo Gomes Rodrigues de.

Estudo espectroscópico do Efavirenz puro e em sistemas incrementadores de dissolução, 2012.

xxi, 138 f.: il.; 30 cm.

Dissertação (mestrado) – Instituto de Tecnologia em Fármacos-Farmanguinhos, Pós-graduação em Gestão, Pesquisa e Desenvolvimento na Indústria Farmacêutica, 2012.

Bibliografia: f. 82-90

1. Disponibilidade biológica. 2. Espectroscopia de Ressonância Magnética. 3. Interações Intermoleculares. 4. Interações Intramoleculares. 5. Polivinilpirrolidona. 6. Efavirenz. I. Título.

CDD 615.1

Eduardo Gomes Rodrigues de Sousa

Estudo Espectroscópico do Efavirenz Puro e em Sistemas
Incrementadores de Dissolução

Apresentação da Dissertação de Mestrado,
como um dos requisitos para obtenção do
título de Mestre, ao Programa de Pós-
graduação em Gestão, Pesquisa e
Desenvolvimento na Indústria Farmacêutica,
do Instituto de Tecnologia em Fármacos -
FIOCRUZ

Aprovada em 29 de março de 2012.

Banca Examinadora:

Prof^a. Dr^a. Rosane Aguiar da Silva San Gil
(Universidade Federal do Rio de Janeiro)

Prof^a. Dr^a. Núbia Boechat
(Farmanguinhos - Fiocruz)

Prof. Dr. Helvécio Vinícius Antunes Rocha
(Farmanguinhos - Fiocruz)

Rio de Janeiro

2012

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Sérgio e Kátia, que sempre me apoiaram e foram incansáveis em todos os momentos de minha vida. Ao meu sobrinho e afilhado Breno, que a poucos meses encheu minha vida de luz e alegria.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar quero agradecer a Deus e à espiritualidade, que nunca me abandonaram, nem me deixaram desanimar, mesmo diante de todas as dificuldades encontradas no percurso.

Aos meus pais, Sérgio e Kátia, meus mentores, minha vida, meus modelos de ser humano e de família amorosa.

Ao meu irmão Bruno, que do jeito dele, sempre foi meu grande incentivador e meu maior fã com certeza.

À minha cunhada e grande amiga Andréia que me deu o ser mais importante desse mundo, meu afilhado Breno que me encheu de força, energia e alegria nas horas de estresse e de desânimo.

Às minhas avós, Marly e Florinda, que mesmo sem saber muito do que se trata “esse tal de Mestrado” sempre estiveram presentes e orgulhosas de mim.

Aos meus saudosos avós Alberto e Gilberto (*in memoriam*) que sempre foram grandes interessados por tudo aquilo que eu fizesse e que sempre me apoiaram nos meus projetos de vida.

Aos meus padrinhos, Sérgio e Márcia e prima Rafaella, que se orgulham e torcem por mim.

À todos os meus amigos e em especial ao Paulo Ballestero, Patrícia Condé, Vânia Chaves, Nelson Mendes, Marcela Sampaio, Thaís Moreira e Kelly Santana, que sempre foram exemplos de paciência, dedicação, amor e amizade incondicional.

À Professora Dra. Rosane San Gil, do LabRMN – IQ – UFRJ, que com toda paciência e carinho, sempre me ajudou, atendeu e esclareceu muitas dúvidas.

À Eliane Gonçalves, do Laboratório de RMN de Farmanguinhos, que esteve presente nos momentos que eu mais precisei de ajuda para obter grande parte dos resultados desta tese.

À Rafaella Cruz, da Plataforma de Métodos Analíticos, que também foi grande parceira na execução das análises espectroscópicas.

Ao Professor Dr. Osvaldo Andrade Santos Filho, do Núcleo de Síntese 1 (Modelagem Molecular), que mesmo sem me conhecer, me incentivou e atendeu prontamente.

Ao Vagner Pereira, que foi um bom colega de sala e esteve presente nos últimos meses.

À Anna Paula Motta, que teve palavras de sabedoria para me acalmar em momentos de estresse.

À minha grande amiga e orientadora Érika Martins de Carvalho, que me acolheu no momento que eu mais precisava e que não descansou um só minuto durante todo o trabalho. Foi professora, amiga e “mãezona” !

À minha co-orientadora, Tereza Santos, que teve palavras sábias e gerência eficiente durante todo o projeto, que me possibilitaram concluir, com êxito, esse trabalho.

Agradeço aos professores da banca que se dispuseram prontamente a participar dessa defesa.

Aos meus alunos e amigos do Instituto Pio XI e do CCAA Bento Ribeiro e Norte Shopping, que se interessaram e vibraram com o meu trabalho e com a minha defesa.

Enfim, muito obrigado a todos aqueles que participaram direta ou indiretamente deste grande projeto profissional e de vida. Aprendi muito, em todos os sentidos.

O tempo certo é aquele em que as coisas acontecem e o amanhã a Deus pertence.

Luiz Gasparetto

O tempo dirá que fomos fiéis.

Maria e Giustina Schiapparoli

RESUMO

SOUSA, Eduardo G.R. de. *Estudo Espectroscópico do Efavirenz Puro e em Sistemas Incrementadores de Dissolução*. 2012. 138f. Dissertação de Mestrado Profissional em Gestão, Pesquisa e Desenvolvimento na Indústria Farmacêutica – Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2012.

O efavirenz (EFA) está classificado como um fármaco de classe II, pois é pouco hidrossolúvel e altamente permeável pelo trato gastrointestinal. Estas duas características básicas são essenciais para sua biodisponibilidade. Assim, a escolha de uma formulação adequada para esse fármaco é essencial no desenvolvimento de comprimidos, para garantir melhor disponibilização no trato gastrointestinal, de forma a alcançar a biodisponibilidade e o efeito terapêutico desejados. Nesse trabalho, o EFA e a mistura EFA:polivinilpirrolidona (PVP), preparados por processos de micronização com intuito de aumentar a dissolução do fármaco, foram espectroscopicamente estudados e caracterizados. No caso do EFA sua estrutura foi modelada usando o método B3LYP com intuito de auxiliar na análise dos resultados experimentais. A caracterização espectroscópica foi realizada utilizando diversas técnicas como infravermelho (IV) e ressonância magnética nuclear (RMN) em solução e de sólidos. A análise térmica por calorimetria diferencial de varredura (DSC) e a análise termogravimétrica (TGA) mostraram que os processos de comicronização não afetaram a estrutura cristalina do fármaco puro e nem a do fármaco nas misturas. A RMN comprovou a integridade dos mesmos, em solução e no estado sólido, indicando que o EFA encontra-se dimerizado. Os estudos de RMN também mostraram que, tanto no estado líquido quanto no sólido, ocorrem interações intermoleculares via ligação de hidrogênio do EFA com a PVP. Os espectros de RMN de sólido indicaram que ocorre dissolução parcial do EFA na matriz polimérica.

Palavras-chave: Biodisponibilidade. Ressonância Magnética Nuclear. Interações Intermoleculares e Intramoleculares. Polivinilpirrolidona. Efavirenz.

ABSTRACT

SOUSA, Eduardo G.R. de. *Estudo Espectroscópico do Efavirenz Puro e em Sistemas Incrementadores de Dissolução*. 2012. 138f. Dissertação de Mestrado Profissional em Gestão, Pesquisa e Desenvolvimento na Indústria Farmacêutica – Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2012.

Efavirenz (EFA) is classified as a class II drug because it is poorly water soluble and highly permeable through the gastrointestinal tract. These two basic characteristics are essential for its bioavailability. Thus, the choice of a suitable formulation for this drug is essential in the development of tablets to ensure better gastrointestinal tract in order to achieve both the bioavailability and the therapeutic effect desired. In this work, EFA and the blends EFA:polyvinylpyrrolidone (PVP) were prepared by spray drying and grinding processes in order to increase the solubility of the drug, were studied and characterized spectroscopically. In the case of EFA its structure was modeled using the B3LYP in order to aid the analysis of the experimental results. The spectroscopic characterization was performed using various techniques such as infrared spectroscopy (FTIR) and nuclear magnetic resonance (NMR) in solution and solid state. Thermal analysis by differential scanning calorimetry (DSC) and thermogravimetric analysis (TGA), showed that the micronization process neither affected the crystal structure of the pure drug nor the drug in blends. NMR confirmed the integrity of the solution and the solid form and identified that the EFA is dimerized. The NMR studies also showed that both liquid and solid interactions occur via intermolecular hydrogen bonding of EFA with PVP. The NMR spectra indicated that occurs the solid partial dissolution of the EFA in the polymer matrix.

Keywords: Bioavailability. Nuclear Magnetic Resonance. Intermolecular and Intramolecular Interactions. Polyvinylpyrrolidone. Efavirenz.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Estrutura do Efavirenz.....	15
Figura 2 –	RMN ¹³ C CP/MAS no estado sólido dos polimorfos X1 (a) e X2 (b).....	27
Figura 3 –	Espectro de RMN ¹³ C CP/MAS do composto 3 para as três formas: (a) Forma dihidratada, (b) Polimorfo anidro, forma I e (c) Polimorfo anidro, forma III	28
Figura 4 –	Espectro de RMNs ¹³ C das amostras de cefalexina: monohidrato de cefalexina (PSA), cápsula (CCC), pó cru(PMD), suspensão (CSM) e pó para suspensão oral (CSH) (AGUIAR <i>et al.</i> , 2010).....	29
Figura 5 –	Espectro de RMN ¹³ C CP/MAS no estado sólido: (a) Troglitazona, (b) PVP, (c) Mistura Física PVP e troglitazona.....	30
Figura 6 –	Espectro de RMNs ¹³ C CP/MAS do sistema troglitazona/PVP na região de 70-160 ppm: (verde) co-moagem 60 minutos; (rosa) co-moagem 120 minutos; (preta) co-moagem 180 minutos; (azul) co-moagem 240 minutos e (azul) dispersão sólida (solvente) (ITO <i>et al.</i> , 2011).....	31
Figura 7 –	Espectro de RMNs ¹³ C CP/MAS: (a) maleato de enalapril puro, (b) β-CD pura, (c) mistura física de maleato de enalapril: β-CD, (d) complexo de inclusão maleato de enalapril: β-CD e (e) mistura física de maleato de enalapril: β-CD depois da liofilização dos componentes puros (ZOPPI <i>et al.</i> , 2011).....	33
Figura 8 –	Espectros de RMNs ¹³ C CP/MAS: (a) forma anidra I; (b) mistura de polimorfos, com maior quantidade da forma I; (c) mistura de polimorfos, com maior quantidade da forma II e (d) forma anidra II (PARK <i>et al.</i> , 2010).....	34
Figura 9 –	Espectro de RMNs ¹³ C SP/MAS do cetoprofeno puro (a), mistura física (b) e mistura processada por fusão (c), adquiridos a 43°C (SCHACHTER <i>et al.</i> , 2011).....	36
Figura 10 –	Sobreposição das curvas de DSC das amostras de EFA puro e do EFA especificado por Farmanguinhos (preto).....	42
Figura 11 –	Curva Termogravimétrica do EFA.....	43
Figura 12 –	Espectro de I.V. do EFA.....	44
Figura 13 –	Espectro de I.V. das amostras de EFA em sobreposição na região de 4300 cm ⁻¹ a 2100 cm ⁻¹ : comicronizado (preto), R48245 (vermelho), R48243 (verde), não processado (azul) e R47716 (cinza).....	44

Figura 14 –	Espectro de I.V. das amostras do EFA em sobreposição na região de 2000 cm^{-1} a 450 cm^{-1} : comicronizado (preto), R48245 (vermelho), R48243 (verde), não processado (azul) e R47716 (cinza).....	45
Figura 15 –	Espectro de RMN de ^1H do EFA em CD_3CN	45
Figura 16 –	Espectro de RMN de ^{13}C em CD_3CN do EFA.....	47
Figura 17 –	Átomos em vermelho: aceptores de hidrogênio e em azul: doadores de hidrogênio.....	48
Figura 18 –	Espectro de RMN de ^1H do EFA nos solventes: (a) DMSO; (b) CDCl_3 e (c) CD_3CN	50
Figura 19 –	Estrutura do EFA com ligação de hidrogênio intramolecular.....	52
Figura 20 –	Espectro de RMNs ^{13}C CP/MAS do EFA: (a) micronizado, (b) não-processado, (c) R48245, (d) R48243 e (e) R47716.....	55
Figura 21 –	(a) Espectro de RMN de ^{13}C do EFA em CD_3CN e Espectro de RMNs ^{13}C CP/MAS do EFA (b) . (*) bandas laterais.....	56
Figura 22 –	Dímero do EFA.....	56
Figura 23 –	Rotação da ligação entre os carbonos C-14 e C-15 do EFA.....	58
Figura 24 –	Confômeros do EFA. Mínimo global: confômero 2.....	59
Figura 25 –	Sobreposição dos confômeros do EFA, destacando a rotação do grupo ciclopropil.....	60
Figura 26 –	Orientação equatorial da porção 2-ciclopropilenitil em relação ao anel benzoxazin-2-ona.....	60
Figura 27 –	Espectro de infravermelho da amostra de EFA recristalizada.....	62
Figura 28 –	Espectro de RMN de ^1H em CD_3CN do EFA processado e do EFA recristalizado segundo metodologia descrita no item 4.....	63
Figura 29 –	(a) Espectro de RMN de ^1H em CD_3CN e (b) espectro de RMNs CP/MAS ^{13}C . (*) bandas laterais.....	63
Figura 30 –	Espectro de I.V. da PVP K-30 pura.....	65
Figura 31 –	Espectro de I.V. da PVP K-30 pura (GIRI <i>et al.</i> , 2011).....	65
Figura 32 –	Espectro de RMN ^1H do PVP puro.....	66
Figura 33 –	Espectro de RMN ^{13}C da PVP em CD_3CN (a) e Espectro de RMNs ^{13}C CP/MAS da PVP (b).....	67

Figura 34 –	Espectros de I.V. em sobreposição: EFA (cinza), PVP (vinho), EFA:PVP 1:1 (azul), EFA:PVP 1:0,5 (verde), EFA:PVP 1:0,25 (preto) e EFA:PVP 1:0,5 mistura física (vermelho).....	69
Figura 35 –	Espectros de RMN ¹ H em CD ₃ CN: (a) EFA puro, (b) PVP pura, (c) EFA:PVP (1:1) ^a , (d) EFA:PVP (1:0,5) ^a , (e) EFA:PVP (1:0,25) ^a e (f) EFA:PVP(1:0,5) ^b . ^a comicronizado, ^b mistura física.....	70
Figura 36 –	a) Seqüência IR. b) Comportamento do vetor magnetização.....	74
Figura 37 –	Curvas de DSC do EFA e PVP processados e não processados e das misturas comicronizadas (COSTA, 2011).....	77
Figura 38 –	Espectros de RMNs ¹³ C CP/MAS: (a) EFA puro, (b) PVP pura, (c) EFA:PVP (1:1) ^a , (d) EFA:PVP (1:0,5) ^a , (e) EFA:PVP (1:0,5) ^b e (f) EFA:PVP (1:0,25) ^a . ^a comicronizado, ^b mistura física.....	78

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AIDS –	<i>Acquired Immune Deficiency Syndrome</i>
ARV –	Antirretroviral
BB –	<i>Broadband</i>
β -CD –	Beta-ciclodextrina
BCS –	<i>Biopharmaceutical Classification System</i>
CP –	Polarização cruzada
D –	Coeficiente de difusão molecular
DD –	Defasamento dipolar
DFT –	<i>Density functional theory</i>
DMSO –	Dimetilsulfóxido
DQA –	Deslocamento químico anisotrópico
DRX –	Difração de raios X
DSC –	Calorimetria exploratória diferencial
DST –	Doença sexualmente transmissível
EFA –	Efavirenz
FDA –	<i>US Food and Drug Administration</i>
HAART –	<i>Highly Active Antiretroviral Therapy</i>
HIV –	Vírus da Imunodeficiência Humana
Hz –	<i>Hertz</i>
ICH –	<i>The International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use</i>
IFA –	Insumo farmacêutico ativo
IRSEL –	Método de inversão-recuperação seletiva
IR –	Método de inversão-recuperação não-seletiva
IV –	Infravermelho com transformada de Fourier

KJMA –	Equação de Kolmogorov-Johnson-Mehl-Avrami
LTF –	Laboratório de Tecnologia Farmacêutica
MAS –	Rotação no ângulo mágico
NNRTI –	<i>Non-Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitor</i>
NOE –	Efeito <i>Overhouser</i> Nuclear
OMS –	Organização Mundial de Saúde
POE –	Poli (óxido de etileno)
PEG –	Polietilenoglicol
P.F. –	Ponto de fusão
PFG –	<i>Pulse field gradient</i>
pH –	Potencial hidrogeniônico
PVP –	Polivinilpirrolidona
RMN –	Ressonância Magnética Nuclear
RMNs –	Ressonância Magnética Nuclear de sólidos
SAS –	Anti-solvente supercrítico
SIDA –	Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
TGA –	Análise termogravimétrica
TOSS –	<i>Total Supression of sidebands</i>
UNAIDS –	Programa Conjunto das Nações Unidas sobre HIV/Aids
UNGASS –	Sessão Especial da Assembléia-Geral das Nações Unidas
U.R. –	Umidade relativa

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – $\Delta\delta$ (ppm) x ΔT (°C) do hidrogênio amínico do EFA em $CDCl_3$ e CD_3CN ...	53
Gráfico 2 – Energia (Kcal/molx 10^5) x Conômeros do EFA.....	59

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Técnicas analíticas tradicionais para a caracterização de polimorfos.....	19
Tabela 2 – Sequências de pulsos mais comuns da RMNs.....	25
Tabela 3 – Comparação dos P.F. experimentais com os P.F. da patente US6673372.....	41
Tabela 4 – Deslocamento químico dos hidrogênios do EFA em CD_3CN	46
Tabela 5 – Deslocamentos químicos de ^{13}C do EFA em CD_3CN	47
Tabela 6 – Deslocamento químico dos hidrogênios do EFA em função do solvente.....	49
Tabela 7 – Influência do efeito da temperatura nos deslocamentos químicos de 1H em $CDCl_3$ do EFA.....	51
Tabela 8 – Influência do efeito da temperatura nos deslocamentos químicos de 1H em CD_3CN do EFA.....	52
Tabela 9 – Estudo de concentração do EFA em CD_3CN	53
Tabela 10 – Comparação entre os deslocamentos químicos dos carbonos em solução e no estado sólido.....	57
Tabela 11 – Comparação entre os resultados experimentais de RMN e os calculados.....	61
Tabela 12 – Energia das espécies do EFA em Kcal/mol.....	64
Tabela 13 – Deslocamento químico dos hidrogênios do PVP em CD_3CN a 25°C.....	66
Tabela 14 – Comparação dos sinais de RMN em CD_3CN e RMN de sólidos.....	68
Tabela 15 – Deslocamentos químicos de 1H em CD_3CN das misturas EFA:PVP a 25 °C.....	71
Tabela 16 – Deslocamentos químicos de 1H em $CDCl_3$ das misturas EFA:PVP a 25 °C.....	72

Tabela 17 – Deslocamentos químicos de ^{13}C em CD_3CN das misturas.....	73
Tabela 18 – Velocidade de Relaxação spin-rede não seletiva (R_1^{NS}) dos hidrogênios do EFA puro e no EFA:PVP em CD_3CN	75
Tabela 19 – Deslocamentos químicos de RMNs ^{13}C CP/MAS das misturas EFA:PVP.....	79

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
1.1	Situação da AIDS no Brasil e no mundo	13
1.2	Características do efavirenz	15
1.3	Técnicas espectroscópicas	18
2	REVISÃO DA LITERATURA	21
2.1	RMN de alta resolução em solução	22
2.2	RMN de sólidos	24
2.3	Aplicações da RMNs em insumos farmacêuticos sólidos	26
2.3.1	<u>Identificação dos polimorfos de um IFA</u>	26
2.3.2	<u>Estabilidade das formas polimórficas do IFA</u>	29
2.3.3	<u>Comportamento dinâmico do IFA e/ou excipiente (movimentos conformacionais)</u>	33
2.3.4	<u>Interações físicas ou químicas entre IFAs e excipientes em dispersões sólidas</u>	35
3	OBJETIVOS	37
3.1	Objetivo geral	37
3.2	Objetivos específicos	37
4	METODOLOGIA	38
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	41
5.1	Caracterização do EFA	41
5.1.1	<u>Análise Térmica do EFA</u>	41
5.1.2	<u>Espectroscopia de infravermelho (I.V.) do EFA</u>	43
5.1.3	<u>Espectroscopia de RMN do EFA</u>	45
5.1.4	<u>Modelagem molecular</u>	58
5.2	Análise espectroscópica do efavirenz recristalizado	61
5.3	Caracterização espectroscópica da PVP	64
5.4	Caracterização espectroscópica das misturas	
6	CONCLUSÕES	80
7	PERSPECTIVAS	81
8	REFERÊNCIAS	82

ANEXO 1 – Infravermelho do EFA – pastilha de KBr.....	91
ANEXO 2 – EFA RMN ¹ H em CD ₃ CN.....	92
ANEXO 3 – EFA RMN ¹³ C em CD ₃ CN.....	93
ANEXO 4 – EFA HSQC.....	94
ANEXO 5 – EFA HMBC.....	95
ANEXO 6 – EFA DEPT.....	96
ANEXO 7 – EFA RMNs ¹³ C CP/MAS.....	97
ANEXO 8 – Infravermelho do EFA recristalizado – Pastilha KBr.....	98
ANEXO 9 – EFA recristalizado RMN ¹ H em CD ₃ CN.....	99
ANEXO 10 – EFA recristalizado RMN ¹³ C em CD ₃ CN.....	100
ANEXO 11 – EFA recristalizado RMNs ¹³ C CP/MAS.....	101
ANEXO 12 – Infravermelho da PVP – pastilha de KBr.....	102
ANEXO 13 – PVP RMN ¹ H em CD ₃ CN.....	103
ANEXO 14 – PVP RMN ¹³ C em CD ₃ CN.....	104
ANEXO 15 – PVP RMNs ¹³ C CP/MAS.....	105
ANEXO 16 – Infravermelho EFA:PVP (1:1) comicronizado – Pastilha KBr....	106
ANEXO 17 – EFA:PVP (1:1) comicronizado RMN ¹ H em CD ₃ CN.....	107
ANEXO 18 – EFA:PVP (1:1) comicronizado RMN ¹³ C em CD ₃ CN.....	108
ANEXO 19 – EFA:PVP (1:1) comicronizado RMN ¹ H em CDCl ₃	109
ANEXO 20 – EFA:PVP (1:1) comicronizado RMNs ¹³ C CP/MAS.....	110
ANEXO 21 – Infravermelho EFA:PVP (1:0,5) comicronizado – Pastilha KBr..	111
ANEXO 22 – EFA:PVP (1:0,5) comicronizado RMN ¹ H em CD ₃ CN.....	112
ANEXO 23 – EFA:PVP (1:0,5) comicronizado RMN ¹³ C em CD ₃ CN.....	113
ANEXO 24 – EFA:PVP (1:0,5) comicronizado RMN ¹ H em CDCl ₃	114
ANEXO 25 – EFA:PVP (1:0,5) comicronizado RMNs ¹³ C CP/MAS.....	115
ANEXO 26 – Infravermelho EFA:PVP (1:0,25) comicronizado – Pastilha KBr	116
ANEXO 27 – EFA:PVP (1:0,25) comicronizado RMN ¹ H em CD ₃ CN.....	117
ANEXO 28 – EFA:PVP (1:0,25) comicronizado RMN ¹³ C em CD ₃ CN.....	118
ANEXO 29 – EFA:PVP (1:0,25) comicronizado RMN ¹ H em CDCl ₃	119
ANEXO 30 – EFA:PVP (1:0,25) comicronizado RMNs ¹³ C CP/MAS.....	120
ANEXO 31 – Infravermelho EFA:PVP (1:0,5) mistura física – Pastilha KBr..	121
ANEXO 32 – EFA:PVP (1:0,5) mistura física RMN ¹ H em CD ₃ CN.....	122
ANEXO 33 – EFA:PVP (1:0,5) mistura física RMN ¹³ C em CD ₃ CN.....	123

ANEXO 34 – EFA:PVP (1:0,5) mistura física RMN ^1H em CDCl_3	124
ANEXO 35 – EFA:PVP (1:0,5) mistura física RMNs ^{13}C CP/MAS.....	125
ANEXO 36 – EFA RMN ^{19}F em CDCl_3	126
ANEXO 37 – EFA recristalizado RMN ^{19}F em CD_3CN	127
ANEXO 38 – EFA:PVP (1:0,5) comicronizado RMN ^{19}F em CD_3CN	128
ANEXO 39 – EFA:PVP (1:0,25) comicronizado RMN ^{19}F em CD_3CN	129
ANEXO 40 – EFA:PVP (1:0,5) mistura física RMN ^{19}F em CD_3CN	130

1 INTRODUÇÃO

1.1 Situação da AIDS no Brasil e no mundo

Conforme o relatório anual do Programa Conjunto das Nações Unidas sobre o vírus HIV (vírus da imunodeficiência humana) e AIDS (*Acquired Immune Deficiency Syndrome*) ou SIDA (Síndrome da Imunodeficiência Adquirida), existem no mundo aproximadamente 33,3 milhões de pessoas vivendo com esta patologia. O percentual de pessoas que vivem com o HIV diminuiu globalmente cerca de 19% entre 2004 e 2009, em comparação com os anos anteriores. A diferença nos números deve-se à expansão do acesso ao tratamento por conta das ações efetivas de enfrentamento da epidemia que vêm sendo desenvolvidas em diversos países (UNAIDS, 2009).

No Brasil, de 1980 a junho de 2011 foram notificados 608.230 casos de AIDS. Estima-se que 630 mil pessoas vivam com o vírus no país, sendo que, pelo menos, 255 mil dessas pessoas desconhecem serem portadoras do vírus, ou por não terem realizado testes de HIV, ou então, por acreditarem que a doença ainda tenha grupo de risco. Segundo o Boletim Epidemiológico de 2010, o Brasil tem uma epidemia concentrada, com taxa de prevalência da infecção pelo HIV de 0,6% na população de 15 a 49 anos (UNGASS, 2010)

De acordo com o UNAIDS (2010), estima-se que 320.000 crianças foram infectadas com HIV em 2009, através de transmissão materno-infantil. Como consequência da prevenção desse tipo de transmissão, esse número diminuiu quando comparado à estimativa de 500.000 infecções em 2001. No país houve a redução de 44,4% da incidência dos casos de AIDS em menores de 5 anos. Essa taxa, em muitos casos, deve-se ao aumento e melhoria da assistência pré-natal que diminui a incidência da transmissão do vírus HIV da mãe para o bebê, com diagnóstico precoce e tratamento adequado (Boletim Epidemiológico, 2010).

O Brasil é um dos primeiros países a adotar políticas de saúde significativas para a melhoria do atendimento dos portadores do HIV/AIDS. Dentre essas políticas, destaca-se o acesso universal e gratuito da população aos medicamentos usados no tratamento de AIDS. O Boletim Epidemiológico de 2007 trouxe, pela primeira vez,

dados sobre a proporção de pessoas que continuaram vivendo com AIDS em até cinco anos após o diagnóstico. O estudo foi feito com base no número de pessoas identificadas com a doença em 2000. Os dados apontam que cinco anos depois de diagnosticadas, 90% das pessoas com AIDS, no Sudeste, estavam vivas.

Segundo o Protocolo de Assistência Farmacêutica em DST/HIV/AIDS do Ministério da Saúde, aproximadamente 197 mil pacientes estavam em tratamento com 19 antirretrovirais, em 2010. Esses medicamentos retardam o desenvolvimento da AIDS e possibilitam maior qualidade de vida ao portador do vírus. Isso porque, os antirretrovirais agem na redução da carga viral e na reconstituição do sistema imunológico.

Como resultado dessa política de saúde, observa-se, no país, uma redução significativa da mortalidade e do número de internações por doenças oportunistas. Assim, o governo brasileiro reduz os gastos com internações e investe na produção local de medicamentos, fato que torna viável e eficiente o acesso ao tratamento antirretroviral a todos que precisarem.

O efavirenz (EFA) (1), até 2007, era o medicamento com maior custo para o tratamento da AIDS pois 40% dos portadores do vírus no Brasil, segundo o Ministério da Saúde, utilizavam este medicamento. Devido a este fato o Brasil, decretou, pela primeira vez, o licenciamento compulsório de um medicamento antirretroviral (RODRIGUES, 2009), possibilitando, com isso, a produção local desse fármaco e da formulação correspondente. Atualmente, os laboratórios públicos Farmanguinhos (FIOCRUZ) e Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco (LAFEPE) estão encarregados da produção do medicamento efavirenz, cujo fármaco é produzido pelas empresas Nortec Química, Cristália Produtos Químicos e Farmacêuticos LTDA e Globe Química. O efavirenz é, ainda, objeto de outros pedidos de patente que reivindicam processos de obtenção desse fármaco, composições contendo o mesmo e seus usos (BRASIL, 2010). Desde março de 2009, Farmanguinhos está produzindo e disponibilizando o efavirenz para o Ministério da Saúde.

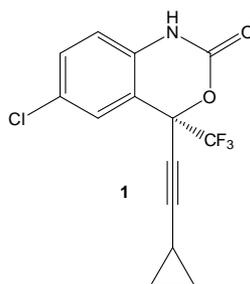


Figura 1. Estrutura do EFA.

1.2 Características do efavirenz

O EFA, (4S)-6-cloro-4-(2-ciclopropiletinil)-4-(trifluorometil)-2,4-dihidro-1H-3,1-benzoxan-2-ona, (comercializado sob os nomes Sustiva ou Stocrin) é um inibidor não nucleosídico da transcriptase reversa (*non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor* – NNRTI, sigla com origem no termo em Inglês) (MAHAPATRA *et al.*, 2010), usado como parte da terapia antirretroviral altamente ativa (*highly active antiretroviral therapy* – HAART, sigla com origem no termo em Inglês) para portadores do vírus HIV-1.

Ele está entre os medicamentos de primeira escolha no tratamento da AIDS e foi o 14º fármaco antirretroviral (ARV) aprovado pelo *US Food and Drug Administration* (FDA), em 21 de setembro de 1998. Sua atividade antirretroviral *in vivo* e *in vitro* foi demonstrada em 1995 por YOUNG e colaboradores.

O EFA, para a infecção de HIV que não tenha sido anteriormente tratada, é indicado sempre em combinação com outros fármacos, como lamivudina/ zidovudina (Combovir) ou tenofovir/emcitrabina (Truvada), sendo usado como tratamento de primeira linha em preferência aos inibidores de protease. É também utilizado em combinação com outro antirretroviral para profilaxia de pós-exposição para impedir a transmissão do HIV.

O Sistema de Classificação Biofarmacêutica (BCS, do inglês *Biopharmaceutics Classification System*) foi proposto em 1995 por Amidon e colaboradores. Tal sistema visa classificar os fármacos de acordo com duas características básicas e essenciais para sua biodisponibilidade: solubilidade e permeabilidade pelo trato gastrointestinal. Por possuir características hidrofóbicas,

baixa densidade e grande resistência ao escoamento, o EFA está enquadrado na classe II do BCS, ou seja, é pouco hidrossolúvel e altamente permeável. Possui solubilidade aquosa de 9 µg/mL (PARVIN *et al.*, 2009), massa molar de 315,675 g/mol e fórmula molecular C₁₄H₉NCIF₃O₂.

Assim, a escolha de uma formulação adequada para esse fármaco é essencial no desenvolvimento de comprimidos para garantir melhor disponibilização no trato gastrointestinal, de forma a alcançar a biodisponibilidade e o efeito terapêutico desejados.

O desenvolvimento de uma nova formulação deve levar em consideração fatores capazes de retardar ou acelerar o processo de disponibilização do fármaco no trato gastrointestinal, dentre os quais os relacionados com a formulação são: tamanho da partícula, tempo de desintegração, dissolução, presença de excipientes hidrofóbicos e/ou hidrofílicos, propriedades físico-químicas e outras características do fármaco (LONGER, 1995).

Hoje, a tecnologia farmacêutica fornece muitos caminhos para melhorar o perfil de dissolução, dentre as alternativas tecnológicas disponíveis para a melhoria da solubilidade de fármacos pouco solúveis em água, é a obtenção de dispersões sólidas (SERAJUDDIN, 1999), em proporções eutéticas, visa obter sistemas de menor ponto de fusão, maior área superficial, redução do tamanho de partículas, geração de estado amorfo, e conseqüentemente, maior solubilidade aquosa e biodisponibilidade do fármaco (SOARES *et al.*, 2010; VOGT *et al.*, 2007).

O termo dispersão sólida traduz-se pela dispersão de um fármaco em um transportador ou matriz sólida biologicamente inócua preparada por fusão, ou dissolução ou ainda pelo método fusão-dissolução (CHIOU, 1971). As misturas mecânicas sólidas não estão incluídas nessa definição.

As dispersões sólidas podem ter inúmeras vantagens e aplicações farmacêuticas, sendo a mais destacada a distribuição homogênea e uniforme de pequenas quantidades de fármaco no estado sólido, para estabilizar fármacos instáveis produzir formas de liberação prolongada ou aumentar as taxas de dissolução do fármaco.

Chiou e Riegelman (1971) relataram, ainda, a função de polímeros hidrofílicos para melhorar a solubilidade e a taxa de dissolução de fármacos com solubilidade baixa. Uma possibilidade atrativa seria o uso de polímeros como polivinilpirrolidona (PVP) e polietilenoglicol (PEG) (CIRRI *et al.*, 2004) empregando a tecnologia de

dispersão sólida. Esta técnica, como explicado anteriormente, produz significativa redução do tamanho da partícula. Como o carreador se dissolve, o fármaco, na maioria das vezes, estará no meio de dissolução na forma de micropartículas propiciando uma dissolução e absorção mais rápida (TRAPANI *et al.*, 2004).

Contudo, a dissolução do fármaco contido em uma dispersão sólida é influenciada por vários fatores como o método empregado para prepará-la, proporção e características do carreador usado, pH do meio de dissolução, temperatura e características das partículas resultantes da dispersão sólida (OZKAN *et al.*, 2000).

No entanto, as dispersões sólidas que contenham fármacos amorfos ou moleculares podem apresentar problemas de estabilidade, aumento da umidade – que pode provocar a degradação do fármaco (FORD, 1986; BLOCH; 1987), redução das partículas – que pode levar à agregação e à aglomeração, a decomposição durante a preparação (BLOCH, 1987) e, por último, podem provocar problemas de formulação como: dificuldade de pulverização, baixa compressibilidade, incompatibilidade entre o fármaco e o carreador, baixa estabilidade, entre outros e problemas de transposição de escala como: interações entre o fármaco ou o transportador com os outros excipientes usados na formulação dos comprimidos e alterações nas propriedades físicas das formulações (SERAJUDDIN, 1999).

A comercialização de medicamentos baseados na tecnologia da dispersão sólida não é extensa devido ao seu método de preparação, à dificuldade da reprodutibilidade das propriedades físico-químicas, à formulação em formas farmacêuticas, à transposição de escala e à estabilidade física e química do fármaco e do veículo (SERAJUDDIN, 1999).

Normalmente, o processo de desenvolvimento farmacêutico é realizado com o insumo farmacêutico ativo (IFA) pulverizado na forma cristalina mais estável, a fim de garantir biodisponibilidade reprodutível do produto que será submetido a diversas condições de armazenamento no mundo real. A solubilidade do fármaco está, muitas vezes, intrinsecamente relacionada com o seu tamanho de partícula (CHAUMEIL, 1998).

A redução do tamanho das partículas dos fármacos geralmente é obtida através dos processos de micronização e moagem. Estes processos aumentam a solubilidade e a taxa de dissolução dos fármacos, fundamentais para a eficiência terapêutica (ICH, 1999). A grande vantagem desta técnica é que esse processo é

usado para maximizar a área superficial das partículas, o que melhora a taxa de dissolução e a biodisponibilidade de um fármaco pouco solúvel em água. Existem vários relatos na literatura que ilustram a utilização desta técnica com o objetivo de aumentar a taxa de dissolução e a biodisponibilidade de fármacos pouco solúveis (XIA *et al.*, 2010).

1.3 Técnicas espectroscópicas

Os processos de redução do tamanho das partículas dos fármacos podem modificar as propriedades estruturais do material inicial levando à formação de polimorfos (ICH, 1999). Além disso, por causa da baixa densidade e das más propriedades de fluxo do pó obtido, em comparação aos pós moídos de forma convencional, pode causar o aumento da aglomeração das partículas do fármaco, o que diminui a área superficial para a dissolução (OMELCZUK *et al.*, 1997). Neste caso, agentes umectantes, como surfactantes, podem ser usados para melhorar a área superficial efetiva (KAWABATA *et al.*, 2011).

Um dos grandes desafios em todos os casos, é a robustez das técnicas analíticas utilizadas na caracterização dos sistemas formados e na integridade tanto do fármaco quanto do veículo.

Hoje, diversas técnicas espectroscópicas e térmicas têm sido utilizadas em conjunto para caracterizar os fármacos no estado sólido identificando possíveis mudanças estruturais provenientes dos processos de formulação. Dentre estas técnicas destacam-se a calorimetria diferencial de varredura (DSC) (CHADHA, 2006), a análise termogravimétrica (TGA) (GIRON, 1998), o infravermelho com transformada de Fourier (I.V.) (WARTEWIG, 2005), a espectroscopia de Raman (WARTEWIG, 2005), e a difração de raios-X (DRX) (CHADHA, 2006). Cada técnica fornece informações específicas a respeito do analito (Tabela 1).

Por exemplo, a DSC e a TGA caracterizam principalmente as propriedades físicas de um sólido específico como por exemplo, pontos de fusão e hidratação. A espectroscopia de Raman e IV identificam os grupos funcionais presentes na formulação. Enquanto, os métodos de DRX, tanto de cristal como de pó, fornecem dados a respeito da estrutura cristalina de um fármaco no estado sólido. Mas

nenhuma dessas técnicas podem ser utilizadas para caracterizar todos os componentes de um produto formulado e suas possíveis interações.

Tabela 1. Técnicas analíticas tradicionais para a caracterização de polimorfos.

Técnica	Vantagens	Desvantagens
DRX de pó (TIAN <i>et al.</i>, 2006)	Técnica padrão para identificação de fases, normalmente apresenta diferenças significativas da forma cristalina	Interferência da rede cristalina dos excipientes.
DRX de monocrystal (CHADHA, 2006)	Identificação da estrutura cristalina de um fármaco	Preparação dos cristais
DSC (CHADHA, 2006)	Informações de transição de fase, informação da interferência dos recipientes	Nenhuma informação sobre a natureza da transição, interferência da forma cristalina do recipiente.
TGA (GIRON, 1998)	Informação quantitativa da estequiometria dos solvatos e hidratos	Interferência da água contida nos excipientes
Infravermelho Médio (EERDENBRUGH, 2011; CHIENG, 2011)	Método de identificação complementar à Raman, sendo possível diferenciar polimorfos	Severa interferência da umidade do ambiente e dos excipientes
Infravermelho Próximo (LUYPAERT, 2007; CHIENG, 2011)	Método de identificação complementar, habilidade de penetrar nos recipientes de vidro e sensível aos diferentes estados da água	Baixa sensibilidade e seletividade (não pode ser utilizada para análise de traços)
Raman (WATERWIG, 2005)	Método de identificação complementar, mínima interferência da água	Interferência do excipiente
Microscopia de luz polarizada (CHIENG, 2011)	Avalia cristalinidade. Informação complementar para estudos de fase	Interferência do excipiente

Entretanto, a ressonância magnética nuclear (RMN), de sólidos e em solução, apresenta-se como uma excelente alternativa em todos os casos, tanto na análise dos sistemas formados, quanto no desenvolvimento de métodos preditivos.

É importante ressaltar que a RMN, tanto em solução como a de sólidos, é uma técnica não destrutiva, multinuclear, que pode investigar o ambiente químico de núcleos específicos dentro de uma molécula. Além de poder comparar a forma de um fármaco antes e depois do processo de formulação.

Por isso, a técnica de RMN em solução e no estado sólido combinadas com as outras técnicas de caracterização já mencionadas, formam um conjunto valioso para a avaliação criteriosa de fármacos.

2 REVISÃO DA LITERATURA

A RMN destaca-se notadamente, dentre as técnicas de caracterização de fármacos, em estudos em solução, para elucidação estrutural, determinação do grau de pureza, determinação da conformação e configuração de moléculas orgânicas, análise do metabolismo celular, e estudos de interações intermoleculares, nas quais se destacam os trabalhos desenvolvidos entre biomoléculas e/ou macromoléculas com fármacos (TISHMACK, 2003).

A ressonância magnética nuclear de sólidos (RMNs) é uma técnica que pode ser utilizada no estudo dos efeitos cristalográficos como polimorfismo, indicação do número de moléculas nas células unitárias, na desordem do sistema, nas ligações de hidrogênio intermoleculares e intramoleculares, no tautomerismo e na solvatação.

Hoje, cerca de 90% dos produtos farmacêuticos existentes estão na forma sólida, o que torna a RMNs uma ferramenta extremamente poderosa para a caracterização de formulações farmacêuticas.

É importante ressaltar que o espectro de RMNs é uma impressão digital do analito analisado. Além de permitir a investigação seletiva dos componentes individuais em uma formulação sólida sem qualquer tratamento químico ou físico da amostra, permite também identificar/quantificar não somente os componentes de uma formulação bem como possíveis falsificações (BERENDT *et. al.*, 2006) em um mesmo experimento.

Apesar do poder analítico da RMNs esta técnica apresenta algumas desvantagens, como o elevado custo dos espectrômetros e o longo tempo de análise que limita o número de amostras analisadas em um período de tempo (BERENDT *et. al.*, 2006).

Durante o desenvolvimento de compostos farmacêuticos é muito importante caracterizar estruturalmente o fármaco e identificar se ocorrem ou não interações intermoleculares com os excipientes nas formulações, os quais encontram-se frequentemente no estado sólido. Sabe-se que, no estado sólido, os compostos podem existir em mais de uma forma polimórfica. Estas formas muitas vezes apresentam diferenças significativas na solubilidade, na biodisponibilidade, na processabilidade e na estabilidade físico-química. Além disso, as condições

extremas utilizadas para as formulações podem alterar o fármaco, aumentando suas interações com os excipientes, ou até impactando significativamente na estabilidade das mesmas (TISHMACK, 2003).

2.1 RMN de alta resolução em solução

A metodologia para o estudo das interações intermoleculares por RMN envolve diversas técnicas bem conhecidas que abrangem experimentos de difusão translacional, difusão rotacional, deslocamento químico e constante de acoplamento. Os experimentos de difusão translacional envolvem gradientes de campo magnético através da amostra que podem ser usados para medir com precisão o coeficiente de difusão molecular (D) em solução com diversas concentrações e temperaturas. A idéia de difusão translacional baseia-se no princípio de que o movimento molecular depende do tempo de reorientação molecular, o qual é muito sensível a mudanças estruturais e a fenômenos relacionados à ligação e associação intermolecular. Os valores de D dependem do tamanho, do peso molecular e do raio hidrodinâmico das moléculas. Esta técnica foi desenvolvida especificamente para análise de misturas e interações intermoleculares. A determinação dos valores de D por RMN, usando gradientes de campo dependente do tempo (*pulse field gradient* – PFG), foi inicialmente proposto por Stjeskal e Tanner (1965).

Os coeficientes de difusão moleculares têm sido largamente utilizados (ALTIERI, 1995; HAJDUK, 1997) no estudo de interações moleculares entre ligantes e macromoléculas, pois, quando um ligante de baixo peso molecular se liga a uma molécula maior, seu movimento translacional reduz sensivelmente, diminuindo o valor do coeficiente de difusão, mesmo em uma troca rápida. Nestes casos, seu coeficiente de difusão aparente será uma média ponderada entre os estados livre e ligado (STJESKAL, 1965).

As modificações no coeficiente de difusão aparente em função da concentração podem ser usadas para estimar as constantes de ligação (ROBERTS, 2000).

A difusão rotacional é um fator determinante da relaxação nuclear, refletida nos tempos de relaxação spin-rede (T_1) e spin-spin (T_2) e assim, na largura de linha, e no efeito *Overhauser* nuclear (NOE) ^1H - ^1H (GIL, 1987).

Nos sistemas de spin em solução, a interação dipolar tende a ser o mecanismo de relaxação mais importante. A relaxação dipolo-dipolo (T_1) entre núcleos está relacionada à estrutura molecular, fornecendo informações sobre a dinâmica e a estrutura molecular dos sistemas químicos (FREEMAN *et al.*, 1974).

Os tempos de relaxação T_1 determinados pelos métodos de inversão-recuperação seletiva (IRSEL) e não-seletiva (IR) são usados para obter informações sobre a topologia da interação do fármaco, permitindo, assim, determinar as partes destes que estejam mais envolvidas na interação. A razão entre os valores de T_1 não-seletivos e seletivos é utilizada para determinar os tempos de correlação (τ_c) e, conseqüentemente, inferir sobre as constantes de associação entre o fármaco e o excipiente (BLOEMBERGEN, 1948). Esta informação é importante para determinar quais veículos (incrementadores) formam os complexos mais estáveis com o fármaco, dando assim uma idéia quantitativa da sua afinidade (FREEMAN *et al.*, 1974).

Outro parâmetro importante da RMN para estudar interações intermoleculares é o NOE (GIL, 1987). O NOE pode ser utilizado para obter informações sobre a conformação, sobre a configuração molecular e para determinar distâncias entre pares de hidrogênios próximos no espaço (GIL, 1987).

Quando ocorre a interação entre duas moléculas ocorre mudança na intensidade do sinal do RMN de um spin nuclear quando o equilíbrio termodinâmico de outro spin nuclear, interagindo com este fornecido, é perturbado. A ocorrência de NOE entre hidrogênios de moléculas diferentes é um indicador de interação intermolecular (CHEN, 2000 e EJCHART 2006).

A medida dos NOEs em condições de troca rápida, conhecida como transferência de NOEs, têm sido amplamente usada para determinar a conformação de moléculas ligadas (FEENEY *et al.*, 1983; BARSUKOV, 1996). Em alguns casos, a simples observação quantitativa dos NOEs transferidos pode fornecer uma informação conformacional útil, como por exemplo, distinguir entre conformações *syn* e *anti*- de ligações glicosídicas de nucleotídeos (BARSUKOV, 1996).

Além disso, podem ser utilizadas metodologias para a determinação de distâncias interatômicas em solução por RMN. As duas metodologias mais utilizadas

são: a determinação de tempos de relaxação duplamente seletiva e a seqüência NULL (inversão-recuperação seletiva), ambas permitindo medir, com maior precisão que o NOE, distâncias interatômicas e intermoleculares (CARVALHO *et al.*, 2003). As distâncias interatômicas e intramoleculares são importantes para monitorar mudanças conformacionais no fármaco durante o processo de interação com os incrementadores.

2.2 RMN de sólidos

A diferença mais evidente entre os espectros obtidos na RMNs e na RMN em solução, é que na forma sólida os espectros apresentam sinais bastante alargados. Esta diferença é função das fortes interações de acoplamento dipolar e do deslocamento químico anisotrópico (DQA) no estado sólido que no estado líquido é minimizado ou eliminado pelo movimento randômico das amostras. Tanto o acoplamento dipolar como o DQA são fenômenos dependentes da geometria. O primeiro dá orientação relativa entre dois núcleos dipolares em estudo, e o DQA em função da orientação do núcleo em relação ao campo magnético estático (TISHMACK, 2003).

O desenvolvimento das técnicas da rotação no ângulo mágico (MAS) (STEJSKAL, 1977), do desacoplamento de alta potência (AGUIAR *et al.*, 1998) e polarização cruzada (CP) (PINES, 1973) permitiu a obtenção de espectros de RMN de alta resolução na forma sólida (Tabela 2).

A implementação de diversas seqüências de pulso, como a TOSS (*Total Suppression of Sidebands*) que suprime os sinais de bandas laterais (DIXON, 1982), a técnica de defasamento dipolar (DD) para assinalamento dos carbonos quaternários (OPELLA, 1979), e os experimentos bidimensionais como PASS (ANTIZUTKIN, 1998), permitiu que a RMNs pudesse ser aplicada em uma variedade maior de problemas.

Por ser uma técnica muito flexível, com muitos experimentos, capaz de observar diferentes núcleos e de distinguir entre núcleos da mesma espécie, que experimentam ambientes químicos diferentes, a RMNs possibilita a obtenção de informações estruturais e dinâmicas de um sistema.

Além disso, ao contrário de outras técnicas, a RMNs pode ser aplicada a todas as formas físicas do estado sólido (cristalinas e amorfas), bem como em

materiais de complexidade muito diferentes, como os IFAs puros ou em dispersão sólida, incluindo as formulações comerciais.

Por todas estas razões é possível afirmar que a RMNs oferece um leque de informações relevantes para a investigação científica de base ou requisitos específicos industriais, sem paralelo por qualquer outra técnica.

Tabela 2. Sequências de pulsos mais comuns da RMNs.

Sequência de pulso	Descrição	Referência
Polarização cruzada / rotação no ângulo mágico (CP/MAS)	Usada para obter espectros de alta resolução de núcleos spin $\frac{1}{2}$.	STEJSKAL, 1977
Pulso simples / rotação no ângulo mágico (SP/MAS)	Usada para obter espectros de alta resolução em sistemas abundantes de spins	HARRIS <i>et al.</i> , 1988; TISHMACK, 2003
Defasamento dipolar, Polarização cruzada / rotação no ângulo mágico	Usada para detectar ressonâncias não protonadas	OPELLA, 1979; PINES, 1973
Polarização cruzada combinada com Inversão de polarização (CPPI)	Usada para distinguir diferentes tipos de sinais de carbonos	WU, 1993
Supressão total dos satélites (TOSS)	Utilizado para suprir os sinais satélites simplificando o espectro	DIXON, 1982
Medida de T_1	Usado para determinar a velocidade de relaxação spin rede	SUDMEIER, 1990
Medida de $T_{1\rho}$	Usado para determinar o tempo de relaxação spin rede no sistema de coordenadas rotatório	RIDDELL <i>et al.</i> , 1993
PASS, FIREMAT	Usado para correlacionar deslocamento químico anisotrópico e isotrópico, fornecendo informações conformacionais	ANTZUKIN, 1995; ANTZUKIN; ALDERMAN <i>et al.</i> , 1998

2.3 Aplicações da RMNs em insumos farmacêuticos sólidos

2.3.1 Identificação dos polimorfos de um IFA

O polimorfismo é definido como a capacidade de uma substância existir em duas ou mais formas cristalinas que diferem no arranjo e/ou conformações das moléculas na rede cristalina. Dentro dessa definição estão inclusos os polimorfos, propriamente ditos, os solvatos e os sólidos amorfos (ICH, 1999). Ainda pela definição do ICH, solvatos são formas de cristal contendo em quantidades estequiométricas ou não-estequiométricas um solvente. Se o solvente é a água incorporada na rede cristalina, os solvatos são denominados hidratos. Já os sólidos amorfos consistem em uma estrutura na qual as moléculas estão dispostas desordenadamente e não possuem uma rede cristalina distinguível (PARK *et al.*, 2005, 2010; CAPUCHO, 2008).

Os polimorfos de um mesmo composto, possuem propriedades químicas e físicas diferentes, incluindo as propriedades termodinâmicas, espectroscópicas, cinéticas, interfacial e mecânica (RAW *et al.*, 2004). Estas propriedades podem ter impacto direto sobre a processabilidade do fármaco, fabricação do medicamento e afetar a qualidade/desempenho no que se refere à dissolução, estabilidade, e biodisponibilidade (TISHMACK, 2003).

O uso de RMNs na investigação de polimorfismo é facilmente entendido baseado no seguinte modelo: se um composto apresenta dois polimorfos, α e β , suas formas cristalinas são conformacionalmente diferentes. Isto significa que um determinado carbono presente na forma α pode possuir uma geometria molecular ligeiramente diferente quando comparada ao mesmo carbono β , o que pode originar ambientes químicos locais distintos, apesar de possuírem os mesmos átomos ligados entre si. A diferença no ambiente químico local pode acarretar diferentes interações eletrônicas que produzem deslocamento químico diferentes para o mesmo átomo de carbono, nas duas diferentes formas polimórficas (AGUIAR *et al.*, 1998).

Virtanen e Maunu (2010) usaram a RMNs para identificar as formas polimórficas do fármaco levosimendana (2-[[4-[(4R)-4-metil-6-oxo-4,5-dihidro-1H-

piridazin-3-[fenil]hidrazinilideno]propanodinitrila), um agente inodilatador, usado no tratamento de pessoas com insuficiência cardíaca descompensada (BOCCHI *et al.*, 2008). Este é um exemplo claro de ambientes químicos distintos que os polimorfos apresentam. Os dois polimorfos do IFA em estudo (**2**), identificados como X1 e X2, foram analisados por ^{13}C CP/MAS. O espectro de RMNs ^{13}C CP/MAS mostrou diferenças significativas nos deslocamentos químicos entre 15-40 ppm (Figura 2), referentes aos carbonos 2, 3 e 5 como assinalados na estrutura (**2**).

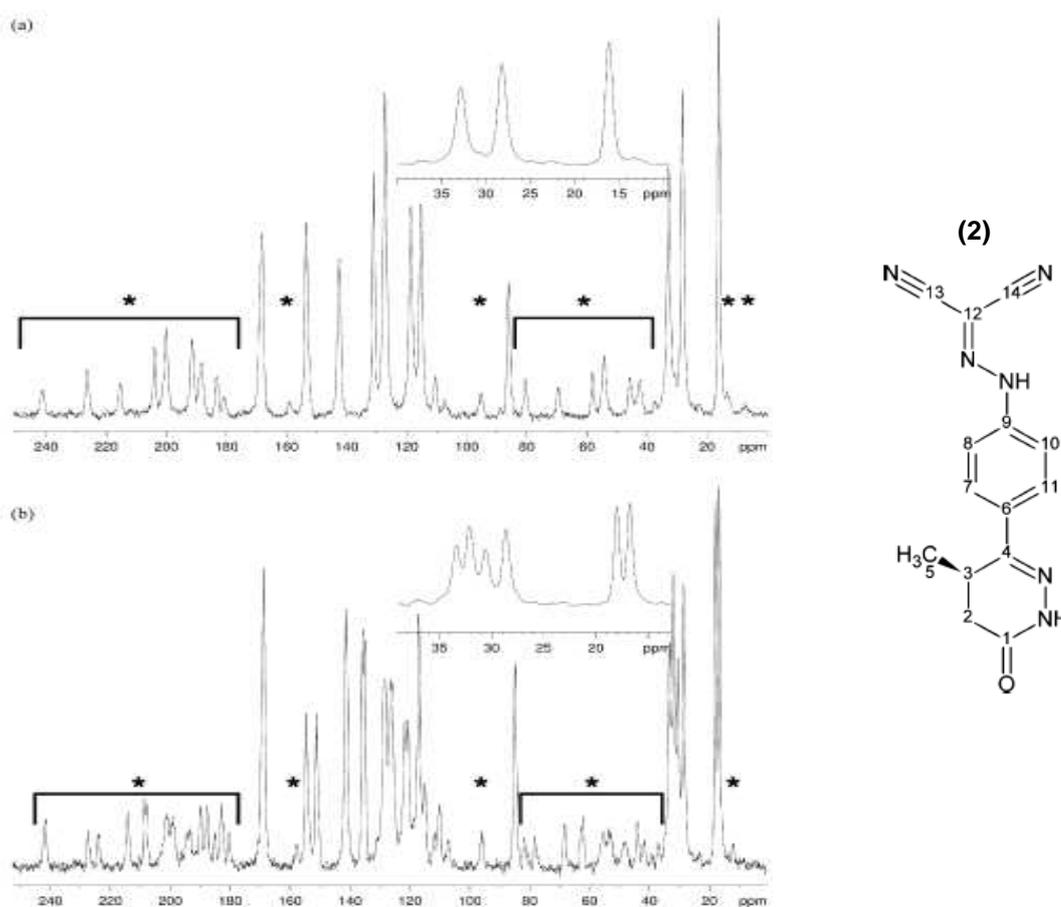


Figura 2. RMN ^{13}C CP/MAS no estado sólido dos polimorfos X1 (a) e X2 (b). Nas regiões expandidas podem ser observados dois arranjos cristalográficos diferentes (VIRTANEN, 2010). (*) Bandas laterais.

Gonella e colaboradores (2010), usaram a RMNs para estudar e caracterizar um novo composto (**3**), inibidor da transcriptase reversa, o 5,11-dihidro-11-etil-5-metil-8-{2-((1-oxido-4-quinolinil)oxi)etil}-6H-dipirido[3,2-b:2',3'-e][1,4]diazepin-6-ona. A enzima da transcriptase reversa é um componente essencial para o ciclo de vida do vírus do tipo 1, da SIDA. Neste estudo, foram utilizadas as estruturas dihidrida e dois polimorfos anidros (Forma I e III). Os polimorfos anidros da forma I e III foram

facilmente distinguidos da forma dihidratada tomando-se como base os deslocamentos químicos dos carbonos aromáticos, entre 120-160 ppm, dos espectros de RMN ^{13}C CP/MAS (Figura 3).

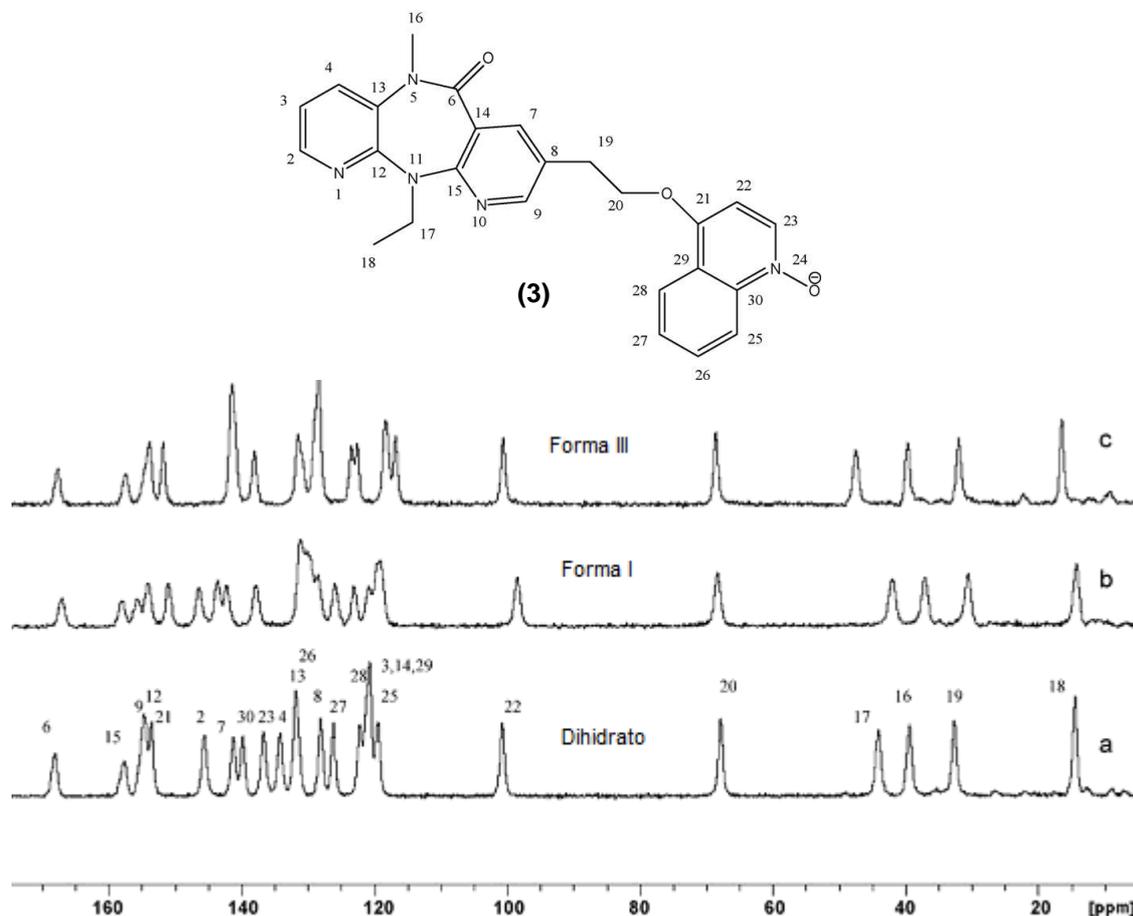


Figura 3. Espectro de RMN ^{13}C CP/MAS do composto **3** para as três formas: (a) Forma dihidratada, (b) Polimorfo anidro, forma I e (c) Polimorfo anidro, forma III (GONELLA *et al.*, 2010).

Aguiar e colaboradores (2011) avaliaram por RMNs a presença de polimorfos da cefalexina (**4**), um antibiótico utilizado nas infecções provocadas por microorganismos gram positivos (+) e gram negativos (-) susceptíveis a quatro medicamentos comerciais. Dentre as técnicas utilizadas neste estudo, como a DRX e o I.V., somente a RMNs foi capaz de evidenciar diferenças entre as amostras e comprovar a existência do monohidrato de cefalexina como o polimorfo presente em maior quantidade nas quatro marcas de medicamentos estudados.

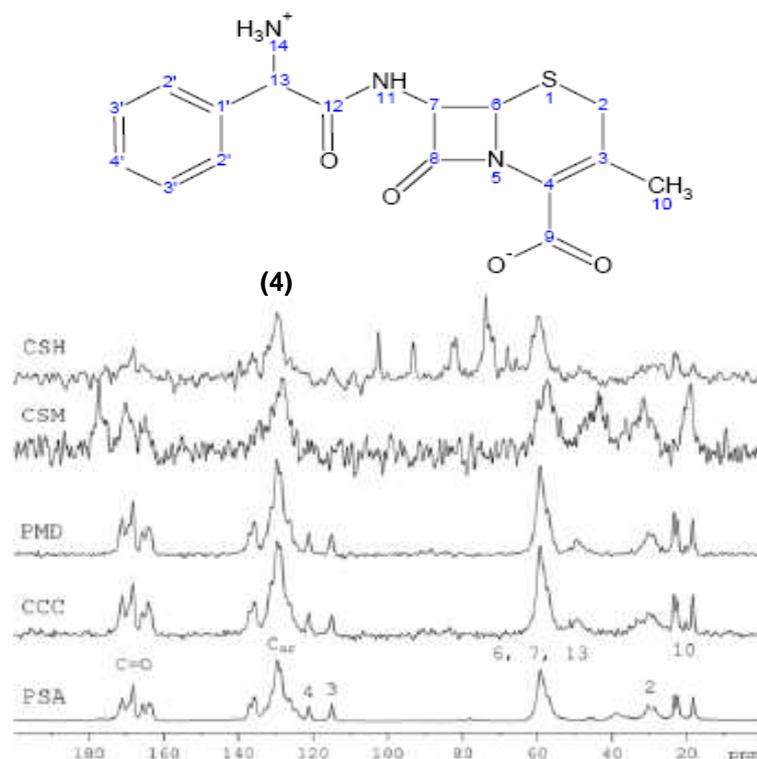


Figura 4. Espectro de RMNs ^{13}C das amostras de cefalexina: monohidrato de cefalexina (PSA), cápsula (CCC), pó cru(PMD), suspensão (CSM) e pó para suspensão oral (CSH) (AGUIAR *et al.*, 2010).

2.3.2 Estabilidade das formas polimórficas do IFA

A amorfização de fármacos pouco solúveis em água é uma técnica utilizada para melhorar as taxas de dissolução do mesmo e/ou sua biodisponibilidade. Mas, de maneira geral, fármacos em sua forma amorfa, recristalizam facilmente. Por isso, dispersões sólidas são normalmente utilizadas para melhorar a estabilidade (MIURA *et al.*, 2011) de fármacos amorfos. Sabe-se que a matriz polimérica e o processo utilizado para preparar dispersões sólidas, influenciam na estabilidade das mesmas, e alteraram algumas de suas propriedades físicas.

Ito e colaboradores (2010), desenvolveram um método por RMNs para avaliar a estabilidade de dispersões sólidas preparadas por dois métodos distintos (comoagem e solvente). Os sistemas estudados foram obtidos pela dispersão da troglitazona (5), um fármaco antidiabético e anti-inflamatório, em polivinilpirrolidona (PVP), um polímero muito utilizado na literatura como matriz polimérica para dispersões sólidas (DALHBERG *et al.* 2010).

O comportamento de recristalização das dispersões sólidas sob estocagem a 40°C e 94% de umidade relativa (U.R.) foi avaliado pela equação de Kolmogorov-Johnson-Mehl-Avrami (KJMA), utilizada para estudos cinéticos e ideal para a investigação desse tipo de comportamento. Os espectros de RMNs ^{13}C CP/MAS mostraram boa correlação com os parâmetros cinéticos avaliados pela equação KJMA. A técnica de RMNs ^{13}C CP/MAS foi utilizada para a caracterização e identificação dos picos característicos do fármaco e da PVP (6) separadamente e, depois, da mistura uma vez que estas dispersões foram estudadas por DRX de pó e os espectros não identificaram diferenças nos deslocamentos químicos entre as dispersões preparadas por comoagem e por solvente.

A figura 5 mostra os espectros da troglitazona e da PVP puras e da mistura física troglitazona:PVP. De acordo com os autores os sinais em torno de 70-150 ppm no espectro da mistura física foram atribuídos à troglitazona e foram considerados específicos para a identificação da mesma no espectro.

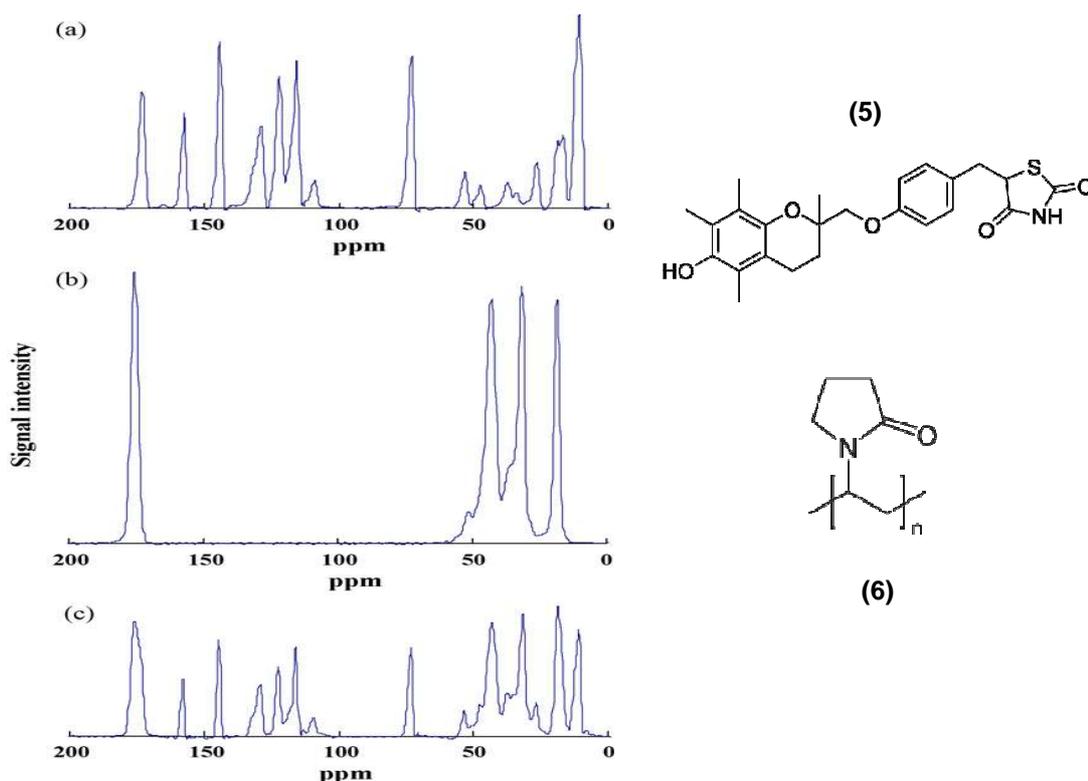


Figura 5. Espectro de RMN ^{13}C CP/MAS no estado sólido: (a) Troglitazona, (b) PVP, (c) Mistura Física PVP e troglitazona (ITO *et al.*, 2011) .

A figura 6 demonstra que os espectros de RMNs ^{13}C CP/MAS foram capazes de determinar diferenças na região compreendida entre 70-160 ppm (troglitazona), em cada dispersão sólida antes da estocagem, onde os sinais dos carbonos da troglitazona, apresentaram alargamento e diminuição da intensidade dos sinais em função do tempo de mistura no processo de comoagem. Entretanto, a dispersão preparada pelo processo do solvente mostrou os sinais com o maior alargamento e a menor intensidade.

Como nenhuma degradação química foi confirmada neste estudo, as diferenças nesses espectros foram consideradas como sendo apenas diferenças de conformações moleculares não identificadas pela DRX.

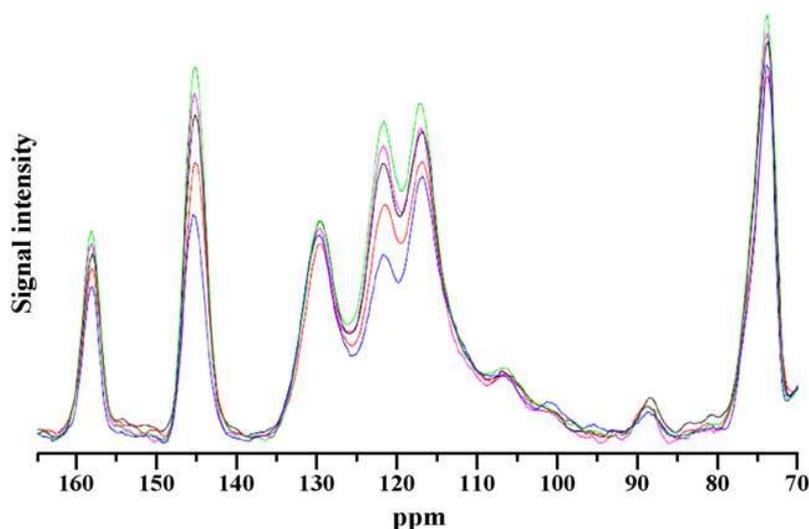


Figura 6. Espectro de RMNs ^{13}C CP/MAS do sistema troglitazona/PVP na região de 70-160 ppm: (verde) co-moagem 60 minutos; (rosa) co-moagem 120 minutos; (preta) co-moagem 180 minutos; (azul) co-moagem 240 minutos e (azul) dispersão sólida (solvente) (ITO *et al.*, 2011).

Outra técnica utilizada para garantir a estabilidade do fármaco amorfo é a formação de complexos de inclusão. As ciclodextrinas, oligossacarídeos complexos compostos de unidades de glicose (BRITTO, 2004), têm sido extensamente utilizadas na formação de complexos de inclusão para superar problemas de degradação de fármacos.

Zoppi *et.al.* (2011) estudaram a complexação do maleato de enalapril (**7**), um pró-fármaco utilizado no tratamento da hipertensão e insuficiência cardíaca, com a

β -ciclodextrina (β -CD), com o objetivo de comprovar que complexado, o maleato de enalapril é mais estável e não sofre degradação pelos excipientes, dentre eles, o estearato de magnésio.

A interação entre o fármaco e a β -CD (**8**) foi caracterizada por RMNs ^{13}C CP/MAS com o objetivo de comprovar que o maleato de enalapril é mais estável complexado do que livre. A preparação do complexo e da mistura física já havia sido descrita por Zoppi e colaboradores em 2008.

Na figura 7c é possível observar que no espectro da mistura física maleato de enalapril: β -CD, as regiões características do fármaco e da β -CD estão bem definidas, enquanto no espectro do complexo de inclusão (Figura 7d), observou-se que houve a formação de uma nova forma sólida amorfa, pois os sinais de C-1 a C-6, principalmente, se converteram em simpletos alargados. Para estudar os efeitos do processo de liofilização em cada espectro das substâncias puras, os autores liofilizaram separadamente o maleato de enalapril e a β -CD puros sob as mesmas condições usadas para liofilizar o complexo, antes de misturá-los. Os espectros (c) e (e) (Figura 7) são similares, o que demonstra que o processo de liofilização não provoca nenhum tipo de mudança no ambiente molecular do fármaco nem da macromolécula (β -CD).

O estudo confirmou, ainda, que a formação do complexo previne a forte interação entre o fármaco e o estearato de magnésio e que inibe a formação do produto de degradação enalapril dicetopiperazina, em consequência da alta estabilidade que o complexo formado oferece ao produto formulado.

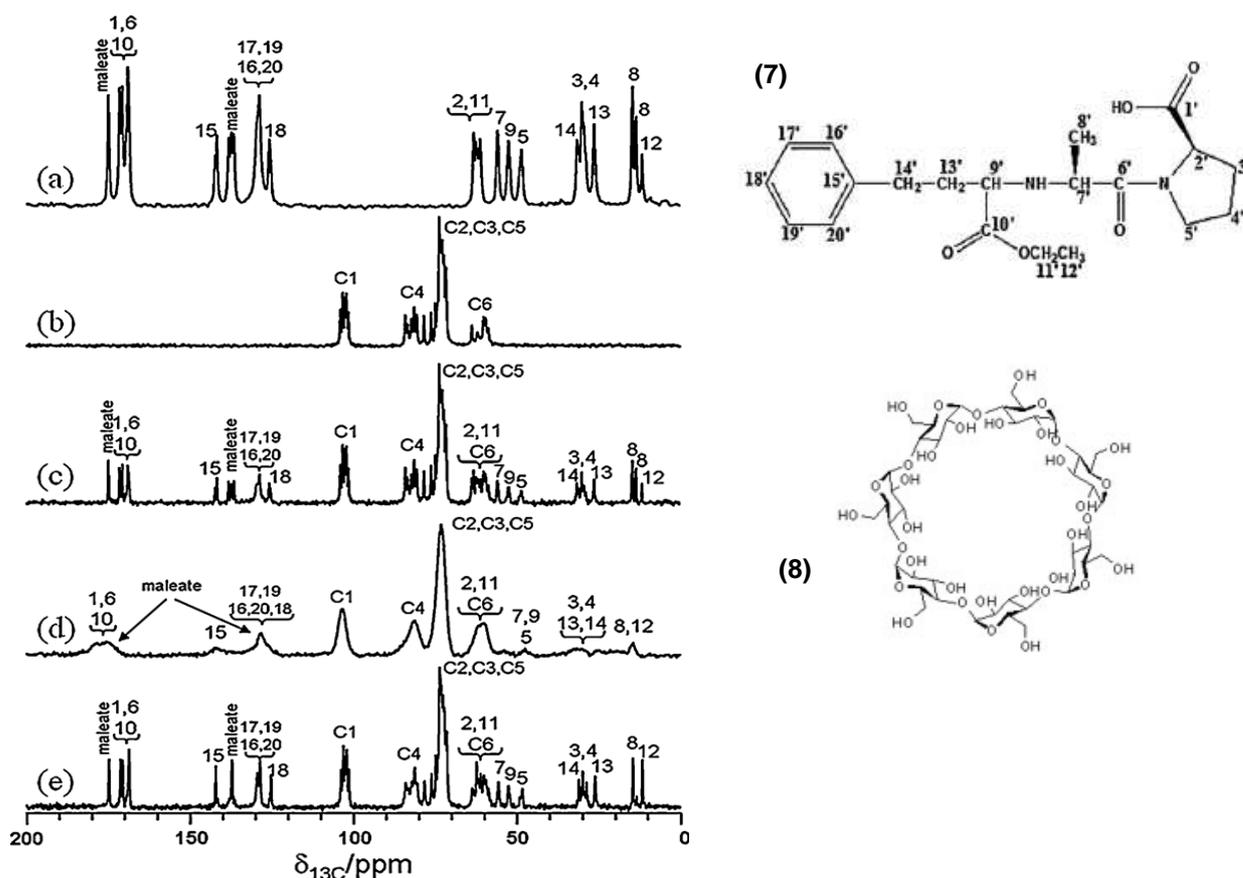


Figura 7. Espectro de RMNs ^{13}C CP/MAS: (a) maleato de enalapril puro, (b) β -CD pura, (c) mistura física de maleato de enalapril: β -CD, (d) complexo de inclusão maleato de enalapril: β -CD e (e) mistura física de maleato de enalapril: β -CD depois da liofilização dos componentes puros (ZOPPI *et al.*, 2011).

2.3.3 Comportamento dinâmico do IFA e/ou excipiente (movimentos conformacionais)

A mobilidade de um IFA pode ser estudada através do fenômeno de relaxação spin-rede ou longitudinal (T_1) (BLOEMBERGEN, 1948), uma vez que este tipo de medida fornece informações relevantes sobre as propriedades dinâmicas da amostra (GEPPI *et al.*, 2008; CARIGNANI, 2011).

Park *et al.* (2010) estudaram dois polimorfos do fluconazol (9) um antimicótico da classe dos antifúngicos triazólicos, utilizando medidas de tempo de relaxação dos hidrogênios (^1H T_1) para avaliar a relação entre a mobilidade desses polimorfos e sua solubilidade.

Os autores avaliaram as formas anidras I e II do fármaco, preparadas pelo processo do anti-solvente supercrítico – SAS (PARK *et al.*, 2007). A técnica de

RMNs ^{13}C CP/MAS foi utilizada para determinar mudanças na conformação molecular dos polimorfos. Medidas de ^1H T_1 foram realizadas para estudar a mobilidade das formas polimórficas I e II.

A análise dos ^1H T_1 revelaram diferenças entre as formas anidras I e II, uma vez que o menor valor de T_1 foi atribuído à forma II ($T_1 = 2,97\text{s}$), por conta do aumento da mobilidade relativa da mesma, possivelmente resultante de uma ruptura parcial ou regional da rede cristalina (Figura 8). Este resultado está em concordância com o fato de a forma polimórfica metaestável (II) ter maior mobilidade que a forma polimórfica estável (I), e por isso, relaxa muito mais rápido que a forma I ($T_1 = 12,89\text{s}$).

Segundo estudos na literatura a diferença nos tempos de relaxação entre os polimorfos pode ser utilizada para comparar a solubilidade entre as diferentes estruturas. Os testes de solubilidade e dissolução intrínseca mostraram que a forma anidra II possui maior solubilidade. Os estudos de dissolução intrínseca também revelaram que a forma II converteu-se na forma mais estável, o fluconazol monohidratado. Este resultado foi confirmado por DSC e DRX de pó. Por isso, o controle de qualidade durante o processamento de fármacos amorfos é muito importante uma vez que estes podem recristalizar durante o processamento o que pode causar alterações em sua solubilidade e no perfil de dissolução.

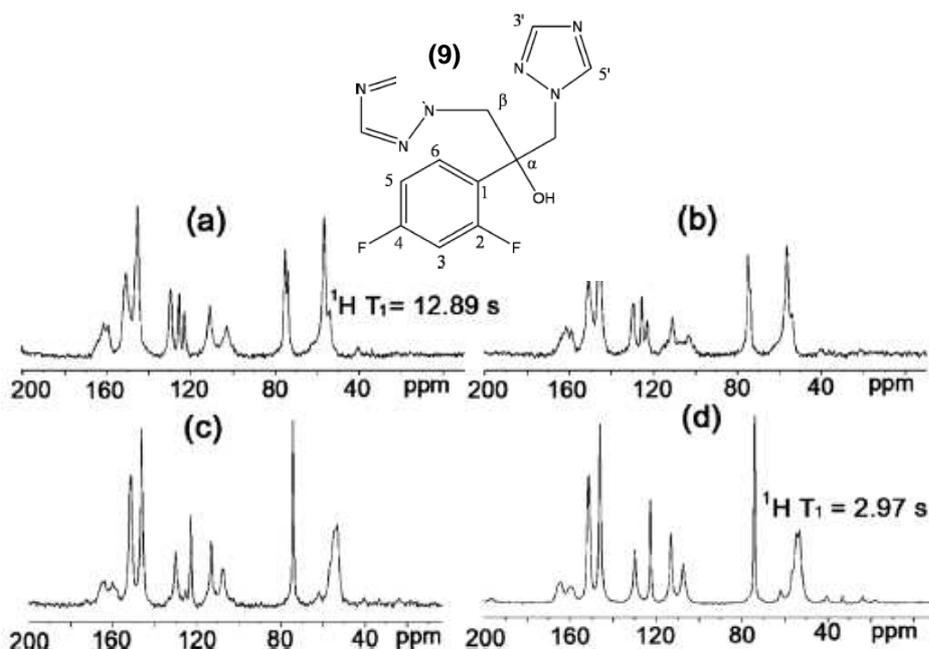


Figura 8. Espectros de RMNs ^{13}C CP/MAS: (a) forma anidra I; (b) mistura de polimorfos, com maior quantidade da forma I; (c) mistura de polimorfos, com maior quantidade da forma II e (d) forma anidra II (PARK *et al.*, 2010).

2.3.4 Interações físicas ou químicas entre IFAs e excipientes em dispersões sólidas

As dispersões sólidas de fármacos pouco solúveis em matrizes poliméricas têm sido amplamente utilizadas para melhorar a solubilidade dos fármacos e/ou a taxa de dissolução do mesmo. Muitas vezes, a limitação na biodisponibilidade está na baixa solubilidade do fármaco ou na baixa taxa de dissolução. Por isso, melhorias nas formulações desses fármacos podem aumentar sua biodisponibilidade oral. Uma das melhorias que podem ser feitas para aumentar a solubilidade destes tipos de fármacos são as dispersões sólidas, onde um fármaco com baixa solubilidade é misturado com uma matriz polimérica. A miscibilidade do fármaco com a matriz polimérica aumenta a mobilidade do IFA, o que conseqüentemente melhora a sua solubilidade (OH, 2009). Com o objetivo de verificar a miscibilidade do fármaco na matriz polimérica, Schachter *et. al.* (2004) estudaram por RMNs o sistema cetoprofeno-óxido de polietileno (OPE), produzido por dois processos distintos: um de mistura física e outro de fusão. Para isso, utilizou o OPE (polímero cristalino, não-iônico e hidrofílico) como matriz polimérica. O cetoprofeno (**10**) é um fármaco da classe dos anti-inflamatórios não-esteróides que possui baixa solubilidade e alta permeabilidade (classe II) de acordo com o BCS. Na figura 9, pode-se observar que no espectro da mistura processada por fusão (cetoprofeno-OPE) houve o desaparecimento dos carbonos característicos do cetoprofeno cristalino puro, indicando que houve completa dispersão molecular entre o fármaco e o polímero. Este resultado demonstra que há maior mobilidade das moléculas do cetoprofeno na mistura OPE processada por fusão. Entretanto, no espectro da mistura física sem a fusão pode-se observar a presença de sinais característicos do cetoprofeno cristalino e amorfo dispersados no polímero (OPE), o que significa que há a interação entre o fármaco e o polímero, mas a dispersão não é completa.

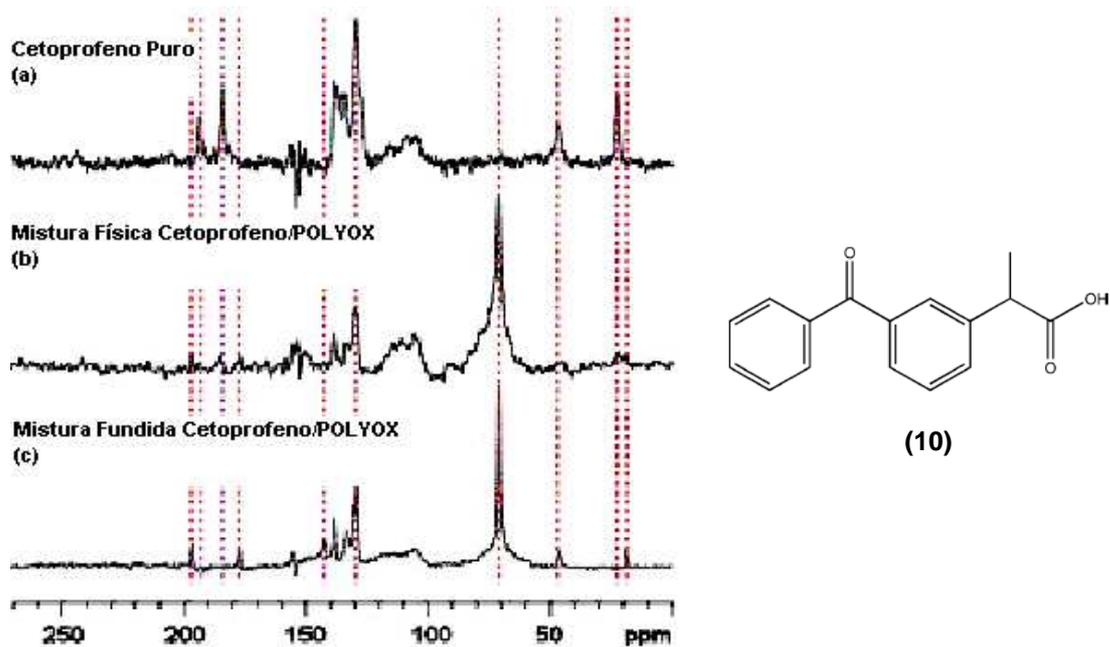


Figura 9. Espectro de RMNs ^{13}C SP/MAS do cetoprofeno puro (a), mistura física (b) e mistura processada por fusão (c), adquiridos a 43°C (SCHACHTER *et al.*, 2004).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Empregar a RMN em solução e a RMN de sólidos como ferramentas de caracterização do EFA puro e em sistemas incrementadores de dissolução e avaliar a pertinência da RMN frente às técnicas tradicionalmente empregadas, de forma a identificar os casos em que a RMN é mais ou menos indicada.

3.2 Objetivos específicos

- Caracterizar o EFA puro frente às suas propriedades físico-químicas.
- Caracterizar os sistemas sólidos, formados entre o EFA e a PVP, fornecidos por Farmanguinhos/UFRJ dentre às suas propriedades físico-químicas.
- Avaliar a pertinência da implementação da técnica de RMN de sólidos como método padrão de análise dos insumos/produtos acima, frente às outras técnicas tradicionais já habitualmente empregadas em Farmanguinhos.
- Avaliar a possibilidade de uso da RMN de sólidos e RMN em solução como técnicas de previsão e seleção dos insumos para a formulação dos sistemas mencionados.

4. METODOLOGIA

Foram utilizadas cinco diferentes amostras do EFA: uma processada (comicronizada), uma não processada e três amostras com os registros 47716, 48245 e 48243. A PVP utilizada para as misturas foi a K-30 fornecida por Jlaozuo Meida Fine Chemicals, lote 20070803.

O equipamento utilizado para as pesagens das amostras foi a Balança Analítica, modelo ME235S, da Sartorius.

As análises de I.V. foram realizadas em equipamento modelo Prestige FTIR 800 da marca Shimadzu em pastilhas de KBr. As posições das bandas nos espectros foram apresentadas em número de ondas (ν) cuja unidade é o centímetro inverso (cm^{-1}) e as intensidades das bandas estão expressas como transmitância (T). Foram pesados aproximadamente 3 mg de amostra, que foi misturada com brometo de potássio (KBr) previamente seco a 105°C por 3 horas, em uma proporção de 10%. A mistura foi utilizada para leitura no equipamento.

Os espectros de RMN de ^1H , ^{19}F e ^{13}C em solução foram obtidos em um espectrômetro Bruker Avance 500 (500 MHz para ^1H e 125 MHz para o ^{13}C) usando uma sonda *broadband* (BB) de 5 mm à $25,0 \pm 0,1^\circ\text{C}$, utilizando acetonitrila- d_3 (Cambridge Isotope Laboratories, Inc) como solvente. Os valores dos deslocamentos químicos (δ) foram referidos em ppm, as constantes de acoplamento (J) foram expressas em Hertz (Hz) e as multiplicidades descritas como: simpleto (s), duplete (d), tripleto (t), quarteto (q), duplo duplete (dd), duplo duplo duplete (ddd), duplo tripleto (dt), duplo quarteto (dq) e multiplete (m). O espectro DEPT foi obtido com $\theta_z = 135^\circ$, onde CH e CH_3 aparecem em fase positiva e CH_2 em fase negativa. A técnica usada para determinar o tempo de relaxação (T_1) do hidrogênio foi a sequência de inversão-recuperação ($180^\circ - \tau - 90^\circ$). As medidas foram obtidas usando τ que variam entre 0,03 e 12 segundos. Os experimentos bidimensionais COSY, HSQC e HMBC foram obtidos usando as sequências padrões, do programa TopSpin, fornecidas pela Bruker.

Os espectros de RMN de ^{13}C (100 MHz) das amostras na forma sólida foram obtidos em um equipamento Bruker Avance III 400 (9,4 Tesla), e sonda tripla ressonância de 3,2 mm.

As amostras foram empacotadas em rotores de ZrO_2 de 3,2 mm de diâmetro externo munidos com tampas de Kel-F. Os espectros foram adquiridos por polarização cruzada $^1H \rightarrow ^{13}C$ (CP/MAS), com rotação no ângulo mágico de 9300 Hz. Condições de aquisição: tempo de contato de 10 ms, intervalo entre os pulso de 4s. Adamantano foi usado como referência para os deslocamentos químicos.

As medidas térmicas foram realizadas em um Calorímetro Diferencial de Varredura (DSC) modelo 822e, Mettler Toledo e em um Analisador Termogravimétrico (TGA) TGA/SDTA, modelo 851e, da Mettler Toledo. As amostras, para análise no DSC, foram pesadas e encapsuladas em cadinhos de alumínio com tampa de alumínio furada. As curvas foram obtidas a uma taxa de aquecimento de $10^\circ C/min$, em uma faixa de temperatura de $25^\circ C$ a $210^\circ C$. Para análise no TGA, cerca de 10 mg das amostras foram pesadas e encapsuladas em cadinhos de alumínio com tampa de alumínio furada. As curvas foram obtidas a uma taxa de aquecimento de $10^\circ C/min$, em uma faixa de temperatura de $25^\circ C$ a $300^\circ C$.

Os pontos de fusão foram medidos em um aparelho BÜCHI Melting Point B-545, com taxa de aquecimento de $5,0^\circ C/min$.

A preparação das amostras utilizadas neste trabalho foi realizada em conjunto por Farmanguinhos (LaSiFa) e UFRJ (LabTIF). Inicialmente o fármaco (efavirenz) e o carreador (PVP K-30) foram misturados manualmente nas devidas proporções (mistura física) para posteriormente passar pelo processo de micronização. Para efeitos de comparação, o fármaco e o carreador não processados, também foram micronizados individualmente (COSTA, 2011).

As proporções comicronizadas avaliadas neste trabalho foram: EFA:PVP(1:1), (1:0,50) e (1:0,25), e a proporção sem comicronização (somente mistura física) foi: EFA:PVP (1:0,5).

As pressões de processo e de arraste ajustadas no equipamento para a micronização das amostras, eram em torno de $4,0\text{ Kg}/\text{cm}^2$ e de $6,0\text{ Kg}/\text{cm}^2$ respectivamente (COSTA, 2011).

Os cálculos de modelagem molecular foram realizados no programa de química computacional Gaussian 09 (GAUSSIAN, INC.). Primeiramente, para a análise conformacional do efavirenz, a estrutura foi minimizada segundo o método do funcional de densidade – *density functional theory* – DFT (KOCH, 2001) no nível da teoria B3LYP/6-31++G(d,p). Após a otimização, o deslocamento químico foi calculado, no vácuo, utilizando o método GIAO (DITCHFIELD, 1974) no nível da

teoria MPW1PW91/6-31++G(d,p). O deslocamento químico relativo foi estimado usando o TMS.

Para a montagem do dímero, foi utilizada a estrutura com o menor mínimo global e as conformações ajustadas segundo os dados da cristalografia (CUFFINI, 2009). A estrutura do dímero foi otimizada utilizando o mesmo método e nível da teoria usado para a otimização do monômero. Os cálculos dos deslocamentos químicos foram realizados no novo mínimo global do dímero minimizado usando novamente o método GIAO.

A recristalização direta do efavirenz foi realizada dissolvendo-se 40g de efavirenz em 100mL de heptano até ebulição (98 °C), por 5 minutos. A solução foi resfriada e o material começou a precipitar em torno de 64 °C. A amostra foi filtrada à vácuo e colocada em dessecador.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A primeira etapa deste trabalho consistiu na caracterização do EFA utilizando análise térmica (Ponto de fusão, DSC e TGA) e análises espectroscópicas (I.V., RMN em solução e RMN de sólidos). A segunda parte consistiu na caracterização do tipo de interação entre o EFA e a PVP.

5.1 Caracterização do EFA

5.1.1 Análise Térmica do EFA

Segundo a patente US6673372, existem cinco formas polimórficas (formas I, II, III, IV e V) do EFA. A patente reporta que a forma I é a termodinamicamente mais estável, com ponto de fusão (P.F.) entre 138-140°C e apresenta o maior P.F. dentre todas as formas (Tabela 3). Devido à alta estabilidade da forma I, esta é mais utilizada para a formulação.

Os P.F. das amostras do EFA foram comparados com os P.F. da patente US6673372 como mostra a tabela 3. Os resultados experimentais indicam que as amostras utilizadas neste estudo são da forma I.

Tabela 3. Comparação dos P.F. experimentais com os P.F. da patente US6673372.

EFA			
Formas polimórficas (US6673372)	P.F.(°C)	Amostras Analisadas	P.F.(°C)
I	138 – 140	R48245	141,9 – 142,5
II	116 – 119	R48243	139,8 – 141,7
III	108 – 110	R47716	137,9 – 139,6
IV	95 – 100	EFA Micronizado	139,8 – 140,9
V	108 – 110	EFA não processado	139,9 – 141,4

A análise de DSC das amostras de EFA micronizado, EFA não processado, R48245, R48243 e R47716 apresentam um pico endotérmico bem definido e simétrico a 136,7 °C referente ao fenômeno de fusão (Figura 10) e que denota uma transição a temperatura constante, indicando que o processo ocorre no quase-equilíbrio termodinâmico. Estes resultados confirmam que as amostras correspondem à forma reportada na literatura como forma I (Patente US6673372). Pode-se observar também que o EFA micronizado e o EFA não processado possuem curvas muito semelhantes. A linha base foi mantida, sugerindo também que a capacidade térmica do material não se modifica dentro do ciclo de aquecimento mesmo na amostra micronizada. Este comportamento indica que não houve mudança no comportamento cristalino do EFA após a micronização.

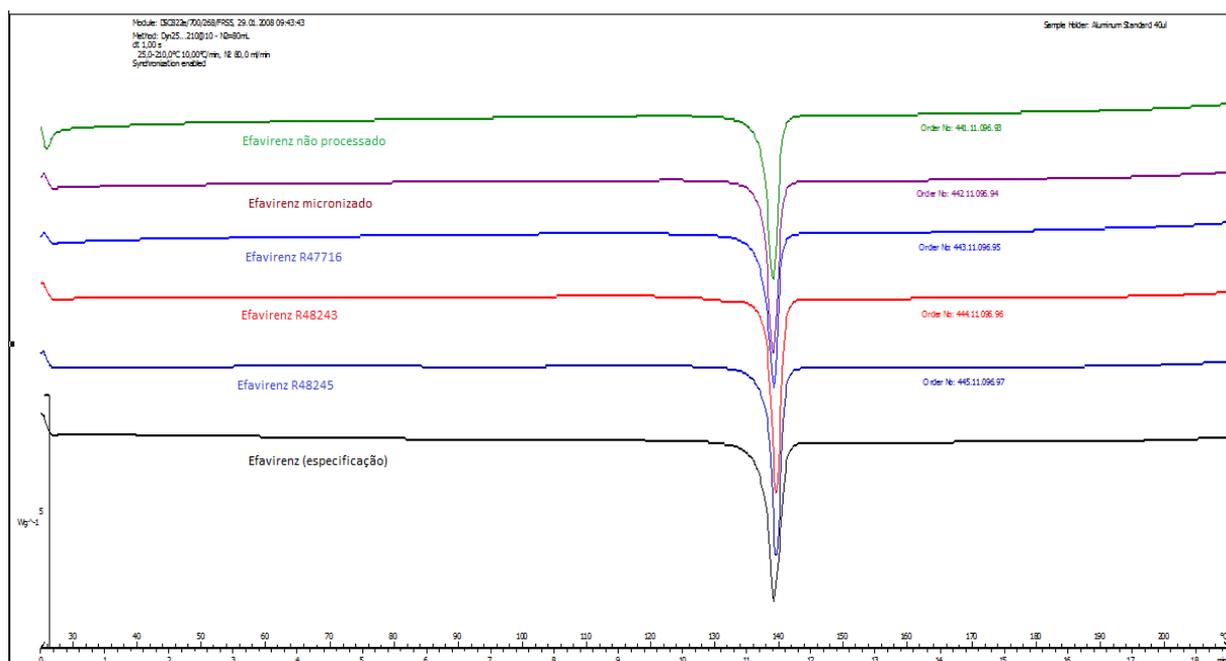


Figura 10. Sobreposição das curvas de DSC das amostras de EFA puro e do EFA especificado por Farmanguinhos (preto).

A análise de TGA (Figura 11) revelou perfis termogravimétricos similares em todas as cinco amostras analisadas. A análise termogravimétrica foi realizada entre 25 e 180 °C em todas as amostras foi observado um evento que apresentou perda de massa menor que 0,1% (supostamente a perda água) e um evento relativo a decomposição que se inicia 220 °C.

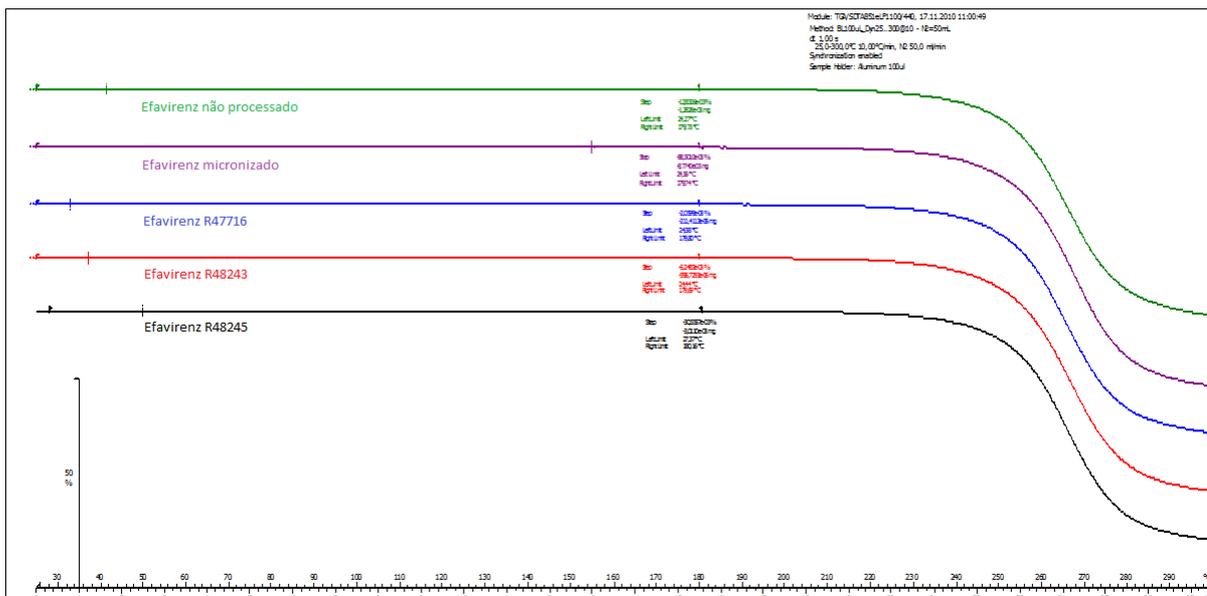


Figura 11. Curva Termogravimétrica do EFA.

5.1.2 Espectroscopia de infravermelho (I.V.) do EFA

O espectro de I.V. do EFA apresenta sinais característicos de sua estrutura (Figura 12). Uma banda característica de deformação axial de N-H a 3317 cm^{-1} . Uma banda de deformação axial da ligação tripla carbono-carbono de acetilenos dissubstituídos a 2249 cm^{-1} . Duas bandas de deformação axial em 1749 cm^{-1} e 1600 cm^{-1} , a primeira característica de carbonila e a segunda de ligação C=C de anel aromático. Uma banda em 1496 cm^{-1} , de deformação angular simétrica no plano, referente aos metilenos do ciclopropano. Bandas de deformação axial na região entre 1261 e 1136 cm^{-1} do grupo CF_3 . Enquanto, o grupamento C-O-C, proveniente do carbamato, apresentou uma banda de deformação axial em 1317 cm^{-1} . Além de bandas na região de $900 - 675\text{ cm}^{-1}$ características da deformação angular fora do plano das ligações C-H do anel aromático, assim como bandas na região de 3093 a 3018 cm^{-1} de deformação axial do C-H de aromáticos. (SILVERSTEIN, 2006; DESKMUKH *et al.*, 2011).

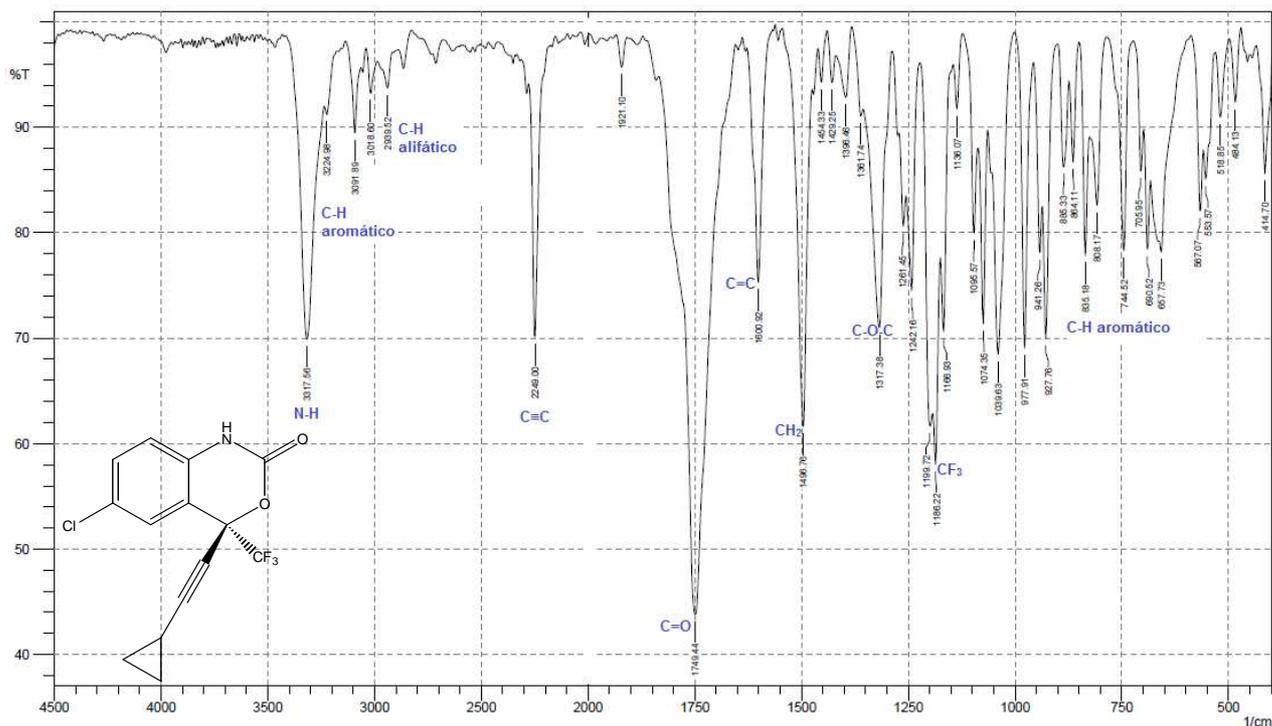


Figura 12. Espectro de I.V. do EFA.

Através da expansão do espectro da região de 4300 cm^{-1} a 2100 cm^{-1} (Figura 13) e da região de 2000 cm^{-1} e 450 cm^{-1} (Figura 14), foi possível confirmar que não houve nenhuma mudança significativa dos picos a 3317 cm^{-1} , 2249 cm^{-1} , 1749 cm^{-1} , 1600 cm^{-1} , 1496 cm^{-1} , 1261 cm^{-1} , 1136 cm^{-1} e a 1317 cm^{-1} , característicos da estrutura do EFA e tampouco aparecimento de novos picos.

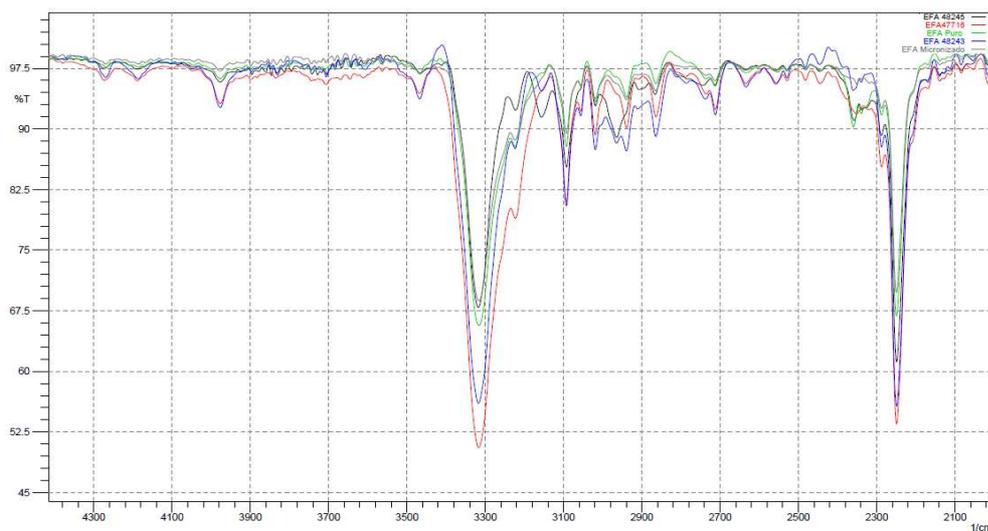


Figura 13. Espectro de I.V. das amostras de EFA em sobreposição na região de 4300 cm^{-1} a 2100 cm^{-1} : comiconizado (preto), R48245 (vermelho), R48243 (verde), não processado (azul) e R47716 (cinza).

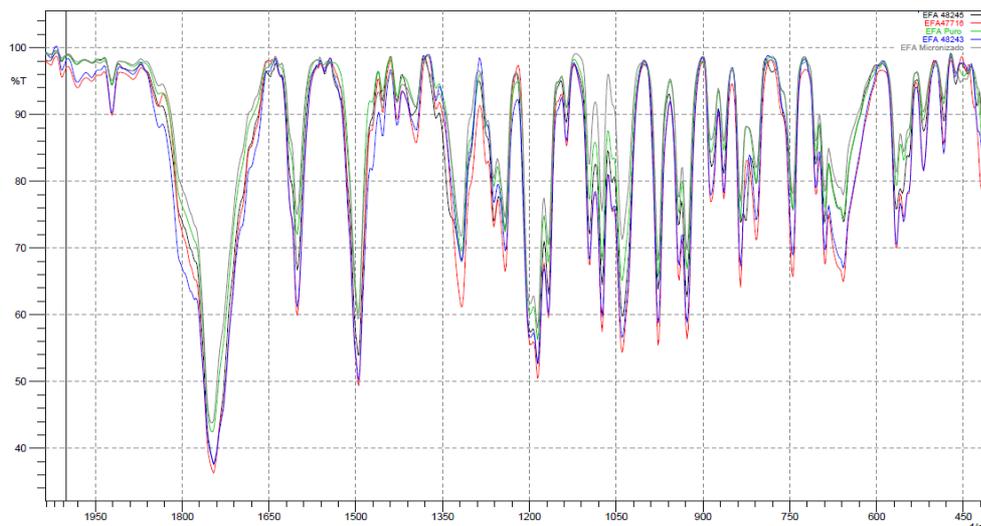


Figura 14. Espectro de I.V. das amostras do EFA em sobreposição na região de 2000 cm^{-1} a 450 cm^{-1} : comicronizado (preto), R48245 (vermelho), R48243 (verde), não processado (azul) e R47716 (cinza).

5.1.3 Espectroscopia de RMN do EFA

A análise do espectro de RMN de ^1H (Figura 15) do EFA em acetonitrila deuterada (CD_3CN) revelou a presença de três sinais característicos de hidrogênios aromáticos a 6,94; 7,44 e 7,54 atribuídos, respectivamente, aos hidrogênios H-5, H-6 e H-8. Além do sinal a 8,55 ppm atribuído ao hidrogênio do grupo NH do carbamato. Na região de menor frequência do espectro, foram observados sinais a 1,46; 0,84-0,77 e 0,93 ppm referentes aos hidrogênios H-11, H-12 e H-13 do ciclopropil, respectivamente (Tabela 4).

A integração dos sinais do espectro de RMN de ^1H em CD_3CN confirmam a estrutura do EFA.

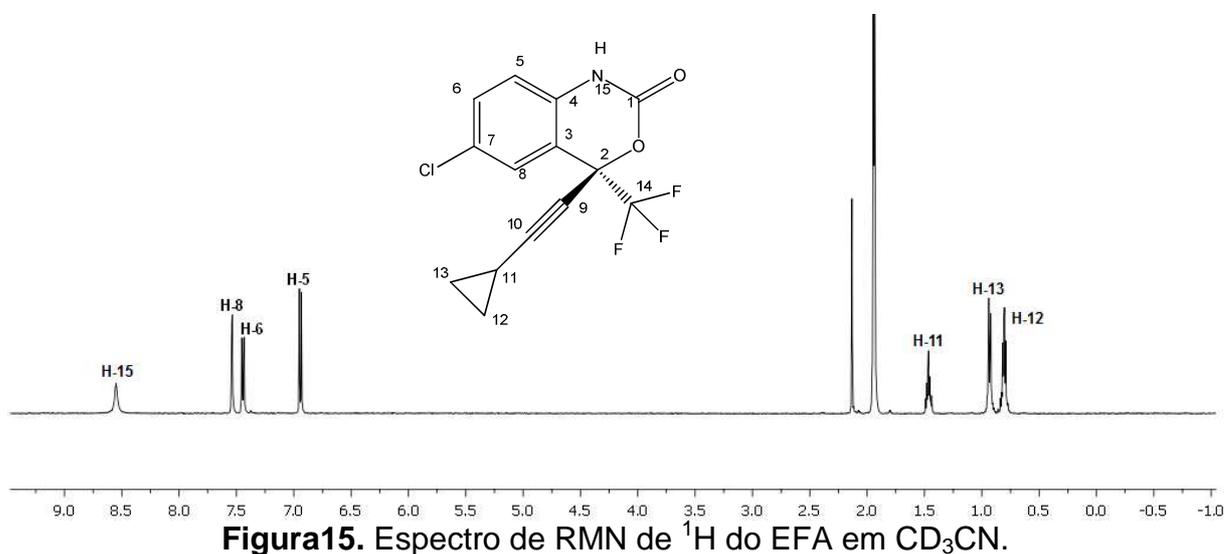


Figura15. Espectro de RMN de ^1H do EFA em CD_3CN .

Tabela 4. Deslocamento químico dos hidrogênios do EFA em CD₃CN.

Posição	δ ¹ H (ppm)
5	6,94 (d, <i>J</i> = 8,6 Hz, 1H)
6	7,44 (dd, <i>J</i> = 8,6; 2,3 Hz, 1H)
8	7,54 (s, 1H)
11	1,46 (dq, <i>J</i> = 8,3; 5,0 Hz, 1H)
12	0,84-0,77 (m, 2H)
13	0,93 (dd, <i>J</i> = 8,4; 3,1 Hz, 2H)
15	8,55 (s, 1H)

A Análise do espectro de RMN de ¹⁹F apresentou apenas um sinal a -81,45 ppm, característico do EFA. Através da análise do espectro de RMN de ¹³C em CD₃CN (Figura 16) e DEPT (ANEXO 6), foi possível identificar a presença de seis carbonos aromáticos (C-3 a C-8) na região entre 116-135 ppm, do carbono da carbonila C-1 em 147,9 ppm, dois carbonos quaternários C-2 e C-14 em 79,8 e 123,9 ppm, respectivamente. Dois carbonos da tripla ligação C-9 a 67,2 ppm e C-10 a 97,2 ppm e os três carbonos do isopropil C-11 em -0,02 ppm e os sinais de C-12 e C-13 sobrepostos em 9,4 ppm (Tabela 5). O assinalamento completo só foi possível com a aquisição de espectros bidimensionais de correlação ¹H – ¹³C, como o HSQC e o HMBC (ANEXOS 4 e 5).

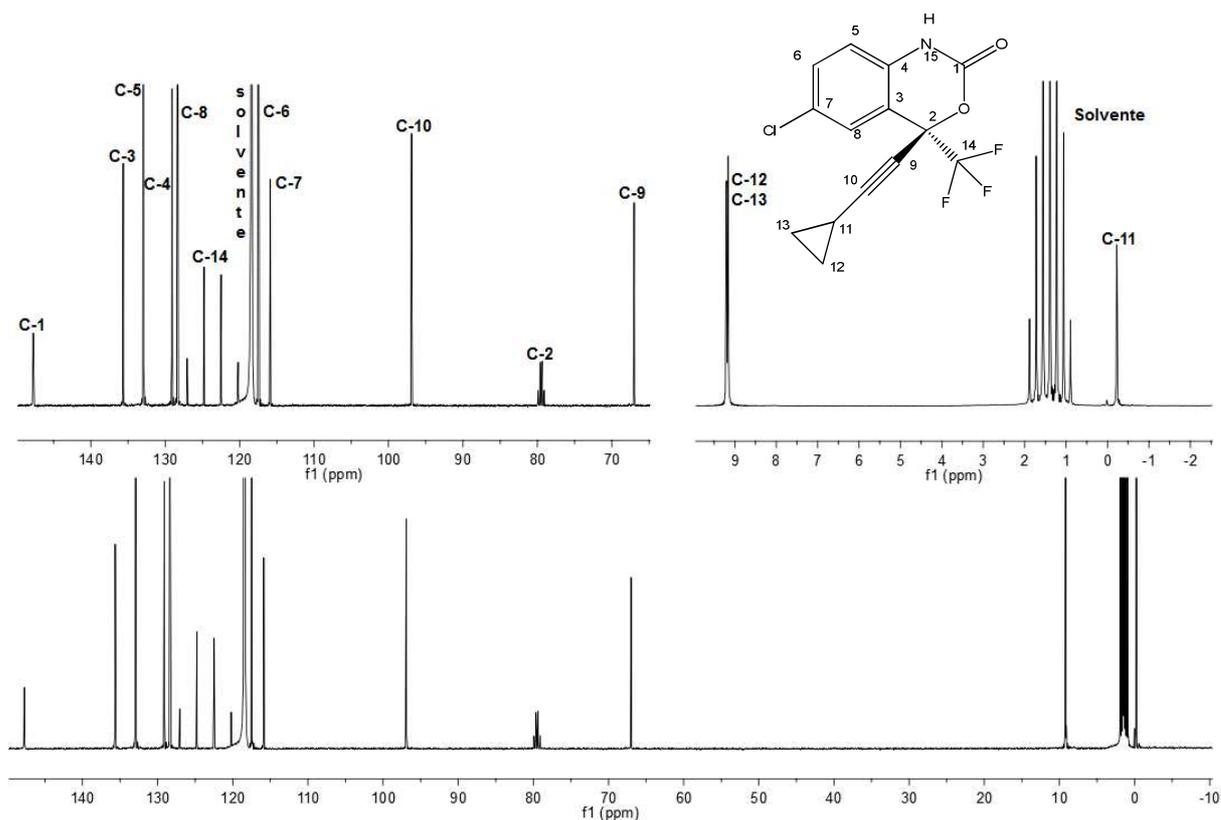


Figura 16. Espectro de RMN de ^{13}C em CD_3CN do EFA.

Tabela 5. Deslocamentos químicos de ^{13}C do EFA em CD_3CN .

Posição	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)	Posição	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)	Posição	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)
1	147,9	7	116,1	13	9,4
2	79,8	8	128,6	14	123,9
3	135,9	9	67,2	-	-
4	129,3	10	97,2	-	-
5	117,7	11	-0,02	-	-
6	133,2	12	9,4	-	-

Ao observar a estrutura do EFA podemos verificar a presença de cinco átomos que atuam como aceptores de hidrogênio (Figura 17) e de um átomo que atua como doador de hidrogênio. Pode-se supor que, neste caso, as ligações de hidrogênio assumam papel preponderante na manutenção da estrutura cristalina, e

nos processos de reconhecimento molecular do tipo fármaco-fármaco, fármaco-solvente e fármaco-polímero.

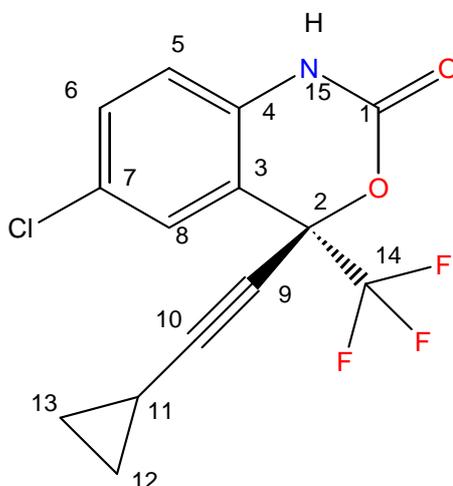


Figura 17. Átomos em vermelho: aceptores de hidrogênio e em azul: doadores de hidrogênio.

Desta forma, é importante caracterizar/elucidar as interações intermoleculares envolvidas na estrutura do EFA. A RMN fornece evidências bastante úteis da formação da ligação de hidrogênio, sendo a mudança no deslocamento químico do hidrogênio para campo baixo em relação ao hidrogênio livre a mais utilizada. Este comportamento é observado tanto nas ligações de hidrogênio intramoleculares como em ligações de hidrogênio intermolecular, sendo impossível discriminar entre os dois tipos pela simples análise da mudança de deslocamento químico (GIL, 1987).

Em contraste, **o efeito da temperatura, da concentração e a permuta química do hidrogênio no deslocamento químico fornecem informações úteis a respeito do tipo de ligação de hidrogênio existente.** Por exemplo, nos compostos que apresentam ligação de hidrogênio intermolecular com as moléculas de solvente, a variação no deslocamento químico do hidrogênio envolvido na ligação é bem dependente da temperatura devido às mudanças na mobilidade das moléculas do solvente. Por outro lado, os deslocamentos químicos dos hidrogênios envolvidos em ligação de hidrogênio intramolecular sofrem pequena variação, já que possuem interações fracas com o solvente (KROON *et al.*, 1994). Desta forma é plausível considerar que a permuta química dos hidrogênios envolvidos em ligação de hidrogênio intramolecular seja bem menor do que a permuta dos hidrogênios em ligação intermolecular com as moléculas e o solvente.

No caso do EFA, inicialmente, foi avaliada a influência da solvatação na força da ligação de hidrogênio, usando solventes com constantes dielétricas (ϵ°) diferentes como o clorofórmio deuterado (CDCl_3) com $\epsilon^\circ = 4,8$, CD_3CN com $\epsilon^\circ = 37,5$ e o dimetilsulfóxido deuterado (DMSO) que apresenta $\epsilon^\circ = 46,7$. Geralmente, nos espectros de RMN de ^1H os sinais referentes aos hidrogênios lábeis de grupos como $-\text{OH}$ e $-\text{NH}$ aparecem, a temperatura ambiente, alargados especialmente em solventes próticos, devido à troca rápida dos hidrogênios lábeis com o solvente. Com a diminuição da temperatura e da concentração, a velocidade de troca diminui e o sinal torna-se mais fino.

Assim, foram adquiridos espectros de RMN de ^1H a 25°C (Tabela 6). Foi observado que o hidrogênio H-15 em CDCl_3 é um simpleto fino a temperatura ambiente, enquanto na CD_3CN e principalmente no DMSO é um simpleto alargado (Figura 18). A presença de um simpleto fino é função da pequena mobilidade e acessibilidade do solvente ao $-\text{NH}$ devido a formação de uma forte ligação de hidrogênio.

Tabela 6. Deslocamento químico dos hidrogênios do EFA em função do solvente.

Solvente	Posição/ δ ^1H , ppm						
	5	6	8	11	12	13	15
CDCl_3	6,85	7,38	7,49	1,40	0,85	0,95	8,46
CD_3CN	6,94	7,44	7,54	1,46	0,81	0,93	8,58
DMSO	6,94	7,54	7,44	1,60	0,79	0,94	11,09
$\Delta\delta$	0,09	-0,05	0,16	0,20	-0,6	-0,1	2,63

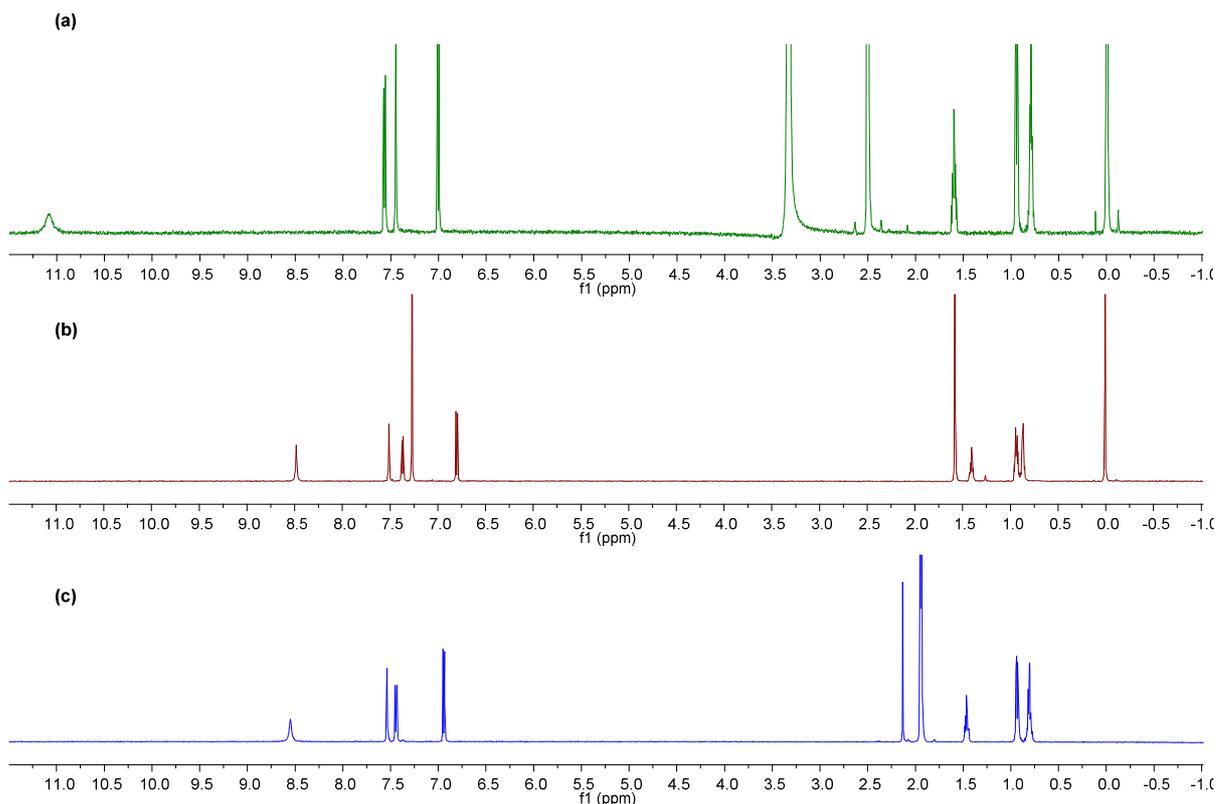


Figura 18. Espectro de RMN de ^1H do EFA nos solventes: (a) DMSO; (b) CDCl_3 e (c) CD_3CN .

Este resultado indica que nos solventes CD_3CN e DMSO, pode estar ocorrendo permuta dos hidrogênios em ligação intermolecular com as moléculas e o solvente. Além disso, o fato de o DMSO ser um excelente aceptor de ligações de hidrogênio poderia, neste caso, favorecer uma interação EFA-solvente mais forte que a interação EFA:EFA. É interessante observar que as variações de deslocamento químico dos hidrogênios são influenciados de maneira diferentes. No caso, dos hidrogênios H-5, H-8, H-11 e H-15 ocorre desblindagem dos sinais mais acentuada nos solventes mais polares, enquanto os hidrogênios H-6, H-12 e H-13 sofrem blindagem dos sinais.

Através do efeito de temperatura é possível diferenciar as ligações intermoleculares e intramoleculares. Uma pequena razão entre o deslocamento químico e a temperatura ($\Delta\delta/\Delta T$) do hidrogênio envolvido na ligação de hidrogênio, indica a presença de ligação de hidrogênio intramolecular (EXARCHOU *et al.*, 2002).

O estudo de variação de temperatura conduzido em CDCl_3 e em CD_3CN revelou comportamentos significativamente diferentes nestes solventes. No estudo

de ΔT ($^{\circ}\text{C}$) do EFA em CDCl_3 , apenas o hidrogênio H-15 tem alteração significativa no deslocamento químico ($\Delta\delta = 0,60$ ppm) (tabela 7), este fato sugere a presença de uma forte ligação de hidrogênio intermolecular que pode estar associada a formação de uma estrutura do tipo dimerica EFA:EFA.

Tabela 7. Influência do efeito da temperatura nos deslocamentos químicos de ^1H em CDCl_3 do EFA.

Posição/ δ ^1H , ppm							
Temperatura	5	6	8	11	12	13	15
25 $^{\circ}\text{C}$	6,80	7,37	7,51	1,41	0,87	0,94	8,46
35 $^{\circ}\text{C}$	6,80	7,37	7,52	1,41	0,88	0,94	8,26
45 $^{\circ}\text{C}$	6,78	7,37	7,52	1,41	0,87	0,94	8,05
55 $^{\circ}\text{C}$	6,77	7,37	7,52	1,41	0,87	0,94	7,86
$\Delta\delta$	0,03	--	0,01	--	--	--	0,60

Enquanto no estudo em CD_3CN o $\Delta\delta$ para o H-15 é de apenas 0,17 ppm (Tabela 8) . Esta diferença no comportamento químico do hidrogênio H-15 pode ser atribuída ao fato de que o aumento da polaridade do solvente afetaria a força da ligação de hidrogênio intermolecular e que os deslocamentos químicos observados seriam uma média dos deslocamentos químicos do EFA associado e não associado. Também é possível supor que há formação de ligação de hidrogênio intramolecular, o que neste caso, a princípio, pode ser termodinamicamente desfavorável, uma vez que o anel formado seria de quatro átomos (Figura 19).

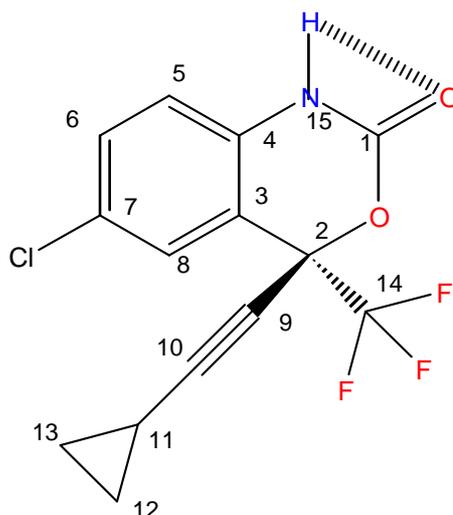


Figura 19. Estrutura do EFA com ligação de hidrogênio intramolecular.

Tabela 8. Influência do efeito da temperatura nos deslocamentos químicos de ^1H em CD_3CN do EFA

Posição/ $\delta^1\text{H}$, ppm							
Temperatura	5	6	8	11	12	13	15
25°C	6,94	7,44	7,54	1,46	0,81	0,93	8,58
35°C	6,95	7,44	7,54	1,46	0,81	0,93	8,54
45°C	6,95	7,44	7,53	1,47	0,81	0,94	8,49
55°C	6,95	7,44	7,53	1,46	0,81	0,95	8,45
65°C	6,95	7,44	7,53	1,46	0,81	0,95	8,41
$\Delta\delta$	--	--	--	--	--	0,02	0,17

Os dados revelam claramente que o deslocamento químico do hidrogênio do grupo -NH é inversamente proporcional à temperatura e existe uma relação linear entre o deslocamento químico e a temperatura nos solventes deuterados estudados (Gráfico 1). De acordo com Barzoukas *et al.* (1997) este comportamento sugere que quanto maior o deslocamento químico do hidrogênio envolvido na ligação de hidrogênio, mais longe do nitrogênio (átomo doador de hidrogênio) o hidrogênio está.

A magnitude da inclinação (m) da reta do gráfico $\Delta\delta/\Delta T$ é indicativo da sensibilidade da força da ligação de hidrogênio ao meio. O gráfico $\Delta\delta/\Delta T$ do EFA em CDCl_3 ($m = -0,02 \text{ ppm } ^\circ\text{C}$) e CD_3CN ($m = -0,00425 \text{ ppm } ^\circ\text{C}$) apresentam magnitudes bastante diferentes. No caso do EFA em CD_3CN a pequena magnitude da inclinação da reta indica que a interação eletrostática é fraca entre o soluto e o solvente (Gráfico 1).

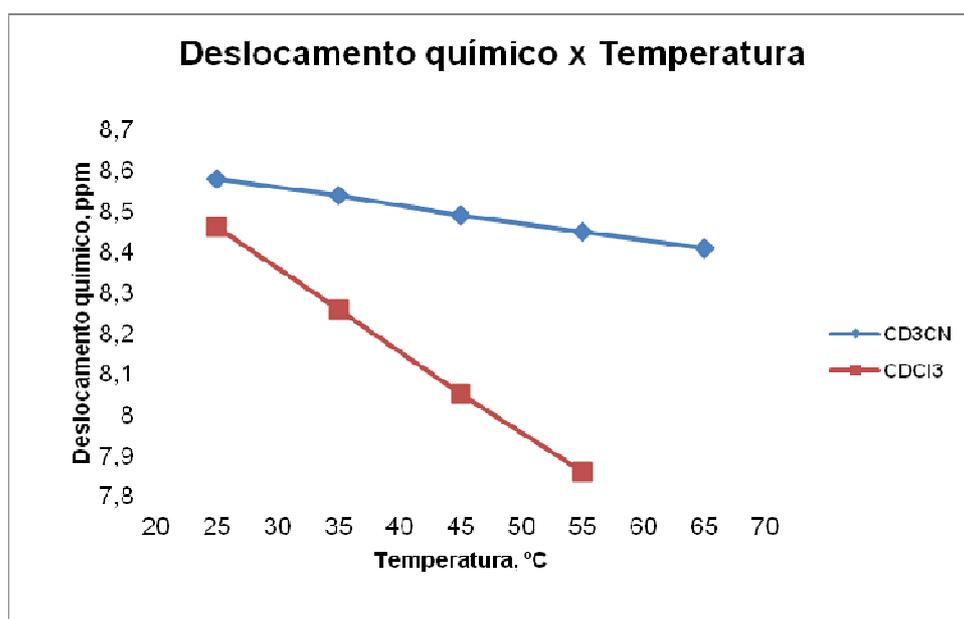


Gráfico 1. $\Delta\delta$ (ppm) x ΔT (°C) do hidrogênio amínico do EFA em CDCl_3 e CD_3CN .

Se a interação entre o soluto e o solvente são fracas, pode-se supor que as ligações de hidrogênio intermolecular entre as moléculas de soluto (EFA:EFA) são fortes e o alargamento de linha observado e o pequeno $\Delta\delta$ observado é função do equilíbrio que foi deslocado e os deslocamentos químicos observados correspondem a média entre os deslocamentos químicos das moléculas associadas e não.

De fato, Carvalho e colaboradores (2003) observaram este mesmo comportamento em complexos trimoleculares formados entre derivados fenólicos e a piperazina. Eles provaram através de diversas técnicas de RMN, que a estrutura em solução era similar a observada no DRX, no qual as moléculas de fenol eram mantidas unidas à piperazina através de uma ligação de hidrogênio intermolecular com o nitrogênio da mesma, sob determinadas condições independentes do solvente, temperatura e concentração.

Em seguida, foi avaliada a influência da concentração (60-96 μM) nos deslocamentos químicos nos espectros de RMN de ^1H em CD_3CN a 25°C (Tabela 9). Os resultados revelaram que os deslocamentos químicos dos hidrogênios do EFA não sofrem efeito da concentração.

Tabela 9. Estudo de concentração do EFA em CD_3CN .

Concentração (M)	Posição/ δ ^1H , ppm						
	5	6	8	11	12	13	15
6×10^{-4}	6,95	7,44	7,54	1,46	0,80	0,93	8,60
12×10^{-4}	6,95	7,44	7,54	1,47	0,81	0,93	8,60
24×10^{-4}	6,94	7,44	7,54	1,46	0,81	0,93	8,61
48×10^{-4}	6,94	7,44	7,54	1,46	0,80	0,93	8,60
96×10^{-4}	6,94	7,44	7,54	1,46	0,81	0,93	8,60

Estes resultados não permitem discriminar o tipo de ligação de hidrogênio que está ocorrendo nos solventes mais polares.

Paralelamente, a este estudo foram obtidos espectros de RMNs. Os espectros de RMNs ^{13}C CP/MAS sugerem que a mesma estrutura cristalina está presente em todas as amostras, inclusive no EFA comicronizado (Figura 20). Indicando que o processo de comicronização não modificou a estrutura cristalina do fármaco.

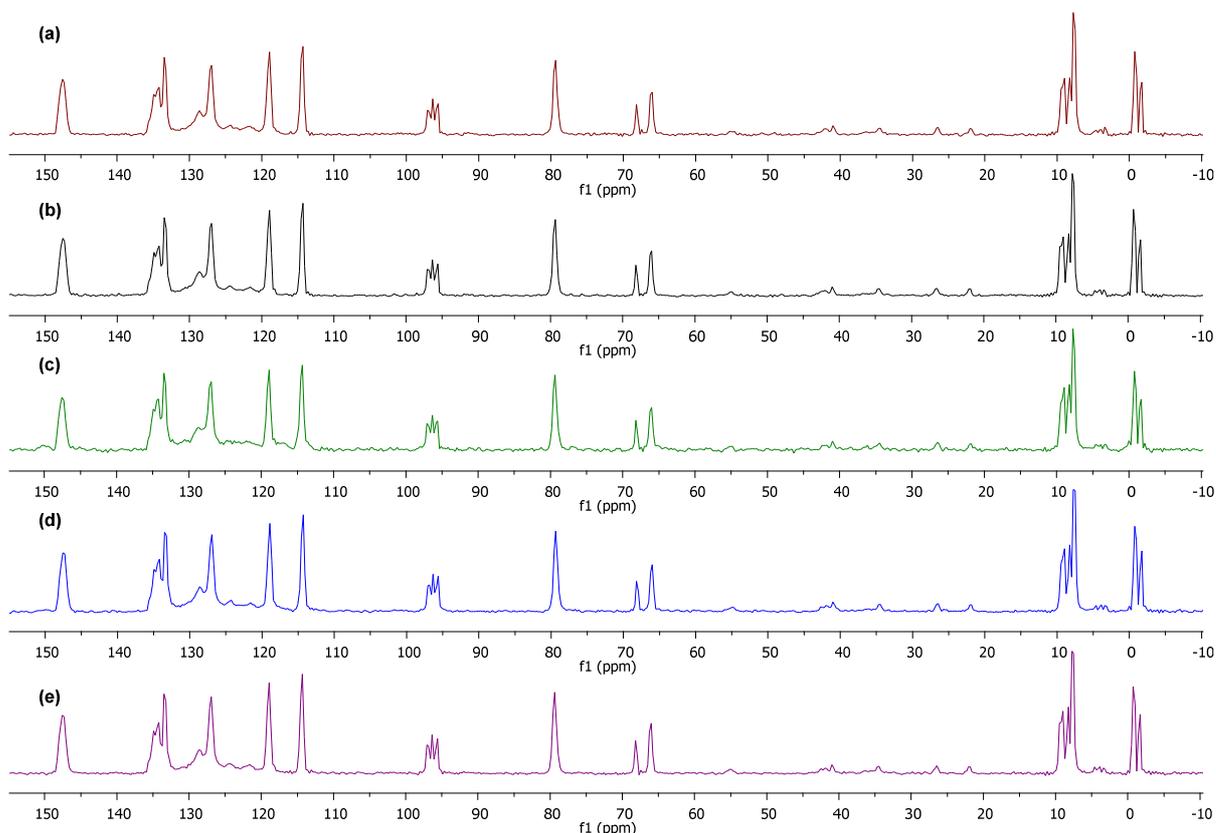
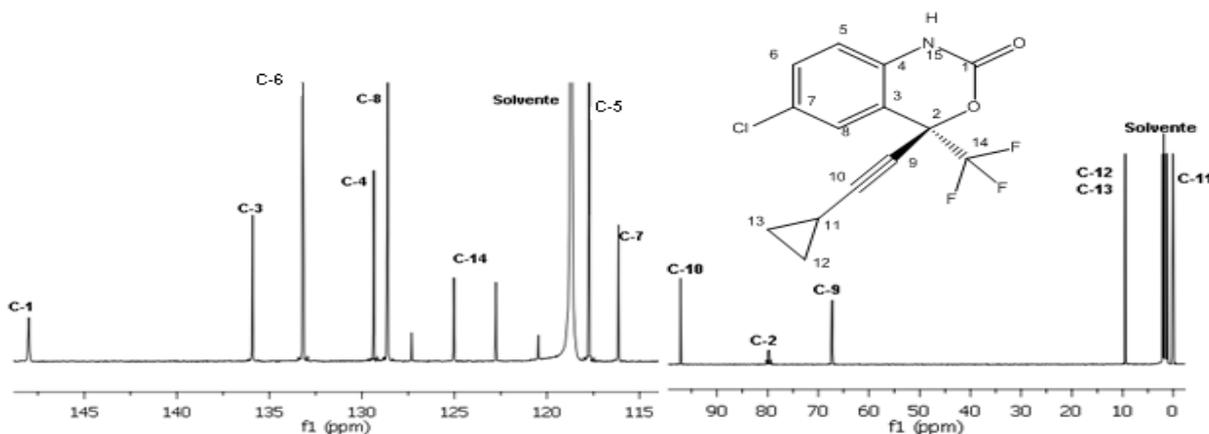


Figura 20. Espectro de RMNs ^{13}C CP/MAS do EFA: (a) micronizado, (b) não-processado, (c) R48245, (d) R48243 e (e) R47716.

A análise do espectro de RMNs ^{13}C CP/MAS (Figura 21b), mostrou desdobramentos dos sinais em dupletos e até tripletos na região compreendida entre -1,5 e 10 ppm, que correspondem aos sinais do ciclopropil (C-11, C-12 e C-13). O mesmo ocorre na região atribuída aos carbonos da ligação tripla C-9 entre 60 e 70 ppm e C-10 entre 90 e 100 ppm. O mesmo comportamento foi observado para o carbono quaternário ligado ao flúor (C-14) que apresentou desdobramentos dos sinais entre 120 e 125 ppm (Tabela 10). Já os sinais atribuídos aos carbonos aromáticos (C-3, C-4, C-5, C-6, C-7 e C-8), ao carbono da carbonila (C-1) e ao carbono quaternário (C-2), apresentaram variações mínimas nos deslocamentos químicos quando comparados aos espectros obtidos em solução de CD_3CN (Figura 21a), o que pode indicar a presença de no mínimo duas moléculas inequivalentes do EFA dentro de uma única célula unitária do cristal do fármaco.

(a)



(b)

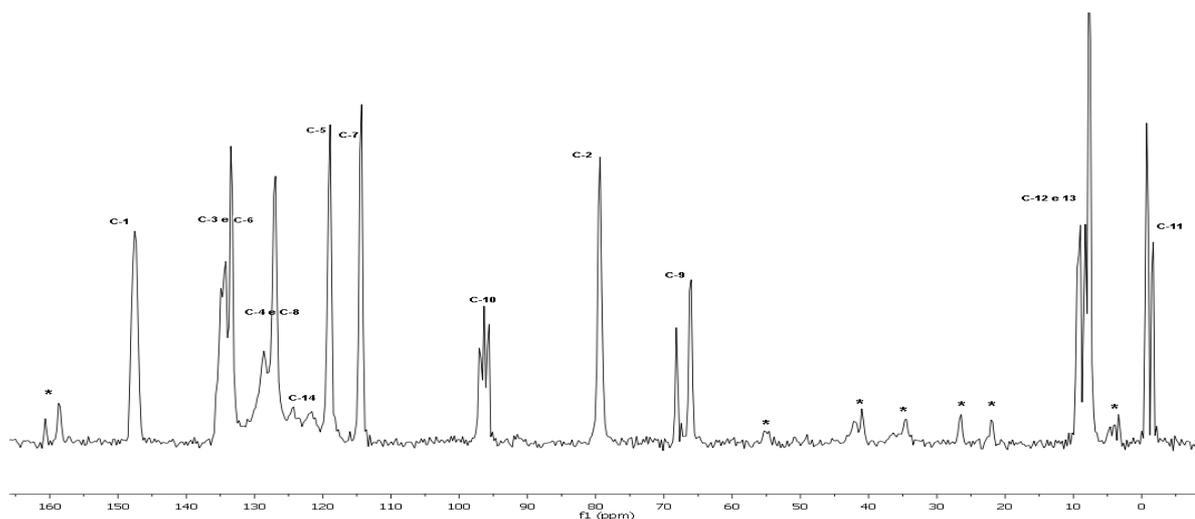


Figura 21. (a) Espectro de RMN de ^{13}C do EFA em CD_3CN e Espectro de RMNs ^{13}C CP/MAS do EFA (b). (*) bandas laterais.

Este resultado confirma a cristalografia realizada por Cuffini e colaboradores (2009), na qual o EFA é um dímero com cofômeros diferentes os quais estão ligados através de duas ligações de hidrogênio entre $\text{C}=\text{O}$ de uma molécula A e o $\text{N}-\text{H}$ de uma molécula B (Figura 22) e vice-versa.

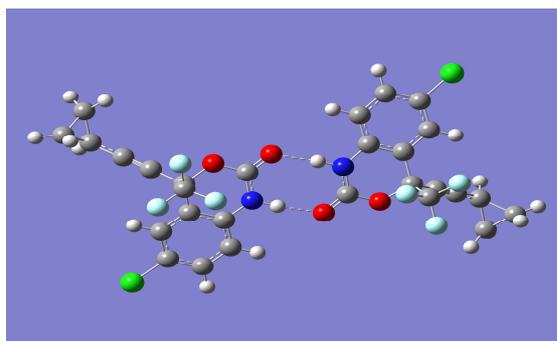
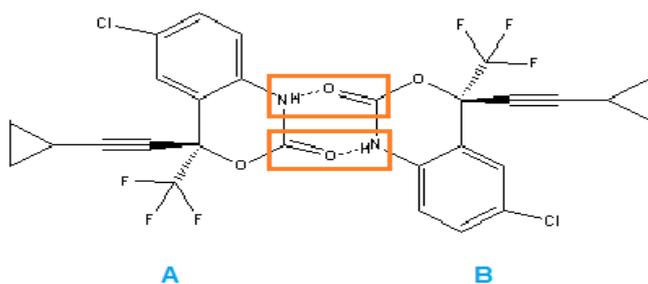


Figura 22. Dímero do EFA.

A comparação dos deslocamentos químicos de carbono em solução e no estado sólido (Tabela 10) mostram variações mínimas de deslocamento químico, indicando que as diferenças nos espectros em solução e na fase sólida podem ser influência do equilíbrio existente entre soluto-soluto e soluto-solvente em solução, o que não é possível no estado sólido. Também seria lógico esperar que o EFA em solução apresentasse confômeros diferentes estabilizados em função da solvatação.

Tabela 10. Comparação entre os deslocamentos químicos dos carbonos em solução e no estado sólido.

Posição	$\delta^{13}\text{C}$, ppm			
	CDCl_3	CD_3CN	DMSO	sólido
1	149,1	147,9	146,3	147,5
2	79,3	79,8	77,7	79,5
3	133,3	135,9	134,8	134,9;134,3
4	129,2	129,3	127,0	128,6
5	116,2	117,7	116,9	119,0
6	131,7	133,2	132,2	133,4
7	115,2	116,1	114,1	114,4
8	127,8	128,6	126,7	127,1
9	66,2	67,2	65,9	68,2;66,2
10	95,9	97,2	95,7	97,0;96,4; 95,8
11	-0,58	-0,02	1,3	-0,7;-1,5
12	8,8	9,4	8,5	9,1;8,4;7,8
13	8,8	9,4	8,5	9,1;8,4;7,8
14	123,6	123,9	122,3	124,6;121,7

5.1.4. Modelagem molecular

O desdobramento dos sinais presentes no espectro de RMN de ^{13}C de sólido corroborava com os resultados da cristalografia realizada por Cuffini *et al.* (2009). Entretanto, não foi encontrado na literatura dados de RMNs de ^{13}C que pudessem ser utilizados como comparação neste trabalho. Assim, foi realizado um estudo de modelagem molecular com intuito de obter mais informações a respeito da estrutura do EFA e sua estabilidade.

Primeiramente, a estrutura do EFA foi minimizada, como descrito no item 4. Em seguida foi feita uma varredura na superfície de energia potencial do EFA na rotação do grupo ciclopropil (análise conformacional) utilizando-se a estrutura pré-otimizada, segundo a metodologia descrita na literatura (MAHAPATRA *et al.*, 2010). Entretanto, para minimizar os custos computacionais, o método sofreu uma adaptação e a varredura foi realizada com rotação de ângulos de 60° em torno da ligação C-14 e C-15 (Figura 23).

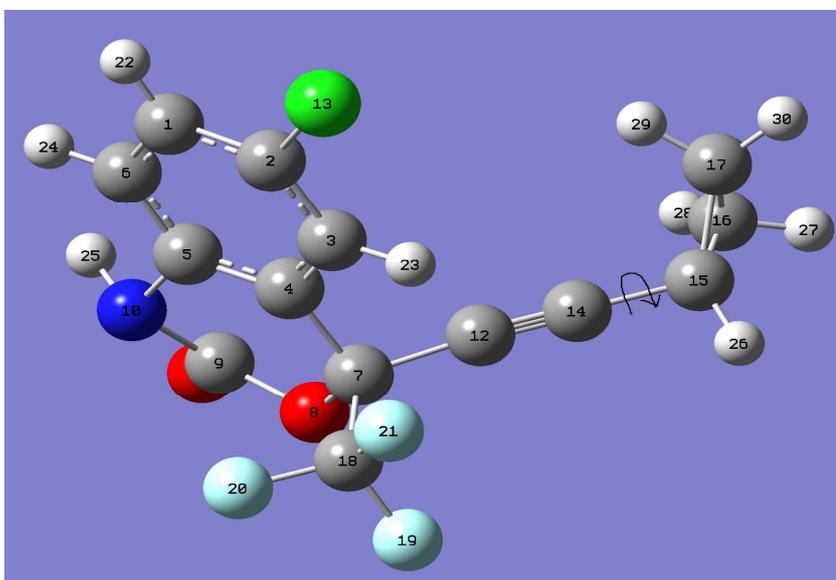


Figura 23. Rotação da ligação entre os carbonos C-14 e C-15 do EFA.

Os resultados dos cálculos teóricos mostraram que a energia dos seis confôrmeros eram muito próximas. Onde o confôrmero dois apresentou o menor mínimo de energia (Figura 24) e foi denominado como o mínimo global (Gráfico 2). A diferença de energia entre estes confôrmeros é da ordem de 10^{-3} Kcal/mol.

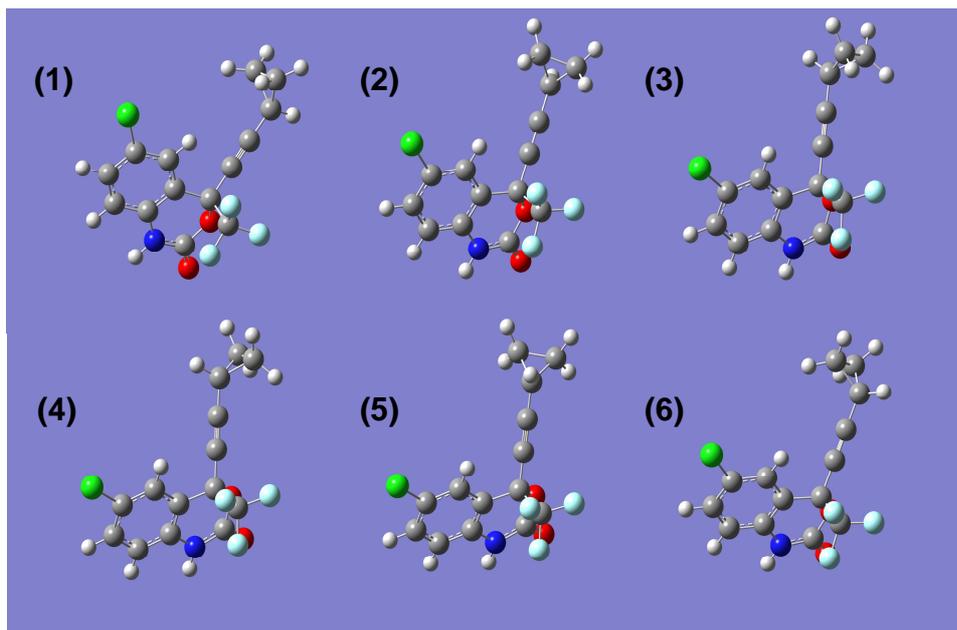


Figura 24. Confômeros do EFA. Mínimo global: confômero 2.

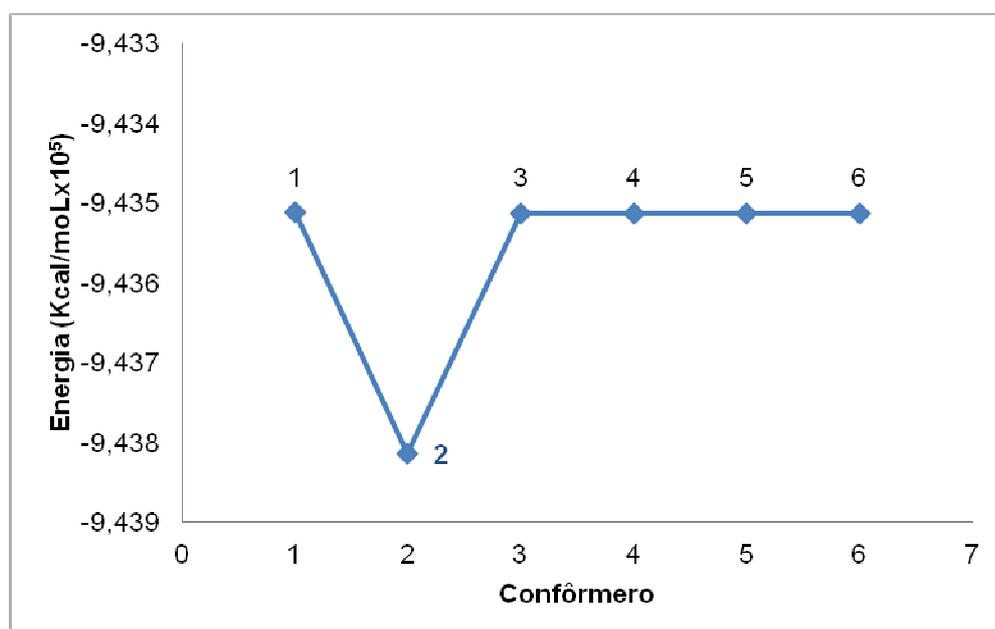


Gráfico 2. Energia (Kcal/mol x 10⁵) x Confômeros do EFA.

Os resultados de modelagem molecular demonstraram que o anel benzoxazin-2-ona (Figura 25) apresenta pouca flexibilidade e que o substituinte 2-ciclopropiletinil assume orientação equatorial em relação ao anel, como mostra a figura 26.

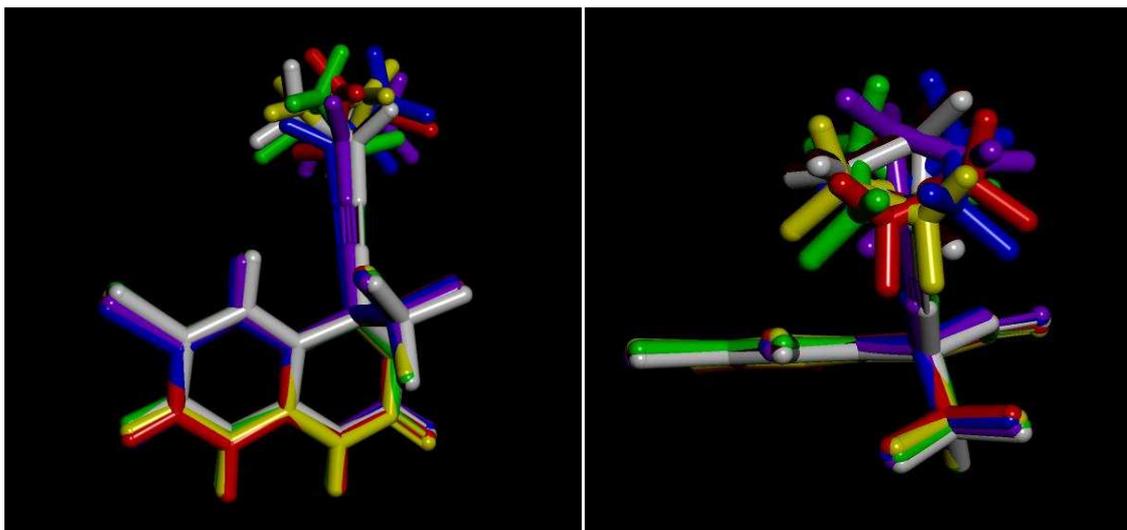


Figura 25. Sobreposição dos confôrmeros do EFA, destacando a rotação do grupo ciclopropil.

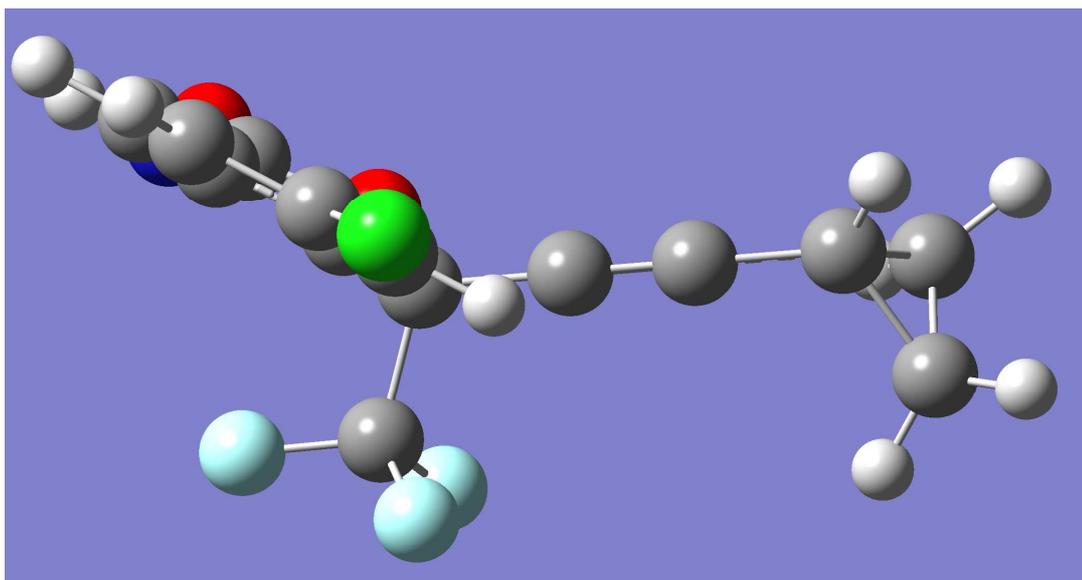


Figura 26. Orientação equatorial da porção 2-ciclopropilenitil em relação ao anel benzoxazin-2-ona.

Entretanto, os cálculos dos deslocamentos químicos de carbono do monômero do EFA mostraram erros elevados em relação aos obtidos experimentalmente em solução (Tabela 11), apesar do método utilizado ser o recomendado na literatura (LODEWYK *et al.*, 2012). Como os dados experimentais de RMNs ^{13}C sugerem a presença de no mínimo dois confôrmeros na estrutura cristalina do EFA, a diferença nos deslocamentos químicos calculados foi atribuída,

inicialmente, a esse fato. Com o intuito de averiguar a influência do estado dimerizado do EFA nos resultados experimentais de RMNs, foram realizados cálculos usando DFT mantendo as informações estruturais do modelo da DRX como restrição da estrutura. Para a construção do dímero foi utilizado o confômero 2 (mínimo global) com as duas ligações de hidrogênio entre C=O de uma molécula A e o N-H de uma molécula B (Figura 22) e vice-versa (item 5.1.3). Entretanto, os resultados obtidos na modelagem molecular ao serem comparados com os resultados de RMNs continuaram apresentando erros acima do esperado.

Tabela 11. Comparação entre os resultados experimentais de RMN e os calculados.

Posição	RMN CD ₃ CN	RMN CDCl ₃	Calculado Monômero	RMNs	Calculado Dímero
1	147,9	149,1	126,4	147,5	132,0
2	79,8	79,3	68,3	79,5	69,1
3	135,9	133,3	100,7	134,9; 134,3	101,2
4	129,3	129,2	118,8	128,6	118,0
5	117,7	116,2	114,6	119,0	114,6
6	133,2	131,7	96,5	133,4	99,4
7	116,1	115,2	119,8	114,4	121,1
8	128,6	127,8	113,2	127,1	112,8
9	67,2	66,2	51,6	68,2; 66,2	49,8
10	97,2	95,9	80,5	97,0; 96,4; 95,8	81,7
11	-0,02	-0,58	-11,1	-0,7; -1,5	-11,8
12	9,4	8,8	-1,7	9,1; 8,4; 7,8	-1,7
13	9,4	8,8	-1,5	9,1; 8,4; 7,8	-1,5
14	123,9	123,6	114,5	124,6; 121,7	114,3

5.2 Análise espectroscópica do efavirenz recristalizado

Em função dos resultados obtidos anteriormente, que mostram a presença de duas entidades na célula unitária da forma I, o efavirenz foi recristalizado,

adaptando-se a metodologia descrita na patente US6673372 para a descrita no item 4.2.2 com a finalidade de se obter um cristal com apenas uma entidade.

Os dados das análises térmicas e espectroscópicas do EFA recristalizado se mostraram bastante interessantes. A medida do ponto de fusão da amostra do EFA recristalizado foi de 137 – 138 °C e compreende a faixa de temperatura atribuída à forma I do EFA na patente acima citada.

A análise do espectro de IV da amostra recristalizada apresentou, basicamente, as mesmas bandas características do EFA. Entretanto uma análise mais minuciosa revelou algumas modificações principalmente em duas bandas características do efavirenz: a de N-H e a da carbonila, que estão envolvidos nas ligações de hidrogênio na formação do dímero. A banda de deformação axial da carbonila que no EFA recristalizado pode ser observada a 1739 cm^{-1} apresenta um efeito hipsocrômico em relação à carbonila das amostras de EFA na forma I. Enquanto a banda de deformação axial a 3317 cm^{-1} atribuída ao N-H sofre um efeito batocrômico de mais 13 cm^{-1} . Além do aparecimento de diversas bandas mais intensas na região compreendida entre 3330 a 3360 cm^{-1} indicando que houve mudanças nas interações intermoleculares da estrutura cristalina. As outras bandas características do EFA na forma I não sofreram mudanças significativas na amostra recristalizada (Figura 25). (SILVERSTEIN, 2006; DESKMUKEH *et al.*, 2011).

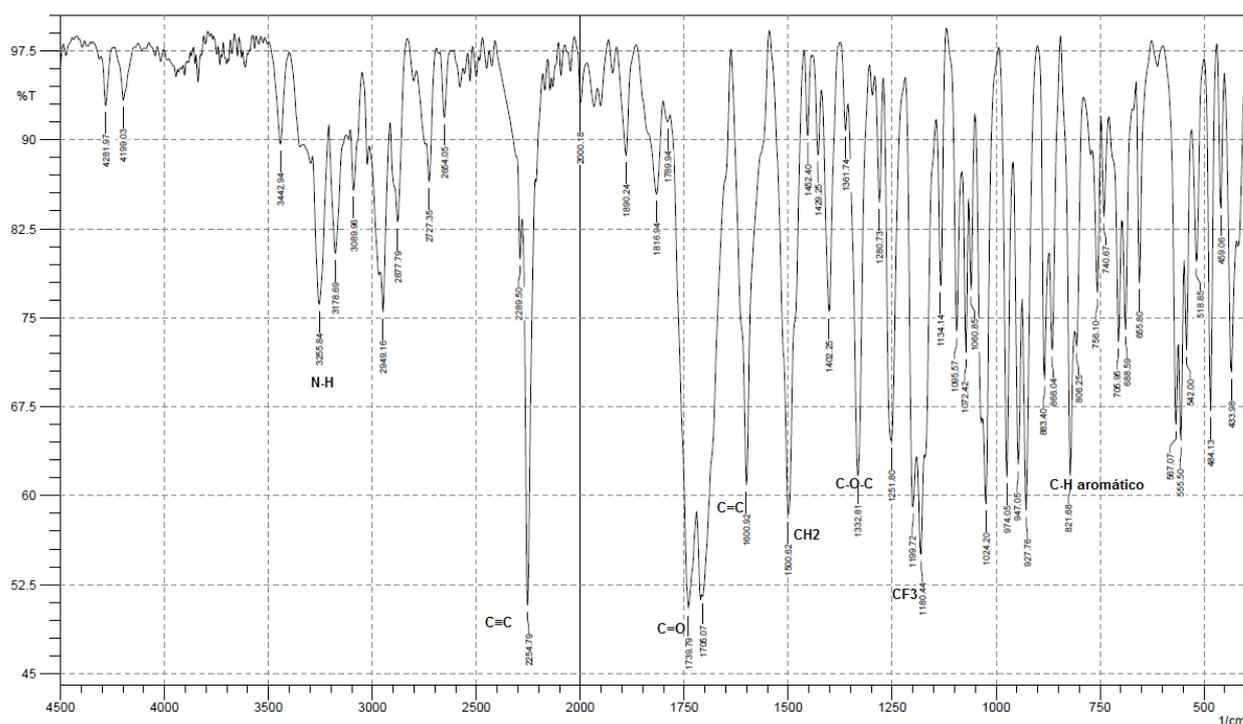


Figura 27. Espectro de infravermelho da amostra de EFA recristalizada.

Os espectros de RMN de ^1H , ^{19}F e ^{13}C em CD_3CN do EFA recristalizado, apresentaram os mesmos deslocamentos químicos da amostra não recristalizada (Figuras 28 e 29a). Entretanto o espectro de RMNs ^{13}C CP/MAS não apresenta mais a duplicidade de sinal (Figura 29b) observada nas amostras não recristalizadas indicando que nos cristais do EFA recristalizado apenas uma entidade encontra-se presente.

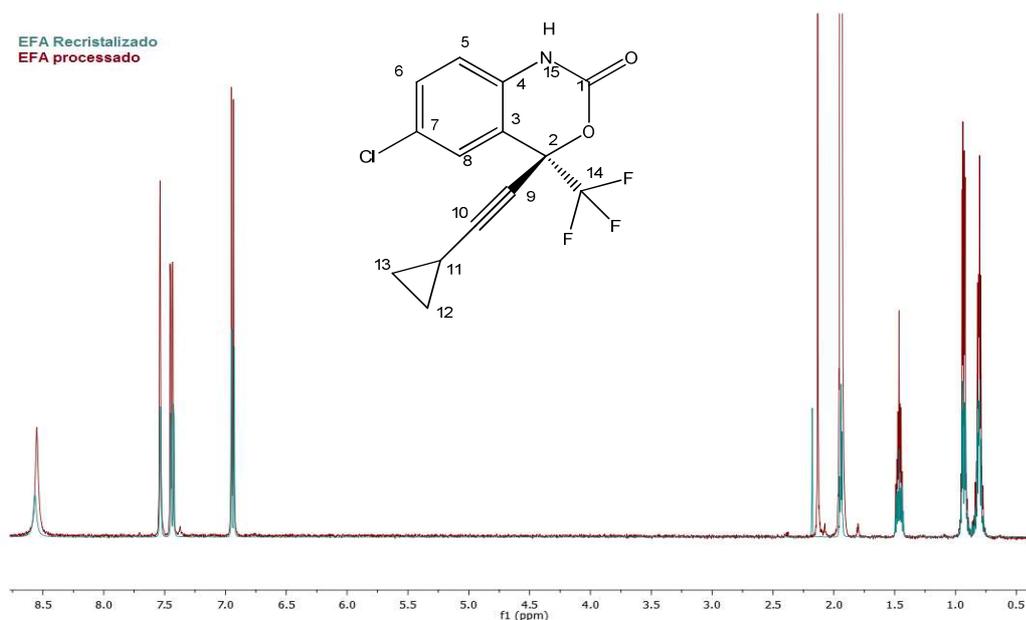


Figura 28. Espectro de RMN de ^1H em CD_3CN do EFA processado e do EFA recristalizado segundo metodologia descrita no item 4.

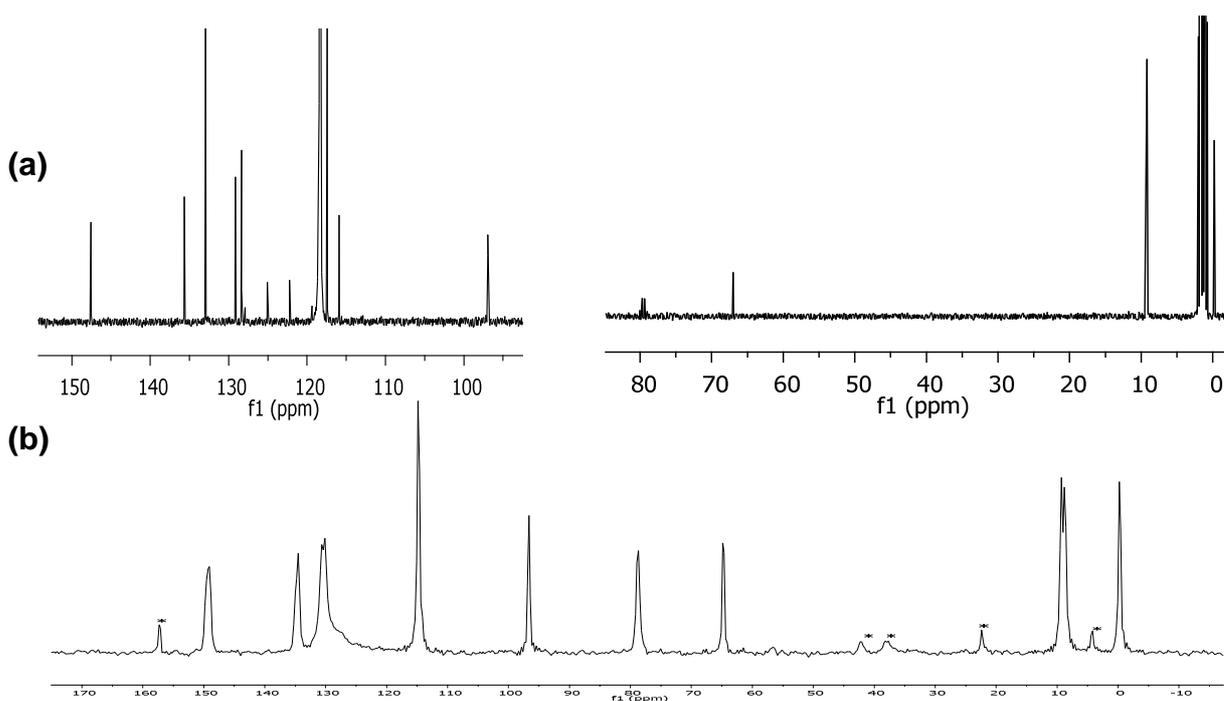


Figura 29. (a) Espectro de RMN de ^1H em CD_3CN e (b) espectro de RMNs CP/MAS ^{13}C . (*) bandas laterais.

Em função da obtenção de uma estrutura que o espectro de RMNs indica a presença de apenas uma estrutura conformacional comparamos as energias da estrutura monomérica e dimerica. Os resultados da modelagem molecular mostraram que o dímero é mais estável que o monômero em $-9,44 \times 10^5$ kcal/mol (Tabela 12).

Tabela 12. Energia das espécies do EFA em Kcal/mol.

Efavirenz	Energia (Kcal/mol)	ΔE (Kcal/mol)
Monômero	$-9,44 \times 10^5$	
Dímero	$-1,89 \times 10^6$	$-9,44 \times 10^5$

Entretanto não é possível neste momento afirmar se o processo de dimerização ocorre naturalmente ou se é função do processo de recristalização.

5.3 Caracterização espectroscópica da PVP

O espectro de infravermelho da PVP (Figura 30) apresentou uma banda de deformação axial em 1693 cm^{-1} característica da carbonila, em 1463 cm^{-1} uma banda de deformação angular simétrica no plano característica dos $-\text{CH}_2$ do anel da pirrolidona e em 1294 cm^{-1} uma banda característica de deformação axial de C-N (SILVERSTEIN, 2006). A comparação entre os espectros obtidos de I.V. da amostra e dos descritos na literatura (Figura 31) apresentaram diferenças significativas como uma banda larga em torno de 3500 cm^{-1} de deformação axial de O-H atribuída a umidade presente na amostra que não foi observada na amostra utilizada nesse trabalho (GIRI, 2011; GUEDES, 2011). Giri e colaboradores (2011) descreveram as bandas da PVP na região de 1500 a 1600 cm^{-1} como deformação axial da ligação C-C do anel e em 1645 cm^{-1} uma banda de deformação axial de carbonila e uma banda de deformação axial de C-N a 1210 cm^{-1} .

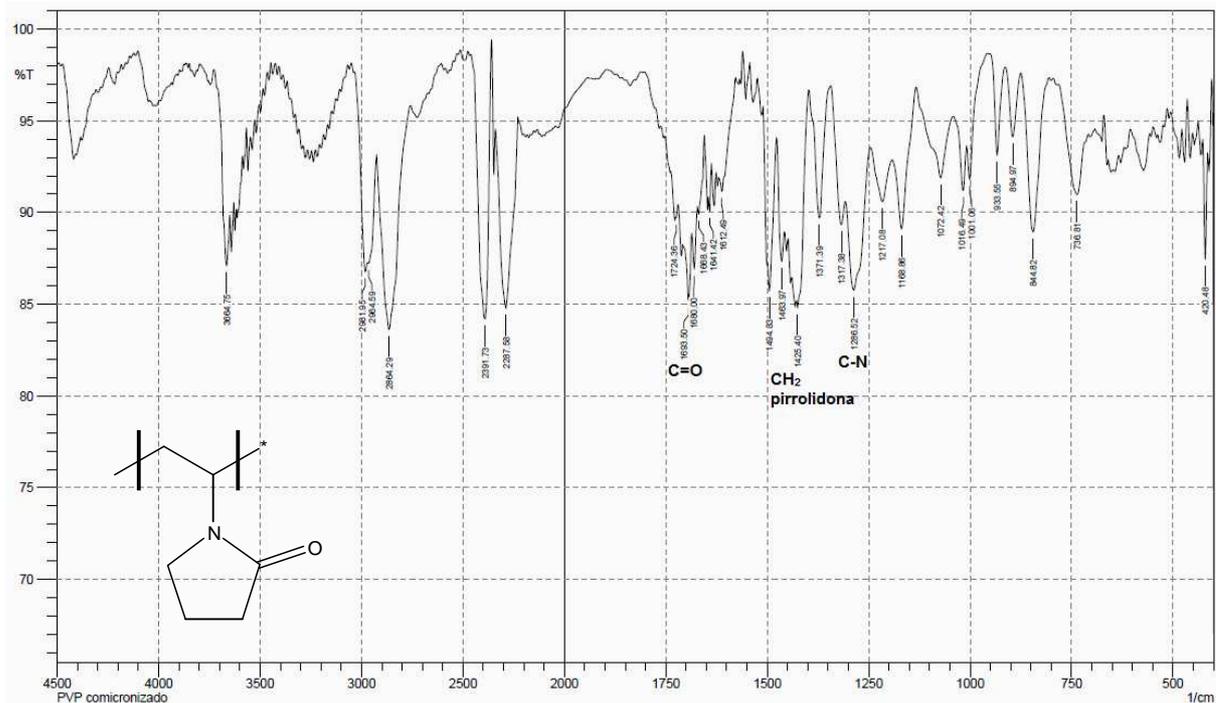


Figura 30. Espectro de I.V. da PVP K-30 pura.

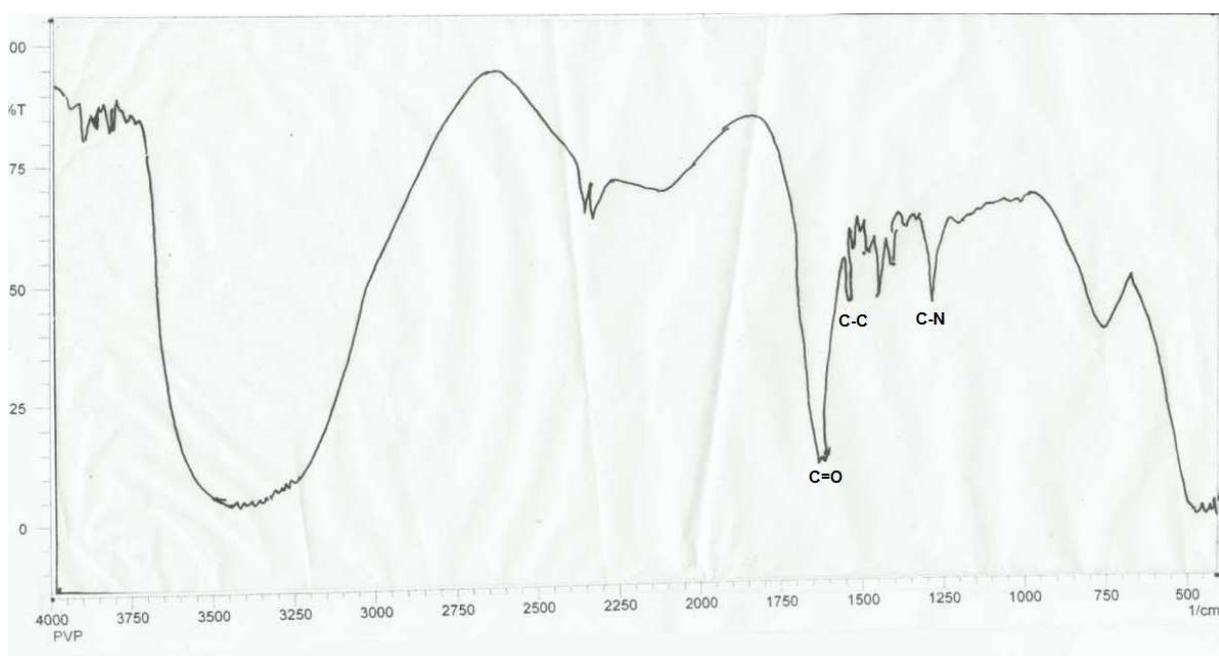


Figura 31. Espectro de I.V. da PVP K-30 pura (GIRI *et al.*, 2011).

Como a PVP trata-se de um polímero, o espectro de RMN de ^1H apresenta sinais largos característicos deste tipo de estrutura. O espectro foi obtido em CD_3CN (Figura 32) e apresentou um multipeto de 3,38-2,99 ppm atribuído ao hidrogênio do grupo metileno $-\text{CH}_2$ (H-1) e outro de 3,77-3,51 ppm atribuído ao hidrogênio do

grupo metino –N-CH (H-2). Os hidrogênios do grupo metileno localizados no anel da pirrolidona foram assinalados também como multipletos na região de 2,18-2,04 ppm (H-3), 1,48-1,23 ppm (H-4) e 1,79-1,49 ppm (H-5) (Tabela 13). O espectro obtido foi comparado com o da literatura que confirmou a estrutura da amostra utilizada (ZHANG *et al.*, 2008).

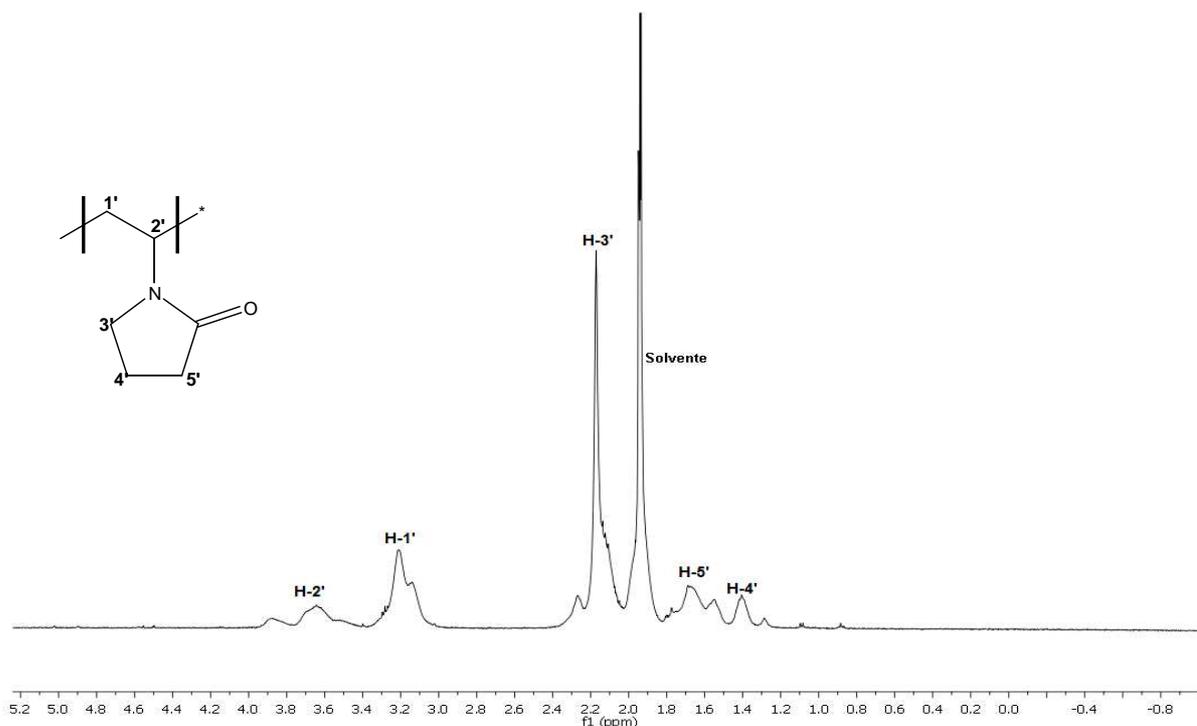


Figura 32. Espectro de RMN ^1H em CD_3CN da PVP pura.

Tabela 13. Deslocamento químico dos hidrogênios da PVP em CD_3CN a 25°C .

Posição	δ ^1H (ppm)
1'	3,38-2,99 (m, 2H)
2'	3,77-3,51 (m, 1H)
3'	2,18-2,04 (m, 2H)
4'	1,48-1,23 (m, 2H)
5'	1,79-1,49 (m, 2H)

O espectro de RMN de ^{13}C da PVP em CD_3CN (Figura 33a), apresentou um sinal a 176,1 ppm atribuído ao carbono da carbonila (C-6), os sinais na região entre 46,7-42,5 ppm, 37,9-32,2 ppm e 19,5 ppm foram assinalados como carbonos do

grupo metileno do anel da pirrolidona: C-3, C-5 e C-4, respectivamente, assim como os sinais atribuídos aos carbonos da cadeia principal do polímero, C-1 e C-2, também foram assinalados nessa região (FRANCESCHINI *et al.*, 2007).

O espectro de RMNs ^{13}C CP/MAS da PVP (Figura 33b) também foi adquirido e os dados (Tabela 14) foram comparados com os espectros descritos na literatura por Ito *et al.* (2010). O espectro adquirido neste trabalho mostrou melhor resolução que o da literatura.

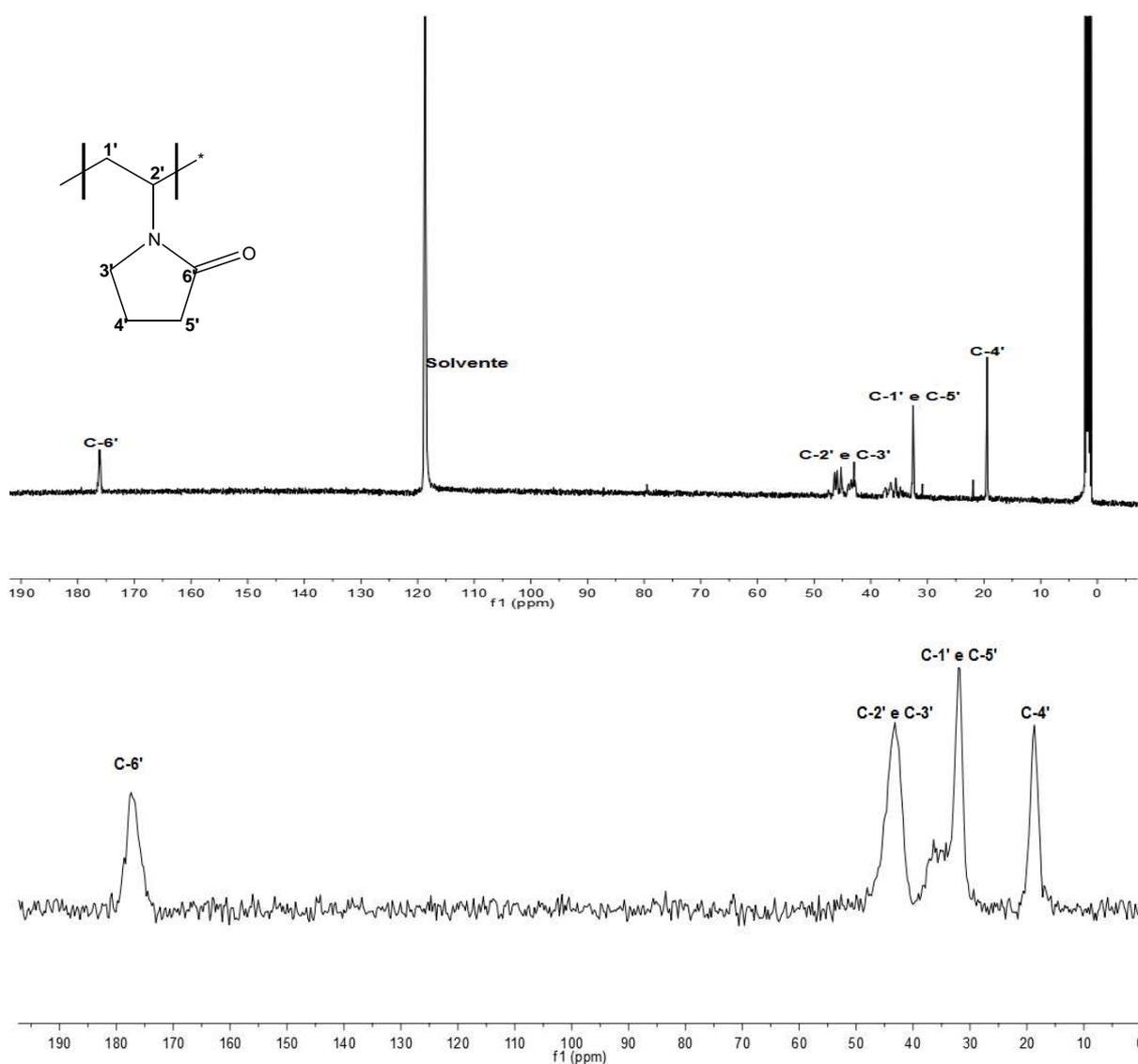


Figura 33. Espectro de RMN ^{13}C da PVP em CD_3CN (a) e Espectro de RMNs ^{13}C CP/MAS da PVP (b).

Tabela 14. Comparação dos sinais de RMN em CD₃CN e RMN de sólidos.

$\delta^{13}\text{C}$, ppm		
Posição	RMN em CD ₃ CN	RMN de sólidos
1'	37,9-32,2	31,9
2'	46,7-42,5	43,2
3'	46,7-42,5	43,2
4'	19,5	18,7
5'	37,9-32,2	31,9
6'	176,1	177,4

5.4 Caracterização espectroscópica das misturas

Inicialmente foram realizadas análises de I.V. do EFA nas misturas com PVP nas proporções EFA:PVP (1:1), (1:0,5) e (1:0,25) comicronizadas e na proporção EFA:PVP (1:0,5) sem micronização (mistura física) para caracterização da formação ou não dos complexos. Sabe-se que quando ocorrem interações intermoleculares, as bandas de IV sofrem deslocamentos no espectro e mudanças nas intensidades das mesmas. Entretanto, a comparação dos espectros das formulações com o EFA puro não apresentou mudança significativas que pudesse comprovar efetivamente a formação de complexos ou qualquer interação molecular EFA:PVP.

Contudo, no caso da mistura EFA:PVP (1:1) o espectro de I.V. apresentou mudanças nas intensidade e deslocamento de bandas. Por exemplo, a banda em torno de 3317 cm⁻¹ que apresenta-se alargada. Entretanto, a existência de sobreposição das bandas da PVP com do EFA impossibilitou uma análise mais detalhada. Na figura 34 é possível observar que os espectros das quatro misturas nas diferentes proporções avaliadas, apresentaram perfis semelhantes.

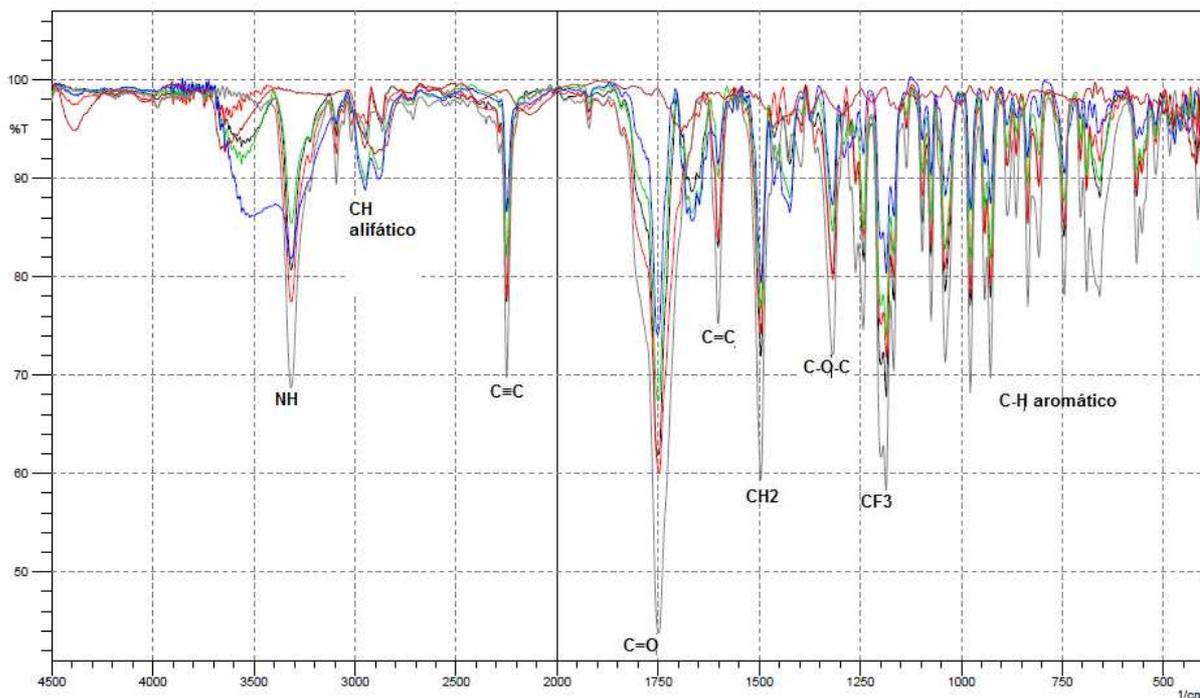
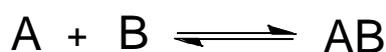


Figura 34. Espectros de I.V. em sobreposição: EFA (cinza), PVP (vinho), EFA:PVP 1:1 (azul), EFA:PVP 1:0,5 (verde), EFA:PVP 1:0,25 (preto) e EFA:PVP 1:0,5 mistura física (vermelho).

A análise dos espectros de RMN de ^1H (Figura 35) das misturas em CD_3CN , não apresentou mudanças significativas de deslocamento químico do EFA na presença da PVP nas proporções estudadas (Tabela 15), exceto para o hidrogênio H-15. Foi observado que o hidrogênio H-15 sofre em média uma variação de deslocamento $\Delta\delta \cong 0,13$ ppm. Como visto no item 5.1.3 em solução o deslocamento químico do hidrogênio H-15 do EFA envolvido na ligação de hidrogênio intermolecular responsável pela manutenção do estado dimérico sofre influência do fenômeno de solvatação, do efeito da concentração e da temperatura e que os deslocamentos químicos observados são uma média dos estados livres (A e B) e associados (AB) das espécies presentes, pode-se supor que o mesmo esteja ocorrendo com o EFA e PVP.



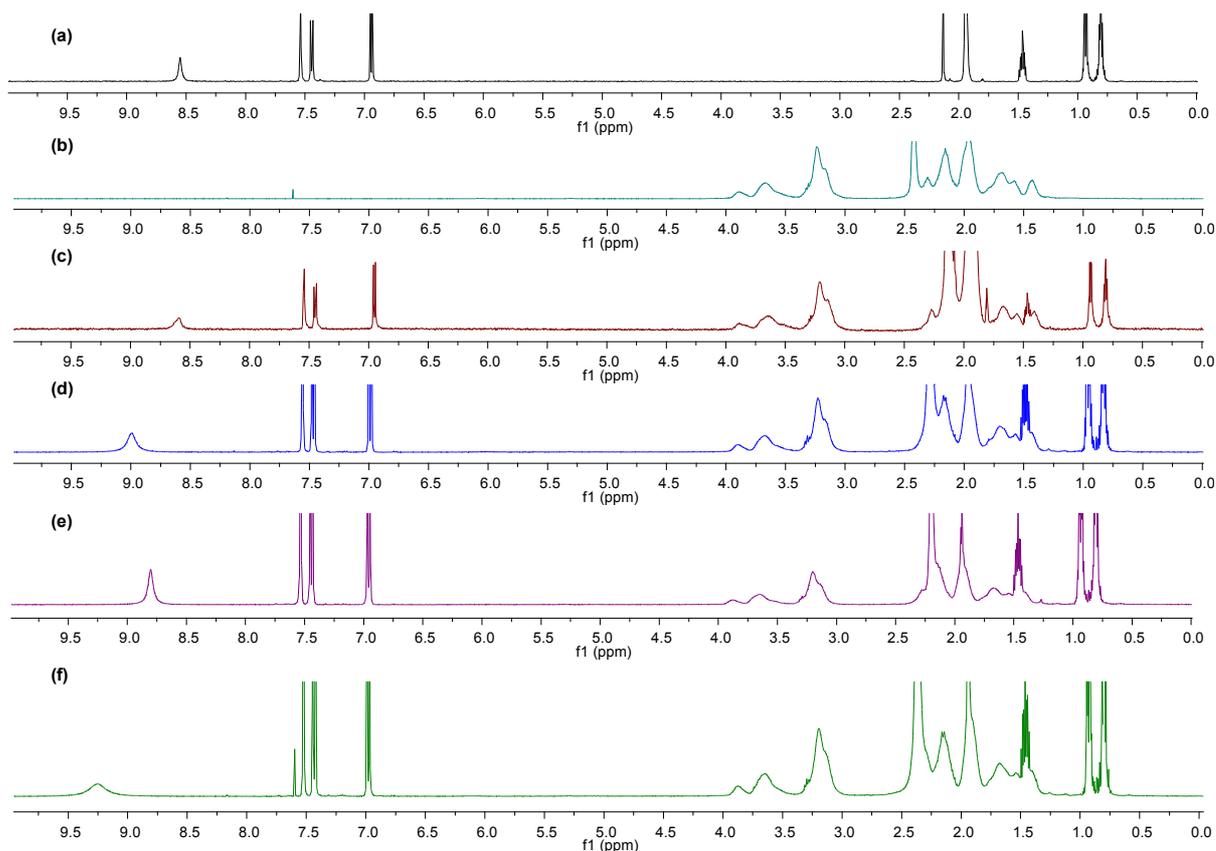


Figura 35. Espectros de RMN¹H em CD₃CN: (a) EFA puro, (b) PVP pura, (c) EFA:PVP (1:1)^a, (d) EFA:PVP (1:0,5)^a, (e) EFA:PVP (1:0,25)^a e (f) EFA:PVP (1:0,5)^b ^acomicronizado, ^bmistura física.

Uma outra observação é que esperava-se que o aumento da quantidade do EFA na mistura EFA:PVP, aumentaria as interações intermoleculares pelo efeito da concentração o que acarretaria, principalmente, mudanças significativas dos deslocamentos químicos de ¹H. Esperava-se que no caso do hidrogênio H-15 haveria uma desblindagem gerando deslocamentos químicos maiores, entretanto só houve uma mudança de apenas $\Delta\delta \cong 0,04$ ppm. Todavia, na mistura física EFA:PVP (1:0,5) o hidrogênio H-15 indica estar mais envolvido nas ligações de hidrogênio sofrendo uma $\Delta\delta = 0,16$ ppm.

O mesmo comportamento foi observado em CDCl₃ (Tabela 16) e mais uma vez na mistura física EFA:PVP (1:0,5), o hidrogênio H-15 indica estar mais envolvido nas ligações de hidrogênio sofrendo uma $\Delta\delta = 0,20$ ppm.

Tabela 15. Deslocamentos químicos de ^1H em CD_3CN das misturas EFA:PVP a 25 °C.

δ ^1H (ppm)				
Posição	EFA: PVP (1:0, 25) ^a	EFA: PVP (1:0, 5) ^a	EFA: PVP (1:1) ^a	EFA: PVP (1:0, 5) ^b
5	6,95 (d, $J = 8,6$ Hz, 1H)	6,95 (d, $J = 8,6$ Hz, 1H)	6,95 (d, $J = 8,6$ Hz, 1H)	6,95 (d, $J = 8,6$ Hz, 1H)
6	7,44 (dd, $J=8,6$; 2,3 Hz, 1H)	7,45 (dd, $J = 8,6$ Hz; 2,3 Hz, 1H)	7,45 (dd, $J = 8,6$ Hz; 2,3 Hz, 1H)	7,45 (dd, $J = 8,6$ Hz; 2,3 Hz, 1H)
8	7,54 (d, $J=1,6$ Hz, 1H)	7,54 (d, 1,6 Hz, 1H)	7,54 (s, 1H)	7,54 (d, 1,6 Hz, 1H)
11	1,47 (tt, $J=8,3$; 5,0 Hz, 1H)	1,47 (tt, $J= 8,3$ Hz, 5,0 Hz, 1H)	1,46 (tt, $J= 8,4$; 5,1 Hz, 1H)	1,46 (tt, $J= 8,3$ Hz, 5,0 Hz, 1H)
12	0,82-0,79 (m, 2H)	0,82 – 0,79 (m, 2H)	0,83-0,82 (m, 2H)	0,82 – 0,79 (m, 2H)
13	0,93 (dd, $J = 8,4$; 3,2 Hz, 2H)	0,93 (dd, $J= 8,4$; 3,2 Hz, 2H)	0,93 (dd, $J= 8,4$; 3,2 Hz, 2H)	0,93 (dd, $J= 8,4$; 3,2 Hz, 2H)
15	8,64 (s, 1H)	8,65 (s, 1H)	8,59 (s, 1H)	8,71 (s, 1H)
1'	3,39-3,02 (m, 2H)	3,42 – 2,91 (m, 2H)	3,35-3,02 (m, 2H)	3,35 – 2,95 (m, 4H)
2'	3,95-3,44 (m, 1H)	3,94 – 3,44 (m, 1H)	3,97-3,42 (m, 1H)	3,98 – 3,43 (m, 3H)
3'	2,15 (s, 4H)	2,15 (s, 4H)	2,13 (s, 4H)	2,16 (s, 4H)
4'	1,43-1,35 (m, 1H)	1,42 – 1,35 (m, 1H)	1,43-1,32 (m, 1H)	1,43 – 1,32 (m, 1H)
5'	1,81-1,51 (m, 1H)	1,78 – 1,52 (m, 1H)	1,82-1,50 (m, 3H)	1,82 – 1,51 (m, 3H)

^acomicronizado, ^bmistura física.

Tabela 16. Deslocamentos químicos de ^1H em CDCl_3 das misturas EFA:PVP a 25 °C.

δ ^1H (ppm)				
Posição	EFA: PVP (1:0,25) ^a	EFA: PVP (1:0,5) ^a	EFA: PVP (1:1) ^a	EFA: PVP (1:0,5) ^b
5	6,82 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H)	6,84 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H)	6,83 (d, $J = 8,6$ Hz, 1H)	6,83 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H)
6	7,37 (dd, $J = 8,5; 1,8$ Hz, 1H)	7,36 (dd, $J = 8,5$ Hz; 1,8 Hz, 1H)	7,36 (dd, $J = 8,5$ Hz; 2,1 Hz, 1H)	7,36 (dd, $J = 8,5$ Hz; 2,1 Hz, 1H)
8	7,50 (s, 1H)	7,50 (s, 1H)	7,50 (s, 1H)	7,50 (s, 1H)
11	1,41 (ddd, $J = 10,1; 8,3; 5,0$ Hz, 1H)	1,40 (ddd, $J = 13,2; 8,4; 5,0$ Hz, 1H)	1,40 (ddd, $J = 13,3; 8,4; 5,1$ Hz, 1H)	1,40 (ddd, $J = 10,1; 8,3; 5,0$ Hz, 1H)
12	0,89-0,83 (m, 1H)	0,89 – 0,81 (m, 1H)	0,89-0,84 (m, 1H)	0,88 – 0,83 (m, 1H)
13	0,97-0,91 (m, 1H)	0,97-0,90 (m, 1H)	0,96-0,91 (m, 1H)	0,97-0,91 (m, 1H)
15	8,64 (s, 1H)	8,73(s, 1H)	8,55 (s, 1H)	8,75 (d, $J = 23,6$ Hz, 1H)
1'	3,43-3,04 (m, 2H)	3,40-3,00 (m, 2H)	3,47-3,03 (m, 2H)	3,45-2,97 (m, 2H)
2'	4,06-3,54 (m, 1H)	4,08-3,50 (m, 1H)	4,07-3,49 (m, 1H)	4,06-3,50 (m, 1H)
3'	2,54-2,16 (m, 2H)	2,54-2,14 (m, 2H)	2,51-2,14 (m, 2H)	2,51-2,13 (m, 2H)
4'	1,85-1,52 (m, 1H)	1,82-1,52 (m, 1H)	1,79-1,49 (m, 1H)	1,87-1,65 (m, 1H)
5'	2,14-1,87 (m, 4H)	2,12-1,83 (m, 4H)	2,13-1,78 (m, 4H)	2,13-1,86 (m, 4H)

^acomicronizado, ^bmistura física.

Os espectros de RMN de ^{19}F das misturas comicronizadas EFA:PVP nas proporções (1:0,5) e (1:0,25) e na mistura física (1:0,5) não apresentaram mudanças significativas nos deslocamentos químicos. Entretanto, o espectro de RMN de ^{13}C em CD_3CN apresentou mudanças na ordem de 0,2 ppm ($\Delta\delta$) (Tabela 17) para todos os carbonos e este fato sugere que a interação entre o EFA:PVP não ocorre só via ligação de hidrogênio mas também via outros processos de interação intermoleculares como interações hidrofóbicas.

Tabela 17. Deslocamentos químicos de ^{13}C em CD_3CN das misturas.

Posição	$\delta^{13}\text{C}$, ppm					
	EFA	PVP	EFA: PVP 1:0,25 ^a	EFA: PVP 1:0,5 ^a	EFA: PVP 1:1 ^a	EFA: PVP 1:0,5 ^b
1	147,9	-	147,6	147,7	147,8	147,7
2	79,7	-	79,5	79,1	79,4	79,5
3	135,9	-	135,7	136,1	136,0	135,8
4	129,3	-	129,1	129,4	128,9	129,0
5	117,7	-	117,5	117,8	117,8	117,6
6	133,2	-	133,0	133,2	132,9	132,9
7	116,1	-	116,0	116,2	115,9	115,9
8	128,6	-	128,4	128,7	128,2	128,3
9	67,2	-	67,1	67,4	67,1	67,1
10	97,2	-	96,9	97,2	96,8	96,9
11	-0,02	-	-0,21	-0,20	-0,21	-0,20
12	9,4	-	9,2	9,5	9,2	9,2
13	9,4	-	9,2	9,5	9,2	9,2
14	123,9	-	123,7	123,7	123,7	123,7
1'	-	37,9-32,2	38,7-27,1	37,6-31,8	37,6-31,8	37,5-31,8
2'	-	46,7-42,5	50,5-39,8	46,5-42,1-	47,2-42,0	47,6-42,1
3'	-	46,7-42,5	50,5-39,8	46,5-42,1	47,2-42,0	47,6-42,1
4'	-	19,5	19,2	19,2	19,1	19,2
5'	-	37,9-32,2	38,7-27,1	37,6-31,8	37,6-31,8	37,5-31,8
6'	-	176,1	175,8	175,9	176,1	176,2

^acomicronizado; ^bmistura física.

Entretanto, sabe-se que os parâmetros mais adequados para o estudo de interações intermoleculares são a relaxação nuclear (T_1), o Efeito Overhauser Nuclear (NOE) e os coeficientes de difusão molecular (D).

O fenômeno de relaxação spin-rede ou longitudinal (T_1) é um processo onde o equilíbrio é restabelecido entre dois estados de spin no campo magnético, em resposta a uma perturbação, ocorrendo troca de energia com o meio (rede). Para um núcleo de spin 1/2, existem somente interações magnéticas e os três principais mecanismos são: interação dipolo-dipolo, deslocamento químico anisotrópico e a interação spin-rotação. Em sistemas de spin em solução, a interação dipolar tende a ser o mecanismo de relaxação mais importante. Para que ocorra a restauração do equilíbrio, estes núcleos transferem energia em forma de calor para o meio e esta troca depende da existência de movimentos moleculares. A idéia de difusão baseia-se no princípio de que o movimento molecular depende do tempo de reorientação molecular, o qual é muito sensível a mudanças estruturais e a fenômenos relacionados à ligação e associação intermolecular.

O método que vem sendo utilizado para o estudo de interações do tipo intermolecular é a seqüência de pulsos inversão-recuperação (IR) (VOLD 1968) (Figura 36). Como o próprio nome diz, esta seqüência está baseada na inversão da magnetização por um pulso de 180°_x e sua recuperação durante diferentes intervalos de tempo τ , sendo usado um pulso de 90°_x para a detecção do sinal.

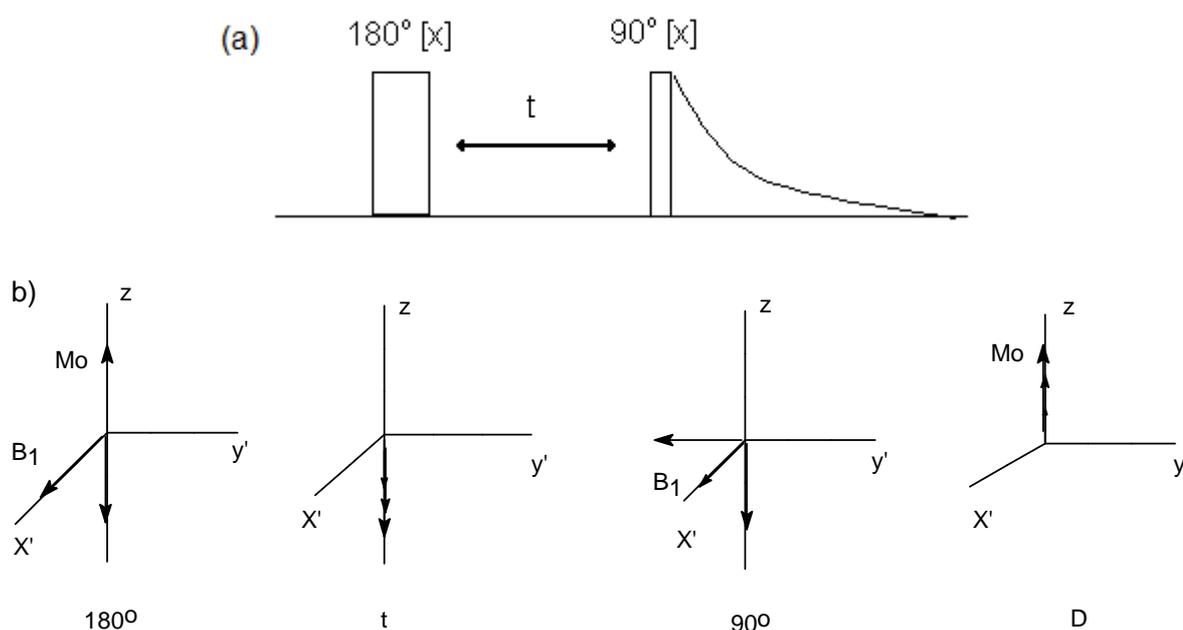


Figura 36. a) Seqüência IR. b) Comportamento do vetor magnetização.

Como a restauração do equilíbrio no sistema depende da energia trocada entre os spins, os processos de interação intermolecular e intramolecular são capazes de alterar e/ou influenciar o tempo que um spin leva para retornar ao estado fundamental (relaxação nuclear - T_1). Neste caso, os mecanismos de relaxação dominantes são; a velocidade de relaxação dipolar (ρ_{ij}) e a velocidade de relaxação cruzada (σ_{ij}) entre dois spins (ij).

$$1 / T_1^{NS} = R_1^{NS} = \sum_j \rho_{ij} + \sum_j \sigma_{ij} (j \neq i)$$

Onde o termo R_1 é simplesmente a inversão do tempo de relaxação spin-rede T_1 .

Assim, com o intuito de confirmar se ocorre interação intermolecular entre o EFA e a PVP foram realizados experimentos de tempos de relaxação T_1 . A presença de uma ligação intermolecular entre o EFA e o PVP acarretaria uma diminuição nos movimentos rotacionais e translacionais de ambas as espécies em relação aos mesmos não associados e por conseqüência mudança nos valores de T_1 (FREEMAN *et al.*, 1974).

Os resultados obtidos das misturas foram tabulados e comparados com os resultados de $R_1(1/T_1)$ do EFA como mostra a tabela 18.

Tabela 18. Velocidade de Relaxação spin-rede não seletiva (R_1^{NS}) dos hidrogênios do EFA puro e no EFA:PVP em CD_3CN .

Posição	$R_1^{NS} (1/T_1)$			
	EFA ^a	EFA:PVP (1:1) ^a	EFA:PVP (1:0,5) ^a	EFA:PVP (1:0,25) ^a
5	0,282	0,526	0,298	0,294
6	$1,78 \times 10^{-3}$	0,294	0,257	0,218
8	0,216	0,347	0,165	0,161
11	0,222	0,944	$3,09 \times 10^{-3}$	0,093
12	0,330	0,325	0,258	0,269
13	$1,45 \times 10^{-3}$	0,266	0,260	0,264
15	0,322	0,351	0,243	0,208
R_1^{NS}	0,196	0,436	0,211	0,215

^acomicronizado.

Nos estudos de velocidade de relaxação (R_1^{NS}) do EFA nas misturas EFA:PVP comicronizadas, observa-se claramente um aumento na velocidade de relaxação indicando que ocorre uma associação do EFA com a PVP, principalmente com a mistura EFA:PVP (1:1) comicronizada, $R_1^{NS} = 0,436$. Observou-se também que os hidrogênios H-5, H-6 e H-13 sofrem aumento considerável dos valores de R_1^{NS} (Tabela 18) que confirma uma mudança do ambiente químico destes hidrogênios que neste caso, deve estar associada a presença do polímero PVP. A partir da estrutura do EFA pode-se supor que este fármaco atuaria como doador de hidrogênio através do átomo de nitrogênio ocorrendo a interação com a PVP através do oxigênio carbonílico ou do nitrogênio pirrólico. Entretanto, os resultados obtidos indicam que os hidrogênios aromáticos do EFA também participam do processo de interação.

A figura 37 apresenta as curvas de DSC do EFA não processado e micronizado, do PVP não processado e micronizado, e das misturas EFA:PVP comicronizadas. Como discutido no item 5.1, a curva DSC do EFA apresenta um evento endotérmico a 136,7 °C devido a fusão, enquanto a curva DSC do PVP apresenta um pico endotérmico entre 90-100°C. Entre tanto as curvas de DSC das misturas apresentam alterações, primeiro no evento endotérmico do PVP com mudanças na área do pico e da temperatura e segundo, no evento de fusão do fármaco que desaparece por completo, o que caracteriza, a princípio, uma interação ou reação química do fármaco com o PVP. Confirmando os resultados obtidos por RMN que indicam uma interação do EFA:PVP.

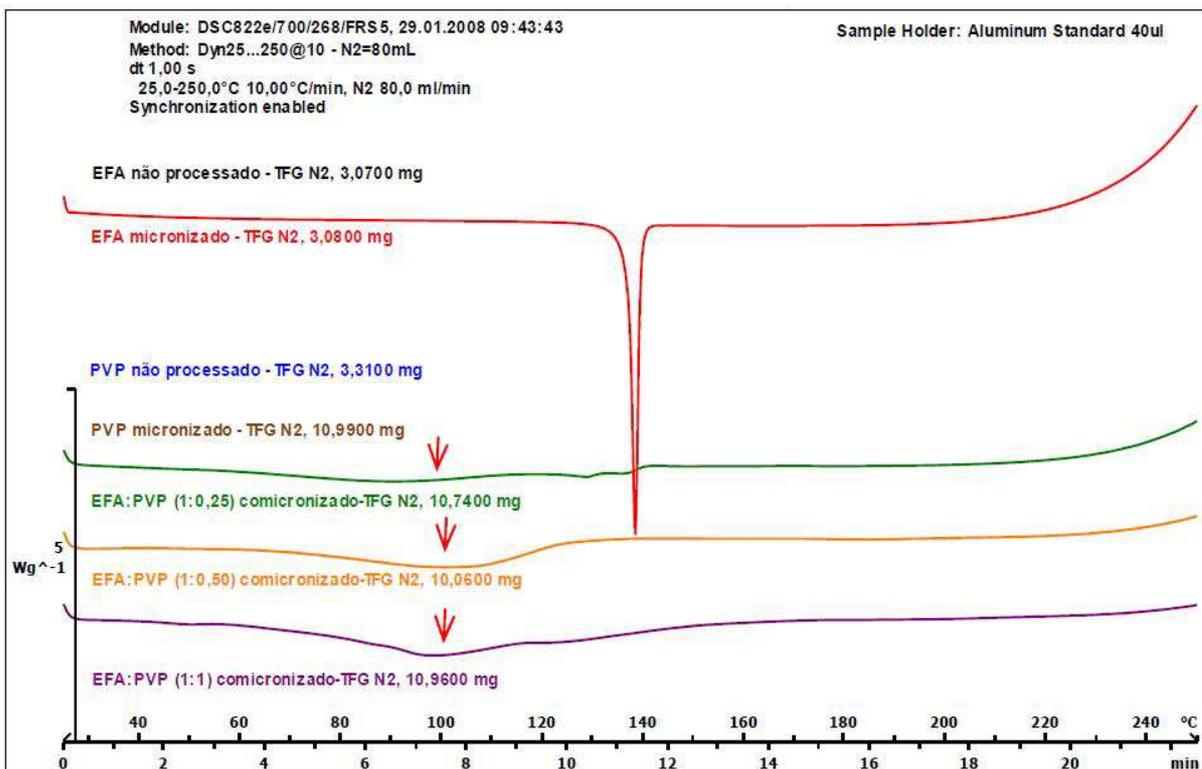


Figura 37. Curvas de DSC do EFA e PVP processados e não processados e das misturas comicronizadas (COSTA, 2011).

Este comportamento da PVP já foi observado com outros fármacos como o captopril, o ibuprofeno e o cetoprofeno. De acordo com a literatura, este comportamento ocorre devido a uma forte interação sólido-sólido sob aquecimento (STULZER *et al.*, 2008). Esta observação não significa incompatibilidade do EFA com a PVP mas sim uma dissolução do fármaco na PVP.

Como descrito no item 2.2 (página 24) a RMNs é uma ferramenta muito poderosa na caracterização de miscibilidade entre compostos (OH, 2009). Assim, foram adquiridos espectros de RMN de ^{13}C CP/MAS das misturas EFA:PVP comicronizadas (1:1), (1:0,5) e (1:0,25) e da mistura física (1:0,5) de acordo com as condições do item 4 (página 38).

Na figura 38, é possível observar que no espectro das misturas comicronizadas e física do EFA:PVP, as regiões características do fármaco e do polímero continuam bem definidas, o que demonstra que não ocorreram mudanças na estrutura do fármaco nem do polímero.

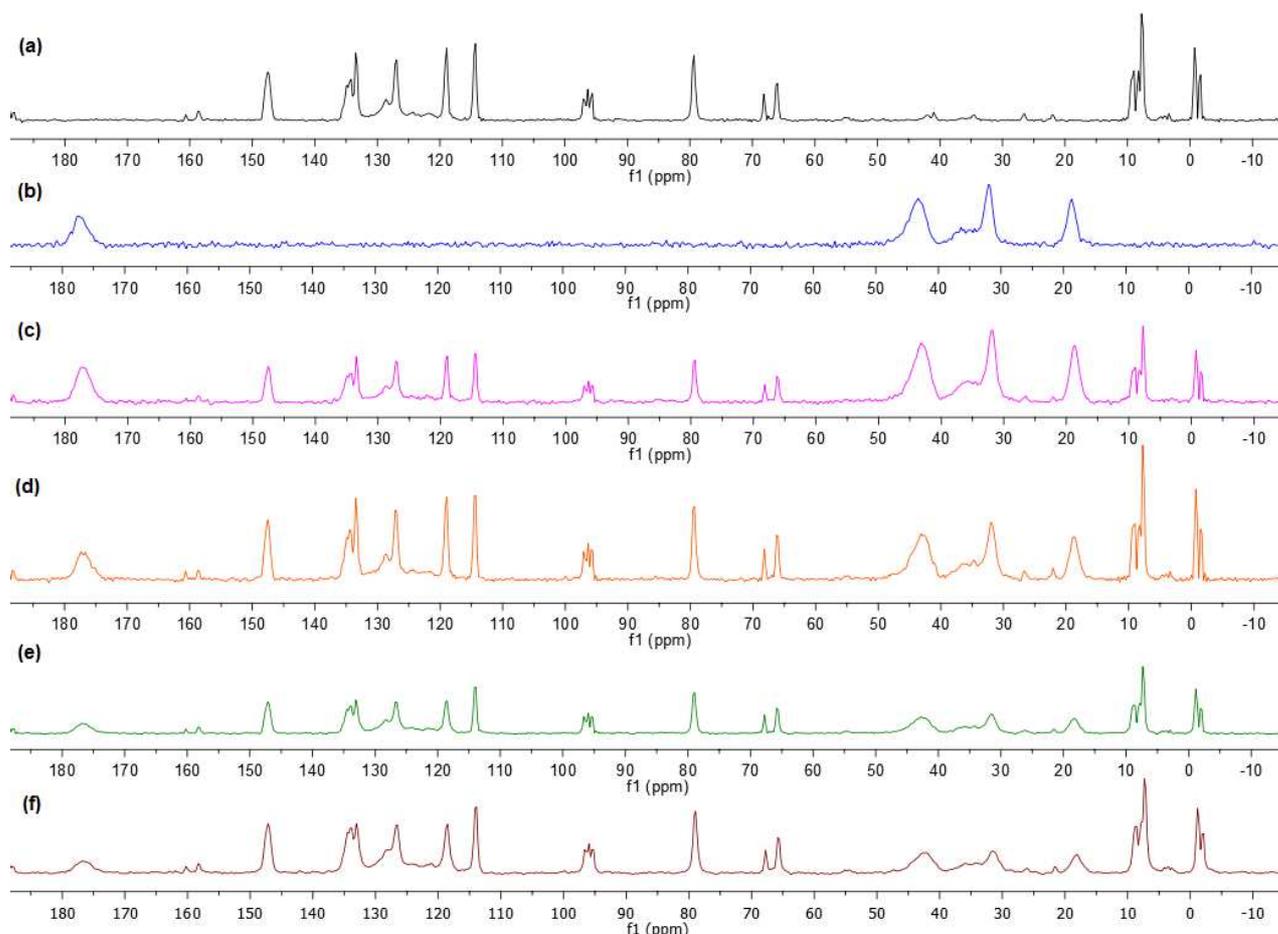


Figura 38. Espectros de RMNs ^{13}C CP/MAS: (a) EFA puro, (b) PVP pura, (c) EFA:PVP (1:1)^a, (d) EFA:PVP (1:0,5)^a, (e) EFA:PVP (1:0,5)^b e (f) EFA:PVP (1:0,25)^a.
^acomicronizado, ^bmistura física.

Entretanto, foram observadas mudanças nos deslocamentos químicos de todos os sinais dos carbonos (Tabela 19) tanto do fármaco ($\Delta\delta \cong 0,40$ ppm) quanto do polímero ($\Delta\delta \cong 0,73$ ppm). Sendo a mudança mais significativa para os carbonos $\text{C}_{1'}$, $\text{C}_{2'}$ e $\text{C}_{6'}$ do polímero da PVP. Como não houve o desaparecimento dos sinais do EFA na matriz polimérica, e sim mudanças no deslocamento químico pode-se supor que há a interação entre o fármaco e o polímero. Além disso, o alargamento de linha observado nas misturas: física EFA:PVP (1:0,5) e comicronizada (1:0,25) sugere que nestes casos a dispersão não é completa. Corroborando com a suposição de que possa estar ocorrendo uma dissolução parcial do fármaco na PVP, e principalmente a formação de uma ligação de hidrogênio entre o hidrogênio do grupo $-\text{NH}$ do EFA e o oxigênio da carbonila da PVP.

Tabela 19. Deslocamentos químicos de RMNs ^{13}C CP/MAS das misturas EFA:PVP.

Posição	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)					
	EFA	PVP	EFA:PVP (1:0,25) ^a	$\Delta \delta^{13}\text{C}$ (ppm)	EFA:PVP (1:0,5) ^b	$\Delta \delta^{13}\text{C}$ (ppm)
1	147,5	-	147,1	0,4	147,1	0,4
2	79,5	-	79,0	0,5	79,0	0,5
3	134,3	-	133,9	0,4	133,9	0,4
	134,9		134,4	0,5	134,4	0,5
4	128,6	-	128,2	0,4	128,2	0,4
5	119,0	-	118,6	0,4	118,6	0,4
6	133,4	-	133,0	0,4	133,0	0,4
7	114,4	-	114,0	0,4	114,0	0,4
8	127,1	-	126,6	0,5	126,6	0,5
9	68,2	-	67,8	0,4	67,8	0,4
	66,2		65,7	0,5	65,7	0,5
10	97,0	-	96,6	0,4	96,6	0,4
	96,4		96,0	0,4	96,0	0,4
	95,8		95,3	0,5	95,3	0,5
11	-0,7	-	-1,2	0,5	-1,2	0,5
	-1,5		-2,0	0,5	-2,0	0,5
12	9,1	-	8,7	0,3	8,7	0,4
	8,4		7,3	0,5	7,8	0,6
	7,8		7,3		7,3	0,5
13	9,1	-	8,7	0,3	8,7	0,4
	8,4		7,3	0,5	7,8	0,6
	7,8		7,3		7,3	0,5
14	124,6	-	124,2	0,4	124,1	0,5
	121,7		121,1	0,6	121,6	0,1
1', 5'	-	31,9	31,5	0,4	31,5	0,4
2', 3'	-	43,2	42,1	1,1	42,7	0,5
4'	-	18,7	18,1	0,6	18,2	0,5
6'	-	177,4	176,7	0,7	176,9	0,5

^acomicronizado, ^bmistura física.

6 CONCLUSÕES

As evidências experimentais e teóricas obtidas neste trabalho indicam que a forma dimérica do EFA é a mais estável, e que as ligações de hidrogênio intermoleculares entre o grupo –NH de uma molécula e o oxigênio carbonílico de outra são responsáveis pela manutenção do estado dimérico, conforme encontrado na fase sólida por DRX e confirmado por modelagem molecular e RMN de sólidos.

Os estudos revelaram que a força da ligação de hidrogênio é afetada por variações na concentração, pela temperatura e pela polaridade do solvente. Sendo que tanto a temperatura como a natureza do solvente pode alterar o equilíbrio na formação dimérica do EFA.



Os resultados também mostraram que nas misturas do EFA:PVP comicronizadas e na mistura física, a estrutura do fármaco e do polímero são mantidas e que ocorre dissolução parcial do fármaco na matriz polimérica nas misturas (1:0,25) comicronizadas e (1:0,5) física. Enquanto os resultados do EFA:PVP comicronizado (1:1) indicam que ocorre uma interação muito forte entre o fármaco e a PVP.

Os dados obtidos mostraram que a RMN, como esperado, é uma ferramenta poderosa para avaliar a integridade e estabilidade de fármacos nos processos de formulações farmacêuticas podendo se confirmar como técnica fundamental para caracterizar este tipo de estrutura.

7 PERSPECTIVAS

Os resultados obtidos neste trabalho serão ampliados através da aplicação das diversas metodologias que a RMN possui para avaliar o comportamento da natureza e intensidade das interações intermoleculares. Para tal serão medidas as velocidades de relaxação seletiva (R_1^{SEL}) e os coeficientes de difusão (D) dos componentes puros e na mistura e determinado o tempo de correlação dos componentes puros e associados. Outro aspecto que poderia ser de interesse é o estudo das misturas por RMN de sólidos, visando determinar distâncias interatômicas com REDOR ou ainda a mobilidade dos componentes nas misturas no estado sólido.

Além disso, seria conveniente realizar estudos estruturais do EFA na forma cristalina por DRX, para confirmar a semelhança entre a estrutura cristalina e em solução dos EFAs recristalizados de diferentes formas e a influência destas estruturas na interação com a PVP e por conseguinte no processo de dissolução do fármaco.

Os cálculos teóricos deverão ser aprimorados para tentar mimetizar de forma mais realista os dados de RMN em solução. Para tal será necessário estudar mais detalhadamente as densidades eletrônicas dos átomos envolvidos na ligação de hidrogênio intermolecular. Além de analisar os sistemas EFA:PVP no vácuo e em solução.

8 REFERÊNCIAS

AGUIAR, M.R.M.P.; GEMAL, A.L.; SAN GIL, R.A.S. Caracterização de polimorfismo em fármacos por ressonância magnética nuclear no estado sólido. **Química Nova**, v. 22, n. 4, p. 553-564, 1998.

AGUIAR, D.L.M.; SAN GIL, R.A.S; BORRE, L.B.; MARQUES, M.R.C.; GEMAL, A.L. Evaluation of polymorphs in cephalexin medicines by ^{13}C solid state NMR. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 3, n. 3, p. 293-298, 2011.

ALDERMAN, D.W.; Mc GEORGE, G., HU, J.Z.; PUGMIRE, R.J.; GRANT, D.M. A sensitive, high resolution magic angle turning experiment for measuring chemical shift tensor principal values. **Molecular Physics**, v. 95, p. 1113–1126, 1998.

ALTIERI, A.S.; HINTON, D.P., BYRD, R.A. Association of Biomolecular Systems via Pulsed Field Gradient NMR Self-Diffusion Measurements. **J. Am. Chem. Soc.**, v. 117, n. 28, p. 7566-7567, 1995.

ANTZUKIN, O.N.; LEE, Y.K.; LEVITT, M.H. ^{13}C and ^{15}N - Chemical Shift Anisotropy of Ampicillin and Penicillin-V Studied by 2D-PASS and CP/MAS NMR. **Journal of Magnetic Resonance**, v.135, p. 144-155, 1998.

ANTZUKIN, O.N.; SHEKAR, S.C.; LEVITT, M.H. Two-dimensional sideband separation in magic-angle-spinning NMR. **Journal of Magnetic Resonance**, v. 115, p. 7-19, 1995.

BARZOUKAS, M. et al. Intramolecular Charge Transfer in Elongated Donor Aceptor Conjugated Polyenes, **Chem. Phys. Lett.**, v. 243, p. 526-532, 1997.

BOCCHI, E.A. et al. Levosimendana em pacientes com insuficiência cardíaca descompensada: eficácia em uma coorte brasileira. Resultados do estudo BELIEF. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 90, n. 3, p. 201-210, 2008.

BARSUKOV, I.L. et al. The Conformation of Coenzyme A Bound to Chloramphenicol Acetyltransferase Determined by Transferred NOE Experiments. **Journal of Molecular Biology**. v. 262, n. 4, p. 543-558, 1996.

BLOCH, D.W.; SPEISER, P.P. Solid dispersions fundamentals and examples. **Pharm. Acta Helv.**, v. 62, n. 1, p. 23-27, 1987.

BLOEMBERGEN, N.; PRUCELL, E.M.; POUND, R.V. Relaxation Effects in Nuclear Magnetic Resonance Absorption. **Phys. Rev.**, v. 73, n. 7, p. 679-712, 1948.

BODENHAUSEN, G., FREEMAN, R., MORRIS, G.A. Simple Pulse Sequence for Selective Excitation in Fourier Transform NMR. **Journal of Magnetic Resonance**, v. 23, n. 1, p. 171-175, 1976.

BRITTO, M.A.F.O.; JÚNIOR, C.S.N; DOS SANTOS, H.F. Análise estrutural de ciclodextrinas: um estudo comparativo entre métodos teóricos clássicos e quânticos. **Química Nova**, v. 27, p. 882-888, 2004.

BYRN, S. et al. Pharmaceutical solids: A strategic approach to regulatory considerations. **Pharm Res**, v. 12, p. 945-954, 1995.

CAPUCHO, H.C.; MASTROIANNI, P.C.; CUFFINI, S. Farmacovigilância no Brasil: a relação entre polimorfismo de fármacos, efetividade e segurança dos medicamentos. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 29, n. 3, p. 277-283, 2008.

CARIGNANI, E.; BORSACCHI, S.; GEPPI, M. Dynamics by Solid-State NMR: Detailed Study of Ibuprofen Na Salt and Comparison with Ibuprofen. **The Journal of Physical Chemistry**, v. 115, p. 8783-8790, 2011.

CARVALHO, E.M. et al. Formation of p-cresol:piperazine complex in solution monitored by spin–lattice relaxation times and pulsed field gradient NMR diffusion measurements. **Journal of Magnetic Resonance**, v. 164, n. 2, p. 197-204, 2003.

CHADHA, R.; KAPOOR, V.K.; KUMAR, A. Analytical techniques used to characterize drug-polyvinylpyrrolidone systems in solid and liquid states – An overview. **Journal of Scientific & Industrial Research**, v. 65, p. 459-469, Jun. 2006.

CHAUMEIL, J.C. Micronisation: a method of improving the bioavailability of poorly soluble drugs. **Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology**, v. 20, p. 211-215, 1998.

CHEN, A.; SHAPIRO, M.J. NOE Pumping. 2. A High-Throughput Method To Determine Compounds with Binding Affinity to Macromolecules by NMR. **J. Am. Chem. Soc.**, v. 122, n. 2, p. 414-415, 2000.

CHIENG, N.; RADES, T.; AALTONEN, J. An overview of recent studies on the analysis of pharmaceutical polymorphs. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 55, p. 618-644, 2011.

CHIOU, W. L., RIEGELMAN, S. Pharmaceutical Applications of Solid Dispersion Systems. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 60, n. 9, p. 1281, 1971.

CIRRI, M. et al. Characterization of ibuprofen binary and ternary dispersions with hydrophilic carriers. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 30, n. 1, p. 65-74, 2004.

COMMITTEE ON PEDIATRIC AIDS, SECTION ON INTERNATIONAL CHILD HEALTH. Increasing Antiretroviral Drug Access for Children with HIV Infection. **Official Journal of the American Academy of Pediatrics**, v. 119, n. 4, p. 838-845, 2007.

COSTA, M.A. **Desenvolvimento e avaliação de sistemas incrementadores de dissolução de efavirenz**. 2011. 143f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - UFRJ, Faculdade de Farmácia, Rio de Janeiro, 2011.

CUFFINI, S. et al. (S)-6-Chloro-4-cyclopropylethynyl-4-trifluoromethyl-1H-3,1-benzoxazin-2(4H)-one. **Acta Crystallographica Section E: Structure Reports Online**, v. 65, p. 3170-3171, 2009.

DAHLBERG, C. et al. Polymer–drug interactions and wetting of solid dispersions. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 39, p. 125-133, 2010.

DESHMUKH, V. et al. Solubility Enhancement of Efavirenz Hydrochloride by Hot Melt Technique. **Current Pharma Research**, v. 1, n. 4, p. 320-336, 2011.

DITCHFIELD, R. Self-consistent perturbation theory of diamagnetism. **Molecular Physics**, v. 27, n. 4, p. 789-807, 1974.

DIXON, W.T. et al. Total suppression of sidebands in CPMAS C-13 NMR. **J. Magnetic Reson.**, v. 49, n. 2, p. 341-345, 1982.

EERDENBRUGH, B.V.; TAYLOR, L.S. Application of mid-IR spectroscopy for the characterization of pharmaceutical systems. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 417, p. 3-16, 2011.

EJCHART, A.; KOZMINSKI, W. NMR of Cyclodextrins and Their Complexes. In: DODZIUK, H. (Ed.). Cyclodextrins and their complexes: chemistry, analytical methods, applications. Weinheim: WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2006. NMR of Cyclodextrins and Their Complexes.

EXARCHOU, V. et al. Antioxidant activities and phenolic composition of extracts from Greek oregano, Greek sage and summer savory. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 5294–5299, 2002.

FDA. U.S. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. Waiver of In Vivo Bioavailability and Bioequivalence Studies for Immediate-Release Solid Oral Dosage Forms Based on a Biopharmaceutics Classification System. **The Biopharmaceutics Classification System (BCS) Guidance**, 2000. Disponível em: <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceCompliance>. Acesso em: 05 nov. 2010.

FEENEY, J.; BIRDSALL, B.; ROBERTS, G.C.K.; BURGEN, A.S.V. Use of transferred nuclear Overhauser effect measurements to compare binding of coenzyme analogs to dihydrofolate reductase. **Biochemistry**, v. 22, n. 3, p. 628-633, 1983.

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

FRANCESCHINI, A. et al. New covalent bonded polymer–calcium silicate hydrate composites. **Journal of Materials Chemistry**, v. 17, n. 9, p. 913-922, 2007.

FREEMAN, R. et al. Dipolar Contribution to NMR spin-lattice relaxation of protons. **Journal of Chemical Physics**, v. 61, n. 11, p. 4466-4473, 1974.

FREEMAN, R. Selective excitation in high-resolution NMR. **Chemical Reviews**, v. 91, n. 7, p. 1397-1412, 1991.

FRIEDRICH, J. et al. Shaped selective pulses for coherence-transfer experiments. **Journal of Magnetic Resonance**, v. 75, n. 2, p. 390-395, 1987.

GAUSSIAN, INC. 340 Quinnipiac St., Bldg. 40 Wallingford, CT06492, USA.

GEPPI, M. et al. Solid-State NMR Studies of Pharmaceuticals Systems. **Applied Spectroscopy Reviews**, v. 43, n. 3, p. 202-302, 2008.

GIBB, D.M. et al. Decline in mortality, AIDS, and hospital admissions in perinatally HIV-1 infected children in the United Kingdom and Ireland. **British Medical Journal**, v. 327, n. 7422, p. 1019, 2003.

GIL, V. M. S.; GERALDES, C. F. G. C.; **Ressonância Magnética Nuclear**. Lisboa, Fundação Calouste Gulbenkian, 1987.

GIRI, L. et al. ¹³C NMR and FTIR spectroscopic study of blend behavior of PVP and nano silver particles. **Scholars research library**, v. 3, n. 5, p. 624-630, 2011.

GIRON, D. Contribution of thermal methods and related techniques to the rational development of pharmaceuticals – Part 1. **Pharmaceutical Science & Technology Today**, v. 1, n.5, p. 191-199, 1998.

GONELLA, N.C. et al. Study and characterization of crystalline hydrate/polymorph forms of 5,11-dihydro-11-ethyl-5-methyl-8-(2-(1-oxido-4-quinolinyl)ethyl-6Hdipyrido(3,2-B:2',3'-E)(1,4)diazepin-6-one by solid-state NMR and solution NMR. **Journal of Pharmaceutical and Biomedichal Analysis**, v. 51, p. 1047-1053, 2010.

GUEDES, F.L. et al. Solid dispersions of imidazolidinedione by PEG and PVP polymers with potential antischistosomal activities. **AAPS PharmSciTech**, v. 12, n. 1, p. 401-410, 2011.

HAJDUK, P.J. One-dimensional relaxation- and diffusion-edited NMR methods for screening compounds that bind to macromolecules. **Journal of American Chemical Society**, v. 119, n. 50, p. 12257-12261, 1997.

HARRIS, R.K.; JACKSON, P.; MERWIN, L.H.; SAY, B.J.; HÄGELE, G. Perspectives in high-resolution solid-state nuclear magnetic resonance, with emphasis on combined rotation and multiple-pulse spectroscopy. **Journal of the Chemical Society, Faraday Transactions 1**, v. 84, p.3649-3672, 1988.

ICH Q6A Specifications: Test Procedures and Acceptance Criteria for New Drug Substances and New Drug Products: Chemical Substances. Disponível em: http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q6A/Step4/Q6Astep4.pdf. Acesso em: 05 nov. 2010.

ITO, A. et al. Prediction of recrystallization behavior of troglitazone/polyvinylpyrrolidone solid dispersion by solid-state NMR. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 383, n. 1-2, p. 18-23, 2009.

KAWABATA, Y. et al. Formulation design for poorly water-soluble drugs based on biopharmaceutics classification system: Basic approaches and practical applications. **International Journal of Pharmaceutics**, v.420, p. 1-10, 2011.

KOCH, W., HOLTHAUSEN, M.C. **A chemist's guide to density functional theory**. 2. ed. Weinheim: Wiley-VCH, 2001.

KROON, J. et al., Intramolecular versus intermolecular hydrogen bonding in solution. **J. Mol. Struc.**, v. 322, p. 27-31, 1994.

LIU, M. et al. Measurement of inter-proton distances from cross-relaxation rates determined by a selective null inversion recovery NMR method. **Magnetic Resonance in Chemistry**, v. 30, n. 2, p. 173-176, 1992.

LONGER, M. A.; ROBINSON, J.R. Sistema de liberação sustentada de drogas In: GENARO, A.R. *Remington Farmácia*. 17. ed. Buenos Aires: Editorial Panamericana, 1995, v.2.

LODEWYK, M.W.; SIEBERT, M.R.; TANTILLO, D.J. Computational Prediction of ¹H and ¹³C Chemical Shifts: A Useful Tool for Natural Product, Mechanistic, and Synthetic Organic Chemistry. **Chemical Reviews**, v. 112, p. 1839-1862, 2012.

LUYPAERT, J., MASSART, D.L., HEYDEN, Y.V. Near-infrared spectroscopy applications in pharmaceutical analysis. **Talanta**, v. 72, n. 3, p. 865-883, 2007.

MAHAPATRA, S.; THAKUR, T. S.; JOSEPH, S.; VARUGHESE, S.; DESIRAJU, G. R. New Solid State Forms of the Anti-HIV Drug Efavirenz. Conformational Flexibility and High Z. **Crystal Growth & Design**, v. 7, n. 10, p. 3191-3202, 2010.

MARSTON, M. et al. Estimating the net effect of HIV on child mortality in African populations affected by generalized HIV epidemics. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, v. 38, n. 2, p. 219-227, 2005.

MARQUES, M. P. et al. Enantioselective assay of nisoldipine in human plasma by chiral highperformance chromatography combined with gás chromatographic-mass spectrometry: applications to pharmacokinetics. **J. Chromatogr. B**, v. 762, p. 87-95, 2001.

MATIDA, L.H. et al. Improving survival among Brazilian children with perinatally-acquired AIDS. **Braz. J. Infect. Dis.**, Salvador, v. 8, n. 6, p. 419-423, 2004.

McCONNEL, M.S. et al. Trends in Antiretroviral Therapy Use and Survival Rates for a Large Cohort of HIV-Infected Children and Adolescents in the United States, 1989-2001. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, v. 38, n. 4, p. 488-494, 2005.

MIURA, H. et al. Stability of amorphous drug, 2-benzyl-5-(4-chlorophenyl)-6-[4-(methylthio)phenyl]-2H-pyridazin-3-one, in silica mesopores and measurement of its molecular mobility by solid-state ^{13}C NMR spectroscopy. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 40, n. 1-2, p. 61-67, 2011.

MÜLLER, R.H. et al. Nanosuspensions as particulate drug formulations in therapy: Rationale for development and what we can expect for the future. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 47, n. 1, p. 3-19, 2001.

NEWELL, M.L. et al. for the Ghent IAS Working group on HIV in women and children, 2004. Mortality among infected and uninfected infants born to HIV-infected mothers in Africa a pooled analysis. **The Lancet**, v. 364, n. 9441, p. 1236-1243, 2004.

OFFERDAHL, T.J. et al. Quantitation of crystalline and amorphous forms of anhydrous neotame using ^{13}C CPMAS NMR spectroscopy. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 94, n. 12, p. 2591-2605, 2005.

OH, T.J.; NAM, J.H.; JUNG, Y.M. Molecular miscible blend of poly(2-cyano-1,4-phenyleneterephthalamide) and polyvinylpyrrolidone characterized by two-dimensional correlation FTIR and solid state ^{13}C NMR spectroscopy. **Vibrational Spectroscopy**, v. 51, p. 15-21, 2009.

OMELCZUK, M. O.; WANG, C.; POPE, D. G. Influence of micronization on the compaction properties of an investigational drug using tableting index analysis. **European Journal Of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, 43, p. 95-100, 1997.

OPELLA, S.J.; FREY, M.H. Selection of Nonprotonated Carbon Resonances in Solid State NMR. **Journal of the American Chemical Society**, v. 101, p. 5854-5856, 1979.

OZKAN, Y. et al. Enhanced release of solid dispersions of etodolac in polyethylene glycol. **Fármaco**, v. 55, n. 6-7, p. 433-438, 2000.

PARK, J.S. et al. Solid-State Carbon NMR Characterization and Investigation of Intrinsic Dissolution Behavior of Fluconazole Polymorphs, Anhydrate Forms I and II. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, v. 58, n. 9, p. 1243-1247, 2010.

PARK, J.S. et al. Recrystallization of fluconazole using the supercritical antisolvent (SAS) process. **Int. J. Pharm.**, v. 328, n. 2, p. 152-160, 2007.

PARK, J.S. et al. Use of CP/MAS solid-state NMR for the characterization of solvate molecules within estradiol crystal forms. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 60, p. 407-412, 2005.

PARVIN, Z.M. et al. Biopharmaceutical classification of drugs using intrinsic dissolution rate (IDR) and rat intestinal permeability. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 73, p. 102-106, 2009.

PINES, A.; GIBBY, M.G.; WAUGH, J.S. Protonenhanced NMR of dilute spins in solids. **J Chem Phys**, v. 59, p. 569-590, 1973.

PROGRAMA NACIONAL DE DST/AIDS. Boletim Epidemiológico 2007. Disponível em: http://www.aids.gov.br/sites/default/files/Boletim2007internet_090108.pdf. Acesso em: 20 out. 2010.

PROGRAMA NACIONAL DE DST/AIDS. Boletim Epidemiológico 2010. Disponível em: http://www.aids.gov.br/sites/default/files/anexos/publicacao/2011/50652/resumo_analitico_dos_dados_do_boletim_epidemiol_92824.pdf. Acesso em: 20 dez. 2011.

PUDIPEDDI, M.; SERAJUDDIN, A.T.M. Trends in solubility of polymorphs. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 94, n. 5, p. 929-939, 2005.

RAW, A.S. et al. Regulatory considerations of pharmaceutical solid polymorphism in Abbreviated New Drug Applications (ANDAs). **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 56, n. 3, p. 397-414, 2004.

Relatório Global sobre a Epidemia de AIDS 2009. UNAIDS, 2009. Disponível em: <http://www.onu-brasil.org.br/doc/2009-Relatorio-Global-Aids-Sum-rio-Geral-Port.pdf>. Acesso em: 29 out. 2010.

RIDDELL, F.G.; ARUMUGAM, S.; HARRIS, K.D.M.; ROGERSON, M.; STRANGE, J.H. A ^{13}C CP/MAS NMR study of a double tert-butyl group rotation in the solid state using $T_{1\rho}$ and line shape measurements. **J. Am. Chem. Soc.**, v.113, p.1881–1885, 1993.

ROBERTS, C.G.K., Applications of NMR in drug Discovery. **Drug Discovery Today**, v. 5, n. 6, p. 230-240, 2000.

RODRIGUES, W.C.V.; SOLER, O. Licença compulsória do efavirenz no Brasil em 2007: contextualização. **Rev. Panam. Salud Pública**, v. 26, n. 6, p. 553-559, 2009.

SCHACHTER, D.M.; XIONG, J.; TIROL, G.C. Solid state NMR perspective of drug-polymer solid solutions: a model system based on poly(ethylene oxide). **International Journal of Pharmaceutics**, v. 281, p. 89-101, 2004.

SERAJUDDIN, A.T.M. Solid Dispersion of poorly water-soluble drugs: early promises, subsequent problems, and recent breakthroughs. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 88, n. 10, p. 1058-1066, 1999.

SILVERSTEIN, R.M.; WEBSTER, F.X.; KIEMLE, D.J. **Spectrometric Identification of Organic Compounds**. 7. ed. Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons, Inc., 2005.

SOARES, M. F. et al. Aplicação do DSC na identificação de misturas eutéticas de antirretrovirais. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ANÁLISE TÉRMICA E CALORIMETRIA, 4., 2010. Disponível em: <http://abrateg1.tempsite.ws/abrateg/cbrateg7/trabalhos/2471.rtf>. Acesso em: 09 ago. 2010.

SOLOMON, I. Relaxation processes in a system of 2 spins. **Physical review**, v. 99, n. 2, p. 559-565, 1955.

STEJSKAL, E.O., TANNER, J.E. Spin diffusion measurements spin echoes in the presence of a time dependent field gradient. **Journal of Chemical Physics**, v. 42, n. 1, p. 288, 1965.

STEJSKAL, E.O.; SCHAEFER, J. Magic-angle spinning and polarization transfer in proton-enhanced NMR. **J Magn Reson**, v. 28, p. 105–112, 1977.

STULZER, H.K. et al. Compatibility studies between captopril and pharmaceutical excipients used in tablets formulations. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 91, n. 1, p. 323-328, 2008.

SUDMEIER, J.L.; ANDERSON, S.E.; FRYE, J.S. Calculations of Spin Relaxation Times. **Concepts of Magnetic Resonance**, v. 2, p. 197, 1990.

TENJARLA, S. Microemulsions: an overview and pharmaceutical applications. **Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst.**, v. 16, n. 5, p. 461-521, 1999.

TIAN, F. et al. Influence of sample characteristics on quantification of carbamazepine hydrate formation by X-ray powder diffraction and Raman spectroscopy. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 66, p. 466-474, 2007.

TISHMACK, P. A.; BUGAY, D.E.; BYRN, S.R. Solid-state nuclear magnetic resonance spectroscopy – Pharmaceutical applications. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 92, n. 3, p. 441-474, 2003.

TRAPANI, G. et al. Valproic acid-hydrophilic cyclodextrin complexes and valproic acid-solid dispersions: Evaluation of their potential pharmaceutical use. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 30, n. 1, p. 53-64, 2004.

VAN DEN MOOTER, G. et al. Physical stabilization of amorphous ketoconazole in solid dispersions with polyvinylpyrrolidone K25. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 12, n. 3, p. 261-269, 2000.

VIRTANEN, T.; MAUNU, S. L. Quantitation of a polymorphic mixture of an active pharmaceutical ingredient with solid state ¹³C CPMAS NMR Spectroscopy. **International Journal of pharmaceutics**. v. 394, p. 18-25, 2010.

VOGT, M.; KUNATH, K.; DRESSMAN, J.B. Dissolution enhancement of fenofibrate by micronization, cogrinding and spray-drying: comparison with commercial preparations. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, 2007.

WARTEWIG, S.; NEUBERT, R.H.H. Pharmaceutical application of Mid-IR and Raman spectroscopy. **Advanced drug delivery reviews**. v. 57, p. 1144-1170, 2005.

WU, X.; ZILM, K.W. Complete Spectral Editing in CPMAS NMR. **Journal of Magnetic Resonance**, v. 102, p. 205-213, 1993.

YOUNG, S.D. et al. L-743,726 (DMP-266): a novel, highly potent non-nucleoside inhibitor of the human immunodeficiency virus type 1 reverse transcriptase. **Antimicrob. Agents Chemother**, v. 39, n. 12, p. 2602-2605, 1995.

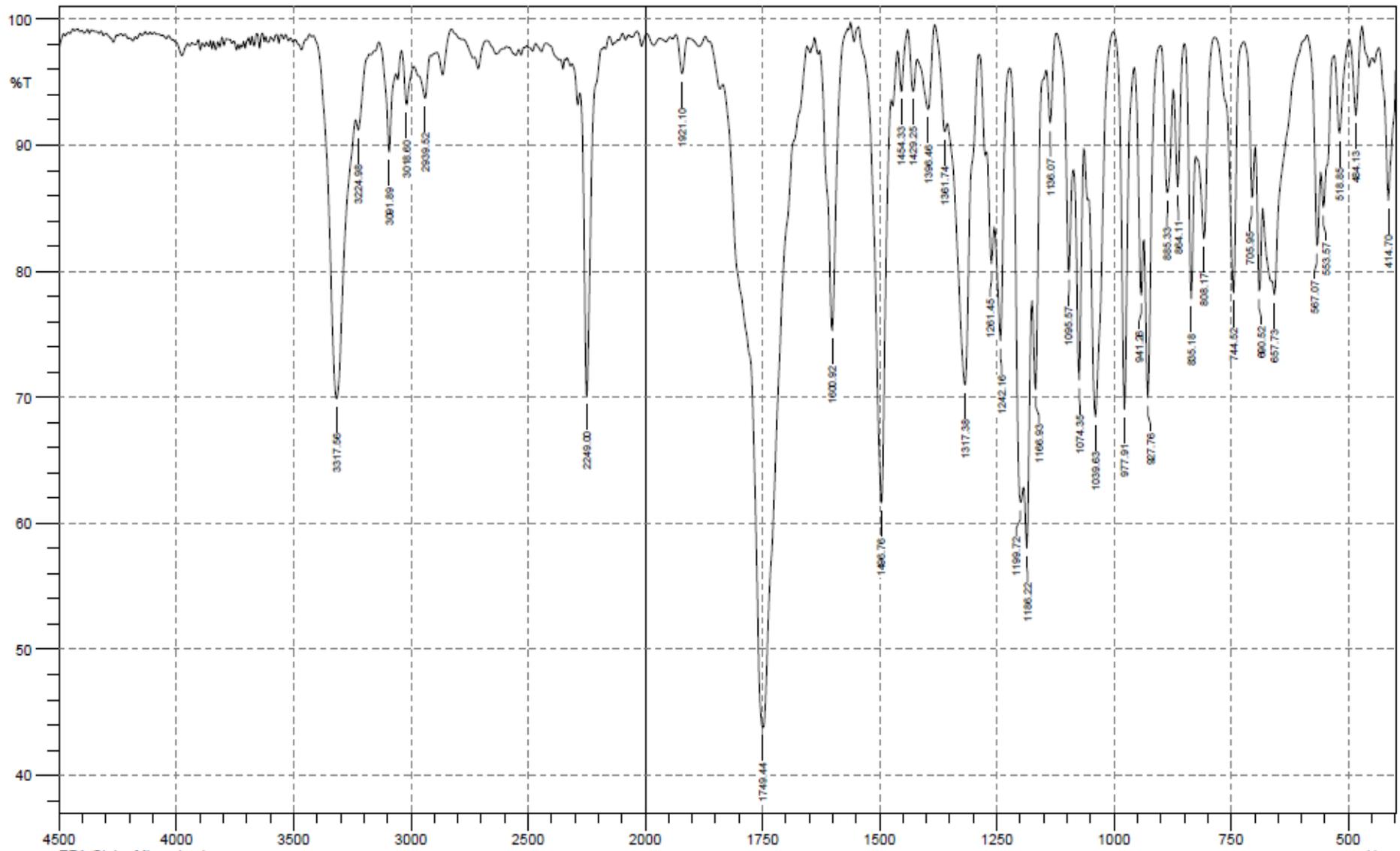
XIA, D., CUI, F., PIAO, H., CUN, D., JIANG, Y., OUYANG, M., QUAN, P. Effect of crystal size on the in vitro dissolution and oral absorption of nitrendipine in rats. **Pharmaceutical Research**, v. 27, 1965–1976, 2010.

ZHANG, P. et al. The effect of PVP-b-PMAA block copolymer on morphologies control of calcium carbonate. **Colloid & Polymer Science**, v. 286, n. 10, p. 1135-1141, 2011.

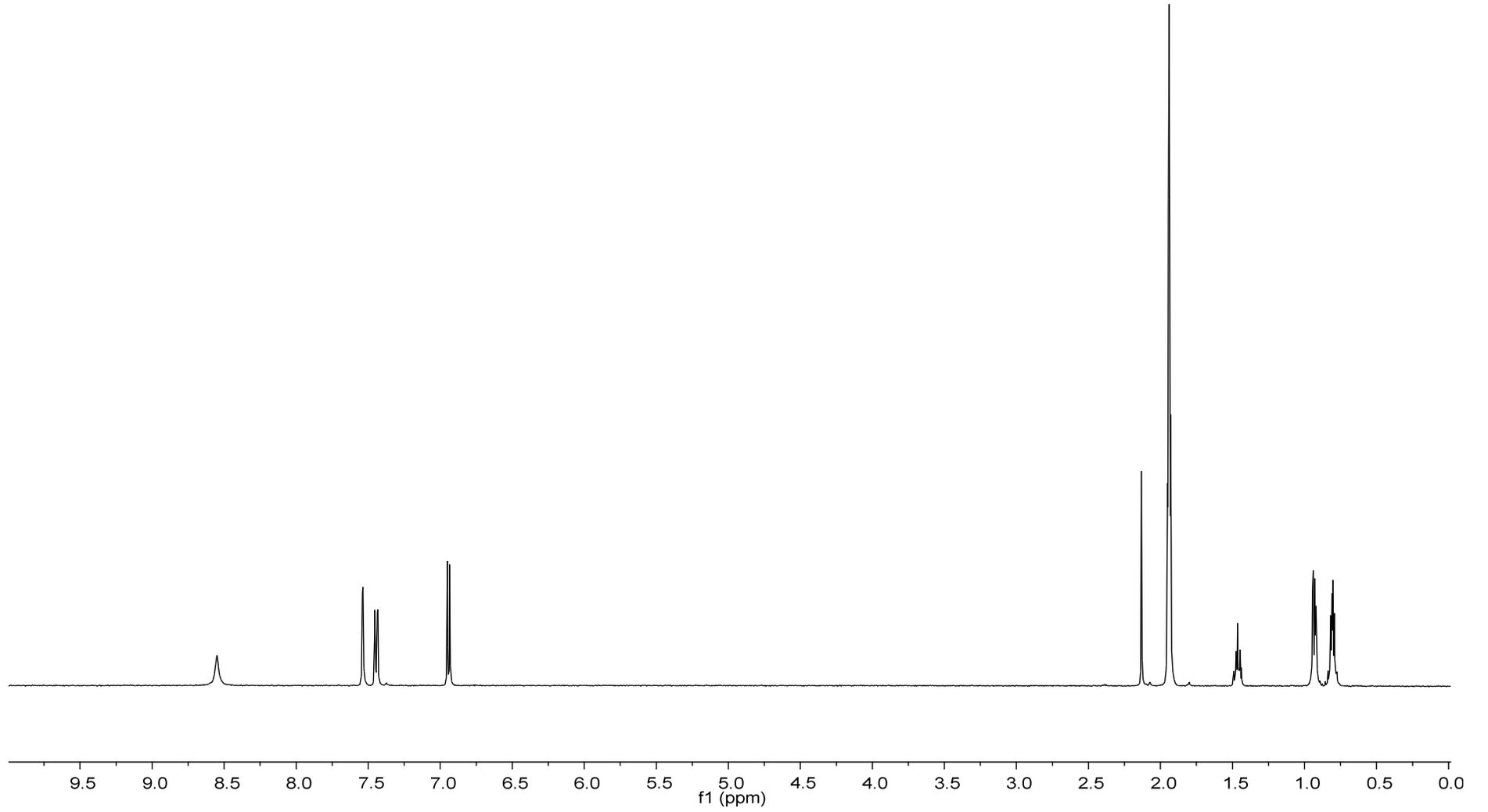
ZOPPI, A., QUEVEDO, M. A., & LONGHI, M. R. Specific binding capacity of β -cyclodextrin with cis and trans enalapril: Physicochemical characterization and structural studies by molecular modeling. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, v. 16, p. 8403–8412, 2008.

ZOPPI, A. et al. Enalapril: β -CD complex: Stability enhancement in solid state. **Carbohydrate Polymers**. v. 86, p. 716-721, 2011.

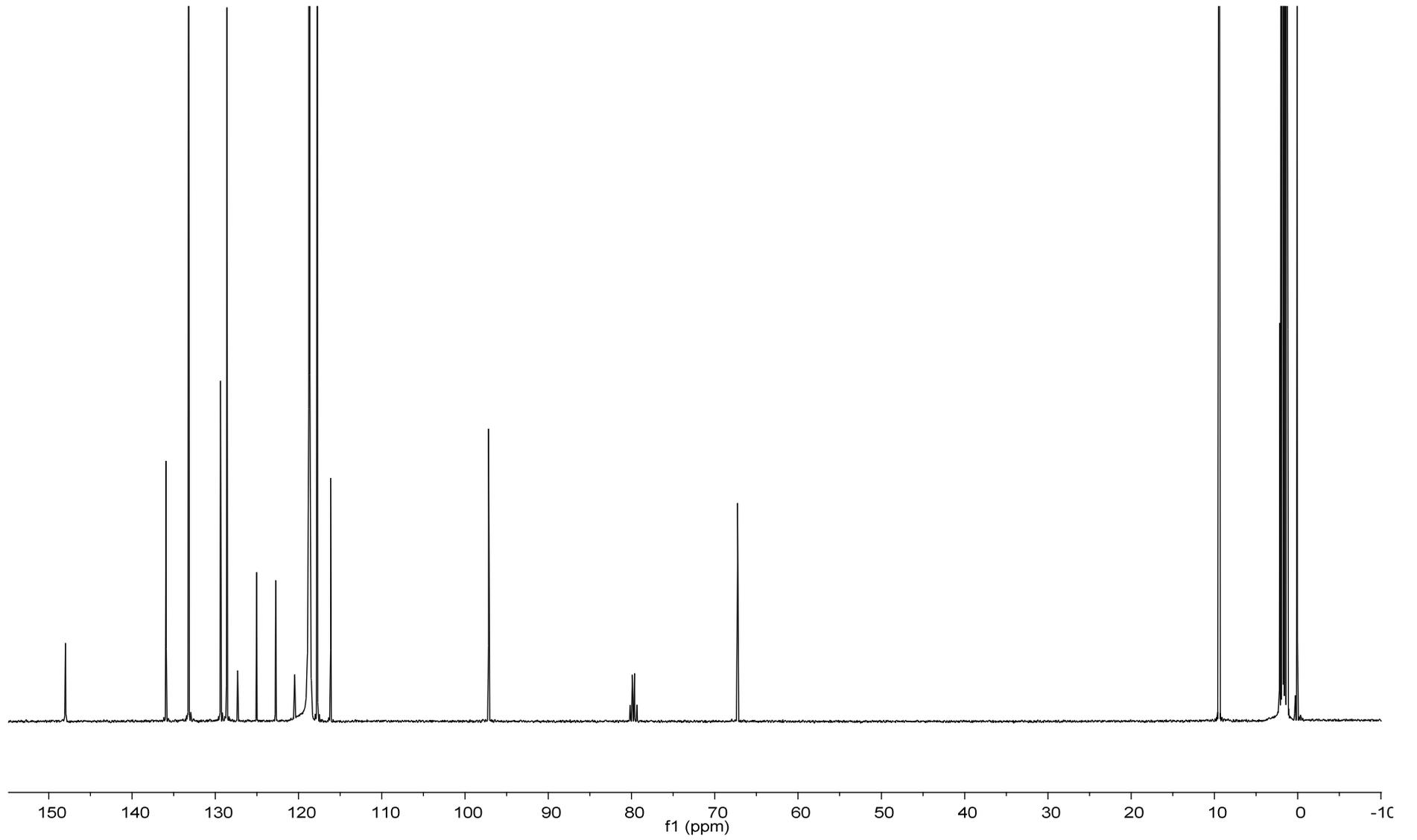
ANEXO 1 – Infravermelho do EFA – pastilha de KBr



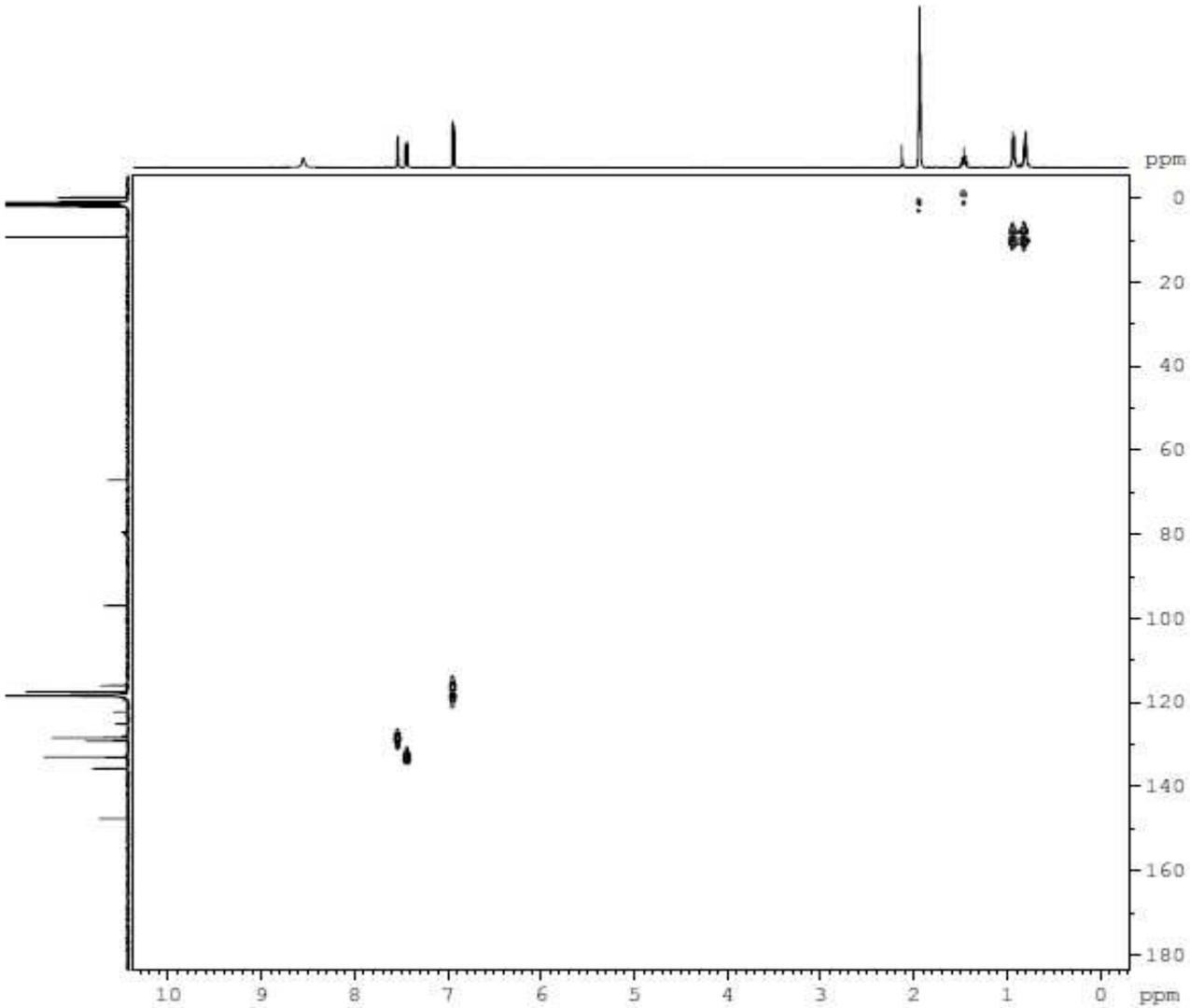
ANEXO 2 – EFA RMN ¹H em CD₃CN



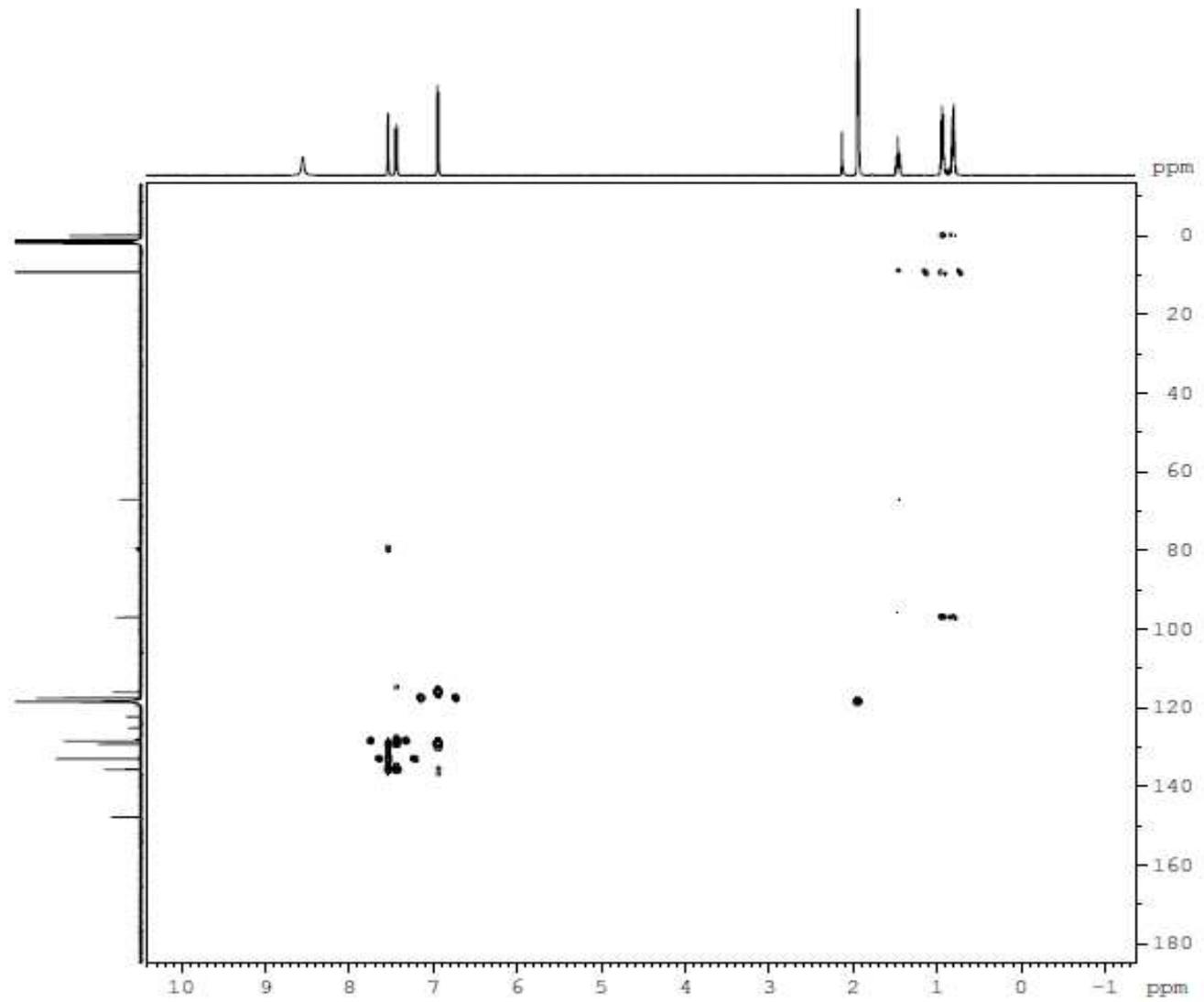
ANEXO 3 – EFA RMN ¹³C em CD₃CN



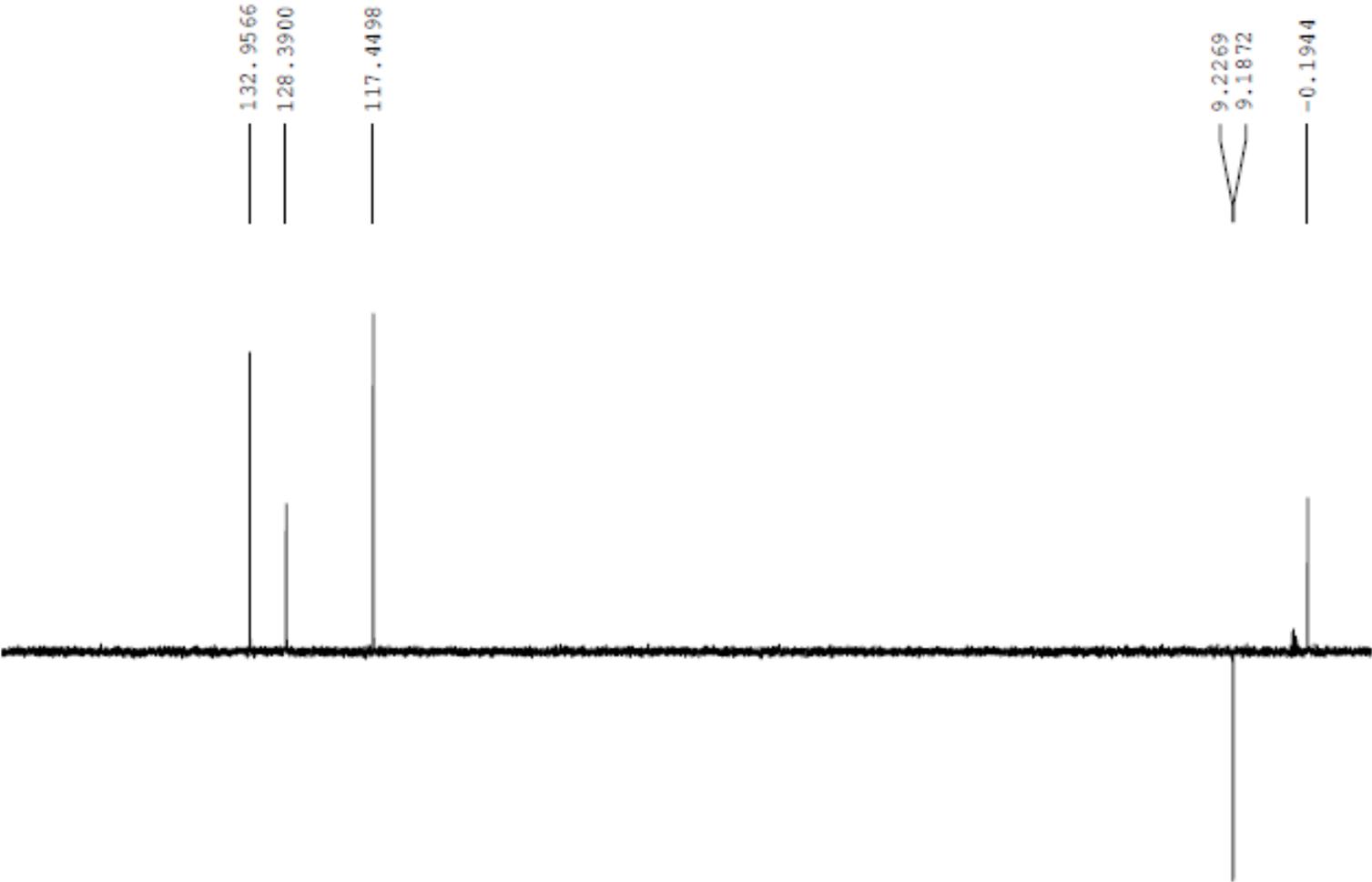
ANEXO 4 – EFA HSQC



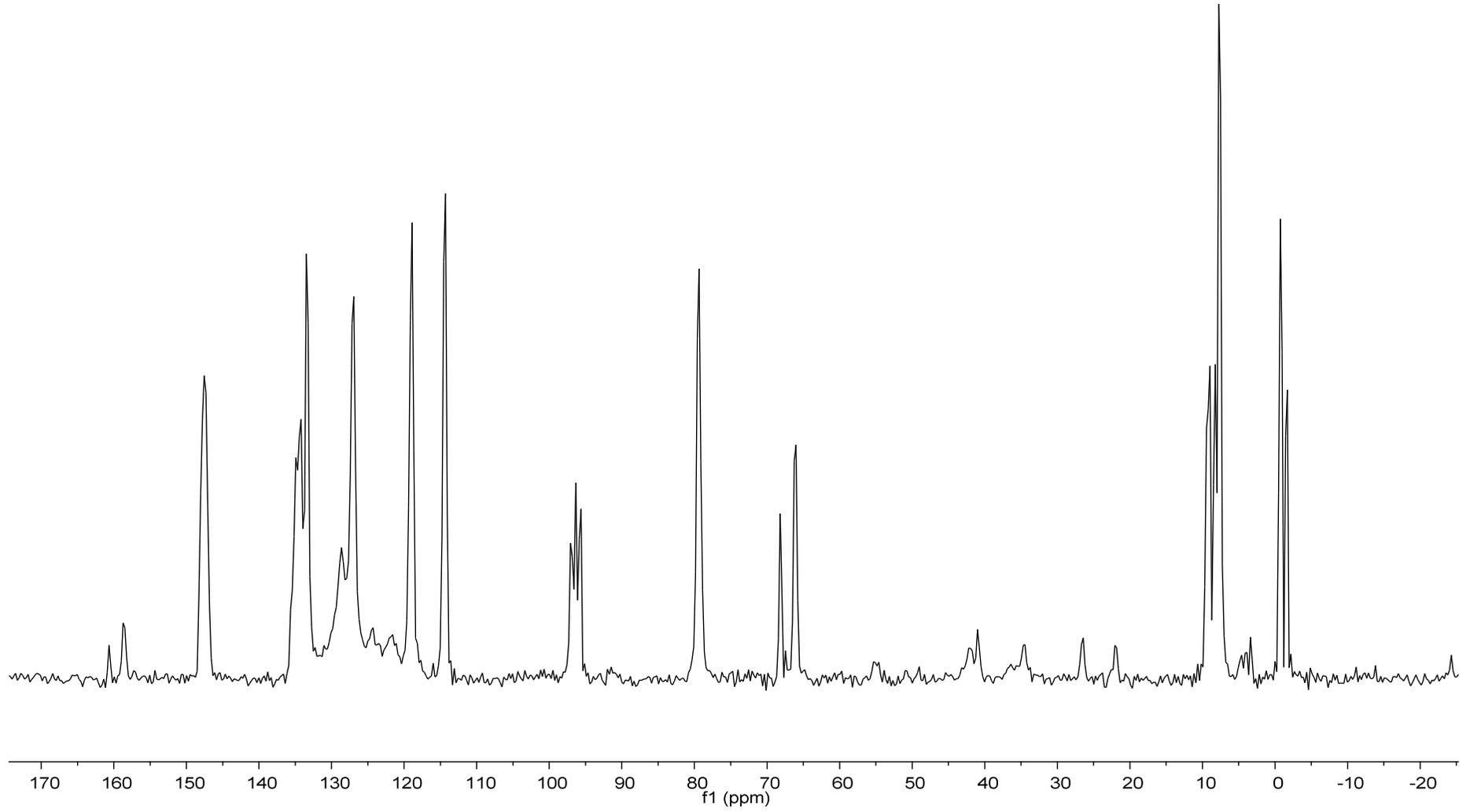
ANEXO 5 – EFA HMBC



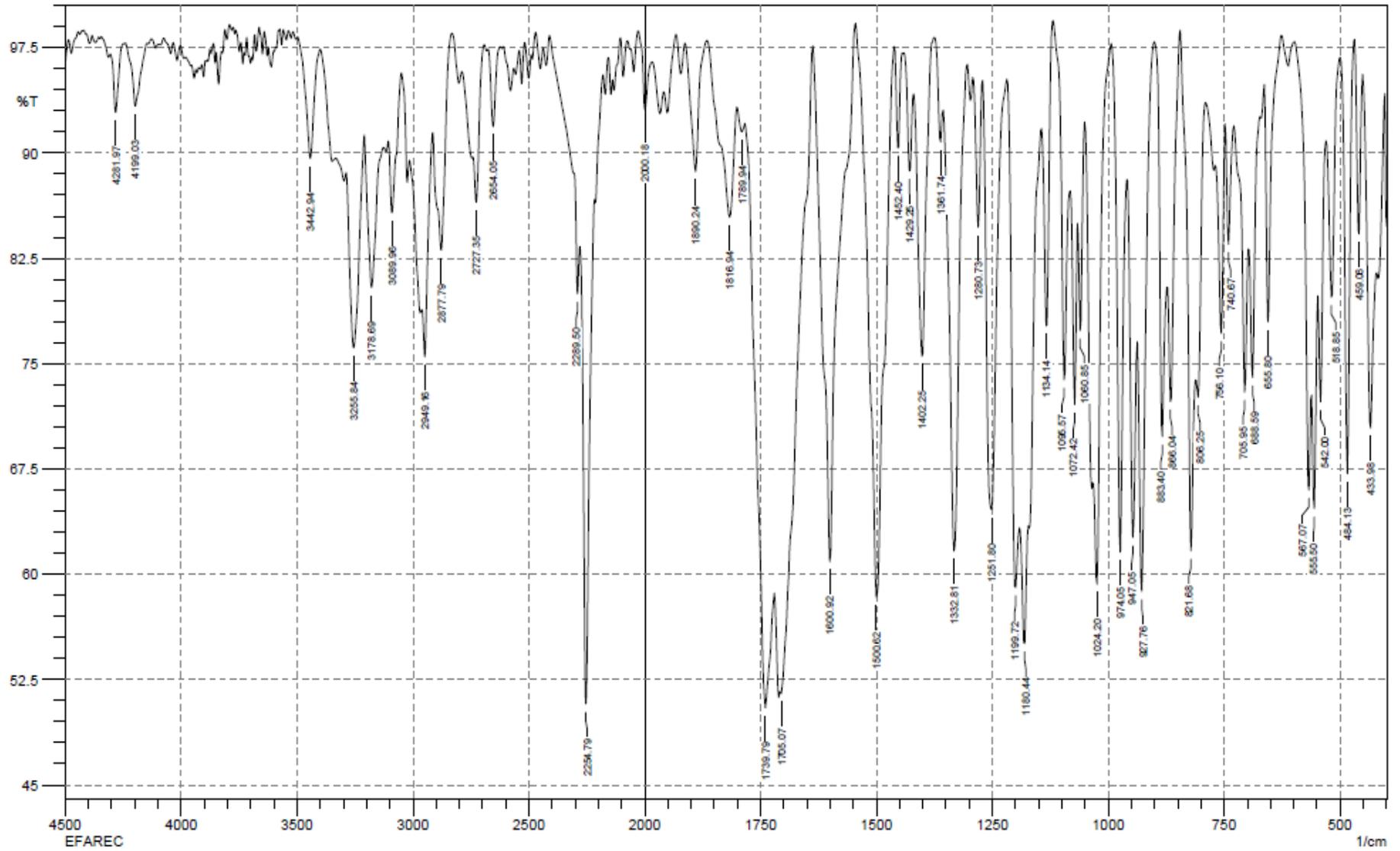
ANEXO 6 – EFA DEPT



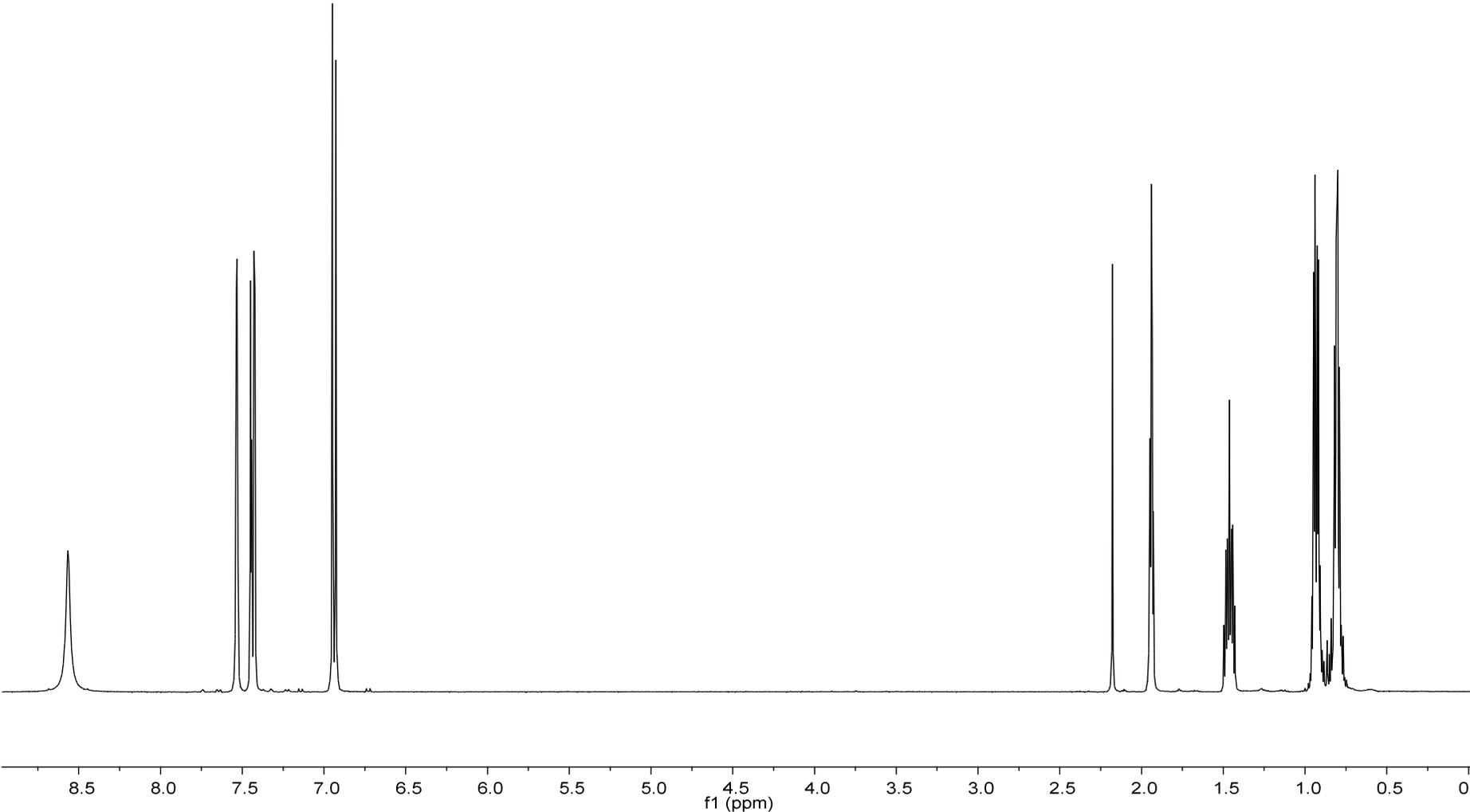
ANEXO 7 – EFA RMNs ¹³C CP/MAS



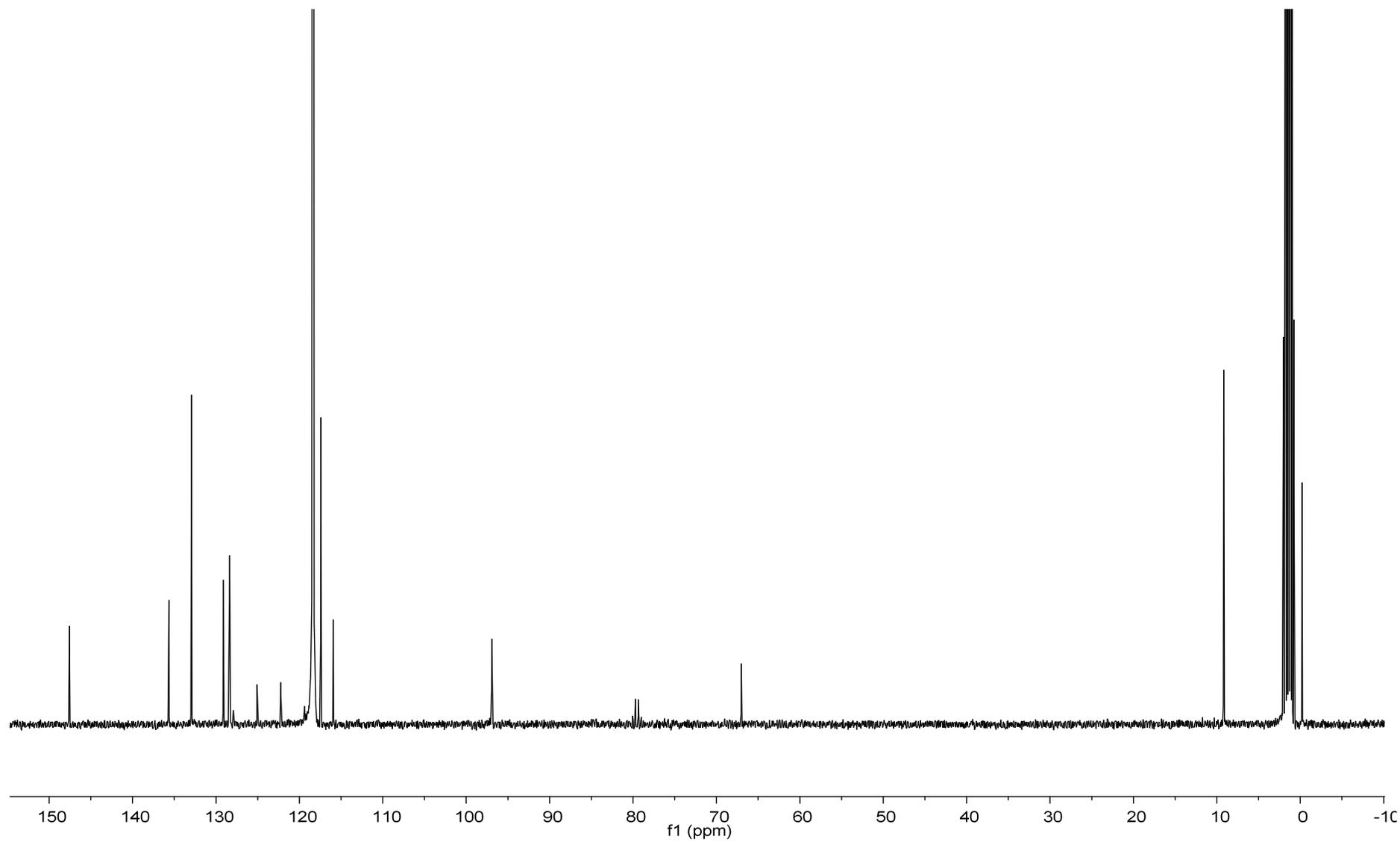
ANEXO 8 – Infravermelho do EFA recristalizado – pastilha de KBr

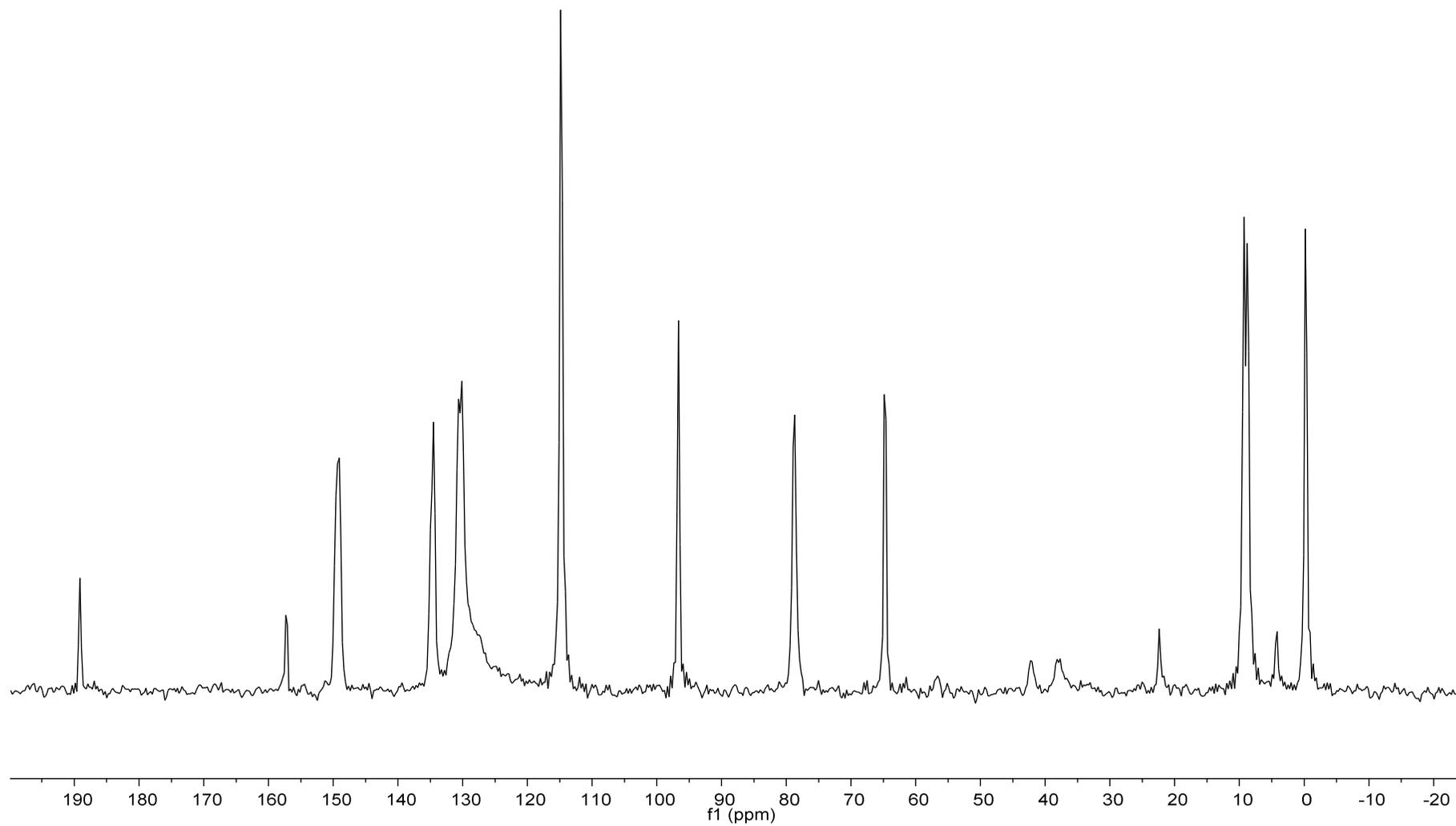


ANEXO 9 – EFA recristalizado RMN ¹H em CD₃CN

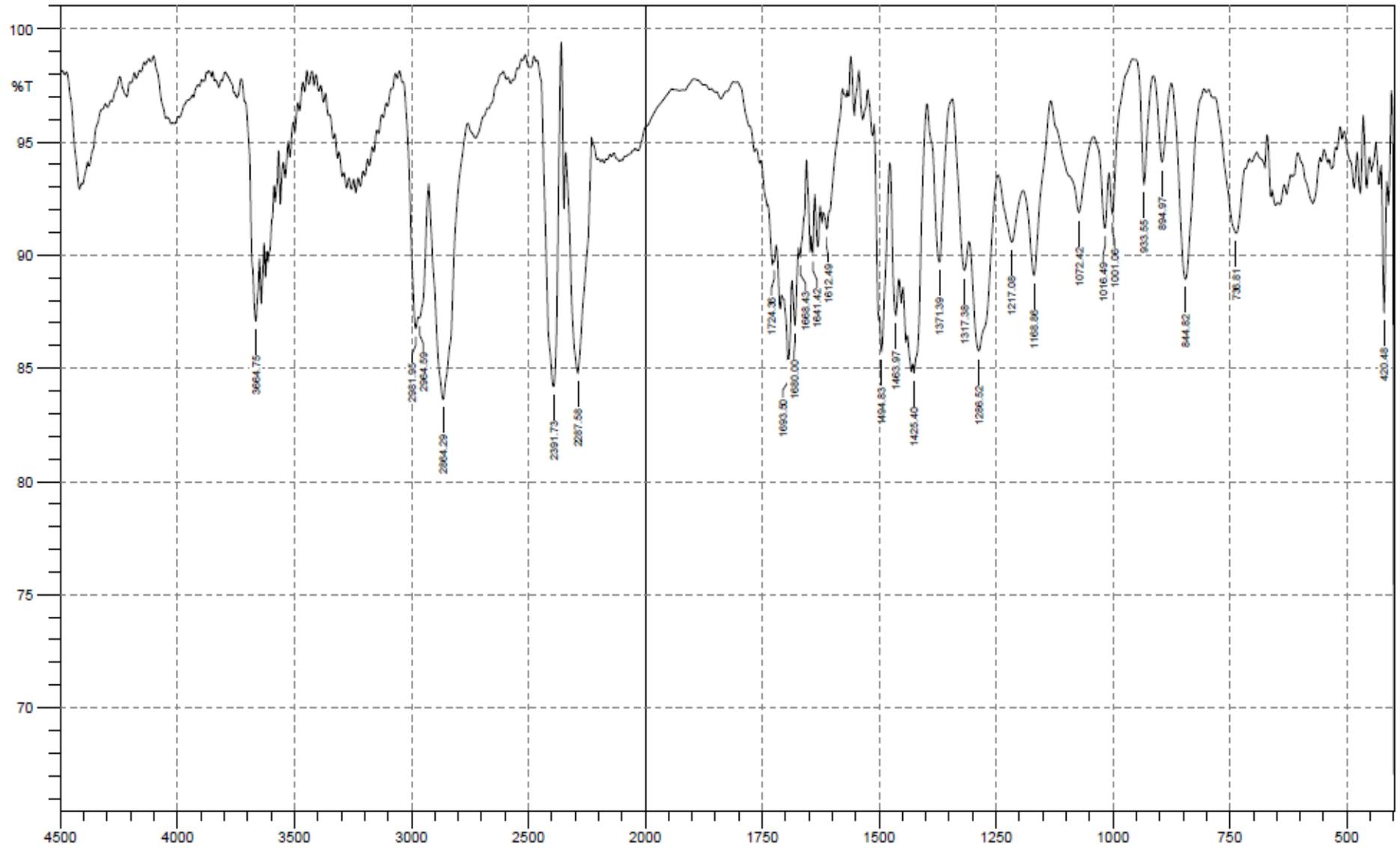


ANEXO 10 – EFA recristalizado RMN ^{13}C em CD_3CN

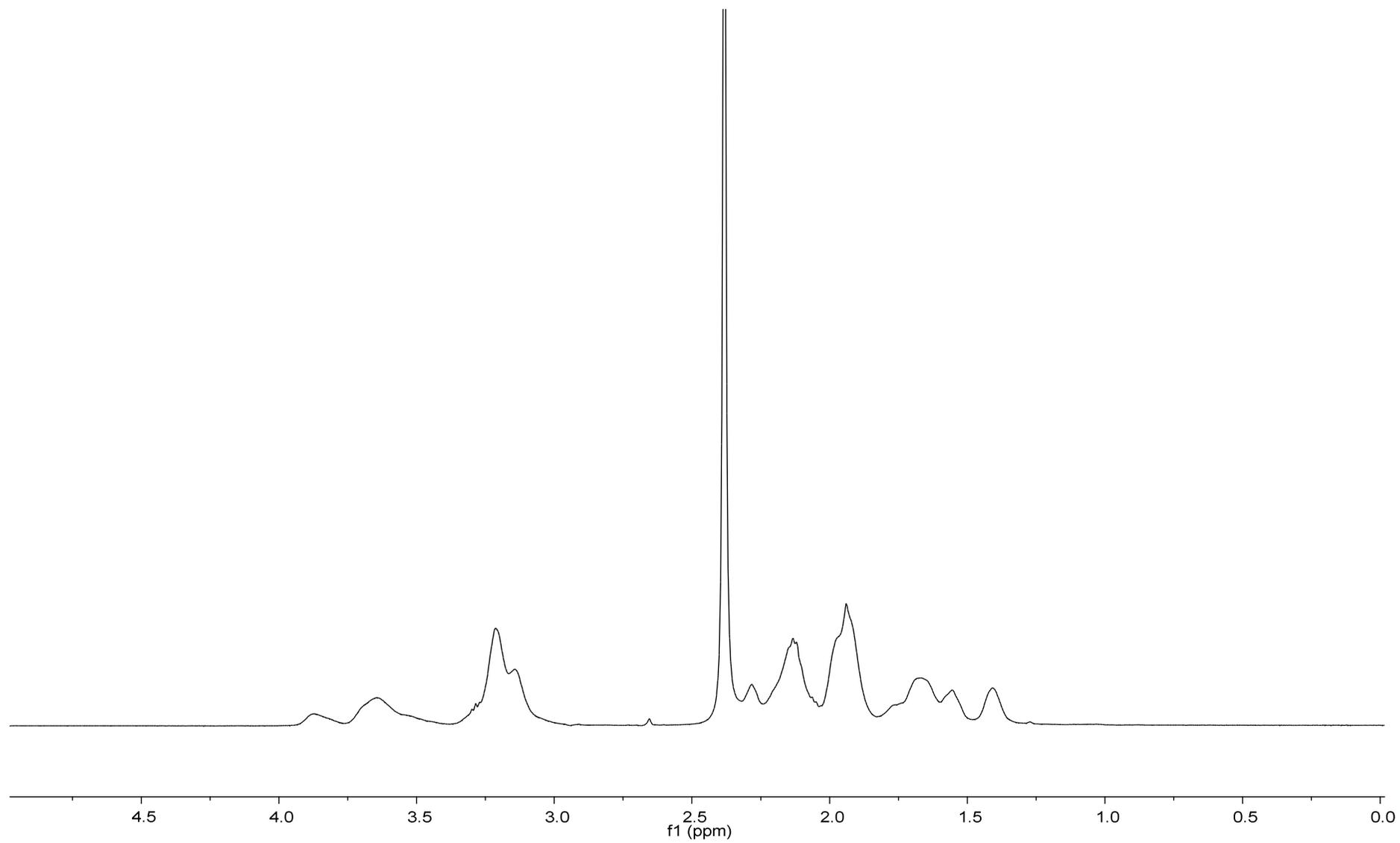


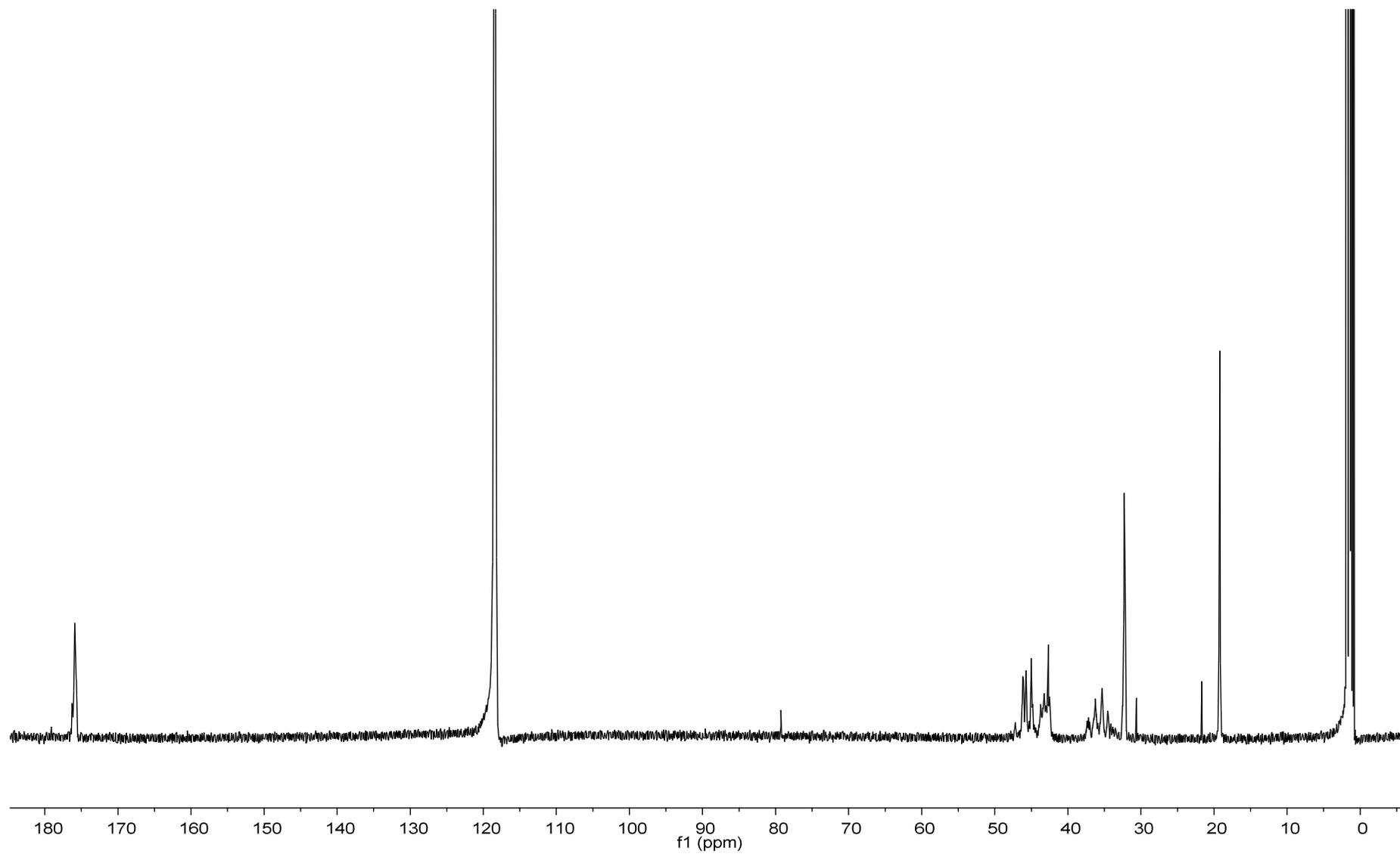
ANEXO 11 – EFA recristalizado RMNs ^{13}C CP/MAS

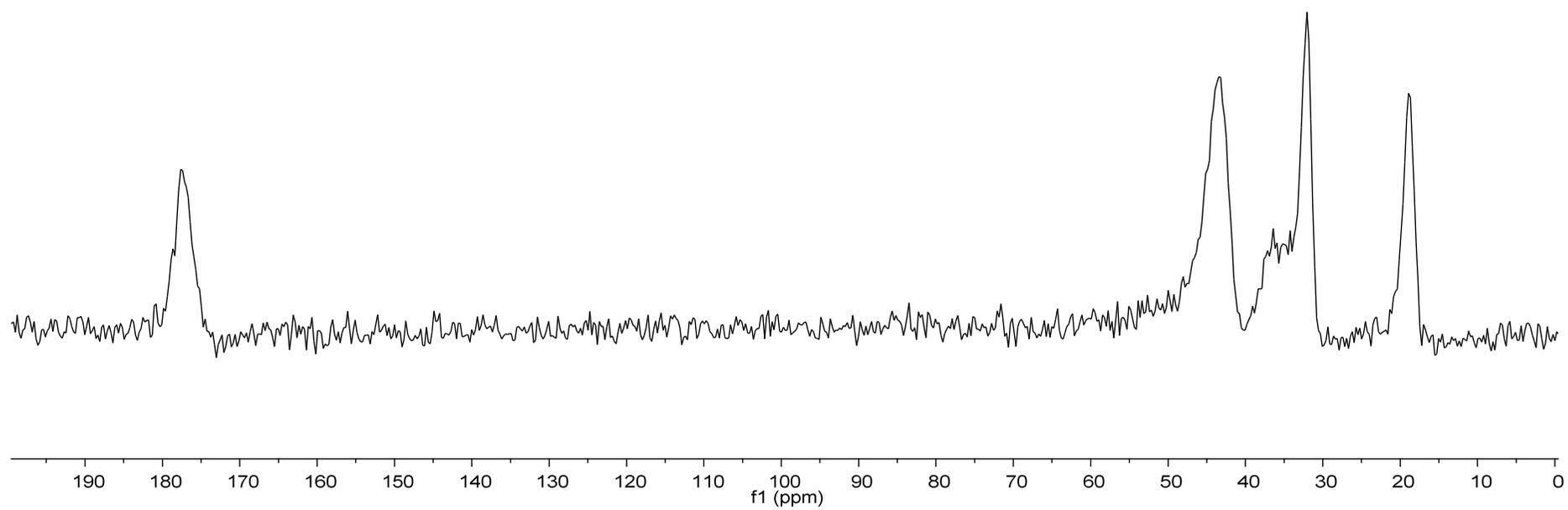
ANEXO 12 – Infravermelho da PVP – pastilha de KBr



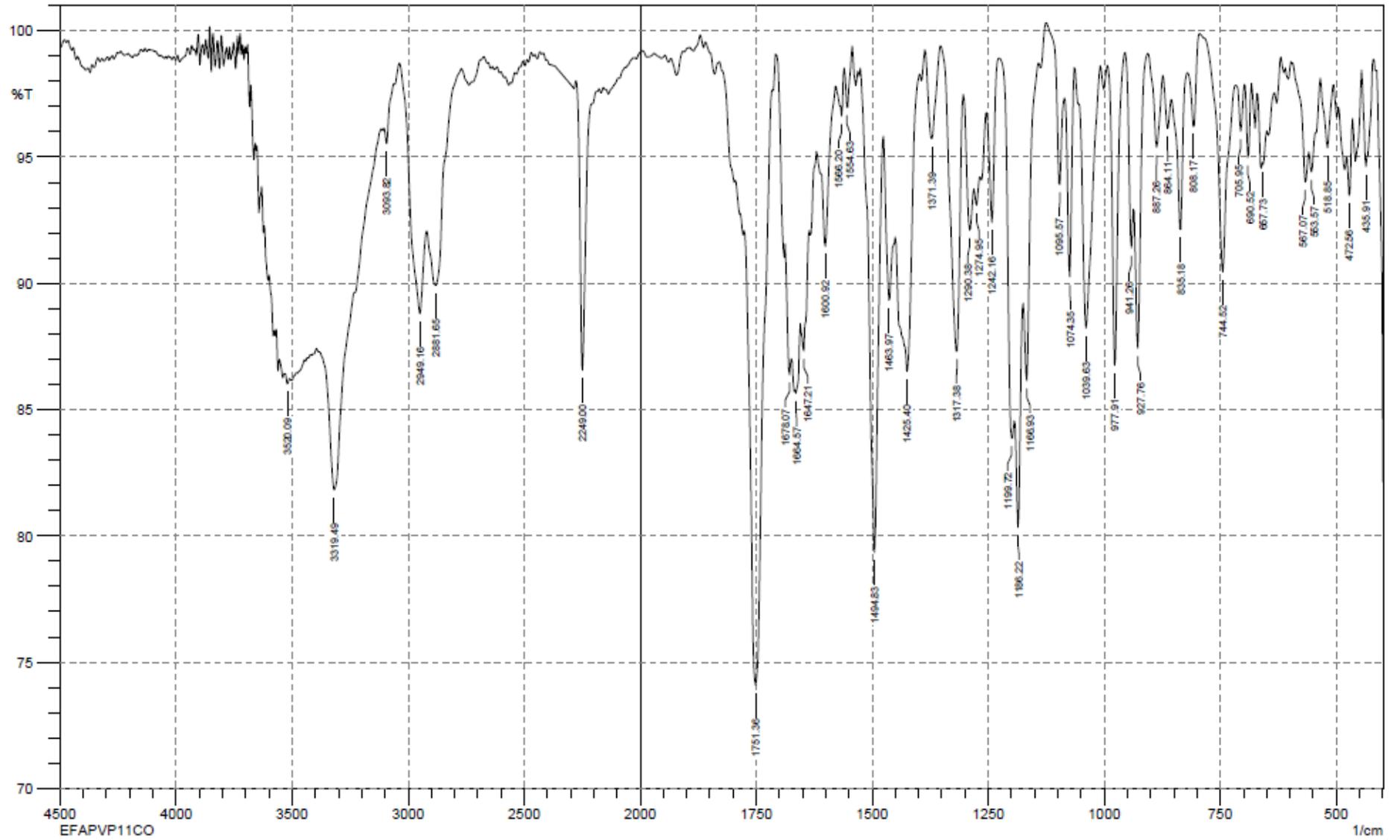
ANEXO 13 – PVP RMN ^1H em CD_3CN



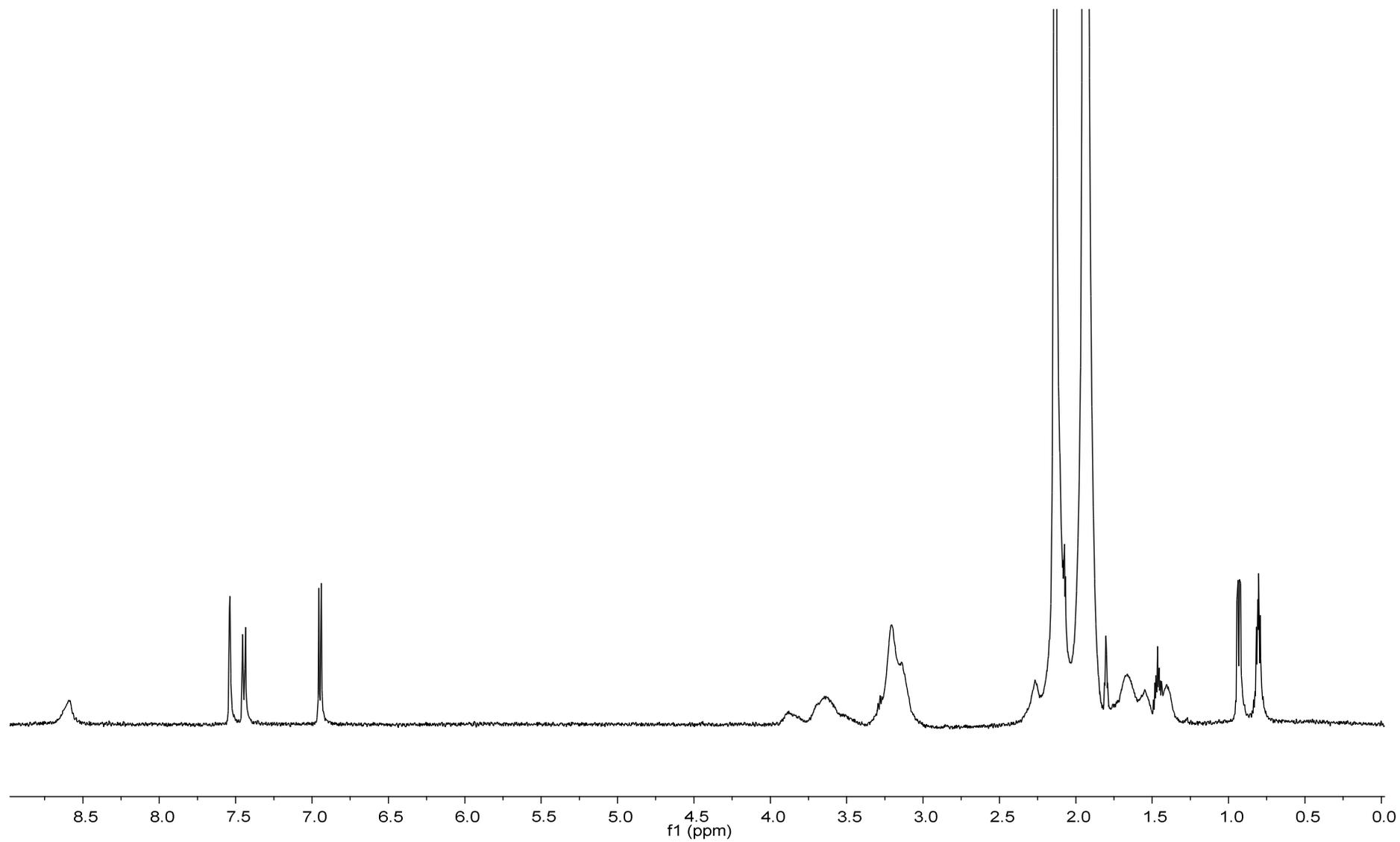
ANEXO 14 – PVP RMN ^{13}C em CD_3CN 

ANEXO 15 – PVP RMNs ^{13}C CP/MAS

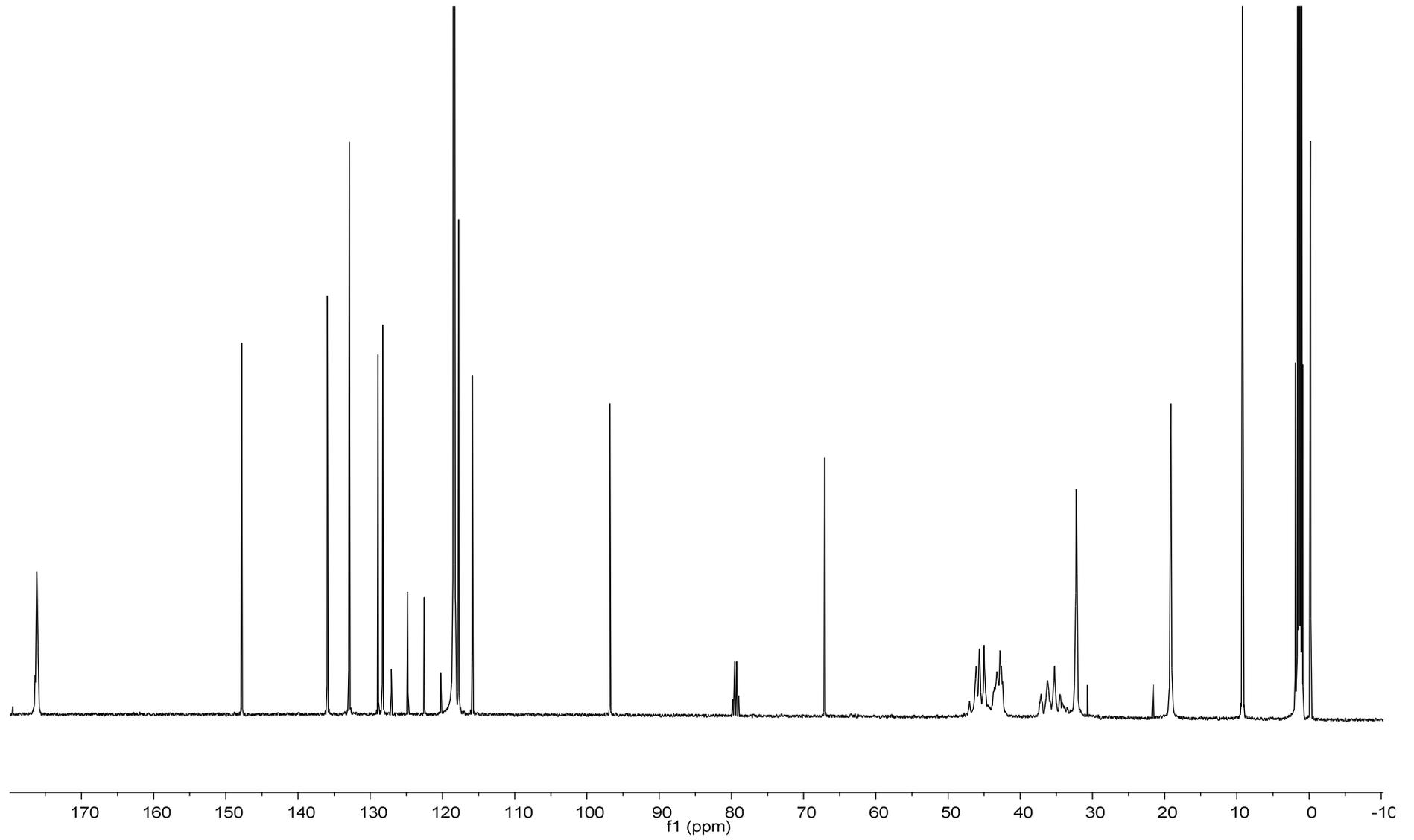
ANEXO 16 – Infravermelho EFA:PVP (1:1) comicronizado – Pastilha KBr



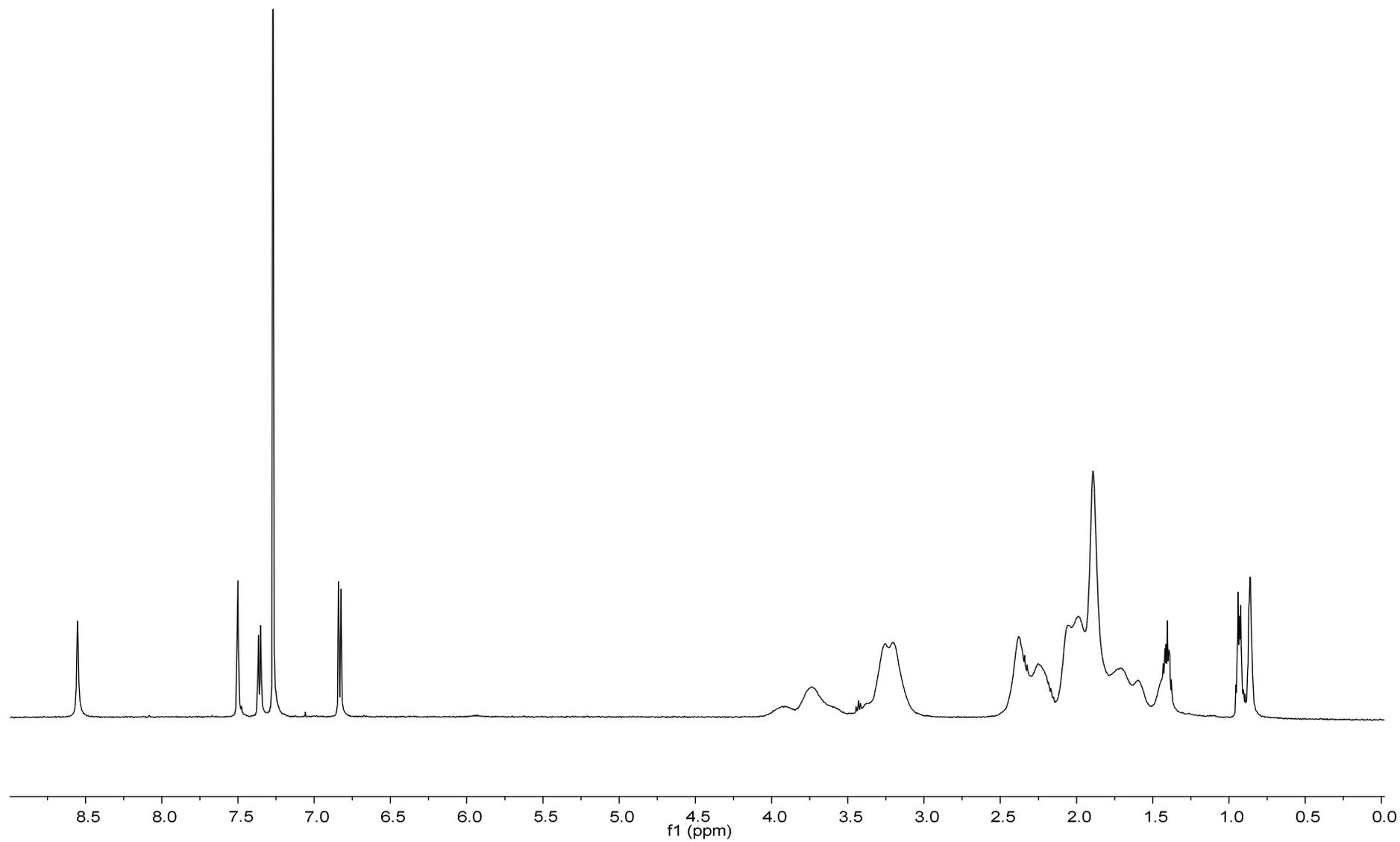
ANEXO 17 – EFA:PVP (1:1) comicronizado RMN ^1H em CD_3CN

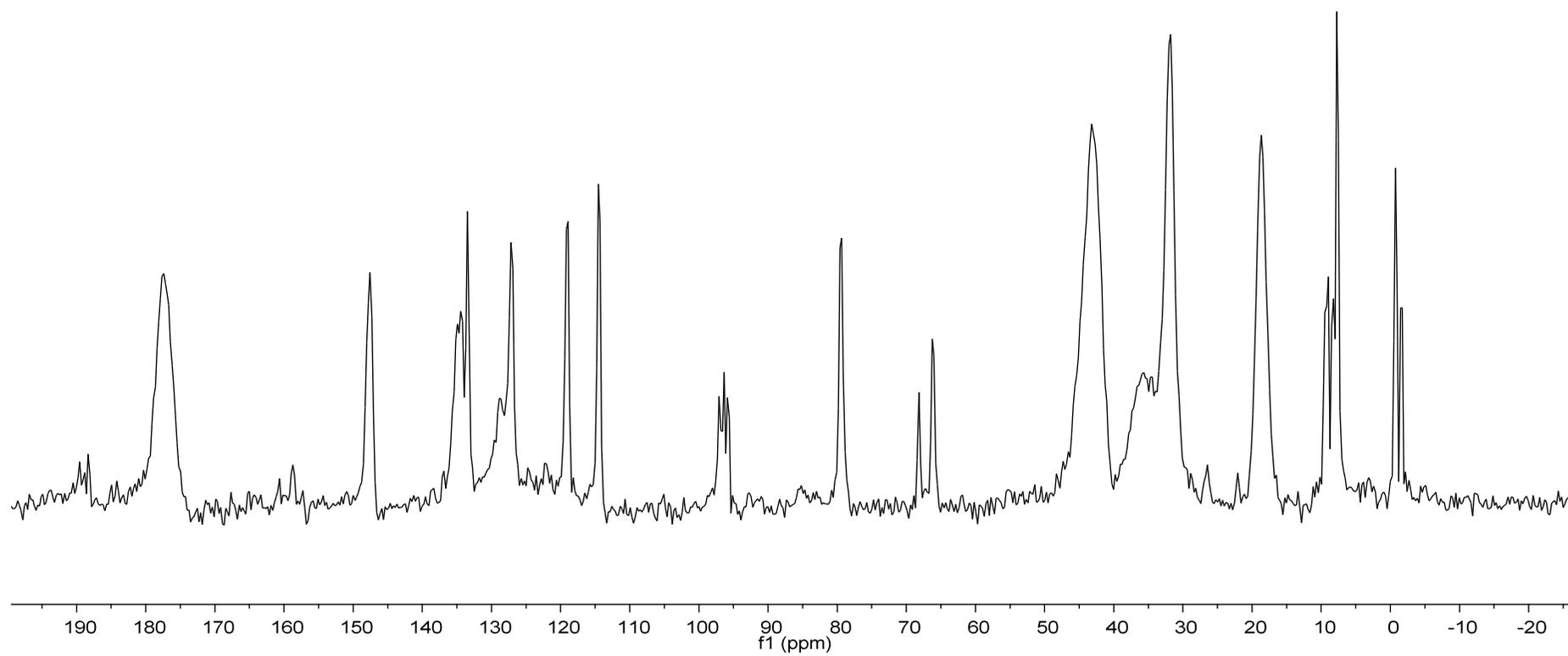


ANEXO 18 – EFA:PVP (1:1) comicronizado RMN ¹³C em CD₃CN

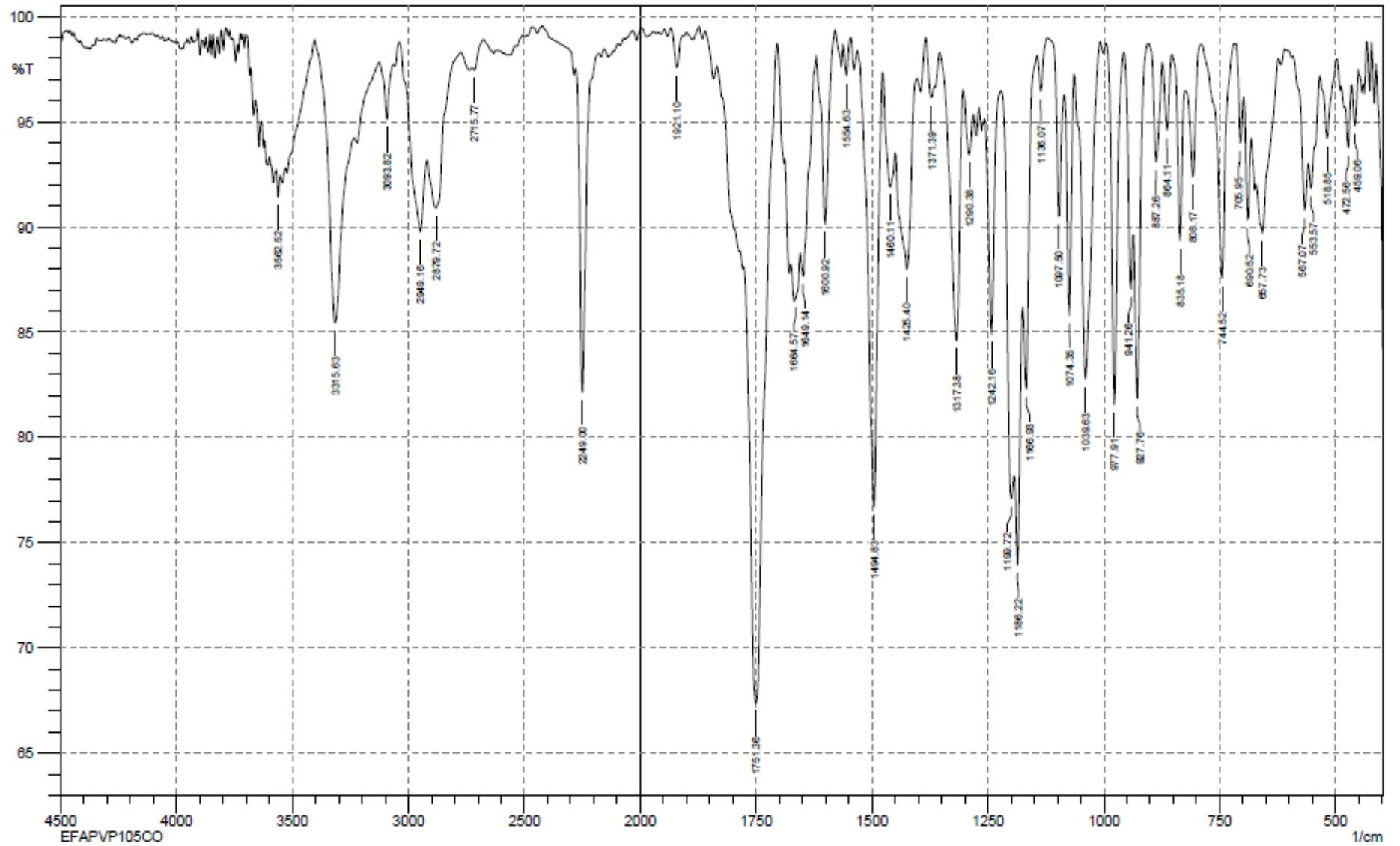


ANEXO 19 – EFA:PVP (1:1) comicronizado RMN ^1H em CDCl_3

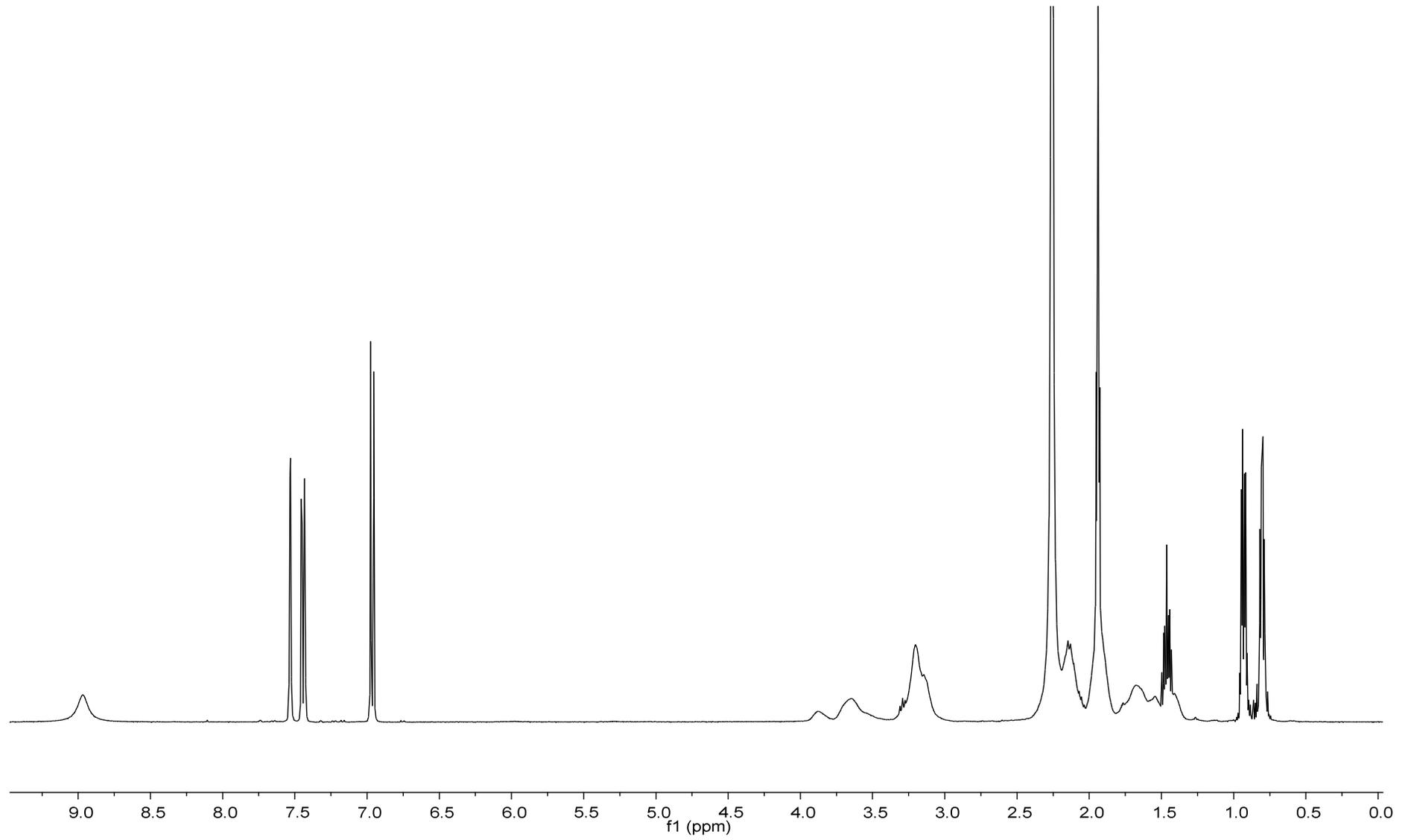


ANEXO 20 – EFA:PVP (1:1) comicronizado RMNs ^{13}C CP/MAS

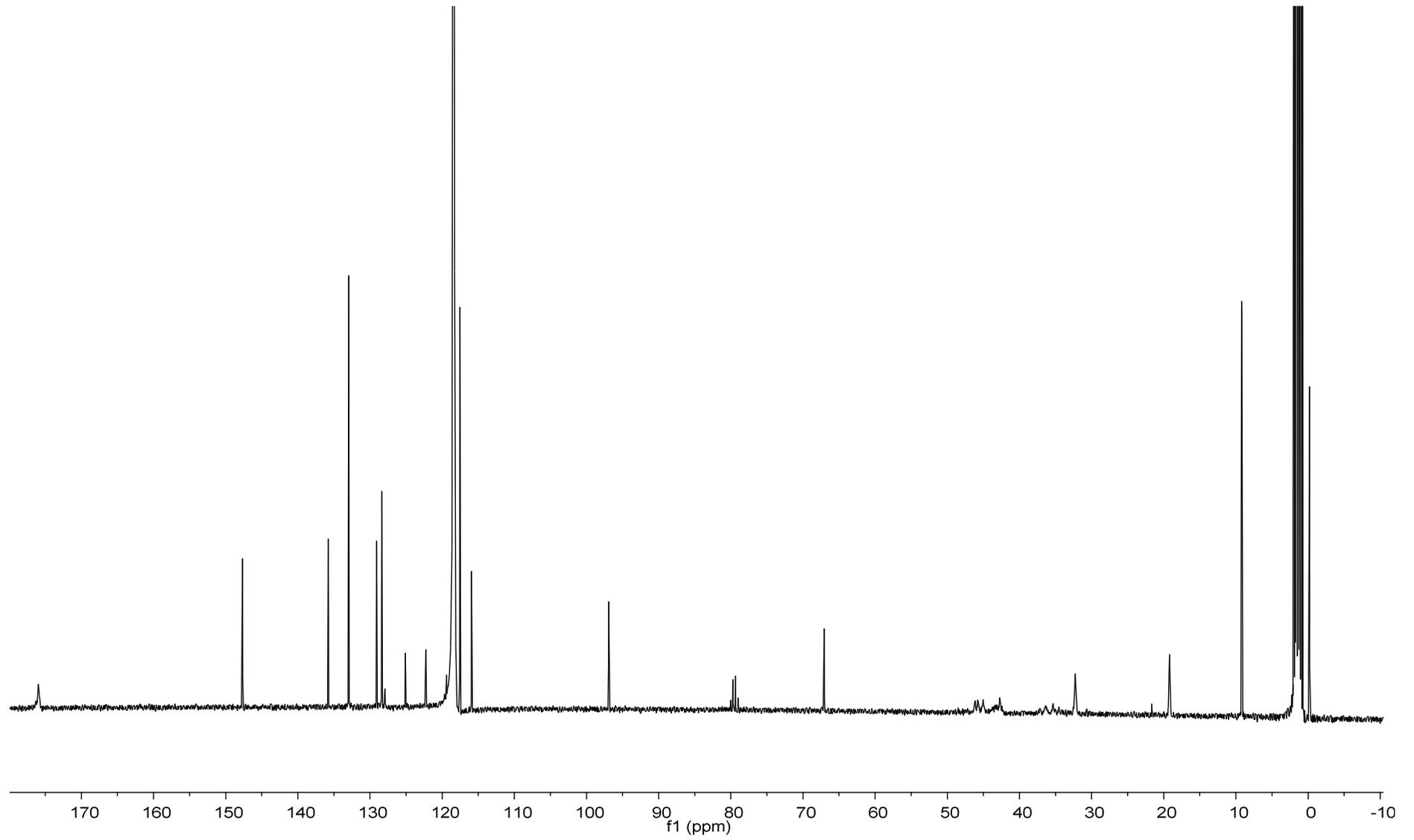
ANEXO 21 – Infravermelho EFA:PVP (1:0,5) comicronizado – Pastilha KBr



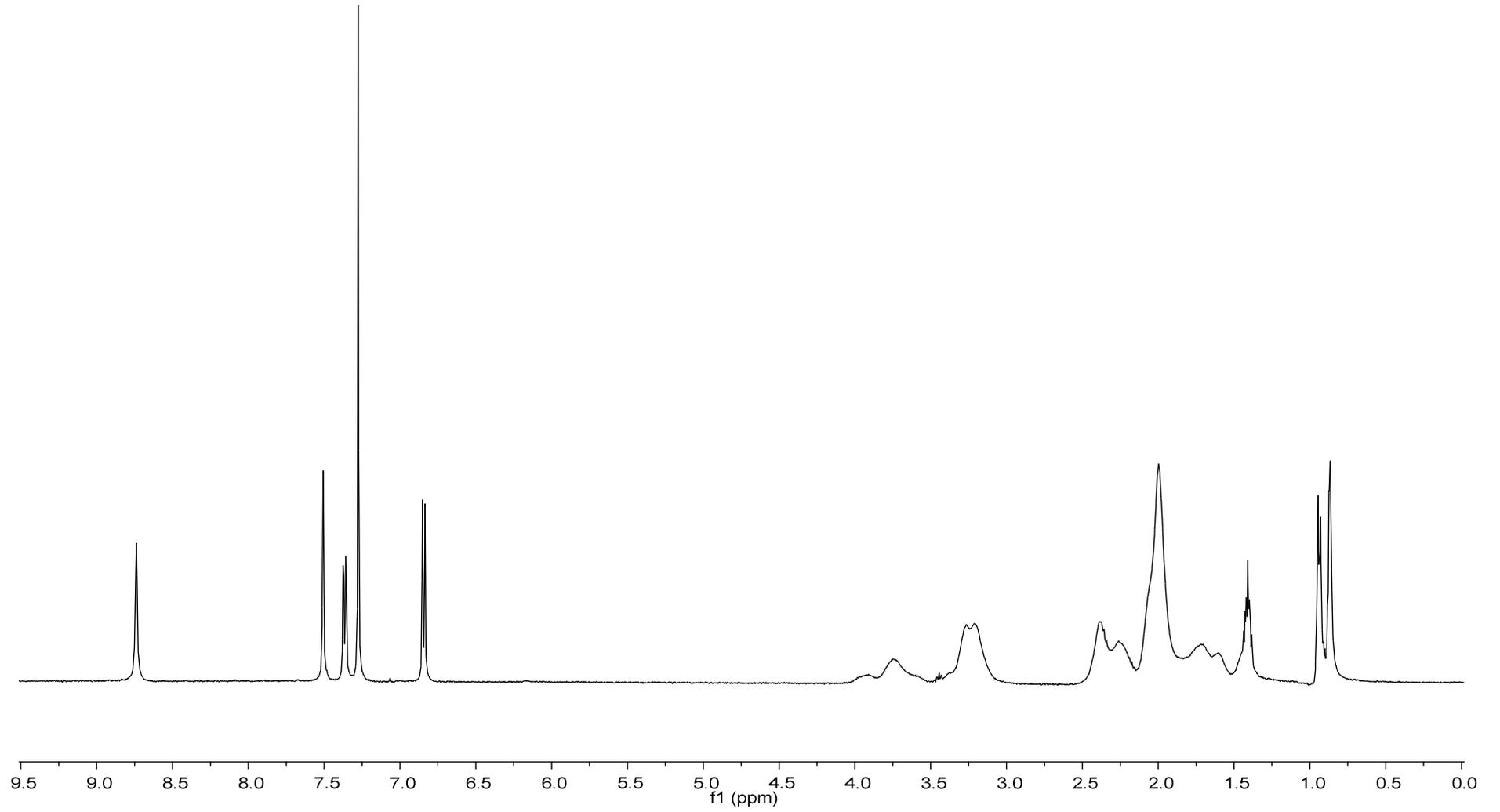
ANEXO 22 – EFA:PVP (1:0,5) comicronizado RMN ^1H em CD_3CN



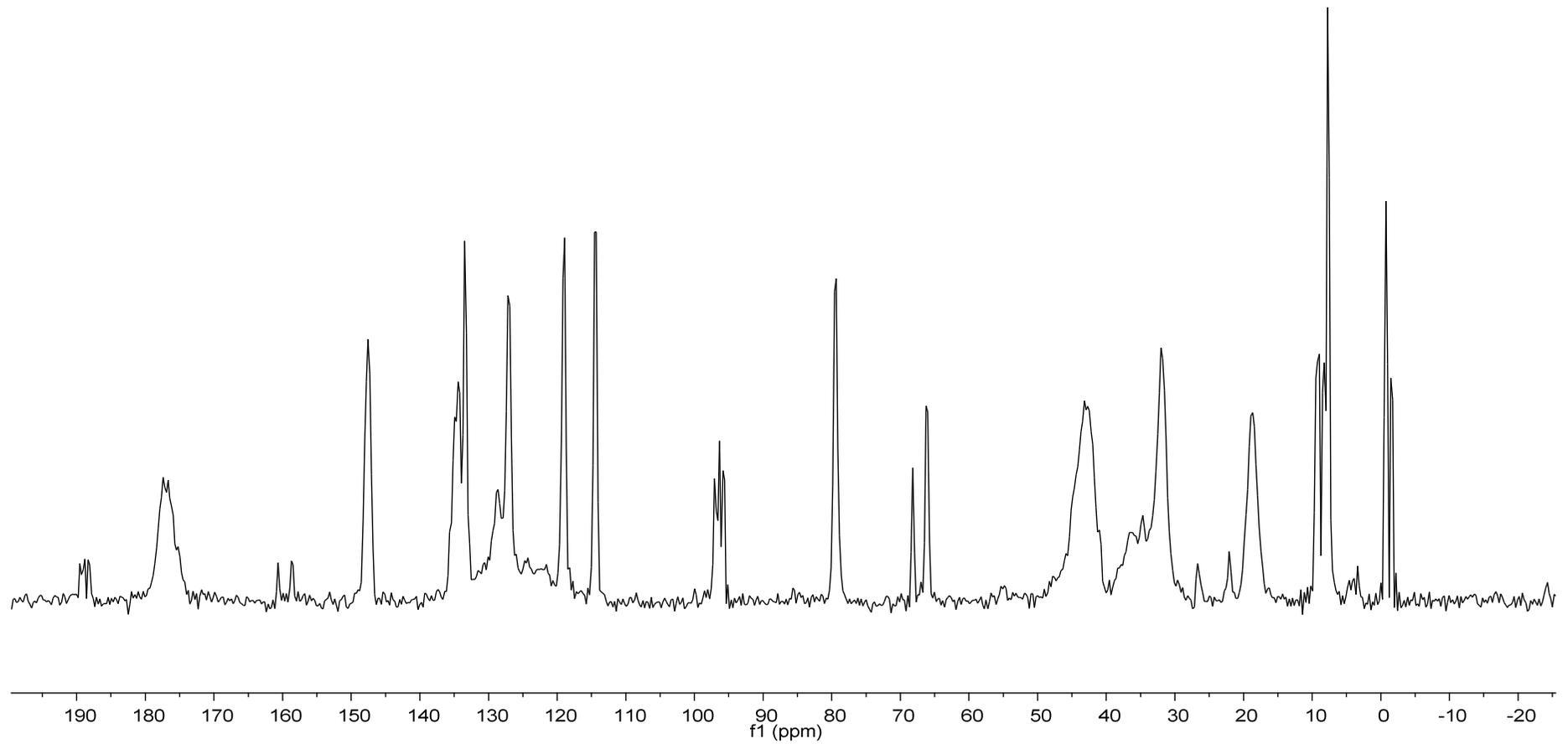
ANEXO 23 – EFA:PVP (1:0,5) comicronizado RMN ¹³C em CD₃CN



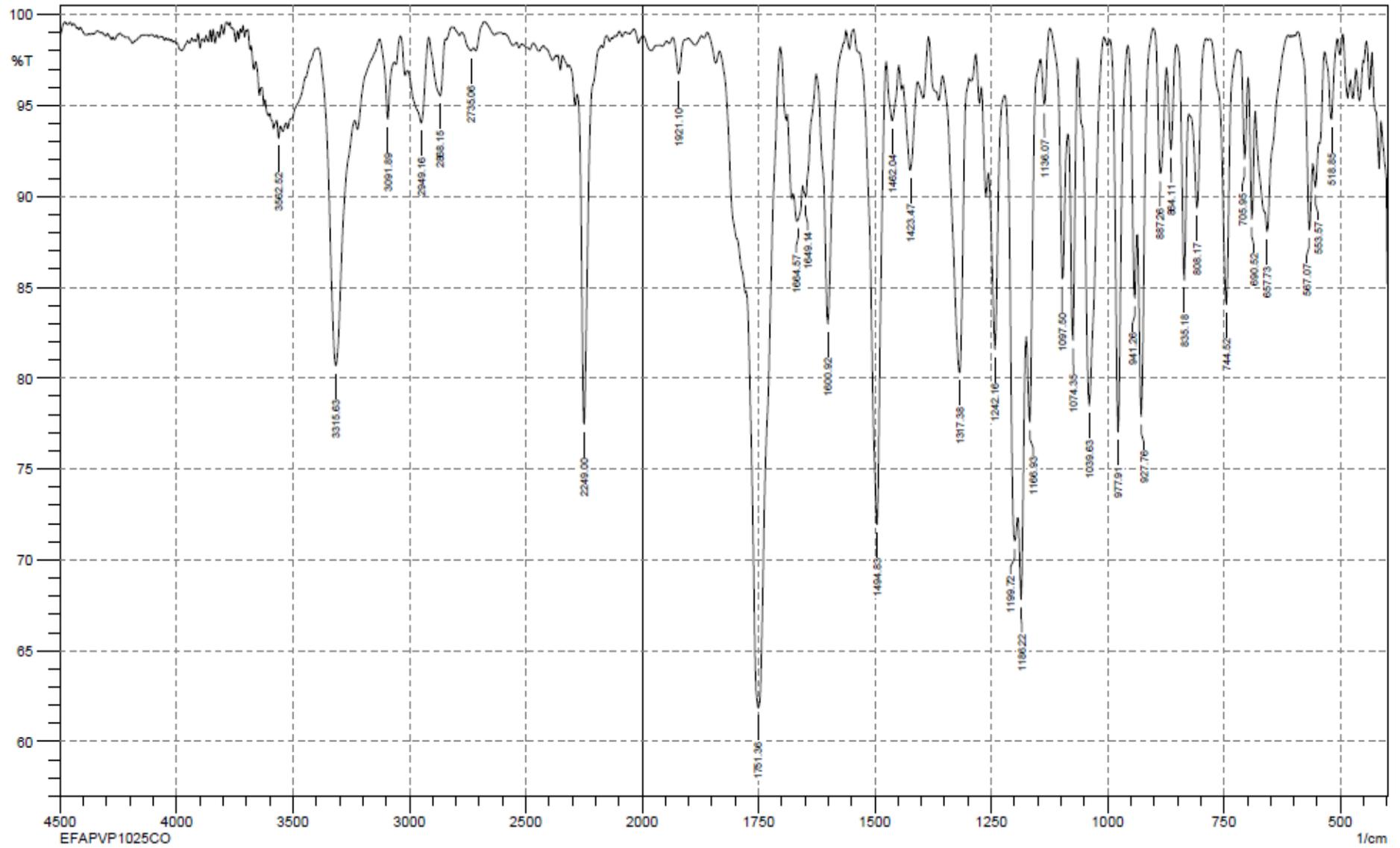
ANEXO 24 – EFA:PVP (1:0,5) comicronizado RMN ^1H em CDCl_3



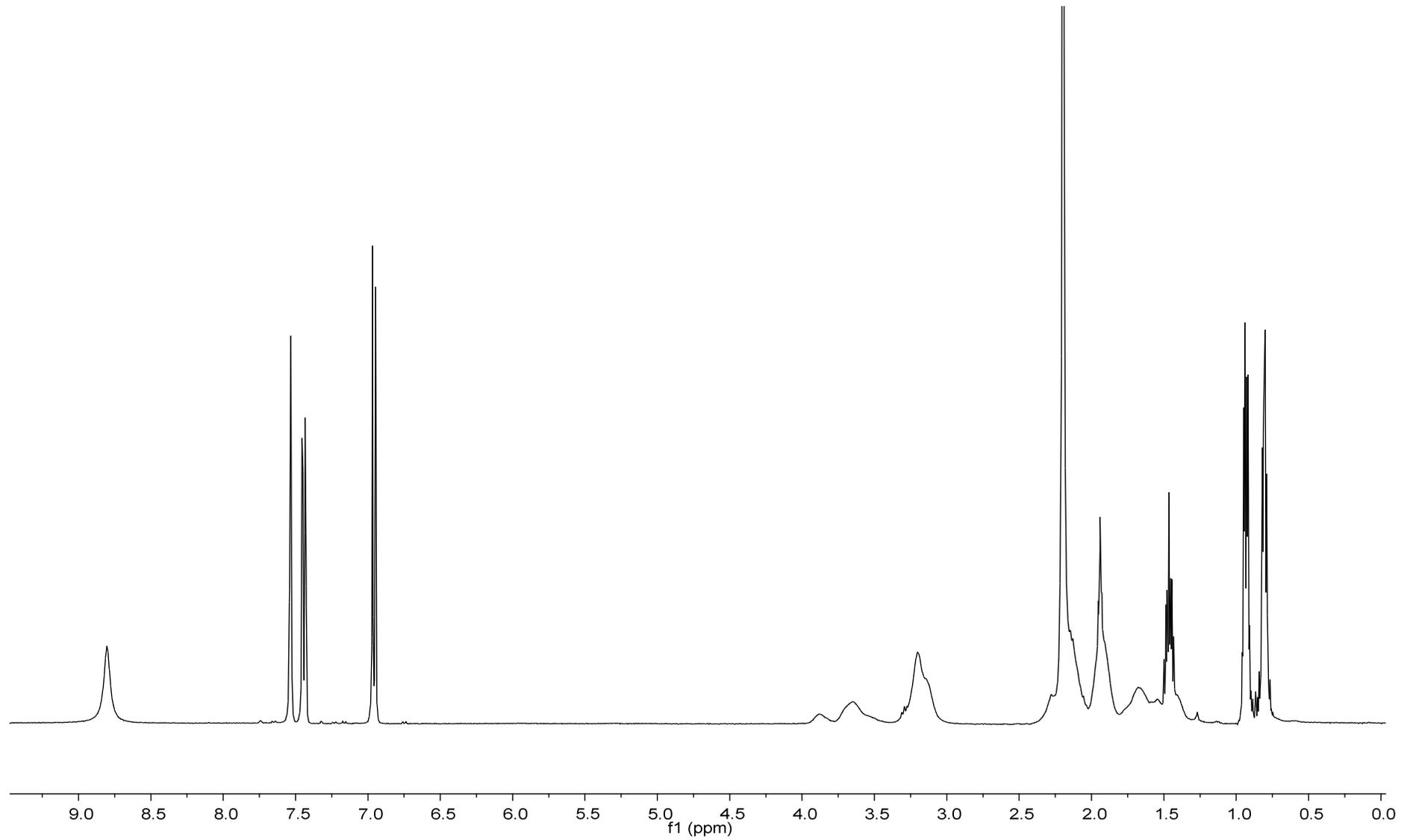
ANEXO 25 – EFA:PVP (1:0,5) comicronizado RMNs ¹³C CP/MAS



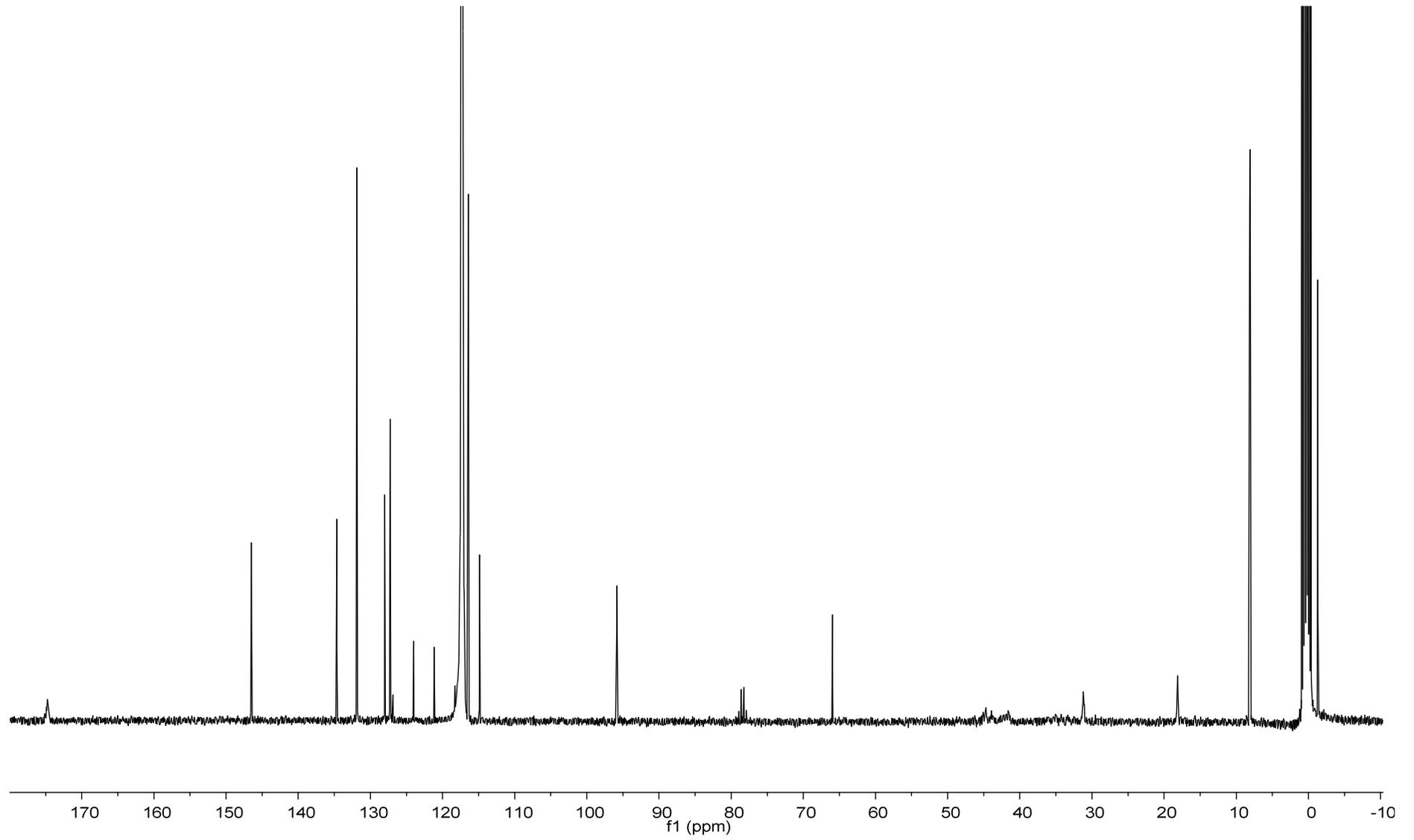
ANEXO 26 – Infravermelho EFA:PVP (1:0,25) comicronizado – Pastilha KBr



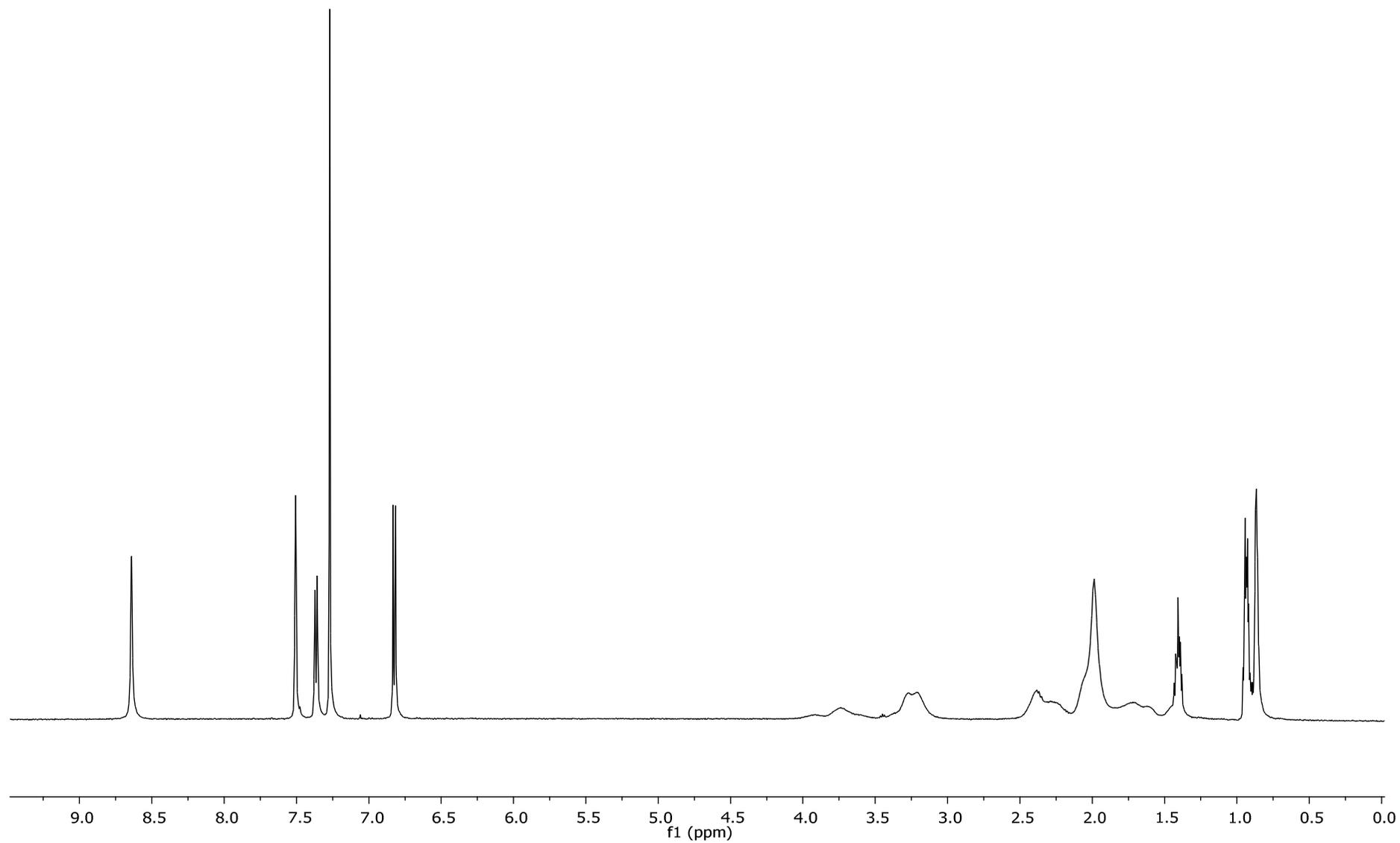
ANEXO 27 – EFA:PVP (1:0,25) comicronizado RMN ¹H em CD₃CN



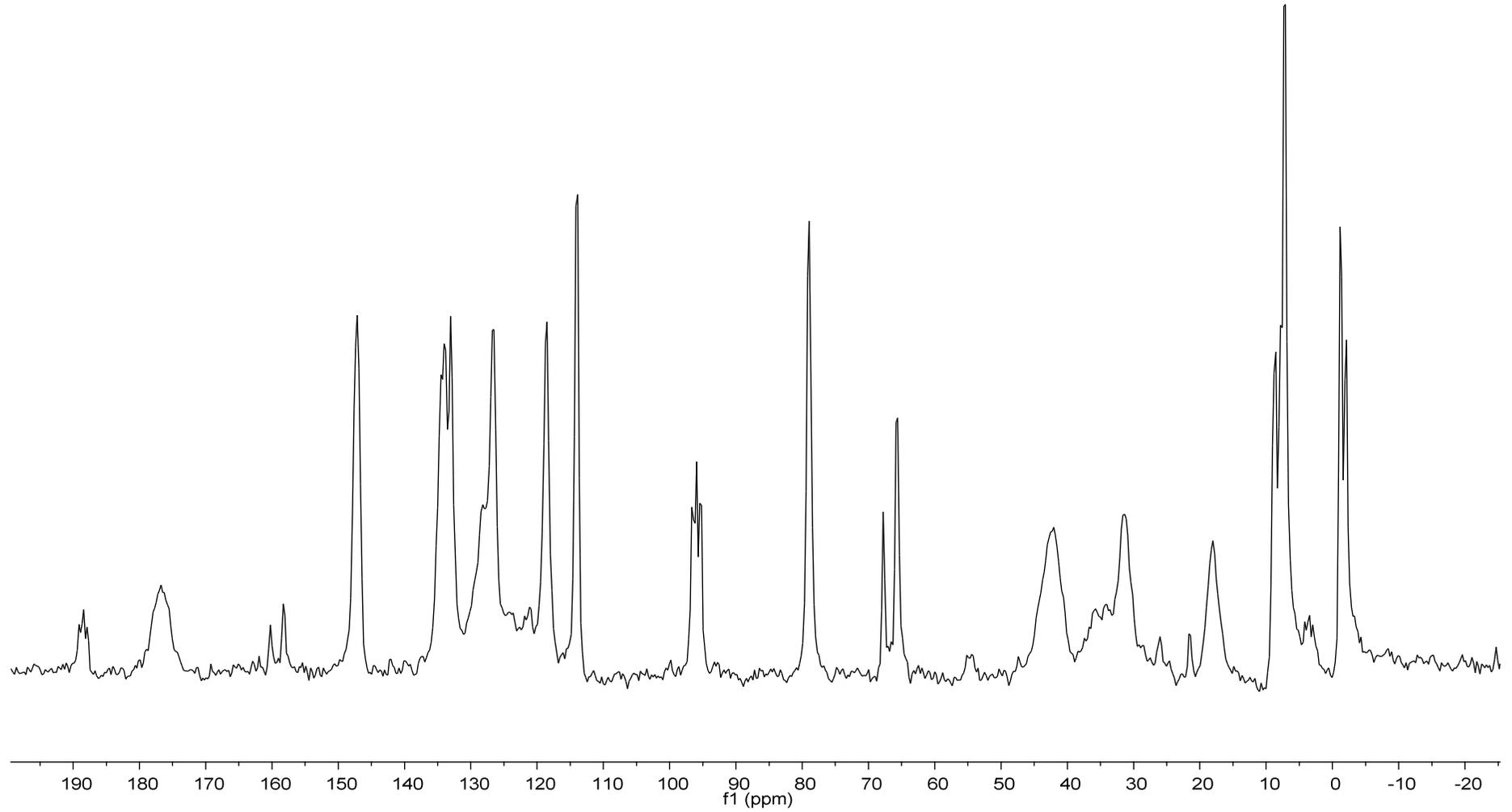
ANEXO 28 – EFA:PVP (1:0,25) comicronizado RMN ¹³C em CD₃CN



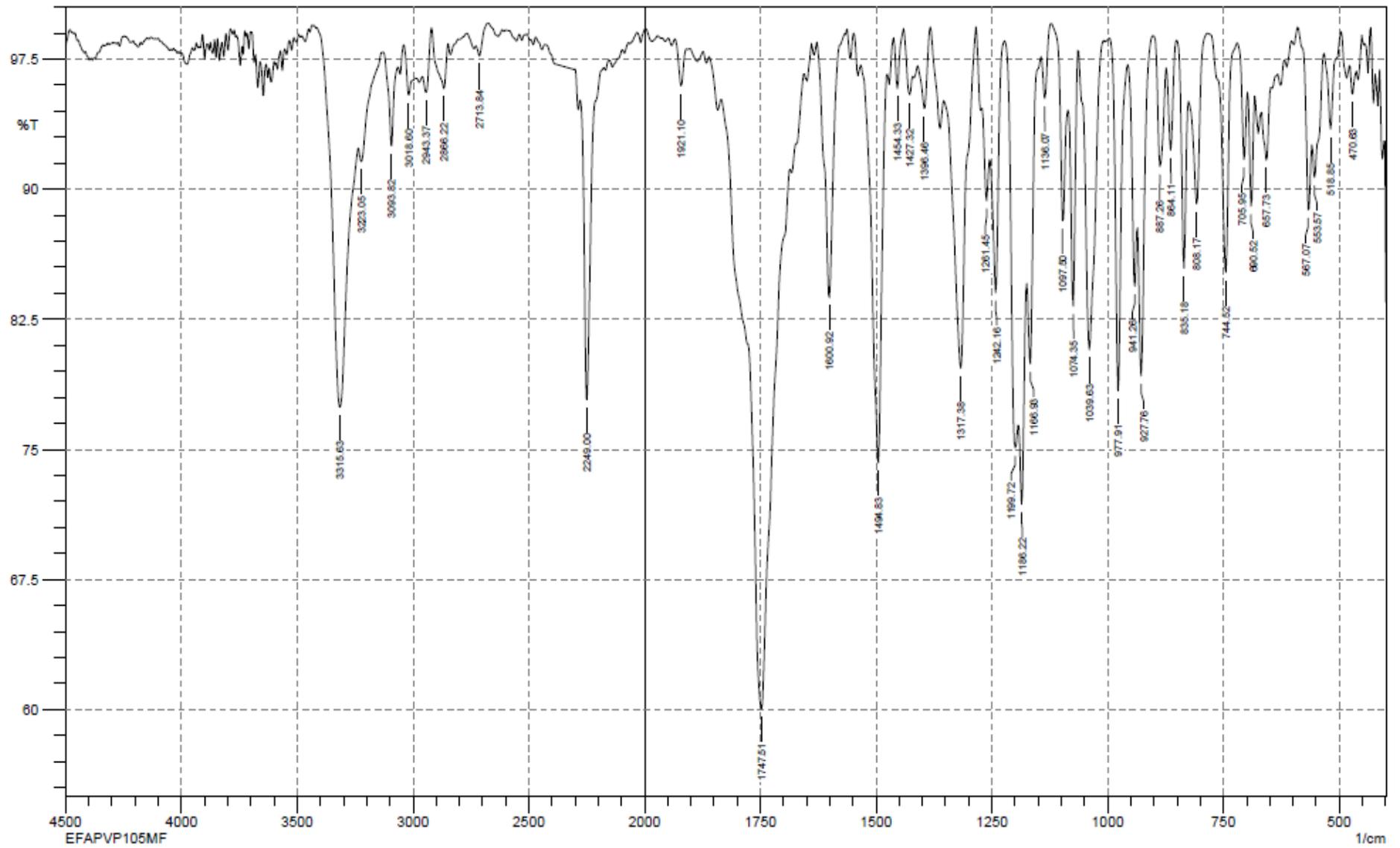
ANEXO 29 – EFA:PVP (1:0,25) comicronizado RMN ^1H em CDCl_3



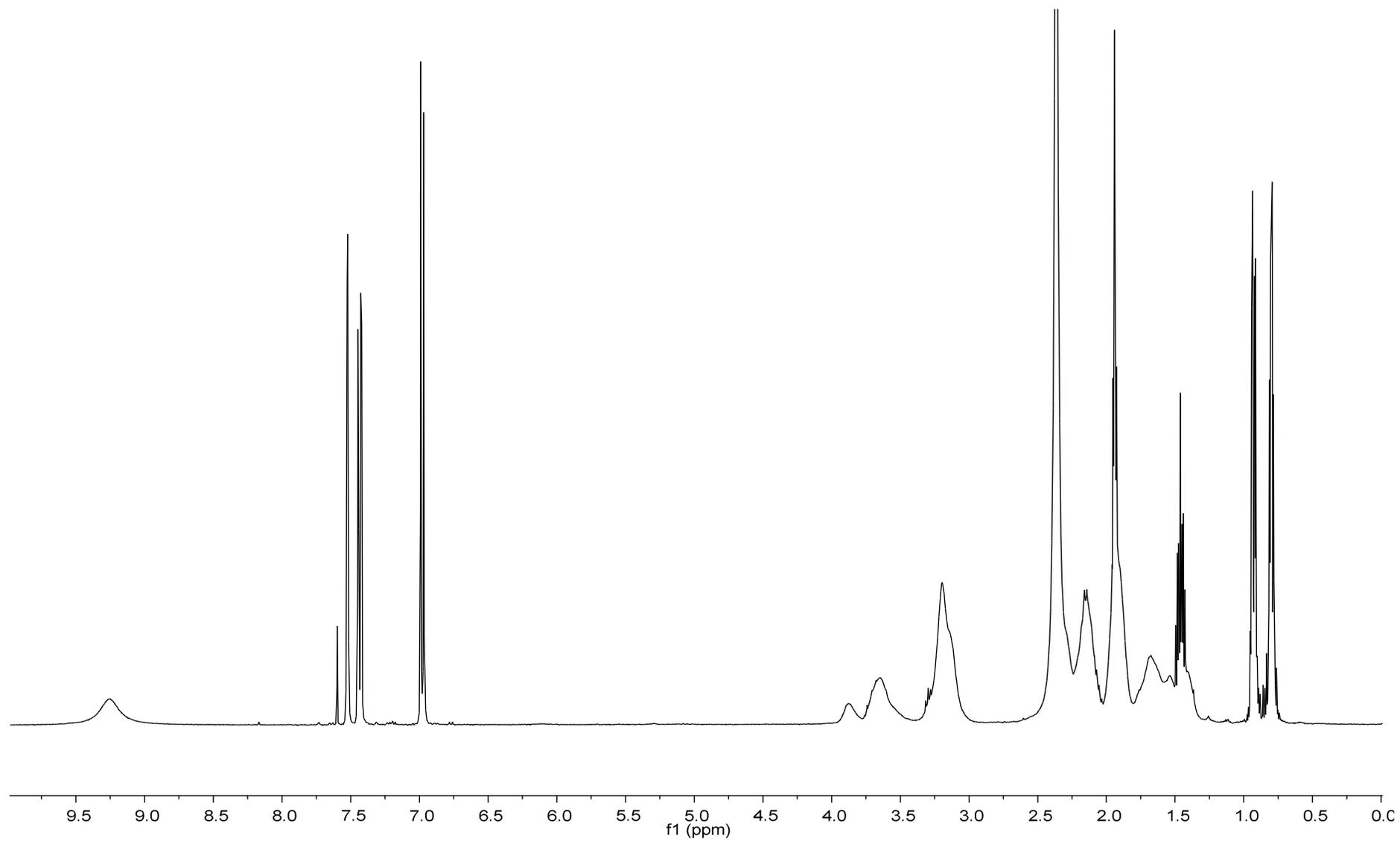
ANEXO 30 – EFA:PVP (1:0,25) comicronizado RMNs ¹³C CP/MAS



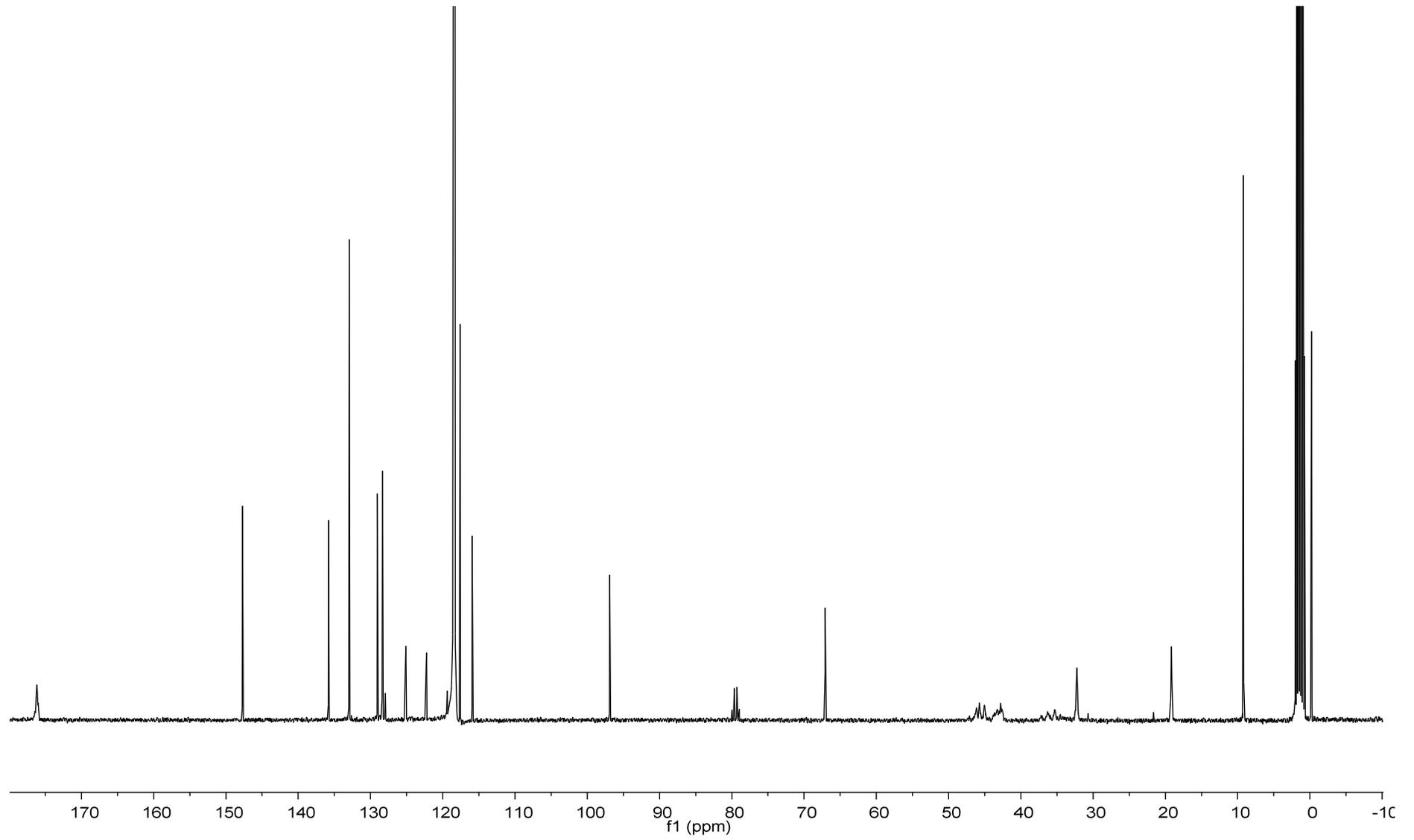
ANEXO 31 – Infravermelho EFA:PVP (1:0,5) mistura física – Pastilha KBr



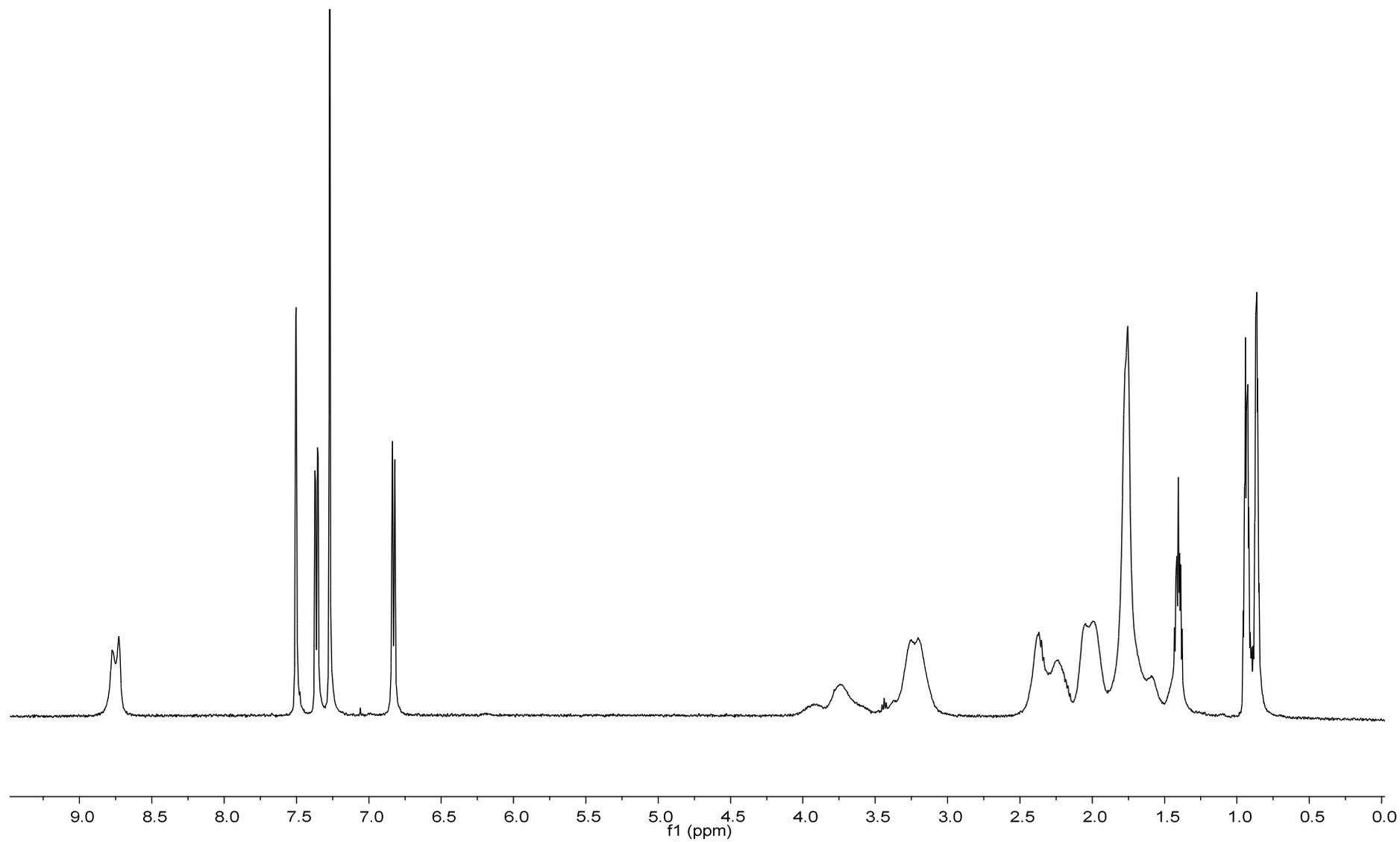
ANEXO 32 – EFA:PVP (1:0,5) mistura física RMN ^1H em CD_3CN

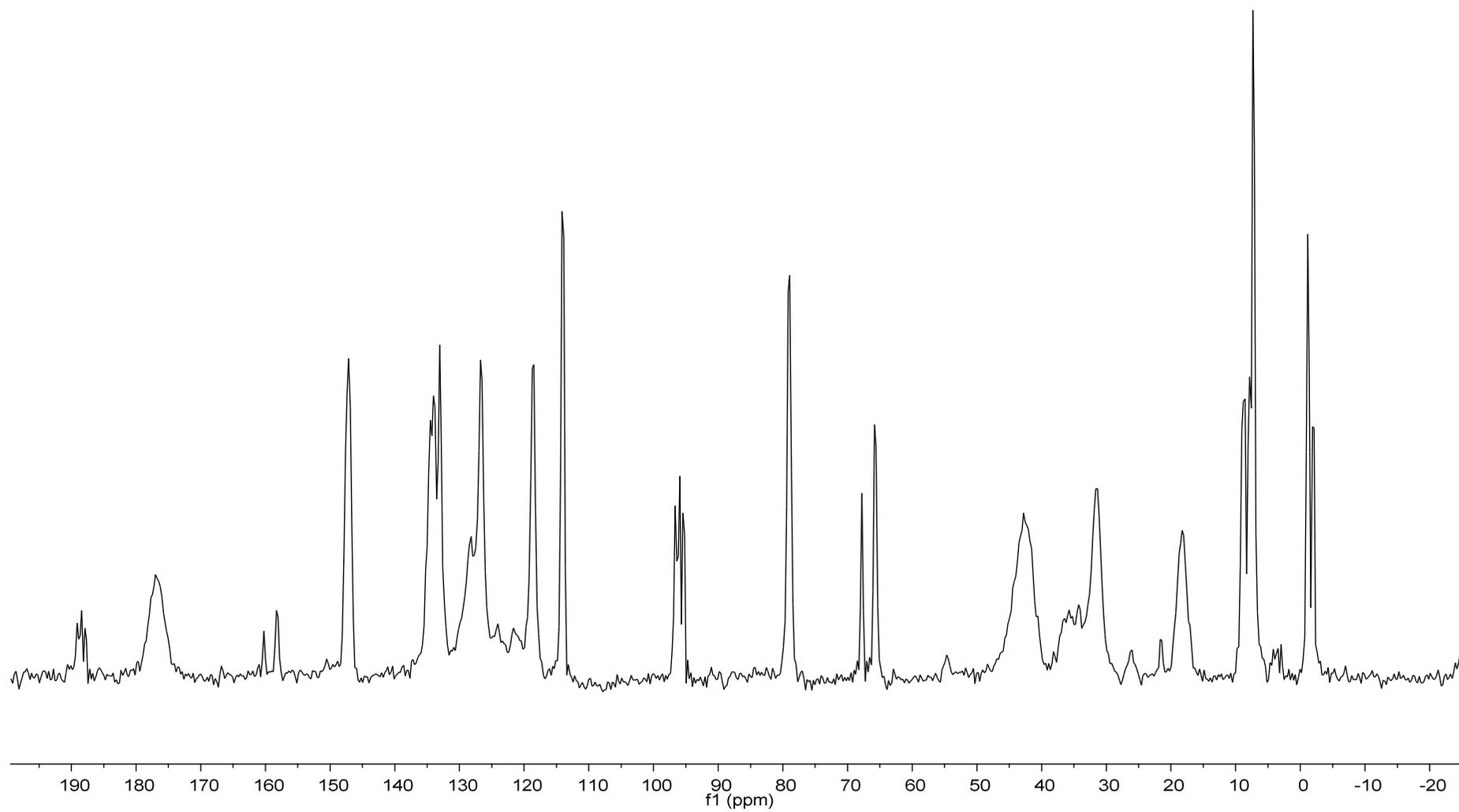


ANEXO 33 – EFA:PVP (1:0,5) mistura física RMN ¹³C em CD₃CN

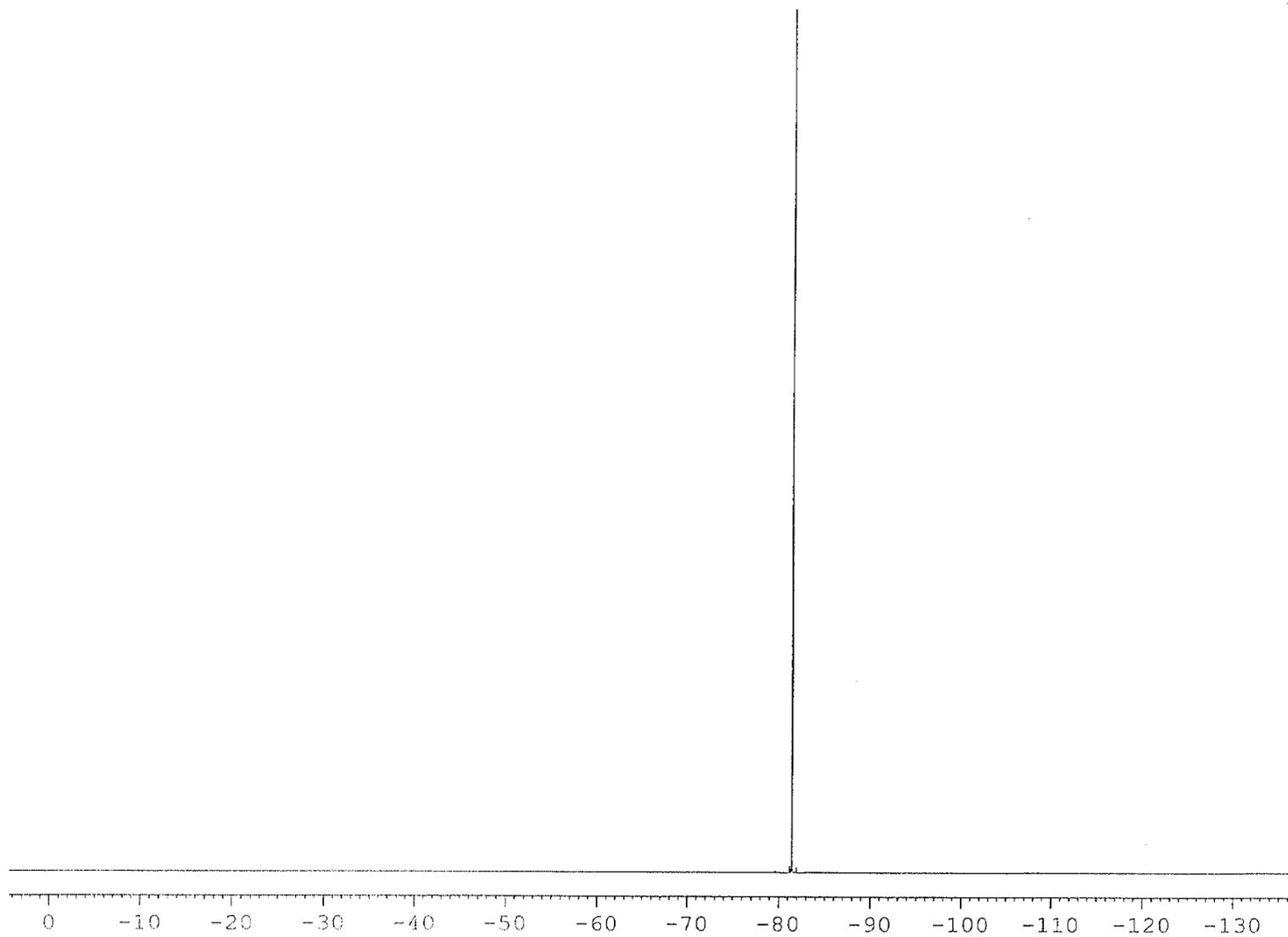


ANEXO 34 – EFA:PVP (1:0,5) mistura física RMN ^1H em CDCl_3

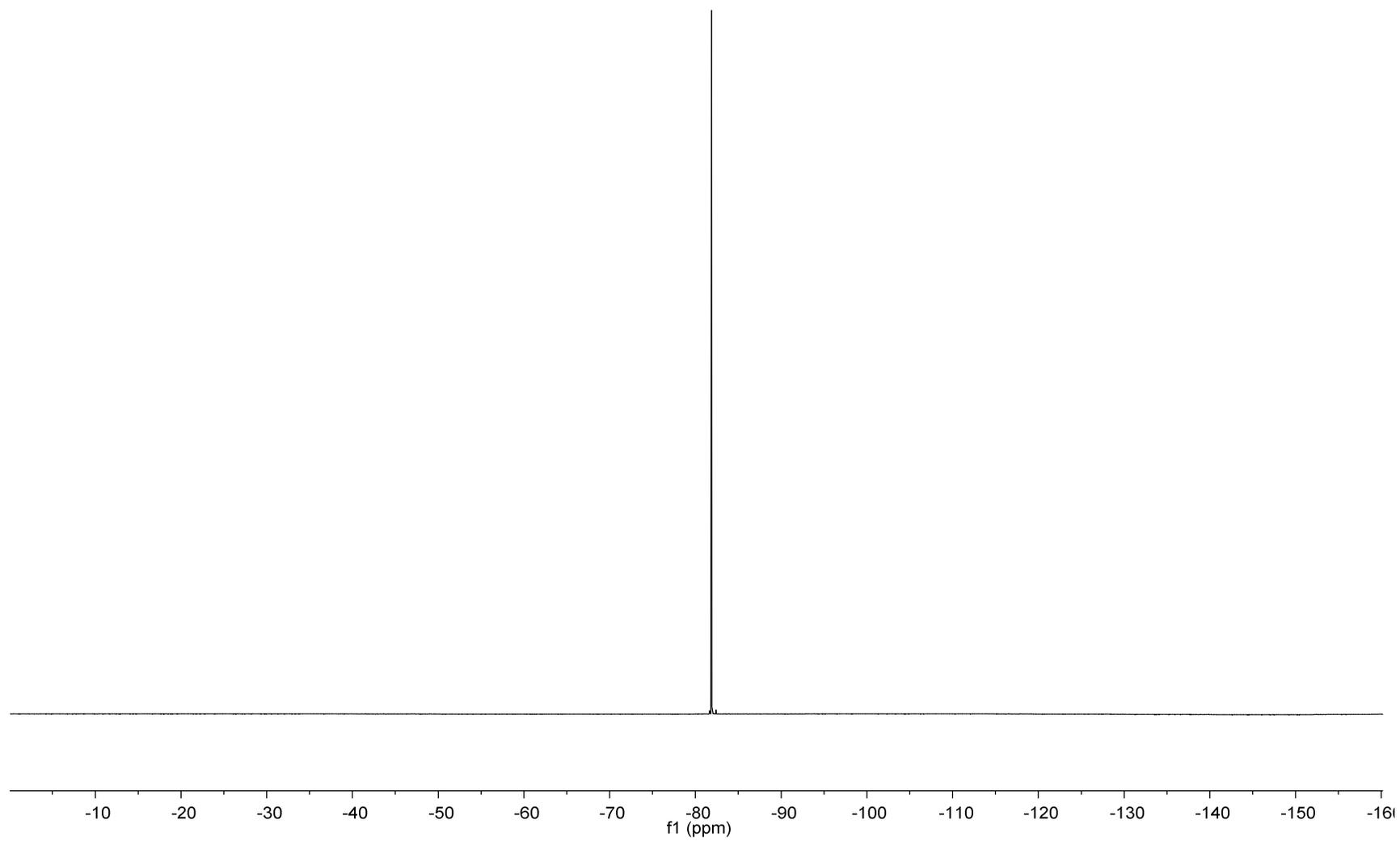


ANEXO 35 – EFA:PVP (1:0,5) mistura física RMNs ^{13}C CP/MAS

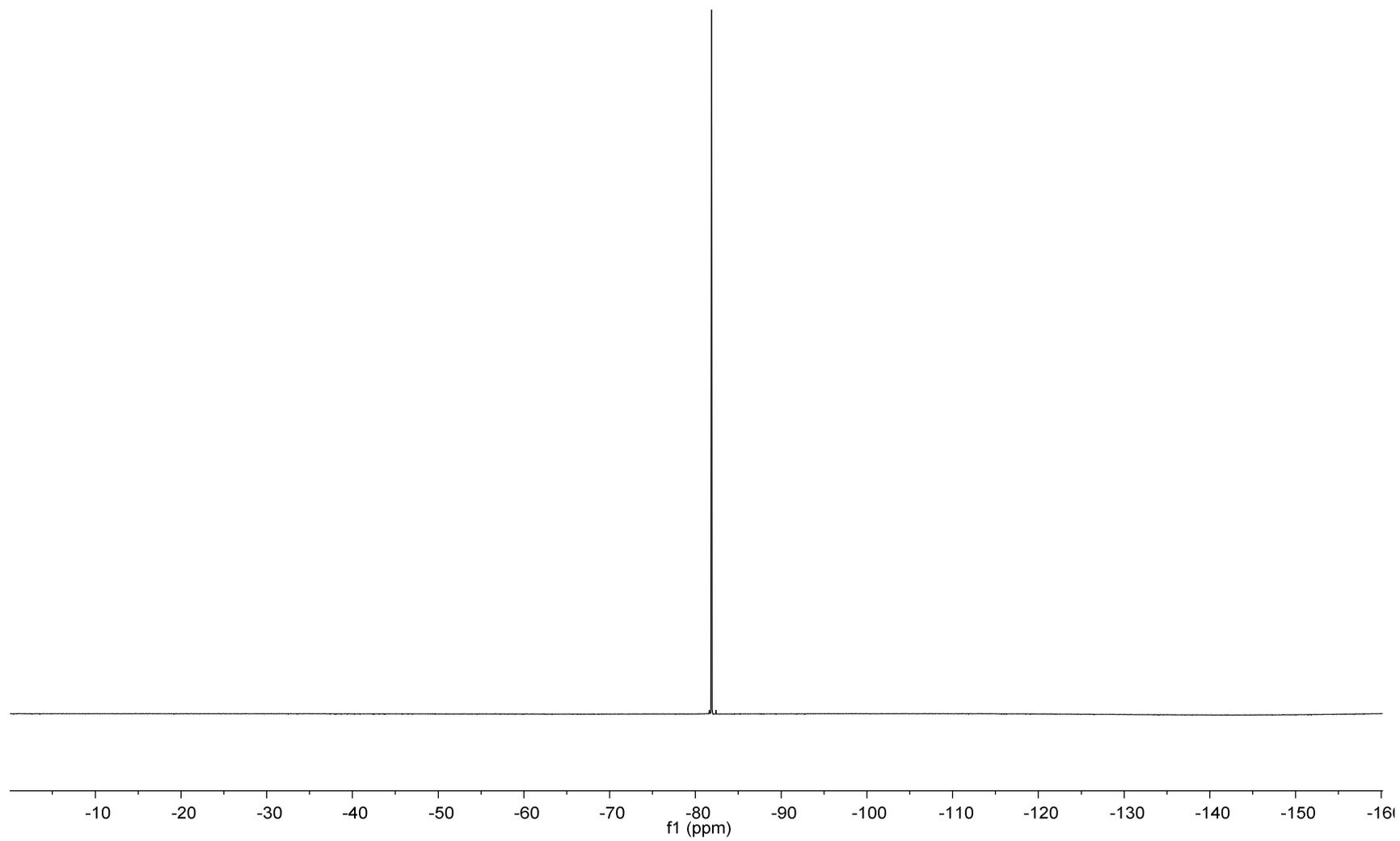
ANEXO 36 – EFA RMN ^{19}F em CDCl_3



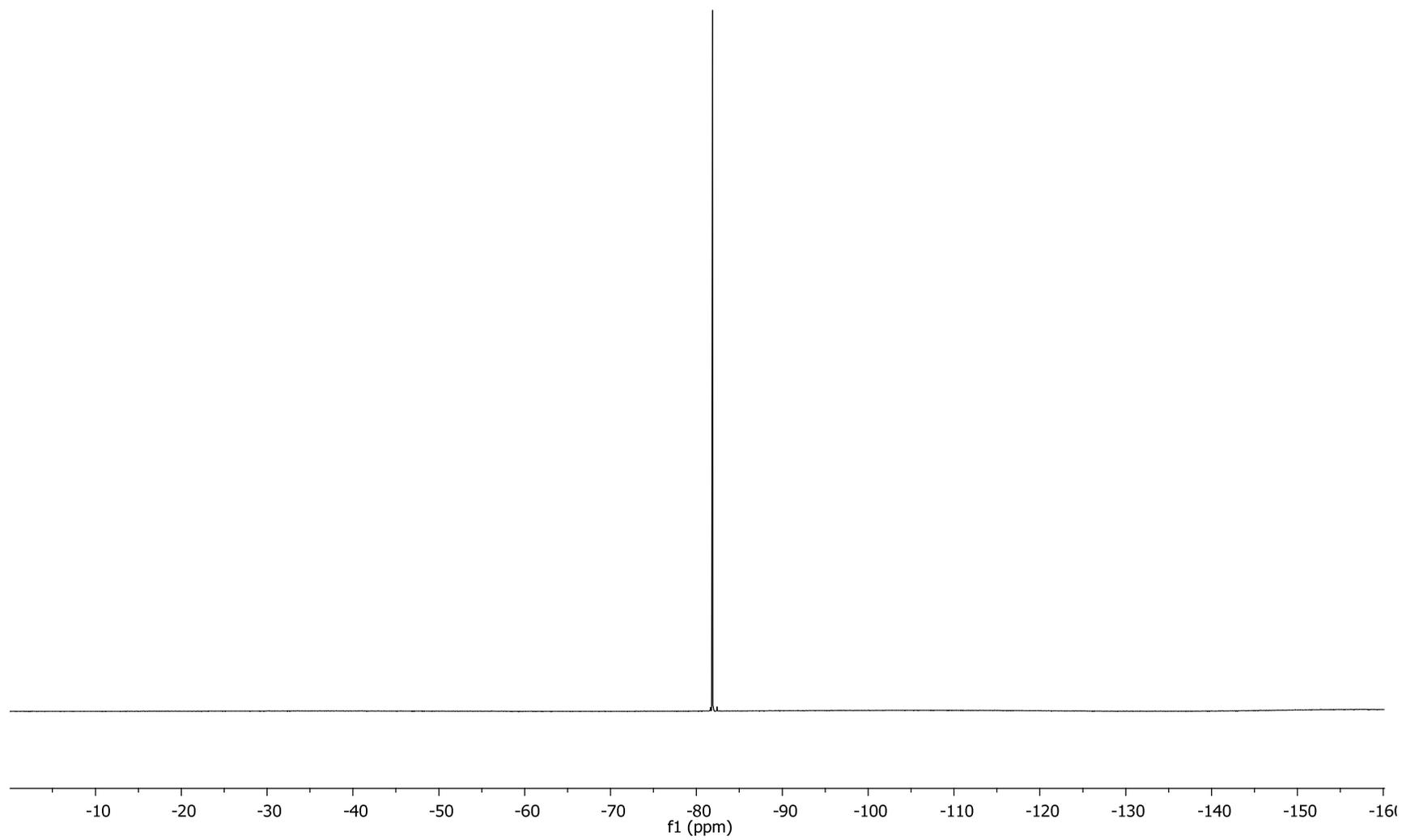
ANEXO 37 – EFA recristalizado RMN ^{19}F em CD_3CN



ANEXO 38 – EFA:PVP (1:0,5) comicronizado RMN ^{19}F em CD_3CN



ANEXO 39 – EFA:PVP (1:0,25) comicronizado RMN ^{19}F em CD_3CN



ANEXO 40 – EFA:PVP (1:0,5) mistura física RMN ^{19}F em CD_3CN

