

UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE GOIÁS
CENTRO UNIVERSITÁRIO DE ANÁPOLIS

**CARBAMAZEPINA NO ESTADO SÓLIDO E SUA
SUSCEPTIBILIDADE POLIMÓRFICA**

Wilma Gomes Galvão

Goiânia – GO
2009

UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE GOIÁS
CENTRO UNIVERSITÁRIO DE ANÁPOLIS

CARBAMAZEPINA NO ESTADO SÓLIDO E SUA SUSCEPTIBILIDADE POLIMÓRFICA

Wilma Gomes Galvão

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em *Gestão, Pesquisa e Desenvolvimento em Tecnologia Farmacêutica*, oferecido por uma associação entre a Universidade Católica de Goiás, a Universidade Estadual de Goiás e o Centro Universitário de Anápolis, para obtenção do título de mestre

Orientador: Prof. Dr. Hamilton Barbosa Napolitano

Goiânia – GO
2009

Dedico este trabalho primeiramente a Deus que me deu forças para chegar até aqui. Dedico também a minha família, em especial aos meus filhos, Marília e Guilherme, por serem tão admiráveis enquanto pessoas, fonte de estímulos, que me impulsionaram a buscar vida nova a cada dia, meus sinceros agradecimentos por terem aceitado se privar de minha companhia pelos estudos, concedendo a mim a oportunidade de me realizar ainda mais.

AGRADECIMENTOS

Á Deus, o que seria de mim sem a fé que eu tenho nele.

A minha família, em especial meu esposo que sempre acreditou que seria possível.

Ao Professor Dr. Hamilton Barbosa Napolitano pela paciência e persistência durante todo este processo, pelas sugestões apresentadas na orientação, pela inspiração no amadurecimento dos meus conhecimentos e conceitos que me levaram a execução e conclusão desta dissertação.

A todos os professores que tive durante o Mestrado de Gestão, Pesquisa e Desenvolvimento em Tecnologia Farmacêutica, pelo carinho, incentivo e esforços para conosco, mesmo com todas as dificuldades.

Aos funcionários da Fundação de Medicina Tropical do Tocantins por todo o suporte e pelo sorriso no rosto ao resolver nossos problemas.

Aos amigos que fiz durante esse curso, pois sei que vivemos momentos bons que, com certeza, ficarão guardados para sempre em nossas mentes.

SUMÁRIO

RESUMO.....	7
ABSTRACT.....	8
LISTA DE FIGURAS	9
LISTA DE TABELAS	10
LISTA DE ABREVIATURAS.....	11
1. INTRODUÇÃO	12
2. POLIMORFISMO	14
2.1 Importâncias na Indústria Farmacêutica.....	15
2.2 Métodos de Caracterização dos Polimorfos	16
2.2.1 Calorimetria diferencial de varredura (DSC)	17
2.2.2 Termogravimetria (TG).....	17
2.2.3 Ressonância Magnética Nuclear (RMN)	18
2.2.4 Espectroscopia de Infravermelho (IR) e Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR)	18
2.2.5 Microscopia óptica e eletrônica	19
2.3 Tipos de Polimorfismo.....	20
2.4 Estabilidades Relativas dos Polimorfos.....	21
3. CONSIDERAÇÕES SOBRE A CARBAMAZEPINA.....	25
3.1 Conhecimento Estrutural da Carbamazepina	27
3.1.1 Introdução à cristalografia	27
3.1.2 Simetria	29
3.1.3 Sistema Cristalino	32
3.1.4 Redes de Bravais	34
3.1.5 A difração dos Raios X	36
3.2 Importância do conhecimento estrutural	40
4. DESCRIÇÃO DOS POLIMORFOS DA CARBAMAZEPINA	43
4.1 Forma III – Monoclínica β	47
4.2 Forma I - Triclínica γ	50
4.3 Forma II – Trigonal α	52
4.4 Forma IV - Monoclínica de Face Centrada	54
4.5 Descrições da Estrutura Molecular	55

4.6 Análise Conformacional	56
4.6 Transformações polimórficas	57
4.6.1 Por Aquecimento.....	58
4.6.2 Por Hidratação.....	60
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	62
REFERÊNCIAS.....	64

RESUMO

Muitos produtos farmacêuticos encontram-se no estado sólido por motivos de estabilidade ou por facilidade no manuseio durante as etapas de desenvolvimento da droga. O polimorfismo é a cristalização de uma mesma substância em diferentes arquiteturas cristalinas. Este fenômeno é muito comum em produtos farmacêuticos e está associado às diferenças nos arranjos da embalagem cristalina. A presença de diferentes formas cristalinas para um mesmo fármaco pode alterar algumas das suas propriedades físico-químicas, tais como a solubilidade, o que pode afetar diretamente sua biodisponibilidade e sua eficácia terapêutica. Neste contexto, a carbamazepina tem servido de composto modelo para o estudo do polimorfismo, onde uma análise de sua multiplicidade estrutural tem buscado avaliar a susceptibilidade polimórfica. Significantes diferenças entre as formas polimórficas anidras da carbamazepina foram caracterizadas por métodos espectroscópicos e difratométricos, em especial a difração de raios X, pelas importantes informações estruturais fornecidas. Onde a susceptibilidade polimórfica para forma mais estável pode ser observada em função de vários fatores entre eles se destaca o conteúdo energético.

Palavras-chave: *Carbamazepina; solubilidade; multiplicidade estrutural; susceptibilidade polimórfica; estabilidade.*

ABSTRACT

Many pharmaceutical products are in solid state for reasons of stability or ease of handling during the stages of drug development. The polymorphism is the crystallization of the same substance in different crystalline architectures. This phenomenon is very common in pharmaceuticals and is associated with differences in packing arrangements of crystalline. The presence of different crystalline forms for the same drug can change some of its physicochemical properties such as solubility, which can directly affect their bioavailability and therapeutic efficacy. In this context, carbamazepine has served as a model compound for the study of polymorphism, where an analysis of its structural diversity has sought to evaluate the susceptibility polymorphic. Significant differences between the polymorphic forms of anhydrous carbamazepine were characterized by spectroscopic methods and difratometria, especially the X-ray diffraction, the important structural information provided. Where Polymorphic susceptibility to the more stable form can be observed due to several factors including the energy content is highlighted.

Keywords: *Carbamazepine; Solubility; Structural Multiplicity; Polymorphic susceptibility; Stability.*

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Diagrama de Energia Livre versus Temperatura (E/T) para um Sistema Enantiotrópico.....	22
Figura 2 - Diagrama de Energia Livre versus Temperatura (E/T) para um sistema Monotrópico.....	23
Figura 3 - Fórmula Estrutural da Carbamazepina	26
Figura 4 - Representação esquemática do retículo cristalino de um cristal de NaCl e sua respectiva cela unitária	30
Figura 5 - Representação da cela unitária e seus parâmetros de caracterização	31
Figura 6 - As 14 Redes de Bravais	35
Figura 7 - Difração de Raios X.....	37
Figura 8 - Representação esquemática fora de escala da Lei de Bragg.	39
Figura 9 - Espectros obtidos por FTIR para as quatro formas polimórficas anidras da carbamazepina (GRZESIAK, <i>et al.</i> , 2003).....	47
Figura 10 - Fotomicrografia da forma monoclinica obtida de microscópio eletrônico de varredura (LOWES, <i>et al.</i> , 1987).....	49
Figura 11 - Padrões de PXRD para os quatro polimorfos anidros da carbamazepina (GRZESIAK, <i>et al.</i> , 2003).....	50
Figura 12 – Empacotamento da Forma monoclinica formando dímeros via ligações de hidrogênio.....	50
Figura 13 – Empacotamento da Forma Triclínica, grupo espacial P1	51
Figuras 14 - Fotomicrografias da forma trigonal (LOWES, <i>et al.</i> , 1987)	52
Figura 15 – Empacotamento da Forma trigonal com grupo espacial R3.	53
Figura 16 - Empacotamento da Forma Monoclinica de face centrada.	55
Figura 17 - Diagrama de Energia livre versus Temperatura para polimorfos I, II e III da carbamazepina, onde G representa energia livre de Gibbs e H a entalpia(KRHAN; MIELCK, 1987).	58
Figura 18 - DSC dos quatro polimorfos anidros da CBZ sob taxa de 20°C/min de aquecimento (GRZESIAK, <i>et al.</i> , 2003).....	59

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Os sete sistemas cristalinos.....	32
Tabela 2 - Grupos Espaciais para os Sistemas Cristalinos Triclínico, Monoclínico e Trigonal	36
Tabela 3- Tabela apresentada por GRZESIAK et al.2003.....	44
Tabela 4 - Dados cristalográficos obtidos pelo banco de dados CCDC para os polimorfos da Carbamazepina	46
Tabela 5 - Formas de Obtenção dos polimorfos da Carbamazepina.....	48
Tabela 6 - Cálculos de Energia baseado no método Hartree- Fock em conjunto de base 3- 21*	57

LISTA DE ABREVIATURAS

CBZ – Carbamazepina

CCDC – *Cambridge Crystallographic Data Center*

DSC – Calorimetria Diferencial de Varredura

FDA - *Food and Drug Administration*

FT-IR – Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier

IR – Espectroscopia de Infravermelho

IUPAC - International Union of Pure and Applied Chemistry

P&D – Pesquisa e Desenvolvimento

RMN – Ressonância Magnética Nuclear

SAXS – Espalhamento de Raios-X a Baixo Ângulo

SEM – Microscopia Eletrônica de Varredura

TG – Termogravimetria

TGA – Análise Termogravimétrica

USP – United States Pharmacopoeia

XRPD – Padrão de Difração de Raios X

1. INTRODUÇÃO

De acordo com BRANDÃO (2007), a seleção de matérias primas, no processo de desenvolvimento de um novo medicamento, deve ser efetuada, visando caracterizar, em especial, a substância ativa. As monografias descritas nos compêndios oficiais, em geral, apresentam os ensaios para determinação da qualidade da droga, referindo-se a seus aspectos qualitativos e quantitativos, assim como os ensaios para a avaliação de pureza. Tais ensaios são fundamentados, entre outras, nas informações referentes à síntese e às propriedades físico-químicas da substância submetida à análise. Porém, essas especificações oficiais podem não se referir a características específicas, como mudanças na estrutura cristalina, relacionadas às possíveis alterações nos processos produtivos.

A grande maioria dos medicamentos comercializados é formulada em formas farmacêuticas sólidas de uso oral. Tais formas farmacêuticas, apesar de serem de administração cômoda ao paciente, podem sofrer alterações durante seu processo de produção, como por exemplo, o polimorfismo que, segundo VILA JATO (2001), é a capacidade das moléculas cristalizarem-se em duas ou mais formas. Tal fato é decorrente das condições empregadas na síntese e na purificação da substância, dependendo do solvente utilizado e da temperatura de reação conforme rota adotada pelo fabricante.

A estrutura cristalina de uma substância ativa pode afetar a estabilidade e/ou a solubilidade de um fármaco. Esta, por sua vez, será o fator limitante para o processo de absorção de fármacos administrados por via oral, podendo comprometer a qualidade dos produtos disponibilizados e ter como resultado falha terapêutica ou toxicidade, o que irá representar um alto risco ao usuário (GIRON, 1995). Portanto, o conhecimento estrutural, ou, ainda, a determinação do arranjo dos átomos nas moléculas e no cristal é extremamente útil para o entendimento das propriedades químicas, físico-químicas e biológicas dos compostos.

Para conhecer uma estrutura no seu nível atômico, é preciso vê-la, ainda que para tal seja necessário lançar mão de recursos indiretos. Várias técnicas têm sido desenvolvidas e, em geral, estão ligadas a métodos espectroscópicos e difratométricos, que, embora muito úteis, não estão rotineiramente disponíveis para se conhecer a distribuição espacial dos átomos constituintes de uma dada molécula. Estas ferramentas ou recursos indiretos são (1) difração de raios X por monocristais,

(2) difrações de nêutrons, (3) ressonância magnética nuclear, (4) espalhamento de raios-X a baixo ângulo em solução(SAXS), (5) microscopia eletrônica (6) modelagem teórica e outros. (NAPOLITANO, *et.al.*, 2005). O método que permite conhecer a disposição tridimensional dos átomos na estrutura molecular dos compostos no estado cristalino é o método cristalográfico, cuja alta resolução permite descrever sua densidade eletrônica, (DRENTH, 1999). A qualidade destacada neste método dispensa o conhecimento a respeito do composto *ab-initio* (GIOCOVAZZO *et al.*, 1992).

Assim, a metodologia de determinação da estrutura molecular e da estrutura cristalina, chamada cristalografia de raios X, baseia-se no fenômeno de difração que ocorre devido à interação da radiação eletromagnética com a matéria cristalina. Hoje em dia, são utilizados para análise de cristais raios X de comprimento de onda bem determinados, produzidos por um tubo de raios X e selecionados por difração e, quando este feixe definido difrata em um cristal desconhecido, a medida do(s) ângulo(s) de difração do(s) raio(s) emergente(s) permite elucidar a distância dos átomos no cristal e, conseqüentemente, a estrutura cristalina. Os ângulos dos feixes resultantes da difração são lidos pelo equipamento e processados por computador, que calcula e mostra as prováveis configurações dos átomos no cristal. Esse método de análise é muito procurado, como o objetivo é principalmente a análise estrutural, é perfeitamente adequado para a caracterização de polimorfos e solvatos¹.

A importância do estudo do polimorfismo tem sido extensivamente relatada nessas últimas décadas. Entre os fármacos descritos na literatura que se apresentam sob a forma cristalina e possui polimorfismo, a carbamazepina é um dos que se destacam pelo impacto que os diferentes polimorfos causam no seu perfil de dissolução e biodisponibilidade². Por esse motivo, temos como objetivo neste trabalho, descrever estruturalmente a carbamazepina (CBZ) para ilustrar a importância da descrição estrutural do fármaco no estado sólido e de sua multiplicidade estrutural buscando avaliar sua susceptibilidade polimórfica para uma dada formulação.

¹ Sólidos farmacêuticos que quando cristalizados a partir de diferentes solventes, podem formar um complexo molecular que tem moléculas de solvente incorporadas em locais determinados da estrutura do cristal (SINKO, 2008)

² A biodisponibilidade de um fármaco é definida como a fração da dose do fármaco que é encontrada na circulação geral (GILMAN *et al.*, 1991).

2. POLIMORFISMO

Polimorfismo pode ser definido como a habilidade de um composto cristalizar em duas ou mais fases cristalinas com arranjos e/ou conformações moleculares diferentes, nas unidades dos cristais. Portanto, polimorfos são diferentes formas cristalinas de um mesmo composto químico puro. O fenômeno do polimorfismo em cristais moleculares é análogo para o alotropismo entre elementos. Aproximadamente um terço dos compostos orgânicos e cerca de 80% dos medicamentos comercializados exibe polimorfismo sob condições experimentalmente acessíveis. Em diferentes descrições de arranjos e/ou conformações de moléculas, polimorfos exibem diferentes propriedades físicas e químicas. Estas diferenças desaparecem em fases líquidas e vapor (HILFIKERI, 2006).

Atualmente, o estudo de polimorfos está bem avançado, a ponto de hoje fazer parte na descrição de patentes de substâncias e produtos. Coisa rara, até segunda metade da década de 90. Além disso, estudos clínicos caros podem apresentar resultados não reproduzíveis se o polimorfismo não for observado. Portanto, durante a pesquisa e o desenvolvimento da molécula, procura-se obter e determinar todas as formas possíveis de cristais. Geralmente, buscam-se formas mais solúveis e estáveis.

Determinar a estrutura cristalina de um composto ativo é uma das primeiras etapas do desenvolvimento farmacêutico. A estrutura cristalina de uma droga pode sugerir quão facilmente ela pode ser formulada, ter aplicabilidade biológica e informar sua durabilidade. O conhecimento dos diferentes polimorfos de um cristal é vital, bem como verificar a existência de polimorfos antes dos estudos clínicos e dos testes de estabilidade. A descoberta de um novo polimorfo, mesmo que seja metaestável, mas que pode ser produzido de forma controlada por uma empresa farmacêutica concorrente, é uma ameaça à patente do princípio ativo de uma empresa. Uma vez descoberta uma nova droga, normalmente é a forma cristalina que é patenteada. Os polimorfos podem causar os seguintes problemas: um competidor poderia patentear e comercializar um polimorfo diferente; um polimorfo indesejado (e potencialmente tóxico ou inerte) poderia ser manufaturado; diferentes condições de manufatura ou condições de formulação podem produzir diferentes polimorfos; é muito difícil determinar todos os possíveis polimorfos por

experimentação; podem ter propriedades inteiramente diferentes com base na formulação desejada padrão (NAPOLITANO *et al.*, 2005).

Analogamente, podemos frisar que as formas polimórficas podem apresentar diferenças nas propriedades físicas e físico-químicas como pontos de fusão e sublimação, condutividade, volume, densidade, dureza do cristal, forma do cristal, cor, índice de refração, solubilidade, higroscopia, reações no estado sólido, estabilidade e perfil de dissolução (GIRON, 1995; BOTTON, 1999). A existência de formas polimórficas de fármacos pode afetar o desempenho de formas farmacêuticas sólidas, afetando seu perfil de dissolução, biodisponibilidade e/ou estabilidade. Pode afetar, também, a reprodutibilidade dos lotes industriais, tanto da produção do fármaco quanto do medicamento (BRYN, 1995).

É reconhecido amplamente que a completa identificação e caracterização do estado sólido nas diferentes formas de uma determinada droga são essenciais para o processo de pré-formulação e para alcançar uma formulação adequada, onde a caracterização das formas polimórficas e solvatadas implicam uma análise quantitativa das várias propriedades físico-químicas.

2.1 Importâncias na Indústria Farmacêutica

A Indústria farmacêutica é muitas vezes surpreendida quando tem que lidar com o fenômeno do polimorfismo, quando se quer obter um princípio ativo. Normalmente estas surpresas estão relacionadas ao comportamento do sólido obtido, quer seja durante sua caracterização química ou durante seu processamento e armazenamento. Um ponto de fusão variável dependendo do lote, uma insolubilidade inesperada do produto em solventes normalmente utilizados sem problema, lotes do produto com propriedades físicas inconsistentes ou variações da cor e da forma do sólido cristalino obtido, pode ser, entre outros, indícios da presença do fenômeno do polimorfismo (HILFIKERI, 2006).

Este fenômeno tem importante implicação na indústria farmacêutica em primeiro lugar por afetar a estabilidade química do princípio ativo, como referido anteriormente, o que pode levar a diferentes propriedades físicas, daí os polimorfos serem mais ou menos inertes em diferentes condições de umidade e temperatura. Além disso, a velocidade de absorção (biodisponibilidade) também será afetada, onde alguns polimorfos de um mesmo composto apresentarão atividade mais baixa em relação a outros com velocidades superiores de dissolução. Assim, a aplicação

farmacêutica de um princípio ativo em uma única forma polimórfica depende de uma série de fatores, entre eles, que o polimorfo em questão seja suficientemente estável, solúvel e mantenha a mesma forma nas condições de processamento e fabricação sem experimentar nenhuma transformação polimórfica. Portanto, para poder avaliar estes fatores é necessário conhecer o número de polimorfos do princípio ativo, a estabilidade relativa de todos eles e se as formas metaestáveis podem ser estabilizadas. O desconhecimento das diferentes formas cristalinas e a influência destas no preparo de uma droga terá sérias implicações na vida de uma sociedade, e também terá influência direta no aspecto econômico de uma indústria farmacêutica, pois envolve patentes de diferentes formas de uma mesma substância ou, então, de novas formas de substâncias já comercializadas (PROHENS; PUIGJANER, 2007).

Desta forma, o polimorfismo tem contribuído significativamente no desenvolvimento de novos produtos pela indústria farmacêutica, química e alimentícia propondo desafios aos investigadores no desenvolvimento de fármacos e medicamentos, o que se converte numa ferramenta única na engenharia de sólidos já que mediante a manipulação das estruturas cristalinas e suas propriedades se podem desenhar fármacos mais seguros e eficazes.

2.2 Métodos de Caracterização dos Polimorfos

Qualquer propriedade física ou química pode, *a priori*, variar entre os polimorfos, visto que, estes possuem diferentes estruturas cristalinas. Assim, qualquer técnica que possa medir as propriedades de um sólido pode, em princípio, ser utilizada para detectar o fenômeno do polimorfismo e caracterizar as diferenças entre as estruturas polimórficas. Algumas técnicas são mais sensíveis a estas diferenças na estrutura cristalina e, portanto, são mais adequadas. Estes métodos envolvem principalmente fenômenos ópticos (difratometria de pós por raios X, infravermelho, microscopia de Raman) térmicos (calorimetria diferencial, termogravimetria). Há outras técnicas que podem ser aplicadas, como a microscopia óptica e a determinação do ponto de fusão que, no entanto, não apresentam a resolução necessária para diferenciar polimorfos de fármacos (PROHENS; PUIGJANER, 2007). Alguns dos principais métodos utilizados para detecção e caracterização dos polimorfos são descritos a seguir.

2.2.1 Calorimetria diferencial de varredura (DSC)

Este método tem sido um dos principais meios utilizados para o estudo do polimorfismo, uma vez que, proporciona dados úteis tanto para identificação como para caracterização das espécies polimórficas. Esta técnica mede a potência calorífica absorvida ou liberada por uma amostra, visto que, as alterações de estado físico, morfológico ou químico de uma substância em uma determinada faixa de temperatura ocorrem com consumo de energia (alterações endotérmicas) ou com liberação de energia (alterações exotérmicas).

O método consiste no aquecimento, em paralelo, de uma amostra e de um padrão de referência inerte, ambos submetidos a uma mesma taxa de aquecimento, registra-se a quantidade de calor necessária para manter o aquecimento. Quando ocorrer uma variação na quantidade de calor fornecida ao sistema teste é indicado uma transformação térmica na amostra testada (SINKO, 2008).

Na avaliação de substâncias que apresentam diferentes formas cristalinas, é possível determinar a mudança de estrutura cristalina, as temperaturas de fusão e dessolvatação, que aparecem em sinais endotérmicos e exotérmicos na curva de DSC. Este registro do DSC, denominado termograma, é um registro que mostra fenômenos endo e exotérmicos. Permite, ainda, a discriminação entre os sistemas polimórficos como monotrópico ou enantiotrópico³ e auxilia na previsão e análise para a descoberta de hidratos e solvatos. Estudos de sorção⁴-dessorção⁵ também podem ser avaliados por esta técnica, provendo maiores detalhes para a caracterização de estruturas polimórficas (GIRON, 1995). Tendo como grande vantagem a versatilidade e lançar mão de pequenas quantidades de amostra para ser desenvolvido. Sua principal desvantagem está no fato de, em alguns momentos, resultarem em registros de difícil interpretação ou o surgimento de falsos resultados (positivos ou negativos para polimorfismo), (BRYN *et al.*, 1995).

2.2.2 Termogravimetria (TG)

A análise termogravimétrica (TGA) mede as alterações da massa da amostra

³ Mudanças que as formas polimórficas podem sofrer. Quando a mudança de uma forma para outra for reversível, ela é dita enantiotrópica. Quando a mudança ocorre somente em um sentido, ou seja, não é reversível, ela é dita monotrópica (SINKO, 2008).

⁴ Conjunto de fenômenos de absorção, adsorção e dessorção.

⁵ É a liberação das moléculas adsorvidas.

em função do tempo ou temperatura. Os processos de dessolvatação ou de decomposição são muitas vezes acompanhados através de TGA. Esta técnica não permite o estudo de fenômenos que envolvam fusão e modificação de fase cristalina, contudo, é bastante útil quando se trata da análise de uma mistura entre polimorfos, hidratos e solvatos (BRYN *et al.*, 1995).

2.2.3 Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

A ressonância magnética nuclear no estado sólido está sendo usada com maior frequência na identificação dos polimorfos, é uma técnica não destrutiva e analisa toda a amostra simultaneamente eliminando o inconveniente de analisar apenas uma porção da amostra. Baseiam-se na absorção da radiação na região da rádio frequência do espectro eletromagnético que resulta em modificação na orientação do *spin* do núcleo quando submetido a um campo magnético. Consiste em submeter um núcleo, cujo *spin* seja diferente de zero, a um campo magnético e detectar o seu momento magnético, ou sua ressonância magnética. Como cada núcleo tem um momento diferente, pode-se definir que tipo de ligação química aquele núcleo está realizando. É uma técnica onde a intensidade do sinal é proporcional ao número de núcleos, o que provê condições apropriadas para uma boa sensibilidade do método. Para pesquisa de polimorfos é excelente, pois tem capacidade de diferenciar estruturas sólidas. No entanto, é passível a ocorrência de uma gama de erros em estudos quantitativos em amostras no estado sólido (BRYN *et al.*, 1995).

É um método poderoso para determinar as variações na rede de ligações de hidrogênio e conformações moleculares entre polimorfos (VIPPAGUNTA, *et al.*, 2001).

2.2.4 Espectroscopia de Infravermelho (IR) e Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR)

A espectroscopia de infravermelho (IR) permite a identificação de uma substância orgânica ou mineral pelos grupos funcionais presentes no material em análise. Baseia-se na medida da energia absorvida para a vibração de cada uma das ligações químicas presentes na substância. Nesta técnica, a amostra é submetida a uma radiação de comprimento de onda na região do infravermelho. Um espectro de infravermelho apresenta grande quantidade de sinais chamados de

bandas e é característico de uma molécula como um todo, porém os grupamentos e ligações apresentam absorções que geram bandas de formato característico da estrutura da molécula (BRITAIN, 1999). A transformada de Fourier (FT-IR) utiliza-se do mesmo princípio da espectroscopia em infravermelho, ou seja, diferindo apenas no domínio onde o espectro é mensurado. A FT-IR é uma função matemática que converte o domínio do tempo para o domínio da frequência. Dentro do campo das ciências farmacêuticas, tem grande aplicação no controle de qualidade de fármacos, já que esta metodologia permite identificar moléculas com uma boa margem de segurança, uma vez que o resultado é único para cada substância existente, a exceção dos isômeros ópticos, que apresentam os mesmos espectros (USP 30, 2007).

Ao contrário da análise por infravermelho convencional, que não apresenta uma boa capacidade de detecção de algumas transformações, mostrando registros bem semelhantes, a espectroscopia em infravermelho com transformada de Fourier pode diferenciar claramente polimorfos e hidratos em uma mistura ternária ou com maior número de componentes. No entanto, em alguns casos devem-se considerar outros métodos, uma vez que os registros podem ser bem parecidos, gerando confusão (BRYN *et al.*, 1995).

2.2.5 Microscopia óptica e eletrônica

A microscopia é uma técnica importante para a caracterização de polimorfos, pois, através dela pode-se observar a forma cristalina de uma substância, como por exemplo, o tamanho e a forma dos cristais (BRITAIN, 1999).

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

A diferença básica entre o microscópio óptico e o eletrônico é que neste último não é utilizada a luz, mas sim feixes de elétrons. No microscópio eletrônico

não há lentes de cristal e sim bobinas, chamadas de lentes eletromagnéticas. O microscópio eletrônico de varredura (SEM) é um equipamento que alcança um aumento máximo muitas vezes maior que o óptico. Ele permite a obtenção de informações estruturais como tamanho e forma dos cristais. O SEM é um tipo de microscópio eletrônico capaz de produzir imagens de alta resolução da superfície de uma amostra. Devido à maneira com que as imagens são criadas, elas têm uma aparência tridimensional característica e, são úteis para avaliar a estrutura superficial de uma dada amostra (LACHMAN, *et al.*, 2001).

Fica claro que, o estudo do polimorfismo de um princípio ativo exige uma abordagem multidisciplinar. Os diferentes métodos analíticos fornecem uma ampla gama de informações estruturais e termodinâmicas, muitas vezes complementando uma a outra, e levando a um conhecimento da relação entre os diferentes polimorfos.

2.3 Tipos de Polimorfismo

Baseados em diferenças nas propriedades termodinâmicas, os polimorfos podem ser classificados em um dos dois tipos: enantiotrópico ou monotrópico. Um sistema é enantiotrópico quando a mudança de uma forma cristalina para outra é de caráter reversível. Por outro lado, um sistema é monotrópico se a mudança da forma cristalina acontece em uma única direção, quer dizer, em forma irreversível. Do ponto de vista termodinâmico, o cristal passa sempre de uma forma menos estável a uma forma mais estável. Do ponto de vista farmacêutico, a forma mais estável não é sempre a mais desejada pelos farmacêuticos, desde quando tem estabilidade termodinâmica maior, isto é, menos solúvel, e, por conseguinte terá menor biodisponibilidade. Recordemos que as transições, nos sistemas enantiotrópicos são reversíveis, porque eles podem acontecer em ambos os sentidos do mais estável para menos estável ou vice-versa, tudo depende da droga em questão e dos tratamentos térmicos aos que esteja exposta. (LACHMAN, *et al.*, 2001)

Segundo BURGER e RAMBERGER (1979) e VIPPAGUNTA, *et al* (2001) é possível estabelecer quatro controles úteis para se determinar qualitativamente a natureza enantiotrópica e monotrópica das relações entre polimorfos. São eles: o controle do calor de transição; o controle do calor de fusão; o controle de infravermelho e o controle da densidade. Um aspecto importante é determinar a existência, ou não, de uma temperatura de transição entre duas formas polimórficas,

o que é muito importante porque é a temperatura na qual um polimorfo transforma-se em outro. Esta temperatura pode ser atingida em etapas diferentes de elaboração de um produto farmacêutico, por exemplo, pelo calor recebido durante a trituração, granulação ou armazenamento. Nessa temperatura, ambas as formas apresentam energia livre idênticas, podendo coexistir, apresentar solubilidades iguais em qualquer solvente ou apresentar pressões de vapor iguais. Se pelo uso dos controles for determinado que uma droga específica seja enantiotrópica ou monotrópica, então a próxima meta é definir termodinamicamente a propriedade estável ou metaestável de cada fase da substância como uma função da temperatura. É necessário então, saber em que condições de inter-conversão alcançam-se uma forma estável. A forma termodinamicamente mais estável apresenta, abaixo da sua temperatura de fusão, a menor energia livre, correspondente a menor solubilidade ou pressão de vapor, (VIPAGUNTA, 2001; BERNSTEIN, 2008).

Durante a pré-formulação de um fármaco, é importante identificar o polimorfo que é estável à temperatura ambiente e determinar qual das transições polimórficas ocorre dentro da gama de temperaturas usadas nos estudos de estabilidade e durante o processamento (secagem, moagem, etc.). As variações de energia livre entre polimorfos podem ser obtidas usando várias técnicas a diferentes temperaturas, em que um composto polimórfico é caracterizado preferencialmente por meio de diagramas de fase, tais como: temperatura vs energia livre; pressão vs temperatura; solubilidade vs temperatura; taxa de dissolução vs temperatura. No geral, esses diagramas contêm uma grande quantidade de informação de forma compacta e pode fornecer um sumário visual e facilmente interpretável das complexas relações entre os polimorfos (BERNSTEIN, 2008). Nas Figuras 1 e 2 são demonstrados diagramas de temperatura vs energia livre de Gibbs para sistemas polimórficos. Uma forma mais direta de determinar a temperatura de transição é por observação microscópica das amostras ou ainda por meio da calorimetria diferencial de varredura (LACHMAN, *et al.*, 2001).

2.4 Estabilidades Relativas dos Polimorfos

A estabilidade relativa dos polimorfos depende de suas energias livres, bem como a do polimorfo mais estável que tem uma menor energia livre. Sob um cenário

de condições experimentais definidas (com exceção dos pontos de transição) apenas um polimorfo tem uma menor energia livre. Este polimorfo é a forma termodinamicamente estável e o outro polimorfo(s) é determinado como uma forma(s) metaestável. Uma forma metaestável é aquela que é instável termodinamicamente, mas tem uma existência finita como um resultado de uma taxa relativamente lenta de transformação (HILFIKERI, 2006).

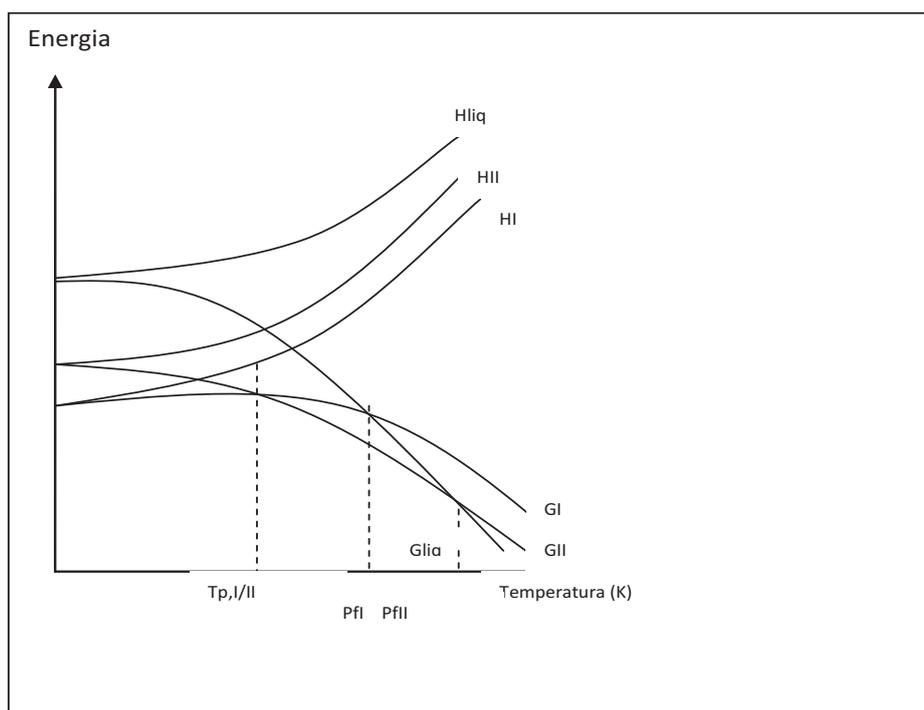


Figura 1 - Diagrama de Energia Livre versus Temperatura (E/T) para um Sistema Enantiotrópico

No diagrama da Figura 1 G representa a energia livre de Gibbs e H é a entalpia. Este diagrama representa uma situação para um sistema enantiotrópico, para dois polimorfos I e II, onde as curvas G_I e G_{II} cruzam-se no ponto de transição (T_p I/II) que se localiza abaixo do ponto de fusão dos respectivos polimorfos. Nesse ponto os dois polimorfos podem coexistir como misturas em equilíbrio, tendo a mesma estabilidade. Na relação termodinâmica enantiotrópica, como descrito anteriormente, os polimorfos convertem-se um no outro de forma reversível. A curva G_{liq} representa a fase líquida, onde suas intersecções com as curvas G_I e G_{II} representam respectivamente o ponto de fusão desses polimorfos. No diagrama acima, o polimorfo I é a forma mais estável (tem a menor energia livre de Gibbs) abaixo do ponto de transição e presumivelmente a temperatura ambiente. Existe

uma tendência termodinâmica para a forma menos estável se transformar na forma mais estável.

No diagrama da figura 2 os símbolos *G* e *H* têm o mesmo significado. Este diagrama representa uma situação para um sistema monotrópico, onde não há ponto de transição abaixo dos pontos de fusão dos polimorfos I e II. O que é representado pela ausência do cruzamento das curvas *G*I e *G*II. Nestas condições, para relação termodinâmica monotrópica, os dois polimorfos I e II não se convertem um no outro. Sendo o polimorfo I mais estável em todas as temperaturas.

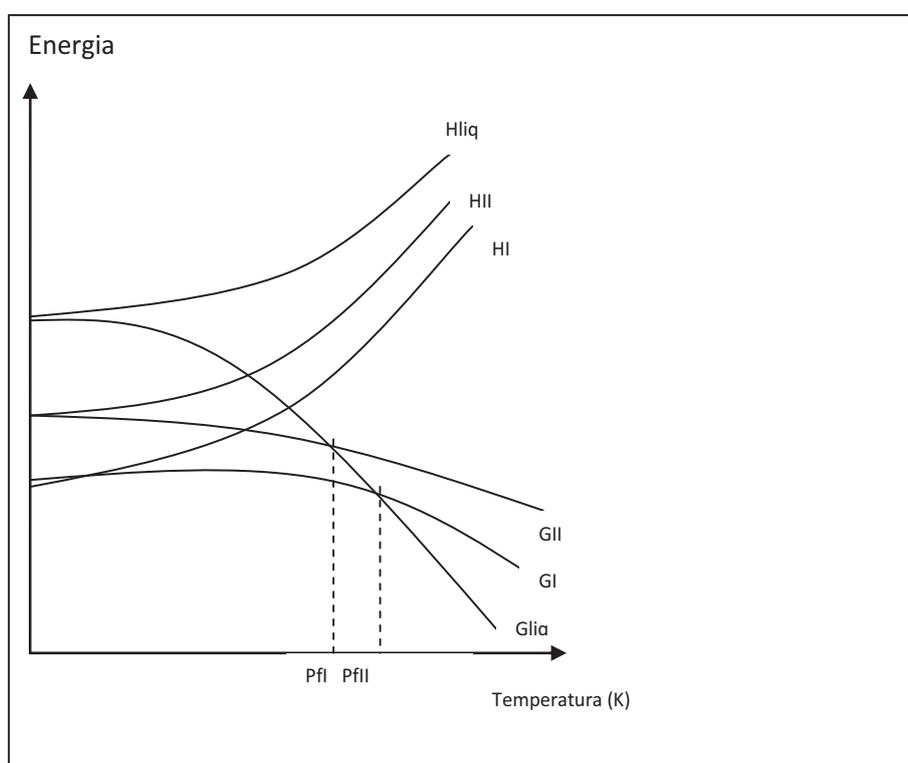


Figura 2 - Diagrama de Energia Livre *versus* Temperatura (E/T) para um sistema Monotrópico

Na indústria farmacêutica, a forma metaestável é, algumas vezes, desejável em relação a suas propriedades especiais, tais como alta biodisponibilidade, melhor comportamento durante a trituração e compressão, ou menor higroscopicidade. No entanto, uma forma metaestável tem uma tendência termodinâmica em reduzir sua energia livre pela transformação na forma estável. Tais transformações polimórficas são muitas vezes prejudiciais para a eficácia da formulação. Além do mais, nos processos de produção e processamento farmacêutico, tais como compactação, moagem, granulação úmida e secagem, podem também resultar em transições

polimórficas. A extensão da transição polimórfica depende das condições de processamento e da estabilidade relativa dos polimorfos em questão. A termodinâmica nos fornece um quadro no qual a estabilidade relativa dos polimorfos pode ser determinada (HILFIKERI, 2006).

Portanto, apenas no ponto da transição termodinâmica é que duas formas polimórficas podem coexistir em misturas em equilíbrio; em outra temperatura as tendências termodinâmicas conduziriam a transformação para forma mais estável. Isso implica que, exceto na temperatura de transição, os polimorfos terão uma existência limitada (BERNSTEIN, 2008).

O conhecimento da natureza enantiotrópica ou monotrópica da relação entre polimorfos pode ser usado para dirigir processos de cristalização, dos quais se pretende obter polimorfos desejados e excluir os indesejados. Para os sistemas dimórficos temos quatro possibilidades:

I. A forma termodinamicamente estável em um sistema monotrópico: nenhuma transformação de uma forma para outra pode realizar-se, e nenhuma precaução necessária será tomada para preservar essa forma ou prevenir uma transformação.

II. A forma termodinamicamente estável em um sistema enantiotrópico: precauções devem ser tomadas para manter as condições termodinâmicas, isto é, temperatura, pressão, umidade relativa, etc., nas quais a curva da energia livre de Gibbs para o polimorfo desejado é abaixo daquela para o polimorfo indesejado.

III. As formas termodinamicamente metaestáveis em sistemas monotrópicos: uma transformação cineticamente controlada pode acontecer para formas estáveis termodinamicamente indesejáveis. Para prevenir tal transformação é necessário empregar condições drásticas para reduzir os efeitos cinéticos, isto é, temperaturas muito baixas, condições de secagem, estocagem no escuro, etc.

IV. As formas termodinamicamente metaestáveis em sistemas enantiotrópicos: a informação para a obtenção e a manutenção desta forma é essencialmente encontrada nos diagramas de energia livre vs temperatura.

Portanto, a importância prática nos estudos de pré-formulação de um fármaco, é determinar se um sistema de polimorfos é monotrópico ou enantiotrópico, sendo capaz de escolher o controle sobre o polimorfo desejado (BERNSTEIN, 2008).

3. CONSIDERAÇÕES SOBRE A CARBAMAZEPINA

A carbamazepina é um agente efetivo para controlar a epilepsia e tratar a nevralgia do trigêmeo, as enfermidades maníacas depressivas e os pacientes que apresentam crises convulsivas generalizadas tônico-clônicas (GILMAN, *et al.* 1991). Foi descoberta em 1953 pelo químico Walter Schindler, em Basileia, na Suíça, que procurava encontrar um composto tricíclico com propriedades antipsicóticas semelhantes à clorpromazina, que tinha sido introduzida no mercado recentemente. Destas investigações surgiu a carbamazepina, uma molécula estruturalmente muito semelhante, sintetizada em 1960, antes mesmo de suas propriedades anti-epiléticas terem sido descobertas. Essa descoberta aconteceu por acaso, no final dos anos 60, passando então a ser utilizada como anti-epiléptico, mostrando-se eficaz no tratamento de primeira linha das crises parciais e tônico-clônicas (GOUVINHAS, *et al.*, 2005; SIMON; BROWN, 2000). Somente em 1974, a carbamazepina foi aprovada nos Estados Unidos para uso como agente anticonvulsivante.

O mecanismo de ação da carbamazepina só foi parcialmente elucidado. Sabe-se que ela estabiliza a membrana do nervo hiperexcitado, inibe a descarga neuronal repetitiva e reduz a propagação sináptica dos impulsos excitatórios. Considera-se que a prevenção de estímulos repetitivos dos potenciais de ação sódio-dependentes na despolarização dos neurônios, via bloqueio do canal de sódio voltagem-dependente, pode ser o principal mecanismo de ação. Enquanto a redução da liberação de glutamato e a estabilização das membranas neuronais podem ser consideradas responsáveis principalmente pelos efeitos anti-epiléticos, já o efeito depressivo no *turnover* (quantidade metabolizada) de dopamina e noradrenalina poderiam ser responsáveis pelas propriedades anti-maníacas da carbamazepina (LIMA, 2002).

A carbamazepina é absorvida de forma lenta e irregular no trato gastrointestinal, distribuindo-se em todas as partes do corpo ligada às proteínas plasmáticas (aproximadamente 75 %). Por ser capaz de induzir o seu próprio metabolismo, sua meia-vida após uma dose única pode ser até de 48 horas. No entanto, após administração repetida por várias semanas, a meia vida cai substancialmente. Sua metabolização ocorre no fígado e um de seus metabólitos primários, o 10,11-epóxido carbamazepina, é tão ativo quanto a droga original, e suas concentrações no plasma e no cérebro equivalem a aproximadamente a 50%

das de carbamazepina. É excretada na urina, quase totalmente, na forma de seus metabolitos, sendo muito pouco excretado nas fezes (GOUVINHAS *et al.*, 2005; EUROPEAN PHARMACOPOEIA, 2002).

A carbamazepina tem parentesco químico com os antidepressivos tricíclicos, sendo um derivado do iminostilbeno com um grupo carbamil na posição 5. Essa tração é essencial para a potente atividade anticonvulsivante. Sua fórmula estrutural é mostrada a seguir, na Figura 3:

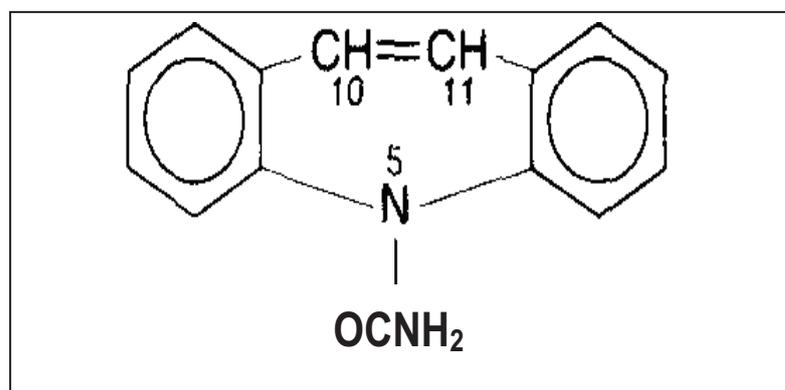


Figura 3 - Fórmula Estrutural da Carbamazepina

Na literatura, sua descrição é vasta e sua caracterização vem sendo desenvolvida desde 1968. Existem diversas técnicas propostas na literatura para a identificação, a caracterização e a quantificação da carbamazepina. Como exemplo, tomamos os ensaios e os métodos de análise físico-químicos propostos pelos compêndios oficiais. Tais referências demonstram que, quanto às suas propriedades físicas, o fármaco é caracterizado por ser um pó cristalino branco amarelado, com ponto de fusão entre 189 e 193°C, sendo praticamente insolúvel em água e éter, levemente solúvel em etanol e acetona, e solúvel em clorofórmio e propileno glicol. Deve ser armazenada em recipientes hermeticamente fechados, abaixo de 40°C e preferencialmente, entre 15 e 30°C e, ao abrigo da luz (EUROPEAN PHARMACOPOEIA, 2002; USP, 2007).

Estudos do FDA indicaram que comprimidos de carbamazepina poderiam perder até um terço da sua eficácia, se conservados em condições úmidas. Isto parece ser devido à formação de um dihidrato, forma que conduz ao endurecimento do comprimido, resultando em uma má dissolução e absorção. Como o dihidrato também tem sido detectado após armazenamento sob condições ambientes,

sugere-se que o armazenamento com sachês de sílica gel pode ser necessário para evitar a deterioração física dos comprimidos de carbamazepina (EUROPEAN PHARMACOPOEIA, 2002). Destacamos, igualmente, a referência de que esse fármaco apresenta o fenômeno de polimorfismo.

A carbamazepina está disponível no mercado farmacêutico sob as formas de comprimidos, cápsulas e suspensões orais (KOROLKOVAS, 2004; LUND, 1994). No Brasil, movimenta US\$ 23 milhões por ano. Somente o Instituto de Tecnologia em Fármacos (Farmanguinhos, FIOCRUZ) produz anualmente 43 milhões de comprimidos deste fármaco (CATELOES, 2002). Cabe ressaltar que a carbamazepina faz parte da Relação Nacional de Medicamentos Essenciais (RENAME), elaborada pelo Ministério da Saúde. Esses fatos denotam o interesse, tanto da Indústria Farmacêutica como de Órgãos Federais por este fármaco, (FDA, 2008; BRASIL, 2008).

3.1 Conhecimento Estrutural da Carbamazepina

O conhecimento da estrutura é usado para melhorar o processo de desenvolvimento de novos produtos farmacêuticos, neste caso, determinar a estrutura cristalina de um composto ativo é uma das primeiras etapas do desenvolvimento farmacêutico. Neste contexto a cristalografia de monocristais, por difração de raios X, fornece as mais precisas informações estruturais de compostos cristalinos, como parâmetros de cela unitária, densidade, desordem cristalina, conformação molecular, empacotamento molecular, ligações de hidrogênio.

3.1.1 Introdução à cristalografia

Um cristal é um sólido no qual os elementos constituintes, sejam eles átomos, moléculas ou íons, estão organizados num padrão tridimensional bem definido, que se repete no espaço, formando uma estrutura com uma geometria específica (também chamada de retículo). Essa estrutura pode assumir a forma externa de um sólido de faces planas regularmente arranjadas, em geral com elevado grau de simetria tridimensional (NETZ; ORTEGA, 2002).

No momento da cristalização, os elementos constituintes do cristal formam com seus vizinhos, um conjunto de ligações químicas, desde ligações iônicas a ligações fracas, que determinam a posição espacial que as moléculas tenderão a ocupar dentro do cristal. Como resultado, forma-se uma estrutura tridimensional,

mantida por essas ligações de forma mais ou menos intensa, formando um sólido cuja ordenação interna tem uma forte tendência para simetria, por isso são chamados de cristais.

Os cristais iônicos consistem de uma rede de íons, sendo à força de ligação do cristal a atração eletrostática entre os íons de cargas opostas, em que, de um modo geral, esses cristais são duros e quebradiços e possuem altos pontos de fusão. Nos compostos orgânicos, os cristais são formados por moléculas como suas unidades básicas, em que as mesmas se mantêm coesas pela ação das forças de Van der Waals, forças coulômbicas e ligações de hidrogênio, o que explica as ligações fracas e os baixos pontos de fusão desses cristais.

Segundo a organização dos elementos constitutivos do cristal, isto é, o arranjo das moléculas dentro do cristal, este pode ser classificado em sólido cristalino ou sólido amorfo. Os sólidos amorfos podem, em um primeiro contato, serem considerados líquidos, por possuírem átomos ou moléculas arranjadas de maneira aleatória, como no estado líquido. Os sólidos cristalinos (chamados de cristais), como descritos anteriormente, caracterizam-se pela repetição espacial, tridimensional de suas unidades estruturais, que se encontram dispostas em padrões geométricos fixos. Sólidos cristalinos, diferentemente de líquidos, possuem formas definidas e um arranjo ordenado de unidades. As diversas formas cristalinas são divididas em sete sistemas cristalinos distintos, com base na simetria, como será discutido em detalhes posteriormente (ex.: cúbico, monoclinico, triclinico). Enquanto a morfologia de uma forma cristalina, freqüentemente chamada de hábito, é definida em relação a uma mesma estrutura, mas de aparências externas diferentes (SINKO, 2008).

Os fármacos sólidos podem existir como substâncias cristalinas ou partículas amorfas, sem estrutura identificável. O caráter amorfo ou cristalino de uma substância pode afetar sua estabilidade e atividade. De modo geral, a forma amorfa apresenta maior solubilidade, velocidade de dissolução e biodisponibilidade que a forma cristalina, uma vez que, no estado amorfo, a energia necessária para a separação das moléculas, coesas ao acaso, é menor que na forma cristalina. Por outro lado, formas cristalinas são mais estáveis que as formas amorfas (SINKO, 2008; SHARGEL e YU, 1999).

3.1.2 Simetria

Simetrias são observadas por toda parte, no mundo que nos rodeia, ocorrendo em várias áreas do interesse humano, como na geometria, na matemática, na física, na biologia, na arquitetura, nas artes entre outros. Os conceitos das operações geométricas de reflexão, rotação e inversão, bem como o de isometria, têm uma relação direta com o conceito de simetria. Segundo os princípios da geometria euclidiana se, ao rodarmos uma figura invertendo-a, se ela for sobreponível ponto por ponto essa figura é simétrica. Dada uma imagem de uma figura, a sua simetria preservará comprimentos de ligação e ângulos, mas nem sempre manterá a direção e o sentido das várias partes da figura, mesmo porque muitas imagens simétricas não são sobreponíveis ponto a ponto.

Uma das características mais importantes de um cristal é a simetria. Um estudo da simetria de um cristal é importante para compreender certos processos dinâmicos como, por exemplo, as transições de fase, nas quais ocorrem quebras de simetria. A própria idéia de periodicidade tem implícita, a idéia de que devem existir certas simetrias nos cristais. A possibilidade de caracterização de um monocristal a partir de uma unidade fundamental, por meio da simetria, simplifica o trabalho de determinação estrutural, o que é de fundamental importância na cristalografia. Para se perceber a natureza periódica e o arranjo dos cristais, é necessário conhecer as operações de simetria, que são aplicadas nas moléculas ou nos objetos a partir dos elementos de simetria. Esses elementos são constituídos por um ponto, um eixo ou um plano. As operações de simetria são caracterizadas pelas inversões em relação a um ponto, rotações em torno de um eixo, e reflexões sobre um plano. Essas, quando associadas, geram as operações de simetria compostas que são: rotação helicoidal, reflexão deslizante (deslizamentos), roto-reflexão e roto-inversão (GLASSER, 2001).

Existem, no geral, dois tipos de simetria a pontual e a translacional. Esta descreve uma repetição periódica de um aspecto estrutural através de um comprimento, de uma área ou de um volume. A simetria pontual descreve a repetição em torno de um ponto (ex.: reflexões, rotações e inversões)

A característica primordial de uma estrutura cristalina é que ela é simples e repetitiva, cujos arranjos espaciais de átomos ou moléculas podem ser representados por unidades básicas conhecidas como celas unitárias, que são a menor parte do cristal que contém as suas características. A forma e tamanho da

cela unitária de cada cristal dependem das dimensões, da valência química e do estado de ionização dos átomos ou moléculas que o compõem e das condições em que o cristal se formou.

A repetição dessa unidade estrutural só é possível através da simetria translacional. Todos os cristais perfeitos apresentam, necessariamente, simetria translacional nas três dimensões. No entanto, outros elementos opcionais de simetria, como rotações, inversões e reflexões, também podem estar presentes (TRUEBLOOD, 2004; LAKE, 2004). A estrutura cristalina completa pode ser representada pela descrição do conteúdo de uma unidade de repetição (cela unitária), pela expressão numérica que fornece os parâmetros dessa unidade, e pela forma como esta unidade se repete por simetria translacional, sendo esta definida pela rede da estrutura (TRUEBLOOD, 2004). A rede da estrutura é caracterizada pelo grupo de pontos iguais em um arranjo infinito e regular nas três dimensões (Figura 4). A rede mostra o padrão em que ocorre a repetição, mas não mostra o conteúdo desta unidade de repetição estrutural.

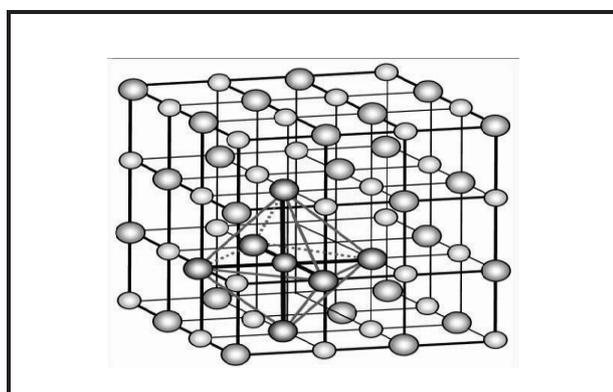


Figura 4 - Representação esquemática do retículo cristalino de um cristal de NaCl e sua respectiva cela unitária

Os parâmetros da cela unitária ou parâmetros de rede são caracterizados por três vetores, que por sua vez definem a geometria completa da rede. Por convenção, os três vetores são chamados de **a**, **b** e **c**, e os ângulos são chamados α , β e γ , sendo que α é o ângulo existente entre **b** e **c**, β é o ângulo formado pelos vetores **a** e **c**, e γ é o ângulo formado entre os vetores **a** e **b**. (Figura 5)

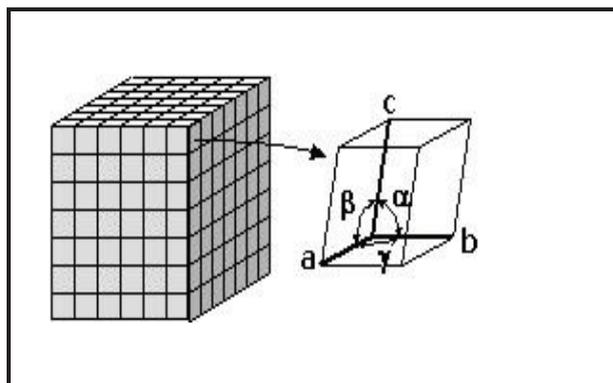


Figura 5 - Representação da cela unitária e seus parâmetros de caracterização

A estrutura geométrica tridimensional, constituída de um paralelepípedo denominado cela unitária, é constituída desses três vetores e nove outros equivalentes. Uma cela unitária, deste modo, é a unidade básica para a reconstrução da estrutura cristalina completa (LAKE, 2004). Portanto, podemos concluir que uma cela unitária possui orientação e forma definidas pelos vetores translacionais, tendo, desta forma, seu volume também definido, contendo os átomos e moléculas necessários para geração do cristal.

A cela unitária preferida por convenção é aquela com os menores vetores não coplanares na rede, apesar de existirem muitas escolhas diferentes de celas unitárias possíveis para uma rede qualquer. A simetria translacional dos materiais cristalinos possibilita o fenômeno da difração de raios X. Qualquer arranjo regular de objetos pode atuar como “rede de difração” de ondas que tenham comprimento de onda da mesma ordem de grandeza que a distância interna entre objetos idênticos. Os cristais atuam como redes de difração tridimensionais (TRUEBLOOD, 2004).

Na simetria pontual a descrição da repetição periódica se dá em torno de um ponto, assim temos como operações desse tipo de simetria as reflexões, rotações, inversões. Todas as operações de simetria para moléculas individuais podem ser classificadas em: rotações próprias, isto é, rotações de uma determinada fração de 360° em torno de um eixo de rotação, e rotações impróprias, sendo a combinação de uma rotação e uma reflexão simultânea em um plano perpendicular ao eixo. As operações de rotação e inversão são casos especiais das operações de rotação impróprias.

Em moléculas simples, todos os elementos de simetria (ponto, eixo e plano) devem passar através de um ponto comum no centro da molécula. Por esta razão, a

coleção de todas as operações de simetria para uma molécula constitui os grupos pontuais, que possuem característica própria e um símbolo convencional, exemplificado na Tabela 2. Cada um destes grupos possui uma combinação possível dos elementos de simetria cristalográfica. Existem 32 grupos pontuais cristalográficos, que por sua vez, são derivados da combinação dos eixos de rotação próprios e impróprios sendo respeitadas as suas restrições quanto às combinações.

O arranjo interno de um cristal pode ser descrito pelos chamados grupos espaciais. Existem apenas 230 maneiras diferentes de organização interna de um cristal de forma a se preencher todo o espaço periodicamente e ordenadamente. Estes arranjos de simetria são combinações de operações de simetria translacionais (rotações helicoidais, reflexão deslizante ou deslizamento) com os grupos pontuais cristalográficos. Estas combinações nos fornecem todas as diferentes maneiras possíveis de se empacotar a matéria (LAKE, 2004).

3.1.3 Sistema Cristalino

Em função dos parâmetros de rede, isto é, do comprimento dos lados e dos eixos do paralelepípedo elementar da cela unitária, e dos ângulos que as suas faces formam entre si, pode-se identificar sistemas de cristalização, ou sistemas cristalinos básicos. Neste contexto, um sistema de cristalização é o grupo pontual da malha cristalina, isto é, o conjunto de simetrias de rotação e reflexão permitidas ao manter fixo um ponto da malha, ignorando os átomos ou moléculas contidos em cada cela unitária (LAKE, 2004). A análise geométrica dos sistemas de cristalização permite concluir que existem sete sistemas distintos (Tabela 1), discutidos logo a seguir.

Tabela 1 - Os sete sistemas cristalinos

Sistema Cristalino	Eixos e ângulos	Tipos de cela
Triclínico	$a \neq b \neq c, \alpha \neq \beta \neq \gamma \neq 90^\circ$	P
Monoclínico	$a \neq b \neq c, \alpha = \gamma = 90^\circ \neq \beta \neq 90^\circ$	P, C
Ortorrômbico	$a \neq b \neq c, \alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$	P, C, I, F
Tetragonal	$a = b \neq c: \alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$	P, I
Trigonal	$a = b \neq c: \alpha = \beta = \gamma \neq 90^\circ$	P (R)
Hexagonal	$a = b \neq c: \alpha = \beta = 90^\circ, \gamma = 120^\circ$	P
Cúbico	$a = b = c: \alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$	P, I, F

Segundo a disposição espacial dos pontos reticulares obtêm-se as seguintes variantes dos sistemas de cristalização (HAHN, 2006):

P — Cella unitária primitiva, ou simples, onde todos os pontos reticulares estão localizados nos vértices do paralelepípedo que constitui a célula;

F — Cella unitária centrada nas faces, apresentando pontos reticulares nas faces para além dos localizados nos vértices. Quando apresentam somente pontos reticulares nas bases são designadas pelas letras A, B ou C, segundo as faces que contêm os pontos reticulares;

I — Cella unitária de corpo centrado tendo, para além dos pontos que determinam os vértices, um ponto reticular no centro da célula.

R — Cella unitária primitiva com eixos iguais e ângulos iguais, ou hexagonal, tendo, para além dos pontos que determinam os vértices, pontos duplamente centrados no corpo.

O sistema cristalino triclinico agrupa todos as formas cristalinas que não podem ser acomodados em qualquer um dos outros sistemas, exibindo apenas simetria translacional ou inversão. Permite apenas dois grupos espaciais. Os cristais com este sistema caracterizam-se pela ausência de eixos ou planos de simetria, apresentando três eixos cristalográficos com comprimentos desiguais e oblíquos entre si.

Os cristais do sistema Monoclínico, em geral, apresentam apenas um eixo de simetria binário, ou um único plano de simetria, ou a combinação de ambos, por isso, requerem um eixo de rotação binário e um plano reflexo. Permite ainda 13 grupos espaciais. Possui três eixos cristalográficos, todos com comprimentos diferentes, dos quais, dois eixos formam um ângulo oblíquo entre si, sendo o terceiro perpendicular ao plano formado pelos outros dois.

No sistema Ortorrômico os cristais possuem três eixos cristalográficos perpendiculares entre si, todos com comprimentos diferentes, demandando três eixos binários de rotação ou um eixo de rotação binário e dois planos de imagem reflexa. Permite 59 grupos espaciais. Produz estruturas de grande complexidade tendo como característica comum a todos os cristais deste sistema apresentarem, ao menos, um eixo binário de simetria. Os sistemas cristalinos ortorrômico, monoclinico e triclinico apresentam um grau de simetria menor, sendo necessários três parâmetros de cela para caracterizá-los.

Todos os cristais do sistema tetragonal têm a característica de possuírem, três eixos cristalográficos perpendiculares entre si, sendo os dois horizontais de igual comprimento e o vertical de comprimento diferente. Apresentam um eixo quaternário de simetria, permitindo um eixo quaternário de rotação e 68 grupos espaciais.

O sistema cristalino trigonal ou romboédrico apresenta três eixos cristalográficos de mesmo tamanho e simétricos em relação a um eixo de simetria ternária, com o qual fazem ângulo diferentes de 90° . Permitindo 25 grupos espaciais.

Já o sistema hexagonal é considerado por vezes como mera variante do sistema trigonal (por duplicação). Neste sistema todos os cristais possuem um eixo ternário de simetria, ou um eixo senário (eixo de ordem seis). Possuem quatro eixos cristalográficos, dos quais três são horizontais, com comprimentos iguais e cruzando-se em ângulos de 120° , e o quarto é o vertical, com comprimento diferente dos demais; permitindo 27 grupos espaciais.

O sistema Cúbico (isométrico) fornece quatro eixos ternários de rotação, o que permite um número de 36 grupos espaciais. Produz estruturas simples e lineares e seus eixos cristalográficos possuem comprimentos iguais e são perpendiculares entre si.

Desta forma, é possível concluir que o sistema cúbico é o mais simétrico e também o mais simples, por apresentar a simetria do cubo, que se beneficia da isometria de suas faces. Sendo a ordem decrescente de simetria dos sistemas restantes: hexagonal, tetragonal, romboédrico, ortorrômbico, monoclinico e triclinico (GLASSER, 2001).

3.1.4 Redes de Bravais

Foram estabelecidas 14 estruturas cristalinas básicas, as denominadas Redes de Bravais, em homenagem a seu criador Augusto Bravais (1811-1863). Essas redes foram estabelecidas em função das possíveis localizações das partículas (átomos, íons ou moléculas) na cela unitária, e seu padrão de vizinhança (topologia). Todos os materiais cristalinos até agora identificados pertencem a um dos 14 arranjos tridimensionais (Figura 6), correspondentes às estruturas cristalinas básicas de Bravais (GIACOVAZO, 1992).

A estrutura cristalina elementar de um sólido pode ser determinada pela definição da forma geométrica da rede, sendo necessário estabelecer as posições

dos átomos, íons e moléculas na cela unitária, onde os mesmos são denominados pontos reticulares e são constituintes do retículo cristalino. Retículo é uma rede tridimensional de pontos, gerada pelos vértices das celas unitárias, o que implica em que cada um desses pontos tenha exatamente a mesma vizinhança em todas as direções.

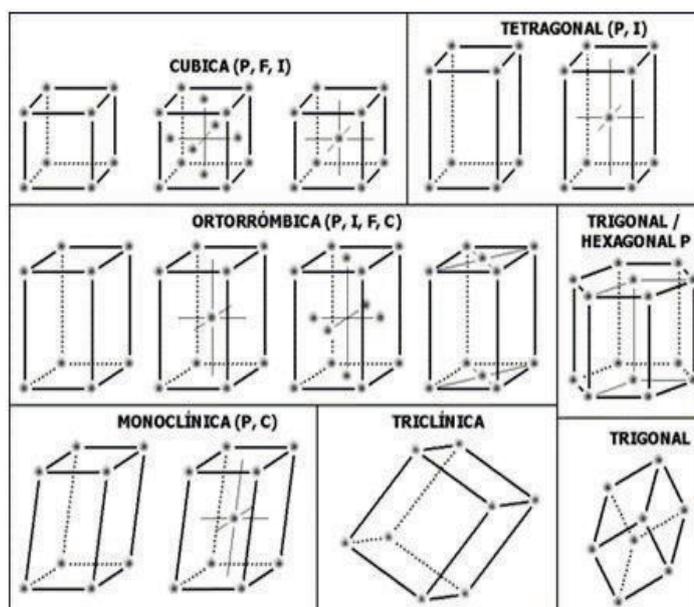


Figura 6 - As 14 Redes de Bravais

Resumindo, cada cristal pode ser classificado como um membro de um dos sete possíveis sistemas cristalinos que são definidos pelas relações entre as dimensões individuais, a , b e c , e entre os ângulos individuais α , β e γ de uma cela unitária. Os cristais podem ser classificados segundo os grupos pontuais de operações de simetria que une suas faces. Estes grupos são em número de 32. Uma vez que as operações de simetria de cada um dos 32 grupos pontuais cristalográficos são aplicados aos 14 Retículos de Bravais, resultando em 230 grupos espaciais, que descrevem de maneira unívoca, todo arranjo de objetos idênticos, dispostos num retículo periódico infinito. Pode-se considerar que os 230 grupos espaciais são gerados pela adição de dois novos tipos de operações de simetria, aquelas encontradas nos grupos pontuais. Os elementos de simetria complementares são os eixos helicoidais (“eixos parafuso”) e os planos de deslizamento. Dessa forma, a estrutura de um cristal pode ser designada por uma das sete Redes de Bravais e por um dos 230 grupos espaciais, demonstrada

resumidamente na Tabela 2. Todos os 230 grupos espaciais possíveis e suas simetrias, e as simetrias de seus padrões de difração, estão descritos na *International Tables for Crystallography* (HAHN, 2006).

Tabela 2 - Grupos Espaciais para os Sistemas Cristalinos Triclínico, Monoclínico e Trigonal

SISTEMA CRISTALINOS	GRUPOS PONTUAIS	GRUPOS ESPACIAIS						
Triclínico	1	P1						
	$\bar{1}$	$P\bar{1}$						
Monoclínico	2	P2	C2	P2 ₁				
	m	Pm	Cm	Pc	Cc			
	2/m	P2/m	C2/m	P2 ₁ /m	P2/c	P2 ₁ /c	C2/c	
Trigonal	3	P3	P3 ₁	P3 ₂	R3			
	$\bar{3}$	$P\bar{3}$	$R\bar{3}$					
	32	P312	P321	P3 ₁ 12	P3 ₁ 21	P3 ₂ 12	P3 ₂ 21	R32
	3m	P3m1	P31m	P3c1	P31c	R3m	R3c	
	$\bar{3}2/m$	$P\bar{3}1m$	$P\bar{3}1c$	$P\bar{3}m1$	$P\bar{3}1c$	$R\bar{3}m$	$R\bar{3}c$	

3.1.5 A difração dos Raios X

Os raios X são um tipo de radiação eletromagnética que, por sua vez, é uma forma de energia que se propaga através do espaço como campos oscilantes elétrico e magnético, ambos perpendiculares entre si e em relação à direção de propagação. Esses raios apresentam um comprimento de onda da ordem das distâncias inter-atômicas (cerca de 1,54 angstroms). Quando um feixe de raios X atinge algum material cristalino, seus elétrons são forçados a oscilar devido ao campo eletromagnético da radiação incidente, tornando-se uma nova fonte espalhadora em todas as direções, pois os raios X são espalhados pelos elétrons em torno dos átomos individuais das moléculas dos cristais (SINKO, 2008). O arranjo regular dos átomos no cristal faz com que algumas direções interfiram em outras direções, construtivamente ou destrutivamente. Eis a importância do uso de instrumentos modernos que permitem detectar o padrão de difração de raios X. Este padrão é o resultado da superposição das ondas espalhadas devido às interferências construtivas e destrutivas, causadas por objetos que são da mesma ordem de grandeza do comprimento de onda da radiação (NAPOLITANO et al., 2005). Esses padrões de difração podem ser detectados por meio de uma placa sensível colocada atrás do cristal, e é uma 'sombra' do retículo cristalino que os produz.

Quando os raios X incidem numa chapa fotográfica, após difratarem em um monocristal, formam um conjunto de pontos chamados pontos de Laue, (Figura 7), que correspondem aos máximos de difração da radiação pelo cristal, (USP. 2007). A posição desses pontos depende dos detalhes da rede cristalina e do comprimento de onda dos raios X incidente, cujo entendimento é explicado pela lei de Bragg, referida logo a seguir.

Sendo assim, a difração de raios X possibilita o estudo de detalhes do reticulado cristalino, podendo medir variações de milésimos de Ångstrons, possibilitando a determinação de distâncias inter-atômicas, ângulos de ligação e vários outros aspectos estruturais.

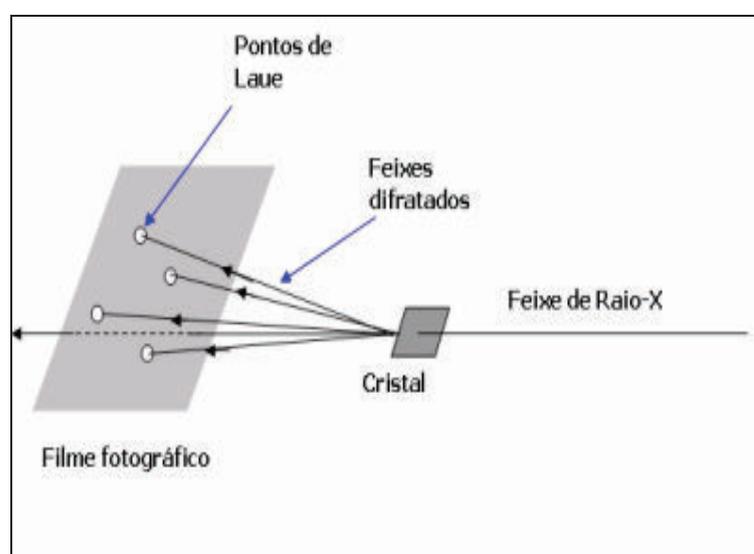


Figura 7 - Difração de Raios X

Cada cristal de um composto cristalino produz padrões de difração de raios X característicos. Esses padrões podem ser derivados de um cristal único (monocristal) ou de espécies em pó do material, contendo numerosos cristais. Usando métodos computacionais, é possível determinar as conformações das moléculas, bem como a relação entre elas na estrutura. Isso resulta em uma descrição completa da estrutura, incluindo o menor dos blocos estruturais, a cela unitária. É possível determinar a densidade eletrônica e, conseqüentemente, a posição dos átomos em estruturas complexas, a partir de um estudo matemático exaustivo do padrão de difração de raios X. Quando cristais isolados não estão disponíveis ou são inadequados para análise, a substância pode ser analisada na

forma de pó (SINKO, 2008). O padrão de difração de raios X aplicado ao pó pode ser considerado a 'impressão digital' da estrutura de um cristal. A comparação da posição e intensidade das linhas em tais padrões com as linhas correspondentes nos padrões de uma amostra conhecida nos permite uma análise qualitativa e quantitativa.

Assim, o principal uso das informações da difração de monocristais é para a determinação do peso e para análises da estrutura do cristal a nível atômico. No entanto, as difrações estabelecidas para monocristais podem ser utilizadas para apoiar um padrão de pós específico (USP, 2007).

Conforme citado anteriormente, as substâncias sólidas podem ser classificadas como cristalinas ou amorfas, sendo estas substâncias pobres difratoras de raios X, resultando em amplos e difusos padrões de difração, ao contrário das substâncias cristalinas, cujos padrões são bem definidos. Vale ressaltar que dois polimorfos terão dois padrões distintos de difração de raios X. A presença de um solvato (estrutura cristalina que contém uma molécula de solvente como parte integral de sua estrutura) também irá influenciar o padrão de difração de raios X por pó, porque o solvato terá a sua própria estrutura cristalina singular. Isso pode levar uma forma polimórfica aparecer como uma forma mutável ou de dois polimorfos distintos.

Uma maneira de verificar se a presença de uma alteração em um padrão de difração de raios X por pós é devida a um solvato ou a um polimorfo separado é medir o padrão de difração de raios X em várias temperaturas (SINKO, 2008). Uma vez que os solventes tendem a ser expelidos das estruturas abaixo do ponto de fusão, a medida dos padrões de difração de raios X em várias temperaturas pode eliminar o solvente e revelar a forma não solvatada. A ausência de alterações nos padrões de difração em diferentes temperaturas é um forte indício de que a forma não é realmente solvatada, bem como pequenas alterações podem indicar uma estrutura que mantém seu motivo de empacotamento sem a presença do solvente.

O princípio fundamental deste método baseia-se no fato de que um feixe alinhado de raios X monocromáticos é difratado em várias direções quando ele é afetado pela rotação do cristal ou pela orientação aleatória do cristal em pó. O cristal funciona como uma grelha de difração tridimensional para esta radiação. Este fenômeno é descrito pela Lei de Bragg, que afirma que a difração (interferência construtiva) só pode ocorrer quando ondas que estão espalhadas em diferentes

regiões do cristal, em uma determinada direção, viajam distâncias diferindo por números inteiros (n) e de comprimento de onda λ . Sob tais circunstâncias, as ondas estão em fase. Esta condição é descrita pela equação de Bragg, descrita abaixo:

$$2d_{hkl} \sin\theta = n\lambda \quad \text{Eq. (1)}$$

A Equação (1) foi obtida pelos físicos ingleses Sir William Henry Bragg e seu filho Sir William Lawrence Bragg, em 1913, para explicar por que as faces clivadas de cristais refletem feixes de raios X a certos ângulos de incidência (ângulo de difração, θ). A variável d_{hkl} é a distância entre camadas atômicas em um cristal (ou entre os espaçamentos interplanares) e a variável λ é o comprimento de onda do feixe de raios X incidente; n é um número inteiro. A equação de Bragg é uma consequência da periodicidade da rede cristalina e é a condição para que ocorra a interferência construtiva em um feixe espalhado por duas camadas adjacentes de planos reticulares. Esta condição estabelece que a diferença de caminho óptico seja um múltiplo inteiro do comprimento de onda do feixe incidente (GIOCOVAZZO, 1992). Essa relação matemática permite, na cristalografia, determinar as direções de interferência construtivas em um cristal formado por uma distribuição discreta de densidades eletrônicas.

Com o objetivo de localizar geometricamente as direções de interferência construtiva, representa-se um cristal por uma distribuição discreta de densidade eletrônica, parcialmente representada na Figura 8

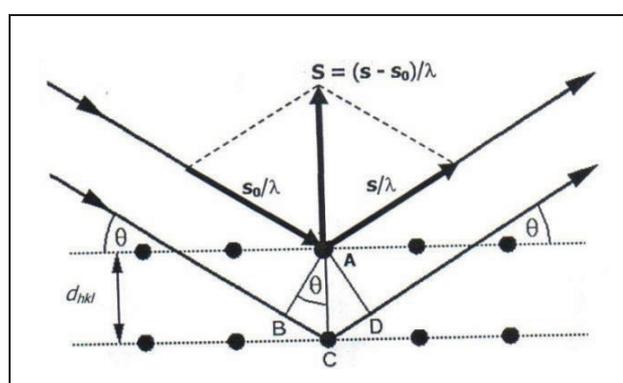


Figura 8 - Representação esquemática fora de escala da Lei de Bragg.

Quando um feixe de raios X incide sobre um cristal, os planos de átomos deste cristal funcionarão como espelhos e farão com que o feixe seja refletido. Esta

reflexão ocorre porque o espaçamento entre os planos atômicos de um cristal é da ordem do comprimento de onda dos raios X. Quando dois raios incidem em planos diferentes do cristal, um deles percorrerá um caminho um pouco maior. Esta diferença de caminho caracterizará a diferença de fase entre os raios difratados, que está diretamente relacionada ao tipo de interferência que ocorrerá entre os raios. Como se sabe, sempre que a diferença de fase entre duas ondas for um número inteiro de comprimentos de onda ($n\lambda$, para $n= 1, 2, 3$, etc), estas irão interferir construtivamente, isto é, suas amplitudes se somam. E quando a diferença de fase entre duas ondas for um número inteiro mais meio comprimento de onda $[(n+1/2)\lambda$, para $n= 1, 2, 3$, etc], estas irão interferir destrutivamente, isto é, suas amplitudes se subtraem (GIOCOVAZZO, 2002).

Em suma, a difração de raios X de monocristal é tradicionalmente o meio preferido para estabelecer a estrutura de cristais, mas não se pode negar que este método também está sujeito a dificuldades a partir de fatores como, por exemplo, desordem estática ou dinâmica, adequação do cristal, geminação, etc. Conforme mencionado, tem sido demonstrado que em casos onde nenhum monocristal adequado possa ser obtido, a descrição da estrutura a partir das informações de raios X por pó é uma alternativa promissora e de sucesso.

3.2 Importância do conhecimento estrutural

Em 1858 e 1861, Kekulé, Couper e Bultlerov, dispuseram a base para uma das teorias mais fundamentais na química: a Teoria Estrutural. A partir de então, muitos dos problemas enfrentados pelos cientistas começaram a ser elucidados. Com o surgimento da Mecânica Quântica, no início do século XX, ampliou-se a perspectiva de interpretar a estrutura dos materiais, que até então era somente fruto de especulações (SOLOMONS; FRYHLE, 2005).

A determinação do arranjo dos átomos nas moléculas e no cristal é extremamente útil para o entendimento das propriedades químicas, físico-químicas e biológicas dos compostos sólidos, visto essas propriedades serem determinadas por sua composição e por sua estrutura (NAPOLITANO, *et al.*, 2005). As propriedades dependem intimamente da estrutura, e variações na estrutura podem e irão conduzir a variação nas propriedades. As propriedades de pigmentos, explosivos, materiais orgânicos eletricamente carregados, materiais orgânicos magnéticos, etc., estão todas profundamente relacionadas às suas estruturas no estado sólido

(BERNSTEIN, 2008). A procura e a caracterização de formas cristalinas é uma das mais ativas e desafiantes áreas de pesquisa da química estrutural moderna.

Conforme mencionado anteriormente, alguns compostos farmacêuticos importantes apresentam a habilidade de existir em mais de uma estrutura cristalina. As diferenças podem, às vezes, não ser grandes, ou mesmo não ser detectáveis por métodos analíticos, mas podem ser substanciais. A solubilidade e os pontos de fusão são muito importantes em processos farmacêuticos, incluindo dissolução e formulação (SINKO, 2008). O que explica a razão primária do motivo pelo qual nos interessamos pelos polimorfos. Portanto, as pesquisas relacionadas às diferenças de solubilidade apresentadas por polimorfos de um mesmo fármaco têm ocupado local de destaque. Em casos como esse, o resultado é a existência de um polimorfo terapeuticamente mais ativo do que outro polimorfo do mesmo fármaco.

As diferenças na estrutura do cristal dos polimorfos surgem quando estes cristalizam em diferentes arranjos de empacotamento do cristal e/ou diferentes conformações. A ocorrência do polimorfismo é muito comum entre moléculas orgânicas.

Por décadas, a carbamazepina tem servido de modelo para o estudo do polimorfismo. Ela é um fármaco que apresenta polimorfismo e é classificada biofarmacêuticamente como classe II, apresentando alta permeabilidade intestinal e baixa solubilidade em água (NAIR, 2002). Desta forma, sua biodisponibilidade é limitada pela sua solubilidade. MEYER *et al.*, (1992) realizaram estudos de comparação da biodisponibilidade em diferentes lotes de carbamazepina, onde as causas das diferenças na biodisponibilidade não ficaram totalmente esclarecidas (KOBAYASHI, *et al.*, 2000). Entretanto, a contribuição dos fatores como as diferenças na forma cristalina e/ou o tamanho da partícula ressaltam a importância do conhecimento da estrutura do cristal nesse processo.

Na literatura especializada, existem vários trabalhos, que demonstram um considerável esforço em caracterizar estruturalmente esse fármaco. Assim, foram descritas quatro formas polimórficas anidras: forma I - triclinica (ou γ), forma II - trigonal (ou α), forma III - monoclinica (ou β), e forma IV - monoclinica de face centrada, e pelo menos um dihidrato, (GRZESIAK, *et al.*, 2003; LOWES, *et al.*, 1987). Portanto, o estudo do polimorfismo desse fármaco é de extrema importância, uma vez que o polimorfo mais estável em temperatura ambiente é a forma monoclinica padronizado pela Farmacopéia Americana. Em geral, a forma estável

de uma substância polimórfica exibe ponto de fusão mais alto, menor solubilidade com o máximo de estabilidade química, portanto, mantém sua integridade química dentro de limites especificados, mantendo as mesmas propriedades e características durante o período de uso e armazenamento (LACHMAN, *et al.*, 2001). Todas as outras estruturas polimórficas são consideradas metaestáveis

Diversos trabalhos já foram realizados com o objetivo de caracterizar essas formas polimórficas utilizando as mais diversas técnicas analíticas, tais como: microscopia eletrônica de varredura (SEM), difração de raios X para pós (XRPD), espectrofotometria na região do infravermelho (IR), espectroscopia de Raman, espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR), calorimetria exploratória diferencial (DSC), termogravimetria (TG) e ressonância magnética nuclear (RMN), (GRZESIAK, *et al.*, 2003; LOWES, *et al.*, 1987; SINKO, 2008; RUSTICHELLI, *et al.*, 2000; KOBAYASHI, 2000).

Uma avaliação detalhada que possa encontrar possíveis variações nos dados cristalográficos, agora é essencial para o desenvolvimento de uma nova droga, portanto a caracterização física de sólidos tem se tornado uma área extremamente importante na farmácia e tem sido o objeto de muitos estudos envolvendo os diferentes métodos analíticos (RUSTICHELLI, *et al.*, 2000).

4. DESCRIÇÃO DOS POLIMORFOS DA CARBAMAZEPINA

A carbamazepina (CBZ) é uma substância química de origem sintética, sendo estruturalmente semelhante à fenitoína. É denominada quimicamente por 5H-dibenz [b, f]azepina-5-carboxamida, e possui fórmula molecular $C_{15}H_{12}N_2O$ e peso molecular 236,27 (USP, 2007).

Essa droga tem sido investigada por muitos autores por razão da sua habilidade em existir em diferentes estruturas cristalinas (polimorfismo) e da estabilidade física das suas várias fases sólidas. Contudo, parece haver algumas variações no que se refere ao número de modificações e suas exatas caracterizações, (RUSTICHELLI, *et al.*, 2000; KRAHN; MIELCK, 1987). Para essa droga, já foram descritas, no mínimo, quatro formas polimórficas anidras, três das quais já foram bem caracterizadas estruturalmente por difração de raios X para monocristais. Em alguns dos relatos também foram descritas as formas cristalinas dihidratos e solvatos, que ocorrem quando moléculas de solvente estão presentes na estrutura cristalina, sendo o fenômeno denominado de 'pseudopolimorfismo', e as formas são chamadas de solvatos; quando essa molécula de solvente é a água, são chamados hidratos e os termos hemidrato, mono hidrato e dihidrato descrevem as formas hidratadas em equivalentes molares de água correspondendo a meia, uma ou duas moléculas de água. (LACHMAN, *et al.*, 2001; SINKO, 2008).

A identificação de formação de hidratos é importante, uma vez que a sua solubilidade em água pode ser menor do que a observada para as formas anidras. A transformação de um fármaco anidro em hidratado pode reduzir a sua velocidade de dissolução e a sua absorção. Na literatura, é vasta as referencias da rápida conversão da carbamazepina anidra em forma hidratada, quando em presença de água ou vapor d'água, por sua vez é recomendado acondicionamento em recipientes hermeticamente fechados para garantir maior segurança quanto à conservação do fármaco, uma vez que é bem conhecido que a CBZ é instável sobre condições de umidade.

Outro ponto que tem gerado muitas confusões se refere à nomeação dos polimorfos da CBZ. Numa tentativa de evitar mais desentendimentos, alguns autores sugerem a adoção do nome da modificação com maior ponto de fusão de 'I' e as demais modificações de acordo com seus pontos de fusão descendentes. Igualmente, em um estudo realizado por GRZESIAK, *et al.*, (2003), os dados

anteriormente publicados foram sumarizados de forma organizada, onde se destacam a relação dos principais nomes das formas polimórficas da CBZ descritas na literatura, seus autores, bem como seus métodos de caracterização (Tabela 3).

Tabela 3- Tabela apresentada por GRZESIAK et al.2003.

Ano	Referência	Triclínica	Trigonal	P-Monoclínica	C-Monoclínica	Método de Confirmação
1968	Kuhnert et al.	I	—	III	—	Calores de fusão
1975	Pohlmann et al.	Cs	C3	C1	—	PXRD, IR
1981	Reboul et al.	—	—	Monoclínica	—	Estrutura cristalina
1984	Kaneniwa et al.	III	II	I	—	PXRD,DSC
1984	Umeda et al.	III	II	I	—	PXRD,DSC
1986	Kala et al.	I	II, IV	III	—	PXRD,DSC
1986	Lefebvre et al.	A	—	β	—	PKRD,DSC
1987	Krahn et al.	I	—	III	II ^b	PXRD,DSC
1987	Lowes et al.	—	α , Trigonal	β	—	Estrutura Trigonal, PXRD,DSC,IF
1991	Behme et al.	I	—	III	—	DSC, preparação
1991	Dugué et al.	γ	α	β	—	Preparação
1992	Borka et al.	I	—	III	—	IR, calores de fusão
1996	MacMahon et al.	I	—	III	—	PXRD
1997	Céolin et al.	Triclínica	—	—	—	Informações de cela, PXRD
2000	Roberts et al.	—	α	β	—	PXRD, SEM
2000	Kobayashi et al.	III	—	I	—	PXRD,DSC
2000	Rustichelli et al.	I	—	III	II ^b	PXRD, DSC, IR
2002	Lang et al.	—	—	—	^c , C-Monoclínica	Estrutura cristalina
2003	Grzesiak et al.	I	II	III	IV	PXRD,DSC, IR

"Cada forma foi verificada pelo método listado bem como pelo método de preparação de cada forma."

^bEstas formas são mais semelhantes a CBZ C-Monoclínica, por mais que, as diferenças notadas no texto existam.

Considerando que as estruturas polimórficas da CBZ apresentam a mesma estrutura química, transformações de uma forma em outra não envolvem uma mudança molecular do fármaco. As estruturas polimórficas podem ser interconvertidas por processos mediados por solventes ou transformações de fase que são induzidas através de calor, ou stress mecânico, (RUSTICHELLI, *et al.*, 2000). Em geral, as diferentes formas cristalinas não possuem o mesmo fator de empacotamento atômico, assim essas transformações de fase são acompanhadas por variações de volume e densidade. As transformações de uma estrutura em outra envolvem apenas pequenos movimentos atômicos, pois as combinações do reagente e do produto coincidem, mas mesmo assim, é necessário romper as ligações existentes e rearranjar as moléculas segundo uma nova estrutura cristalina.

Na CBZ, a variabilidade cristalina, isto é, diferenças de empacotamento molecular, devido ao polimorfismo e ao pseudopolimorfismo, irão levar a diferenças nas propriedades físicas e químicas das várias formas cristalinas desse fármaco.

Diferenças nas propriedades podem afetar a biodisponibilidade e o uso clínico eficaz da CBZ (LOWES, *et al.*, 1987).

Existem muitos relatos na literatura a respeito das transformações polimórficas da CBZ, da caracterização das formas encontradas e da influência dessas formas no comportamento da dissolução, farmacocinética, fotoestabilidade, formulações, etc. (LOWES, *et al.*, 1987). No entanto, existem muitas discrepâncias entre as conclusões destes estudos, onde a relação entre as propriedades físico-químicas das formas polimórficas e pseudopolimórficas da CBZ e sua biodisponibilidade não são completamente entendidas (KOBAYASHI, *et al.*, 2000). Dada essa importância, as formas polimórficas da CBZ têm sido estudadas intensamente ao longo do tempo, de forma a definir suas características estruturais e físico-químicas. Com este intuito, a metodologia cristalográfica se apresenta como poderosa ferramenta para determinação estrutural.

Os dados cristalográficos apresentados na Tabela 4 a seguir, para os polimorfos da carbamazepina foram obtidos do banco de dados *Cambridge Crystallographic Data Center* (CCDC) em arquivos no formato CIF, e foram analisados graficamente através do software Mercury (MACRAE, *et al.*, 2008). Estes dados cristalográficos obtidos no formato CIF contêm todas as informações necessárias para a obtenção da estrutura molecular e cristalina, tais como os parâmetros da cela unitária, o sistema cristalino e o grupo espacial em que está “acomodada” a estrutura, a fórmula química e o nome dado pela *International Union of Pure and Applied Chemistry* (IUPAC) do composto, o número de unidades assimétricas dentro da cela unitária, as operações de simetria pertinentes ao grupo espacial em questão, o volume da cela unitária, as coordenadas cartesianas de cada átomo desta molécula no cristal dentre outras informações.

Tabela 4 - Dados cristalográficos obtidos pelo banco de dados CCDC para os polimorfos da Carbamazepina

Dados Cristalográficos	Sistema cristalino	Grupo Espacial	a	b	c	α	β	γ	Volume da cela unitária	Fator R (%)	Z
¹ CBMZPN02	Monoclinico	P 21/n	7.534(1)	11.150(2)	13.917(3)	90	92.94(4)	90	1167.55	8.4	4
¹ CBMZPN10	Monoclinico	P 21/n	7.537(1)	11.156(2)	13.912(3)	90	92.86(2)	90	1168.3	3.9	4
³ FEFN0T02	Monoclinico	P 21/c	10.066(2)	28.719(5)	4.831(1)	90	103.45(1)	90	1358.27	7.29	4
² FOMXAH	Monoclinico	P 21/n	5.1815(4)	26.0450(19)	20.5735(15)	90	91.302(2)	90	2775.72	5.65	8
² UNEYOB	Monoclinico	P 21/c	10.3335(18)	27.611(5)	4.9960(9)	90	102.275(3)	90	1392.86	5.45	3
² UNEZES	Monoclinico	P 21/n	5.0961(8)	17.595(3)	19.647(3)	90	90.917(3)	90	1761.44	5.22	4
² UNEZIW	Monoclinico	P 21/c	5.1206(4)	15.7136(13)	18.4986(15)	90	96.546(1)	90	1478.75	4.92	4
² UNEZOC	Monoclinico	P 21/c	5.2031(9)	14.741(2)	17.882(3)	90	98.132(3)	90	1357.74	5.33	4
² YUBCAW	Monoclinico	P 21/n	10.869(4)	5.341(3)	25.153(11)	90	100.90(3)	90	1433.82	11	4
² YUBCEA	Monoclinico	P 21/n	11.051(3)	5.464(2)	24.928(9)	90	100.81(4)	90	1478.51	5.3	4
² XAQREN	Monoclinico	P 21/n	13.7605(10)	17.4574(13)	14.6240(11)	90	115.876(1)	90	3160.8	4.31	4
¹ CBMZPN03	Trigonal	R -3	35.454(3)	35.454(3)	5.253(1)	90	90	120	5718.32	6.9	18
¹ CBMZPN11	Triclinico	P -1	5.1705(6)	20.574(2)	22.245(2)	84.124(4)	88.008(4)	85.187(4)	2344.82	5.06	8
² CRBMZA	Triclinico	P -1	9.001(3)	7.441(2)	13.755(3)	119.48(1)	78.96(2)	101.61(2)	780.943	5.4	2
¹ CRBMZA01	Triclinico	P -1	7.3985(15)	8.9054(18)	11.873(2)	95.809(3)	93.401(4)	101.362(3)	760.479	7.68	2
² UNEZAO	Triclinico	P -1	7.5140(11)	10.4538(15)	12.6826(18)	83.642(2)	85.697(2)	75.411(2)	957.015	4.58	2
² UNEYIV	Triclinico	P -1	7.3254(19)	8.889(2)	12.208(3)	94.840(5)	94.926(5)	100.048(5)	775.836	7.95	2
² UNEZUI	Triclinico	P -1	9.1567(12)	10.1745(13)	10.5116(14)	72.850(2)	70.288(2)	67.269(2)	834.909	4.99	2
² UNIBOI	Triclinico	P -1	5.1077(11)	16.057(3)	17.752(4)	73.711(3)	89.350(3)	88.636(3)	1397.06	7.66	4
² QANQUS	Triclinico	P -1	7.7118(4)	9.1503(4)	11.6969(6)	100.192(3)	95.379(2)	101.908(3)	787.584	4.77	2
² SAPDUJ	Triclinico	P -1	10.236(2)	12.937(2)	13.614(2)	62.419(2)	88.218(2)	84.286(2)	1589.76	4.64	4
² XAQUC	Triclinico	P -1	7.1053(8)	11.8010(13)	19.648(2)	93.657(2)	92.800(2)	91.061(2)	1641.77	4.87	2
¹ CBMZPN12	Monoclinico - C	C 2/c	26.609(4)	6.9269(10)	13.957(2)	90	109.702(2)	90	2421.93	3.57	8
² UNIBAU	Monoclinico - C	C 2/c	32.531(5)	5.2697(8)	24.159(4)	90	98.191(3)	90	4099.29	15.56	8
² UNIBEY	Monoclinico - C	C 2/c	34.355(8)	5.3795(13)	23.654(6)	90	93.952(6)	90	4361.17	6.19	8
² UNIBIC	Monoclinico - C	C 2/c	18.388(4)	12.682(3)	16.429(3)	90	100.491(6)	90	3767.14	4.33	8
² XAQRAJ	Monoclinico - C	C 2/c	37.013(3)	12.1319(9)	13.5991(10)	90	99.173(1)	90	6028.42	4.16	8
³ FEFN0T	Ortorrômbico	A b a m	28.659(9)	4.924(2)	19.748(5)	90	90	90	2786.78	10.5	8
² XAQRIJ	Ortorrômbico	P 21 21 21	7.2083(14)	14.644(3)	17.577(4)	90	90	90	1855.4	3.4	4
³ VACTAU02	Ortorrômbico	P b c a	9.0592(4)	10.3156(5)	25.0534(12)	90	90	90	2341.27	4.16	8

¹CBZ Anidra; ²Solvatos de CBZ; ³Dihidratos de CBZ

Como observado na Tabela 4 existem apenas seis formas polimórficas anidras, das vinte sete formas restantes quatro são hidratos e os demais são solvatos. Estes sendo obtidos durante as diferentes fases manufaturação da CBZ, na presença de diferentes solventes e temperaturas. Algumas das maneiras de obtenção das formas polimórficas da CBZ para análises de identificação e caracterização estão descritas na Tabela 5 em relação a seus respectivos pesquisadores. As formas anidras foram extensivamente descritas nos últimos anos, algumas características importantes são descritas a seguir.

4.1 Forma III – Monoclínica β

Essa forma representa a forma descrita na farmacopéia americana, sendo também a mais estável a temperatura ambiente.

Os testes de espectrofotometria contribuíram significativamente para identificação das formas polimórficas. Os espectros de absorção de infravermelho, comparados com o obtido concomitantemente para o correspondente padrão de referencia da USP, forneceram uma das mais conclusivas evidências de identidade da substância que pode ser realizada a partir de algum teste individual. Em um estudo aprofundado usando espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), foram detectadas diferenças substanciais entre os espectros de infravermelho da forma monoclínica e das outras formas polimórficas da carbamazepina (Figura 9).

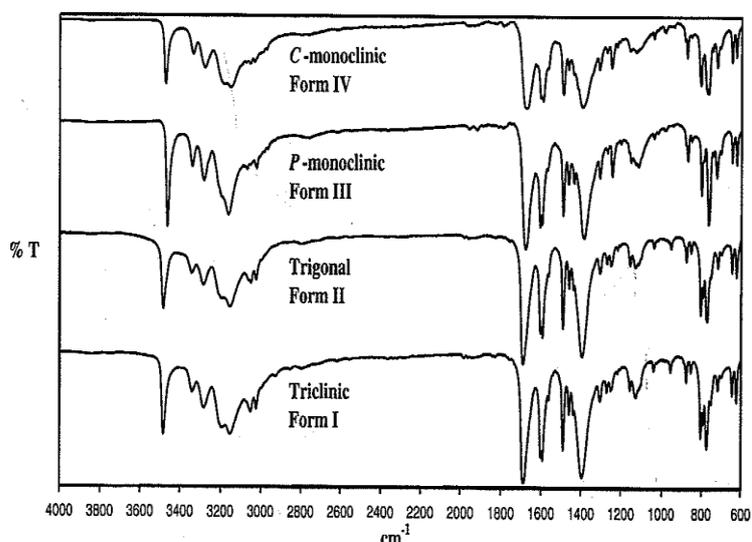


Figura 9 - Espectros obtidos por FTIR para as quatro formas polimórficas anidras da carbamazepina (GRZESIAK, *et al.*, 2003)

Tabela 5 - Formas de Obtenção dos polimorfos da Carbamazepina

	Krahn (1987)	Lowes (1987)	Rustichelli (2000)	Grzesiak (2003)
FORMA I	Obtida quando Dihidratos recém obtidos são desidratados em forno por 3h a 70°C. Ou através de cristalização a partir de solução de metanol com evaporação do solvente		Aquecimento da CBZ comercial por 170°C por 1h ou a 150°C por 1h e 45 min.	Aquecimento da CBZ comercial ou por recristalização a 150°C por 3h.
FORMA II		Cristalização a partir de solventes com baixa constante dielétrica, como o tetra cloreto de carbono e cicloexanos, independente de sua taxa de resfriamento		Dissolução da CBZ comercial em solução de etanol a 80°C. A solução foi resfriada rapidamente a 5°C por 5h
FORMA III	Forma obtida segundo parâmetros aceitos por compêndio oficial (USP) ou ainda a CBZ presente na forma farmacêutica que é comercializada. Ou ainda: Processo de cristalização a partir de solução de metanol, onde a redução da temperatura é feita lentamente durante o processo.	Forma obtida segundo parâmetros aceitos por compêndio oficial (USP) ou ainda a CBZ presente na forma farmacêutica que é comercializada. Ou ainda: Cristalização a partir de solventes que apresentam alta constante dielétrica, assim como o álcool sec-butil, o álcool n-propil, etanol e metanol. Já sua pureza é obtida quando se mantém uma taxa de resfriamento lenta durante todo o processo de cristalização	Obtida por Cristalização a partir de solução de metanol (ou outros solventes com alta constante dielétrica)pela redução da Temperatura feito lentamente durante o processo.Outras tentativas de cristalizar a partir de outros solventes sempre conduz a forma I. Ou é a Forma obtida segundo parâmetros aceitos por compêndio oficial (USP).	Cristalização a partir de solução de etanol com evaporação lenta a temperatura ambiente
FORMA IV	Obtida quando Dihidratos recém preparados são desidratados a 20°C em dessecador a vácuo com P ₂ O ₅		Obtida pelo processo de cristalização a partir da CBZ comercial, a partir de uma solução etanólica. Faz adição de água gelada e resfriamento imediato com banho de gelo. Os cristais obtidos após 1h foram filtrados e secos por 24 h em dessecador a vácuo com sílica gel	Cristalização a partir de solução de metanol com evaporação lenta a temperatura ambiente.na presença de hidroxipropil celulose.
Hidratos	São obtidos por cristalização a partir da solução de metanol e etanol com acréscimo de água destilada, promovendo o resfriamento durante 5h a 20°C. Sendo filtrados e secos a 20°C por 3h.			

Segundo Grzesiak, *et al.*, (2003) as três regiões principais para identificação e distinção entre os polimorfos da carbamazepina são: 3500-3392; 1731-1629 e 1427-1317 cm⁻¹. Onde para forma monoclinica ocorrem picos de absorção em 3466, 169

e 1395 cm^{-1} esses valores estando de acordo com os valores encontrados em outros relatos anteriores presentes na literatura (USP, 2007).

As fotomicrografias obtidas a partir de microscópio eletrônico de varredura (SEM) mostram que os cristais da forma monoclínica apresentam morfologia do tipo prismas, sendo estes bem definidos, como mostrados na Figura 10 (LOWES, et al, 1987).

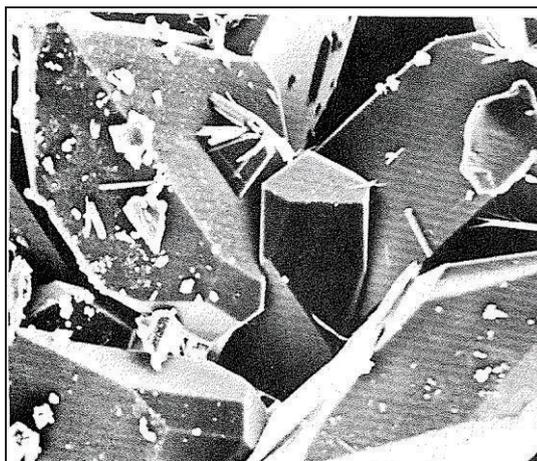


Figura 10 - Fotomicrografia da forma monoclínica obtida de microscópio eletrônico de varredura (LOWES, et al., 1987).

A difratometria de raios X (XRPD) é uma técnica poderosa para identificação das fases sólidas cristalinas, desse modo, muitas fases sólidas cristalinas apresentam um único padrão de difração de raios X, o que compõe a base para sua identificação. Com este propósito, é mostrado na Figura 11 o padrão de difração para cada uma das quatro formas polimórficas anidras da carbamazepina, onde os picos de difração indicativos de diagnóstico para forma monoclínica, foram detectados em $2\theta = 15.36, 19.56, 25.0$ e 27.47cm^{-1} (GRZESIAK, et al., 2003) apresentando padrão de difração idêntico ao do padrão da referência da USP.

O sistema cristalino da forma III possui um arranjo cristalino monoclínico primitivo cujo grupo espacial é $P2_1/n$, com os seguintes parâmetros de rede: $a = 7,534(1)\text{ \AA}$; $b = 11,150(2)\text{ \AA}$; $c = 13,917(3)\text{ \AA}$, $\alpha = 90$; $\beta = 92,94(4)$ e $\gamma = 90^\circ$ e volume igual a 1167.55 \AA^3 , encontrando-se bastante empilhado, assim não apresentando espaços vazios, o que explica esta forma apresentar a maior densidade entre as quatro formas anidras.

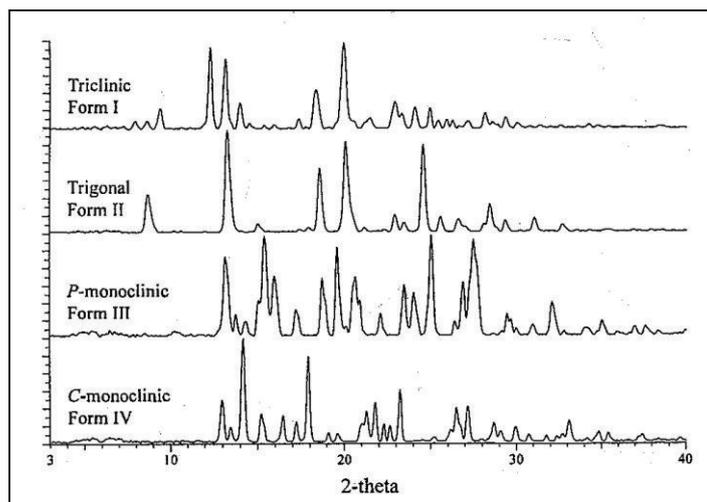


Figura 11 - Padrões de PXRD para os quatro polimorfos anidros da carbamazepina (GRZESIAK, *et al.*, 2003).

A forma monoclinica forma dímeros centrossimétricos via ligações de hidrogênio intermoleculares (Figura 12) entre os grupos carboxamida (KOBAYASHI, *et al.*, 2000).

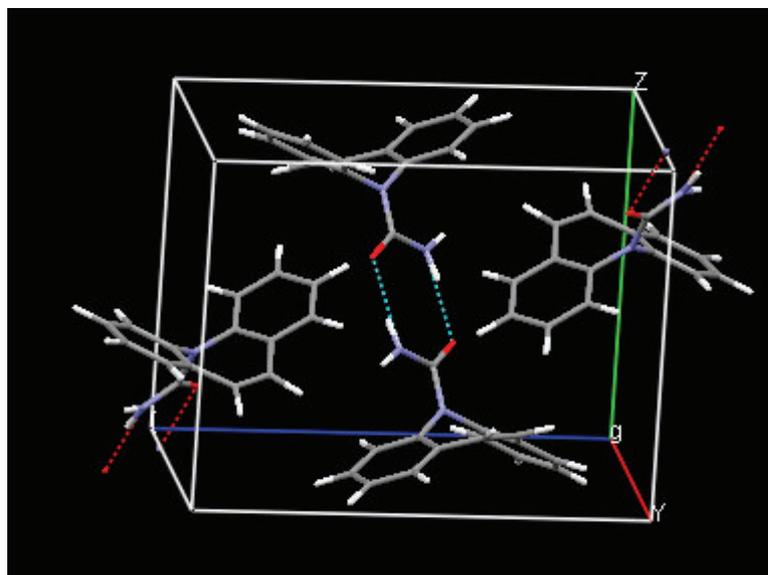


Figura 12 – Empacotamento da Forma monoclinica formando dímeros via ligações de hidrogênio

4.2 Forma I - Triclínica γ

Uma questão antiga no polimorfismo da carbamazepina tem sido a identificação da forma triclínica, modificação estável em altas temperaturas. Estes

trabalhos levantaram a hipótese da existência de quatro ou oito moléculas independentes por unidade de cela, a partir do volume de 2389Å encontrado para uma cela triclínica. Tais observações tornariam a estrutura triclínica muito mais complexa do que as outras três formas, que apresentam apenas uma molécula na unidade assimétrica. No entanto estudos estatísticos demonstraram que essas ocorrências são raras, demonstrando que mais estudos são necessários para caracterização dessa forma. Existem poucos relatos sobre esta forma no Cambridge Structural Data Base (CSD). Talvez isso possa ser explicado pela dificuldade associada com a determinação dessas estruturas, levando a uma menor freqüência nos registros do CSD, muitas vezes abaixo da sua taxa de ocorrência natural (GRZESIAK, *et al.*, 2003).

A forma I cristaliza em uma cela triclínica (P1) com os seguintes parâmetros de rede: $a=5,1705(6)$; $b=20,574(2)$; $c=22,245(2)$ Å, $\alpha=84,12(4)$; $\beta=88,01(4)$ e $\gamma=85,19(4)^\circ$. A estrutura cristalina completa dessa forma pôde ser especificada, descrevendo o conteúdo da unidade de repetição (cela unitária). Sua unidade assimétrica consiste de quatro moléculas que formam anti dímeros ligados por pontes de hidrogênio através da carboxamida (Figura 13) doadora de H e do carbonil acceptor (GRZESIAK, *et al.*, 2003).

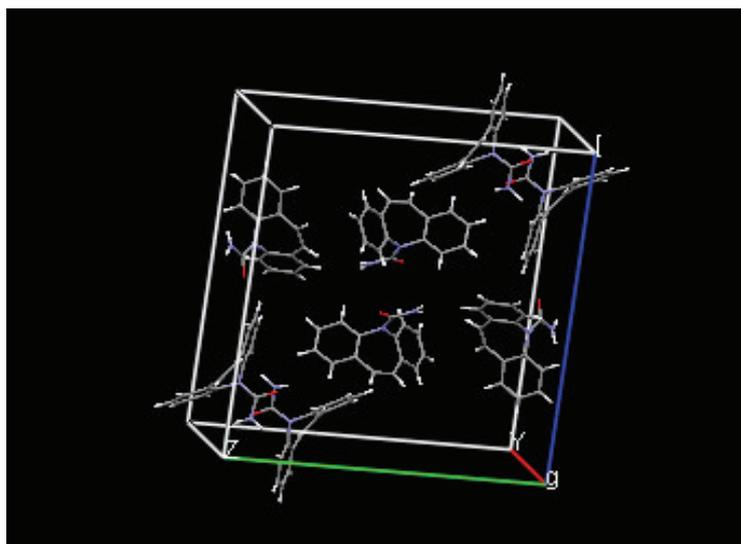


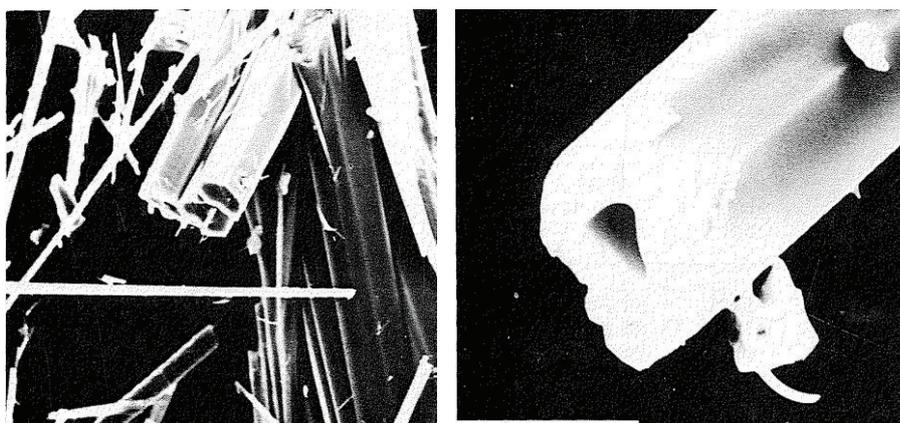
Figura 13 – Empacotamento da Forma Triclínica, grupo espacial P1

A forma triclinica é morfologicamente semelhante à forma trigonal, assim seus cristais assemelham-se a agulhas. Ambas as formas apresentam padrões de ligações de hidrogênio fracas. Onde cada oxigênio atua como acceptor de hidrogênios a partir de dois carbonos próximos. Essa forma apresenta significantes espaços hexagonais incluídos no interior do cristal devido a três dímeros estarem formando uma estrutura triangular, o que resultará em dois aspectos importantes desta forma: facilidade da invasão das moléculas de água dentro do cristal, o que conseqüentemente acelera sua transformação em dihidrato e uma densidade menor do que a encontrada na forma monoclinica padrão da USP (KOBAYASHI, *et al.*, 2000).

Os padrões de difração de raios X característicos dessa forma estão explicitados na Figura 11, apresentando picos característicos de identificação em $2\theta = 7.92, 9.37, 12.28$ e 19.99 (GRZESIAK, *et al.*, 2003).

4.3 Forma II – Trigonal α

A morfologia dos cristais da forma trigonal, detectadas nas fotomicrografias obtidas a partir de SEM, são estruturas predominantemente parecidas com agulhas. Um aspecto distinto desta morfologia é que, em uma secção transversal hexagonal das agulhas, estas muitas vezes aparecem como tubos ocos conforme Figura 14 (LOWES, *et al.*, 1987).



Figuras 14 - Fotomicrografias da forma trigonal (LOWES, *et al.*, 1987)

Essa forma apresenta sistema cristalino trigonal primitivo com grupo espacial R3, com os seguintes parâmetros de rede: $a=35,454(3)$; $b=35,454(3)$; $c=5,253(1)$ Å, $\alpha=90$; $\beta=90$ e $\gamma=120^\circ$ e volume de 5718.32. É válido ressaltar que, nos estudos usando o método difratometria de pós para monocristais, o motivo do cristal na forma II é um dímero centrossimétrico de ligações de hidrogênio, entre os grupos carboxamida, onde a embalagem desses dímeros é um resultado significativo dos 'espaços vazios' hexagonais (Figura 15) dentro do cristal (LOWES, *et al.*, 1987).

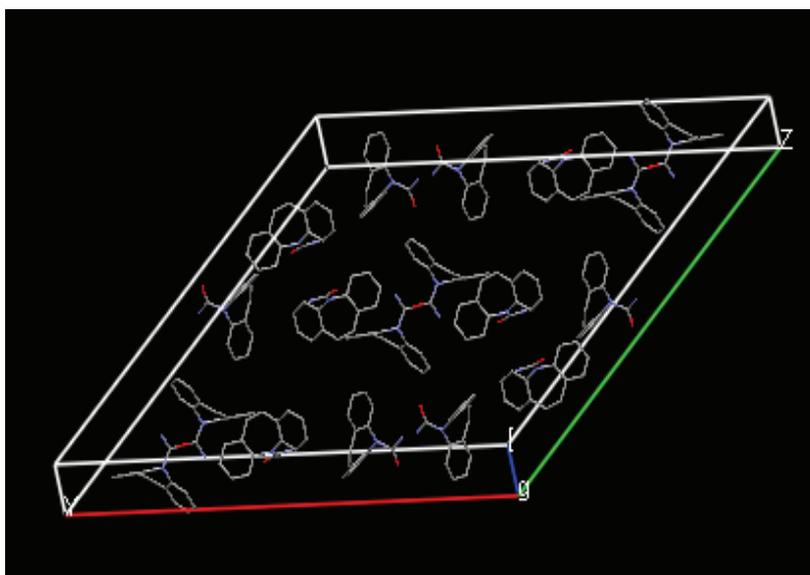


Figura 15 – Empacotamento da Forma trigonal com grupo espacial R3.

A diferenciação das formas triclínica e trigonal não representam uma tarefa trivial, portanto é necessário um estudo cuidadoso analisando os padrões de raios X de monocristais bem como as medidas de calorimetria diferencial de varredura para auxiliar nesta tarefa. Segundo estudos de GRZESIAK, *et al.*, (2003), a partir do PXDR a forma trigonal é reconhecível porque apresenta poucos picos de alta intensidade (Figura 11), sendo seus picos de identificação localizados em $2\theta= 8.68$, 13.26 , 18.56 e 24.54 .

Através da análise dos espectros obtidos por FTIR para essas formas (Figura 9) confirmaram-se as semelhanças observando-se as similaridades nas absorções entre ambas as formas, onde foram encontrados para forma trigonal os seguintes valores: 3485 , 1688 e 1396 cm^{-1} e valores muito próximos para forma triclínica sendo estes 3485 , 1690 e 1395 cm^{-1} (GRZESIAK, *et al.*, 2003), portanto concluiu-se que

essas formas apresentam espectros praticamente idênticos com variação menor do que 3 cm^{-1} .

4.4 Forma IV - Monoclínica de Face Centrada

Recentemente a estrutura da forma monoclínica– C foi publicada e designada pelos autores como a nova forma IV. No entanto, esta forma já tinha sido descoberta em 1968 por Kuhnert-Brandstatter et al. (chamada de forma II) e foi observada mais tarde por muitos outros autores (HARRIS et al., 2005). Apresenta uma caracterização abrangente, sua forma é semelhante à forma monoclínica padrão da USP, podendo ser diferenciada das outras formas polimórficas através da análise dos espectros de FTIR (Figura 9) onde essa apresenta dois picos em 773 e 765 cm^{-1} sendo que nesta posição as outras formas polimórficas apresentam apenas um único pico de absorção (GRZESIAK, *et al.*, 2003).

Essa forma apresenta padrões de raios X obtidos a partir da PXRD (Figura 11), com picos característicos em $2\theta = 14.11, 17.89, 21.79$ e 33.11° . A forma IV cristaliza em uma cela monoclínica de face centrada (C2/c) com os seguintes parâmetros de rede: $a=26,609(4)$; $b=6,9269(10)$; $c=13,957(2) \text{ \AA}$, $\alpha=90$; $\beta=109,702(2)$ e $\gamma=90^\circ$ e volume de cela de $2421,93$.

Ambas as formas monoclínicas tem cadeias infinitas C(7) através de um hidrogênio vinílico do anel azepine e um oxigênio aceptor. As ligações C-H....O que ligam as unidades diméricas (Figura 16) de ambas as formas monoclínicas tem comprimentos de $2,48 \text{ \AA}$ e $2,28 \text{ \AA}$, para as formas monoclínica e monoclínica de face centrada, respectivamente (GRZESIAK, *et al.*, 2003).

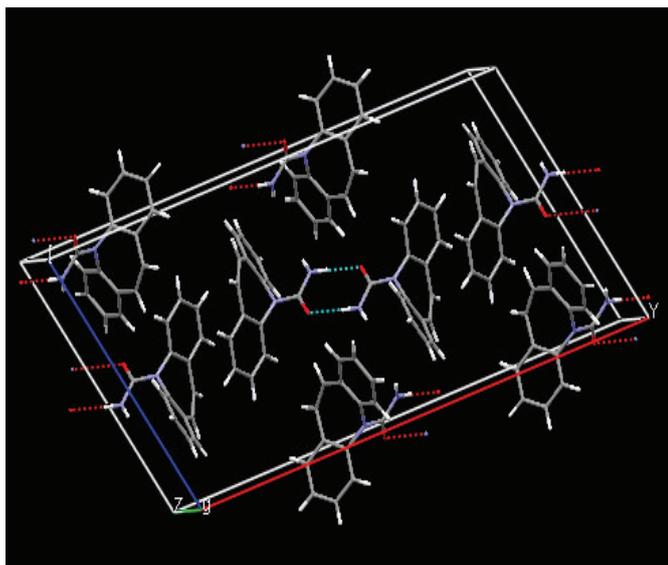


Figura 16 - Empacotamento da Forma Monoclínica de face centrada.

4.5 Descrições da Estrutura Molecular

Todas as formas anidras da carbamazepina existem como dímeros no estado sólido, o que demonstra um consistente sentido de dimerização em todas as formas anidras, no que diz respeito as suas fortes redes de ligações de hidrogênio. Este tipo de ligação envolve um mecanismo doador-aceptor de elétrons, entre os grupos carboxamidas, das moléculas de CBZ que compõem o dímero, dependem diretamente da distância entre as moléculas envolvidas na ligação e sua formação contribui para lipossolubilidade das moléculas associadas, o que acarreta em uma alta permeabilidade trans membrana, mas em contrapartida provoca uma diminuição da solubilidade dessa molécula em água, o que esclarece sua absorção irregular. Assim, o tipo de arranjo cristalino também exerce certa influência sobre a solubilidade, onde partículas simétricas podem ser menos solúveis do que as assimétricas. Isso se deve ao fato da solubilidade depender, em parte, do trabalho necessário para separar as partículas de soluto cristalino. Um ponto importante que também deve ser levado em conta são as redes de interações fracas, que também podem influenciar a embalagem cristalina e por sua vez na solubilidade.

Uma comparação entre as formas anidras, quando se analisa as distâncias entre as ligações de hidrogênio que formam o dímero, observa-se que as distâncias no dímero da forma monoclinica apresentam distâncias da ordem de 0,07Å o que

revela uma proximidade maior entre essas moléculas do que a distância apresentada nos dímeros das outras formas anidras, refletindo numa organização dentro da unidade de cela muito mais empilhada e conseqüentemente mais densa, o que pode refletir em sua maior estabilidade e conseqüentemente em uma menor solubilidade, o que não é observado nas formas trigonal e triclínica cujos espaços vazios dentro da cela unitária se refletem numa menor densidade, sendo este ambiente sujeito a maiores alterações, sendo demonstrada para estas formas uma maior solubilidade. Detalhada comparação dos parâmetros moleculares mostram que a forma trigonal é muito semelhante morfologicamente à forma triclínica, principalmente no que se refere a seus padrões de ligações de hidrogênio. Em ambas as formas cada oxigênio atua como aceptor de hidrogênio a partir de dois carbonos próximos. A posição do carbono doador é idêntica em ambas as formas, (GRZESIAK, *et al.*,2003).

4.6 Análise Conformacional

Como relatado durante este trabalho à determinação da configuração de moléculas e complexos moleculares (também conhecida como arranjo espacial ou configuração dos átomos nas moléculas.) é sem dúvida fundamental, pois leva a determinação de como se encontram dispostos esses átomos nas moléculas, ou seja, determina a estrutura dos compostos. É neste contexto que estudos teóricos, empíricos e quânticos sobre estrutura molecular têm sido realizados. Onde os métodos físicos têm mostrado grande valor na obtenção de informações sobre a estrutura molecular. Demos especial destaque a difração de raios-X de cristais simples por nos oferecer informações importantes sobre parâmetros geométricos determinados para amostras na forma cristalina.

Polimorfos diferem na embalagem do cristal (empacotamento) e/ou conformação molecular, bem como na energia do retículo e entropia. O conhecimento dos arranjos da embalagem do cristal e das varias forças intermoleculares envolvidas nos diferentes arranjos de embalagem ajudarão a prever e preparar os polimorfos mais estáveis de um dado composto.

A conformação é definida pelos ângulos de torção em torno de ligações simples. Segundo Lowes (1987) nas moléculas de carbamazepina sua conformação é dada pelos ângulos de torção em torno do Carbono e o Nitrogênio (1), sendo particularmente notável quando o átomo de N(1) desloca a partir do plano de seus

ligantes vizinhos e o ângulo de torção descreve a inclinação do grupo carboxamida em relação ao anel azepine. O ambiente dos grupos carboxamida ligados por hidrogênio está sujeito a perturbações.

Segundo GRZESIAK (2003), análises conformacionais foram feitas com todos os quatro polimorfos por programa de computador quando estes foram sobrepostos. Observando a sobreposição de moléculas individuais (monômeros), o maior desvio quadrático entre as posições atômicas desses quatro polimorfos foi menor do que 0,15 Å. Entretanto, como todos os quatro polimorfos da CBZ existem como dímeros no estado sólido, todos os pares diméricos equivalentes dos quatro polimorfos, apresentaram menos de 0,4 Å de desvio quadrático médio (quando estes foram sobrepostos e analisados por computador), demonstrando um consistente senso de conformação e dimerização em todos os quatro polimorfos, considerando sua forte rede de ligações de hidrogênio. Assim a CBZ é um excelente exemplo de cristal polimórfico no qual a conformação e os esquemas de ligações fortes de hidrogênio permanecem totalmente constantes em todos os polimorfos.

As diferenças cabem exclusivamente na embalagem das unidades diméricas carboxamida. Estas podem ser descritas pelos padrões fracos de interações C-H...O, o qual prevalece totalmente em todos os quatro polimorfos.

Através de cálculos baseados em métodos de química computacional Hartree-Fock (LEVINE, 1991; CAMARGO; NAPOLITANO; OLIVEIRA, 2005), observamos que a forma monoclinica apresenta menor conteúdo energético e por isso mesmo, confirma sua maior estabilidade frente às outras formas polimórficas anidras (Tabela 6), onde podemos observar a seguinte ordem III<IV<I<II energética.

Tabela 6 - Cálculos de Energia baseado no método Hartree- Fock em conjunto de base 3-21*

Notação	Sistema Cristalino	Grupo Espacial	Hartree	Kcal/mol
III	Monoclinico	P2 ₁ /n	-754,5552906	-473498,5359
II	Trigonal	R3	-753,9166601	-473097,7825
IV	Monoclinica - C	C2/c	-754,4627892	-473440,4895
I	Triclínica	P-1	-754,3948717	-473397,8699

4.6 Transformações polimórficas

4.6.1 Por Aquecimento

Há algum tempo, estudos têm procurado avaliar a cinética da transformação e sua dependência da temperatura. O uso de diagramas de energia/temperatura confirma o comportamento enantiotrópico entre as formas polimórficas da CBZ, enquanto tais diagramas podem ser derivados de uma seqüência de pontos de fusão, estabilidade termodinâmica a temperatura ambiente bem como a partir de calores de transformação, onde esse comportamento é demonstrado pelos termogramas obtidos das análises calorimétricas.

Nos estudos realizados por KRAHN; MIELCK, (1987) foi demonstrado a relação enantiotrópica entre os polimorfos I, II e III através de diagrama de energia (Figura 17). A transição da forma monoclinica para a forma triclinica ocorre de maneira reversível, ficando caracterizada como a forma mais estável a temperatura ambiente por apresentar a menor energia de Gibbs (G_{III}). Como já disse a temperatura de transição é importante porque ajuda a determinar qual a forma mais estável em temperaturas de interesse, nessas temperaturas as formas polimórficas estão em equilíbrio entre si, apresentando solubilidades idênticas em um dado solvente e a mesma pressão de vapor.

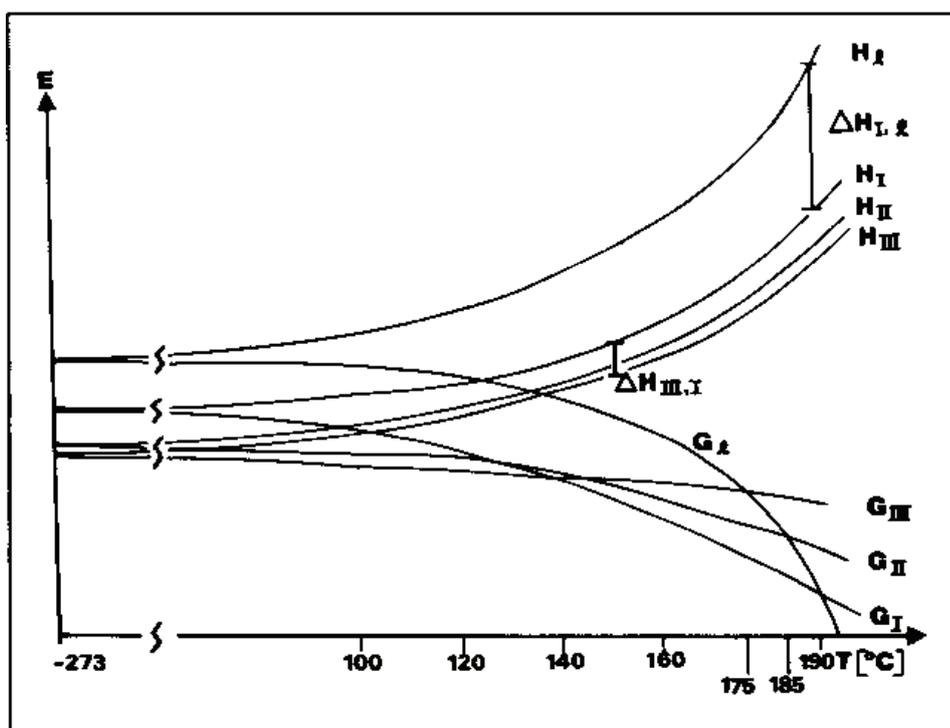


Figura 17 - Diagrama de Energia livre *versus* Temperatura para polimorfos I, II e III da carbamazepina, onde G representa energia livre de Gibbs e H a entalpia (KRAHN; MIELCK, 1987).

Todas as formas polimórficas da carbamazepina transformam-se para forma I sob aquecimento. O que foi demonstrado a partir da calorimetria diferencial de varredura (DSC), onde, a análise da forma I, não apresentou nenhuma transição, apenas fundindo entre 189 a 193°C.(Figura 18).

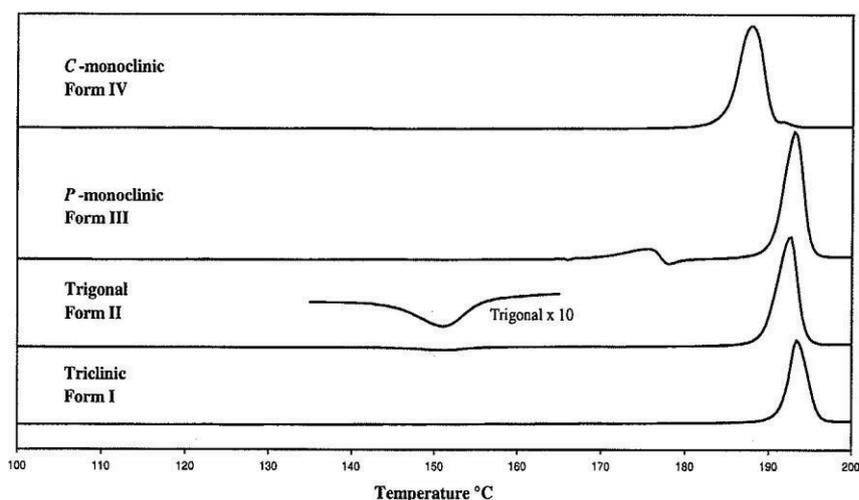


Figura 18 - DSC dos quatro polimorfos anidros da CBZ sob taxa de 20°C/min de aquecimento (GRZESIAK, *et al.*, 2003).

Os termogramas obtidos da análise da forma III a partir da DSC conduzem a conclusão de que usando taxas de aquecimento maiores (<10 a 20 Kmin^{-1}) ocorre a fusão da forma III a 174°C seguida da recristalização já na forma I, já usando taxas de aquecimento lentas ($>5 \text{ Kmin}^{-1}$) a forma III se converte em forma I antes de seu ponto de fusão, entre 150 a 160°C .

A observação de cristais da forma II durante o aquecimento permitiu uma explicação para a transformação direta dessa fase na forma I entre 135 e 170°C sem ocorrer sua fusão. Isso parece ser em grande parte devido a altas taxas de aquecimento inicial para cristais com poucos defeitos.

Também sob aquecimento a forma IV funde a $183,5^\circ\text{C}$ e recristaliza imediatamente na forma I, apresentando cristais tipo agulha típicos dessa forma. Já sob baixas taxas de aquecimento a transformação em forma I se concretiza antes da temperatura de fusão da forma IV, onde se mantendo o aquecimento apenas a forma I funde, o que foi confirmado pelos termogramas obtidos pela DSC (Figura 18) (GRZESIAK, *et al.*, 2003).

Fica, pois, claro que as informações termoquímicas e de densidades indicam claramente a relação enantiotrópica entre a forma monoclinica e a forma triclinica e não há dúvidas que a forma monoclinica mostra a menor energia livre de todas as formas polimórficas da CBZ abaixo da temperatura ambiente. De acordo com GRZESIAK *et al.*(2003), as quatro formas apresentam energias próximas e a ordem de estabilidade a temperatura ambiente é forma monoclinica > forma triclinica> forma monoclinica de face centrada > forma trigonal. Esta ordem é baseada no papel da densidade, o qual define que 'se a modificação de um cristal molecular tem a menor densidade, é possível assumir como sendo ela a forma menos estável no zero absoluto. A partir das informações termoquímicas avaliadas por GRZESIAK *et al.*(2003), pode-se deduzir que a forma monoclinica-C e a forma monoclinica também representam um par enantiotrópico, no entanto, a forma monoclinica-C e a forma triclinica são relacionadas monotropicamente.'

A forma trigonal é obviamente a menos estável das quatro formas anidras da CBZ. Devido a sua rápida transformação na forma triclinica não é possível determinar seu ponto de fusão de maneira tão rápida, desta forma a relação termodinâmica desta forma polimórfica com as outras formas anidras permanece confusa.

4.6.2 Por Hidratação

Mudanças de fase simultâneas ocorrem quando a CBZ é colocada em contato com a água, onde se observa a formação de dihidratos em poucos minutos. A facilidade e as taxas de formação de dihidratos, bem como sua desidratação simples para modificações labéis a temperatura ambiente são importantes fatores no desenvolvimento e na produção de formas de dosagem sólidas (KRAHN; MIELCK, 1987).

O conteúdo de água presente nessas estruturas não excede 13,24% independente da temperatura e da umidade relativa durante a estocagem. Os hidratos quando aquecidos perdem água em uma faixa de temperatura que vai de 56 a 132°C. Quando submetida a seguintes condições de estocagem: 40°C e 98% de umidade relativa por vinte e oito dias, a forma I exibiu um aumento gradual de peso, devido à absorção de água, onde depois de dois meses apresentava 13,24%, correspondendo ao valor estequiométrico do dihidrato. Já a forma III apresentou nessas condições um aumento de 1,9%. O que foi confirmado pela difratometria de

raios-X o que demonstrou que a forma I se transforma muito mais rápido em dihidrato do que a forma III, onde nessas condições ocorre a conversão da forma III na forma I, no entanto observando-se que com o passar do tempo, a forma I volta a forma III gradativamente (KRAHN; MIELCK, 1987; KOBAYASHI, 2000).

Este comportamento também se repetiu nos estudos de dissolução, onde as medidas obtidas na (DSC) confirmaram que ambas as formas I e III transformam-se minuciosamente em dihidratos, no entanto as mudanças nas taxas de dissolução das formas anidras eram devido à transformação em hidratos, sendo a taxa de transformação da forma I mais alta do que a da forma III, padrão da USP (KOBAYASHI, 2000).

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estudo do polimorfismo ganhou, nas últimas décadas, grande importância para a indústria farmacêutica. O conhecimento do tipo de polimorfismo que um fármaco apresenta e suas diferenças estruturais enfatizam a necessidade de seu estudo, sobretudo na pesquisa por novos fármacos e no estudo de pré-formulações.

Neste trabalho destacamos a importância dos métodos cristalográficos na análise de fármacos e suas aplicações na obtenção das informações estruturais precisas para a identificação e a caracterização dos polimorfos. A cristalografia por difração de raios X apresenta-se como uma ferramenta de alta aplicabilidade no trabalho de caracterização de compostos cristalinos, permitindo o entendimento da relação entre a estrutura e as propriedades físico-químicas dos compostos. Através dessa metodologia podem ser determinadas as posições relativas de todos os átomos que constituem a molécula (estrutura molecular) e a posição relativa de todas as moléculas que constituem a cela unitária (estrutura cristalina). É possível, portanto, estabelecer os ângulos e as distâncias inter-atômicas da estrutura cristalina, bem como as interações intermoleculares.

Observou-se que o polimorfismo, considerado um dos responsáveis pelas diferenças nas propriedades físico-químicas dos compostos, como solubilidade e dureza, é ocasionado principalmente pela formação de um dímero entre duas moléculas de carbamazepina, que faz com que a formulação apresente baixa solubilidade e baixa dureza, ocasionadas pelas forças de interação de natureza forte entre os dímeros das moléculas de carbamazepina, principalmente as forças de *van der Waals* e as ligações de hidrogênio.

Com isso, pode-se inferir que as interações de *van der Waals* no estado sólido sob um dado conjunto de condições pode ocasionar a transição polimórfica, ou seja, a forma polimórfica de maior energia tende a se transformar na forma de menor energia, forma mais estável, o que vem a ser uma problemática para a indústria farmacêutica. Além disso, nota-se que a molécula de carbamazepina exibe baixa solubilidade em água e alta permeabilidade intestinal, ocasionado principalmente pelo fenômeno da dimerização de moléculas de carbamazepina, fazendo com que a solubilidade e as interações com o solvente diminuam.

A mínima modificação dos ângulos de ligação das moléculas de carbamazepina foi responsável pela geração de um novo polimorfo, evidenciando a fragilidade e a

vulnerabilidade da estrutura molecular em questão. Podemos dizer que a formação do dímero é um fator positivo do ponto de vista da estabilidade da carbamazepina, já que o mesmo expressa certa rigidez na estrutura molecular, fazendo com que esta mantenha suas propriedades físico-químicas e farmacológicas (Interação fármaco-receptor). O processo de compressão do pó no processo produtivo pode gerar polimorfos, fenômeno que é minimizado graças à propriedade de formação de dímeros, que atribui certa “elasticidade” à molécula de carbamazepina pela natureza forte de suas ligações intermoleculares.

A existência difundida de drogas polimórficas tem se mostrado importante e eficiente na estratégica caracterização consistente de seus polimorfos. O impacto potencial na mudança da forma de um cristal durante o estágio de Pesquisa e Desenvolvimento (P&D), em termos de custo do produto, justifica a caracterização sistemática e avançada do polimorfismo. A compreensão das características polimórficas, permite, também, a seleção do melhor polimorfo para o mercado ou o mais estável. Nós expusemos uma aproximação da caracterização que fosse baseado em reconhecer os elementos distintos em investigação do polimorfismo, além de identificar estruturas, propriedades e relação entre as suas propriedades.

REFERÊNCIAS

BERNSTEIN, J. *Crystal Polymorphism*, Engineering of Crystalline Materials Properties, Springer Netherlands, p.87-109, 2008.

BOTTOM, R. The role of modulated temperature differential scanning calorimetry in the characterization drug molecule exhibiting polymorphic and glass forming tendencies. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 192, p. 47-53, 1999.

BRANDÃO, A. L. A. Influência do Polimorfismo na Farmacotécnica de Cápsulas no Setor Magistral. *Revista Racine 91*. 2007. Disponível em:< www.racine.com.br>. Acesso em 18/05/2008.

BRASIL, Ministério da saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. *Lista de Medicamentos Genéricos Registrados por ordem alfabética*. Disponível em: <anvisa.gov.br/hotsite/genericos/lista/registrados.pdf> Acesso em Nov. 2008.

BRITAIN, H.G. Structural aspects of polymorphism. *In: Polymorphism in pharmaceutical solids*. New York. Marcel Dekker, Inc. 1999. v.95, Cp. 3, p.73-124, Cap. 5, p.183-225.

BRYN, S. et al. Pharmaceutical Solids. A Strategic Approach to Regulatory Considerations. *Pharm. Rev.*, v.12, n.7, p.945-954, 1995.

BURGER A., RAMBERGER, R., On the polymorphism of pharmaceuticals and other molecular crystals. I. Theory of thermodynamic rules, *Mikrochim. Acta [Wein] II* (1979) 259–271.

BURGER A., RAMBERGER, R., On the polymorphism of pharmaceuticals and other molecular crystals. II. Applicability of thermodynamic rules, *Mikrochim. Acta [Wein] II* (1979) 273–316.

CAMARGO, A. J.; NAPOLITANO, H. B.; OLIVEIRA, S. S. Método de Química Quântica Computacional Aplicado a Modelagem Molecular. *Estudos*. V. 32, p. 1223-1252, 2005.

CATELOES, J. Neurociências – Epilepsia: Tratamento na rede básica receberá investimentos. Com ciência – *Revista eletrônica de Jornalismo Científico*, v.33, p. 10, 2002. Disponível em: <<http://www.comciencia.br/reportagens/epilepsia/ep05.htm>> Acesso em 10/01/2009.

DRENTH, J. *Principles of Proteins X-Ray Crystallography*. Springer-Verlag. New York. USA, 1999.

EUROPEAN UNION PHARMACOPEIAL CONVENTION. European Pharmacopoeia, 4 ed., 2002, p.2958.

FDA - FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. Approved drug products with therapeutic equivalence evaluations. 25th edition, p 92-93. Disponível em < <http://www.fda.gov/cder/orange/obannual.pdf> > Acesso em: 12 nov., 2008).

GIACOVAZZO, C. "Symmetry in Crystallography." In: *Fundamentals of Crystallography*, edição: Giocovazzo. New York: C. IUCR e Oxford Science Publication, 1992.

GILMAN, A. G. et al. (Ed.). *As Bases Farmacológicas da Terapêutica*, ed. 8, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.

GIRON, D. *Thermal analysis and calorimetric methods in the characterization of polymorphs and solvates. Thermochimica Acta*, v.248, p.1-59, 1995.

GLASSER, L. S. D. *Simmetry*. Published by Union of International of Cristallography. Cardiff Wales: University College Cardiff Press, 2001.

GOUVINHAS, C.; PEREIRA, J.; PEREIRA, L. *Carbamazepina*. 2005. Trabalho Acadêmico (Disciplina de Toxicologia e Análises Toxicológicas I- Faculdade de Farmácia). Universidade do Porto. 2005. Disponível em: <www.ff.up.pt/toxicologia/monografias/ano0506/carbamazepina/index.html>. Acesso em : 10/12/2008.

GRZESIAK, A.L.; LANG, M.; KIM, K.; et al. Comparison of the four anhydrous polymorphs of carbamazepine and the crystal structure of form I. *Am. Pharm. Ass. J. Pharm. Sci.*, v.92, n. 11, p.2260-2271, 2003.

HAHN, T. (Ed), *International Tables for Crystallography*, International Union of Crystallography, Boston, MA, 2006.

HARRIS, R. K. et al. Structural Studies of the Polymorphs of Carbamazepine, Its Dihydrate, and Two Sovates, *Organic Process Reacarch & Development*, v.9, n. 6, p. 902-910, 2005.

HILFIKERI, R. (Ed), *Polymorphism: in the Pharmaceutical Industry*. ed. 1, Wiley-VCH, 2006, p. 436.

KRAHN, F. U., MIELCK, J. B., Relations Between Several Polymorphic Forms and the Dihydrate of Carbamazepine, *Pharm. Acta Helv*, v.62, n.9, 1987.

KOBAYASHI, Y., ITO, S., ITAI, S., YAMAMOTO K. Physicochemical Properties and Bioavailability of carbamazepine Polymorphs and Dihydrate. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 193, p. 137-146, 2000.

KOROLKOVAS, A. *Dicionário Terapêutico Guanabara*, ed. 2004/2005, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004, p. 680.

LACHMAN, L., LIEBEMAN, H. A., KANIG, J. L. *Teoria e Prática na Indústria Farmacêutica*, ed.1, Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, v.1, 2001, p. 505.

LAKE, C. H. "Introduction to space groups." The Indiana University of Pennsylvania: ACA summer course of small molecule crystallography, 2004.

LEVINE, I. N. *Quantum chemistry*. 5.th. New York, Prentice Hall, 709p, 1991.

LIMA, D. R. *Manual de Farmacologia Clínica, Terapêutica e Toxicologia*. 2002/03. Rio de Janeiro: Editora Médica e Científica Ltda., v.2, 2002, p. 2240.

LOWES, M. M.; et al. Physicochemical Properties and X-ray Structural Studies of the Trigonal Polymorph of Carbamazepine. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v.76, n. 9, p.744-750, 1987.

LUND, W. The pharmaceutical codex: Principles and Pratices of Pharmaceutics. *The Pharmaceutical Press*, London, ed. 12, 1994.

MACRAE, C. F., BRUNO, I. J., CHISHOLM, J. A., EDGINGTON, P. R., MCCABE, P., PIDCOCK, E., RODRIGUEZ-MONGE, L., TAYLOR, R., STREEK J., WOOD, P. A., *J. Appl. Cryst.*, **41**, 466-470, 2008

MEYER, M.C., STRAUGHN, A.B., JARIVI, E.J., WOODS, G.C., PELSOR,F.R., SHAH, V.P., 1992. The bioinequivalence of carbamazepine tablets with a history of clinical failures. *Pharm. Res.* 9, 1612–1616.

NAIR, R., et al. Influence of polyethylene glycol and povidone on the polymorphic transformation and solubility of carbamazepine. *International Journal of Pharmaceutics*, v.240, p.11-22, 2002.

NAPOLITANO, H. B.; *et al.* Caracterização de Fármacos Polimórficos. *Estudos Tecnologia*, Goiânia, v. 32, n. 11, p.2021-2046, nov. 2005.

NETZ, P. A.,ORTEGA, G. G. *Fundamentos de físico-química : Uma abordagem conceitual para Ciências Farmacêuticas*. Artmed: Porto Alegre, 2002.p. 300.

PROHENS, R., PUIGJANER, C. Polimorfismo en la Industria Farmacéutica. *El Farmacéutico*, n.º 373, Unitat de Química Fina. Serveis Científicotècnics. Universitat de Barcelona, 2007.

RUSTICHELLI, C. et al. Solid-state study of polymorphic drugs: carbamazepina. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, v.23, p.41-54, 2000.

SIMON P. A.; BROWN, W. M. Treatment of Epilepsy: Existing Therapies and Future Developments. *Frontiers in Bioscience* 5, 124-152, November, 2000. Disponível em: <www.bioscience.org/2000/v5/e/aiken/aiken.pdf > Acesso em 10/12/2008.

SINKO, P. J. (Org), TAYLOR, S. (Co-Org). *MARTIN Físico-Farmácia e ciências farmacêuticas*. 5 ed. Porto Alegre: Artemed, 2008, 810p.

SHARGEL, L., YU, A. B. C. *Applied biopharmaceutics and pharmacokinetics*. 4 ed. Stamford: Appleton & Lange, 1999. 768p

SOLOMONS, T. W. G., FRYHLE, C. B. *Química Orgânica, ed. 8, LTC Ltda., v. 1, 2005. p.715.*

TRUEBLOOD, K. N. *Unit cells and lattices.* Indiana University of Pennsylvania: ACA Summer Course in Small Molecule Crystallography, 2004.

USP- UNITED PHARMACOPEIAL CONVENTION. The United States Pharmacopeia, ed. 30, 2007, 2675p.

VILA JATO, J. L. *Tecnologia farmacêutica: formas farmacêuticas.* Madrid. Editorial Sintesis, v. 1-2, 2001.

VIPPAGUNTA, H. et al. *Crystalline Solids.* Advanced Drug Delivery Reviews, v. 48, p.3-26, 2001.