



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CAMPUS I – CAMPINA GRANDE
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
CURSO DE GRADUAÇÃO EM FARMÁCIA**

PAULO CÉSAR DANTAS DA SILVA

**APLICAÇÃO DE TÉCNICAS TERMOANALÍTICAS NA
CARACTERIZAÇÃO E DETERMINAÇÃO DAS CURVAS DE PRESSÃO
DE VAPOR DO ALFA-ÁCIDO LIPÓICO**

**CAMPINA GRANDE – PB
2011**

PAULO CÉSAR DANTAS DA SILVA

APLICAÇÃO DE TÉCNICAS TERMOANALÍTICAS NA
CARACTERIZAÇÃO E DETERMINAÇÃO DAS CURVAS DE PRESSÃO
DE VAPOR DO ALFA-ÁCIDO LIPÓICO

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao
Curso de Graduação em Farmácia da Universidade
Estadual da Paraíba, em cumprimento à exigência
para obtenção do grau de Bacharel em Farmácia.

Orientadora: Prof^a. Dra. Mônica Oliveira da Silva
Simões

Co-Orientadora: Msc. Lidiane Pinto Correia

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL – UEPB

S586a Silva, Paulo César Dantas da.
Aplicação de técnicas termoanalíticas na caracterização e determinação das curvas de pressão de vapor do alfa-ácido lipóico.[manuscrito] / Paulo César Dantas da Silva. – 2011.
28 f : il. color.

Digitado.
Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) – Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2011.
“Orientação: Profa. Dra. Mônica Oliveira da Silva Simões, Departamento de Farmácia”.
"Co-Orientação: Profa. Ma. Lidianne Pinto Correia, Departamento de Farmácia"

1. Ácido Lipóico. 2. Calorimetria Exploratória Diferencial. 3. Termogravimetria. I. Título.

21. ed. CDD 615.1

PAULO CÉSAR DANTAS DA SILVA

APLICAÇÃO DE TÉCNICAS TERMOANALÍTICAS NA
CARACTERIZAÇÃO E DETERMINAÇÃO DAS CURVAS DE
PRESSÃO DE VAPOR DO ALFA-ÁCIDO LIPÓICO

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
ao Curso de Graduação em Farmácia da
Universidade Estadual da Paraíba, em
cumprimento à exigência para obtenção do
grau de Bacharel em Farmácia.

Aprovado em 16 / 11 / 2011.



Profª Drª Mônica Oliveira da Silva Simões DF/UEPB
Orientadora



Profª. Drª. Ana Cláudia Dantas de Medeiros DF/UEPB
Examinadora



Profª Msc. Ana Flávia Oliveira Santos DF/UEPB
Examinadora

AGRADECIMENTOS

- Agradeço em Especial, a Deus por ter me dado sabedoria e coragem para enfrentar todos os projetos da minha vida, entendendo que para Ele e por meio Dele são todas as coisas, pois Ele é o princípio, o meio e o fim.
- À minha família, suporte maior em momentos tumultuosos. Em especial a minha mãe, pelo seu amor, paciência e dedicação, pois sempre soube exatamente o que ofertar e quando era preciso.
- À Universidade Estadual da Paraíba por ter me ofertado à oportunidade de concretizar o que até agora era o meu maior sonho: Graduação em Farmácia.
- Ao CNPq (Conselho Nacional de Pesquisa) pelo apoio financeiro para o desenvolvimento das pesquisas durante a graduação.
- À Pesquisadora e Conterrânea, Prof^a Msc. Alyne Portela, pela amizade, companheirismo, orientações e conselhos, dispensados durante toda a caminhada. Principalmente pela acreditação num desconhecido que bateu à sua porta, numa noite de quinta-feira, com apenas uma semana de aula, mas, que tinha um sonho: SER PESQUISADOR.
- Em cada momento da vida o ser humano precisa de uma coisa diferente: de afeto, quando está carente; de elogio, quando está desacreditado; de um puxão de orelhas, quando está esquecido, do silêncio, quando está perdido. Eu quero agradecer a minha orientadora Prof^a Dra. Mônica Simões.
- À minha co-orientadora, Lidiane Correia pelo apoio dado durante este trabalho.
- Aos parceiros de Iniciação Científica, pela paciência e companheirismo: Renata Alencar e João Paulo Malheiro, mostrando-se sempre solícitos e disponíveis.
- À Prof^a Dra. Ana Cláudia Dantas de Medeiros pela amizade, as risadas e bons conselhos, instruções e esclarecimentos que venho recebendo desde o dia da 1^a Matrícula.
- À Prof^a Msc. Ana Flávia Oliveira Santos, pela amizade, pelas reflexões críticas, pelos papos filosóficos, adquiridos durante a convivência na monitoria, onde teve um papel de fundamental importância para o meu direcionamento para a área das Ciências farmacêuticas.
- Aos meus amigos. Os conquistados durante o curso, pelo apoio e momentos de alegria, companheiros de trabalhos e irmãos na amizade que fizeram parte da minha formação e que vão continuar presentes em minha vida com certeza. Aos estudantes de farmácia de Esperança, pelas conversas, revoltas e risadas durante o trajeto no Busão de "Hope City".
- Aos mestres e doutores que transmitiram conhecimentos que me ajudaram a crescer como pesquisador.

*Você pode desperdiçar sua vida
construindo barreiras e fronteiras ou
então você pode viver ultrapassando-as.
Mas há algumas que são perigosas
demais para serem cruzadas. E aí vai
o que eu sei: se você estiver disposto a
se arriscar, a vista do outro lado é
espetacular (Meredith Grey)*

APLICAÇÃO DE TÉCNICAS TERMOANALÍTICAS NA CARACTERIZAÇÃO E DETERMINAÇÃO DAS CURVAS DE PRESSÃO DE VAPOR DO ALFA-ÁCIDO LIPÓICO

SILVA, Paulo César Dantas¹; CORREIA, Lidiane Pinto; PORTELA, Alyne da Silva, SIMÕES, Mônica Oliveira da Silva;

RESUMO

O ácido lipóico é um derivado do ácido octanóico que atua como um cofator essencial em complexos multienzimáticos mitocondriais. É utilizado na prevenção e tratamento de doenças relacionadas ao estresse oxidativo como o diabetes e doenças cardiovasculares. O objetivo deste estudo consistiu na caracterização térmica do fármaco e cápsulas de ácido lipóico e a determinação das curvas de pressão de vapor da matéria prima, utilizando as técnicas termoanalíticas: Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) e Termogravimetria (TG). A curva DSC do ácido lipóico demonstrou um pico endotérmico, na faixa de temperatura de 58,75 °C a 61,30 °C ($\Delta H = 103,71 \text{ J.g}^{-1}$), confirmando a identidade da amostra. A curva TG apresentou apenas uma etapa bem definida que ocorre entre 233,48 e 265,76 °C com perda de massa (Δm) de 99,69%. Os resultados demonstraram que não houve alteração da estabilidade térmica do ácido lipóico na forma de cápsulas. Este estudo mostrou ainda que a termogravimetria é uma técnica adequada para caracterização da curva de pressão de vapor do ácido lipóico. Uma importante etapa na pesquisa e no desenvolvimento de novos medicamentos consiste na caracterização das propriedades físico-químicas do fármaco. Este processo deve ser iniciado a partir do princípio ativo em questão, de modo a aperfeiçoar os parâmetros de qualidade da forma farmacêutica final requerida.

PALAVRAS-CHAVE: Calorimetria Exploratória Diferencial. Termogravimetria. Curvas Pressão de Vapor. Ácido Lipóico.

¹ Paulo César Dantas da Silva, graduando em Farmácia pela UEPB, aluno de Iniciação Científica/UEPB/CNPq. E-mail: paulocds@hotmail.com

1 INTRODUÇÃO

Atualmente a pesquisa e o desenvolvimento de medicamentos inovadores vêm sendo considerada como uma tarefa multifatorial, complexa e de alto custo, tornando a introdução de novas moléculas no mercado num processo demorado. Estima-se que de cada 30.000 compostos sintetizados, apenas 0,003% vêm a se tornar fármacos disponíveis no comércio. Esta situação pode ser compreendida em decorrência de problemas relacionados a biodisponibilidade e toxicidade, que podem estar ligados ao escasso conhecimento acerca da natureza físico-química da molécula em estudo (FRAGA; BARREIRO, 2005; PEREIRA, 2007).

Estudos de pré-formulação, visam uma maior compreensão de fármacos inovadores, acerca das suas características biofarmacêuticas, para traçar estratégias de desenvolvimento racional de formulações mais eficazes e seguras e, portanto, com maiores possibilidades de êxito (MAXIMIANO, 2010).

As técnicas termoanalíticas vêm sendo bastante utilizadas na área farmacêutica, como na caracterização térmica de fármacos, com ampla aplicação em estudos de pré-formulação; na determinação de pureza de compostos eutéticos; na identificação de polimorfos; na avaliação de estabilidade e em estudos de decomposição térmica de fármacos e medicamentos, tendo em vista que, por meio destas, é possível extrair informações acerca de potenciais interações entre o fármaco e os excipientes utilizados (STORPITIS *et al.*, 2009).

A aplicação da calorimetria exploratória diferencial (DSC) e a termogravimetria (TG) em estudos de compatibilidade de formulações farmacêuticas trata-se de uma forma de prever a compatibilidade fármaco-excipiente, tendo em vista que são métodos simples, rápidos, sensíveis, e, que necessitam de pequena quantidade de amostra, fator este desejável pelas indústrias farmacêuticas, principalmente pelo fato de serem alternativas rápidas e seguras para o controle de qualidade de fármacos e produtos acabados, encontrando também aplicabilidade na orientação do desenvolvimento de novas formulações (IONASHIRO, 2004).

1.1 ÁCIDO LIPÓICO

O Ácido Lipóico (AL) também conhecido como ácido alfa lipóico e ácido tióctico, foi descoberto por Snell e colaboradores em 1937, sendo denominado de “fator substituto de acetato”, tendo em vista que o mesmo ajudou no crescimento bacteriano, a exemplo da *Lactobacillus acidophilus*, que não poderiam sobreviver sob condições desprovidas de acetato (PACKER; KRAEMER; RIMBACH, 2001; SHAY, *et al.*, 2009).

Outros estudos demonstraram que o ácido lipóico era necessário para a oxidação do piruvato em acetato e dióxido de carbono, recebendo outro nome trivial: fator de oxidação do piruvato. Posteriormente, este composto foi isolado, caracterizado e sintetizado, quanto a sua forma funcional por Reed e colaboradores na década de 1950, sendo denominado, inicialmente como: ácido dissulfeto cíclico 5-[3-(1,2ditiolanil)]-pentanóico. Posteriormente foi denominado de ácido lipóico, tendo em vista que era lipofílico, com propriedades ácidas, e estava envolvido no anabolismo de ácidos graxos (SPALDING; PRIGGE, 2010).

Figura 1 – Estrutura do R-(+)- α -Ácido Lipóico

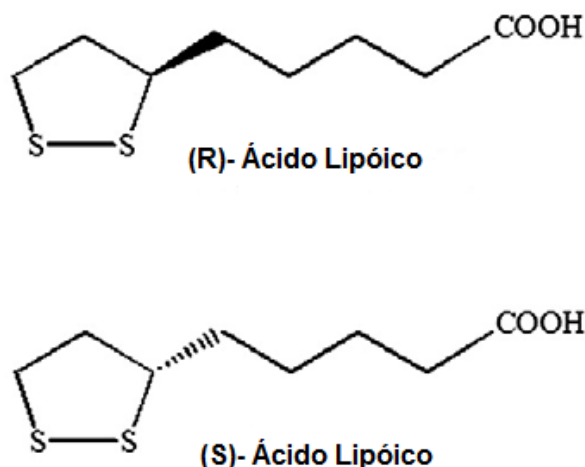


O Ácido Lipóico ou ácido 1,2-ditiolano-3-pentanóico, trata-se de uma biomolécula da classe dos organosulfurados derivados do ácido octanóico, um ácido graxo de cadeia linear. Sua estrutura é formada por uma cadeia de oito carbonos, que apresenta em uma das extremidades uma carboxila como grupo funcional e na outra, um anel ditiolano. O anel ditiolano consiste de um heterociclo de cinco carbonos com átomos de enxofre inseridos entre C6 e C8, uma configuração que permite a formação de uma ligação dissulfeto intramolecular na sua forma oxidada, onde apresenta atividade biológica relevante (MANTA; BATISTA-VIEIRA; CARLSSON, 2009; BILLGREN, et al., 2010).

Devido à presença de um átomo assimétrico de carbono, é um composto opticamente ativo, dessa forma, a molécula existe como dois enantiômeros: R-(+)-ácido lipóico e S-(+)-ácido lipóico, como uma mistura racêmica R/S-ácido lipóico. No entanto, somente R-(+)-ácido lipóico é capaz de participar das reações enzimáticas metabólicas mitocondriais, tornando essa isoforma um cofator essencial em sistemas biológicos (CARLSON, et al., 2007) (FIGURA 2).

Os enantiômeros apresentam as seguintes estruturas químicas:

Figura 2 - Enantiômeros do Ácido Lipóico

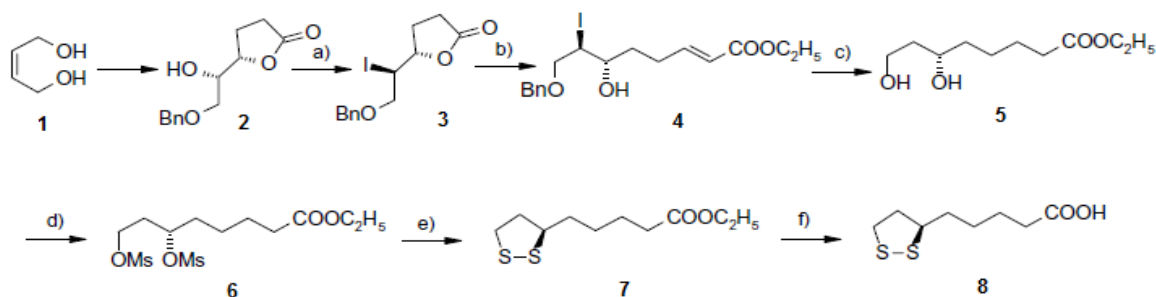


Fonte: adaptado de Shay et al. (2009)

Sua fórmula molecular é: $[C_8H_{14}O_2S_2]$ e peso molecular igual a 206,3 g/mol. Apresenta-se sob a forma de pó amarelo e cristalino, com ponto de fusão entre 60,0°C - 62,0°C, muito pouco solúvel em água, muito solúvel em dimetilformamida e solúvel em metanol (UNITED STATES PHARMACOPEIA, 2007; BRITISH PHARMACOPEIA, 2009). É um ácido fraco, com pKa = 4,7 e coeficiente de partição octanol-água $\text{Log } K_{ow-lipoic\ acid} = 3,4$. Apresenta um espectro de absorvância bem regular e conhecido, apresentando um máximo em 330nm ($\epsilon = 150 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) (BILLGREN, et al., 2010).

Recentemente Chavan et al., (2004) demonstraram a síntese dos enantiômeros do ácido lipóico a partir de um intermediário comum, obtidos do cis-2-buteno-1,4-diol (1). De acordo com eles, a dihidroxilação assimétrica de Sharpless com AD-mix- α e ciclização *in situ* do ester γ , δ -insaturado, obtendo assim a lactona (2), onde foi posteriormente tratada com trifetilfosfina, iodina e imidazol obtendo assim o iodo lactona (3). A redução de lactona com DIBAL-H a -78°C, seguido por reação, *in situ* carbono-carbono, do tipo Wittig resultou no éster insaturado (4). A remoção do grupo protetor benzil, a remoção do iodo e redução da dupla ligação foi alcançada em etapa única usando níquel de Raney W-2, na presença de hidrogênio nas condições ambientais de temperatura e pressão, por 24h com a formação do diol (5). O diol, um intermediário conhecido na síntese de (+)-ácido lipóico, foi tratado com cloreto de mesila para obtenção de dimesilato (6). O dimesilato ao reagir com Na_2S e Enxofre elementar em dimetilformamida (DMF) a 90°C por 24h obteve o lipoato de etila (7), onde submetido a uma hidrólise com KOH etanólico a 1M obteve-se o R -(+)- α -ácido lipóico (8) (FIGURA 3).

Figura 3 – Esquema da Síntese do Ácido Lipóico



Reagentes e Condições: (a) PPh_3 , I_2 , imidazol, 3h, 94%; (b) DIBAL-H, DCM, -78°C , 1h, $\text{Ph}_3\text{PCHCOOC}_2\text{H}_5$, 24h, rt, 96%; (c) Niquel de Raney W-2, H_2 , rt, 24h, 84%; (d) $\text{CH}_3\text{SO}_2\text{Cl}$, Et_3N , DCM, 0°C , 4 h, 92%; (e) Na_2S , S, DMF, 90°C , 24 h, 72%; (f) 1M KOH etanólico, rt, 24 h, 75%. **Fonte:** Adaptado de Chavan et al. (2004)

A diversidade dos efeitos do ácido lipóico sobre diversos tipos de tecidos biológicos podem ser explicados por sua atividade antioxidante, capacidade de quelar metais de transição, transdução de sinais (relacionados a inflamação e indução de enzimas de fase II), respostas aos sinais celulares, especialmente aos relacionados a função cardiovascular e o metabolismo da glicose. A atividade biológica do ácido lipóico pode ser explicada em termos das reações de troca tiol/dissulfeto que modulam o estado redox (FIGURA 4). O anel ditiolano ainda é responsável pela coloração amarelada do pó, bem como o espectro de absorvância máxima a 333 nm (BILLGREN, et al., 2010; PACKER; CADENAS, 2010)

Figura 4 – Grupos Tiol/Dissulfeto que atuam na manutenção do estado celular redox



Fonte: Adaptado de Packer, Cadenas (2010)

O ácido lipóico vem sendo bastante utilizado como agente terapêutico, geralmente na forma de mistura racêmica, para diversos distúrbios, como arteriosclerose, isquemia cerebral e do miocárdio, intoxicação por metais pesados, diabetes, doença de Chagas, cirrose hepática, síndrome da imunodeficiência adquirida e distúrbios neurodegenerativos, como mal de Alzheimer e demências relacionadas. Novos estudos propõem seu uso em formulações dermatológicas e cosméticas (KÜLKAMP et al., 2009).

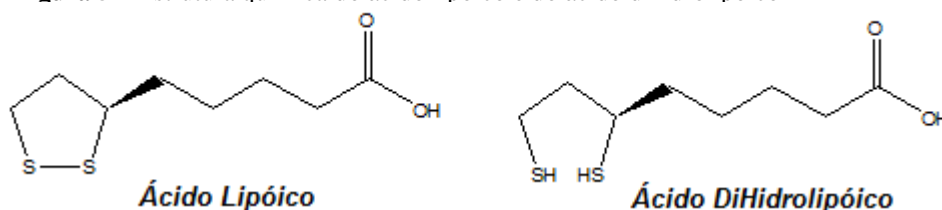
Diversos estudos mostram que o efeito terapêutico do ácido lipóico está relacionado com sua atividade antioxidante. Quatro propriedades desta atividade já foram estudadas: capacidade de quelar metais como: Cd^{2+} , Fe^{3+} , Cu^{2+} e Zn^{2+} (FLORA; MITTAL; MEHTA,

2008), reter espécies reativas ao oxigênio (ERO), regenerar antioxidantes endógenos, além da participação no reparo de sistemas (FINAUD; LAC; FILAIRE, 2006).

O ácido lipóico atua como um cofator essencial em quatro complexos multienzimáticos: piruvato desidrogenase, α -ceto-glutarato-desidrogenase, desidrogenase dos ceto-ácidos de cadeia ramificada e o sistema enzimático de clivagem da glicina. Em cada uma das enzimas, o ácido lipóico liga-se ao grupo ϵ -amino dos resíduos de lisina. Estes complexos enzimáticos estão envolvidos em diversas vias metabólicas como oxidação do piruvato, ciclo do ácido cítrico, degradação e síntese de aminoácidos (WANG *et al.*, 2011).

O ácido lipóico pode ser reduzido ao ácido dihidrolipóico (ADHL), que apresenta propriedades oxidantes bem mais potencializadas que o primeiro. O ADHL impede o início da peroxidação lipídica, promove a eliminação de radicais do ácido hipocloroso, da peroxila e hidroxilas como pode exercer efeitos sobre a superóxido. No entanto é ineficaz contra o oxigênio singlete e o peróxido de hidrogênio (COLEMAN; EASON; BAILEY, 2001). (FIGURA 5).

Figura 5 – Estrutura química do ácido lipóico e do ácido dihidrolipóico



1.2 ANÁLISE TÉRMICA APLICADA A FÁRMACOS E MEDICAMENTOS

Análise térmica consiste num grupo de técnicas onde uma propriedade física ou química de uma substância, ou de seus produtos de degradação, é monitorada em função do tempo ou temperatura (STORPITIS *et al.*, 2009).

1.2.1 Calorimetria Exploratória Diferencial

A calorimetria exploratória diferencial (DSC) é uma técnica pela qual se mede a diferença de energia fornecida a substância e a um material de referência, termicamente inerte em função da temperatura, enquanto a substância e a referência são submetidas a uma programação controlada de temperatura. Historicamente foram desenvolvidas duas técnicas de DSC: DSC com compensação de potencia e DSC com fluxo de calor (STORPITIS, *et al.*, 2009).

Os principais fatores que podem influenciar nas curvas de DSC podem ser divididos em duas categorias: Instrumentais e relacionado as características da amostra. Quanto aos fatores instrumentais temos a atmosfera do forno; tamanho e forma do forno; material do porta-amostra; geometria do porta-amostra; tamanho do fio e ponto de ligação da junção dos termopares; razão de aquecimento; localização do termopar em relação a amostra. Já correlato as características das amostras podemos citar o tamanho da partícula; a condutividade termica do material; capacidade de calor; quantidade da amostra; grau de cristalinidade (STORPITIS, et al., 2009).

1.2.2 Termogravimetria

A termogravimetria (TG) é uma técnica termoanalítica, indicada para um melhor entendimento da variação da propriedade física massa, enquanto uma determinada amostra é submetida a uma programação controlada de temperatura em função da temperatura e/ou tempo sob atmosfera especificada. A variação da massa pode esta relacionada a diversos fenômenos químicos tais como desidratação, sublimação, oxidação, combustão e decomposição (IONASHIRO, 2004; STORPITIS et al., 2009).

Os experimentos obtidos por meio desta técnica baseiam-se na avaliação das variações da massa da amostra requerida em função da temperatura, mediante o uso de uma termobalança, de modo a permitir que o trabalho desenvolva sob as mais variadas condições experimentais, tais como: atmosferas gasosas, massas de amostras, variáveis razões de aquecimento e/ou condições isotérmicas. Os dados do experimento são expressos por meio de gráficos denominados de curvas termogravimétricas, ou simplesmente curvas TG. Essas curvas fornecem informações acerca da estabilidade térmica da amostra, sua composição, e a estabilidade dos compostos intermediários e do produto final (STORPITIS et al., 2009).

Atualmente existem três modos da termogravimetria que são comumente utilizados (STORPITIS et al., 2009):

- TG isométrica: A massa da amostra é registrada em função do tempo a temperatura constante;
- TG quase isométrica: A massa da amostra é aquecida a uma razão linear enquanto não ocorre variação da massa;
- TG dinâmica ou convencional: A temperatura da amostra varia de maneira predeterminada, preferencialmente, a uma razão de aquecimento ou resfriamento linear;

Em decorrência da natureza dinâmica das curvas TG, as mesmas podem sofrer influências de diversos fatores instrumentais bem como aqueles relacionados a natureza da amostra. Dentre os fatores instrumentais temos a razão de aquecimento (β); atmosfera do forno, forma, tamanho e composição do cadinho. Em relação às características da amostra, podemos citar a massa da amostra, tamanho da partícula ou granulometria da amostra. As fontes de erros mais frequentes na TG são a impulsão da atmosfera, correntes de convecção e turbulência, medida de temperatura, flutuação de temperatura, condensação de produtos liberados (PEREIRA, et al., 2009).

Na área de fármacos e medicamentos, a TG vem sendo largamente utilizada, desde a década de 80, no desenvolvimento dos mais variados tipos de estudos para avaliar fenômenos físicos e químicos, desde que estes estejam relacionados à variação da massa em função da temperatura ou tempo (PEREIRA, et al., 2009).

1.3 CURVA DE PRESSÃO DE VAPOR POR TERMOGRAVIMETRIA

A termogravimetria (TG) é uma técnica termoanalítica, indicada para um melhor entendimento da variação da propriedade física massa, enquanto uma determinada amostra é submetida a uma programação controlada de temperatura em função da temperatura e/ou tempo sob atmosfera especificada. A variação da massa pode estar relacionada a diversos fenômenos químicos tais como desidratação, evaporação, sublimação, oxidação, combustão e decomposição (IONASHIRO, 2004; STORPITIS et al., 2009).

A evaporação é um processo de transição de fase através do qual uma substância sofre mudança na sua forma física, passando de forma líquida a vapor, sem, no entanto, alterar sua composição química. A pressão de vapor é definida como a pressão exercida por um vapor quando este está em equilíbrio com o líquido que lhe deu origem, sendo uma propriedade física que depende do valor da temperatura. Diversos métodos já foram utilizados para a determinação da pressão de vapor, como a determinação direta pelo manômetro, a medição da volatilização por infusão a vácuo e determinação do ponto de ebulição sob pressão controlada. Fatores tais como a pressão de vapor de uma substância, peso molecular, quantidade de área de superfície exposta, etc. podem alterar o perfil de evaporação. O fator primário que influencia o processo de evaporação, entretanto, são as condições de aumento da temperatura na qual a amostra é submetida. Os parâmetros de evaporação podem ser determinados pela razão de perda de massa quando uma substância sofre uma transição de fase de líquido para vapor, e isto pode ser alcançado com o programa de aumento da temperatura na análise termogravimétrica (PRICE, 2001; TATAVARTI; DOLLIMORE; ALEXANDER, 2002; LÄHDE, 2009).

A determinação da ordem para cinética de reação de evaporação é ordem zero. O processo para determinação da ordem de reação tem sido discutido na literatura previamente, e o método mais aplicado, para tanto, segue a equação de Arrhenius (SUCESKA, et al., 2010):

$$K_{vap} = Ae^{-E_{vap}/RT}$$

Onde, E_{vap} = energia de vaporização, A = fator pré-exponencial, R = constante universal dos gases, T = temperatura absoluta e k_{vap} = coeficiente de evaporação. Ainda, para o cálculo da pressão de vapor de substâncias, faz-se necessária a utilização de duas equações, que são de Antoine e de Langmuir (PRICE, 2001).

A equação de Antoine é uma excelente ferramenta empírica para determinação da pressão de vapor:

$$\log P = A - \frac{B}{T + C}$$

Onde, P = pressão de vapor, T = temperatura absoluta e A, B e C = constantes empíricas de Antoine, num intervalo de temperatura específico. Deve-se levar em consideração que tais constantes são empíricas, não devendo ser atribuído nenhum significado físico aos dados delas, e ainda, que as mesmas podem ser usadas para definir a pressão de vapor num intervalo de temperatura especificado (PRICE, 2001).

A equação de Langmuir, pode ser visualizada a seguir:

$$-\frac{dm}{dt} = P\alpha \sqrt{\frac{M}{2\pi RT}}$$

Onde, (dm/dt) = velocidade de perda de massa por unidade de área, P = pressão de vapor, α =constante de vaporização e M = massa molar do vapor de vaporização. Esta equação pode ser modificada de modo a calcular as pressões de vapor de diversos componentes simples de substâncias. As modificações formam a seguinte equação (LÄHDE, 2009):

$$P = \left[\alpha^{-1} (2\pi R)^{\frac{1}{2}} \right] \cdot \left[\left(\frac{T}{M} \right)^{\frac{1}{2}} \left(\frac{dm}{dt} \right) \right] = k \cdot v$$

Onde, $k = e \ v = \left(\frac{T}{M} \right)^{\frac{1}{2}} \left(\frac{dm}{dt} \right)$

O valor de k é considerado constante num determinado intervalo de temperatura, pois π e R são constantes. O valor de k é a constante que define o comportamento de vaporização, independente do material utilizado. Já ν não é constante, pois apresenta os valores de T que corresponde a um intervalo crescente de temperatura e M que corresponde à massa em mg a ser vaporizada no respectivo intervalo de temperatura, apesar de dm/dt definir a variação de perda de massa num intervalo específico que é considerado constante (PRICE, 2001).

1.4 APLICAÇÃO DA DETERMINAÇÃO DA CURVA DE PRESSÃO DE VAPOR NAS CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

A tendência de uma determinada substância entrar na fase de vapor por sublimação ou evaporação é definida como pressão de vapor. A pressão de vapor parte do princípio que processo de evaporação e sublimação obedecem à reação de ordem zero, sendo que a razão da perda de massa de um composto sob condições isotérmicas seja constante desde que a área de superfície não mude (PRICE, 2001).

A aplicação desta técnica nas ciências farmacêuticas vem sendo utilizada em estudos de pré-formulação e no controle de qualidade na tentativa de caracterizar as propriedades termodinâmicas de fármacos e medicamentos, neste caso, a cinética de ordem zero e ainda em estudos de estabilidade acelerada (TATAVARTI; DOLLIMORE; ALEXANDER, 2002).

O conhecimento da pressão de vapor é de fundamental importância para o uso correto de uma grande variedade de materiais, haja vista, que a atmosfera terrestre tende a acumular compostos tóxicos como pesticidas, sendo altamente indesejável para os indicadores de saúde pública, portanto faz-se necessário a utilização de compostos de baixa pressão de vapor (PRICE, 2001).

Phang e Dollimore (2001) aplicaram a técnica supracitada para a caracterização de antioxidantes utilizados em formulações cosméticas e em alimentos. O uso de antioxidantes nessas preparações retardam ou inibem processos oxidativos, e o seu uso aumentam a vida útil dos produtos. Assim, o conhecimento do fenômeno de vaporização destes compostos orgânicos merecem destaque.

Gomes et al. (2008) desenvolveram um método para a determinação quantitativa de comprimidos de cetoconazol por meio da determinação da pressão de vapor.

Esta técnica vem sendo aplicada em diversas outras áreas. Goodrum, Geller e Lee (1998) aplicaram a pressão de vapor para caracterização de um óleo biodiesel a base de uma mistura de ésteres de metila e triglicérides.

Diante do exposto o objetivo deste trabalho consiste na caracterização térmica do fármaco e cápsulas de ácido lipóico, bem como na determinação das curvas de pressão de vapor do ácido lipóico a partir dos dados de perda de massa por Termogravimetria (TG).

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 REAGENTES E MATERIAIS

O ácido lipóico matéria-prima, lote nº 090838; fabricado em 21/08/2009; com validade até 20/08/2012; origem da China foi obtido da DEG Importação de Produtos Químicos LTDA. As amostras de cápsulas contendo ácido lipóico 300mg com data fabricação de Julho/2011 foram adquiridas em farmácia magistral, utilizando a matéria-prima supracitada.

2.2 EQUIPAMENTOS

As curvas TG/DTG foram obtidas em um módulo termogravimétrico TG/DTA modelo Q600 (TA - Instruments). As curvas DSC foram obtidas em um módulo calorimétrico exploratório diferencial DSC modelo Q20 (TA - Instruments). Foi utilizado cadinho de alumina para a obtenção das curvas TG e de alumínio com tampa para as curvas DSC. As curvas foram analisadas pelo programa TA Instruments Universal Analysis 2000, versão 4.7A, da TA Instruments, a fim de caracterizar as etapas de decomposição e perda de massa das mesmas.

2.3 CALIBRAÇÃO

O DSC Q20 foi calibrado para a temperatura utilizando como padrões os pontos de fusão do índio (PF= 156,6 °C) e zinco metálico (PF= 419,5 °C) com pureza de 99,99 °C. A calibração para energia foi feita com base na entalpia de fusão do índio metálico ($\Delta H_{\text{Fusão}} = 28,54 \text{ Jg}^{-1}$).

A calibração do SDT TG/DTA Q600 foi calibrado na razão de aquecimento de 10 °C/min, com padrão de oxalato de cálcio.

2.4 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

Para a obtenção das curvas DSC as amostras foram submetidas a um programa de temperatura com razão de aquecimento de 10°C/min, na faixa de temperatura entre 30 e 400

°C, sob atmosfera dinâmica de nitrogênio (50 mL/min); massa de $2\pm 0,05$ mg, utilizando-se cadinhos de alumínio hermeticamente fechados.

Para a obtenção das curvas do TG, a massa das amostras foi de $5,00\pm 0,05$ mg, pesada em balança analítica, acondicionada em cadinhos de alumina com volume de 110 μ L e área de $0,34\text{cm}^2$ e outro cadinho equivalente foi utilizado como referência. A amostra foi acondicionada na base do cadinho de maneira uniforme. As corridas foram programadas da temperatura ambiente até 900°C, sob atmosfera dinâmica de nitrogênio (50 mL min^{-1}), utilizando as razões de aquecimento de 10, 20, 40, 60 e 80°C/min. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

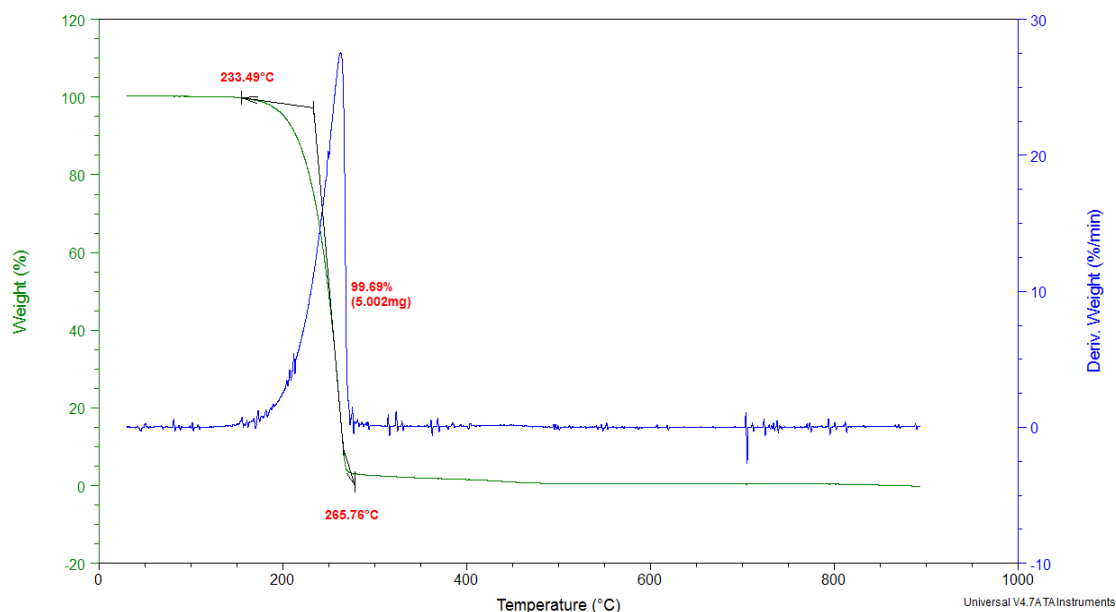
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 CARACTERIZAÇÃO TERMOANALÍTICA DO ÁCIDO LIPÓICO

O ácido lipóico foi caracterizado termicamente através de DSC e TG. A curva DSC do ácido lipóico demonstrou um evento endotérmico, na faixa de temperatura de 58,81 °C a 61,34 °C, com energia de $140,1 \text{ J}\cdot\text{g}^{-1}$, característico do processo de fusão do fármaco. A curva demonstra que o fármaco apresentou uma temperatura *endset* de fusão de 61,34 °C. O ponto de fusão encontrado na literatura para a matéria-prima ácido lipóico foi de 61°C (UNITED STATES PHARMACOPOEIA, 2009), e a faixa de fusão de 60-62°C (BRITISH PHARMACOPEIA, 2007), assim, os valores obtidos estão de acordo com o que preconiza a literatura (FIGURA 6).

O processo de decomposição teve início na temperatura de 256,53°C, sendo evidenciado por dois eventos endotérmicos, característica do processo de volatilização da amostra, que se inicia após a fusão da matéria prima. O evento endotérmico ocorreu na faixa de temperatura de 256,53°C e 261,97 °C.

A curva TG do ácido lipóico apresenta apenas uma etapa bem definida que ocorreu entre 233,48 e 265,76 °C com perda de massa (Δm) de 99,69%. Esta etapa refere-se à decomposição e à carbonização do material. A curva DTG, observa-se um pico exotérmico em 262°C, referente à decomposição do ácido lipóico, que corresponde à perda de massa observada pelas curvas TG.



Fonte: Dados da Pesquisa

3.2 CARACTERIZAÇÃO TERMOANALÍTICAS DAS CÁPSULAS DE ÁCIDO LIPÓICO

Tabela 1 – Tonset de fusão e ΔH de fusão do ácido lipóico e formulação

Amostras	T _{endset} (_{fusão}) °C	ΔH (_{fusão}) (J.g ⁻¹)
Matéria-Prima	61,30	141,40
Cápsulas	62,45	179,10

Fonte: Dados da Pesquisa

A T_{endset} de fusão da matéria-prima expressa o ponto referente à fusão do fármaco. Na USP NF30 consta que a faixa de fusão do ácido lipóico é de 60,0 a 62,0 °C. A curva DSC evidenciou que a fusão do fármaco na formulação ocorreu entre 61,30 e 62,45 °C, onde sugere que, a formulação manteve as características iniciais do ácido lipóico. Variações na faixa de fusão podem afetar a estabilidade do fármaco na formulação, comprometendo a qualidade e segurança do medicamento. Estas observações podem sugerir a ocorrência de modificações em relação cristalinidade, porém devem ser comprovadas com o auxílio de técnicas adicionais, a exemplo de difratometria de raios-X ou espectroscopia de absorção na região do infravermelho (STORPITIS *et al.*, 2009).

3.3 DETERMINAÇÃO DA CURVA DE PRESSÃO DE VAPOR DO ÁCIDO LIPÓICO

As curvas TG/DTG do ácido lipóico mostraram perda de massa entre 233°C a 265,79°C, que se referem à decomposição e a carbonização do material, como já descrito e discutido anteriormente.

Nas curvas DTA desta substância, observou-se um pico endotérmico em 267°C, referente à vaporização do ácido lipóico, que corresponde à perda de massa observada pelas curvas TG/DTG.

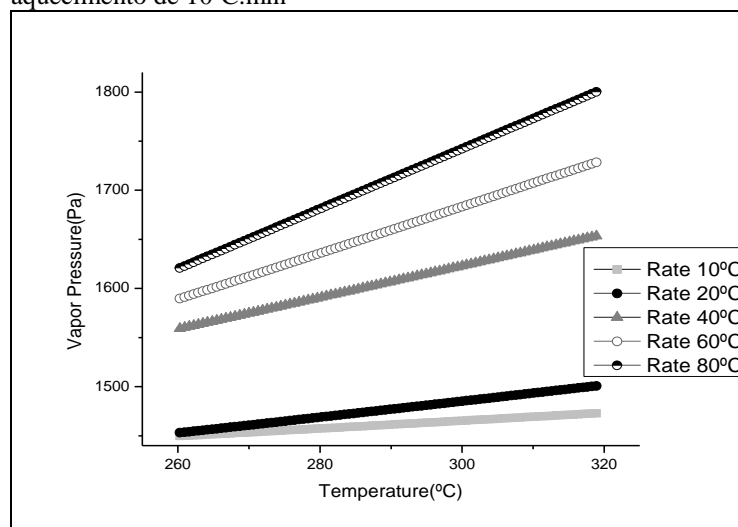
Quadro 01 - Dados obtidos a partir das equações de Antoine e Langmuir para ácido lipóico a uma razão de aquecimento de 10 ° C/min⁻¹.

massa(mg)	T(°C)	T(K)	dm/dt	T/M	k	v	P
4,73	203,96	476,96	0,01	2,31	125413,00	0,01	1449,62
4,73	204,05	477,05	0,01	2,31	125413,00	0,01	1449,89
4,73	204,13	477,13	0,01	2,31	125413,00	0,01	1450,13
4,73	204,21	477,21	0,01	2,31	125413,00	0,01	1450,38
4,73	204,29	477,29	0,01	2,31	125413,00	0,01	1450,62
4,72	204,38	477,38	0,01	2,31	125413,00	0,01	1450,89
4,72	204,46	477,46	0,01	2,31	125413,00	0,01	1451,14
4,72	204,54	477,54	0,01	2,31	125413,00	0,01	1451,38
4,72	204,63	477,63	0,01	2,31	125413,00	0,01	1451,65
4,72	204,71	477,71	0,01	2,32	125413,00	0,01	1451,90
4,71	204,79	477,79	0,01	2,32	125413,00	0,01	1452,14
4,71	204,88	477,88	0,01	2,32	125413,00	0,01	1452,41
4,71	204,96	477,96	0,01	2,32	125413,00	0,01	1452,66
4,71	205,05	478,05	0,01	2,32	125413,00	0,01	1452,93
4,71	205,13	478,13	0,01	2,32	125413,00	0,01	1453,17

Fonte: Dados da Pesquisa; T = Temperatura; dm/dt = razão da perda de massa por unidade de área; T/M = razão da temperatura absoluta por peso molecular do vapor; k = notação utilizada para representar $(2\pi R)^{1/2}/\alpha$; v = notação utilizada para representar $(dm/dt)(T/M)^{1/2}$; P = Pressão de Vapor.

As curvas de TG do ácido lipóico exibiram uma perda de massa única no intervalo de temperatura (de 200 a 260°C), a uma taxa de aquecimento de 10°C.min⁻¹. O ácido lipóico apresentou ordem de cinética zero para todas as razões de aquecimento (10, 20, 40, 60 e 80°C.min⁻¹). As curvas de pressão de vapor foram construídas a partir da equação de Langmuir, podendo ser observada na Figura 11.

Figura 6 - Curvas de pressão de vapor do ácido lipóico na razão de aquecimento de $10^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$



Fonte: Dados da Pesquisa

4 CONCLUSÃO

Diante do exposto, as técnicas termoanalíticas empregadas neste estudo forneceram parâmetros importantes quanto à caracterização do ácido lipóico e de sua respectiva formulação. As curvas de DSC não evidenciaram a ocorrência de interações entre o ácido lipóico e os componentes da formulação, bem como não foi evidenciado modificações quanto à cristalinidade do ácido lipóico. As curvas TG demonstraram apenas um evento endotérmico, caracterizando assim, a volatilização do fármaco.

Este estudo sugere ainda que o método termogravimétrico é eficaz e aplicável para a determinação dos coeficientes de vaporização a partir das equações de Antoine e Langmuir, bem como faz uso de pequenas quantidades de amostra e um curto tempo de análise.

ABSTRACT

Lipoic acid is a derivative of octanoic acid that acts as a cofactor essential in a mitochondrial multienzyme complex. Is used in the prevention and treatment of oxidative stress related chronic diseases such as diabetes and cardiovascular disease. The objective of this study is a thermal characterization of lipoic acid and its formulation of capsules and the determination of vapour pressure curves of material raw, using the thermal analysis: differential scanning calorimetry (DSC) and Termogravimetry (TG). The DSC curve of lipoic acid showed an endothermic peak temperature range from 58.75°C to 61.30°C ($\Delta H = 103.71 \text{ j.g}^{-1}$) confirming the identity of the sample. The TG curve showed only one event of weight loss that occurs between 233.48 and 265.76° C with weight loss of 99.69%. The results showed that there was no change of thermal stability of lipoic acid in the form of capsules. This study attempts to outline a comprehensive thermogravimetry technique for vapor pressure characterization of lipoic acid. An important step in the research and development of new medicines is the characterization of physicochemical properties of the drug. This process must be started from the active principle in question, so improving the quality parameters required final pharmaceutical form.

KEYWORDS: Differential Scanning Calorimetry. Thermogravimetry. Vapour Pressure Curves. Lipoic Acid.

REFERÊNCIAS

BARREIRO, EJ; FRAGA, CAM. A questão da inovação em fármacos no Brasil: proposta de criação do programa nacional de fármacos (Pronfar). **Quím. Nova**, São Paulo, 2011

BILLGREN, ES et al. Lipoic Acid Biosynthesis and Enzymology. In: **Comprehensive natural Products Chemistry**, vol 7, 2010

BRITISH PHARMACOPOEIA, London, 2009.

CARLSON, DA et al. The plasma pharmacokinetics of R-(+)-Lipoic Acid Administered as Sodium R-(+)-Lipoate to Healthy Human Subjects. **Alternative Medicine Review**. Vol. 12, nº 4, 2007

CHAVAN, SP et al. Enantioselective synthesis of R-(+)- α -lipoic acid and S-(+)- α -lipoic acid. **Tetrahedron Letters**. Vol. 45, 2004

CHATTERJEE, K et al. Estimation of vapor pressure curve by thermogravimetry: a rapid and convenient method for characterization of pharmaceuticals. **Eur J Pharm Biophar**. Vol 54, 2002

COLEMAN MD; EASON RC, BAILEY CJ. The therapeutic use of lipoic acid in diabetes a current perspective. **Environ Toxicol & Pharmacol**, vol. 10, 2001

FINAUD, J; LAC, FILAIRE; F, E. Oxidative Stress: Relationship with exercise training. **Sports Med**, vol. 35, nº, 4, 2006

FLORA, SJS; MITTAL, M; MEHTA, A. Heavy metal induced oxidative stress & its possible reversal by chelation therapy. **Indian J Med Res**, vol. 128, 2008

GOMES, APB et al. Development of thermogravimetric method for quantitative determination of ketoconazole. **J. Therm. Anal. Cal.**, Vol 91, 2008

GOODRUM, JW.; GELLER, DP; LEE, AS. Rapid measurement of boiling points and vapor pressure of binary mixtures of short-chain triglycerides by TGA method. **Therm. Acta**. Vol, 311, 1998.

IONASHIRO, M. **Giolito**: Fundamentos da termogravimetria, Análise Térmica Diferencial, Calorimetria Exploratória Diferencial. Rio de Janeiro: GIZ Editorial, 2004

KULKAMP, IC et al. Estabilização do ácido lipoico via encapsulação em nanocápsulas poliméricas planejadas para aplicação cutânea. **Quím. Nova**, São Paulo, v. 32, n. 8, 2009

LÄHDE, A et al. Sublimation and vapour pressure estimation of L-Leucine using thermogravimetric analysis. **Thermochemica Acta**, vol 482, 2009

MANTA, C; BATISTA-VIEIRA, F; CARLSSON, J. Development of lipoic acid activated agarose. **Chemistry Biochemistry and Molecular Biology**, vol. 1, nº 1, 2009

MAXIMIANO, FP et al. Caracterização físico-química do fármaco antichagásico benznidazol. **Quím. Nova**, São Paulo, v. 33, n. 8, 2010

PACKER, L; KRAEMER, K; RIMBACH, G. Molecular aspects of lipoic acid in the prevention of diabetes complications. **Nutrition**. Vol. 17, 2001

_____ ; CADENAS, E. Lipoic acid: energy metabolism and redox regulation of transcription and cell signaling. **J Clin Biochem Nutr.** Vol. 48, n. 1, 2011

PEREIRA, DG. Importância do metabolismo no planejamento de fármacos. **Quím. Nova**, São Paulo, v. 30, n. 1, Feb. 2007

PHANG, P; DOLLIMORE, D. The calculation of the vapor pressures of antioxidants over a range of temperatures using thermogravimetry. **Thermochim. Acta**. Vol 367-368, 2001

PRICE, DM. Vapor Pressure determination by thermogravimetry. **Thermochimica Acta**. 2001

TATAVARTI, AS; DOLLIMORE, D; ALEXANDER, KS. A Thermogravimetric Analysis of Non-polymeric Pharmaceutical Plasticizers: Kinetic Analysis, Method Validation, and Thermal Stability Evaluation. **AAPS PharmSci**, vol. 4, n° 4, 2002

SHAY, KP et al. Alpha Lipoic acid as dietary supplement: Molecular mechanisms and therapeutic potential. **Biochimica et Biophysica Acta**. Vol. 1790, 2009

SPALDING, MD; PRIGGE, ST. Lipoic Acid Metabolism in Microbial Pathogens. **Microbiol Mol Biol Rev**. Vol. 74, n° 2, 200-228, 2010

STORPITIS, S et al. **Biofarmacotécnica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2009

SUCESKA, M. et al., Kinetics and enthalpy of nitroglycerine vaporation from double base propellants by isothermal thermogravimetry, **Thermochim.Acta**, 2010

THE UNITED STATES PHARMACOPOEIA and the National Formulary, US Pharmacopoeial Convention, Rockville, MD, 2007

WANG, M et al. Activity assay of Lipoamidase, an expected modulator of metabolic fate of externally administered lipoic acid. **Inflammation and Regeneration**. Vol. 31, n° 1, 2011