

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
MESTRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

Fabrini Luiz Alves Almeida

**OBTENÇÃO DE DISPERSÕES SÓLIDAS CONTENDO QUERCETINA: ANÁLISES
POR TÉCNICAS ESPECTROSCÓPICAS DE DIFRAÇÃO DE RAIOS X,
INFRAVERMELHO, RAMAN E RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE
SÓLIDOS**

**Juiz de Fora
2015**

Fabrini Luiz Alves Almeida

**OBTENÇÃO DE DISPERSÕES SÓLIDAS CONTENDO QUERCETINA: ANÁLISES
POR TÉCNICAS ESPECTROSCÓPICAS DE DIFRAÇÃO DE RAIOS X,
INFRAVERMELHO, RAMAN E RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE
SÓLIDOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Juiz de Fora com requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas. Área de concentração: Produtos Naturais Bioativos

Orientador: Prof. Dr. Orlando Vieira de Sousa

Coorientador: Prof. Dr. Guilherme Diniz Tavares

Juiz de Fora

2015

Ficha catalográfica elaborada através do programa de geração automática da Biblioteca Universitária da UFJF, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Alves Almeida, Fabrini Luiz.

Obtenção de dispersões sólidas contendo quercetina: análises por técnicas espectroscópicas de difração de raios x, infravermelho, raman e ressonância magnética nuclear de sólidos / Fabrini Luiz Alves Almeida. – 2015.

134 f. : il.

Orientador: Orlando Vieira de Sousa

Coorientador: Guilherme Diniz Tavares

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Faculdade de Farmácia e Bioquímica. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, 2015.

1. Quercetina. 2. Preparações Farmacêuticas. 3. Espectroscopia. 4. Difração de Raio X. 5. Solubilidade. I. Sousa, Orlando Vieira de, orient. II. Tavares, Guilherme Diniz, coorient. III. Título.

Obtenção de dispersões sólidas contendo quercetina: análises por técnicas espectroscópicas de difração de raios-x, infravermelho, raman e ressonância magnética nuclear de sólidos

Fabrini Luiz Alves Almeida

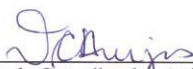
Orlando Vieira de Sousa

Dissertação de Mestrado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, da Universidade Federal de Juiz de Fora - UFJF, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Aprovada em 28/07/2015



Rômulo Augusto de Abreu Franchini
(Universidade Federal Fluminense – UFF)



Virgílio de Carvalho dos Anjos
(Universidade Federal de Juiz de Fora – UFJF)



Orlando Vieira de Sousa
(Universidade Federal de Juiz de Fora – UFJF)

Dedicatória

Dedico a minha noiva Karla por estar sempre ao meu lado
e aos meus pais por sempre me apoiarem.

AGRADECIMENTOS

À Deus, acima de tudo, por ter me dado força e paciência para que eu pudesse trilhar toda esta trajetória sem desistir. Por se fazer presente na minha vida, através de minhas conquistas e das pessoas que me cercam.

Ao meu orientador, Orlando Vieira de Sousa, pela oportunidade dada no meu ingresso ao programa de pós-graduação, ao tempo dedicado em me orientar e revisar todo o trabalho, por suas sugestões, conselhos, por acreditar que eu poderia ir além dos meus conhecimentos e pelo apoio para que eu pudesse superar este desafio. Muito obrigado!

Ao meu co-orientador, Guilherme Diniz Tavares, pela ajuda dedicada neste trabalho, revisando e me direcionando durante todo o meu trajeto. Por suas revisões, sugestões e apoio. Muito Obrigado!

Aos meus pais, Luiz Alberto e Leina Alves, por todo esforço que fizeram para me colocar na vida acadêmica, me apoiando em todas as minhas decisões e pelos ensinamentos de vida. Se hoje eu sou o que sou, todos os méritos são deles! E ao meu irmão, Luiz Filipe, que nos momentos de minha ausência dedicados ao estudo, sempre fez entender que o futuro é feito a partir da constante dedicação no presente!

Em especial a minha noiva Karla Caroline Cipriani que me acompanhou ao longo desta jornada, e tem sido a melhor companheira e parceira. Me apoiou em todas as decisões mesmo que várias as vezes saísse prejudicada, me incentivou a sempre ir em frente, fez várias revisões do meu trabalho e manteve serenidade, compreensão durante toda trajetória e principalmente nos momentos difíceis, agradeço muito por sempre estar ao meu lado. Te amo!

Aos meus sogros, José Afonso e Beatriz, pelo apoio em todos os momentos que precisei: caronas, folgas, almoços, além do apoio moral e pelo carinho em que me acolheram.

Aos amigos do mestrado, Elisa Lanna, Milene Minateli e Rafael Pimentel, que compartilharam experiências, viagens, conhecimentos e ideias. Que a nossa amizade transcenda o mestrado.

Aos colaboradores, Renata Diniz, Gustavo Senra, Virgílio Anjos e Leonarde Nascimento, por me ajudarem, cada um em sua área de trabalho, na elaboração dos resultados deste trabalho, bem como na revisão dos dados. Sem o apoio e conhecimento de vocês, tudo se tornaria impossível.

Aos técnicos administrativos em educação do Laboratório de Farmacologia de Produtos Naturais, Jésus de Paula Sarmento e Éder Luis Tostes, por toda ajuda na realização de tarefas fundamentais.

À coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Juiz de Fora, representado pela Dra. Maria Silvana Alves, pela disponibilidade dedicada ao programa e pelo apoio em nossa trajetória.

À Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela disponibilização das bolsas de estudo durante todo o curso.

E, por fim, a todos que contribuíram direta ou indiretamente para a construção deste trabalho.

RESUMO

Quercetina (QUER) é um bioflavonoide polifenólico ao qual são creditados diversas ações farmacológicas, destacando os efeitos antioxidante, hepatoprotetor e anti-inflamatório. No entanto, sua baixa solubilidade em água é um fator limitante para o desenvolvimento de formas farmacêuticas, sobretudo as destinadas à administração oral. Desta forma, para melhorar suas limitações biofarmacêuticas, o objetivo deste estudo foi incorporar a quercetina em sistemas de dispersões sólidas. Dispersões sólidas (DS) foram preparadas pelo método de evaporação do solvente utilizando-se os carreadores, hidroxipropilmetilcelulose (HPMC), polietilenoglicol 4000 e Pluronic® F127 em proporções de 1:1, 1:2 e 1:4 e a misturas de solventes água:álcool e acetona:álcool nas proporções (1:4) em 250 ml. As DS foram analisadas por técnicas espectroscópicas de difração de raios-X, Infravermelho, Raman e Ressonância Magnética Nuclear. Considerando as técnicas empregadas, a dispersão QUER:HPMC (1:4) obtida com acetona/álcool (1:4) produziu características de estado amorfo que foi revelada através dos difratogramas e espectros. Portanto, a dispersão QUER:HPMC (1:4) pode ser uma importante preparação para formulações sólidas de uso oral, permitindo uma melhor solubilidade da quercetina em meios biológicos e, conseqüentemente, um incremento de sua biodisponibilidade.

Palavras-chave: Quercetina, Preparações Farmacêuticas, Espectroscopia, Difração de Raio X, Solubilidade.

ABSTRACT

Quercetin (QUER) is a polyphenolic flavonoid, which are credited several pharmacological actions, highlighting the antioxidant, hepatoprotective and anti-inflammatory effects. However, the low solubility in water is a limiting factor for the development of pharmaceutical preparation, particularly those of oral use. Thus, to improve their biopharmaceuticals limitations, the aim of this study was to incorporate quercetin in solid dispersions systems. Solid dispersions (DS) were prepared by the solvent evaporation method using the carriers, hydroxypropylmethylcellulose (HPMC), polyethylene glycol 4000 and Pluronic F127 in proportions of 1:1, 1:2 and 1:4 using two conditions for solubilization (water:alcohol and acetone:alcohol 1:4). The DS were analyzed by the X-ray Infrared, Raman, Nuclear Magnetic Resonance spectroscopy techniques. Considering the employed techniques, the dispersion containing QUER:HPMC (1: 4), from acetone/ethanol, yielded an amorphous state that was observed by the changes in the intensities of the spectra and diffractograms. Therefore, the dispersion containing QUER:HPMC (1:4) may be an important preparation for oral solid formulations, allowing a better solubility of quercetin in biological media and hence an increase of their bioavailability.

Palavras-chave: Quercetin, Pharmaceutical Preparations, Spectrum Analysis, X-Ray Diffraction, Solubility.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Estrutura básica dos flavonoides	3
Figura 2 -	Via biossintética dos flavonoides	4
Figura 3 -	Estrutura química da quercetina	7
Figura 4 -	Estrutura química da quercetina 4'- β -D-glucosídeo.....	8
Figura 5 -	Quercetina (a) e seus principais metabólitos. (b) 4'-O-metil-quercetina, (c) 3'-O-metil-quercetina, (d) quercetina glicorunizada, (e) quercetina-O-quinona e (f) 2'-glutathionil-quercetina.....	12
Figura 6 -	Representação de dispersão sólida amorfa de fármaco e polímero.....	14
Figura 7 -	Representação esquemática do aumento da biodisponibilidade e de fármacos pouco hidrossolúveis através de DS	15
Figura 8 -	Representação da estrutura monomérica do polivinilpirrolidona e a formação da ligação entre fármaco (M) e o polímero	18
Figura 9 -	Estrutura química da hidroxipropilmetilcelulose	20
Figura 10 -	Fórmula estrutural do PEG	21
Figura 11 -	Representação esquemática geral da fórmula estrutural do polaxâmero, sendo (a) composição do bloco hidrofílico PEO e (b) composição do bloco hidrofóbico (PPO)	22
Figura 12 -	Micelas com um fármaco solubilizado	23
Figura 13 -	Difração de raios X por um cristal.....	29
Figura 14 -	Difratogramas de raios-X de um fármaco nos estados cristalino e amorfo.....	30
Figura 15 -	Representação esquemática do espectro eletromagnético.....	32
Figura 16 -	Classificação das vibrações moleculares na espectroscopia de infravermelho.....	33
Figura 17 -	Esquema descrevendo os princípios básicos da absorção no infravermelho e o espalhamento Raman.....	36
Figura 18 -	Espectro de Raman para o poliuretano de ureia.....	37
Figura 19 -	Orientação dos prótons antes e após aplicação do campo	41

	magnético.....	
Figura 20 -	Sistema de rotoevaporação para obtenção das dispersões sólidas.....	45
Figura 21 -	Difratômetro de Raios-X modelo Bruker D8 Advance DaVinci.	47
Figura 22 -	Etapas do procedimento para produção das pastilhas dos carreadores em KBr.....	48
Figura 23 -	Etapas para obtenção do espectro de infravermelho.....	48
Figura 24 -	Plataforma para obtenção dos espectros de Raman.....	49
Figura 25 -	Espectrômetro Bruker Avande III HD 300.....	50
Figura 26 -	Difratogramas da quercetina, PEG 4000, mistura física quercetina/PEG 4000 e dispersão sólida de Quercetina/PEG 4000 (1:1) obtida em água/álcool (1:4).....	52
Figura 27 -	Difratogramas da quercetina, PEG 4000, mistura física quercetina/PEG 4000 e dispersão sólida de quercetina/PEG 4000 (1:2) obtida em água/álcool (1:4).....	53
Figura 28 -	Difratograma da quercetina, PEG 4000, mistura física quercetina/PEG 4000 e dispersão sólida de quercetina/PEG 4000 (1:4) obtida em água/álcool (1:4).....	54
Figura 29 -	Difratogramas da quercetina, PEG 4000, mistura física quercetina/PEG 4000 e dispersão sólida de quercetina/PEG 4000 (1:1) obtida em acetona/álcool (1:4).....	54
Figura 30 -	Difratogramas da quercetina, PEG 4000, mistura física quercetina/PEG 4000 e dispersão sólida de quercetina/PEG 4000 (1:2) obtida em acetona/álcool (1:4).....	55
Figura 31 -	Difratogramas da quercetina, PEG 4000, mistura física quercetina/PEG 4000 e dispersão sólida de quercetina/PEG 4000 (1:4) obtida em acetona/álcool (1:4).....	56
Figura 32 -	Difratogramas da quercetina, HPMC, mistura física quercetina/HPMC e dispersão sólida de quercetina/HPMC (1:1) obtida em água/álcool (1:4).....	57
Figura 33 -	Difratogramas da quercetina, HPMC, mistura física quercetina/HPMC e dispersão sólida de quercetina/HPMC (1:2) obtida em água/álcool (1:4).....	57

Figura 34 -	Difratogramas da quercetina, HPMC, mistura física quercetina/HPMC e dispersão sólida de quercetina/HPMC (1:4) obtida em água/álcool (1:4).....	58
Figura 35 -	Difratogramas da quercetina, HPMC, mistura física quercetina/HPMC e dispersão sólida de quercetina/HPMC (1:1) obtida em acetona/álcool (1:4).....	59
Figura 36 -	Difratogramas da quercetina, HPMC, mistura física quercetina/HPMC e dispersão sólida de quercetina/HPMC (1:2) obtida em acetona/álcool (1:4).....	60
Figura 37 -	Difratogramas da quercetina, HPMC, mistura física quercetina/HPMC e dispersão sólida de quercetina/HPMC (1:4) obtida em acetona/álcool (1:4).....	60
Figura 38 -	Difratogramas da quercetina, pluronic® F127, mistura física quercetina/pluronic® F127 e dispersão sólida de quercetina/pluronic® F127 (1:1) obtida em água/álcool (1:4).....	61
Figura 39 -	Difratogramas da quercetina, pluronic® F127, mistura física quercetina/pluronic® F127 e dispersão sólida de quercetina/pluronic® F127 (1:2) obtida em água/álcool (1:4).....	62
Figura 40 -	Difratogramas da quercetina, pluronic® F127, mistura física quercetina/pluronic® F127 e dispersão sólida de quercetina/pluronic® F127 (1:4) obtida em água/álcool (1:4).....	63
Figura 41 -	Difratogramas da quercetina, pluronic® F127, mistura física quercetina/pluronic® F127 e dispersão sólida de quercetina/pluronic® F127 (1:1) obtida em acetona/álcool (1:4).....	63
Figura 42 -	Difratogramas da quercetina, pluronic® F127, mistura física quercetina/pluronic® F127 e dispersão sólida de quercetina/pluronic® F127 (1:2) obtida em acetona/álcool (1:4).....	64
Figura 43 -	Difratogramas da quercetina, pluronic® F127, mistura física	65

	quercetina/pluronic® F127 e dispersão sólida de quercetina/pluronic® F127 (1:4) obtida em acetona/álcool (1:4).....	
Figura 44 -	Espectros de IV da quercetina (A), PEG 4000 (B), mistura física quercetina/PEG 4000 (C) e dispersão sólida de quercetina/PEG 4000 (1:1) obtida em água/álcool (1:4) (D).....	69
Figura 45 -	Espectros de IV da quercetina (A), PEG 4000 (B), mistura física quercetina/PEG 4000 (C) e dispersão sólida de quercetina/PEG 4000 (1:2) obtida em água/álcool (1:4) (D)	70
Figura 46 -	Espectros de IV da quercetina (A), PEG 4000 (B), mistura física quercetina/PEG 4000 (C) e dispersão sólida de quercetina/PEG 4000 (1:4) obtida em água/álcool (1:4) (D)	70
Figura 47 -	Espectros de IV da quercetina (A), PEG 4000 (B), mistura física quercetina/PEG 4000 (C) e dispersão sólida de quercetina/PEG 4000 (1:1) obtida em acetona/álcool (1:4) (D)	71
Figura 48 -	Espectros de IV da quercetina (A), PEG 4000 (B), mistura física quercetina/PEG 4000 (C) e dispersão sólida de quercetina/PEG 4000 (1:2) obtida em acetona/álcool (1:4) (D)	72
Figura 49 -	Espectros de IV da quercetina (A), PEG 4000 (B), mistura física quercetina/PEG 4000 (C) e dispersão sólida de quercetina/PEG 4000 (1:4) obtida em acetona/álcool (1:4) (D)	72
Figura 50 -	Espectros de IV da quercetina (A), HPMC (B), mistura física quercetina/HPMC (C) e dispersão sólida de quercetina/HPMC (1:1) obtida em água/álcool (1:4) (D)	74
Figura 51 -	Espectros de IV da quercetina (A), HPMC (B), mistura física quercetina/HPMC (C) e dispersão sólida de quercetina/HPMC (1:2) obtida em água/álcool (1:4) (D)	75
Figura 52 -	Espectros de IV da quercetina (A), HPMC (B), mistura física quercetina/HPMC (C) e dispersão sólida de quercetina/HPMC (1:4) obtida em água/álcool (1:4) (D)	76
Figura 53 -	Espectros de IV da quercetina (A), HPMC (B), mistura física quercetina/HPMC (C) e dispersão sólida de quercetina/HPMC (1:1) obtida em acetona/álcool (1:4) (D)	76

- Figura 54 - Espectros de IV da quercetina (A), HPMC (B), mistura física quercetina/HPMC (C) e dispersão sólida de quercetina/HPMC (1:2) obtida em acetona/álcool (1:4) (D) 77
- Figura 55 - Espectros de IV da quercetina (A), HPMC (B), mistura física quercetina/HPMC (C) e dispersão sólida de quercetina/HPMC (1:4) obtida em acetona/álcool (1:4) (D) 78
- Figura 56 - Espectros de IV da quercetina (A), Pluronic F127® (B), mistura física quercetina/Pluronic® F127 (C) e dispersão sólida de quercetina/Pluronic® F127 (1:1) obtida em água/álcool (1:4) (D)..... 80
- Figura 57 - Espectros de IV da quercetina (A), Pluronic® F127 (B), mistura física quercetina/Pluronic® F127 (C) e dispersão sólida de quercetina/Pluronic® F127 (1:2) obtida em água/álcool (1:4) (D)..... 80
- Figura 58 - Espectros de IV da quercetina (A), Pluronic F127 (B), mistura física quercetina/Pluronic F127 (C) e dispersão sólida de quercetina/Pluronic F127 (1:4) obtida em água/álcool (1:4) (D)..... 81
- Figura 59 - Espectros de IV da quercetina (A), Pluronic® F127 (B), mistura física quercetina/Pluronic® F127 (C) e dispersão sólida de quercetina/Pluronic® F127 (1:1) obtida em acetona/álcool (1:4) (D)..... 82
- Figura 60 - Espectros de IV da quercetina (A), Pluronic® F127 (B), mistura física quercetina/Pluronic® F127 (C) e dispersão sólida de quercetina/Pluronic® F127 (1:2) obtida em acetona/álcool (1:4) (D)..... 82
- Figura 61 - Espectros de IV da quercetina (A), Pluronic® F127 (B), mistura física quercetina/Pluronic® F127 (C) e dispersão sólida de quercetina/Pluronic® F127 (1:4) obtida em 83

	acetona/álcool (1:4) (D).....	
Figura 62 -	Espectros de Raman da quercetina, PEG 4000, mistura física quercetina/PEG 4000 e dispersões sólidas de quercetina/PEG 4000 nas proporções de 1:1, 1:2 e 1:4 obtidas em acetona/álcool (1:4) e água/álcool (1:4).....	86
Figura 63 -	Espectros de Raman da quercetina, HPMC, mistura física quercetina/HPMC e dispersões sólidas de quercetina/HPMC nas proporções de 1:1, 1:2 e 1:4 obtidas em acetona/álcool (1:4) e água/álcool (1:4).....	88
Figura 64 -	Espectros de Raman da quercetina, Pluronic® F127, mistura física quercetina/Pluronic® F127 e dispersões sólidas de quercetina/Pluronic® F127 nas proporções de 1:1, 1:2 e 1:4 obtidas em acetona/álcool (1:4) e água/álcool (1:4).....	90
Figura 65 -	Espectro de RMN de ^{13}C no estado sólido da amostra de Quercetina Padrão	94
Figura 66 -	Espectro de RMN de ^{13}C no estado sólido da amostra de HPMC Puro	94
Figura 67 -	Espectro de RMN de ^{13}C no estado sólido da amostra de quercetina/HPMC (1:4) obtida em acetona/álcool (1:4)	95

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Principais representantes da classe dos flavonoides	5
Tabela 2 -	Informações sobre os principais polímeros utilizados como carreadores na preparação de dispersões sólidas.....	19
Tabela 3 -	Absorções características de alguns grupos funcionais mais comuns.....	35
Tabela 4 -	Formulações contendo quercetina com carreador PEG4000 em suas proporções, preparada na mistura de solvente água/álcool (1:4) para 250 mL.....	45
Tabela 5 -	Formulações contendo quercetina com carreador PEG4000 em suas proporções, preparada na mistura de solvente acetona/álcool (1:4) para 250 mL.....	45
Tabela 6 -	Formulações contendo quercetina com carreador HPMC em suas proporções, preparada na mistura de solvente água/álcool (1:4) para 250 mL.....	46
Tabela 7 -	Formulações contendo quercetina com carreador HPMC em suas proporções, preparada na mistura de solvente acetona/álcool (1:4) para 250 mL.....	46
Tabela 8 -	Formulações contendo quercetina com carreador Pluronic® F127 em suas proporções, preparada na mistura de solvente água/álcool (1:4) para 250 mL.....	46
Tabela 9 -	Formulações contendo quercetina com carreador Pluronic® F127 em suas proporções, preparada na mistura de solvente acetona/álcool (1:4) para 250 mL.....	46
Tabela 10 -	Ângulo de espalhamento de raios X (2θ) dos principais picos de da quercetina.....	51
Tabela 11 -	Números de onda e atribuições vibracionais da quercetina e PEG 4000 obtidos das análises dos espectros de infravermelho e literatura.....	68
Tabela 12 -	Números de onda e atribuições vibracionais da quercetina e HPMC obtidos das análises dos espectros de infravermelho e literatura.....	72

Tabela 13 -	Números de onda e atribuições vibracionais da quercetina e Pluronic® F17 obtidos dos espectros de infravermelho e literatura.....	79
Tabela 14 -	Números de onda da quercetina e PEG 4000 obtidos dos espectros de Raman e literatura.....	85
Tabela 15 -	Números de onda e atribuições vibracionais da quercetina e HPMC obtidos dos espectros de Raman e literatura.....	87
Tabela 16 -	Números de onda e atribuições vibracionais da quercetina e Pluronic® F127 obtidos dos espectros de Raman e literatura.....	89

LISTA DE ABREVIATURAS

DRX	Difração de Raios-X
Ds	Entropia
DS	Dispersão Sólida
EHL	Equilíbrio Hidrófilo-Lipofílico
HPMC	Hidroxipropilmetilcelulose
IV	Infravermelho
MAP quinases	Proteína Quinase Ativada por Mitógeno
NF - κ B	Fator Nuclear <i>Kappa B</i>
PEG	Polietilenoglicol
PEO	Poli Óxido de Etileno
PF	Ponto de Fusão
PLU	Pluronic® F127
PM	Peso Molecular
PPO	Polióxido de propileno
PVA	Polivinilálcool
PVP	Polivinilpirrolidona
QUE	Quercetina
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
TF	Temperatura de Fusão
Tg	Temperatura de Transição Vítrea
ΔG	Energia Livre

SUMÁRIO

	P	
1	INTRODUÇÃO.....	1
2	REVISÃO DA LITERATURA.....	3
2.1	FLAVONOIDES	3
2.2	QUERCETINA	7
2.2.1	Características químicas e físico-químicas	7
2.2.2	Propriedades farmacológicas	9
2.2.3	Propriedades farmacocinéticas	11
2.3	DISPERSÕES SÓLIDAS	13
2.3.1	Métodos de preparação das dispersões sólidas	16
2.3.2	Carreadores empregados para a preparação de dispersão sólidas	17
2.3.2.1	Hidroxipropilmetilcelulose	19
2.3.2.2	Polietilenoglicol 4000	21
2.3.2.3	Pluronic®	F127
	22
2.3.3	Estabilidade de dispersões sólidas	25
2.4	MÉTODOS PARA CARACTERIZAÇÃO DE DISPERSÕES SÓLIDAS.....	27
2.4.1	Difração de raios-X.....	28
2.4.2	Espectroscopia no Infravermelho.....	31
2.4.3	Espectroscopia de Raman.....	35
2.4.4	Ressonância magnética nuclear.....	39
3	OBJETIVOS.....	43

3.1	OBJETIVO GERAL	43
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	43
4	MATERIAIS E MÉTODOS	44
4.1	MATÉRIAS-PRIMAS E REAGENTES	44
4.2	EQUIPAMENTOS	44
4.3	OBTENÇÃO DAS DISPERSÕES SÓLIDAS E DAS MISTURAS FÍSICAS	44
4.4	ANÁLISE POR DIFRATÔMETRO DE RAIOS-X	47
4.5	ANÁLISE POR ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO POR TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR).....	47
4.6	ANÁLISE POR ESPECTROSCOPIA DE RAMAN.....	49
4.7	ANÁLISE POR ESPECTROSCOPIA DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE SÓLIDOS.....	50
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	51
5.1	ANÁLISE POR DIFRAÇÃO DE RAIOS- X	51
5.2	ANÁLISE POR ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO.....	66
5.3	ANÁLISE POR ESPECTROSCOPIA DE RAMAN.....	84
5.4	ANÁLISE POR ESPECTROSCOPIA DE RMN.....	93
6	CONCLUSÃO	96
	REFERÊNCIAS.....	97

1 INTRODUÇÃO

Os flavonoides são uma classe de produtos naturais do metabolismo especial que se destacam por sua diversidade química e pelo seu amplo espectro de propriedades farmacológicas (SANDHAR et al., 2011; AGRAWAL, 2011). A ação antioxidante dessas substâncias, por exemplo, tem chamado a atenção de muitos pesquisadores, pois a geração de radicais livres no organismo está associada a diferentes patologias e distúrbios, tais como, doenças cardiovasculares, diversos tipos de cânceres, doenças neurodegenerativas, entre outras (PHAM-HUY; HE; PHAM-HUY, 2008; KUMAR; PANDEY, 2013). Além das propriedades antioxidantes e nutricionais (TAPAS; SAKARKAR; KAKDE, 2008), os flavonoides apresentam uma gama de mecanismos bioquímicos e farmacológicos, produzindo diferentes efeitos, tais como vasodilatadores, anti-inflamatórios, antialérgicos, antiateroscleróticos, antitrombóticos, antiosteoporóticos, antibacterianos, antifúngicos, antivirais e estimulantes do sistema imunológico (AGRAWAL, 2011; KUMAR; PANDEY, 2013; SANDHAR et al., 2011; TAPAS; SAKARKAR; KAKDE, 2008).

A quercetina, é um bioflavonoide ao qual são creditadas diversas ações farmacológicas, podendo ser vista tanto como um fitofármaco, quanto como um marcador farmacológico e/ou tecnológico no desenvolvimento de produtos farmacêuticos, especialmente de medicamento fitoterápicos (COSTA, 2005). Essa substância é o flavonoide polifenólico mais abundante na subclasse dos flavonóis e apresenta, ainda, a propriedade de formar quelatos sendo, portanto, um potente agente antioxidante no combate de espécies reativas de oxigênio. Além disso, esta substância tem sido extensivamente estudada quanto aos seus efeitos farmacológicos, como hepatoprotetor, anti-inflamatório, antitumoral e antiasmático (INAL; KAHRAMAN, 2000; LEE et al., 2003; COMALADA et al., 2005; ROGÉRIO et al., 2009).

Quimicamente, a quercetina é uma aglicona da rutina e de outros glicosídeos (HAVSTEEN, 2002). É praticamente insolúvel em água, sendo mais solúvel em etanol a frio, e a quente, ácido acético glacial e em soluções alcalinas (BUDAVARI, 1996). Assim como outros flavonoides, apresenta sensibilidade à luz (WILLIAMS, 2000) e sua estabilidade em solução torna-se comprometida em valores de pH acima de 7, condição na qual as reações de oxidação e hidrólise tornam-se favorecidas (GOMATHI et al., 2003). Considerando ainda a solubilidade da

quercetina, torna-se imprescindível a utilização de técnicas que aumentem essa propriedade, uma vez que a solubilidade aquosa de um fármaco constitui requisito prévio à absorção e obtenção de resposta clínica para a maioria dos medicamentos administrados por via oral (RAMA et al., 2006). Nesse sentido, diferentes abordagens podem ser utilizadas para melhorar a biodisponibilidade oral de substâncias pouco solúveis. Estas compreendem a formação de complexos de inclusão, desenvolvimento de nanopartículas, pró-drogas, formação de micelas/emulsões, utilização de co-solventes, sais, co-cristais e sólidos amorfos de fármacos. Dentre essas, a utilização de sólidos amorfos têm apresentado, nos últimos anos, um elevado nível de interesse e, dessa forma, investigações sobre a utilização de tal estratégia têm sido amplamente relatados (CHIANG et al., 2013).

Ao contrário do material cristalino, o sólido amorfo é caracterizado como um arranjo molecular que carece de ordem de longo alcance. Por conseguinte, a entropia (D_s) e a energia livre (ΔG) de um sólido amorfo são mais elevadas do que a sua forma cristalina. Esta é a diferença de energia que muitas vezes leva a uma maior solubilidade e dissolução mais rápida para a forma amorfa de uma substância em comparação com a sua forma cristalina. No entanto, a energia livre mais elevada da forma amorfa requer estabilização, a fim de evitar a recristalização. Dessa forma, a atual estratégia para estabilizar um sólido amorfo é criar um sistema de dispersão sólida do fármaco. Várias matrizes poliméricas têm sido relatadas para estabilizar sólidos amorfos em sistemas poliméricos de dispersão sólida, tais como polietilenoglicol, povidona, crospovidona, poloxamer, hidroxipropilmetilcelulose, hidroxipropil-beta-ciclodextrina, polimetacrilatos, dentre outros (CHIANG et al., 2013).

Com base na abordagem mencionada, o trabalho teve por objetivo desenvolver dispersões sólidas contendo quercetina, preparadas pelo método de evaporação do solvente, utilizando-se os carreadores hidroxipropilmetilcelulose, polietilenoglicol 4000 e Pluronic® F127 em diferentes proporções e empregando-se duas condições distintas de solubilização (água:álcool e acetona:álcool). As formulações obtidas foram avaliadas por técnicas espectroscópicas de difração de Raio-X, infravermelho, RAMAN e Ressonância Magnética Nuclear.

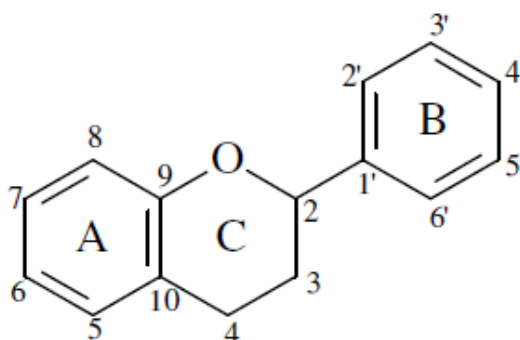
2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 FLAVONOIDES

Os flavonoides compõem uma ampla classe de substâncias naturais, principalmente de origem vegetal, que possuem uma série de propriedades farmacológicas e nutricionais com ação em diversos sistemas biológicos (KUMAR; PANDEY, 2013). Essas substâncias são encontradas em diferentes partes da planta tais como caule, ramos, folhas, frutas, flores, sementes e raízes, bem como estão presentes em alimentos e bebidas (NIJVELDT et al., 2001; KUMAR; PANDEY, 2013).

Do ponto de vista químico, os flavonoides constituem substâncias aromáticas polifenólicas contendo 15 átomos de carbono (C₁₅) no seu esqueleto básico (figura 1). Este grupo de substâncias apresenta uma estrutura comum caracterizada por dois anéis aromáticos (A e B) e um heterociclo oxigenado (anel C), formando um sistema C₆-C₃-C₆. Outro aspecto estrutural comum é a ligação de dois grupos fenila a uma cadeia de três carbonos, isto é, derivados difenilpropânicos (ANDERSEN; MARKHAM, 2006; KUMAR; PANDEY, 2013).

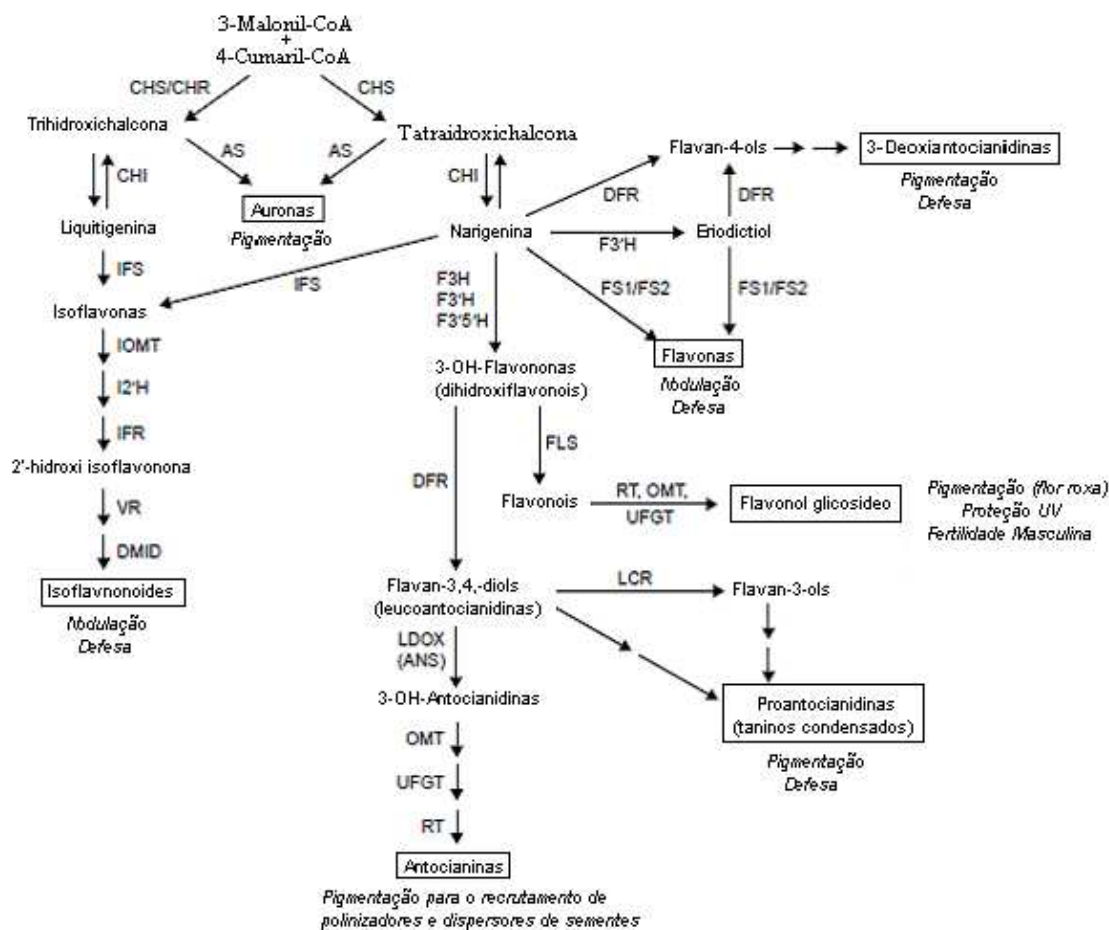
Figura 1 - Estrutura básica dos flavonoides



Fonte: Adaptado de BEHLING et al., 2004.

A estrutura C₁₅ dos flavonoides é biogeneticamente derivada do fenilpropano (C₆-C₃) e três unidades de acetato (C₆) (ANDERSEN; MARKHAM, 2006). Neste sentido, os flavonoides são produtos que tem origem biossintética mista, sendo sintetizados a partir da via do ácido chiquímico e do acetil coenzima A (figura 2) (WINKEL-SHIRLEY, 2002; ANDERSEN; MARKHAM, 2006; SISA et al., 2010).

Figura 2 - Via biossintética dos flavonoides



Legenda: CHS = chalcona sintetase; CHR = chalcona redutase; ANS=antocianidina sintetase; AS=aureusidina sintetase; CH4 = cinamate-4-hidroxilase; DFR = dihidroxiflavonol 4-redutase; DMID = 7,2'-dihidroxi,4'-metoxi-isoflavonol desidratase; FH3 = 3 -hidroxilase flavonoide; F3'5'H = 3'5' hidroxilase flavonoide; FS1/FS2 = flavona sintetase; I2'H = 2' hidroxilase isoflavona; IFR = isoflavona redutase; IFS=isoflavona sintetase; IOMT=O-metiltransferase isoflavona; LCR = leucoantocianida redutase; LDOX = leucoantocianidina dioxigenase; OMT = O-metiltransferase; PAL= fenilalanina amônia liase; RT: ramnosil transferase; UFGT, UDP: flavonoide glucosil transferase; VR: vestitona redutase.

Fonte: Adaptado de WINKEL-SHIRLEY, 2002.

A via do ácido chiquímico origina o ácido cinâmico e seus derivados (ácidos cafeico, ferúlico, sinápico, etc.) com nove átomos de carbono (ou C_6C_3), na forma de coenzima A, e a via do acetato origina um tricetídeo com seis átomos de carbono. A condensação de um destes derivados de ácido cinâmico com o tricetídeo gera uma chalcona com 15 átomos de carbono, que é o precursor inicial de toda a classe dos flavonoides. A partir da chalcona, todos os demais derivados flavonoídicos são formados (WINKEL-SHIRLEY, 2002; ANDERSEN; MARKHAM, 2006; SISA et al., 2010).

Ainda sobre os aspectos químicos, os constituintes flavonoídicos podem ser encontrados em seu estado livre (sem a presença de ligações com moléculas de açúcares), ou em sua forma glicosídica, sendo denominados aglicona ou glicosídeos respectivamente (WINKEL-SHIRLEY, 2002; ANDERSEN; MARKHAM, 2006; SISA et al., 2010). Dessa forma, considerando as estruturas químicas, a tabela 1 apresenta as principais classes de flavonoides e alguns representantes descritos na literatura.

Tabela 1 - Principais representantes da classe dos flavonóides

Flavonoides	Posição dos substituintes na estrutura básica dos flavonoides									
	2	3	4	5	6	7	3'	4'	5'	6'
<i>Antocianidinas</i>										
Cianidina	-	OH	-	OH	-	OH	OH	OH	OH	-
Delfinidina	-	H	-	H	-	H	OH	H	OH	-
Malvidina	-	H	-	H	-	H	O-Me	H	O-Me	-
Pelargonidina	-	OH	-	OH	-	OH	OH	H	H	-
Peonidina	-	H	-	H	-	H	O-Me	H	OH	-
<i>Flavonols</i>										
(+) – Catequina	-	H	-	OH	-	H	OH	OH	H	-
<i>Flavanona</i>										
Naringenina	-	H	-	OH	-	OH	H	OH	H	-
Naringina	-	H	-	OH	-	O-Ru	H	OH	H	-
Hesperedina	-	H	-	OH	-	O-Ru	OH	O-Me	H	-
<i>Flavonas</i>										
Apigenina	-	H	-	OH	-	OH	H	OH	H	-
Crisina	-	H	-	OH	-	OH	H	H	H	-
Diosmina	-	H	-	OH	-	O-Ru	OH	O-Me	H	-
<i>Flavonóis</i>										
Quercetina	-	OH	-	OH	-	OH	HO	OH	H	-
Canferol	-	H	-	OH	-	OH	H	OH	H	-
Miricetina	-	H	-	OH	-	OH	OH	OH	OH	-
<i>Isoflavonoides</i>										
Daidzeína	-	H	-	H	-	OH	H	OH	H	-
Genisteína	-	H	-	OH	-	OH	H	OH	H	-
<i>Auronas</i>										
Aureusina	H	H	OH	-	H	H	OH	OH	O-Gli	H
Aureusidina	H	H	OH	-	OH	H	OH	OH	H	H
<i>Chalconas</i>										
Florentina	OH	H	OH	-	OH	H	H	H	H	OH
Floridzina	O-GI	H	H	-	OH	H	H	H	H	OH

Ru (Rutina), Me (Metil), Gl (Glicose), Gli (Glicosídeo). Os números 2, 3, 4, 5, 6, 7 e 3', 4', 5' e 6' indicam a posição dos substituintes na estrutura fundamental dos flavonoides.

Fonte: Adaptado de DORNAS et al., 2007.

Os flavonoides são constituintes importantes dos alimentos, plantas medicinais, fitoterápicos e medicamentos (HAVSTEEN, 2002). Do ponto de vista alimentar, produtos ricos em flavonoides e em outros componentes, tais como vitaminas, minerais, proteínas, carboidratos e aminoácidos, são chamados de alimentos funcionais ou nutracêuticos, e têm sido utilizados por uma parte da

população com intuito de combater e prevenir doenças (TAPAS; SAKARKAR; KAKDE, 2008). Esses produtos exercem seus efeitos em uma grande variedade de estados patológicos, incluindo câncer, doenças cardiovasculares, doenças neurodegenerativas, processos inflamatórios, entre outros (AGRAWAL, 2011).

Além de serem componentes de pigmentos coloridos de flores, frutos e folhas nos vegetais, os flavonoides exercem diferentes funções químicas e biológicas (KUMAR; PANDEY, 2013). Dentre as funções desempenhadas, são capazes de modular as atividades de muitas enzimas, atuar como defesa contra a exposição à radiação ultravioleta, como agentes quelantes de metais nocivos para as plantas e como agentes redutores (WINKEL-SHIRLEY, 2002; KUMAR; PANDEY, 2013;).

A capacidade antioxidante dos flavonoides constitui a atividade mais estudada e relacionada a diversas patologias associadas com geração de radicais livres. A ação antioxidante é decorrente da reação com radicais livres formando complexos estáveis pela conjugação das ligações duplas de suas cadeias carbônicas ou inibição da peroxidação lipídica (HAVSTEEN, 2002; KUMAR; PANDEY, 2013). Assim, a ingestão de alimentos ricos em flavonoides pode prevenir o estresse oxidativo do organismo, envelhecimento precoce, câncer, danos cardiovasculares, diabetes, entre outros (NIJVELDT et al., 2001; TAPAS; SAKARKAR; KAKDE, 2008).

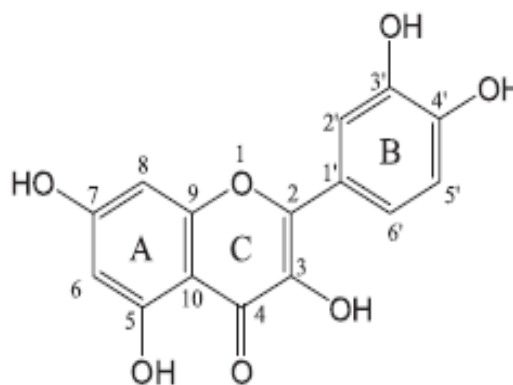
Os flavonoides também possuem atividades anti-inflamatória, analgésica, vasodilatadora, antitumoral, antiúlcera, hepatoprotetora, antidiarreico, antialérgico, inibidora da agregação plaquetária, antimicrobiana e antiviral (HAVSTEEN, 2002; TAPAS; SAKARKAR; KAKDE, 2008; AGRAWAL, 2011). Esses constituintes podem inibir vários estágios do início da aterosclerose, como a ativação de leucócitos, adesão, agregação e secreção de plaquetas (TAPAS; SAKARKAR; KAKDE, 2008; AGRAWAL, 2011), e possui atividades hipolipidêmicas com aumento das ações dos receptores de lipoproteínas de baixa densidade (LDL) (TAPAS; SAKARKAR; KAKDE, 2008; NIJVELDT et al., 2001). Também funcionam como filtros contra a radiação ultravioleta do tipo B (UV-B), considerada mais nociva à derme, devido às extensas conjugações de suas ligações (HAVSTEEN, 2002; SISA et al., 2010).

2.2 QUERCETINA

2.2.1 Características químicas e físico-químicas

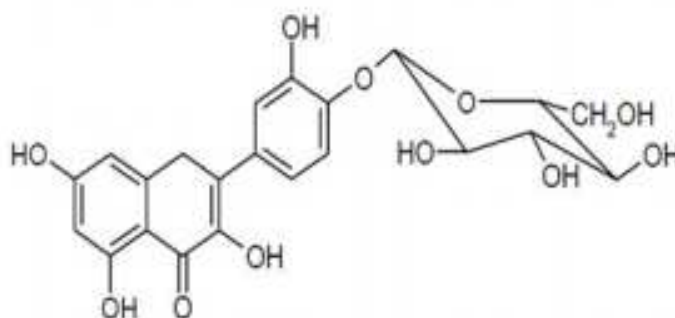
A quercetina (3,5,7,3',4'-pentaidroxi-flavona) (figura 3) é um dos flavonoides encontrados em maior abundância na natureza, representando mais de 50% dos bioflavonoides obtidos nos vegetais e alimentos. Quimicamente, é um polifenólico com estrutura aglicona da rutina ou outros glicosídeos com característica lipofílica (FORMICA; REGELSON, 1995; BEHLING et al., 2004). A atividade dessa substância depende de sua estrutura, particularmente dos grupos hidroxilas (-OH) que estão relacionados à capacidade antioxidante (ERLUND, 2004). Além disso, quercetina encontra-se principalmente na forma de glicosídeo (figura 4) em uma ampla variedade de plantas e alimentos, como cebolas roxa, uvas, maçãs, cerejas, brócolis, frutas cítricas, alcaparras, e produtos derivados destes como sucos, chás e vinhos (HERTOG et al., 1995; BOOTS; HAENEN; BAST, 2008).

Figura 3 - Estrutura química da quercetina



Fonte: Adaptado de DORA, 2010.

Figura 4 - Estrutura química da quercetina 4'-β-D-Glucosídeo.



Fonte: Adaptado de DORA, 2010.

Considerando os aspectos químicos, quercetina apresenta-se como um pó amarelo-alaranjado, com fórmula molecular $C_{15}H_{10}O_7$ e peso molecular de 302,24 g/mol para a forma anidra e de 338,27g/mol para a forma di-hidratada. Esta substância torna-se anidra na faixa de temperatura de 93 a 97 °C e decompõe-se a 314 °C. Em relação à solubilidade, este constituinte é praticamente insolúvel em água (cerca de 0,30-0,70 $\mu\text{g/mL}$), sendo mais solúvel em etanol a frio (3,45 $\mu\text{g/mL}$), a quente (43,48 $\mu\text{g/mL}$), ácido acético glacial e em soluções alcalinas a qual se atribui a coloração amarelada (BUDAVARI, 1996).

A quercetina solubilizada em meio aquoso apresenta capacidade antioxidante aproximadamente 8 vezes maior do que quando solubilizada em uma fase oleosa (USAMI et al., 2004), porém sua solubilidade aquosa a 20 °C é inferior a 0,01 g/L (CHEBIL et al., 2007). Adicionalmente, a quercetina apresenta um comportamento anfifílico devido à presença de uma porção hidrofóbica, formada pelos anéis fenólicos, e por outra porção polar, constituída pelos grupos hidroxila (CODORNIU-HERNANDEZ et al., 2003).

Em virtude de sua estrutura química, a quercetina demonstra uma pronunciada instabilidade química e sofre auto-oxidação em soluções orgânicas e aquosas, apresentando pH superior a 8,0. O fenômeno de auto-oxidação é altamente dependente do pH e do meio, assim como da presença de oxidantes. Em pH inferior a 5,0, encontra-se na forma neutra ou com carga elétrica. A dissociação promove a auto-oxidação e a ordem preferencial da desprotonação dos grupos hidroxila é: 5-OH, 3-OH, 3'-OH, 7-OH e 4'-OH. Dessa forma, as hidroxilas encontradas nos carbonos 5 e 3 são desprotonadas em pH abaixo dos encontrados

fisiologicamente, indicando que somente as hidroxilas de outras posições podem ser desprotonadas em pH fisiológico (MOMIC et al., 2007).

As propriedades físico-químicas da quercetina podem variar entre diferentes lotes do polifenol, uma vez que este pode ser encontrado em diferentes formas polimórficas. Borghetti e colaboradores (2006) observaram a presença de três formas polimórficas ao analisar quatro amostras distintas de quercetina disponíveis comercialmente. Estas apresentam formas distintas de cristais e diferentes perfis de difração de raios-X, evidenciando divergência na forma cristalina entre as amostras, o que se reflete na variação de sua solubilidade em água. A transformação polimórfica pode ser mediada por solventes, por estresse mecânico, ou pela temperatura, e afeta grandemente as características de morfologia, solubilidade, estabilidade, e conseqüentemente, a biodisponibilidade (CESUR; GOKBEL, 2008; SRINIVAS et al., 2010).

Quercetina, assim como outros flavonoides, apresenta sensibilidade à luz, pois espectros de absorção de amostras irradiadas e não irradiadas a pH 10 e irradiadas a pH 5 e 7,5 mostraram uma diminuição dos picos de absorção nas faixas de 260-273 e 385-409 nm (MOMIC et al., 2007). Essa instabilidade depende do pH e do aparecimento simultâneo de um pico a 321-327 nm que é típico da formação de produtos de oxidação e indicativo de que a irradiação pode iniciar ou aumentar a transferência de elétrons mesmo quando a quercetina se encontra na forma neutra (pH 5). Além disso, ela acelera a taxa de degradação a pH 10 (MOMIC et al., 2007).

2.2.2 Propriedades farmacológicas

A quercetina foi identificada pela primeira vez como vitamina P e, juntamente com a vitamina C, teve sua ação comprovada na manutenção da resistência e da integridade da parede dos capilares sanguíneos (ALVES et al., 2010). Tem sido relatado que esta substância exibe efeitos antioxidante, anticarcinogênico, anti-inflamatório, antiagregante de plaquetário e vasodilatador (ERLUND, 2004). Esses efeitos podem estar associados à sua ação antioxidante pela inibição da formação de radicais livres que pode ocorrer por diferentes mecanismos: interação com íons superóxido, quelação de íons de ferro, inibição da peroxidação lipídica (por reagir com radicais peróxidos de lipídios), inibição de enzimas e/ou indução da expressão de enzimas protetoras (BEHLING et al., 2004; ERLUND, 2004).

Em vários estudos *in vitro*, a quercetina foi caracterizada com uma potente substância antioxidante com capacidade de sequestrar espécies reativas de oxigênio, oxigênio singleto e radicais de diferentes origens (RICE-EVANS; MILLER; PAGANGA, 1996; VAN ACKER et al., 1996; CAO; SOFIC; PRIOR, 1997; AHERNE; O'BRIEN, 1999; YAMAMOTO et al., 1999). Além disso, um estudo de relação estrutura-atividade identificou os grupamentos na estrutura dos flavonoides que contribuem para a sua atividade antioxidante. A quercetina possui todos esses grupamentos na sua estrutura, os quais incluem a ligação dupla C2=C3, o grupamento cetona em C4, o grupo hidroxil em C3 e a estrutura orto-difenólica (grupo catecol) no anel B (Figura 3) (RICE-EVANS; MILLER; PAGANGA, 1996).

A atividade anti-inflamatória da quercetina tem sido atribuída a ação inibitória sobre diversos mecanismos da resposta inflamatória, como a supressão da expressão da ciclo-oxigenase-2 (XIAO et al., 2001), síntese de leucotrienos (LAUGHTON et al., 1991), expressão de moléculas de adesão por células endoteliais (KIM et al., 2006) e inibição da produção de óxido nítrico por macrófagos (MATSUDA et al., 2003) e da degranulação de neutrófilos e mastócitos (MIDDLETON JR; KANDASWAMI; THEOHARIDES, 2000). A quercetina também inibe as vias da tirosina quinase e das MAP quinases (CHO et al., 2003) e a atividade do fator de transcrição NF- κ B, importante na ativação dos genes envolvidos na produção de substâncias pró-inflamatórias (CHO et al., 2003; DIAS et al., 2005; GARCÍA-ROMÁN et al., 2008).

Existem muitas evidências científicas baseadas em estudos *in vitro* que descrevem a quercetina com efeito protetor contra o câncer. Sua natureza polifenólica torna a quercetina um alvo potencial de oxidantes pró-inflamatórios, tais como o ácido hipocloroso (HClO) e peroxinitrito (ONOO⁻). Estes são formados durante as reações metabólicas, principalmente no recrutamento de células inflamatórias nos tecidos tumorais onde se observa um aumento exponencial de espécies reativas de oxigênio (EROS). As EROS podem danificar proteínas, ADN e ARN, bem como oxidar ácidos graxos das membranas celulares, o que pode aumentar o número de mutações (MERTENS-TALCOTT; PERCIVAL, 2005). Desta forma, um dos mecanismos de quimioprevenção da quercetina está associado a sua capacidade de eliminar espécies reativas deletérias, como o ânion superóxido, radical hidroxila, óxido nítrico e peroxinitrito (MERTENS-TALCOTT; PERCIVAL, 2005).

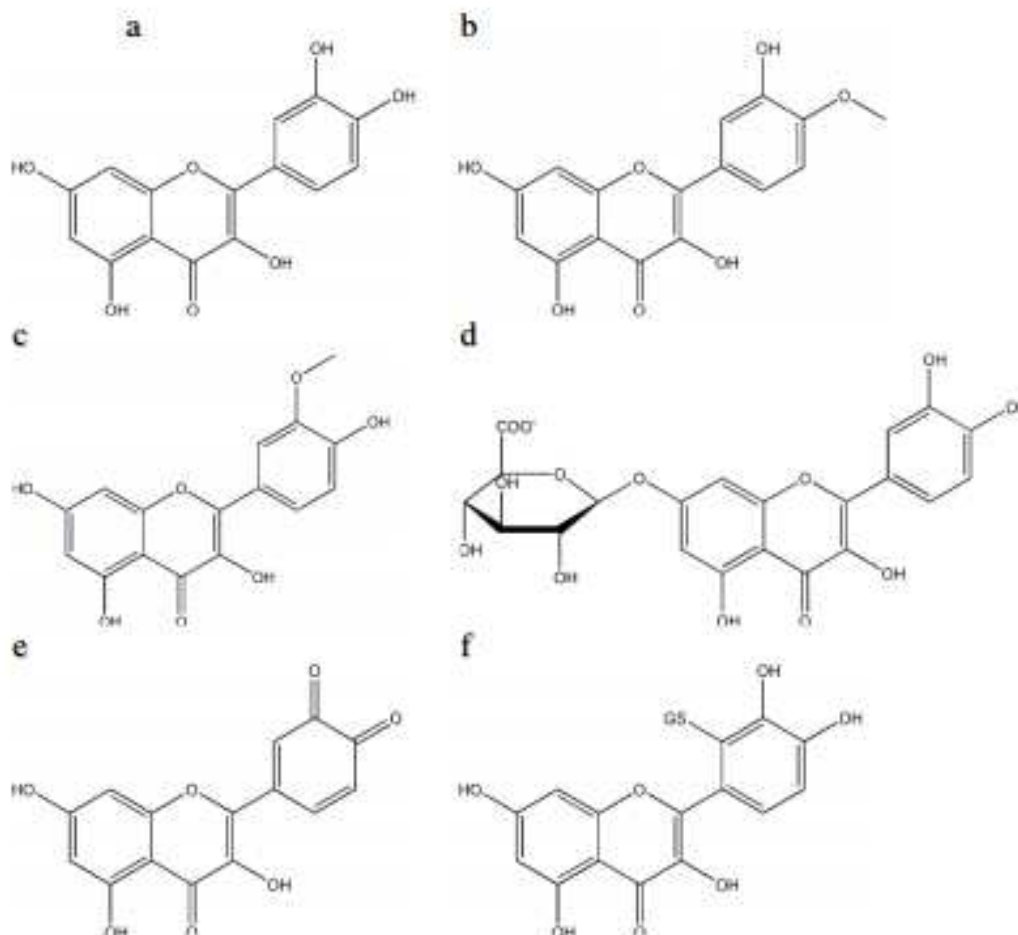
Um segundo possível mecanismo de proteção da quercetina contra o câncer consiste na capacidade de modulação do metabolismo de carcinógenos por meio da inibição e/ou indução de enzimas envolvidas no processo de biotransformação destes. Tais enzimas, como a glutathione transferase e quinona reductase, protegem células e tecidos contra carcinógenos endógenos e exógenos intermediários (ZHANG et al., 1992; TALALAY et al., 1995). Adicionalmente, a quercetina é conhecida como um potente inibidor de enzimas do sistema citocromo P450 (KUO; CHEN; CHANG, 2004; WALSKY; GAMAN; OBACH, 2005).

2.2.3 Propriedades farmacocinéticas

A maior limitação do uso da quercetina por via oral reside na sua baixa biodisponibilidade. Este constituinte sofre intensa reação de conjugação, formando substâncias glicuronadas e sulfatadas que diferem dos seus análogos em tamanho, polaridade e forma iônica (figura 5) (KROON et al., 2004; WENZEL; SOMOZA, 2005).

Majoritariamente, a quercetina está presente nas plantas na forma glicosídica, ou seja, ligada covalentemente a uma molécula de açúcar (tal como a glicose, ramnose ou rutinose) por meio de uma ligação β -glicosídica. A característica que distingue uma forma glicosídica da outra é o tipo de grupamento glicosil. Por exemplo, a isoquercetina tem uma molécula de glicose ligada na posição 3-OH, enquanto a rutina, encontrada em elevadas concentrações em frutas cítricas e possui uma molécula de rutinose ligada à posição 4 (GRAEFE; DARENDORF; VEIT, 1999; GRAEFE et al., 2001; HOLLMAN et al., 1995). A ligação da quercetina com uma molécula de açúcar afeta a sua solubilidade e absorção. Geralmente, a presença do grupamento glicosil resulta em um aumento da sua solubilidade aquosa quando comparado à forma aglicona. Entretanto, a ligação β -glicosídica é resistente à hidrólise pelas enzimas pancreáticas, oferecendo uma barreira no processo de absorção intestinal (HOLLMAN et al., 1997).

Figura 5 - Quercetina (a) e seus principais metabólitos. (b) 4'-O-metil-quercetina, (c) 3'-O-metil-quercetina, (d) quercetina glicoronada, (e) quercetina-O-quinona e (f) 2'-glutathionil-quercetina



Fonte: DONAVAN et al., 2001

A baixa solubilidade aquosa da quercetina é um fator que limita sua absorção. Por exemplo, um pró-fármaco derivado da quercetina hidrossolúvel foi sintetizado [QC-12: 3'(N-carboximetil) carbomil-3,4', 5,7-tetrahidroxiflavona] e testado em humanos, entretanto, após administração oral, nem o derivado e nem a quercetina foi detectado no plasma, indicando que a alteração na molécula não tornou a substância biodisponível por via oral (MULHOLLAND et al., 2001).

Poucos estudos têm sido conduzidos quanto à distribuição tecidual da quercetina após administração oral, particularmente em animais. Em ratos, a quercetina e seus metabólitos são amplamente distribuídos nos tecidos, com maior concentração nos pulmões e menor quantidade no cérebro, tecido adiposo e baço (de BOER et al., 2005). Em porcos, o fígado, os rins e o intestino delgado contêm

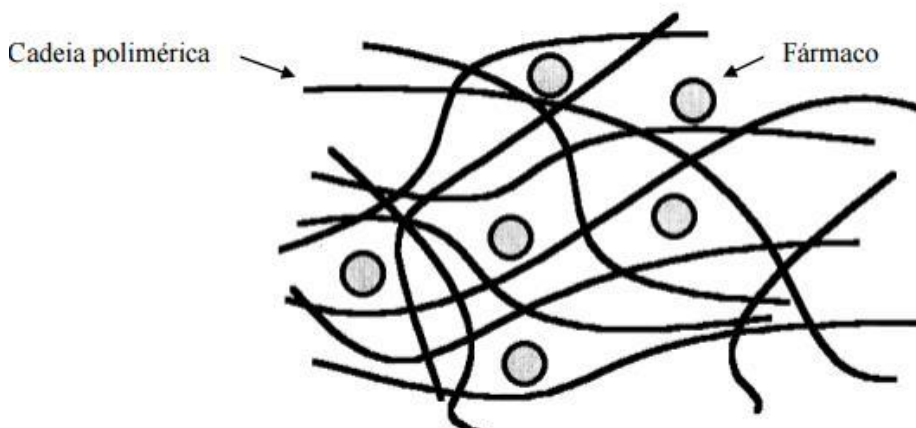
maiores concentrações desta substância, porém o cérebro, o coração e o baço possuem menores teores (BIEGER et al., 2008; DE BOER et al., 2005). Existem também evidências de que a quercetina pode se acumular no sistema nervoso central, com maiores níveis alcançados com repetidas doses durante oito dias (PAULKE et al., 2008).

2.3 DISPERSÕES SÓLIDAS

A resposta clínica a um medicamento administrado por via oral está diretamente relacionada à sua absorção pelo trato gastrointestinal, sendo que a dissolução é uma etapa limitante da sua velocidade de absorção. Nos últimos anos, foram desenvolvidos diversos sistemas de liberação de fármacos com intuito de melhorar sua absorção e aumentar a sua estabilidade (RAMA et al., 2006; PATEL et al., 2008; ALVES et al., 2012). Além disso, várias técnicas de formulação são aplicadas para melhorar as propriedades físico-químicas e compensar a insolubilidade e consequente baixa taxa de dissolução de certos fármacos. Dentre essas, destacam-se a formulação de nanopartículas, microemulsões, formação do sal, formação de complexos solúveis em água e, em especial, as dispersões sólidas (DS) (LOFTSSON; HREINSDÓTTIR; MÁSSON, 2005; LIMA, 2006; RIEKES, 2013).

Em 1961, Sekiguchi e Obi propuseram pela primeira vez a utilização de dispersões sólidas para elevar a dissolução e absorção oral de fármacos pouco solúveis em água, representando uma técnica farmacêutica útil para aumentar a dissolução, absorção e eficácia terapêutica dos medicamentos em formas de dosagem, além de aumentar a estabilidade química de fármacos em solução ou suspensão. Este termo refere-se à dispersão de um ou mais princípios ativos em um carreador inerte no estado sólido como mostrado na Figura 6 (ALVES et al., 2012).

Figura 6 - Representação de dispersão sólida amorfa de fármaco e polímero



Fonte: LEUNER; DRESSMAN, 2000.

Os sistemas de dispersão sólida podem ser definidos como a mistura de, pelo menos, dois componentes sólidos, geralmente um carreador hidrofílico e um fármaco hidrofóbico, sendo desejável que, ao final do processo de obtenção, o princípio ativo encontre-se molecularmente disperso como partículas amorfas ou semicristalinas (CHIOU; RIEGELMAN, 1969; SHARMA; JAIN, 2011). Desta forma, o objetivo da utilização das dispersões sólidas é obter um sistema no qual a cristalinidade do fármaco seja alterada através da interação fraca fármaco-carreador, modificando sua velocidade de dissolução e recobrando-o intimamente com material solúvel em água (CORRIGAN, 1995; CRAIG, 2002; ROYALL et al., 2005).

Os carreadores mais comumente utilizados são polímeros hidrofílicos polietilenoglicóis (PEG), derivados da celulose e polivinilpirrolidona (PVP). Contudo, a relação entre as características de liberação da dispersão sólida e uma mistura física de dois componentes varia de acordo com a combinação fármaco/transportador (MEIRELLES, 2012). Para isto, a classificação das dispersões sólidas é descrita, basicamente, em quatro categorias: *misturas eutéicas simples*, em que dois ou mais componentes do sistema podem interagir termodinamicamente em uma mistura física; *soluções sólidas*, em que o soluto e o solvente são sólidos e pode-se formar um cristal misto caso o carreador seja cristalino; *precipitação amorfa de fármacos com carreador cristalino*, em que ocorre a precipitação do fármaco na forma amorfa no carreador cristalino; *combinação entre os grupos*, em que duas ou mais categorias são utilizadas em conjunto (CRAIG, 2002; DHIRENDRA et al., 2009).

As vantagens relacionadas às dispersões sólidas quando comparadas às formulações convencionais de cápsulas e comprimidos (figura 7) é que esta é desintegrada na forma de partículas de tamanho inferior a 1 μm , sendo mais facilmente dissolvidos (ALVES et al., 2012). Nas formulações convencionais, o tamanho de partícula é superior a 5 μm , o que dificulta a dissolução (SERAJUDDIN, 1999; BIKIARIS et al., 2005). No entanto, a maior solubilização aquosa no estado amorfo baseia-se na energia de solvatação envolvida no processo de dissolução devido à disposição das moléculas nesse sistema, que são arranjadas ao acaso. Neste sentido, baixa energia de solvatação é requerida para separá-las e homogeneizá-las ao meio, proporcionando uma dissolução mais rápida e efetiva. Assim, o desenvolvimento de formulações contendo o fármaco na forma amorfa é frequentemente benéfico em termos de dissolução e biodisponibilidade (STULZER et al., 2007). Além disso, não é necessária energia para quebrar uma estrutura cristalina do fármaco durante o processo de dissolução, ocorrendo uma melhoria na solubilidade de drogas e molhabilidade devido aos suportes hidrófilos vizinhos. A redução ou ausência de agregação e a aglomeração podem também contribuir para o aumento da dissolução (PATEL et al., 2008).

Figura 7 - Representação esquemática do aumento da biodisponibilidade e de fármacos pouco hidrossolúveis através de DS



Fonte: Adaptado de SERAJUDDIN, 1999.

As DS são classificadas em primeira, segunda e terceira gerações. Os sistemas qualificados como de primeira geração foram desenvolvidas em 1961 por Sekiguchi e Obi. Esta classe relaciona-se a formulações de misturas eutéticas de fármacos e carreadores cristalinos, altamente hidrofílicos, como a ureia (VASCONCELOS; SARMENTO; COSTA, 2007). Considerando as de segunda geração, empregam-se polímeros amorfos, sendo observadas vantagens em relação ao aumento da solubilidade. Os polímeros carreadores mais comumente utilizados nesta classe dividem-se em dois grupos: sintéticos e naturais. Os polímeros sintéticos incluem polivinilpirrolidonas (PVP), polietilenoglicol (PEG) e polimetacrilatos. Os polímeros naturais são principalmente compostos derivados de celulose, como a hidroxipropilmetilcelulose (HPMC), etilcelulose, hidroxipropilcelulose, ou derivados de amido, como as ciclodextrinas (VASCONCELOS; SARMENTO; COSTA, 2007). Por outro lado, a terceira geração de DS envolve o emprego de tensoativos, acarretando melhora pronunciada das propriedades biofarmacêuticas. Como exemplo dos tensoativos utilizados pode-se citar o Poloxamer® 407 e o Poloxamer® 188, pertencentes à classe dos polietileno-propilenoglicóis. Uma vantagem no emprego de tensoativos como carreadores situa-se no fato de estes estabilizarem as DS, evitando a recristalização do fármaco (SERAJUDDIN; SHEEN; AUGUSTINE, 1990; SHEEN et al., 1995).

2.3.1 Métodos de preparação das dispersões sólidas

O método de preparação e o tipo de carreador em DS exercem grande influência sobre as propriedades das dispersões sólidas, sendo polietilenoglicol, polivinilpirrolidona e derivados de celulose os mais comumente empregados. Os métodos de obtenção das dispersões mais utilizados são os de fusão, solvente, fusão-solvente e malaxagem (PATEL et al., 2008). No entanto, outras metodologias têm sido citadas, tais como os métodos de fluido supercrítico e *spray drying*, os quais têm sido empregados na obtenção de complexos de inclusão utilizando ciclodextrinas (CHAUHAN; SHIMPI; PARADKAR, 2005).

No método de preparação por evaporação do solvente, o carreador e o fármaco são dissolvidos em um solvente, geralmente orgânico, ou gás em condições supercríticas, ambos estáveis, e o solvente é evaporado a uma temperatura fixa e pressão reduzida. Com a remoção do solvente, ocorre uma supersaturação do meio

seguida de precipitação simultânea dos constituintes. O solvente, aderido à superfície da partícula co-precipitada, é removido por secagem com auxílio de estufa (NAKAMURA, 1965; SEKIKAWA et al., 1979; TACHIBANA; TAKAYAMA; NAMBU; NAGAI, 1982; BLOCH; ELEGAKEY; SPEISER, 1983; SEKIKAWA et al., 1983).

O método de preparação por evaporação de solvente é indicado para fármacos termolábeis, que poderiam se degradar na temperatura de fusão do carreador. A dificuldade desse método está em encontrar um solvente que dissolva tanto o fármaco como o carreador. Além disso, o uso de diferentes solventes pode induzir o aparecimento de polimorfos (SETHIA; SQUILLANTE, 2003).

A solução de sólidos consiste de um soluto sólido dissolvido em um diluente também no estado sólido. Como os dois componentes cristalizam juntos, se o carreador é cristalino, então um cristal misto é formado. Este sistema é caracterizado pela complexação de dois componentes em um sistema binário durante a preparação da dispersão sólida (LIMA, 2006).

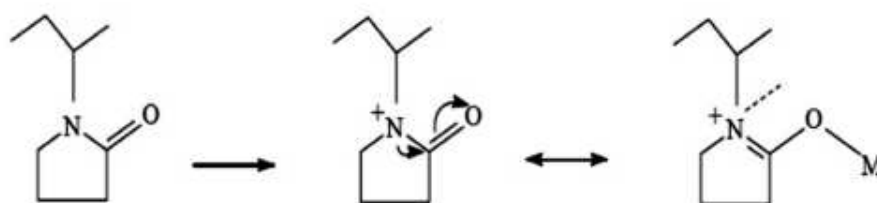
2.3.2 Carreadores empregados para a preparação de dispersões sólidas

Na preparação de DS, muitas substâncias podem ser utilizadas, dentre elas os polióis (propilenoglicol, manitol e sorbitol), ácidos orgânicos (ácido cítrico), ureia, poloxamer, quitosana e glicerídeos poliglicosilados. Contudo, os polímeros hidrofílicos, tais como os derivados de celulose, são os mais citados e utilizados como carreadores de substâncias sólidas para as dispersões. As propriedades dos polímeros estão diretamente relacionadas com a natureza química dos monômeros, o peso molecular e a estrutura macromolecular (BROMAN; KHOO; TAYLOR, 2001). Combinações de polímeros ou de polímeros e surfactantes têm sido propostos na tentativa de adequar as propriedades físico-químicas dos polímeros ao sistema de dispersão sólida (JANSSENS et al., 2008b). Além disso, a escolha dos carreadores poliméricos pode determinar a inibição ou o período que o fármaco disperso possa vir a se recristalizar, sendo este fator dependente do grau de miscibilidade do fármaco no polímero em determinada umidade (VASANTHAVADA et al., 2005).

Dentre os polímeros hidrofílicos mais relatados na literatura para preparação das DS temos o polietilenoglicol (PEG), a polivinilpirrolidona (PVP) e a hidroxipropilmetilcelulose (HPMC), os quais são frequentemente empregados em diversas formulações farmacêuticas devido à baixa toxicidade, rápida taxa de

solidificação, alta solubilidade aquosa, disponibilidade em várias massas moleculares e custo adequado (LIU; WANG, 2007; PATEL et al., 2008). O PVP apresenta um anel lactâmico como parte da unidade monomérica. A alta polaridade do anel pode ser atribuída à forte estabilização de ressonância, mostrada na figura 8, facilitada pela geometria planar do anel, contribuindo na ligação com fármacos pouco hidrossolúveis (M) através de ligações de hidrogênio e possibilitando o processo de formação das DS (KARAVAS et al., 2007).

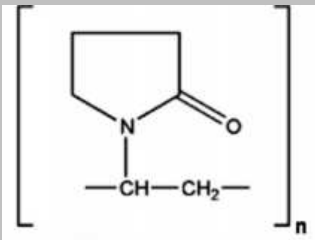
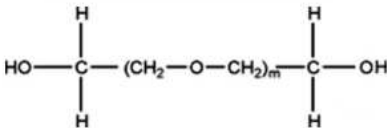
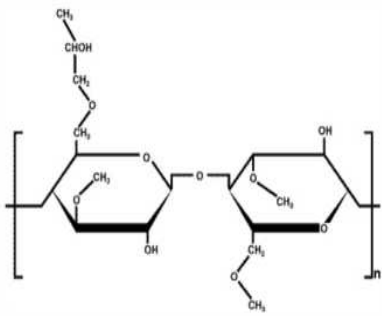
Figura 8 - Representação da estrutura monomérica do polivinilpirrolidona e a formação da ligação entre fármaco (M) e o polímero.



Fonte: KARAVAS, 2007.

Um resumo das principais características e dos aspectos relacionados à obtenção de DS com os polímeros acima descritos está apresentado na tabela 2.

Tabela 2 - Informações sobre os principais polímeros utilizados como carreadores na preparação de dispersões sólidas.

POLÍMEROS	NOME QUÍMICO	SINÔNIMOS E NOMES COMERCIAIS	INDICAÇÕES E LIMITAÇÕES NA OBTENÇÃO DE DS
	1-etenil-2-pirrolidona homopolímero	E1201; Kollidon; Plasdone; poli[1-(2-oxo-1-pirrolidinil)etileno]; polividona; polivinilpirrolidona; PVP; 1-vinil-2-pirrolidona.	<ul style="list-style-type: none"> - Indicado para o método de solvente. Contudo, não é indicado para o de fusão. - Altas concentrações podem prejudicar a liberação do fármaco quando utilizado em altas concentrações no método de malaxagem devido à sua propriedade aglutinante. Quanto maior o peso molecular, maior a interferência.
	α-hidro-ω-hidroxi-poli(oxi-1,2-etanedil)	Breox PEG; Carbowax; Carbowax Sentry; Hodag PEG; Lipo; Lipoxol; Lutrol E; PEG; Pluriol E; polioxietileno glicol	<ul style="list-style-type: none"> - Frequentemente utilizado no método de fusão; - A faixa de PM frequentemente utilizada é de 1000 a 20.000; - Possui boa solubilidade em água (solubilidade decresce com o aumento do PM) e vários solventes orgânicos, o que também possibilita a preparação pelo método solvente.
	Celulose, 2-hidroxi-propil metil éter	Benecel MHPC; celulose, hidroxipropil metil éter; E464; HPMC; Methocel; metilcelulose propileno glicol éter; metil hidroxipropilcelulose; Metolose; Pharmacoat; Spectracel; Tylopur	<ul style="list-style-type: none"> - Usualmente é utilizado na preparação de DS pelo método de solvente; - Além de possibilitar o incremento de solubilidade, também pode proporcionar uma liberação prolongada, o que pode ser ou não desejável; - Os diferentes tipos de HPMC proporcionam características distintas nas DS obtidas; dessa forma, é recomendável testar diferentes tipos visando observar a influência destes na solubilização e liberação do fármaco.

Fonte: Alves et al., 2012.

2.3.2.1 Hidroxipropilmetilcelulose

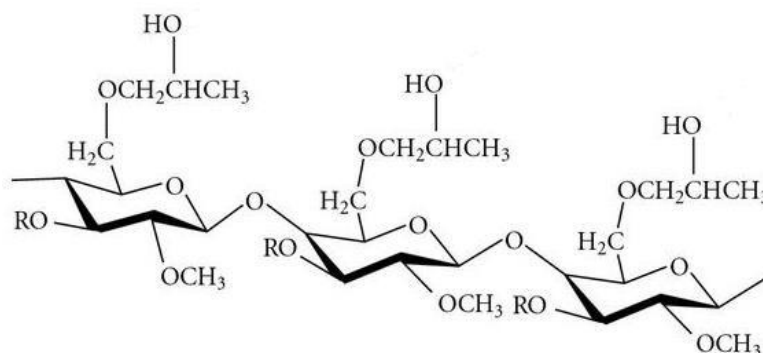
A Hidroxipropilmetilcelulose (HPMC) (figura 9) é um polímero derivado da celulose, sendo bastante utilizado para diferentes fins. Este polímero é descrito pela Farmacopeia Europeia como uma parte da celulose orto-metilada e da celulose orto-2-hidroxi-propilada. Classifica-se como um éter de celulose, em que os hidrogênios e grupos hidroxilas da celulose foram parcialmente substituídos por grupos alquila a fim de modificarem as características da celulose nativa (ALVES et al., 2012).

É comumente chamada de hipromelose e tem sido utilizada em comprimidos orais principalmente como produto ligante, em revestimentos e como matriz em formulações de liberação prolongada. Neste último caso, a sua utilização se deve à

boa compatibilidade com os eletrólitos, não sofrendo alteração de sua viscosidade por variações de pH, podendo ser comprimida diretamente com o fármaco e não sendo necessária granulação prévia (MONTEIRO et al., 2007; ROWE; SHESKEY; QUINN, 2009).

HPMC é um polímero hidrofílico linear e seus efeitos se manifestam principalmente pela sua capacidade em formar uma barreira representada pela camada gelatinosa na superfície do comprimido após hidratação. Esta barreira impede a rápida liberação do fármaco, controlando a penetração de água e a velocidade de liberação da substância ativa (GUIMARÃES et al., 2008).

Figura 9 - Estrutura química da hidroxipropilmetilcelulose



Fonte: MONTEIRO et al., 2007; ROWE; SHESKEY; QUINN, 2009

Do ponto de vista físico-químico, esse polímero é um pó insípido, inodoro, de coloração branca a creme e aspecto granuloso. É bastante solúvel em água gelada, praticamente insolúvel, clorofórmio e éter, mas solúvel em misturas de etanol e diclorometano, metanol e diclorometano, e soluções hidroalcoólicas. Apresenta alta temperatura de transição vítrea, entre 170 e 180 °C. É atóxica e não irritante, embora o consumo oral excessivo resulte em efeitos laxativos (ROGERS, 2009). Normalmente, é relacionada à preparação de dispersões sólidas com HPMC, utilizando misturas de solventes com diclorometano pelo método de solvente (ALVES et al.; 2012).

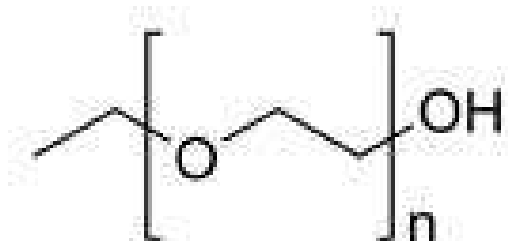
Uma das características mais importantes deste polímero hidrofílico linear é a sua capacidade de solubilização de fármacos de baixa solubilidade em comparação a outros polímeros hidrossolúveis (LYRA et al., 2007; GUIMARÃES et al., 2008). Adicionalmente, o seu emprego previne ou retarda o efeito de nucleação que leva a

recristalização do fármaco, podendo ser associado a outros polímeros em distintas formulações, e, de acordo com a viscosidade do tipo de HPMC escolhido, possibilita adicionalmente uma liberação prolongada (KAPSI; AYRES, 2001).

2.3.2.2 PEG 4000

O polietilenoglicol 4000 (PEG 4000), polímero de oxido etileno, caracterizado pelas unidades (-CH₂-CH₂-O) de repetição (figura 10), torna-se vantajosa na obtenção de dispersões sólidas devido às suas propriedades físico-químicas. Dentre elas, a presença de grupamentos hidroxila (-OH) como doadores de elétrons responsáveis pela interação com substâncias hidrofóbicas através de ligações de hidrogênio; biocompatibilidade; características inodoras; neutro e não irritante; baixa toxicidade *in vivo* e solubilidade em diversos solventes orgânicos e em água, proporcionando uma liberação rápida do fármaco disperso e facilitando o processo de obtenção pelo método solvente (LIAO; SYU, 2009; PATIL; GAIKWAD, 2009; MA et al., 2009).

Figura 10 - Fórmula estrutural do PEG



Fonte: SILVA, 2008.

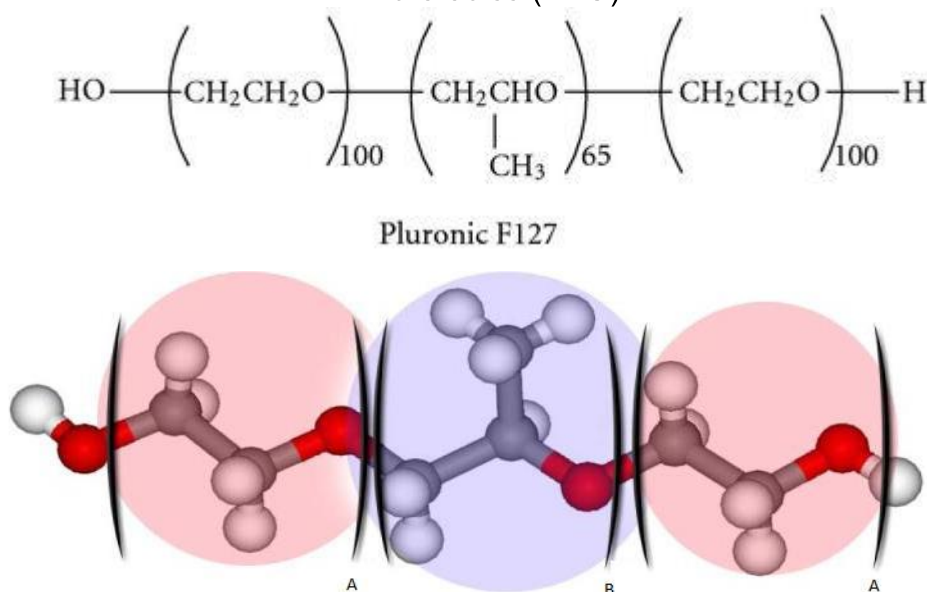
Os limites da aplicação do PEG podem ser estendidos pela biodegradabilidade em resposta aos fatores específicos, tais como o aumento na temperatura ou pH. O PEG apresenta diversas massas moleculares (200 a 300.000) e diferentes temperaturas de fusão, o que proporciona sua ampla aplicação industrial nos processos que envolvem aquecimento (PATEL et al., 2008). Comumente, na preparação de dispersões sólidas e de soluções, são utilizados PEGs com massa (MM) entre 1500 e 20.000. O aumento da massa molecular do PEG promove à elevação da sua viscosidade e de seu ponto de fusão (PF). Nas estruturas de MM de até 600, os PEGs são fluidos; na escala entre 800-1500,

apresentam maior consistência; entre 2000 a 6000, em geral, apresentam aspectos cerosos e aqueles com MM acima de 20000, possuem forma de cristais frágeis à temperatura ambiente (LEUNER; DRESSMAN, 2000).

2.3.2.3 Pluronic® F127

Os polaxâmeros, também conhecidos como Pluronic®, são copolímeros não-iônicos dispostos em blocos que consistem de um grupo hidrofílico poli (óxido de etileno) (PEO) e um outro hidrofóbico poli (óxido de propileno) (PPO) organizados em tribloco PEO-PPO-PEO (figura 11). Esses copolímeros com diferentes números de unidades PEO e PPO são caracterizados por diferentes equilíbrios hidrófilo-lipófilo (EHL) (BATRAKOVA; KABANOV, 2008).

Figura 11 - Representação esquemática geral da fórmula estrutural do polaxâmero, sendo (a) composição do bloco hidrofílico PEO e (b) composição do bloco hidrofóbico (PPO).

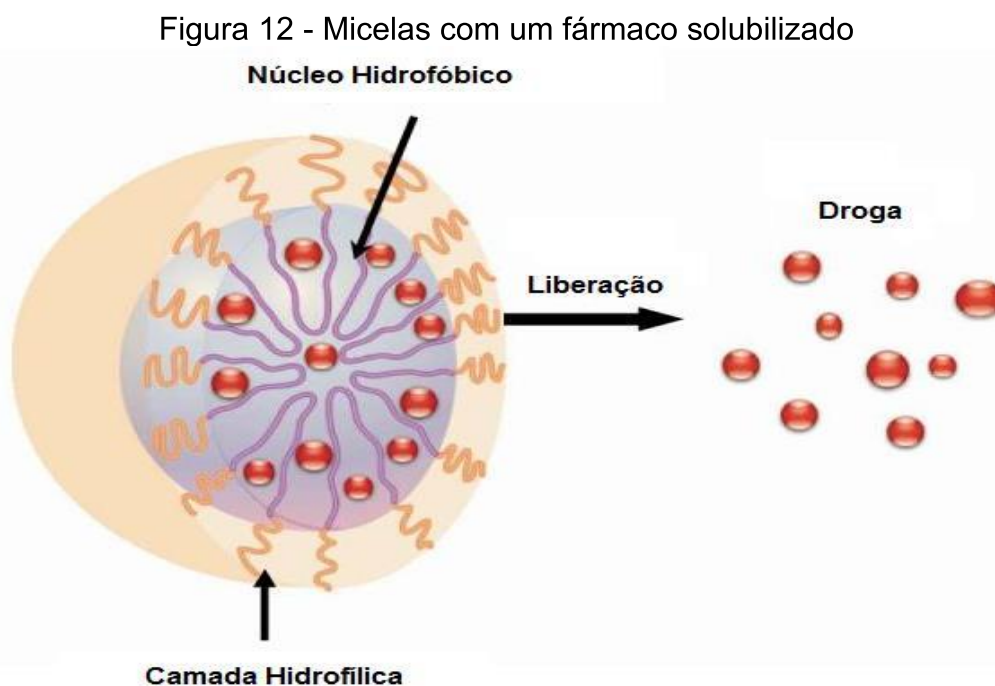


Fonte: BATRAKOVA; KABANOV, 2008.

Os diâmetros das micelas de Pluronic® F127 geralmente variam de cerca de 10 a 100 nm. Por si só, o núcleo representa um "compartimento de carga" para a incorporação de vários agentes terapêuticos ou de diagnóstico (figura 12). Em casos selecionados, o núcleo PPO pode incorporar quantidades consideráveis (até 20-30% em peso) de fármacos insolúveis em água. As extremidades de PEO asseguram que

as micelas permaneçam em um estado disperso, diminuindo as interações indesejáveis das drogas com células e proteínas.

Devido ao seu caráter anfifílico, os polaxâmeros apresentam propriedades surfactantes, incluindo a habilidade de interagir com superfícies e membranas biológicas, bem como auxiliar na solubilização de fármacos pouco solúveis em água, o que permite seu uso em administração parenteral de agentes quimioterápicos (BONACUCINA et al., 2011). Além disso, os Pluronicos® podem inibir o efluxo de fármacos através da glicoproteína-p, diminuindo a resistência de células cancerígenas a fármacos antineoplásicos (GIFFORD et al., 1998; BATRAKOVA; KABANOV, 2008; SHIBAYAMA; TAKEDA; YAMADA, 2009).



Fonte: BATRAKOVA; KABANOV, 2008.

Os polaxâmeros são ainda utilizados em formulações como agentes emulsificantes, solubilizantes e dispersantes, sendo frequentemente considerados como excipientes funcionais porque constituem componentes essenciais e tem papel fundamental na formulação (PATEL; PATEL; PATEL, 2009). Atuam também como surfactante não-iônico em uma concentração de 20 a 30% (ALEXANDRIDIS; TSIANOU, 2011).

A termossensibilidade inversa, ou seja, em concentrações acima de 20% forma solução aquosa em baixas temperaturas, mas gelificam em temperaturas mais

altas, é uma importante propriedade dos polaxâmeros (ESCOBAR-CHÀVEZ et al., 2006; PATEL; PATEL; PATEL, 2009). Devido à biocompatibilidade, aprovação pelo *Food Drug Administration* e ao comportamento termogelificante, o uso de polaxâmeros vem sendo investigado como formador de matriz *in situ*, pela formação de gel, para uso em sistemas de liberação de fármacos (GUO et al., 2007; MOEBUS; SIEPMANN; BODMEIER, 2009; BONACUCINA et al., 2011). Estes têm sido bastante utilizados na área médica, farmacêutica e cosmética, sendo que no campo farmacêutico há maior interesse em géis, microemulsões, nanopartículas e *blenders* de polímeros sólidos (GUO et al., 2007).

Entre os vários tipos de pluronics, o F127 ganhou considerável atenção devido a sua vasta aplicação biomédica. O segmento de PPO do Pluronic® F127 é composto por um núcleo hidrofóbico com um microambiente para a incorporação de fármacos lipofílicos, enquanto o segmento PEO evita a adsorção e a agregação de proteína incorporada. Além de atuar como um transportador para a liberação de drogas, o PF127 pode translocar diretamente pelas células, interagindo com várias funções celulares que podem alterar processos como a respiração mitocondrial, a transdução do sinal apoptótico, a atividade de transportadores de drogas e a expressão do gene. No entanto, algumas propriedades farmacocinéticas indesejáveis do Pluronic® F127, como a sua rápida dissolução em contato com meios aquosos, o seu curto tempo de residência e fluido biológico foi considerado como desafios críticos para as suas aplicações (ENGLAND, 1998).

De acordo com Kakran, Sahoo e Li (2011), pluronic® F127, PVP e ciclodextrinas foram usados como carreadores para a elaboração de dispersão sólida contendo quercetina, a fim de torná-la mais solúvel. A obtenção destas dispersões foi feita pela técnica de evaporação de solventes para incorporar a quercetina nestes carreadores a fim de se obter sua forma amorfa. A caracterização da quercetina dos carreadores, da mistura física e das DS foi realizada por infravermelho, raios-X, termogravimetria, calorimetria diferencial de varredura e microscopia eletrônica. Os pesquisadores realizaram também o teste de dissolução e concluíram que houve um aumento da solubilidade da quercetina para as formas amorfas nos carreadores descritos acima (KAKRAN; SAHOO; LI, 2011). No entanto, é importante destacar que nessa pesquisa não foram usados o polietilenoglicol 4000 (PEG 4000) e a hidroxipropilmetilcelulose (HPMC) como carreadores. Além disso, a

espectroscopia de Raman tem sido pouco empregada nas análises de dispersões sólidas.

Outro estudo, realizado por Li e colaboradores (2012), utilizou as dispersões sólidas com derivados de celulose como carreadores com a quercetina. O objetivo deste estudo foi tornar a forma cristalina deste flavonoide em amorfa, uma vez que esta demonstrou ser a mais solúvel. Para efeito de comparação com os derivados de celulose, foi elaborada também uma dispersão sólida da quercetina em polivinilpirrolidona usando a técnica de *spray-dried*. A caracterização foi feita através das técnicas de raios X, infravermelho, ressonância magnética nuclear, além dos testes de dissolução e doseamento por espectroscopia ultravioleta. Os pesquisadores concluíram que as dispersões sólidas obtidas com derivados de celulose em concentração maior que a metade da relação princípio ativo/carreador apresentaram amorfização da quercetina na qual foram creditadas um aumento na solubilidade. Porém, quando comparadas as dissoluções entre as DS obtidas com o PVP e derivados de celulose, observaram que a desintegração destas últimas demoraram mais tempo, enquanto aquelas obtidas com PVP desintegraram mais rapidamente (LI et al., 2012).

2.3.3 Estabilidade de dispersões sólidas

Formas amorfas são termodinamicamente instáveis em relação às formas cristalinas e, desta forma, sólidos apresentam uma tendência espontânea a se converterem em sua forma cristalina. Esta transição pode ocorrer durante a estocagem, sob diferentes condições de umidade e temperatura (BHUGRA; PIKAL, 2008), bem como durante o contato com o meio de dissolução (ALONZO et al., 2010). Ambos os casos invalidam as vantagens conferidas pela utilização de um sistema amorfo, sendo necessário inibir a cristalização ao longo do tempo de estocagem do produto e manter um nível suficiente de supersaturação na administração oral (NEWMAN; KNIPP; ZOGRAFI, 2012). Uma estratégia interessante para aumentar a estabilidade física deste sistema é utilizar DS amorfas. Nestes sistemas, fármaco e polímero solúveis em água são combinados a fim de gerar uma mistura amorfa com apenas uma fase (PADDEN et al., 2011). Uma miscibilidade entre ambos os componentes parece ser imprescindível para a

manutenção da estabilidade física em longo prazo, bem como níveis apropriados de supersaturação no sítio de absorção (NEWMAN; KNIPP; ZOGRAFI, 2012).

A capacidade dos polímeros de inibir a cristalização em amostras estocadas pode estar relacionada com a temperatura de transição vítrea (T_g) destes em relação àquela do fármaco. Além disso, a capacidade dos polímeros de aumentar a T_g da dispersão reduz a mobilidade molecular do fármaco nas condições de temperatura e umidade comumente encontradas (BHUGRA; PIKAL, 2008). Neste sentido, polímeros que interagem fortemente com fármacos, quando da constituição de DS, geralmente ocorrem através do estabelecimento de ligações de hidrogênio que inibem a cristalização mesmo em baixas concentrações (HANCOCK; SHAMBLIN; ZOGRAFI, 1995). Nestes sistemas, o efeito da T_g não é significativo e as ligações de hidrogênio proporcionam estabilidade por interferirem diretamente nos processos de nucleação e crescimento dos cristais. A forte energia de interação também fornece maior resistência à cristalização (HANCOCK; SHAMBLIN; ZOGRAFI, 1995).

A mobilidade molecular é um dos principais fatores determinantes da estabilidade de substâncias amorfas e a sua reatividade química pode estar relacionada com essa mobilidade que, quando aumentada, pode promover maior degradação química (YOSHIOKA; ASO, 2007). Neste contexto, a redução da mobilidade molecular tem sido proposta como estratégia para melhorar a estabilidade durante a estocagem. No entanto, nem sempre uma redução da mobilidade molecular aumenta a estabilidade durante a estocagem, pois diferentes fatores podem influenciar este parâmetro. Logo, reações químicas nas quais a mobilidade molecular tem pouca influência não poderão ser inibidas. Além disso, a compreensão da relação quantitativa entre mobilidade e reatividade química não fornece apenas informações úteis para uma estabilização destes sistemas, como também permite entender se métodos avançados podem ser utilizados na predição da estabilidade durante a estocagem. Caso a reatividade química de uma determinada substância seja afetada pela mobilidade molecular relacionada à transição vítrea, sua estabilidade durante a estocagem pode ser prevista baseando-se neste fator, mas não pode ser detectada por testes de estabilidade acelerada. Se a reatividade química não for afetada pela mobilidade molecular relacionada à transição vítrea, a estabilidade de estocagem pode ser prevista pela extrapolação dos dados obtidos a partir de condições aceleradas (YOSHIOKA; ASO, 2007).

No momento em que as DS encontram o meio de dissolução *in vitro* ou *in vivo*, a supersaturação da solução deve ser mantida ao longo do tempo, o que garantirá uma completa dissolução e um aumento da biodisponibilidade (BROUWERS; BREWSTER; AUGUSTIJNS, 2009). Além disso, caso o fármaco e o polímero se dissolvam muito rapidamente, a supersaturação deve ser mantida por fatores que incluam o polímero dissolvido, o qual deve ser capaz de inibir a nucleação, bem como o crescimento do cristal em solução (CURATOLO; NIGHTINGALE; HERBIG, 2009).

2.4 MÉTODOS PARA CARACTERIZAÇÃO DE DISPERSÕES SÓLIDAS

Com intuito de aumentar a solubilidade e a dissolução, as dispersões sólidas têm sido uma importante estratégia para vários fármacos nos últimos anos. No entanto, problemas de instabilidade física limitam sua aplicação comercial, pois a conversão espontânea de formas de alta energia (amorfas) em formas mais estáveis e menos solúveis torna-se o principal inconveniente desse tipo de preparação. Dessa forma, a utilização de métodos de análises para monitorar esta estabilidade física são de suma importância durante o processo de otimização de novas formulações. Estas ferramentas de análises proporcionam evidências diretas das alterações que ocorrem, nos níveis molecular e intermolecular, em determinada amostra, tal como a cristalização de uma matriz de dispersão (por exemplo, pico de difração do cristal, variações nas características térmicas, alterações nas vibrações de ligações intermoleculares). Nos casos dos métodos quantitativos, os efeitos de diferentes fatores que interferem na tendência e na taxa de cristalização podem ser estimados, tais como o tipo de polímero e as condições ambientais de estocagem (PALERMO; ANDERSON; DRENNEN, 2012). Cabe ressaltar que nenhum destes métodos é efetivo quando tratado isoladamente com o propósito de caracterizar um sistema sólido e, desta forma, uma análise conjunta dos resultados obtidos com as diferentes técnicas deve ser realizada.

2.4.1 Difração de raios-X

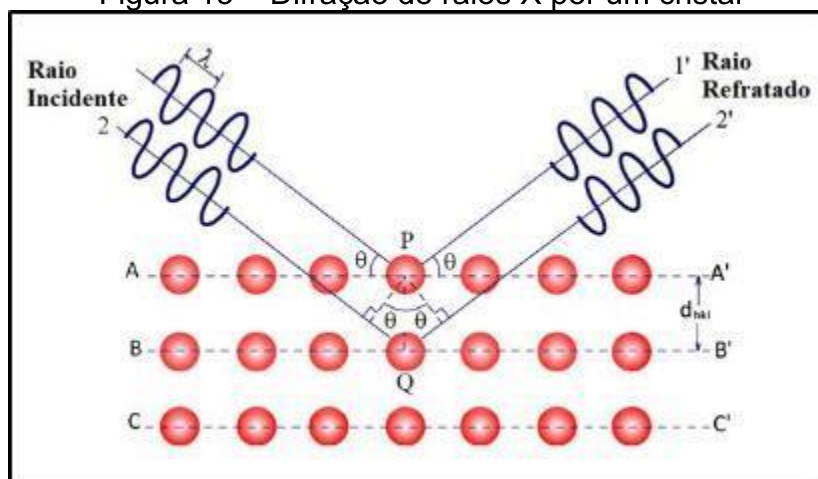
A compreensão da natureza polimorfa de um fármaco ou excipiente é de fundamental importância para o delineamento das formulações farmacêuticas. O fármaco pode sofrer alterações da forma cristalina durante as operações unitárias às quais ele é submetido, tais como secagem do granulado, moagem e compactação (CLAS et al., 1999; YOSHIHASHI et al., 2000). Essas alterações podem interferir nas propriedades físico-químicas do fármaco, como temperatura de fusão, densidade, solubilidade, estabilidade física ou química, dissolução e biodisponibilidade (NERY et al., 2008).

A análise de propriedades no estado sólido de fármacos e formulações torna-se relevante para estudos de pré-formulação, sendo empregada inclusive nos ensaios de controle de qualidade e assuntos regulatórios (RIEKES, 2013). Neste sentido, alguns métodos podem ser empregados para a caracterização do fármaco ou formulações, dentre elas a calorimetria exploratória diferencial, a espectroscopia de infravermelho e a difração de raios-X (DRX). O uso destes métodos produz informações úteis a respeito da morfologia do polímero cristalino e sobre o estado de dispersão sólida ou molecular do fármaco associado a sistemas poliméricos (SCHAFFAZICK et al., 2003).

Difração de raios-X (DRX) é uma técnica empregada para determinar a natureza cristalina de sólidos, sendo uma ferramenta importante para caracterização de complexos de inclusão (VEIGA; PECORELLI; RIBEIRO et al., 2006). É largamente utilizada na caracterização da estrutura de materiais e amostras policristalinas, identificação e quantificação de fases cristalinas, avaliação de tamanho de partícula e detecção de defeitos em redes cristalinas. Dentre as vantagens desta técnica, destacam-se a rapidez de obtenção dos dados, simplicidade, confiabilidade e o fato de não ser destrutiva (VARIANKAVAL; JACOB; DINH, 2000; SUN; GRANT, 2001; MAURIN et al., 2002; BARTOLOMEI et al., 2006).

O método de DRX baseia-se em um fenômeno de interação entre o feixe de raios X incidente e os elétrons dos átomos componentes de um material, a partir do qual se geram feixes de fótons difratados que serão detectados (figura 13). O fenômeno de difração está diretamente relacionado com a distância que separa os planos em um cristal, obedecendo à lei de Bragg (equação 1) (CULLITY; STOCK, 2001). Quando um feixe de raios X incide sobre um cristal constituído de planos atômicos sucessivos gera um ângulo de difração característico (CULLITY, 1978).

Figura 13 – Difração de raios X por um cristal



Fonte: FIGUEIREDO, 2012.

Equação 1:

$$n \lambda = 2 d \operatorname{sen} \theta$$

Onde:

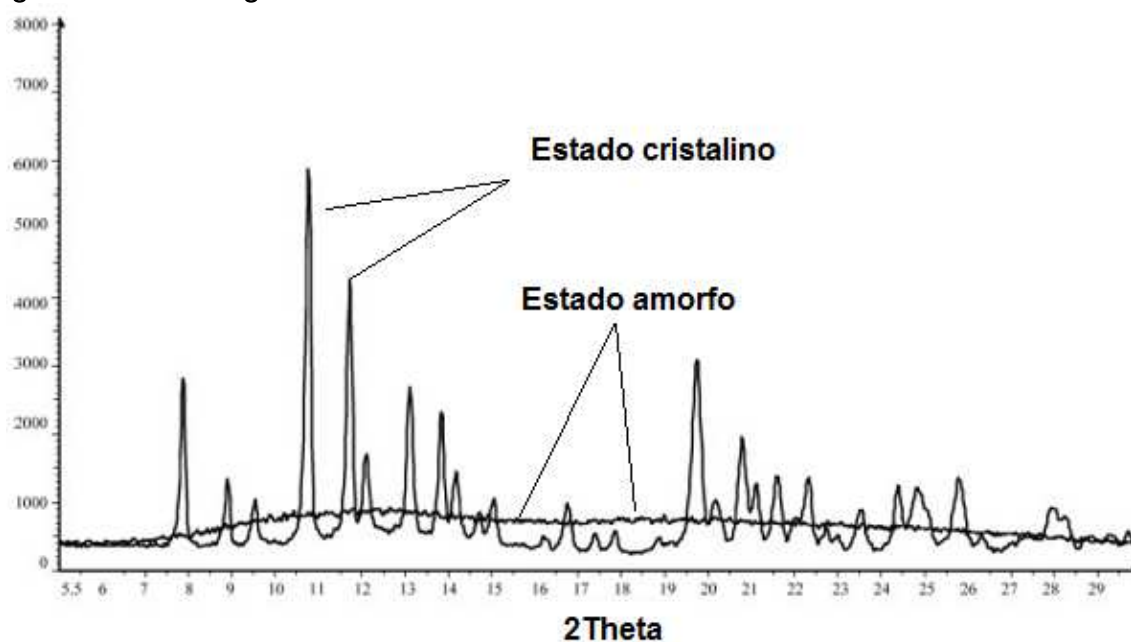
 d é a distância entre planos do cristal θ é o ângulo de difração dos raios-X λ é o comprimento de onda dos raios-X n é o número de comprimentos de onda utilizados.

Os difratogramas gerados são característicos e distintos para cada substância, bem como os planos de difração e suas respectivas distâncias interplanares. Além disso, as densidades dos átomos ou elétrons ao longo de cada plano cristalino são determinadas como características específicas e únicas para cada cristal específico (ALBERS et al., 2002).

No que se refere à identificação de materiais usando DRX, a Farmacopeia Americana define que, para assegurar a identidade entre uma amostra teste e sua referência, os valores de 2θ para as reflexões mais intensas devem ser reproduzíveis em aproximadamente $\pm 0,10^\circ$, podendo as intensidades relativas variarem devido ao preparo da amostra e condições experimentais (USP, 2011). Neste sentido, DRX tem sido comumente usada no monitoramento da forma cristalina de um fármaco durante os vários estágios de desenvolvimento de uma formulação farmacêutica, uma vez que quaisquer mudanças de fase devido à interconversões polimórficas, dessolvatações, formação de hidratos e mudanças no grau de cristalinidade podem alterar a solubilidade do fármaco (KARJALAINEN et al., 2005).

Outro aspecto interessante do uso de DRX é a caracterização e quantificação de polimorfos (YU; REUTZEL; STEPHENSON, 1998). Esta técnica é considerada de referência quando associada à análise térmica para determinar diferenças de ordem molecular (periodicidade de átomos ou moléculas em cristais) ou diferenciar substâncias amorfas de cristalinas (BYARD et al., 2005). Nos difratogramas, as formas amorfas aparecem como bandas largas sem picos, resultando em um amplo halo amorfo (figura 14). Por outro lado, a repetição de estruturas cristalinas construtivamente difrata os raios-X de modo que picos agudos com ângulos específicos poderão ser observados, o que facilita a rápida identificação da amostra (PALERMO; ANDERSON; DRENNEN, 2012).

Figura 14 - Difratogramas de raios-X de um fármaco nos estados cristalino e amorfo



Fonte: Adaptado de BYARD et al., 2005

A DRX apresenta-se como uma técnica imprescindível na caracterização de dispersões sólidas, uma vez que permite a determinação do grau de cristalinidade das amostras, que pode ser alterado favoravelmente do estado cristalino para o amorfo durante a sua obtenção. Pode também revelar eventos de recristalização polimórfica que possam ocorrer durante ou após o processamento (DONG; BOYD, 2011).

2.4.2 Espectroscopia de infravermelho

A espectroscopia de absorção na região do infravermelho (IV) permite a identificação de uma substância orgânica pelos grupos funcionais presentes no material em análise. Baseia-se na medida da energia absorvida para excitação dos diferentes estados vibracionais de uma molécula (LOPES; FASCIO, 2004; AMORIM; KLIER; ANGELIS, 2013).

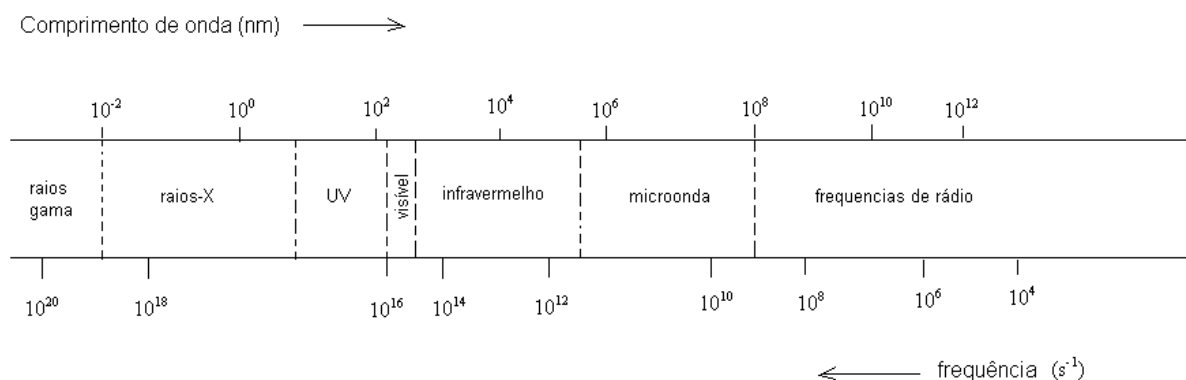
Diferentemente das radiações nas regiões do ultravioleta e do visível, que ao incidirem sobre uma molécula causam transições eletrônicas, a radiação infravermelha produz alteração nos estados vibracionais e rotacionais das moléculas. Assim essa radiação, com número de ondas entre 10000 e 100 cm^{-1} , ao ser absorvida por uma substância é transformada em energia vibracional e aquela com número de ondas de 100 cm^{-1} (menor energia) é convertida em energia de rotação molecular (BARBOSA, 2004). Além disso, o espectro na região de 4000 a 400 cm^{-1} , que é a região mais importante do ponto de vista da caracterização de substâncias orgânicas, normalmente, apresenta bandas de absorção em vez de linhas, isso ocorre porque, para cada mudança de nível vibracional está associada uma série de transições rotacionais (BARBOSA, 2004).

Em decorrência de algumas limitações, a espectroscópica de IV era pouco utilizada em análises quantitativas. Porém, com o uso da transformada de Fourier, aliada à evolução de técnicas quimiométricas, ao advento dos microprocessadores digitais e de técnicas computacionais avançadas, permitiu-se a análise de misturas complexas. A identificação destas substâncias pode ser alcançada tanto quantitativamente como qualitativamente através da espectroscopia por refletância difusa no infravermelho com transformada de Fourier (SOUZA; FERRÃO, 2006).

A espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) ou espectroscopia IV tem uma larga faixa de aplicações que vai desde a análise de moléculas pequenas até sistemas complexos como células e tecidos (BERTHOMIEU; HIENERWADEL, 2009). É uma das espectroscopias vibracionais que sofreu grandes avanços principalmente pelo fato de que os espectrômetros de infravermelho são facilmente encontrados na maioria dos laboratórios de pesquisa, pela possibilidade de usar a amostra em estado sólido amorfo ou cristalino, soluções aquosas, solventes orgânicos, filmes, pastilhas de KBr e membranas (FORATO et al., 2010). Assim como qualquer técnica espectroscópica, a espectroscopia de IV é devida à interação da radiação com a matéria através de acoplamento do campo

elétrico oscilante da vibração molecular e o da radiação incidente. A faixa de radiação do infravermelho, no espectro eletromagnético, ocorre entre o visível e microondas (figura 15), sendo que a região de 4000 a 400 cm^{-1} é mais empregada (FORATO et al., 2010).

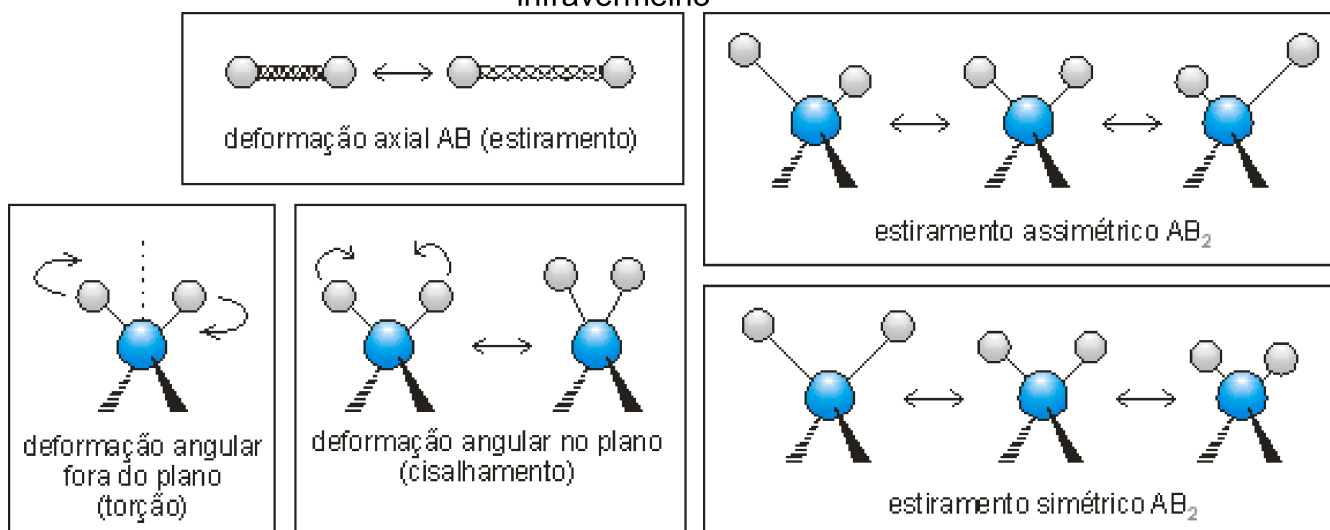
Figura 15 - Representação esquemática do espectro eletromagnético.



Fonte: adaptado de FORATO et al., 2010.

Para que uma determinada molécula apresente absorção no IV, suas vibrações moleculares devem resultar numa alteração do momento dipolar. As vibrações moleculares podem ser classificadas em deformações axiais ou estiramentos e deformações angulares (figura 16). Os estiramentos são as alterações da distância internuclear dos átomos envolvidos, ou seja, aumento e diminuição dessa distância, alternadamente. As deformações angulares podem consistir de uma mudança no ângulo de ligação com um grupo de átomos ou o movimento de um grupo de átomos em relação ao restante da molécula.

Figura 16 – Classificação das vibrações moleculares na espectroscopia de infravermelho



Fonte: <http://www.reocities.com/Vienna/choir/9201/espectrometria2.htm>

O número de modos vibracionais de uma molécula é determinado de acordo com seus graus de liberdade de vibração. Por exemplo, uma molécula não linear (de n átomos) tem $3n-6$ graus de liberdade vibracionais, enquanto moléculas lineares apresentam $3n-5$ graus de liberdade vibracionais (CANTOR; SCHIMMEL, 1980). Uma molécula triatômica como a água apresenta três vibrações fundamentais ($3 \times 3 - 6 = 3$): estiramento simétrico e assimétrico e deformação do tipo tesoura, com absorções em 3652 , 3756 e 1596 cm^{-1} , respectivamente.

No caso de uma molécula linear como o CO_2 há 4 modos vibracionais ($3 \times 3 - 5 = 4$), entretanto, o modo simétrico de estiramento é inativo no IV uma vez que esse modo vibracional não resulta numa alteração do momento de dipolo da molécula (CANTOR; SCHIMMEL, 1980; SILVERSTEIN; BASSLER; MORRIL, 2005). Por outro lado, quando há interesse sobre um grupo funcional específico que pertence a uma molécula, a regra dos $3n-6$ graus de liberdade não é aplicável, pois se trata de uma pequena porção da molécula. Dessa forma, devem aparecer vários modos vibracionais.

As transições vibracionais normalmente observadas num espectro de IV são conhecidas como transições fundamentais que geram as bandas características que ocorrem entre o nível fundamental vibracional da molécula e o seu primeiro estado excitado, respeitando a regra de seleção para osciladores harmônicos. (CANTOR; SCHIMMEL, 1980; SILVERSTEIN; BASSLER; MORRIL, 2005).

Em 2007, Zheng e colaboradores utilizaram a espectroscopia no IV para caracterizar dispersões sólidas contendo nimodipina e observaram indícios de formação de ligações de hidrogênio em algumas das formulações (ZHENG et al, 2007)

A espectroscopia de IV tem sido muito utilizada para identificar a natureza e a extensão das interações químicas que ocorrem em dispersões sólidas (VAN DEN MOOTER et al.; 1998). A utilização desse método parte da premissa que a mistura de dois componentes em nível molecular deverá ocasionar mudanças nas oscilações do dipolo das moléculas e estas se manifestam no espectro sob a forma de alterações na frequência e na largura das bandas dos grupos integrantes. Dessa forma, se os grupos funcionais do fármaco e do carreador interagem, então o espectro de infravermelho dos grupos deverá apresentar as bandas deslocadas e achatadas quando comparadas com os espectros individuais dos componentes da mistura (SANTOS, 2008).

Para fins de análise, um espectro no infravermelho pode ser dividido nas regiões de 4000 a 1300 cm^{-1} (região 1), de 1300 a 900 cm^{-1} (região 2) e de 900 a 500 cm^{-1} (região 3). A região 1 é denominada região de grupos funcionais, como OH, NH e C=O. Embora as posições exatas das bandas variem ligeiramente em função de fatores espaciais e eletrônicos. A região 2 é geralmente muito complexa, sendo muitas bandas originadas de modos vibracionais acoplados e vibrações referentes ao esqueleto carbônico das moléculas. Dentre as absorções mais importantes nessa região estão aquelas decorrentes do estiramento da ligação C-O de álcoois, fenóis, éteres e ésteres. A região 3 geralmente apresenta bandas fortes nos casos de compostos aromáticos heteroaromáticos e alquenos. Essas bandas são devidas à deformação de ligação de =C-H (BARBOSA, 2004). De acordo com a Tabela 3, observa-se alguns exemplos dos principais modos vibracionais de determinadas substâncias.

Tabela 3 - Absorções características de alguns grupos funcionais mais comuns

Ligação ou Função	Faixa de absorção	Atribuição	Comentários
O-H	3650-3600 (m,a)*	vO-H	Álcoois, fenóis em solução diluída e sem realizar ligação de hidrogênio.
	3400-3200 (m,l)*		Álcoois e fenóis associados por ligações de hidrogênio.
	3400-2500 (m,l)*	v=C-H	Ácido carboxílico
	3080-3010 (m,a)*		
Aromático	900-650 (F, m)*	γ C-H	O número e a posição das bandas permitem a identificação do padrão de substituição do anel benzênico
C-O	1300-1000 (F)*	vC-O	Típica de éteres, álcoois, fenóis, ácidos graxos, ésteres e anidridos.
C=C Alqueno	1680-1620 (f,m)	vC=C	As bandas são sempre agudas.
	1600, 1500, 1450 (v,a)*	vC=C	O número de bandas varia em função do padrão de substituição do anel.
Alcano	3000-2850 (F)*	vC-H	Várias bandas devidas a estiramento simétrico e assimétrico de ligações C-H de grupos CH ₃ , CH ₂ e CH de alcanos e grupos alquilas.

*Abreviações utilizadas para intensidade e formato das bandas: F = forte; f = fraca; m = média; v = variável; l = larga; a = aguda.

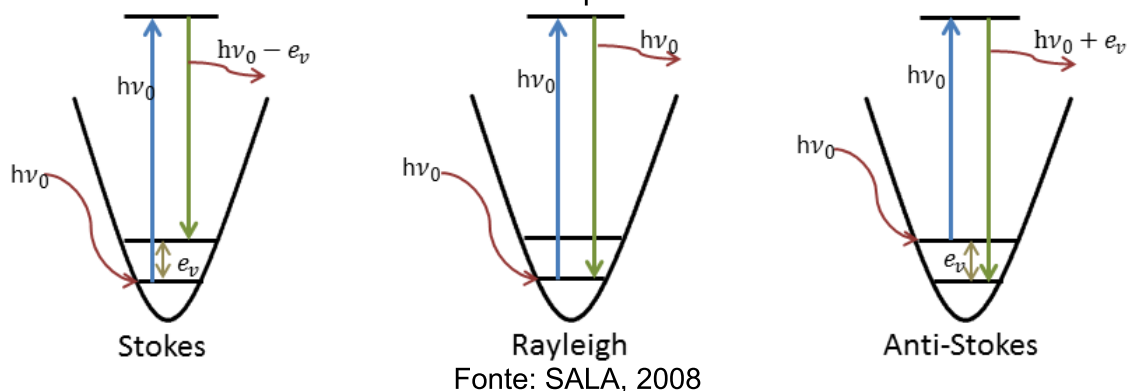
Fonte: adaptado de BARBOSA, 2004

2.4.3 Espectroscopia Raman

A Espectroscopia Raman dispersiva usa radiação de laser com energia próxima à do infravermelho para excitar uma dada amostra e medir a luz emitida pela mesma. Grande parte da luz espalhada pode ter a mesma frequência que a luz incidente (espalhamento Rayleigh – elástico). Entretanto, uma pequena fração da luz incidente ($h\nu_i$) pode ter sua energia diminuída ($h(\nu_i - \nu_R)$ Stokes) ou aumentada ($h(\nu_i + \nu_R)$ anti-Stokes) (espalhamento Raman – inelástico) (figura 17). Visto que a energia da luz é proporcional à frequência, a mudança de frequência da luz

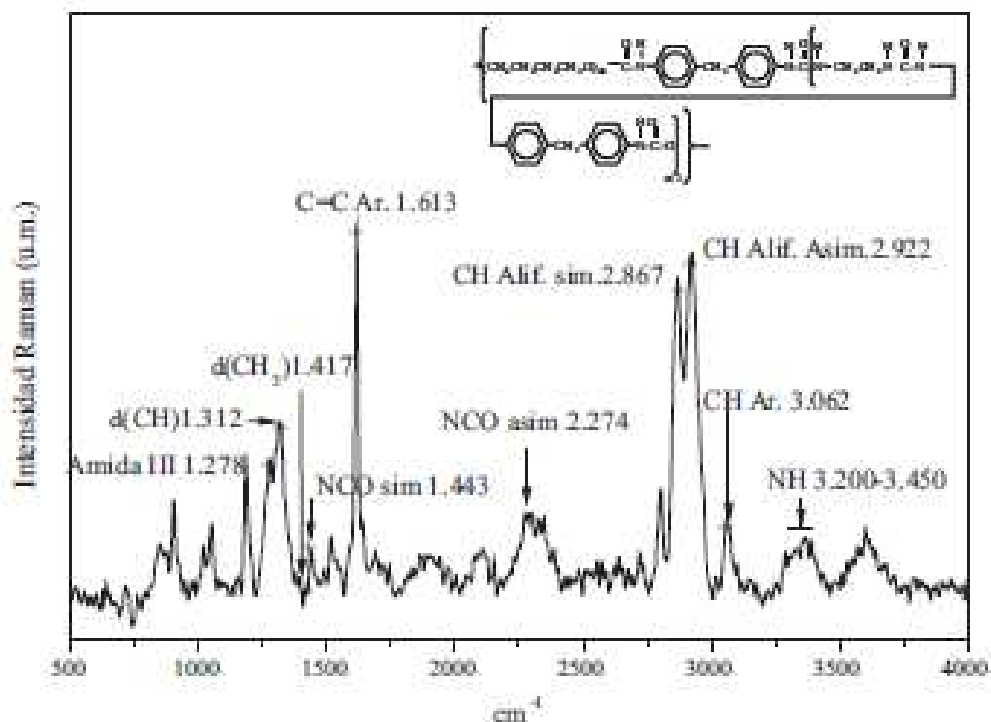
espalhada inelasticamente é igual à frequência vibracional da molécula espalhada. (SOUZA et al, 2003)

Figura 17 - Esquema descrevendo os princípios básicos da absorção no infravermelho e o espalhamento Raman



Esse processo de troca de energia entre molécula, luz espalhada e luz incidente é conhecido como efeito Raman. Do ponto de vista energético, o processo de espalhamento Raman pode ser descrito como a transição de uma molécula do estado fundamental para um estado vibracional excitado, acompanhada por uma absorção simultânea de um fóton incidente e emissão de um fóton espalhado (Raman). A luz Raman espalhada pode ser coletada por um espectrômetro, onde sua intensidade é mostrada em função de sua mudança de frequência (deslocamento Raman). Visto que cada amostra molecular possui seu próprio conjunto vibracional molecular, o espectro Raman de uma amostra em particular consistirá de uma série de picos. Cada um é deslocado pela sua frequência vibracional característica daquela molécula, fornecendo assim a identificação para a molécula que está sendo estudada. O deslocamento Raman é frequentemente medido em número de onda (cm^{-1}), uma unidade conveniente para relacionar a mudança de frequência da luz espalhada em relação à frequência da luz incidente sobre substâncias, detectando assim grupos funcionais, como, por exemplo, do poliuretano de ureia (figura 18) (SOUZA et al., 2003).

Figura 18 – Espectro Raman para o poliuretano de ureia



Fonte: CUELLAR BURGOS et al., 2010

O método de Raman irradia a amostra com a radiação de comprimentos de onda mais curtos e mede a fração de radiação espalhada para o qual a energia do fóton mudou. Os espectros vibracionais podem servir como impressões digitais de estrutura, composição, interações e dinâmica. O inverso do comprimento de onda, de números de onda (cm^{-1}), é normalmente usado para caracterizar a energia no campo da espectroscopia vibracional (figura 18) (ANDERSEN; MARKHAN, 2006).

A espectroscopia Raman está baseada no espalhamento inelástico de radiação monocromática e, portanto, depende de uma fonte de radiação (tipicamente *lasers*), de um elemento discriminador da radiação inelasticamente espalhada (rede de difração ou interferômetro, na maioria dos casos) e de um detector (usualmente uma câmera Charge Copled Device). Se a esses componentes for acrescentado um microscópio óptico ter-se-á a possibilidade de análise de áreas muito pequenas no objeto (poucos μm^2) ou de investigação de amostras de dimensões micrométricas que são as principais vantagens da espectroscopia de Raman (FARIA, 2012).

Métodos de espectroscopia Raman têm sido efetivos na diferenciação de formas amorfas e cristalinas de um mesmo fármaco (HU et al., 2007). Além disto, a técnica pode ser utilizada para monitorar e quantificar transições de fase no estado

sólido *in situ* que ocorrem durante a dissolução de fármacos amorfos (SAVOLAINEN et al., 2009).

As interações entre polímero e água, bem como entre fármaco e polímero, podem ser visualizadas por esta técnica. Polímeros polares e outros excipientes solúveis em água podem absorver quantidades significativas de água, aumentando a plasticidade e as trocas estruturais que, por sua vez, afetam a mobilidade do fármaco disperso. Além disso, a absorção de água pode potencializar a degradação de fármacos (KARARLI; CATALANO, 1990). Interações entre água e polímeros têm sido confirmadas por deslocamento dos picos da carbonila. Por exemplo, quando os polímeros polivinilpirrolidona (PVP) e polivinilálcool (PVA) são considerados, a cadeia lateral pirrolidona estabelece interações com a água mais fortes que sua cadeia acetato (TAYLOR; LANGKILDE; ZOGRAFI, 2001).

As interações químicas intermoleculares entre fármaco e excipientes nas dispersões sólidas (DS) são comumente relatadas, porém, pouco compreendidas. A miscibilidade molecular esperada nas DS requer alguma interação, que pode ser específica (ex.: ligações de hidrogênio e interações íon-dipolo) ou não específicas (ex.: forças de Van der Waals). Exemplos de DS estabilizadas por interações químicas intermoleculares incluem fármacos com grupos doadores de hidrogênio e excipientes com um anel pirrolidona (TAYLOR; ZOGRAFI, 1997).

Nas análises espectroscópicas, com o propósito de se observar interações entre polímero e fármaco, picos de grupos funcionais específicos e com modos de vibração distintos têm sido selecionados e monitorados quanto aos seus deslocamentos e alterações de intensidade (FORSTER; HEMPENSTALL; RADES, 2001). Quanto menor a proporção de fármaco relativamente à de polímero, mais difícil será a identificação dos sinais espectrais do fármaco e, desta forma, técnicas complementares se mostram necessárias para a validação dos dados obtidos.

Uma importante vantagem da espectroscopia de Raman é que o objeto é estudado diretamente na platina do microscópio, não requerendo, via de regra, qualquer tipo de tratamento ou manipulação. Outro aspecto relevante é o fato da técnica ser pouco sensível à água, permitindo o estudo, inclusive, de soluções aquosas. Como limitações, esta técnica apresenta contra si o fato da pequena sensibilidade, o que requer o uso de detectores sensíveis, e a grande susceptibilidade à interferência causada pela luminescência (como fluorescência e

fosforescência, por exemplo) que é geralmente muito mais intensa que o sinal Raman (FARIA, 2012).

2.4.4 Ressonância magnética nuclear

O fenômeno de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) foi descoberto há cerca de 50 anos e se transformou em uma das técnicas espectroscópicas mais usadas e poderosas na caracterização de substâncias químicas, na determinação de estruturas e dinâmica molecular de sólidos, na determinação de propriedades de líquidos e gases, no estudo de moléculas biológicas e na medicina possibilitando gerar imagens do corpo humano e determinação de doenças. Como consequência dessas múltiplas aplicações, a RMN vem se desenvolvendo continuamente desde o seu descobrimento (BONK, 2005).

A espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN) é uma ferramenta muito potente no estudo de caracterização de materiais, principalmente no estado sólido. Tendo em vista que a RMN no estado sólido é constituída de várias técnicas, que se diferenciam por diversas sequências de pulsos e geram respostas distintas, é possível obter dados em diferentes escalas de tempo (PASSOS et al., 2011).

A aplicação de técnicas para a obtenção de espectros de RMN de alta resolução de amostras em solução ou sob forma sólida, conduz a espectros largos e inexploráveis. Isso provém do fato de que, no estado sólido, ocorre a diminuição dos movimentos moleculares que, em solução, permitem na maior parte dos casos considerar como zero as interações entre os dipolos nucleares. Assim como as constantes de acoplamento escalares, da ordem de *hertz*, são os fatores determinantes dos desdobramentos observados nos espectros de RMN de moléculas em solução, os acoplamentos devidos às interações dipolares, da ordem de kHz, são as interações que dominam os espectros de RMN de amostras no estado sólido (AGUIAR et al., 1999).

Em consequência da complexidade de suas estruturas moleculares ou por causa da pequena diferença entre unidades isoméricas, a investigação de moléculas e macromoléculas no estado sólido requer boa resolução espectral. Os deslocamentos químicos no espectro de RMN são muito sensíveis à estrutura e conformação da molécula, enquanto as interações intermoleculares, a troca química,

as mudanças de conformação e os tempos de relaxação são sensíveis à dinâmica molecular. Por estes motivos, RMN do estado sólido é uma espectroscopia muito útil ao estudo de polímeros (BATHISTA, 2005).

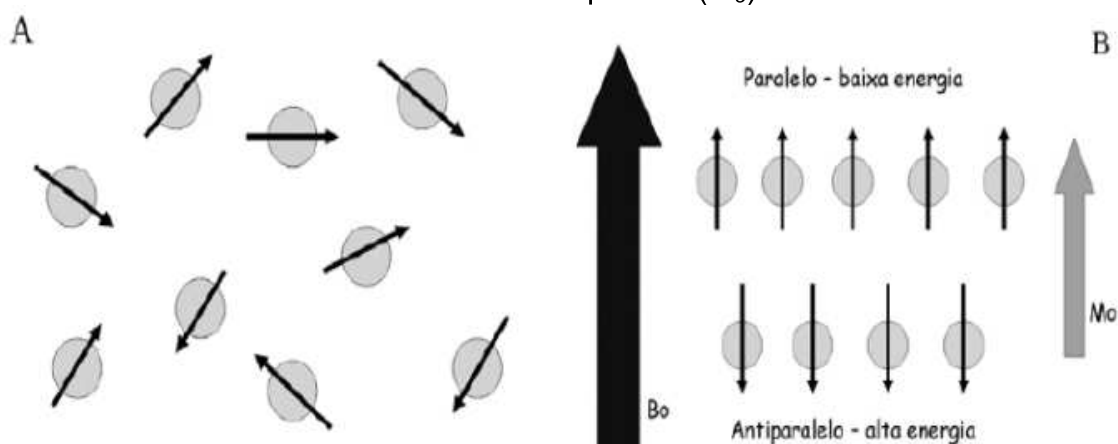
Com o desenvolvimento da instrumentação de RMN para a análise de amostras sólidas, a aplicação desta técnica na indústria farmacêutica tomou um grande impulso, já que aproximadamente 90% dos fármacos são comercializados sob esta forma (AGUIAR et al., 1999).

Na espectroscopia de RMN, o núcleo mais simples é o do hidrogênio, o qual consiste em um único próton. Esta técnica como todas as formas de espectroscopia, trata-se da interação da radiação eletromagnética com a matéria. Entretanto, RMN diferencia-se da espectroscopia óptica em vários aspectos fundamentais, tais como: primeiro, a separação entre os níveis de energia $\Delta E = \gamma \hbar B_0$ é um resultado da interação do momento magnético μ de um núcleo atômico com um campo magnético B_0 aplicado; segundo, a interação é com a componente magnética da radiação eletromagnética em vez da componente elétrica. Sendo que o efeito de RMN ocorre para núcleos que possuem momentos magnéticos e angulares, μ e J , respectivamente. Os núcleos apresentam momentos magnéticos e angulares paralelos entre si, respeitando a expressão $\mu = \gamma J$, onde γ é o fator giromagnético. O momento angular J é definido, quanticamente, por $J = \hbar I$, onde I é um operador adimensional, também denominado de momento angular ou spin, cujos valores podem ser somente números inteiros ou semi-inteiros 0, 1/2, 1, 3/2, 2. A separação entre os níveis de energia $\Delta E = \gamma \hbar B_0$ é um resultado da interação do momento magnético μ do núcleo atômico com o campo magnético B_0 aplicado. Na espectroscopia de RMN é possível controlar a radiação eletromagnética (faixa de radiofrequência ou RF) e descrever a interação desta radiação com os spins nucleares do sistema. Isto contribuiu em grande parte para o desenvolvimento do grande número de técnicas utilizadas em RMN. Quase todos os elementos químicos têm ao menos um isótopo com um núcleo atômico que possui momento magnético μ , e quando este é colocado em um campo magnético externo, e a ele for aplicada uma excitação com frequência igual a sua frequência de precessão (ν_0), tal núcleo é retirado de seu estado de equilíbrio. Após a retirada do campo de RF, este núcleo tende a voltar ao seu estado fundamental de equilíbrio através dos processos de relaxação spin-rede (T1) e relaxação spin-spin (T2) (BATHISTA, 2005).

Embora em solução, tanto o hidrogênio quanto o carbono-13 sejam estudados, as fortes interações dipolares H-H presentes na molécula no estado sólido tornam difícil a obtenção de espectros de hidrogênio nesse estado. Dessa forma, o carbono-13 passa a ser o núcleo mais usado. Os valores dos deslocamentos químicos de carbono-13, que podem ser observados em amostras sob forma sólida, podem ser influenciados por vários fatores, tais como o empacotamento do cristal, ligação hidrogênio, efeitos iônicos, mudanças conformacionais e outros (AGUIAR et al., 1999).

Normalmente, os prótons têm uma orientação completamente aleatória. Seus pequeníssimos vetores de momento magnético apontam em todas as direções e se cancelam de forma que nenhum momento magnético é produzido (Figura 19a). Porém, se colocados em um campo magnético externo (B_0) poderoso, os spins se alinham na mesma direção do campo magnético, no mesmo sentido do seu vetor ou em sentido contrário. Um número um pouco maior de spins se alinha no mesmo sentido (em um estado de menor energia) do que em sentido oposto (estado de maior energia). Esse predomínio cria uma pequena magnetização resultante de equilíbrio (M_0) (Figura 19b). É esse pequeno, mas constante desequilíbrio, ou magnetização resultante, que torna possível a RMN (HAGE; IWASAKI, 2009).

Figura 19 – Orientação dos prótons antes e após aplicação do campo magnético. (A) Representação dos prótons de forma aleatória: os vetores se cancelam não havendo formação de momento magnético; (B) Alinhamento dos prótons após serem colocados sob um campo magnético forte (B_0), criando uma pequena magnetização resultante de equilíbrio (M_0).



Fonte: HAGE; IWASAKI, 2009.

Por outro lado, a combinação de três técnicas permite fazer a espectroscopia de alta resolução de RMN em estado sólido: Polarização Cruzada (*Cross Polarization* - CP); Desacoplamento (*Decoupling* - DEC) e Giro ao Ângulo Mágico (*Magic Angle Spinning* - MAS). Estas técnicas se baseiam na distribuição das interações de spin nuclear que alargam os espectros de RMN. Para solucionar os problemas de baixa sensibilidade e longos tempos de relaxação longitudinal para núcleos de pequeno fator magnetogírico e baixa abundância natural em um único experimento, é necessária a combinação destas três ferramentas (CP/MAS/DEC) onde obtém espectros de RMN do ^{13}C de alta resolução no estado sólido (BATHISTA, 2005).

Considerando-se os aspectos teóricos envolvidos na RMN de alta resolução no estado sólido e as necessidades da indústria farmacêutica no campo da qualidade dos produtos, o uso dessa técnica combinada aquelas que caracterizam o estado sólido, como a análise térmica, a microscopia eletrônica, a espectrometria na região do infravermelho e a cristalografia de raios X de substâncias amorfas ou cristalinas, constitui um arsenal valioso para a avaliação criteriosa de fármacos para a produção de medicamentos (AGUIAR et al., 1999).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

O objetivo deste trabalho foi desenvolver e caracterizar dispersões sólidas contendo quercetina e analisar através de métodos espectroscópicos de difração de raios-X, infravermelho, Raman e ressonância magnética nuclear de sólidos com intuito de obter preparações no estado amorfo para uma melhor solubilidade e bioaproveitabilidade em formulações farmacêuticas.

3.2 Objetivos específicos

Preparar dispersões sólidas contendo quercetina incorporadas aos carreadores de polietilenoglicol, hidroxipropilmetilcelulose e pluronic F127.

Caracterizar as dispersões sólidas por espectroscopia de difração de raios-X, infravermelho, Raman e ressonância magnética nuclear.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 MATÉRIAS-PRIMAS E REAGENTES

Quercetina, lote SLBLH6286V, Sigma-Aldrich Brasil Ltda.

Polietilenoglicol 4000, lote X0902H A17, All Chemistry do Brasil Ltda.

Hidroxipropilmetilcelulose (HPMC), lote 201312015, All Chemistry do Brasil Ltda.

Pluronic® F 127, lote SLBL1780V, Sigma-Aldrich Brasil Ltda.

Acetona P.A ACS, lote 1207261, Vetec Química Fina

Álcool etílico 99,5% P.A., lote 38820, Biotec Reagentes Analíticos

4.2 EQUIPAMENTOS

Rotaevaporador RII BUCHI/ Vacuum pump V-700 BUCH/ Banho Ultratermostático ACB Labor

Balança Shimadzu modelo AY220

Destilador de Água Solab tipo Pilsen SL 71/5

Difratômetro de Raio X, modelo Bruker D8 Advance DaVinci

Espectrômetro de Infravermelho, modelo Vertex 70 Bruker

Espectrometro de Raman T64000 da Horiba Jobin Yvo

Estufa de secagem Fanem Mod 002CB

Espectrômetro Bruker AVANCE III HD 300 equipado com sonda MAS 4 mm.

4.3 OBTENÇÃO DAS DISPERSÕES SÓLIDAS E DAS MISTURAS FÍSICAS

As dispersões sólidas foram obtidas através de misturas binárias de 10 gramas de quercetina e os carreadores (Polietilenoglicol, Hidroxipropilmetilcelulose e Pluronic® F127) nas proporções 1:1, 1:2 e 1:4 (tabelas 4 a 9). As misturas foram solubilizadas utilizando 250 mL de água:álcool ou acetona:álcool (1:4).

A quercetina e os carreadores foram pesados separadamente, obedecendo cada proporção. Com o auxílio de um gral e pistilo, o tamanho das partículas foi reduzido seguido de solubilização em solventes. A solução foi submetida à rotaevaporação (figura 20) a 40 °C, sob pressão reduzida de 102 mmHg para mistura de solventes água: álcool e 350 mm Hg para mistura de solventes acetona:

álcool, para remoção do solvente. Após rotaevaporação, o resíduo resultante foi colocado em estufa por 24 horas a 40°C para completa secagem do produto.

Figura 20 – Sistema de rotaevaporação para obtenção das dispersões sólidas



Fonte: ELABORADO PELO PRÓPRIO AUTOR

Tabela 4 - Formulações contendo quercetina com carreador PEG4000 em suas proporções, preparada na mistura de solvente Água/Álcool (1:4) para 250 mL

Mistura com PEG4000	Proporção	Mistura de Solventes
QUE:PEG4000	1:1	Água: Álcool
QUE:PEG4000	1:2	Água: Álcool
QUE:PEG4000	1:4	Água: Álcool

Fonte: ELABORADO PELO PRÓPRIO AUTOR

Tabela 5 - Formulações contendo quercetina com carreador PEG4000 em suas proporções, preparada na mistura de solvente Acetona/Álcool (1:4) para 250 mL

Mistura com PEG4000	Proporção	Mistura de Solventes
QUE:PEG4000	1:1	Acetona: Álcool
QUE:PEG4000	1:2	Acetona: Álcool
QUE:PEG4000	1:4	Acetona: Álcool

Fonte: ELABORADO PELO PRÓPRIO AUTOR

Tabela 6 - Formulações contendo quercetina com carreador HPMC em suas proporções, preparada na mistura de solvente Água/Álcool (1:4) para 250 mL

Mistura com HPMC	Proporção	Mistura de Solventes
QUE:HPMC	1:1	Água: Álcool
QUE:HPMC	1:2	Água: Álcool
QUE:HPMC	1:4	Água: Álcool

Fonte: ELABORADO PELO PRÓPRIO AUTOR

Tabela 7 - Formulações contendo quercetina com carreador HPMC em suas proporções, preparada na mistura de solvente Acetona/Álcool (1:4) para 250 mL

Mistura com HPMC	Proporção	Mistura de Solventes
QUE:HPMC	1:1	Acetona: Álcool
QUE:HPMC	1:2	Acetona: Álcool
QUE:HPMC	1:4	Acetona: Álcool

Fonte: ELABORADO PELO PRÓPRIO AUTOR

Tabela 8 - Formulações contendo quercetina com carreador Pluronic® F127 em suas proporções, preparada na mistura de solvente Água/Álcool (1:4) para 250 mL

Mistura com Pluronic F127	Proporção	Mistura de Solventes
QUE:Pluronic® F127	1:1	Água:Álcool
QUE:Pluronic® F127	1:2	Água:Álcool
QUE:Pluronic® F127	1:4	Água:Álcool

Fonte: ELABORADO PELO PRÓPRIO AUTOR

Tabela 9 - Formulações contendo Quercetina com carreador Pluronic® F127 em suas proporções, preparada na mistura de solvente Acetona/Álcool (1:4) para 250 mL

Mistura com Pluronic F127	Proporção	Mistura de Solventes
QUE:Pluronic® F127	1:1	Acetona:Álcool
QUE:Pluronic® F127	1:2	Acetona:Álcool
QUE:Pluronic® F127	1:4	Acetona:Álcool

Fonte: ELABORADO PELO PRÓPRIO AUTOR

4.4 ANÁLISE POR DIFRATÔMETRO DE RAIOS X

As amostras e as matérias-primas foram adicionadas a um porta-amostra e analisadas a temperatura ambiente nos ângulos (2θ) de 3° a 50° com passo de $0,02^\circ$ em tempo de 1 segundo utilizando um difratômetro Bruker D8 Advance DaVinci (figura 21), com tubo de cobre ($K\alpha = 1,54056 \text{ \AA}$), filtro de Ni, detector Lynxeye e geometria de Bragg-Brentano. A fenda de incidência utilizada em todas as medidas foi a de $0,6 \text{ mm}$. A tensão aplicada foi de 40 kV e a corrente de 40 mA .

Este estudo foi realizado em parceria com a Profa. Dra. Renata Diniz do Departamento de Química da UFJF, usando as instalações multiusuárias do Laboratório do Grupo de Cristalografia de Pequenas Moléculas (GPMOL).

Figura 21 - Difratômetro de raios- X modelo Bruker D8 Advance DaVinci



Fonte: ELABORADO PELO PRÓPRIO AUTOR.

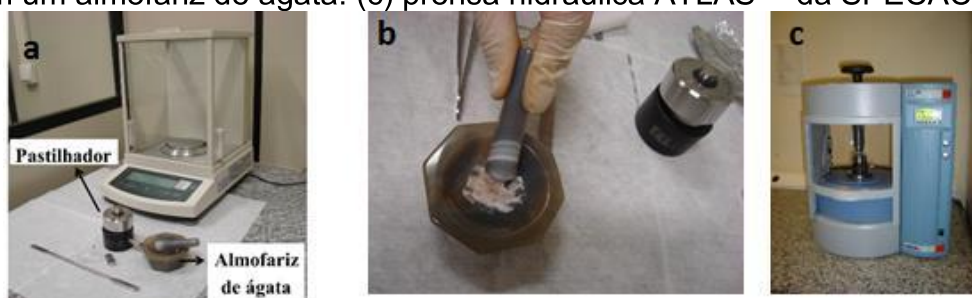
4.5 ANÁLISE POR ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO POR TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)

Foram feitas pastilhas misturando 300 mg de brometo de potássio (KBr) de grau espectroscópico junto a 3 mg de amostra (figura 22a). A mistura foi realizada em um almofariz de ágata a fim de tornar a pastilha homogênea (Figura 22b) e, utilizando uma prensa hidráulica ATLASTM da SPECAC 25T (Figura 22c) foi compactada a uma pressão de 10 Kgf.cm^{-2} durante 3 minutos. O procedimento para a obtenção das pastilhas resulta na formação de um disco com 13 mm de diâmetro e

aproximadamente 2 mm de espessura (Figura 23a). O KBr utilizado foi colocado em uma mufla a 500 °C durante 6 horas e foi mantido em uma estufa a 120 °C devido a sua higroscopicidade. Por meio do uso de um suporte próprio para a realização de medidas de transmissão utilizando as pastilhas, foram obtidos os espectros de transmitância (figura 23b). Os espectros de cada amostra foram registrados em um espectrômetro VERTEX 70 da BRUKER na faixa de 4000 a 400 cm^{-1} com resolução de 4 cm^{-1} e 72 scans por amostra (Figura 23c).

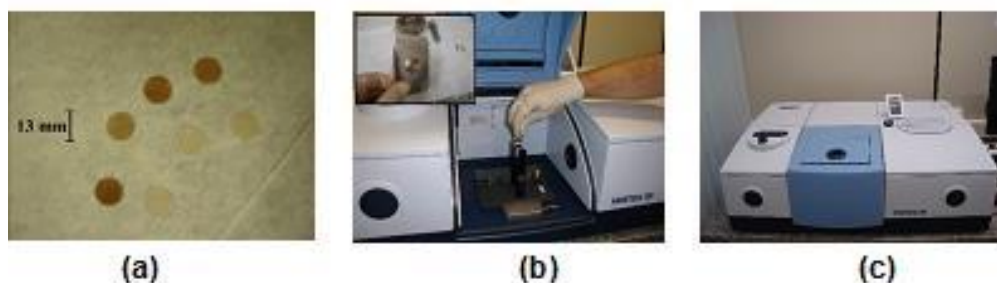
Este estudo foi realizado em parceria com o Prof. Dr. Virgílio de Carvalho dos Anjos do Laboratório de Espectroscopia de Materiais (LEM) do Departamento de Física da UFJF.

Figura 22 – Etapas do procedimento para produção das pastilhas dos carreadores em KBr. (a) balança, pastilhador e almofariz de ágata. (b) mistura sendo realizada em um almofariz de ágata. (c) prensa hidráulica ATLAS™ da SPECAC 25T



Fonte: ELABORADO PELO PRÓPRIO AUTOR

Figura 23 – Etapas para obtenção do espectro de infravermelho. (a) Pastilhas em KBr contendo a amostra; (b) suporte fixador da pastilha; (c) espectrômetro de infravermelho



Fonte: ELABORADO PELO PRÓPRIO AUTOR

4.6 ANÁLISE POR ESPECTROSCOPIA DE RAMAN

Os espectros Raman foram obtidos através do espectrômetro T64000 da Horiba Jobin Yvon (figura 24a) na configuração de retroespalhamento (*backscattering*), resolução espectral de $\pm 1 \text{ cm}^{-1}$, equipado com um detector de carga acoplada (CCD, do inglês, *Charge Coupled Device*) e um microscópio confocal Olympus modelo BX41 (figura 24b). Foi utilizada uma objetiva de 50X/0.75. Para a obtenção dos espectros foi utilizado o laser de argônio sintonizável modelo 543-AP-0 da CVI Melles Griot, com sistema de refrigeração a ar. O comprimento de onda escolhido para realizar a medida foi 514,5 nm e potência utilizada 0,50 - 2,30 mW. O tempo de exposição, número de médias, e fendas utilizadas para a quercetina pura foram de 5-30s, 5-10 e 100 μm , para o PEG 4000, 30-60s, 3-5 e 300 μm e para o Pluronic® F127, 100-180s, 3-5 e 200 μm respectivamente. Para as demais amostras foram utilizados 5-30s, 10-20 e 100 μm . Em todos os espectros foram realizados correção de linha de base, suavização e normalização. Essas ferramentas matemáticas foram empregadas no próprio *software* do equipamento chamado LabSpec.

Este estudo foi realizado em parceria com o Prof. Dr. Virgílio de Carvalho dos Anjos do Laboratório de Espectroscopia de Materiais (LEM) do Departamento de Física da UFJF.

Figura 24 – Plataforma para obtenção dos espectros de Raman. (a) Equipamento Raman T64000 da Horiba Jobin Yvon e (b) microscópio confocal Olympus modelo BX41



Fonte: ELABORADO PELO PRÓPRIO AUTOR

4.7 ANÁLISE POR ESPECTROSCOPIA DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE SÓLIDOS

Os experimentos de RMN de ^{13}C no estado sólido foram realizados em um espectrômetro Bruker Avance III HD 300 (7.04 T) (figura 25), operado a uma frequência de Larmor de 75,00 MHz. As análises foram executadas em uma sonda MAS, em rotores de ZrO_2 (e tampas de Kel-F) de 4 mm. Os espectros foram obtidos numa frequência de giro de 10000 Hz, com tempo de relaxação de 3,5 s e um pulso de 90° de 2,0 ms utilizando giro-ao-ângulo mágico, e polarização cruzada. Os deslocamentos químicos foram padronizados de forma indireta através de uma amostra de glicina, com sinal referente à carbonila em 176,00 ppm em relação ao TMS que é o padrão primário.

Este estudo foi realizado em parceria com o Prof. Dr. Alexandre Amaral Leitão e Dr. Gustavo Senra Gonçalves de Carvalho (Pós-Doutorando) do Departamento de Química da UFJF, usando equipamentos do Laboratório do Grupo de Físico-Química de Sólidos e Interface.

Figura 25 – Espectrômetro Bruker Avance III HD 300



Fonte: ELABORADO PELO PRÓPRIO AUTOR.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Análise por difração de Raios X

A difração de raios X tem sido utilizada na caracterização físico-química de fármacos para avaliar a sua cristalinidade ou seu estado amorfo (BYARD et al., 2005). Entre as principais diferenças nas propriedades farmacêuticas de fármacos no estado cristalino ou amorfo, incluem a solubilidade e a taxa de dissolução que afetam a biodisponibilidade (DINUNZIO et al., 2008). Substâncias no estado amorfo possuem maior solubilidade e dissolução, o que promove uma melhor biodisponibilidade no organismo (BYARD et al., 2005).

Neste estudo, os resultados da difração de raios-X foram comparados com dados de amostras comerciais de quercetina (Quercetina, QPA, QPGa, QPGb e QPGc) que foram citados na tabela 10 (SAHOO et al., 2010; BORGHETTI et al., 2006). Nesta Tabela, os valores dos ângulos de espalhamento dos principais picos da difração de raios-X da quercetina padrão foram detectados entre 6,3 e 27,3 $2\theta^\circ$. Baseado nesses valores, a quercetina padrão apresentou um perfil de estado cristalino diferente das amostras comerciais (SAHOO et al., 2010; BORGHETTI et al., 2006).

Tabela 10 - Ângulo de espalhamento de raios-X (2θ) dos principais picos da quercetina

Quercetina Padrão ($^\circ$)	Quercetina ($^\circ$) ^a	QPA ($^\circ$) ^b	QPGa ($^\circ$) ^b	QPGb ($^\circ$) ^b	QPGc ($^\circ$) ^b
6,3	5,54	-	-	-	4,54
9,5	-	-	-	-	-
10,9	10,22	10,75	10,73	-	-
12,5	11,82	12,43	12,41	-	-
12,9	-	-	-	13,51	13,07
14,1	14,18	-	-	14,11	-
17,0	-	-	-	-	-
22,0	22,16	-	-	-	-
26,6	-	-	-	26,52	26,04
27,3	27,48	27,38	27,38	-	-

^aSAHOO et al., 2010; ^bBORGHETTI et al., 2006.

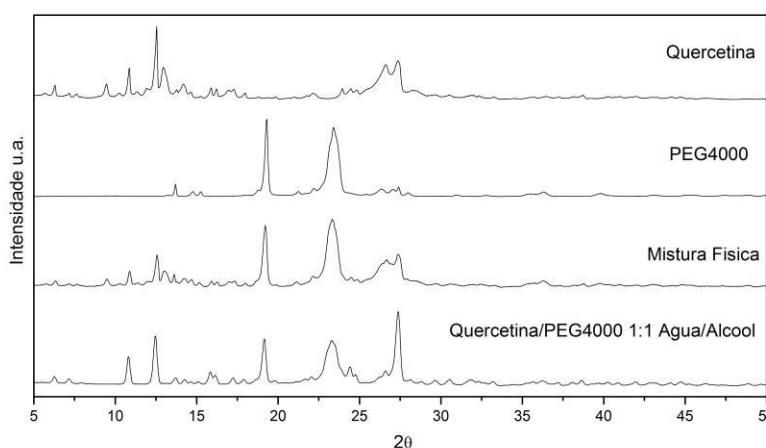
Fonte: ELABORADO PELO PRÓPRIO AUTOR

As figuras 26 a 43 mostram os perfis de difração de raios X da quercetina padrão, carreadores, misturas físicas e dispersões sólidas em solventes. Para efeito de comparação com as dispersões sólidas, os perfis da quercetina padrão, carreadores e misturas físicas foram mantidos nestas figuras.

Considerando o PEG 4000, o perfil dos difratogramas demonstrou reflexões de $13,7^\circ$, $19,2^\circ$ e $23,4^\circ$ em 2θ para este carreador (figuras 26 a 31). Este resultado está de acordo com a literatura, pois, além de picos com menores intensidades, as principais reflexões do PEG 4000 são bem características em 19° e 23° com aproximadamente 2θ (CORRIGAN; HEALY; CORRIGAN, 2002; LIN; CHAM, 1995; MARTÍNEZ-OHÁRRIZ et al., 1999; PERISSUTTI et al., 2003).

O difratograma da mistura física composta pela quercetina e carreador mostra o aparecimento dos principais picos da quercetina e do PEG 4000 (Figuras 26 a 31). No difratograma da dispersão sólida, os picos característicos da quercetina e do carreador também foram reproduzidos. Isto representa uma ausência de amorfização na DS. Como exemplo, aparentemente em $27,3^\circ$ houve um aumento na intensidade do pico da quercetina quando comparado com a quercetina padrão (figura 26). A ocorrência deste evento pode ser devido à orientação preferencial durante a preparação da amostra (1:1) com água/álcool (1:4), tornando-a mais cristalina e ausência de amorfização da quercetina. Este fenômeno é encontrado em estudos de difração de raios-x por policristais, particularmente de sólidos farmacêuticos (HU et al., 2013; SETYAWAN et al., 2014).

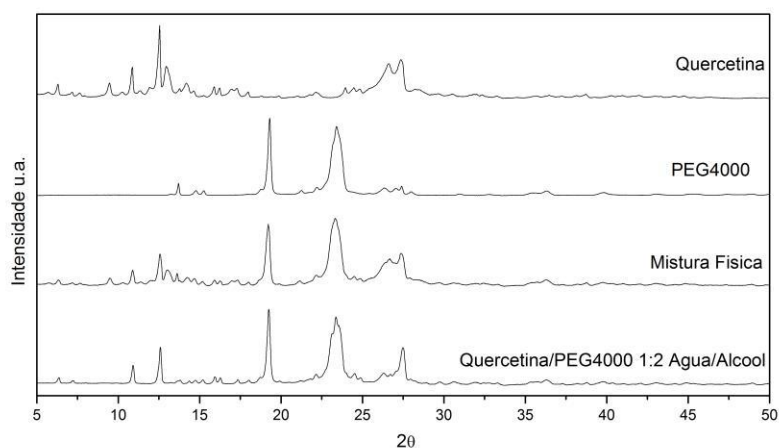
Figura 26 - Difratogramas da quercetina, PEG 4000, mistura física quercetina/PEG 4000 e dispersão sólida de quercetina/PEG 4000 (1:1) obtida em água/álcool (1:4)



Fonte: ELABORADO PELO PRÓPRIO AUTOR

A análise da figura 27 mostra uma pequena diminuição e alteração nas reflexões da dispersão sólida quando comparado com a quercetina padrão. Porém, mesmo com estas alterações, não se pode afirmar a amorfização desta substância, pois os picos característicos da forma cristalina foram preservados para a proporção 1:2 (quercetina/PEG 4000).

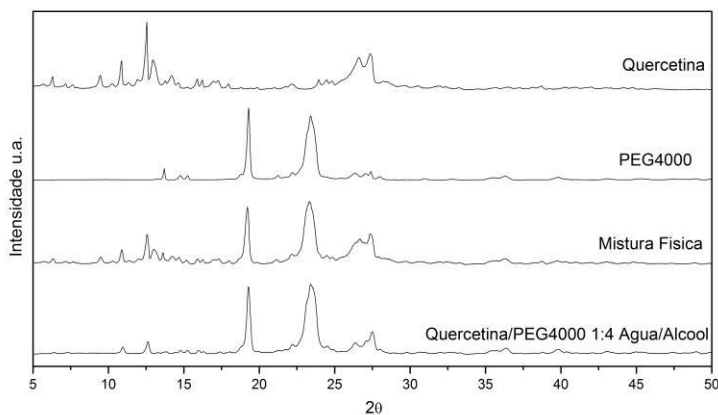
Figura 27 - Difratomogramas da quercetina, PEG 4000, mistura física quercetina/PEG 4000 e dispersão sólida de quercetina/PEG 4000 (1:2) obtida em água/álcool (1:4)



Fonte: ELABORADO PELO PRÓPRIO AUTOR

Quando utilizada a proporção 1:4 (quercetina/PEG 4000) obtida em água/álcool (1:4), a diminuição dos principais sinais de espalhamento de raios-x da quercetina foi detectada (figura 28). No entanto, o difratograma não mostrou características de amorfização desta substância, pois os picos que sinalizam o estado cristalino deste flavonoide foram mantidos.

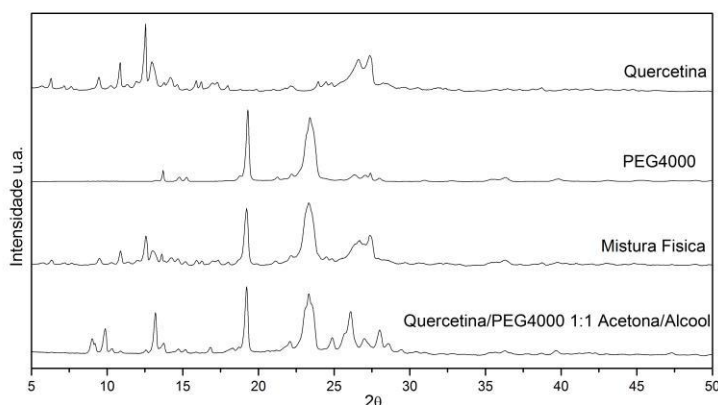
Figura 28 - Difratomogramas da quercetina, PEG 4000, mistura física quercetina/PEG 4000 e dispersão sólida de quercetina/PEG 4000 (1:4) obtida em água/álcool (1:4)



Fonte: ELABORADO PELO PRÓPRIO AUTOR

As dispersões de quercetina e PEG 4000 (1:1, 1:2 e 1:4) obtidas em acetona/álcool (1:4) produziram as principais reflexões da quercetina padrão, indicando que as características da forma cristalina foram preservadas (figuras 29 a 31). No entanto, foram observados novos picos nas posições $8,99^\circ$, $9,85^\circ$, $24,75^\circ$, $26,06^\circ$, $26,86^\circ$, $27,94^\circ$ e $28,62^\circ$ em 2θ . Estes picos têm sido relacionados a interações entre materiais com mudança estrutural e são comumente detectados por difração de raios-x (ZAINI et al., 2010; SETYAWAN et al., 2014).

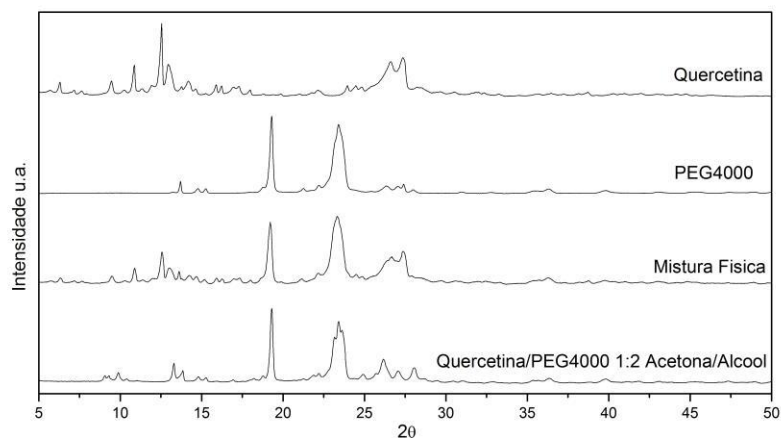
Figura 29 - Difratomogramas da quercetina, PEG 4000, mistura física quercetina/PEG 4000 e dispersão sólida de quercetina/PEG 4000 (1:1) obtida em acetona/álcool (1:4)



Fonte: ELABORADO PELO PRÓPRIO AUTOR

Na figura 30 para a proporção 1:2 (quercetina/PEG 4000) obtida em acetona/álcool (1:4), pode-se observar a diminuição de picos característicos da quercetina na dispersão sólida. No entanto, ocorreu a formação de novos picos nas posições $13,20^\circ$, $26,14^\circ$, $27,10^\circ$ e $28,02^\circ$ em 2θ , sugerindo possíveis interações entre os constituintes da preparação. As estruturas características do PEG 4000 mantiveram as mesmas do padrão cristalino e os picos foram preservados.

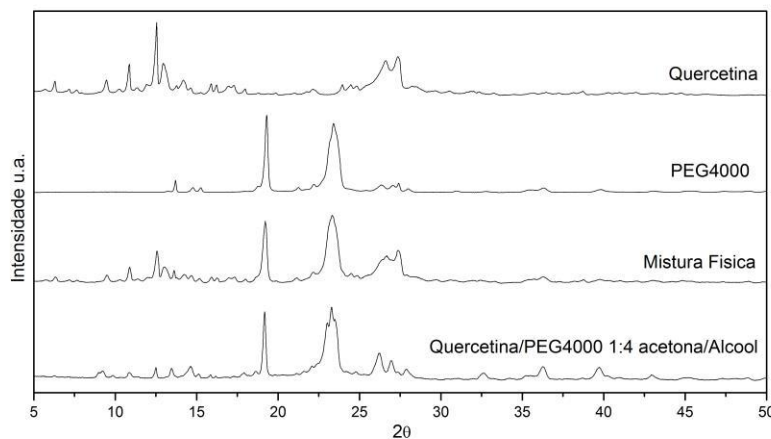
Figura 30 - Difratomogramas da quercetina, PEG 4000, mistura física quercetina/PEG 4000 e dispersão sólida de quercetina/PEG 4000 (1:2) obtida em acetona/álcool (1:4)



Fonte: ELABORADO PELO PRÓPRIO AUTOR

Com base na figura 31, verifica-se que os principais sinais da quercetina da dispersão sólida foram diminuídos. Nesta amostra, surgiram novos picos nas posições $26,16^\circ$, $26,88^\circ$, $27,84^\circ$, $32,58^\circ$, $36,29^\circ$ e $39,74^\circ$ em 2θ sugestivos de interações entre os componentes sólidos. Além disso, a análise do PEG 4000 indicou que o produto formado tem as mesmas características estruturais da mistura física, não ocorrendo a amorfização do flavonoide para a proporção 1:4 (quercetina/PEG 4000) obtida em acetona/álcool (1:4).

Figura 31 - Difratomogramas da quercetina, PEG 4000, mistura física quercetina/PEG 4000 e dispersão sólida de quercetina/PEG 4000 (1:4) obtida em acetona/álcool (1:4)

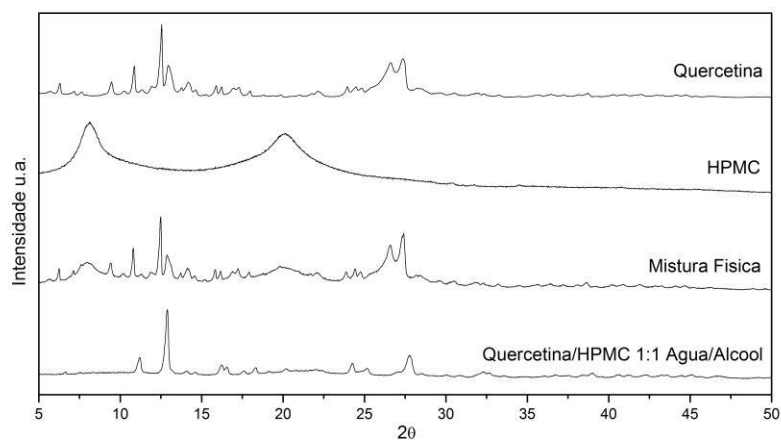


Fonte: ELABORADO PELO PRÓPRIO AUTOR

Para realizar a próxima etapa deste experimento, a Hidroxipropilmetilcelulose (HPMC) foi utilizada como carreador da quercetina em três diferentes proporções (1:1, 1:2 e 1:4) na solução água/álcool (figuras de 32 a 34). Os principais picos da quercetina foram em 6,3°, 9,5°, 10,9°, 12,5°, 12,9°, 14,1°, 17,0°, 22,0°, 26,6° e 27,3° em 2θ , enquanto a HPMC apresentou um padrão de difração totalmente difuso, evidenciando sua natureza amorfa (BUSCHLE-DILLER; ZERONIAN, 1992; SASSI; CHANZY, 1995). Quando são introduzidos substituintes na celulose, por exemplo, grupos metoxila ou hidroxipropila, ocorrem um desarranjo das regiões cristalinas presentes na estrutura do HPMC fazendo com que diminua a probabilidade de arranjo de uma cadeia sobre a outra para a formação de ligações de hidrogênio intermoleculares (LOPES; LOBO; COSTA, 2005).

De acordo com a figura 32, a mistura física de quercetina e HPMC na proporção (1:1), manteve os picos principais da quercetina, enquanto a dispersão sólida apresentou sobreposição dos sinais desta substância quando comparada isoladamente. Isto significa que a HPMC não foi capaz de alterar a cristalinidade da quercetina, não havendo amorfização desta. No entanto, é perceptível que ocorreram diminuição e mudanças na intensidade dos sinais do flavonoide.

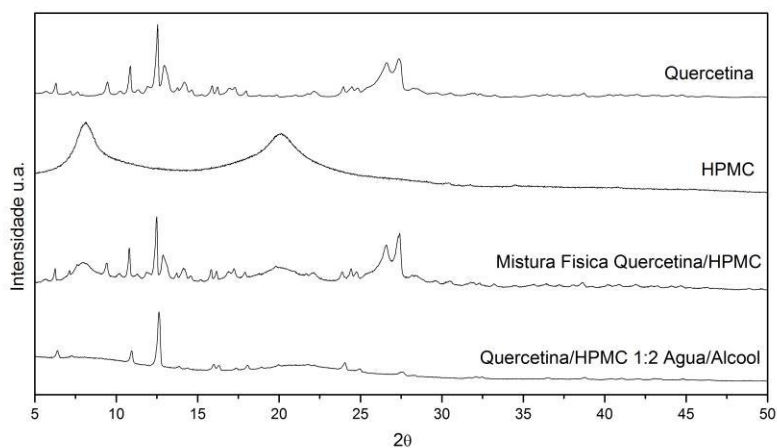
Figura 32 - Difratomogramas da quercetina, HPMC, mistura física quercetina/HPMC e dispersão sólida de quercetina/HPMC (1:1) obtida em água/álcool (1:4)



Fonte: ELABORADO PELO PRÓPRIO AUTOR

Picos característicos da quercetina na forma cristalina nas posições $6,35^\circ$, $10,93^\circ$ e $12,59^\circ$ em 2θ foram observados na dispersão sólida (1:2) em água/álcool (1:4) (figura 33). Houve também a diminuição de alguns picos, principalmente nas posições de $26,49^\circ$ e $27,37^\circ$ em 2θ . Sendo assim, pode-se sugerir que houve uma amorfização parcial da quercetina na dispersão sólida.

Figura 33 - Difratomogramas da quercetina, HPMC, mistura física quercetina/HPMC e dispersão sólida de quercetina/HPMC (1:2) obtida em água/álcool (1:4)

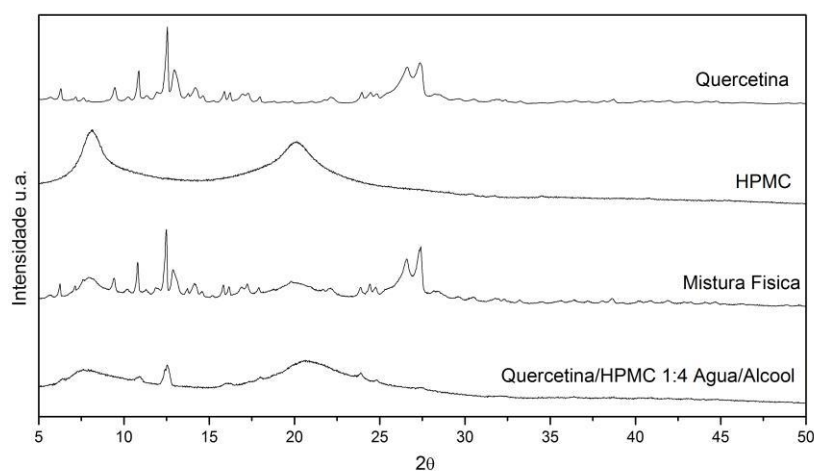


Fonte: ELABORADO PELO PRÓPRIO AUTOR

A diminuição dos picos da quercetina foi observada na dispersão sólida (1:4) obtida em água/álcool (1:4), produzindo picos nas posições $10,89^\circ$ e $12,48^\circ$ em 2θ que foram característica desta substância (Figura 34). Apesar da presença de uma

fase amorfa dos polímeros coexistindo com a fase cristalina, este dado ainda não sugere a não ocorrência de nova estrutura, apesar da redução no número de picos de difração e diminuição da sua intensidade. Isto significa que existiu uma amorfização parcial da quercetina que foi mais eficaz na dispersão atual do que naquela obtida anteriormente na proporção de 1:2 em água/álcool (1:4).

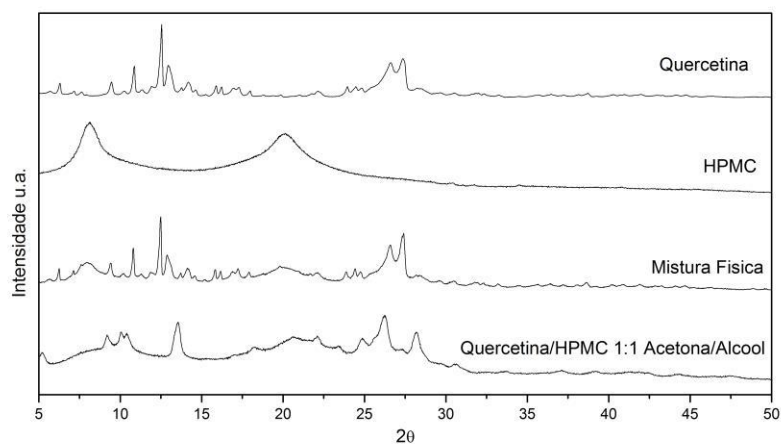
Figura 34 - Difractogramas da quercetina, HPMC, mistura física quercetina/HPMC e dispersão sólida de quercetina/HPMC (1:4) obtida em água/álcool (1:4)



Fonte: ELABORADO PELO PRÓPRIO AUTOR

A dispersão quercetina/HPMC (1:1) em acetona/álcool (1:4) produziu picos característicos da quercetina nas posições $9,42^\circ$, $9,97^\circ$, $10,36^\circ$, $13,51^\circ$, e $28,19^\circ$ em 2θ com alargamento de picos, sugerindo uma perda parcial de cristalinidade desta substância (Figura 35). Esse resultado indicou que a amorfização foi parcial, porém em menor intensidade quando comparada com a dispersão (1:4) obtida em água/álcool (1:4).

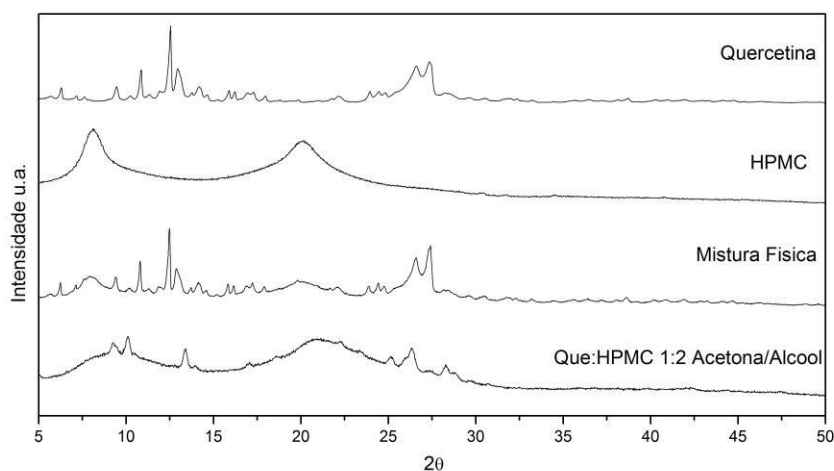
Figura 35 - Difratomogramas da quercetina, HPMC, mistura física quercetina/HPMC e dispersão sólida de quercetina/HPMC (1:1) obtida em acetona/álcool (1:4)



Fonte: ELABORADO PELO PRÓPRIO AUTOR

Considerando a figura 36, foi observada que a dispersão quercetina/HPMC (1:2) obtida com acetona/álcool (1:4) promoveu uma diminuição dos principais picos da quercetina. No entanto, os sinais nas posições 9,38°, 13,29°, 25,26°, 26,45° em 2θ foram preservados e novos picos surgiram em 10,09° e 28,22°. Observou-se também que houve um pequeno deslocamento dos picos largos do carreador HPMC que pode ser devido a modificações no arranjo deste. Mesmo com a diminuição da intensidade, do aparecimento de novos picos e do deslocamento de picos do HPMC, a difração dos principais sinais da quercetina padrão foi mantida. Esse dado indicou que a amorfização ocorreu de forma parcial e em menor magnitude do que a dispersão quercetina/HPMC (1:4) obtida com água/álcool e semelhante àquela dispersão (1:1) em acetona/álcool.

Figura 36 - Difratogramas da quercetina, HPMC, mistura física quercetina/HPMC e dispersão sólida de quercetina/HPMC (1:2) obtida em acetona/álcool (1:4)

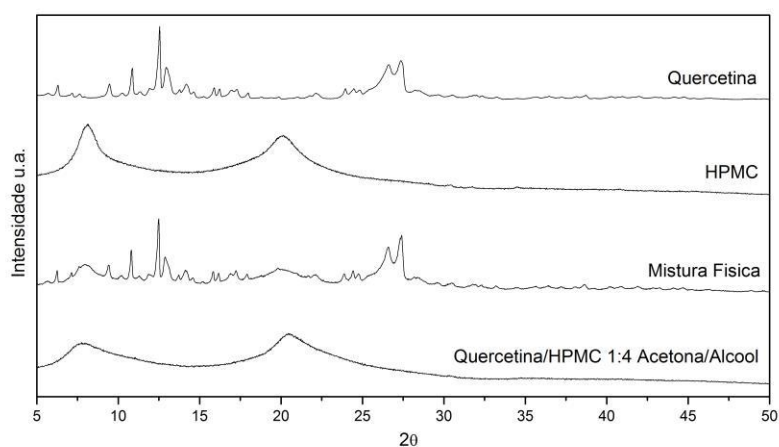


Fonte: ELABORADO PELO PRÓPRIO AUTOR

O difratograma da dispersão sólida de quercetina/HPMC (1:4) obtida em acetona/álcool (1:4) mostrou um completo desaparecimento dos picos característicos da cristalinidade da quercetina (f

igura 37). Esse dado demonstrou que o HPMC da dispersão foi capaz de produzir alterações na estrutura cristalina da quercetina, produzindo amorfização deste flavonoide.

Figura 37 - Difratogramas da quercetina, HPMC, mistura física quercetina/HPMC e dispersão sólida de quercetina/HPMC (1:4) obtida em acetona/álcool (1:4)

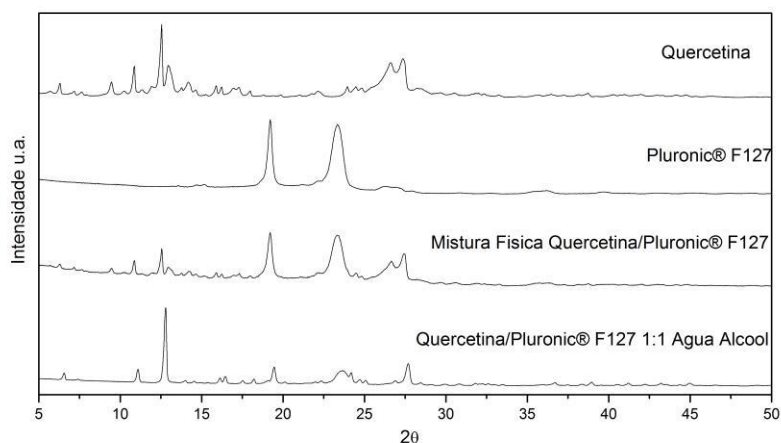


Fonte: ELABORADO PELO PRÓPRIO AUTOR

As interações polímero-fármaco podem ser principalmente o resultado da formação de ligações de hidrogênio e/ou interações hidrofóbicas. HPMC, por exemplo, é eficaz na inibição de nucleação de fármacos com aceptores de ligação de hidrogênio em um modo dependente da concentração (MILLER et al., 2008; GAO et al., 2009; BEVERNAGE et al., 2011). Esta capacidade de adiar a nucleação pode ser devido às ligações de hidrogênio entre as moléculas do fármaco (neste caso, a quercetina) e polímeros, pois não só aumenta a ativação da energia de nucleação como também reduz o crescimento de cristais (BALANI et al., 2010; XIE et al., 2010).

A difração de raio X foi também usado na análise da quercetina dispersa em Pluronic® F127 nas proporções de 1:1, 1:2 e 1:4 em mistura de solventes (figuras 38 a 43). Cavalcante e colaboradores (2007) mostraram que os picos característicos do Pluronic® F127 aparecem nas posições 19,2° e 23,5° em 2θ , que estão de acordo com os picos obtidos nesta análise. A dispersão sólida de quercetina/pluronic® F127 (1:1) obtida em água/álcool (1:4) produziu os picos da forma cristalina da quercetina com diminuição de alguns sinais e dos picos principais do carreador (figura 38). Além disso, esta preparação manteve a cristalinidade da quercetina, sendo observada pela permanência de seus picos nos ângulos de espalhamento em 2θ iguais a 10,97°, 12,7° e 27,64°. Foi também detectado que ocorreu uma redução da intensidade dos picos da quercetina na mistura física quercetina/ pluronic® F127. Isto demonstra que o pluronic® F127 pode estar associado com essas alterações.

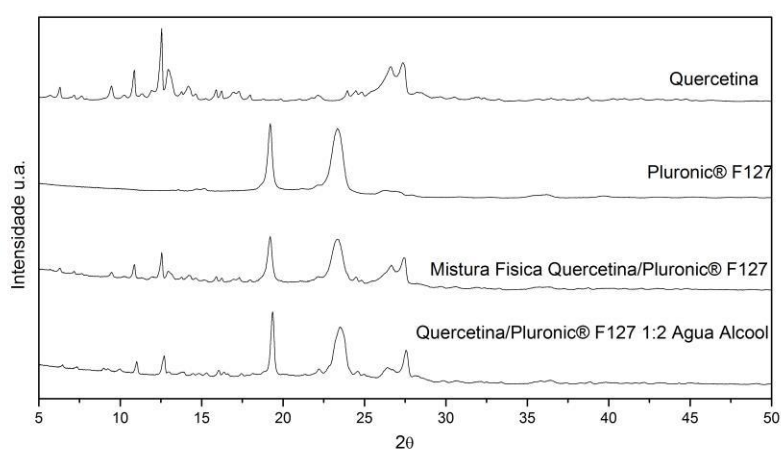
Figura 38 - Difratomogramas da quercetina, pluronic® F127, mistura física quercetina/pluronic® F127 e dispersão sólida de quercetina/pluronic® F127 (1:1) obtida em água/álcool (1:4)



Fonte: ELABORADO PELO PRÓPRIO AUTOR

O difratograma da dispersão de quercetina/pluronic® F127 (1:2) obtida em água/álcool (1:4) mostrou que houve uma diminuição dos picos da quercetina na forma cristalina (figura 39). No entanto, não houve amorfização desta substância, pois os picos nas posições 10,99°, 12,59°, 26,55° e 27,43 em 2θ , que são característicos da forma cristalina, foram mantidos.

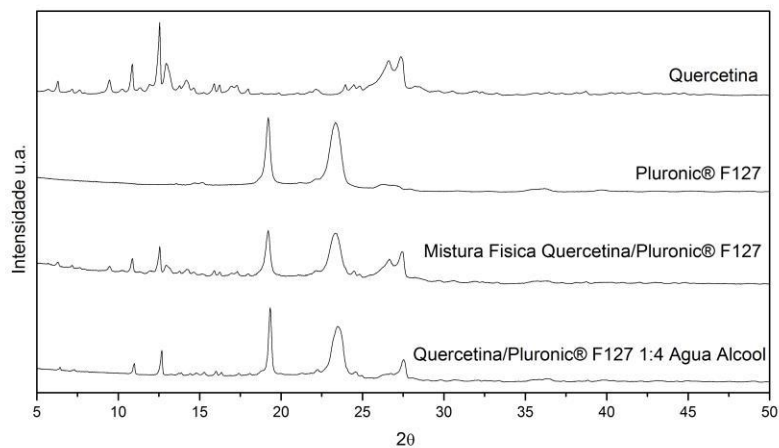
Figura 39 - Difratogramas da quercetina, pluronic® F127, mistura física quercetina/pluronic® F127 e dispersão sólida de quercetina/pluronic® F127 (1:2) obtida em água/álcool (1:4)



Fonte: ELABORADO PELO PRÓPRIO AUTOR

Após análises dos difratogramas da figura 40, verificou que houve uma diminuição de picos da quercetina na mistura física e na dispersão de proporção (1:4) quercetina/pluronic® F127 quando comparados com a quercetina padrão. No entanto, não houve indícios de amorfização e a forma cristalina foi mantida. Também, foram detectados picos nas posições 10,93°, 12,63° e 27,43° em 2θ .

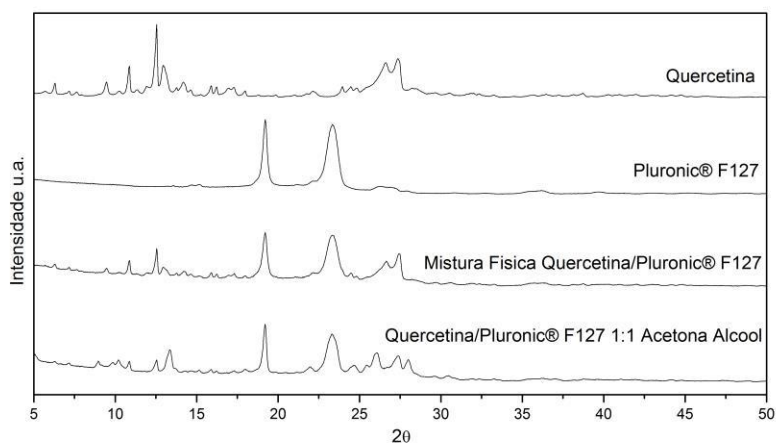
Figura 40 - Difratomogramas da quercetina, pluronic® F127, mistura física quercetina/pluronic® F127 e dispersão sólida de quercetina/pluronic® F127 (1:4) obtida em água/álcool (1:4)



Fonte: ELABORADO PELO PRÓPRIO AUTOR

A análise da dispersão sólida de quercetina/pluronic® F127 (1:1) obtida em acetona/álcool (1:4) demonstrou que os picos referentes à quercetina estão associados com a sua forma cristalina, entretanto, estão mais alargados quando comparado à dispersão obtida em água/álcool (figura 41). Os picos característicos estão localizados nas posições 10,83°, 12,44°, 13,30°, 26,10°, 27,43° e 27,96° em 2θ. É importante destacar que, mesmo com alterações citadas, não há evidências claras da amorfização completa da quercetina.

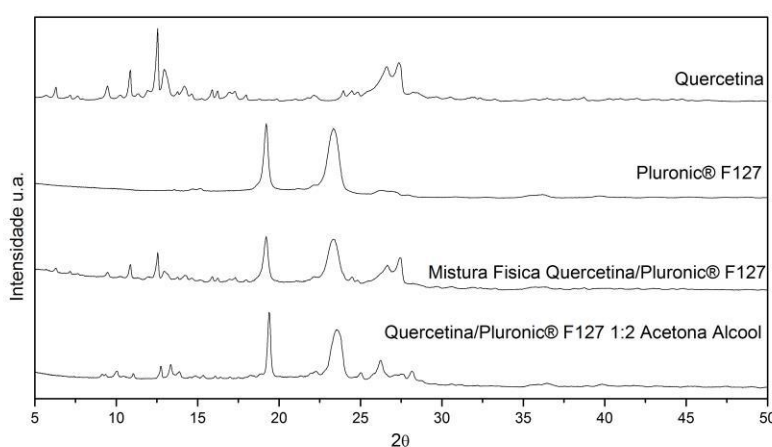
Figura 41 - Difratomogramas da quercetina, pluronic F127, mistura física quercetina/pluronic F127 e dispersão sólida de quercetina/pluronic F127 (1:1) obtida em acetona/álcool (1:4)



Fonte: ELABORADO PELO PRÓPRIO AUTOR

O difratograma da dispersão sólida de quercetina/pluronic® F127 (1:2) obtida em acetona/álcool (1:4) mostrou que houve uma redução da intensidade dos picos da quercetina (figura 42). A presença de picos nas posições 12,63°, 13,28°, 26,23° e 28,13 em 2 θ caracteriza a forma cristalina da quercetina. Neste sentido, sugere-se que não houve a amorfização total desta substância.

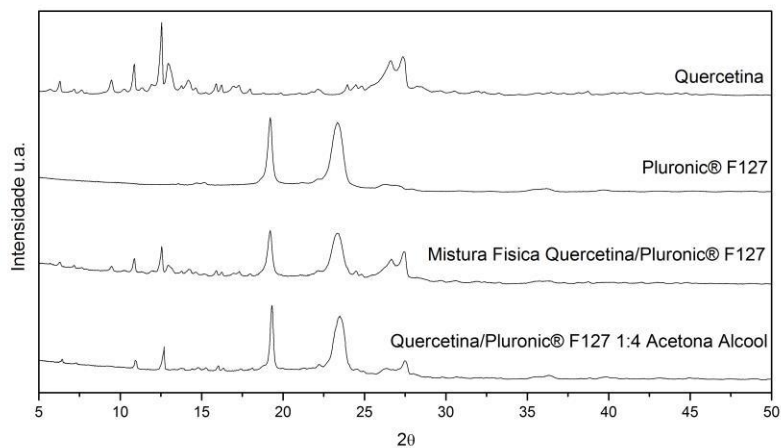
Figura 42 - Difratogramas da quercetina, pluronic® F127, mistura física quercetina/pluronic® F127 e dispersão sólida de quercetina/pluronic® F127 (1:2) obtida em acetona/álcool (1:2)



Fonte: ELABORADO PELO PRÓPRIO AUTOR

Com base nos difratogramas da figura 43, a dispersão sólida de quercetina/pluronic® F127 (1:4) obtida com acetona/álcool (1:4) produziu características semelhantes daquelas observadas na figura 39. Houve redução da intensidade de alguns picos da quercetina e presença de picos cristalinos nas posições 12,67°, 13,30°, 26,23° e 28,13° em 2 θ . Dessa forma, pode-se sugerir ausência de amorfização total da quercetina.

Figura 43 - Difratomogramas da quercetina, pluronic® F127, mistura física quercetina/pluronic® F127 e dispersão sólida de quercetina/pluronic® F127 (1:4) obtida em acetona/álcool (1:4)



Fonte: ELABORADO PELO PRÓPRIO AUTOR

Considerando os resultados destacados da técnica de difração de raios X, foi verificado que, dentre as preparações analisadas, a dispersão quercetina/HPMC (1:4) obtida em acetona/álcool (1:4) apresentou amorfização total da quercetina sem indícios de cristalinidade deste flavonoide. Portanto, esta preparação possui as características de solubilidade que poderão ser importantes para uma maior biodisponibilidade da quercetina em meios biológicos.

5.2 Análise por espectroscopia de infravermelho

A espectroscopia no infravermelho (IV) fornece evidências da presença de grupos funcionais na estrutura orgânica devido à interação entre os átomos de uma molécula com a radiação eletromagnética em um processo de vibração molecular, uma vez que as ligações covalentes estão em constantes movimentos axiais e angulares (SILVERSTEIN et al., 1998; STUART, 2004). Isto significa que a radiação no IV faz com que átomos e grupos de átomos de substâncias orgânicas vibrem com amplitude aumentada ao redor das ligações covalentes. Este processo é quantizado, porém o espectro vibracional costuma aparecer como uma série de bandas, pois a cada mudança de nível de energia vibracional corresponde uma série de alterações de níveis de energia rotacional e, dessa forma, as linhas se sobrepõem dando origem às bandas observadas no espectro. As posições das bandas no espectro podem ser apresentadas em número de ondas, utilizando a unidade centímetro inverso ($4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$) ou em micrômetros ($2,5 - 16 \text{ }\mu\text{m}$) (SILVERSTEIN et al., 1998; STUART, 2004). Neste trabalho, a espectroscopia de IV foi utilizada para identificar grupos funcionais dos constituintes e detectar o surgimento de interações e formas amorfas da quercetina em dispersões sólidas. Para isto, foram obtidos espectros de infravermelho da quercetina padrão, carreadores, misturas físicas e dispersões sólidas na região de 4000 a 400 cm^{-1} . Os espectros de IV dos produtos analisados foram mostrados nas figuras 44 a 61. Os números de onda e as atribuições vibracionais da quercetina e PEG 4000 obtidos das análises dos espectros de infravermelho foram apresentados na Tabela 11.

Na Tabela 11, foi detectada uma banda em 3400 cm^{-1} que pode evidenciar a vibração de grupo $-\text{OH}$ ligado a uma estrutura fenólica. A deformação axial entre $3600-3200 \text{ cm}^{-1}$, com bandas fortes sugere o modo vibracional de um grupo $-\text{OH}$ ligado ao anel aromático, o que é esperado para este flavonoide que contém dois anéis benzênicos em sua estrutura (SILVERSTEIN et al., 1998; STUART, 2004).

Uma banda em 1660 cm^{-1} do espectro da quercetina foi identificada como carbonila deslocada por formações de ligações de hidrogênio intramoleculares, enquanto a banda em 1612 cm^{-1} indica uma ligação dupla em anel aromático. Silverstein e colaboradores (1998) descreveram que estiramentos entre $1850-1650 \text{ cm}^{-1}$ devem fornecer a presença de grupo carbonila de diversas substâncias e em $1600-1650 \text{ cm}^{-1}$ é identificada como ligação dupla de substâncias aromáticas.

Deformações axiais em 1325 e 1000 cm^{-1} do espectro IV da quercetina foram atribuídas a vibrações C-O e O-H fenólicas e deformações axiais assimétricas foram encontradas em 1170 cm^{-1} identificadas como C-O-C (tabela 11). Além disso, nesta tabela, bandas em 923-600 cm^{-1} foram caracterizadas como deformações axiais fora do plano aromático. A deformação angular fora do plano, detectada em 800 cm^{-1} , foi atribuída ao C-H aromático di-O-substituído. Como descrito por Silverstein e colaboradores (1998) e Stuart (2004), região de estiramento entre 1200–1000 cm^{-1} indica a presença da ligação –C–O– de éteres, enquanto região de absorção de núcleos aromáticos, entre 900–650 cm^{-1} , com bandas fortes indica a presença da vibração angular fora do plano de C–H de aromáticos. Na região de 700-690 cm^{-1} , aparecem as bandas de absorção de –CH angular fora do plano e mostram informações a respeito da posição dos substituintes no anel (SILVERSTEIN et al., 1998; STUART, 2004).

A espectroscopia de infravermelho tem sido extensivamente utilizada em ambas as análises farmacêutica qualitativa e quantitativa. Esta técnica é importante para a avaliação das matérias-primas usadas na produção, os ingredientes ativos e os excipientes (STUART, 2010). Portanto, os resultados apresentados produziram informações relevantes para obtenção de preparações farmacêuticas mais apropriadas para o uso oral, destacando a amorfização da quercetina. A presença do estado amorfo da quercetina pode conduzir para uma resposta terapêutica mais satisfatória, pois garante uma maior biodisponibilidade da substância no organismo.

Considerando a análise do espectro IV da quercetina, atribuições vibracionais das bandas identificadas foram semelhantes daquelas descritas por Gottlieb (1975) e Heneczowski e colaboradores (2001).

O PEG 4000 apresentou as seguintes características no espectro de IV: ligação intra ou intermolecular em 3463 cm^{-1} foi atribuída a grupo hidroxila (-OH); deformação axial assimétrica e simétrica em 2881 e 838 cm^{-1} correspondendo a C-H de estrutura alifática; deformação angular simétrica do plano em 1470 cm^{-1} envolvendo C-H alifática; acoplamento entre deformação angular no plano em 1348 cm^{-1} foi associada à –OH; deformação angular simétrica fora do plano em 1282 cm^{-1} foi atribuída a C-H alifático; deformação axial assimétrica em 1242 cm^{-1} foi relacionada a C-O-C de éter; e deformação axial assimétrica em 1103 cm^{-1} foi identificada como C-C-O (tabela 11). Essas atribuições vibracionais dos grupamentos funcionais da molécula estão de acordo com Silverstein e

colaboradores (1998) e Stuart (2004) e foram semelhantes às estabelecidas por Lima (2006).

Tabela 11 - Números de onda e atribuições vibracionais da quercetina e PEG 4000 obtidos das análises dos espectros de infravermelho e literatura

Números de onda (cm⁻¹) e atribuições vibracionais					
Quercetina (cm⁻¹)	Literatura^a (cm⁻¹)	Atribuições vibracionais	PEG 4000 (cm⁻¹)	Literatura^b (cm⁻¹)	Atribuições vibracionais
3400	3450-3350	Deformação axial da O-H ligada ao C ₄	-	3700-3200	Deformação axial O-H
-	3350-3250	Deformação axial da O-H ligada ao C ₃	-	3600	Quando a O-H está livre a banda é mais aguda
-	3000-2500	Deformação axial da O-H ligada ao C ₅	3463	3400	Quando a O-H está sofrendo ligação intra ou intermolecular
1660	1660	Carbonila deslocada por formações de ligações de hidrogênio intramoleculares	2881 e 838	2945 e 885	Deformações axial assimétrica e simétrica de C-H de estrutura alifática
1612	1615 e 1200	Ligação dupla de fenila	1470	1468	Deformação angular simétrica do plano C-H alifático
1325 e 1000	1280 e 1000	Deformações axiais de C-O; O-H fenólicos	1348	1420	Acoplamento entre deformação angular no plano O-H
1170	1150-1085	Deformações axiais assimétrica de C-O-C	1282	1330	Deformação angular simétrica fora do plano C-H alifático
923-600	900 - 675	Deformação axial fora do plano aromático	1242	1147	Deformação axial assimétrica C-O-C de éter
800	770	Deformação angular fora do plano C-H aromático di-o-substituído	1103	1060	Deformação axial assimétrica C-C-O

^a(GOTTLIEB, 1975; NAKANISHI; SOLOMON, 1997; RUCKER; NEUGEBAUER; WILLEMS, 1998; SILVERSTEIN et al., 1998; PRALAHAD; RAJENDRAKUMAR, 2004);

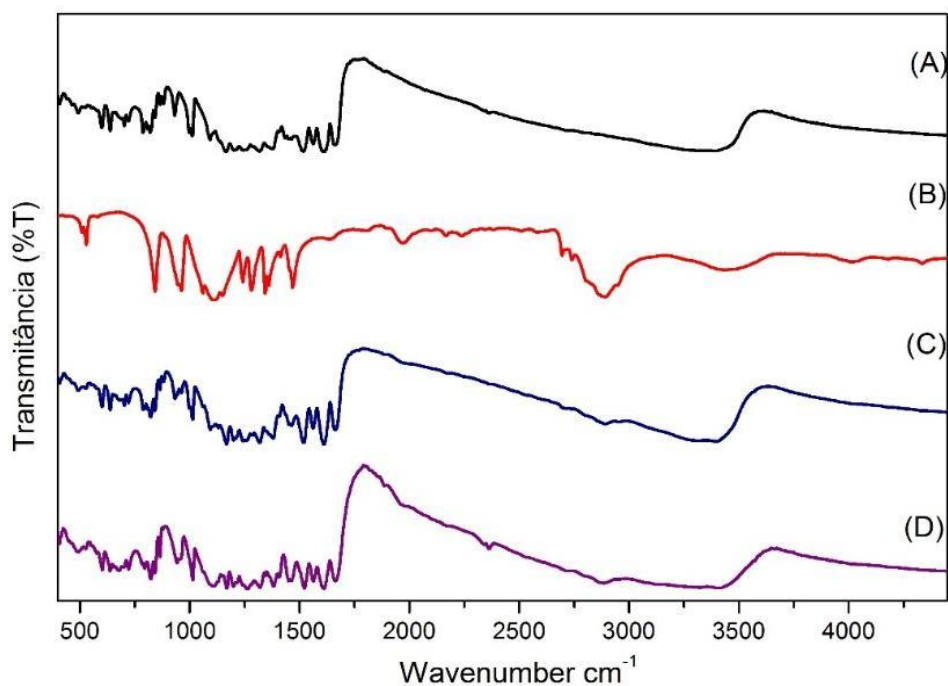
^b(LIMA, 2006).

Fonte: ELABORADO PELO PRÓPRIO AUTOR

Através da análise dos resultados obtidos da quercetina e do PEG 4000 encontrados nas figuras 44 a 46 e comparados com os valores obtidos na literatura (tabela 11), foi observado tanto para a mistura física quanto para as dispersões sólidas de quercetina/PEG 4000 (1:1), quercetina/PEG4000 (1:2) e quercetina/PEG4000 (1:4) obtidas na mistura de solventes água/álcool (1:4) mantiveram as bandas principais da quercetina com ausência de deslocamento, sugerindo que não houve interação química entre os constituintes, bem como indícios de amorfização demonstrando que os resultados de raios-x estão

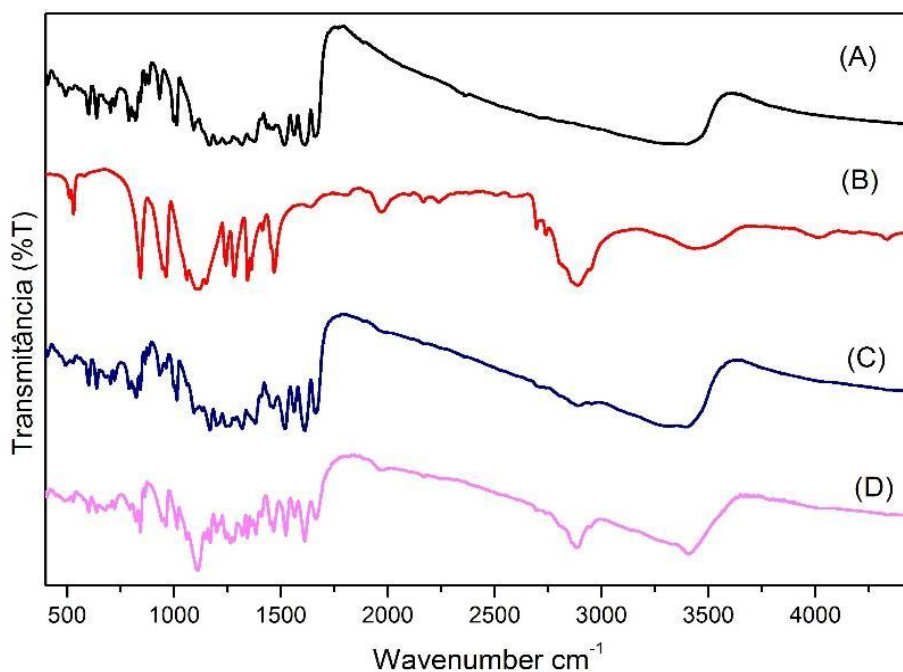
corroborando com os obtidos no infravermelho para estas preparações. O que pode também observados são as diminuições das intensidades das bandas de quercetina e o aumento das bandas características do carreador o que é explicado pela diminuição da concentração do polifenol e aumento da concentração do PEG4000 .

Figura 44 - Espectros de IV da quercetina (A), PEG 4000 (B), mistura física quercetina/PEG 4000 (C) e dispersão sólida de quercetina/PEG 4000 (1:1) obtida em água/álcool (1:4) (D)



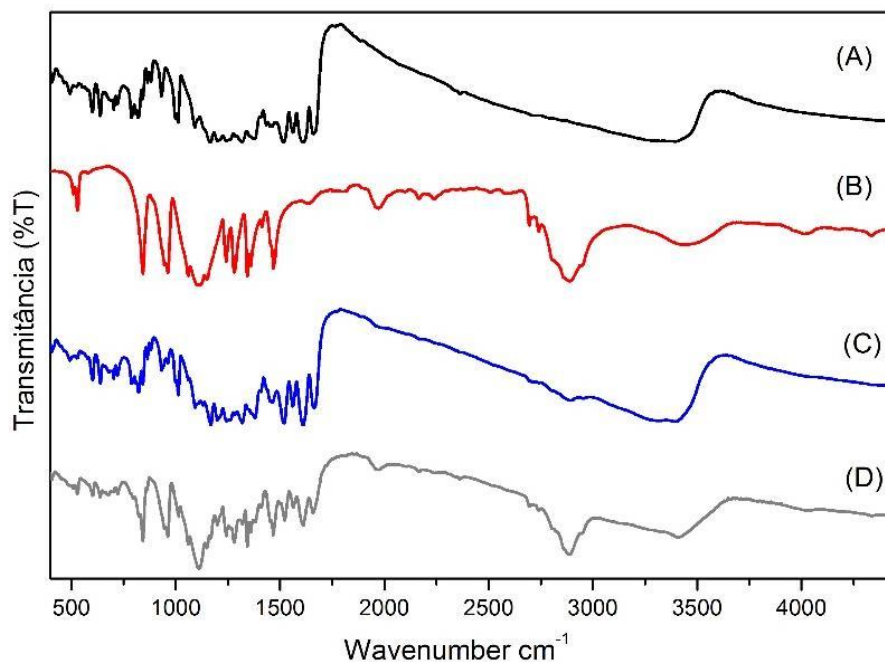
Fonte: ELABORADO PELO PRÓPRIO AUTOR

Figura 45 - Espectros de IV da quercetina (A), PEG 4000 (B), mistura física quercetina/PEG 4000 (C) e dispersão sólida de quercetina/PEG 4000 (1:2) obtida em água/álcool (1:4) (D)



Fonte: ELABORADO PELO PRÓPRIO AUTOR.

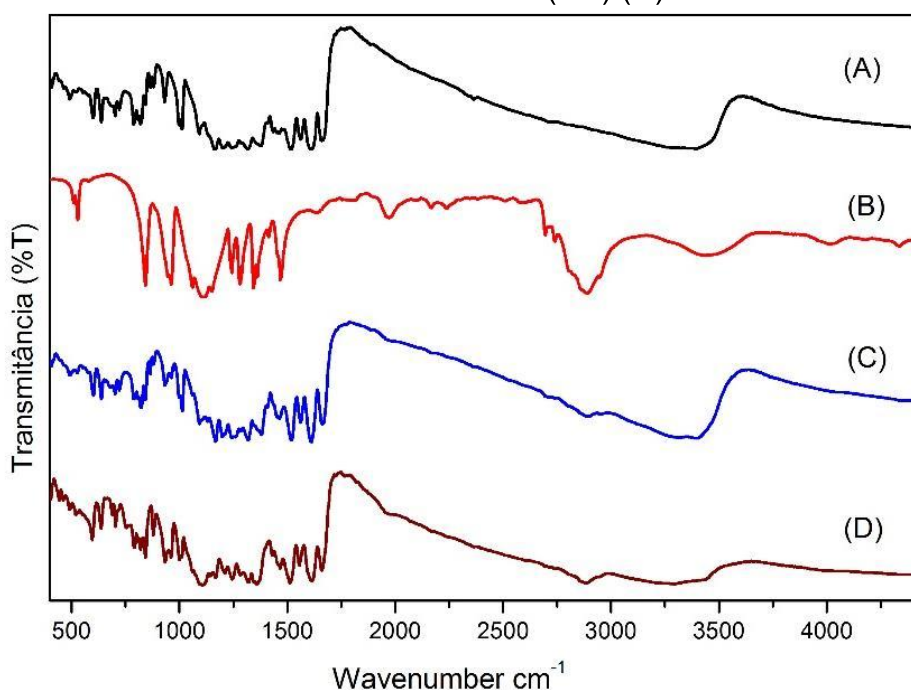
Figura 46 - Espectros de IV da quercetina (A), PEG 4000 (B), mistura física quercetina/PEG 4000 (C) e dispersão sólida de quercetina/PEG 4000 (1:4) obtida em água/álcool (1:4) (D)



Fonte: ELABORADO PELO PRÓPRIO AUTOR

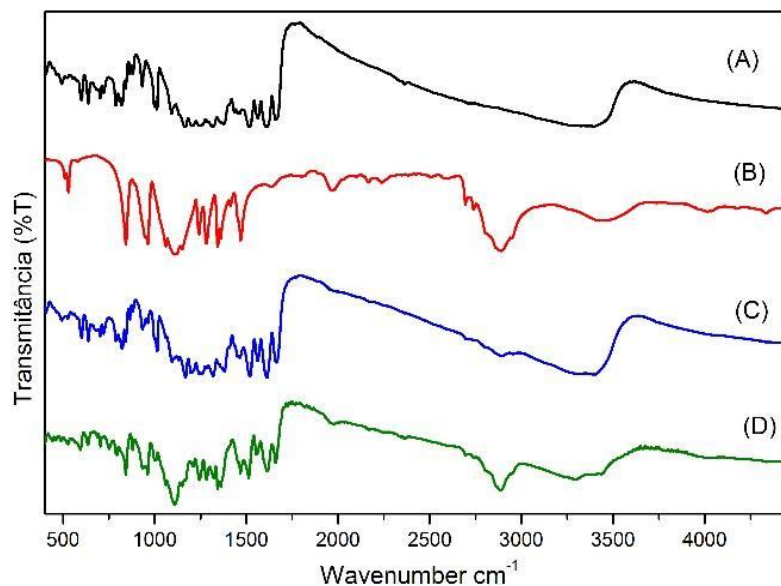
As dispersões sólidas de quercetina/PEG 4000 (1:1), quercetina/PEG4000 (1:2) e quercetina/PEG4000 (1:4) obtidas na mistura de solvente acetona/álcool (1:4) produziram bandas características da quercetina com uma diminuição na intensidade da banda em 3400 cm^{-1} , sugerindo uma possível interação entre as ligações O-H do desta substância e o carreador em todas as proporções (figuras 47, 48 e 49). Entretanto, não houve deslocamento de bandas e esta interação não foi capaz de amorfizar a quercetina, confirmando os resultados de difração de raios-X e Raman.

Figura 47 - Espectros de IV da quercetina (A), PEG 4000 (B), mistura física quercetina/PEG 4000 (C) e dispersão sólida de quercetina/PEG 4000 (1:1) obtida em acetona/álcool (1:4) (D)



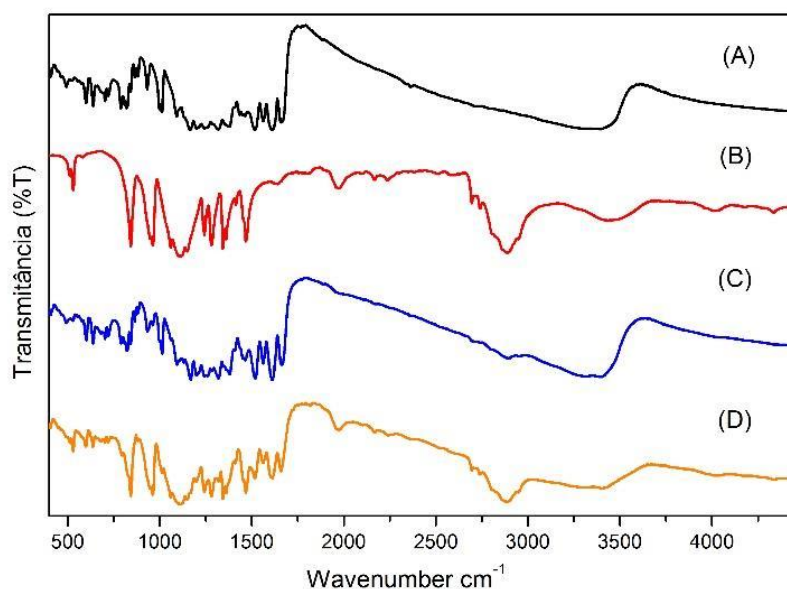
Fonte: ELABORADO PELO PRÓPRIO AUTOR.

Figura 48 - Espectros de IV da quercetina (A), PEG 4000 (B), mistura física quercetina/PEG 4000 (C) e dispersão sólida de quercetina/PEG 4000 (1:2) obtida em acetona/álcool (1:4) (D)



Fonte: ELABORADO PELO PRÓPRIO AUTOR

Figura 49 - Espectros de IV da quercetina (A), PEG 4000 (B), mistura física quercetina/PEG 4000 (C) e dispersão sólida de quercetina/PEG 4000 (1:4) obtida em acetona/álcool (1:4) (D)



Fonte: ELABORADO PELO PRÓPRIO AUTOR

A análise do espectro de IV da quercetina foi descrita anteriormente. De acordo com a Tabela 12, o espectro de HPMC apresentou as seguintes bandas

características: estiramento em 3480 cm^{-1} atribuído às ligações de O-H, estiramento em 2940 cm^{-1} associado a C-H alifático e estiramento em 1076 cm^{-1} envolvido com C-O-C de éteres. Perfis de espectros semelhantes têm sido descritos na literatura (SILVERSTAIN et al., 2000; PAVIA, et al., 2010). O HPMC, por ser um material amorfo, observou-se que seus picos foram muito alargados quando comparados com outros carreadores na forma cristalina.

Tabela 12 - Números de onda e atribuições vibracionais da quercetina e HPMC obtidos das análises dos espectros de infravermelho e literatura

Números de onda (cm^{-1}) e atribuições vibracionais					
Quercetina (cm^{-1})	Literatura^a (cm^{-1})	Atribuições vibracionais	HPMC (cm^{-1})	Literatura^b (cm^{-1})	Atribuições vibracionais
3400	3450-3350	Deformação axial da O-H ligada ao C ₄	3480	3500-3200	Estiramento das ligações O-H
	3350-3250	Deformação axial da O-H ligada ao C ₃	2940	3000-2800	Estiramento C-H alifático
	3000-2500	Deformação axial da O-H ligada ao C ₅	1076	1150-1100	Estiramento C-O-C de éteres
1660	1660	Carbonila deslocada por formações de ligação de hidrogênio intramoleculares	-	-	-
1612	1615 e 1200	Fenila	-	-	-
1325 e 1000	1280 e 1000	Deformações axiais de C-O; O-H fenólicos	-	-	-
1170	1150-1085	Deformações axiais assimétrica de C-O-C	-	-	-
923-600	900 – 675	Deformação axial fora do plano aromático	-	-	-
800	770	Deformação angular fora do plano C-H aromático di-o-substituído	-	-	-

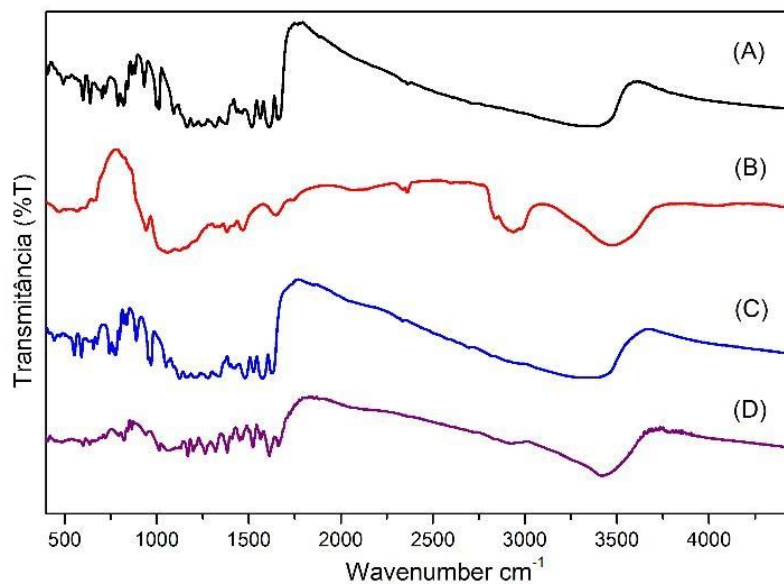
^a(GOTTLIEB, 1975; NAKANISHI; SOLOMON, 1997; RUCKER; NEUGEBAUER; WILLEMS, 1998; SILVERSTEIN e col., 1998; PRALAHAD; RAJENDRAKUMAR, 2004);

^b(SILVERSTAIN et al, 2000; PAVIA, et al., 2010)

Fonte: ELABORADO PELO PRÓPRIO AUTOR

A mistura física mantém as bandas características da quercetina e a dispersão sólida quercetina/HPMC (1:1) produziu alterações em bandas, mas manteve as características da quercetina com redução na intensidade (Figura 50). Também, não houve evidências de interações químicas e/ou amorfização deste flavonoide, pois não foi observado deslocamento das bandas.

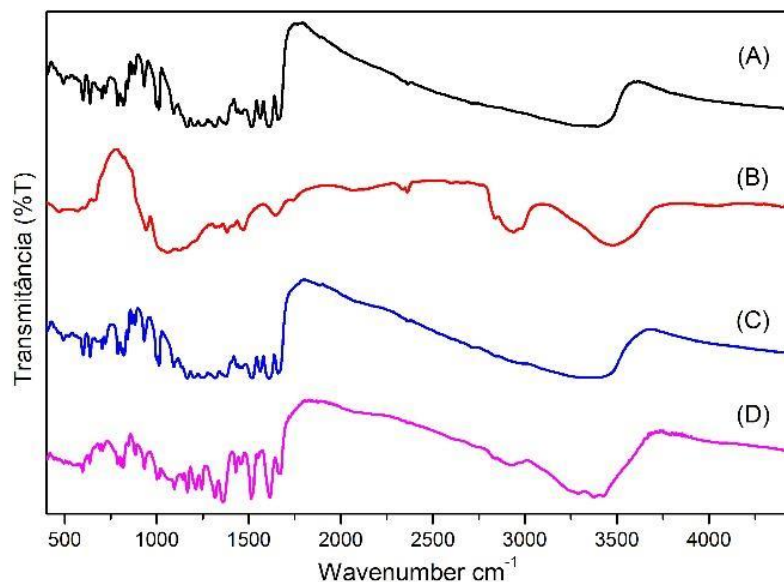
Figura 50 - Espectros de IV da quercetina (A), HPMC (B), mistura física quercetina/HPMC (C) e dispersão sólida de quercetina/HPMC 4000 (1:1) obtida em água/álcool (1:4) (D)



Fonte: ELABORADO PELO PRÓPRIO AUTOR

Na dispersão sólida quercetina/HPMC (1:2) obtida da solução água/álcool (figura 51) manteve as principais bandas de absorção da quercetina e não produziu deslocamento. Esse dado sugere ausência de interação entre a quercetina e o carreador (HPMC) nesta proporção.

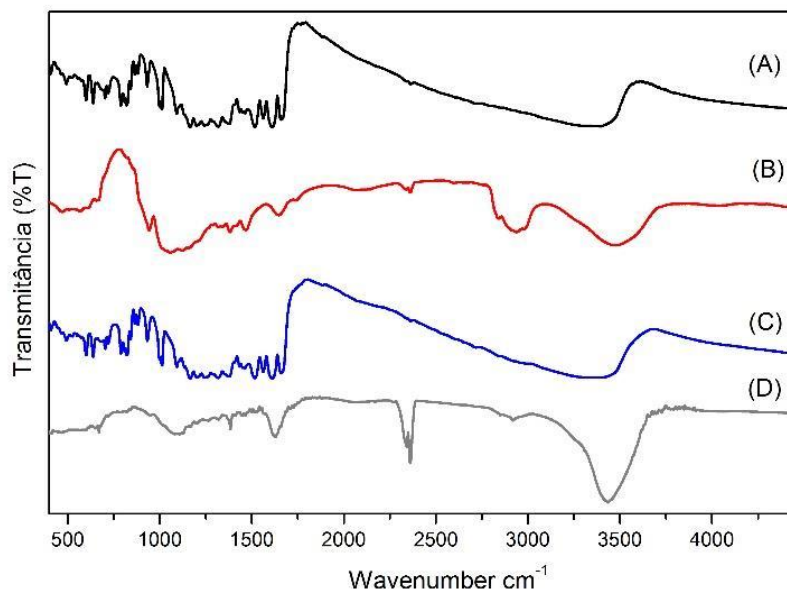
Figura 51 - Espectros de IV da quercetina (A), HPMC (B), mistura física quercetina/HPMC (C) e dispersão sólida de quercetina/HPMC 4000 (1:2) obtida em água/álcool (1:4) (D)



Fonte: ELABORADO PELO PRÓPRIO AUTOR

A análise da figura 52 mostrou que a dispersão sólida de quercetina/HPMC (1:4) obtida em água/álcool produziu alterações nas bandas de absorção quando comparada ao espectro da quercetina padrão e da mistura física. Percebeu-se um aumento na intensidade do pico do carreador, possivelmente, devido a uma maior concentração de HPMC na dispersão. Portanto, é possível afirmar que houve interação entre os componentes da dispersão, pois o pico referente a vibração 1612 cm^{-1} que evidencia o polifenol aparentemente desapareceu. Isto pode indicar um grau de amorfização da quercetina. Além disso, para os picos do flavonoide, a interpretação é mais complicada devida a sobreposição de sinais, mas de acordo com as análises obtidas em raios-x, a DS ainda mantém picos da quercetina.

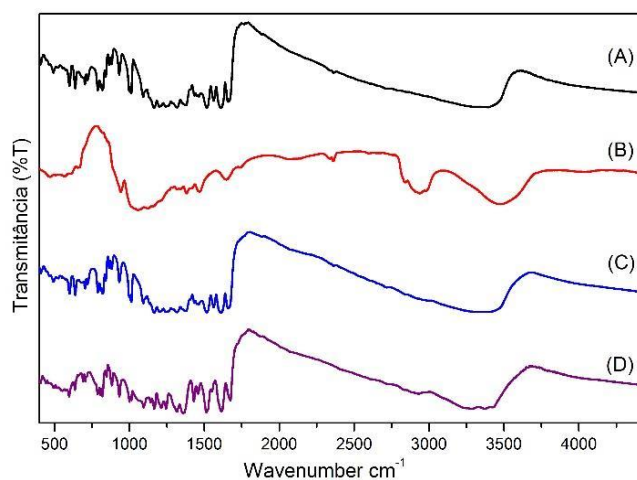
Figura 52 - Espectros de IV da quercetina (A), HPMC (B), mistura física quercetina/HPMC (C) e dispersão sólida de quercetina/HPMC 4000 (1:4) obtida em água/álcool (1:4) (D)



Fonte: ELABORADO PELO PRÓPRIO AUTOR

A dispersão sólida de quercetina/HPMC (1:1) obtida acetona/álcool produziu espectros com bandas de absorção características da quercetina (figura 53). Os dados adquiridos sugeriram que não houve interação química e amorfização da quercetina nesta dispersão, confirmando os resultados de difração de raios-x.

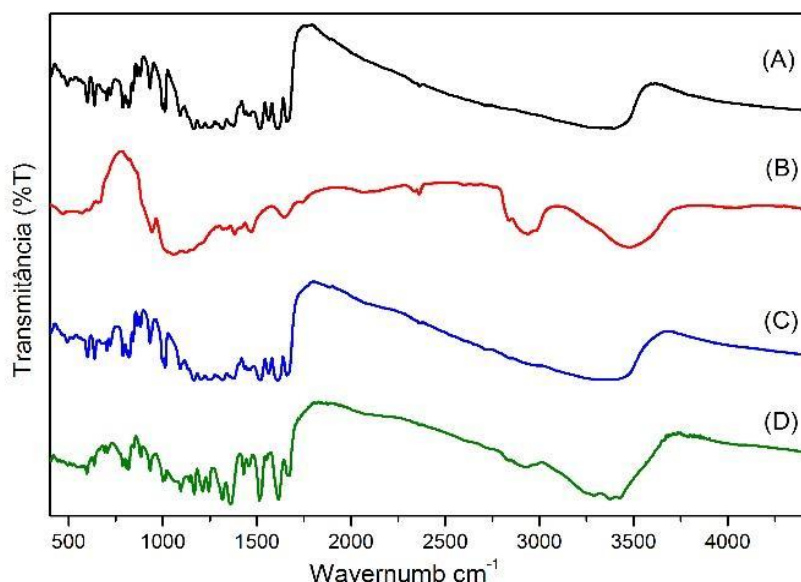
Figura 53 - Espectros de IV da quercetina (A), HPMC (B), mistura física quercetina/HPMC (C) e dispersão sólida de quercetina/HPMC 4000 (1:1) obtida em acetona/álcool (1:4) (D)



Fonte: ELABORADO PELO PRÓPRIO AUTOR

O espectro de IV da dispersão sólida de quercetina/HPMC (1:2) obtida em acetona/álcool mostrou que as bandas características da quercetina foram preservadas, não ocorrendo deslocamento destas (figura 54). Também foram observadas algumas bandas do HPMC com menor intensidade de absorção. Esses achados são sugestivos de ausência de interações químicas entre os grupos funcionais dos constituintes da formulação, bem como falta de amorfização da quercetina.

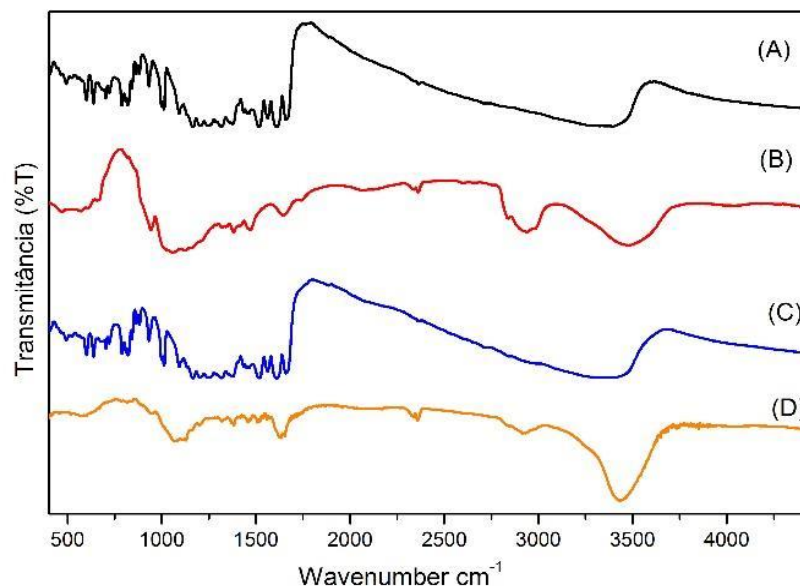
Figura 54 - Espectros de IV da quercetina (A), HPMC (B), mistura física quercetina/HPMC (C) e dispersão sólida de quercetina/HPMC 4000 (1:2) obtida em acetona/álcool (1:4) (D)



Fonte: ELABORADO PELO PRÓPRIO AUTOR

A dispersão sólida de quercetina/HPMC 4000 (1:4) obtida em acetona/álcool não produziu de bandas de absorção características da quercetina, o que sugere a presença de maior interação entre a quercetina e o HPMC (figura 55). Esse dado foi confirmado por difração de raios-X que demonstrou a amorfização da quercetina e por espectro de Raman que apresentou poucos picos característicos deste flavonoide. Portanto, Estes a dispersão sólida de quercetina/HPMC 4000 (1:4) obtida em acetona/álcool possui características desejáveis para o aumento da solubilidade da quercetina.

Figura 55 - Espectros de IV da quercetina (A), HPMC (B), mistura física quercetina/HPMC (C) e dispersão sólida de quercetina/HPMC 4000 (1:4) obtida em acetona/álcool (1:4) (D)



Fonte: ELABORADO PELO PRÓPRIO AUTOR

De acordo com a tabela 13, pode-se observar que o espectro de IV do Pluronic® F127 apresenta perfil semelhante aqueles citados na literatura (OLIVEIRA, 2013). Além disso, espectro do Pluronic® F127 possui bandas características similares ao do polietilenoglicol 4000 (PEG 4000) como descrito acima. As bandas características do Pluronic® 127 mostraram grupos O-H (álcool), C-H (carbono sp^2) e C-O-C (éter) que ocorreram em 3471, 2891 e 1102 cm^{-1} , respectivamente (tabela 12).

Tabela 13 - Números de onda e atribuições vibracionais da quercetina e pluronic F17 obtidos dos espectros de infravermelho e literatura

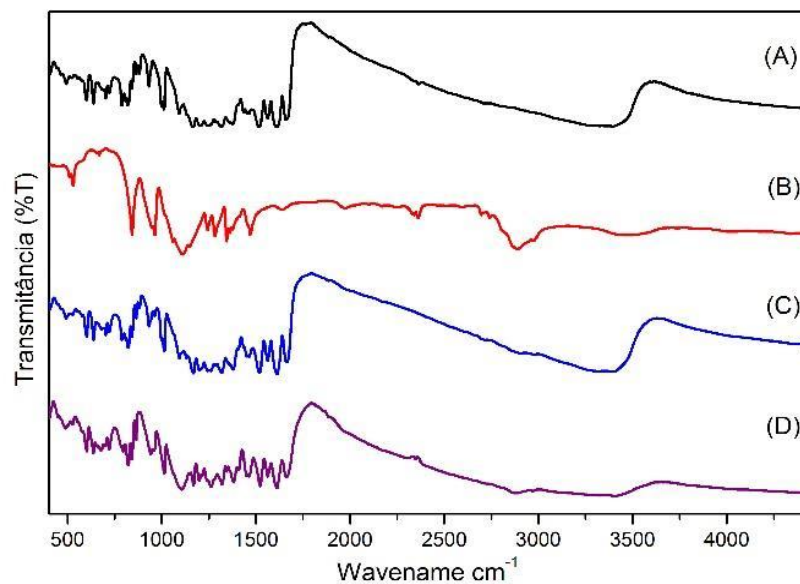
Números de onda (cm⁻¹) e atribuições vibracionais					
Quercetina (cm⁻¹)	Literatura^a (cm⁻¹)	Atribuições vibracionais	Pluronic F127 (cm⁻¹)	Literatura^b (cm⁻¹)	Atribuições vibracionais
3400	3450-3350	Deformação axial da O-H ligada ao C ₄	3471	-	Pequena banda referente a O-H de álcool
	3350-3250	Deformação axial da O-H ligada ao C ₃	2891	2889	Vibrações de alongamento C-H
	3000-2500	Deformação axial da O-H ligada ao C ₅	-	1342	Alongamento O-H
1660	1660	Carbonila deslocada por formações de pontes de hidrogênio intramoleculares	1102	1100	Vibrações de Alongamento C-O-C de éter
1612	1615 e 1200	Fenila	-	-	-
1325 e 1000	1280 e 1000	Deformações axiais de C-O; O-H fenólicos	-	-	-
1170	1150-1085	Deformações axiais assimétrica de C-O-C	-	-	-
923-600	900 – 675	Deformação axial fora do plano aromático	-	-	-
800	770	Deformação angular fora do plano C-H aromático di-o-substituído	-	-	-

^a(GOTTLIEB, 1975; NAKANISHI; SOLOMON, 1997; RUCKER; NEUGEBAUER; WILLEMS, 1998; SILVERSTEIN et al., 1998; PRALAHAD; RAJENDRAKUMAR, 2004); ^bOLIVEIRA, 2013

Fonte: ELABORADO PELO PRÓPRIO AUTOR

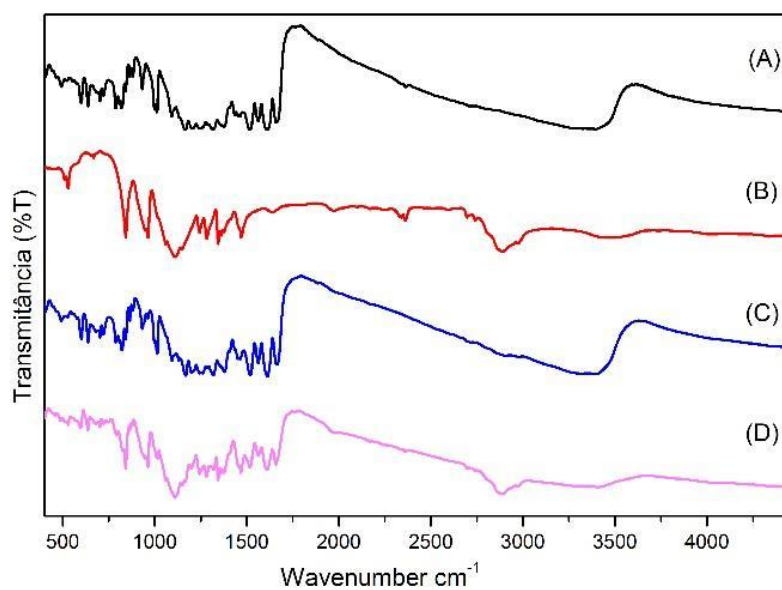
Após análise dos espectros de IV das dispersões sólidas quercetina/Pluronic® F127 (1:1), quercetina/Pluronic® F127 (1:2) e quercetina/Pluronic® F127 (1:4) obtidas na mistura de solvente água/álcool (1:4), foram observadas as principais bandas de absorção característica da quercetina (figuras 56, 57 e 58). Além disso, houve uma diminuição na intensidade da região em 3400 cm⁻¹ para todas as proporções, o que pode ser devida a uma interação entre os grupamentos O-H da quercetina e do Pluronic®. Não é possível afirmar que esta interação promoveu um estado amorfo da quercetina, entretanto, pode alterar as propriedades físico-químicas do fármaco na matriz polimérica (BHARATE; BHARATE; BAJAJ, 2010).

Figura 56 - Espectros de IV da quercetina (A), Pluronic® F127 (B), mistura física quercetina/Pluronic® F127 (C) e dispersão sólida de quercetina/Pluronic® F127 (1:1) obtida em água/álcool (1:4) (D)



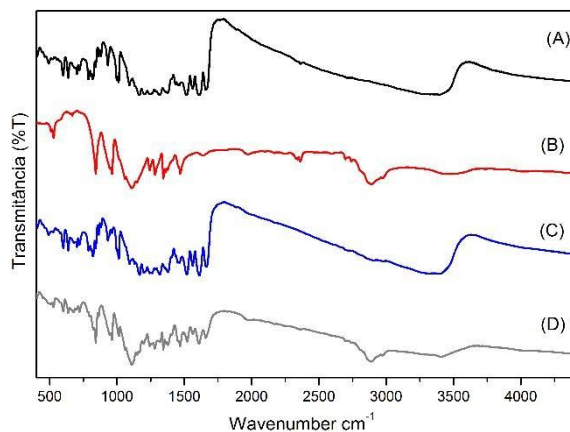
Fonte: ELABORADO PELO PRÓPRIO AUTOR

Figura 57 - Espectros de IV da quercetina (A), Pluronic® F127 (B), mistura física quercetina/Pluronic® F127 (C) e dispersão sólida de quercetina/Pluronic® F127 (1:2) obtida em água/álcool (1:4) (D)



Fonte: ELABORADO PELO PRÓPRIO AUTOR.

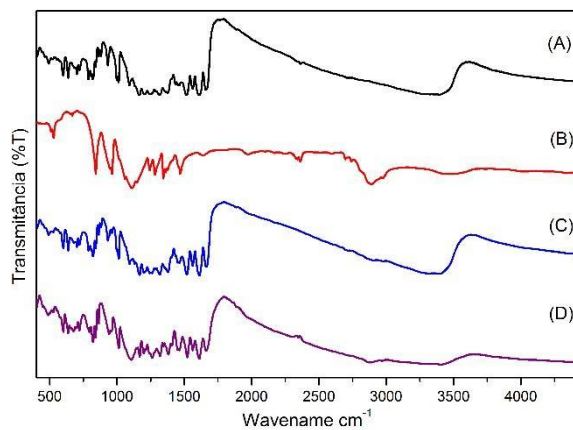
Figura 58 - Espectros de IV da quercetina (A), Pluronic® F127 (B), mistura física quercetina/Pluronic® F127 (C) e dispersão sólida de quercetina/Pluronic® F127 (1:4) obtida em água/álcool (1:4) (D)



Fonte: ELABORADO PELO PRÓPRIO AUTOR

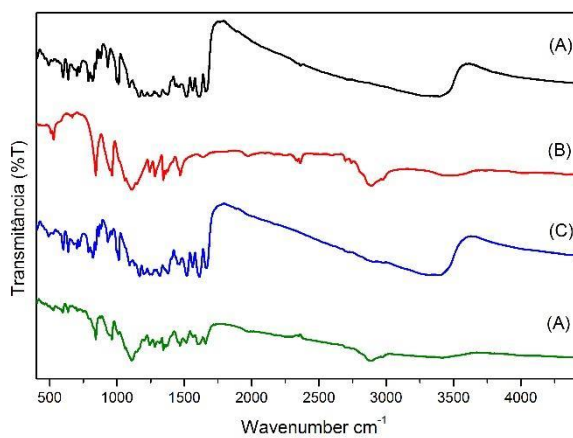
As dispersões sólidas de quercetina/Pluronic® F127 (1:1), quercetina/Pluronic® F127 (1:2) e quercetina/Pluronic® F127 obtidas na mistura de solvente acetona/álcool produziram espectros de IV com bandas características da quercetina e uma redução da intensidade da região 3400 cm^{-1} sugestiva de uma interação do grupamento O-H com o carreador (figuras 59, 60 e 61). Observamos também o aumento das bandas características do carreador devido o aumento de sua concentração. É provável que não houve amorfização da quercetina, pois os resultados de difração de raios X e Raman não confirmaram este estado. É importante destacar que as interações entre os constituintes da dispersão podem promover mudanças nas propriedades físico-químicas da quercetina na matriz polimérica (BHARATE; BHARATE; BAJAJ, 2010).

Figura 59 - Espectros de IV da quercetina (A), Pluronic F127 (B), mistura física quercetina/Pluronic F127 (C) e dispersão sólida de quercetina/Pluronic F127 (1:1) obtida em acetona/álcool (1:4) (D)



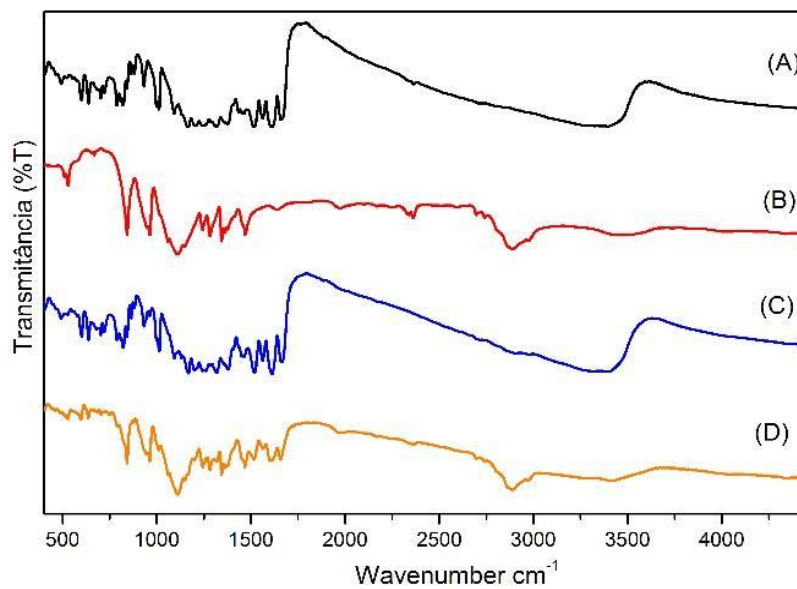
Fonte: ELABORADO PELO PRÓPRIO AUTOR

Figura 60 - Espectros de IV da quercetina (A), Pluronic F127 (B), mistura física quercetina/Pluronic F127 (C) e dispersão sólida de quercetina/Pluronic F127 (1:2) obtida em acetona/álcool (1:4) (D)



Fonte: ELABORADO PELO PRÓPRIO AUTOR

Figura 61 - Espectros de IV da quercetina (A), Pluronic F127 (B), mistura física quercetina/Pluronic F127 (C) e dispersão sólida de quercetina/Pluronic F127 (1:4) obtida em acetona/álcool (1:4) (D)



Fonte: ELABORADO PELO PRÓPRIO AUTOR

5.3 Análise por espectroscopia Raman

A Espectroscopia Raman (ER) tem sido empregada em análises farmacêuticas e apresenta inúmeras vantagens em relação a métodos convencionais, pois é uma técnica rápida e não destrutiva. Permite identificar componentes ativos farmacêuticos, assim como outras substâncias presentes nas formulações, sem necessidade de tratamento prévio das amostras (DE BEER et al., 2007). Neste trabalho, ER foi utilizada para verificar a presença ou não de interação entre os carreadores e a quercetina, bem como a amorfização desta em dispersões sólidas. Esta técnica apresenta como principal vantagem a facilidade de preparo das amostras, a sensibilidade mínima à interferência da água, o detalhamento espectral e a sensibilidade conformacional, além de detectar vibrações de baixa frequência (MANTANUS et al., 2011). As figuras 59 a 61 apresentam os espectros de Raman quercetina, carreadores, misturas físicas quercetina/carreador e dispersões sólidas.

O espectro Raman da quercetina produziu bandas decorrentes da vibração da molécula que foram observadas entre 600 e 1600 cm^{-1} . As bandas em 600 e 1616 cm^{-1} foram atribuídas a uma vibração de um anel fenila e de um grupo carbonila (C=O), respectivamente. As frequências das bandas de Raman da quercetina, assim como as citações da literatura, foram resumidas na tabela 14.

Através da análise dos espectros Raman mostrada da tabela 14 e figura 59, pode-se observar que a quercetina e o PEG 4000 apresentam perfis de bandas similares aqueles encontrados na literatura com pequenas alterações no número de onda dos eventos. Os espectros Raman das dispersões sólidas preparadas com o PEG 4000 apresentaram bandas similares aos espectros da mistura física. No entanto, é visível que existe alteração do espectro Raman nas regiões 750 a 800 cm^{-1} , onde houve o aparecimento de um novo pico tanto na mistura física quanto nas dispersões sólidas. Entre a região de 900 a 1000 cm^{-1} , houve o aparecimento de um pico das dispersões quercetina/PEG 4000 (1:4) em acetona/álcool (1:4) e quercetina/PEG 4000 (1:4) água/álcool (1:4). Todas as dispersões sólidas obtidas apresentaram novos registros nas regiões entre 1130 a 1240 cm^{-1} . Nesta análise, também ocorreram deslocamento de picos característicos da quercetina nas posições 737 cm^{-1} para 722 cm^{-1} , de 1314 cm^{-1} para 1325 cm^{-1} e de 1374 cm^{-1} para 1368 cm^{-1} . Com o aparecimento de novos picos e deslocamentos de linha fica claro que existe interação entre o carreador e o princípio ativo, que

aparentemente não é suficiente para caracterizar um estado de amorfização completa como detectado claramente no difratograma de raios-x.

Tabela 14 - Números de onda da quercetina e PEG 4000 obtidos dos espectros de Raman e literatura

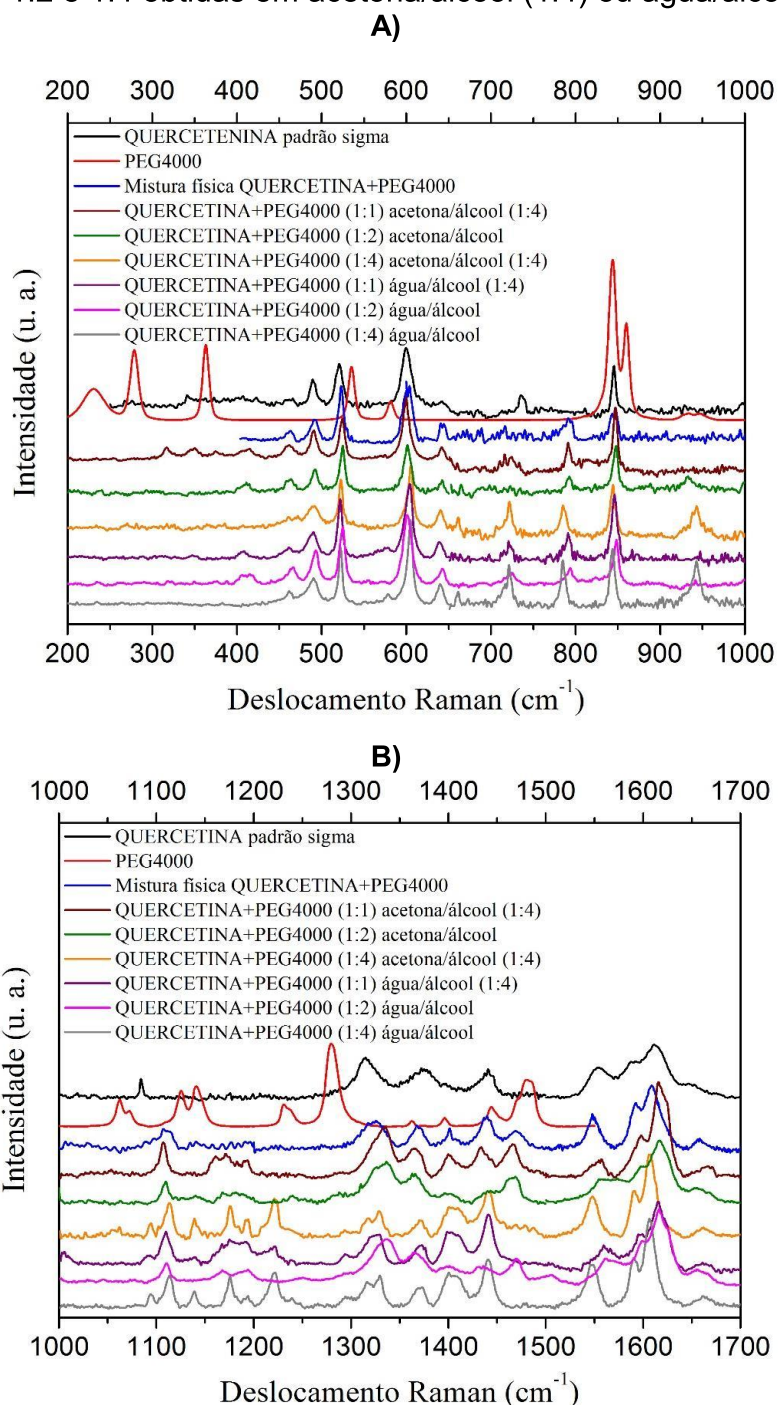
Números de ondas (cm ⁻¹) e atribuições vibracionais					
Quercetina (cm ⁻¹)	Literatura ^a (cm ⁻¹)	Atribuições vibracionais	PEG 4000 (cm ⁻¹)	Literatura ^b (cm ⁻¹)	Atribuições vibracionais
490	-	Deformação do anel B	231	225	Deformação esqueleto
520	-	Deformação do anel A	279	278	-
600	604	Estiramento do anel B-C	363	371	-
737	721	Estiramento do anel A,C	535	533	Flexão vibracional C-C-O
846	843	Estiramento do anel B,C	582	582	-
1084	1104	Estiramento do anel A,B	844	846	Vibração esqueleto
1314	1328	Deformação do anel B	860	864	Vibração esqueleto
1375	1371	Flexão fora do plano C3-OH, estiramento O1-C2, estiramento C3-C4, estiramento C4-C10	1062	1060	Estiramento vibracional C-O e Balanço vibracional CH ₂
1441	1440	Estiramento C7-OH	1072	1071	-
1555	1548	Flexão de C-C-H no anel di-hidroxifenila + reflexão de C-O-H no anel benzênico.	1126	1132	Estiramento vibracional C-C e C-O
1587	1596	Flexão C=C nos anéis benzênico e di-hidroxifenila	1141	1148	Estiramento C-C e balanço vibracional CH ₂
1612	1609	Estiramento da ligação C=C	1231	1221	Torção vibracional CH ₂
1650	1662	Estiramento da ligação C=O	1237	1229	Torção vibracional CH ₂
-	-	-	1280	1276	Torção vibracional CH ₂
-	-	-	1363	1366	Rotação e torção vibracional CH ₂
-	-	-	1444	1458	Flexão vibracional assimétrica CH ₂ -CH ₂
-	-	-	1470	1470	Flexão vibracional assimétrica CH ₂ -CH ₂
-	-	-	1480	1479	Flexão vibracional simétrica CH ₂ -CH ₂

^a(CORNARD et al., 1997; NUMATA e TANAKA, 2011; PACZKOWSKA et al., 2015);

^bYAMINI et al. 2013).

Fonte: ELABORADO PELO PRÓPRIO AUTOR

Figura 62 - Espectros de Raman da quercetina, PEG 4000, mistura física quercetina/PEG 4000 e dispersões sólidas de quercetina/PEG 4000 nas proporções de 1:1, 1:2 e 1:4 obtidas em acetona/álcool (1:4) ou água/álcool (1:4)



A) Intervalo de número de onda 200 a 1000; B) Intervalo de número de onda 1000 a 1700
Fonte: ELABORADO PELO PRÓPRIO AUTOR

A análise do espectro de Raman mostrou que o HPMC apresentou bandas em 946, 1120, 1155 e 1370 cm^{-1} que foram atribuídas às ligações éter, ligações éter no anel de 6 carbonos, éter de alquila e vibrações C-H de grupo metila, respectivamente (tabela 15). Banda em 1453 cm^{-1} também correspondeu a

vibrações C-H de grupo metila. Estas características foram semelhantes aquelas descritas na literatura (tabela 15). No caso das dispersões quercetina/HPMC nas proporções 1:1, 1:2 e 1:4 em acetona/álcool (1:4) ou água/álcool (1:4), foram detectados a presença de novos picos, mas a maioria dos picos que caracteriza a quercetina foram mantidos, sugerindo que ocorreram interações entre o fármaco e carreador e a amorfização da quercetina (figura 60). A dispersão quercetina/HPMC (1:4) em acetona/álcool produziu mudanças expressivas nos picos, desaparecendo a maioria das características espectrais da quercetina. Este dado sugeriu a ocorrência de uma amorfização da quercetina e interação química com o carreador, confirmando os resultados de difração de raios-X e infravermelho.

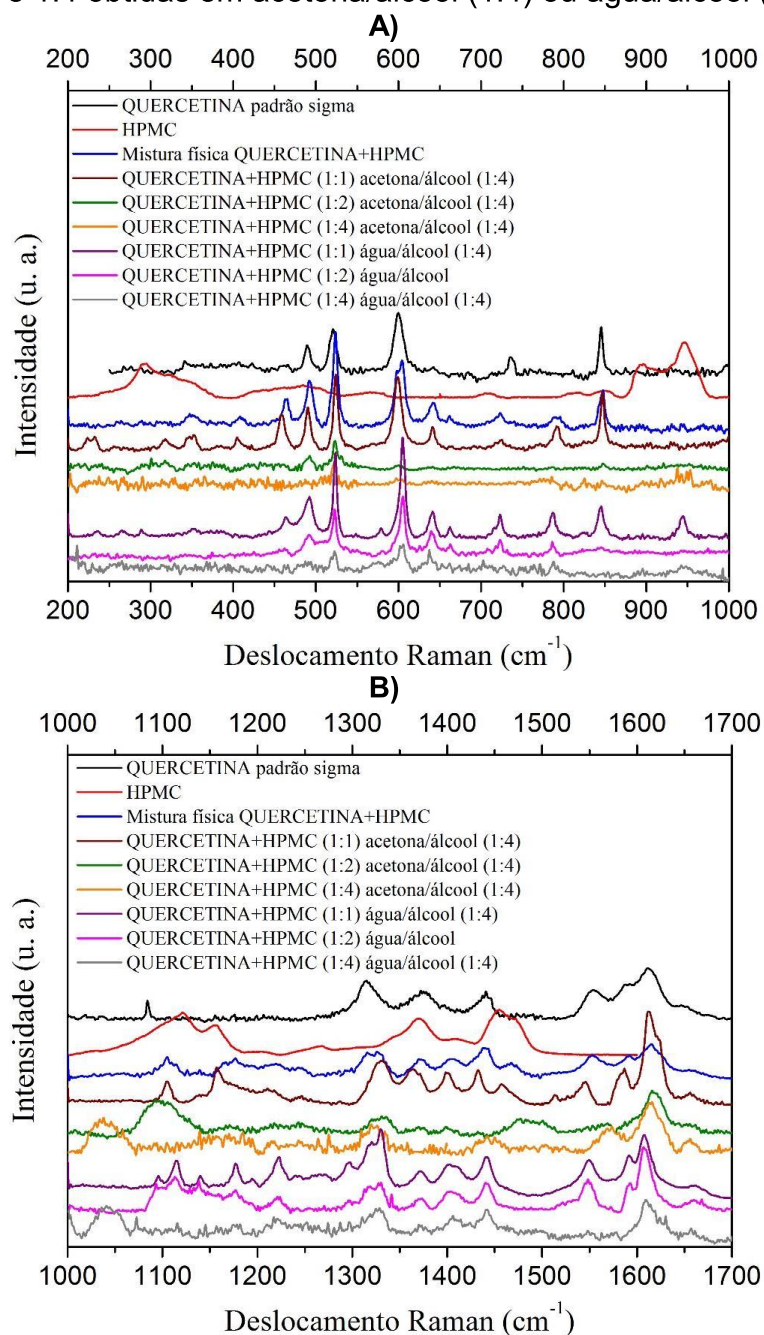
Tabela 15 - Números de onda e atribuições vibracionais da quercetina e HPMC obtidos dos espectros de Raman e literatura

Números de ondas (cm⁻¹) e atribuições vibracionais					
Quercetina (cm⁻¹)	Literatura^a (cm⁻¹)	Atribuições vibracionais	HPMC (cm⁻¹)	Literatura^b (cm⁻¹)	Atribuições vibracionais
490	-	Deformação do anel B	290	946	Ligações éter
520	-	Deformação do anel A	895	1120	Ligações éter no anel de 6 carbonos
600	604	Estiramento do anel B-C	946	1155	Éter de alquila
737	721	Estiramento do anel A,C	1120	1358	Vibrações C-H grupo metila
846	843	Estiramento do anel B,C	1155	1453	Vibrações C-H grupo metila
1084	1104	Estiramento do anel A,B	1370	-	-
1314	1328	Deformação do anel B	1453	-	-
1375	1371	Flexão fora do plano C3-OH, estiramento O1-C2, estiramento C3-C4, estiramento C4-C10	-	-	-
1441	1440	Estiramento C7-OH	-	-	-
1555	1548	Flexão de C-C-H no anel di-hidroxifenila + reflexão de C-O-H no anel benzênico.	-	-	-
1587	1596	Flexão C=C nos anéis benzênico e di-hidroxifenila	-	-	-
1612	1609	Estiramento da ligação C=C	-	-	-
1650	1662	Estiramento da ligação C=O	-	-	-

^aCORNARD et al., 1997, ^bAKINOSHO; HAWKINS; WICKER, 2013

Fonte: ELABORADO PELO PRÓPRIO AUTOR

Figura 63 - Espectros de Raman da quercetina, HPMC, mistura física quercetina/HPMC e dispersões sólidas de quercetina/HPMC nas proporções de 1:1, 1:2 e 1:4 obtidas em acetona/álcool (1:4) ou água/álcool (1:4)



A) Intervalo de número de onda 200 a 1000; B) Intervalo de número de onda 1000 a 1700
Fonte: ELABORADO PELO PRÓPRIO AUTOR

De acordo com a tabela 16, o número de ondas das atribuições vibracionais obtidos do carreador Pluronic® F127 não foi possível ser comparado com dados da literatura, pois não foram encontrados para este carreador.

Considerando a figura 61, o aparecimento de novos picos nas regiões entre 637 a 786 cm^{-1} e 1140 a 1280 cm^{-1} tanto para a mistura física quanto para as

dispersões sólidas foi indicativo de uma possível amorfização, entretanto, esse achado não foi comprovado pelos resultados de infravermelho e difração de raios-X. Nas dispersões sólidas, foi observado o deslocamento do pico 735 cm^{-1} referente à quercetina para 722 cm^{-1} e do pico de 1315 cm^{-1} para 1329 cm^{-1} , o que pode estar relacionado com interações entre os grupamentos da quercetina e do Pluronic® F127. No entanto, apesar dessas alterações, os principais picos da quercetina foram mantidos nas dispersões sólidas sugerindo, contrariando o efeito da interação química. Além disso, não ocorreram indícios de amorfização, confirmando os resultados obtidos por difração de raios-X e infravermelho.

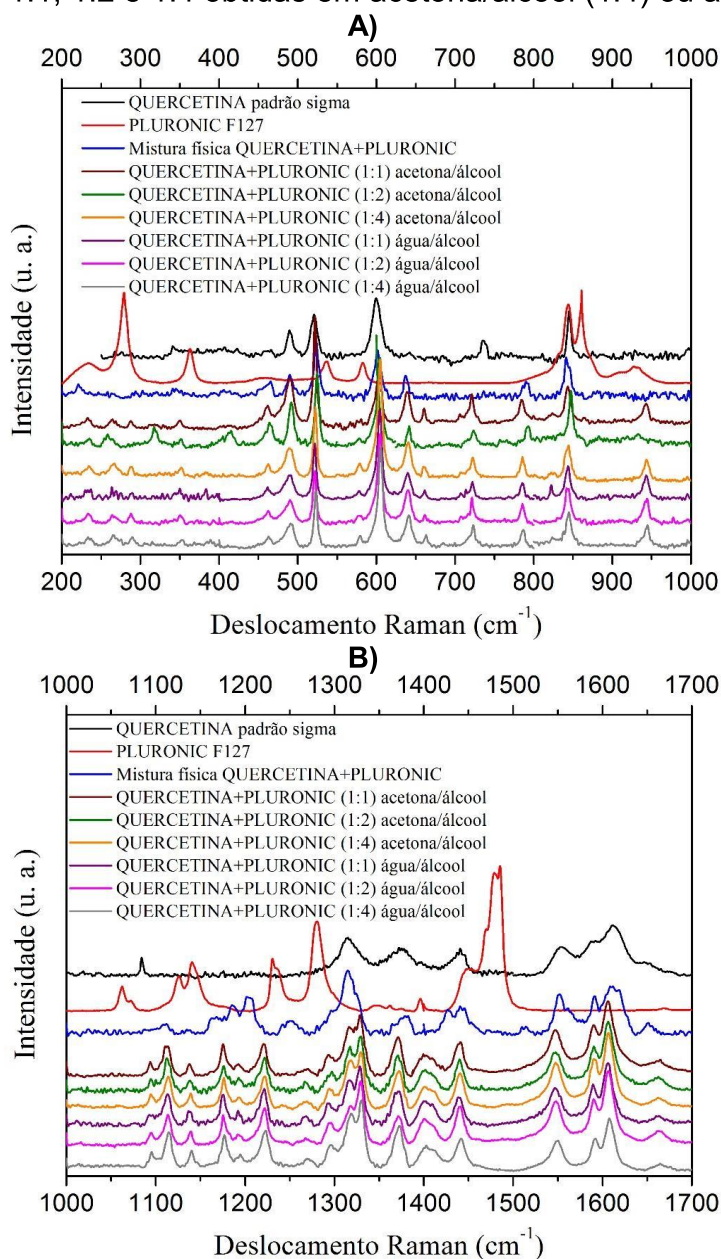
Tabela 16 - Números de onda e atribuições vibracionais da quercetina e Pluronic F127 obtidos dos espectros de Raman e literatura

Números de onda (cm^{-1}) e atribuições vibracionais				
Quercetina (cm^{-1})	Literatura^a (cm^{-1})	Atribuições vibracionais	Pluronic® F127 (cm^{-1})	Atribuições vibracionais
490	-	Deformação do anel B	278	Cadeia alifática C-C
520	-	Deformação do anel A	383	Cadeia alifática C-C
600	604	Estiramento do anel B-C	844	Estiramento C-O-C de éter
737	721	Estiramento do anel A,C	861	Estiramento C-O-C de éter
846	843	Estiramento do anel B,C	929	Estiramento de esqueleto de alceno ramificado C-C
1084	1104	Estiramento do anel A,B	1062	C-O-C assimétrico
1314	1328	Deformação do anel B	1395	Grupo CH ₃
1375	1371	Flexão fora do plano C3-OH, estiramento O1-C2, estiramento C3-C4, estiramento C4-C10	1481	Carbono assimétrico CH ₂ ou CH ₃
1441	1440	Estiramento C7-OH	-	-
1555	1548	Flexão de C-C-H no anel di-hidroxifenila + reflexão de C-O-H no anel benzênico.	-	-
1587	1596	Flexão C=C nos anéis benzênico e di-hidroxifenila	-	-
1612	1609	Estiramento da ligação C=C	-	-
1650	1662	Estiramento da ligação C=O	-	-

^aCORNARD et al., 1997.

Fonte: ELABORADO PELO PRÓPRIO AUTOR

Figura 64 - Espectros de Raman da quercetina, Pluronic® F127, mistura física quercetina/Pluronic® F127 e dispersões sólidas de quercetina/Pluronic® F127 nas proporções de 1:1, 1:2 e 1:4 obtidas em acetona/álcool (1:4) ou água/álcool (1:4)



A) Intervalo de número de onda 200 a 1000; B) Intervalo de número de onda 1000 a 1700
Fonte: ELABORADO PELO PRÓPRIO AUTOR

Portanto, considerando que a quercetina possui solubilidade limitada, necessitando de forma amorfa para uma melhor dissolução e biodisponibilidade, os resultados obtidos por espectroscopia de Raman mostraram que a dispersão sólida quercetina:HPMC (1:4) obtida em acetona/álcool (1:4) é a preparação mais apropriada para ser utilizada em desenvolvimento farmacotécnico, pois, de acordo as análises espectroscópicas, apresentou características promissoras de estado amorfo.

A utilização de diferentes misturas de solventes demonstrou variações nas análises dos difratogramas e dos espectros de infravermelho e Raman. Este fato pode estar relacionado a uma maior solubilização da quercetina na solução de acetona/álcool (1:4). Além disso, com a utilização dessas técnicas, foi observado que houve uma complementação dos resultados obtidos:

- No caso da utilização do carreador PEG 4000, nas proporções (1:1, 1:2 e 1:4) e na mistura de solventes água/álcool, a técnica de raios-x demonstrou que a dispersão sólida manteve a cristalinidade em todas as proporções, a espectroscopia de infravermelho não detectou interações e a espectroscopia de Raman revelou algumas interações entre os componentes, fazendo com que esses métodos produzam informações diferenciadas e complementares.
- Quando foi utilizado o carreador PEG 400 nas proporções (1:1, 1:2 e 1:4) e na mistura de solventes acetona/álcool, a cristalinidade foi mantida na análise de difração de raios-x, interação na região de 3400 cm^{-1} do infravermelho foi evidenciada e o aparecimento de novos picos detectados na espectroscopia de Raman indicou a existência de interações entre os componentes da dispersão, mas não foi suficiente para determinar a amorfização da quercetina.
- Na utilização do carreador HPMC nas proporções (1:1, 1:2 e 1:4) e mistura de solventes água/álcool, a cristalinidade foi preservada nas proporções (1:1 e 1:2), enquanto em 1:4 a amorfização da quercetina foi evidenciado, sendo corroborado pela espectroscopia de infravermelho, embora os picos principais da quercetina tenham sido detectados na espectroscopia de Raman. Para as proporções 1:1 e 1:2, os espectros de infravermelho mostraram os picos principais da quercetina sem o indício de interação na região de 3400 cm^{-1} , enquanto os espectros de Raman revelaram o aparecimento de novos picos, indicativos de algum tipo de interação, mas os principais picos do flavonoide foram preservados.
- Nas proporções (1:1, 1:2 e 1:4) e mistura de solventes acetona/álcool, uma leve mudança na cristalinidade em HPMC 1:1 e 1:2 na difração de raios-x foi observada, entretanto, não foi detectada a interação na região das O-H nos espectros de infravermelho e alguns picos indicativos de interações foram revelados nos espectros de Raman. Houve a manutenção de alguns picos da quercetina. A mistura 1:4 foi onde obtivemos amorfização esperada da

quercetina e no infravermelho não houve o aparecimento de picos característicos da quercetina, já no raman observamos a presença de poucos picos deste polifenol.

- O uso do carreador Pluronic® F127 nas proporções (1:1, 1:2 e 1:4) em solventes água/álcool manteve a cristalinidade da quercetina que foi detectada através das técnicas de raios-x e infravermelho com presença de interação na região O-H. A espectroscopia de Raman mostrou o aparecimento de novos picos indicativos de interações, mas os principais picos da quercetina foram preservados em ambas as técnicas espectroscópicas.
- A aplicação do Pluronic® F127 nas proporções (1:1, 1:2 e 1:4) em acetona/álcool conservou a cristalinidade da quercetina e ocasionou interação na região de 3400 cm^{-1} referente a O-H no espectro de infravermelho. Na espectroscopia de Raman, houve o aparecimento de novos picos indicando a ocorrência de alguma interação entre os componentes da preparação. É possível que as mudanças nos picos da quercetina nessa mistura sejam devido a sua maior solubilidade.

5.4 Análises por espectroscopia de RMN

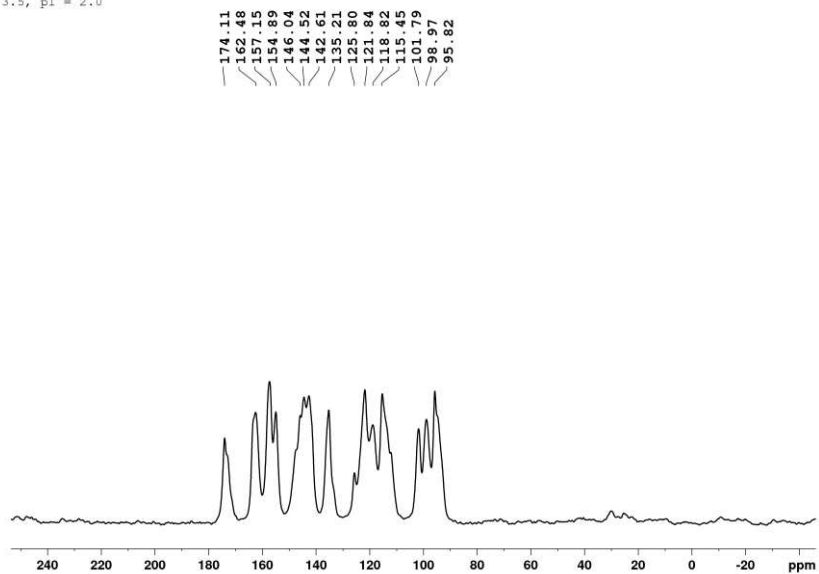
Por apresentar características promissoras de estado amorfo, a dispersão quercetina/HPMC (1:4) obtida em acetona/álcool (1:4) foi analisada por RMN. A espectroscopia de RMN teve a finalidade de demonstrar a presença da quercetina e HPMC nesta preparação sem a formação de produtos de degradação.

O espectro apresentado na figura 65 se refere à quercetina onde foram produzidos deslocamentos entre δ 95,82 e 174,11 ppm. Deslocamentos entre δ 16,29 e 102,93 ppm foram detectados no espectro de RMN de HPMC (figura 66). O espectro da dispersão sólida (quercetina/HPMC 1:4 em acetona/álcool 1:4) é representado na figura 67. Nesta figura, pode-se observar a presença dos deslocamentos referentes ao polímero HPMC entre δ 16,84 e 102,60 ppm (IBBETT; PHILP; PRICE, 1992), enquanto os deslocamentos entre δ 114,95 e 174,57 ppm são referentes aos carbonos da quercetina (OLEJNICZAK; POTRZEBOWSKI, 2004; WAWER; WITKOWSKI, 2001).

Após análises do espectro da dispersão sólida quercetina/HPMC 1:4, foi detectado o desaparecimento de deslocamentos referentes à quercetina e HPMC que pode está relacionado à interação entre estes constituintes como previsto nos resultados anteriores. Porém o não aparecimento dos sinais referidos ocorreram pela diminuição da cristalinidade da amostra, e sinais com deslocamento muito próximos acabaram aparecendo na mesma região, uma vez que a resolução diminuiu com a baixa cristalinidade, acarretando picos mais largos.

Figura 65 - Espectro de RMN de ^{13}C no estado sólido da quercetina

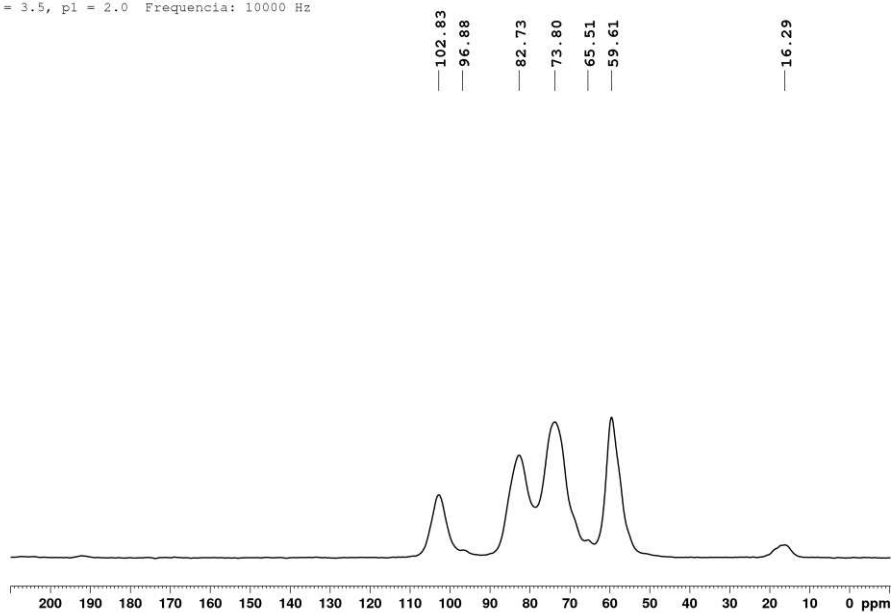
Quercetina Operador: Gustavo Data: 28/04/2015
d1 = 3.5, p1 = 2.0



Fonte: ELABORADO PELO PRÓPRIO AUTOR

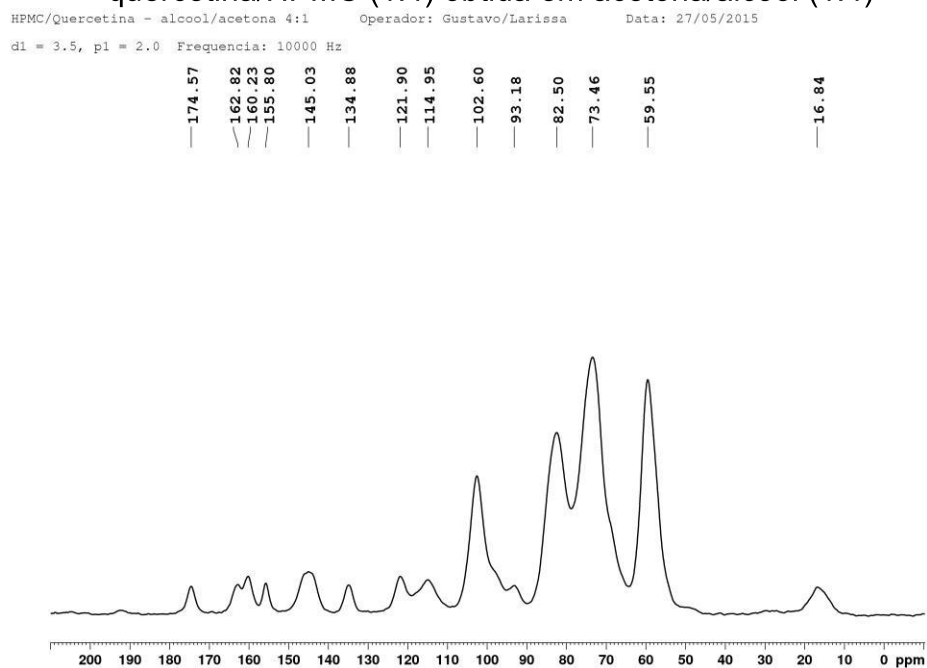
Figura 66 - Espectro de RMN de ^{13}C no estado sólido de HPMC

HPMC Operador: Gustavo/Larissa Data: 28/05/2015
d1 = 3.5, p1 = 2.0 Freqüencia: 10000 Hz



Fonte: ELABORADO PELO PRÓPRIO AUTOR

Figura 67 - Espectro de RMN de ^{13}C no estado sólido da dispersão sólida de quercetina/HPMC (1:4) obtida em acetona/álcool (1:4)



Fonte: ELABORADO PELO PRÓPRIO AUTOR

6 CONCLUSÃO

Com os resultados obtidos neste trabalho, é possível observar a importância do desenvolvimento de dispersões sólidas, pois este é um recurso que possui muitas vantagens, principalmente para fármacos com baixa solubilidade.

Os perfis de difração de raios-X obtidos com os carreadores sugerem que a dispersão sólida quercetina:HPMC (1:4) obtida na mistura de solventes acetona/álcool (1:4) apresentou características amorfas, a qual foi corroborada com as técnicas espectroscópicas de infravermelho e Raman.

A espectroscopia de infravermelho indicou possíveis interações entre a quercetina e os carreadores PEG 4000 e Pluronic® F127 nas regiões que possuem O-H.

A dispersão sólida quercetina:HPMC (1:4) obtida em acetona/álcool (1:4) contendo quercetina amorfa é uma preparação promissora para o desenvolvimento farmacotécnico de formulações orais, pois possui características de maior solubilidade e dissolução e, conseqüentemente, biodisponibilidade no organismo.

No entanto, pesquisas complementares, como estudos de dissolução *in vitro*, desenvolvimento de formulação oral, estudo de estabilidade, estudo *in vivo*, reprodutibilidade, entre outros, são necessárias para que se tenha um produto farmacêutico de qualidade para utilização terapêutica.

REFERÊNCIAS

- AGRAWAL, A. D. Pharmacological activities of flavonoids: a review. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Nanotechnology**, v. 4, n. 2, p. 1394-1398, 2011.
- AGUIAR, M. R. M. P.; GEMAL, A. L.; SAN G.; R. A. S. Caracterização de polimorfismo em fármacos por ressonância magnética nuclear no estado sólido. **Química Nova**, v. 22, n. 4, p. 553-564, 1999.
- AHERNE, S. A.; O'BRIEN, N. M. Protection by the flavonoids myricetin, quercetin, and rutin against hydrogen peroxide-induced DNA damage in Caco-2 and Hep G2 cells. **Nutrition and Cancer**, v. 34, n. 2, p. 160-166, 1999.
- AKINOSHO, H.; HAWKINS, S.; WICKER, L. Hydroxypropyl methylcellulose substituent analysis and rheological properties, **Carbohydrate Polymers** v. 98, n.1, p. 276-281, 2013.
- ALBERS, A. P. F. Um método simples de caracterização de argilominerais por difração de raios X. **Cerâmica**, v. 48, n. 305, p. 34-37, 2002.
- ALEXANDRIDIS, P.; TSIANOU, M. Block copolymer-directed metal nanoparticle morphogenesis and organization. **European Polymer Journal**, v. 47, n. 4, p. 569-583, 2011.
- ALONZO, D. E.; ZHANG, G. G. Z.; ZHOU, D.; GAO, Y.; TAYLOR, L. S. Understanding behavior of amorphous pharmaceutical systems during dissolution. **Pharmaceutical Research**, v. 27, n. 4, p. 608-618, 2010.
- ALVES, L. D. S.; LYRA, M. A. M.; ROLIM, L. A.; PRESMICH, G. M. A.; ROLIM-NETO, P. J. Avanços, propriedades e aplicações de dispersões sólidas no desenvolvimento de formas farmacêuticas sólidas. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 33, n. 1, p. 17-25, 2012.
- AMORIM, S. R.; KLIER, A. H.; ANGELIS, L. H. Controle de qualidade na indústria farmacêutica: identificação de substâncias por espectroscopia no infravermelho. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 94, n. 3, p. 234-242, 2013.
- ANDERSEN, O. M.; MARKHAM, K. R. **Flavonoids: Chemistry, Biochemistry and Applications**. 1. ed., Boca Raton: CRC Press - Taylor & Francis Group, 2006.
- BALANI, P.N.; WONG, S.Y.; NG, W.K.; WIDJAJA, E.; TAN, R.B.; CHAN, S.Y. Influence of polymer content on stabilizing milled amorphous salbutamol sulphate. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 391, n. 1-2, p. 125-136, 2010.
- BARBOSA, L. C. A. **Espectroscopia no Infravermelho na Caracterização de Compostos Orgânicos**. 1 ed., Viçosa: Editora UFV, 2004.

BARTOLOMEI, M.; BERTOCCHI, P.; ANTONIELLA, E.; RODOMONTE, A. Physico-chemical characterization and intrinsic dissolution studies of a new hydrate form of diclofenac sodium: comparison with anhydrous form. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 40, n. 5, p. 1105-1113, 2006.

BERTHOMIEU, C.; HIENERWADEL, R. Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy. **Photosynthesis Research**, v. 101, n. 2-3, p. 157-170, 2009.

BATHISTA, A. L. B. S. **Princípios Básicos de Ressonância Magnética Nuclear no Estado Sólido**. São Carlos: Universidade de São Paulo, 2005, 50p.

BATRAKOVA, E. V.; KABANOV, A. V. Pluronic copolymers: evolution of drug delivery concept from inert nanocarriers to biological response modifiers. **Journal of Controlled Release**, v. 130, n. 2, p. 98-106, 2008.

BEHLING, E. B.; SENDÃO, M. C.; FRANCESCATO, H. D. C.; ANTUNES, L. M. G.; BIANCHI, M. L. P. Flavonoide quercetina: aspectos gerais e ações biológicas, **Alimentos e Nutrição**, v. 15, n. 3, p. 285-292, 2004.

BEVERNAGE, J.; FORIER, T.; BROUWERS, J.; TACK, J.; ANNAERT, P.; AUGUSTIJNS, P. Excipient-mediated supersaturation stabilization in human intestinal fluids. **Molecular Pharmaceutics**, v. 8, n. 2, p. 564-570, 2011.

BHARATE, S. S.; BHARATE, S. B.; BAJAJ, A. N. Interactions and incompatibilities of pharmaceutical excipients with active pharmaceutical ingredients: a comprehensive review. **Journal of Excipients and Food Chemicals**, v. 1, n. 3, p. 3-26, 2010.

BHUGRA, C.; PIKAL, M. J. Role of thermodynamic, molecular and kinetic factors in crystallization from the amorphous state. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 97, n. 4, p. 1329–1349, 2008.

BIEGER, J.; CERMAK, R.; BLANK, R.; de BOER, V. C. J.; HOLLMAN, P. C. H.; KAMPHUES, J.; WOLFFRAM, S. Tissue distribution of quercetin in pigs after long-term dietary supplementation. **The Journal of Nutrition**, v. 138, n. 8, p. 1417-1420, 2008.

BIKIARIS, D.; PAPAGEORGIOU, G. Z.; STERGIU, A.; PAVLIDOU, E.; KARAVAS E.; KANAZE, F.; GEORGARAKIS, M. Physicochemical studies on solid dispersions of poorly water-soluble drugs Evaluation of capabilities and limitations of thermal analysis techniques. **Thermochimica Acta**, v. 439, n. 1-2, p. 58–67, 2005.

BLOCH, D. W.; ELEGAKEY, M. A.; SPEISER, P. Spray dried solid dispersion of hydrochlorothiazide and chlortalidone in pentaerythritol. **Pharmaceutica Acta Helvetiae**, v. 58, p. 14-22, 1983.

BONACUCINA, G.; CESPI, M.; MENCARELLI, G.; GIORGIONI, G.; PALMIERI, G. F. Thermosensitive self-assembling block copolymers as drug delivery systems. **Polymers**, v. 3, n. 2, p. 779-811, 2011.

BOOTS, A. W.; HAENEN, G. R.; BAST, A. Health effects of quercetin: From antioxidant to nutraceutical. **European Journal of Pharmacology**, v. 585, n. 2-3, p. 325-337, 2008.

BONK, F. A. **Tomografia de Estados Quânticos em Sistemas de Núcleos Quadrupolares com spin 3/2: Uma Aplicação da Ressonância Magnética Nuclear à Computação Quântica**. Doutorado em ciências: Física Aplicada. Universidade de São Paulo. Instituto de Física de São Carlos. São Carlos 2005.

BORGHETTI, G. S; COSTA, I. M.; PETROVICK, P. R.; PEREIRA, V. P.; BASSANI, V. L. Characterization of different samples of quercetin in solid-state: Indication of polymorphism occurrence. **Pharmazie**, v. 61, n. 9, p. 802-804, 2006.

BROMAN, E.; KHOO, C.; TAYLOR, L. S. A comparison of alternative polymer excipients and processing methods for making solid dispersions of a poorly water soluble drug. **International Journal Pharmaceutics**, v. 222, n. 1, p.139-151, 2001.

BROUWERS, J.; BREWSTER, M. E.; AUGUSTIJNS, P. Supersaturating drug delivery systems: Answer to solubility-limited oral bioavailability. **Journal of Pharmaceutical Science**, v. 98, n. 8, p. 2549–2572, 2009.

BUDAVARI, S. **The Merck Index**. 12. ed. New Jersey: White House Station, 1996.

BUSCHLE-DILLER, G.; ZERONIAN, S.H. Enhancing the reactivity and strength of cotton fibers. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 45, n. 6, p. 967-979, 1992.

BYARD, S. J.; JACKSON, S. L., SMAIL, A.; BAUER, M.; APPERLEY, D. C. Studies on the crystallinity of a pharmaceutical development drug substance. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 94, n. 6, p. 1321-1335, 2005.

CANTOR, C. R.; SCHIMMEL, P. R. **Biophysical Chemistry: Part I**. San Francisco W.H. Freeman and Company, 1980.

CAO, G.; SOFIC, E.; PRIOR, R. L. Antioxidant and prooxidant behavior of flavonoids: structure-activity relationships. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 22, n. 5, p. 749-760, 1997.

CAVALCANTE, I. M.; COSTA, F. M. L. L.; GONZAGA, M. L. C.; RIBEIRO, M. E. N. P.; FONSECA, S. G. C.; VIEIRA, I. G. P.; BRITO, E. S.; RICARDO, N. M. P. S. **Microesferas de quitosana/pluronic® f127 por spray-drying: um novo sistema para encapsulamento da troxerrutina**. In: *9º Congresso Brasileiro de Polímeros, 2007, Campina Grande. 9º Congresso Brasileiro de Polímeros, 2007.*

CESUR, S.; GOKBEL, S. Crystallization of mefenamic acid and polymorphs. **Crystal Research and Technology**, v. 43, n. 7, p. 720-728, 2008.

CHAUHAN, B.; SHIMPI, S., PARADKAR, A. Preparation and evaluation of glibenclamide-polyglycolized glycerides solid dispersions with silicon dioxide by spray

drying technique. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 26, n. 2, p. 219-230, 2005.

CHEBIL, L.; HUMEAU, C.; ANTHONI, J.; DEHER, F.; ENGASSER, JM.; GHOUL, M. Solubility of flavonoids in organic solvents. **Journal of Chemical Engineering Data**, v. 52, n. 5, p. 1552-1556, 2007.

CHIANG, PC.; CUI, Y.; RAN, Y.; LUBACH, J.; CHOU, KJ.; BAO, L.; JIA, W.; LA, H.; HAU, J.; SAMBRONE, A.; QIN, A.; DENG, Y.; WONG, H. In vitro and in vivo evaluation of amorphous solid dispersions generated by different bench-scale processes, using griseofulvin as a model compound. **The AAPS Journal**, v. 15, n. 2, p 608-617, 2013.

CHIOU, W. L.; RIEGELMAN, S. Preparation and dissolution characteristics of several fast-release solid dispersion of griseofulvin. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 58, n. 12, p. 1505-1510, 1969.

CHO, SY.; PARK, SJ.; KWON, MJ.; JEONG, TS.; BOK, SH.; CHOI, WY.; JEONG, WI.; RYU, SY.; DO, SH.; LEE, CS.; SONG, JC.; JEONG, KS. Quercetin suppresses proinflammatory cytokines production through MAP kinases and NF-kappaB pathway in lipopolysaccharide-stimulated macrophage. **Molecular and Cellular Biochemistry**, v. 243, n. 1-2, p. 153-160, 2003.

CLAS, SD.; DALTON, C. R.; HANCOCK, B. C. Differential Scanning Calorimetry: Applications in Drug Development. **Pharmaceutical Science and Technology Today**, v. 2, n. 8, p. 311-319, 1999.

CODORNIU-HERNANDEZ, E.; MESA-IBIRICO, A.; MONTERO-CABRERA, L. A.; MARTINEZ-LUZAARDO, F.; BORRMANN, T.; STOHRER, WD. Theoretical study of flavonoids and proline interactions, aqueous and gas phase. **Journal of Molecular Structure: THEOCHEM**, v. 623, n. 1-3, p. 63-73, 2003.

COMALADA, M.; CAMUESCO, D.; SIERRA, S.; BALLESTER, I.; XAUS, J.; GÁLVEZ, J; ZARZUELO, A. *In vivo* quercetrin anti-inflammatory effect involves release of quercetin, which inhibits inflammation through down-regulation of the NF-kB pathway. **European Journal of Immunology**, v. 35, n. 2, p. 584-592, 2005.

CORNARD, J. P.; MERLIN, J. C.; BOUDET, A. C.; VRIELYNCK, L. Structural study of quercetin by vibrational and electronic spectroscopies combined with semiempirical calculations. **Biospectroscopy**, v. 3, n. 3, p. 183-193, 1997.

CORRIGAN, D. O.; HEALY, A. M.; CORRIGAN, O. I. The effect of spray drying solutions of polyethylene glycol (PEG) and lactose/PEG on their physicochemical properties. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 235, n. 1-2, p. 193-205, 2002.

CORRIGAN, O. I. Thermal analysis of spray dried products. **Thermochemica Acta**, v. 248, n. 2, p. 245-258, 1995.

COSTA, I. M. **Estudo de pré-formulação com o composto polifenólico quercetina**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Rio Grande do Sul, 2005.

CRAIG, D. Q. M. The mechanisms of drug release from solid dispersions in water-soluble polymers. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 231, n. 2, p. 131-144, 2002.

CUELLAR BURGOS, A.; MESA RUEDA, F. A.; VARGAS HERNANDEZ, C.; PERILLA PERILLA, J. E. Caracterización de nanocompuestos de poliuretano-urea/montmorillonita por XRD y μ -Raman. **Revista Facultad de Ingeniería Universidad de Antioquia**, n.54, pp. 57-64, 2010.

CULLITY, B. D. **Elements of X-Ray Diffraction**. 2 ed. Massachusetts: Addison-Wesley Publishing Company, 1978.

CULLITY, B. D., STOCK, S. R. **Elements of X-Ray Diffraction**. 3. Ed. Michigan: Prentice Hall, 2001.

CURATOLO, W.; NIGHTINGALE, J. A.; HERBIG, S. M. Utility of hydroxypropylmethylcellulose acetate succinate (HPMCAS) for initiation and maintenance of drug supersaturation in the GI milieu. **Pharmaceutical Research**, v. 26, p.1419–1431, 2009.

DE BEER, T.R.M., BAEYENS, W.R.G., HEYDEN, V. Y., REMON, J. P., VERVAET, C., VERPOORT, F. Influence of particle size on the quantitative determination of salicylic acid in a pharmaceutical ointment using FT-Raman spectroscopy. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 30, n. 3-4, p. 229–235, 2007.

DE BOER, V. C.; DIHAL, A. A.; WOUDE, H.; ARTS, I. C.; WOLFFRAM, S.; ALINK, G. M.; RIETIENS, I. M.; KEIJER, J.; HOLLMAN, P. C. Tissue distribution of quercetin in rats and pigs. **The Journal of Nutrition**, v. 135, n. 7, p. 1718-1725, 2005.

DHIRENDRA, K., LEWIS, S.; UDUPA, N.; ATIN, K. Solid dispersions: a review. **Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 22, n.2, p. 234-246, 2009.

DIAS, A. S.; PORAWSKI, M.; ALONSON, M.; MARRONI, N. P.; COLLADO, P. S.; GONZÁLEZ-GALLEGO, J. G. Quercetin decreases oxidative stress, NF-kappaB activation, and iNOS overexpression in liver of streptozotocin-induced diabetic rats. **Journal of Nutrition**, v. 135, n. 10, p. 2299-2304, 2005.

DINUNZIO, J. C.; MILLER, D. A.; YANG, W.; MCGINITY, J. W.; WILLIAMS III, R. O. Amorphous compositions using concentration enhancing polymers for improved bioavailability of itraconazole. **Molecular Pharmaceutics**, v. 5, n. 6, p. 968–980, 2008.

DONAVAN, J. L.; CRESPIY, V.; MANACH, C.; MORAND, C.; BESSON, C.; SEALBERT, A.; REMESY, C. Catechin is metabolized by both the small intestine and liver of rats. **The Journal of Nutrition**. v. 131, n. 6, p. 1753-1757, 2001.

DONG, YD.; BOYD, B. J. Applications of x-ray scattering in pharmaceutical science. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 417, n. 1-2, p. 101-111, 2011.

DORA, C. L. **Nanocarreadores lipídicos contendo quercetina: desenvolvimento, caracterização físico-química e avaliação biológica *in vivo***. 2010. Tese (Doutorado em Farmácia) – Centro de Ciências em Saúde, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2010.

DORNAS, W. C. A.; OLIVEIRA, T. T.; DORES, R. G. R.; SANTOS, A. F.; NAGEM, Tanus Jorge. Flavonoides: potencial terapêutico no estresse oxidativo. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 28, n. 3, p. 241-249, 2007.

ENGLAND, J. L. Stabilization and release effects of Pluronic F127 in protein drug delivery. **Journal of Undergraduate Sciences Biochemistry**, v. 5, p. 17-24, 1998.

ERLUND, I. Review of the flavonoids quercetin, hesperetin, and naringenin. Dietary sources, bioactivities, bioavailability, and epidemiology. **Nutrition Research**, v. 24, n. 10, p. 851-874, 2004.

ESCOBAR-CHÁVEZ, J. J.; LOPEZ-CERVANTES, M.; NAIK, A.; KALIA, Y.; QUINTANAR-GUERRERO, D.; GANEM-QUINTANAR, A. Applications of thermo-reversible pluronic F-127 gels in pharmaceutical formulations. **Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences**, v. 9, n. 3, p. 339-358, 2006.

ESPECTROMETRIA NO INFRAVERMELHO. Disponível em: <http://www.reocities.com/vienna/choir/9201/espectrometria2.htm>. Acesso em 19/07/2015.

FARIA, D. L. A. Espectroscopia Raman em Arqueometria: Uma Técnica para Muitos Problemas. **Boletim Eletrônico da ABRACOR**, n. 6, p. 8-17, mai. 2012.

FIGUEIREDO, L. P. **Análise de Excipientes em Comprimidos de Fármacos Comercializados**. 2012. 168f. Dissertação (Mestrado em Nanociências e Materiais Avançados) - Universidade Federal do ABC, Santo André, 2012.

FORATO, L. A.; BERNARDES FILHO, R.; OSIRO, D.; COLNAGO, L. A. **A Espectroscopia na Região do Infravermelho e Algumas Aplicações**. 1ª Ed., São Carlos, EMBRAPA, 2010. 16p.

FORMICA, J. V.; REGELSON, W. Review of the biology of quercetin and related bioflavonoids. **Food and Chemical Toxicology**, v. 33, n. 12, p. 1061-1080, 1995.

FORSTER, A.; HEMPENSTALL, J.; RADES, T. Investigation of drug/polymer interaction in glass solutions prepared by melt extrusion. **Journal Vibrational Spectroscopy**, v. 5, p. 1-6; 2001.

GAO, P.; AKRAMI, A.; ALVAREZ, F.; HU, J.; LI, L.; MA, C.; SURAPANENI, S. Characterization and optimization of AMG-517 supersaturatable self-emulsifying drug

delivery system (S-SEDDS) for improved oral absorption. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 98, n. 2, p. 516-528, 2009.

GARCÍA-ROMÁN, R.; SALAZAR-GONZÁLEZ, D.; ROSAS, S.; ARELLANES-ROBLEDO, J.; BELTRÁN-RAMÍREZ, O.; FATTEL-FAZENDA, S.; VILLA-TREVIÑO, S. The differential NF- κ B modulation by S-adenosyl-L-methionine, N-acetylcysteine and quercetin on the promotion stage of chemical hepatocarcinogenesis. **Free Radical Research**, v. 42, n. 4, p. 331-343, 2008.

GIFFORD, A. J.; KAVALLARIS, M.; MADAFIGLIO, J.; MATHERLY, L. H.; STEWART, B. W.; HABER, M.; NORRIS, M. D. P-glycoprotein-mediated methotrexate resistance in methotrexate accumulation due to a point mutation in the reduced folate carrier gene. **International Journal of Cancer**, v. 78, n. 2, p. 176-181, 1998.

GOMATHI, K.; GOPINATH, D.; AHMED, M. R.; JAYAKUMAR, Rajadas. Quercetin incorporated collagen matrices of dermal wound healing process in rat. **Biomaterials**, v. 24, n. 16, p. 2767-2772, 2003.

GOTTLIEB, O. R. Flavonols. In HARBORNE, J.B.; MABRY, H. (Ed.). *The Flavonoids*. **New York: Academic**, v.1, p. 296-375, 1975.

GRAEFE, E. U.; DERENDORF, H.; VEIT, M. Pharmacokinetics and bioavailability of the flavonol quercetin in humans. **International Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics**, v. 37, n. 5, p. 219-233, 1999.

GRAEFE, E. U.; WITTIG, J.; MUELLER, S.; RIETHLING, AK.; UEHLEKE, B.; DREWELOW, B.; PFORTE, H.; JACOBASCH, G.; DARENDORF, H.; VEIT, M. Pharmacokinetics and bioavailability of quercetin glycosides in humans. **The Journal of Clinical Pharmacology**, v. 41, n. 5, p. 492-499, 2001.

GUIMARÃES, G. G.; KATSUKI, G. I.; ZANARDO, N. D.; RIBEIRO, D. A.; CAVALCANTI, O. A.. Avaliação da pectina-HPMC no processo de revestimento por compressão. I – Estudo da propriedade de intumescimento em núcleos revestidos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 44, n.1, p.133-141, 2008.

GUO, DD.; MOON, HS.; AROTE, R. SEO, JH.; QUAN, JS.; CHOI, YJ.; CHO, CS. Enhanced anticancer effect of conjugated linoleic acid by conjugation with Pluronic F127 on MCF-7 breast cancer cells. **Cancer Letters**, v. 254, n. 2, p. 244-254, set. 2007.

HAGE, M. C. F. N. S.; IWASAKI, M. Imagem por ressonância magnética: princípios básicos. **Ciencia Rural**, v. 39, n. 4, p. 1287-1295, 2009.

HANCOCK, B. C.; SHAMBLIN, S.; ZOGRAFI, G. Molecular mobility of amorphous pharmaceutical solids below their glass transition temperature. **Pharmaceutical Research**, v. 12, n. 6, p. 799–806, 1995.

HAVSTEEN, B. H. The biochemistry and medical significance of the flavonoids. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 96, n. 2, p. 67– 202, 2002.

HENECZKOWSKI, M.; KOPACZ, M.; NOWAK, D.; KUZNIAR, A. Infrared spectrum analysis of flavonoids. **Acta Poloniae Pharmaceutica – Drug Research**, v. 58, n. 6, p. 415-420, 2001.

HERTOG, M. G.; KROMHOUT, D.; ARAVANIS, C.; BLACKBURN, H.; BUZINA, R.; FINDANZA, F.; GIAMPAOLI, S.; JANSEN, A.; MENOTTI, A.; NEDELJKOVIC, S. Flavonoid intake and long-term risk of coronary heart disease and cancer in the seven countries study. **Archives of Internal Medicine**, v. 155, n. 4, p. 381-386, 1995.

HOLLMAN, P. C.; TRIJP, J. M.; BUYSMAN, M. N.; GAAG, M. S. van der; MENGELERS, M. J.; VRIES, J. H.; KATAN, M. B. Relative bioavailability of the antioxidant flavonoid quercetin from various foods in man. **Federation of European Biochemical Societies Letters**, v. 418, n. 1-2, p. 152-156, 1997.

HOLLMAN, P. C.; VRIES, J. H. de; LEEUWEN, S. D. van; MENGELERS, M. J.; KATAN, M. B. Absorption of dietary quercetin glycosides and quercetin in healthy ileostomy volunteers. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 62, n. 6, p. 1276-1282, 1995.

HU, Q.; CHOI, D. S.; CHOKSHI, H.; SHAH, N.; SANDHU, H. Highly efficient miniaturized coprecipitation screening (MiCoS) for amorphous solid dispersion formulation development. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 450, n. 1-2, p. 53-62, 2013.

IBBETT, R. N.; PHILP, K.; PRICE, D. M. ^{13}C N.R.M. studies of the thermal behaviour of aqueous solutions of cellulose ethers. **Polymer**, v. 33, n. 19, p. 4087-4094, 1992.

INAL, M. E.; KAHRAMAN, A. The Protective effect of flavonol quercetin against ultraviolet A induced oxidative stress in rats. **Toxicology**, v. 154, n. 1-3, p. 21-29, 2000.

KAKRAN, M.; SAHOO, N.; G.; LI, L. Dissolution enhancement of quercetin through nanofabrication, complexation, and solid dispersion. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 88, n. 2011, p. 121-130, 2011.

KAPSI, S. G.; AYRES, J. W. Processing factors in development of solid solution formulation of itraconazole for enhancement of drug dissolution and bioavailability. **International Journal Pharmaceutics**, v. 229, n. 1-2, p.193–203, 2001.

KARARLI, T. T.; CATALANO, T. Stabilization of misoprostol with hydroxypropyl methylcellulose (HPMC) against degradation by water. **Pharmaceutical Research**, v. 7, n. 11, p. 1186–1189, 1990.

KARAVAS, E.; GEORGARAKIS E.; SIGALAS M. P.; AVGOUSTAKIS K.; BIKIARIS D. Investigation of the release mechanism of a sparingly water-soluble drug from solid dispersions in hydrophilic carriers based on physical state of drug, particle size distribution and drug–polymer interactions. **European Journal Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 66, n. 3, p. 334-347, 2007.

KARJALAINEN, M.; AIRAKSINEN, S.; RATANEN, J.; AATONEN, J.; YLIRRUSI, J. Characterization of polymorphic solid-state using variable temperature X-ray powder diffraction. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 39, n. 1-2, p. 27-32, 2005.

KIM, J.D.; LIU, L.; GUO, W.; MEYDANI, M. Chemical structure of flavonols in relation to modulation of angiogenesis and immune-endothelial cell adhesion. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 17, n. 3, p. 165-176, 2006.

KROON, P.; CLIFFORD, M.; CROZIER, A.; DAY, A. J.; DONOVAN, J. L.; MANACH, C.; WILLIAMSON, G. How should we assess the effects of exposure to dietary polyphenols in vitro. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 80, n. 1, p. 15-21, 2004.

KUMAR, S.; PANDEY, A. K. Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. **The Scientific World Journal**, v. 2013, n. 162750, p. 1-16, 2013.

KUO, I.; CHEN, J.; CHANG, T. K. Effect of Ginkgo biloba extract on rat hepatic microsomal CYP1A activity: role of ginkgolides, bilobalide, and flavonols. **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 82, n. 1, p. 57-64, 2004.

LAUGHTON, M. J.; EVANS, P. J.; MORONEY, M. A.; HOULT, J. Robin; HALLIWELL, Barry. Inhibition of mammalian 5-lipoxygenase and cyclo-oxygenase by flavonoids and phenolic dietary additives. Relationship to antioxidant activity and to iron ion-reducing ability. **Biochemical Pharmacological**, v. 42, n. 9, p. 1673-1681, 1991.

LEE, Y. S.; YANG, H. O., SHIN, K. H., CHOI, H. S., JUNG, S.H., KIM, Y. M., OH, D. K., LINHARDT, R. J., KIM, Y. S. The flavonoid quercetin inhibits dimethylnitrosamine-induced liver damage in rats. **The Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 55, n. 8, p. 1169-1174, 2003.

LEUNER, C.; DRESSMAN, J. Improving drug solubility for oral delivery using solid dispersions. **European Journal Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 50, n. 1, p. 47-60, 2000.

LI, B.; KONECKE, S.; HARICH, K.; WEGIEL, L.; TAYLOR, L.; S.; EDGAR, K.; J. Solid dispersion of quercetin in cellulose derivative matrices influences both solubility and stability. **Carbohydrate Polymers**, v. 92, n. 2013, p. 2033-2040, 2012.

LIMA, A. C. **Obtenção e Caracterização de Dispersões Sólidas de Praziquantel**. 2006. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista Julio Mesquita Filho, Araraquara, 2006.

LIU, L.; WANG, X. Improved Dissolution of Oleanolic Acid with Ternary Solid Dispersions. **AAPS PharmSciTech**. v. 8, n. 4, p.E1-E5, 2007.

LOFTSSON, T.; HREINSDÓTTIR, D.; MÁSSON, M. Evaluation of cyclodextrin Solubilization of Drugs. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 302, n. 1-2, p. 18-28, 2005.

LOPES, W. A.; FASCIO, M. Esquema para interpretação de espectros de substâncias orgânicas na região do infravermelho. **Química Nova**, v. 27, n. 4, p. 670-673, 2004.

LOPES, C. M.; LOBO, J. M. S.; COSTA, P. Formas farmacêuticas de liberação modificada: polímeros hidrofílicos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 41, n. 2, p. 143-154, 2005.

LYRA, M. A. M.; SOARES-SOBRINHO, J. L.; BRASILEIRO, M. T.; LA ROCA, M. F. de; BARRAZA, J. Á.; VIANA, O. S.; ROLIM-NETO, P. J. Sistemas Matriciais Hidrofílicos e Mucoadesivos para liberação controlada de fármacos. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 26, n. 5, p.784-793, 2007.

MA, J.; LI, Y. G.; ZHANG, Z., M.; WU, Q.; WANG, E., B. A polyethylene-glycol-functionalized ring-like isopolymolybdate cluster. **Inorganic Chimica Acta**, v. 362, n. 7, p. 2413–2417, 2009.

MANTANUS, J.; ROZET, E.; van BUTSELE, K.; de BLEYE, C.; CECCATO, A.; EVRARD, B.; HUBERT, P.; ZIÉMONS, E. Near infrared and Raman spectroscopy as process analytical technology tools for the manufacturing of silicone-based drug reservoirs. **Analytica Chimica Acta**, v. 699, n. 1, p. 96-106, 2011.

MARTÍNEZ-OHÁRRIZ, M. C.; MARTÍN, C.; GOÑI, M. del M.; RODRÍGUEZ-ESPINOZA, C.; TROS-ILARDUYA, M. C.; ZORNOZA, A. Influence of polyethylene glycol 4000 on the polymorphic forms of diflunisal. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 8, n. 2, p. 127-132, 1999.

MATSUDA, H.; MORIKAWA, T.; ANDO, S.; TOGUCHIDA, I.; YOSHIKAWA, M. Structural requirements of flavonoids for nitric oxide production inhibitory activity and mechanism of action. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, v. 11, n. 9, p. 1995-2000, 2003.

MAURIN, M. B.; VICKERY, R. D.; RABEL, S. R.; ROWE, S. M.; EVERLOF, J. G.; NEMETH, G. A.; CAMPBELL, G. C.; FORIS, C. M. Polymorphism of roxifiban. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 91, n. 12, p. 2599-2604, 2002.

MEIRELLES, L. M. A. **Incremento de Solubilidade do Fármaco Rifampicina por Complexo de Inclusão e Dispersão Sólida**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2012.

MERTENS-TALCOTT, S. U.; PERCIVAL, S. S. Ellagic acid and quercetin interact synergistically with resveratrol in the induction of apoptosis and cause transient cell cycle arrest in human leukemia cells. **Cancer Letters**, v. 218, n. 2, p. 141-151, 2005.

MIDDLETON, E. J.; KANDASWAMI, C.; THEOHARIDES, T. C. The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. **Pharmacological Reviews**, v. 52, n. 4, p. 673-751, 2000.

MILLER, D.A.; DINUNZIO, J.C.; YANG, W.; MCGINITY, J.W.; WILLIAMS, R.O. Enhanced in vivo absorption of itraconazole via stabilization of supersaturation following acidic-to-neutral pH transition. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 34, n. 8, p. 890-902, 2008.

MOEBUS, K.; SIEPMANN, J.; BODMEIER, R. Alginate-poloxâmero microparticles for controlled drug delivery to mucosal tissue. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 72, n. 1, p. 42-53, 2009.

MOMIĆ, T.; SAVIĆ, J.; ČERNIGOJ, U.; TREBŠE, P.; VASIĆ, V. Protolytic equilibria and photodegradation of quercetin in aqueous solution. **Collection of Czechoslovak Chemical Communications**, v. 72, n. 11, p. 1447-1460, 2007.

MONTEIRO, L. M.; SOUZA, A. E.; GIANOTTO, E. A. S.; NERY, M. M. F.; DUARTE, J. C. F. O. CASAGRANDE, R.; BARACAT, M. M. Comprimidos Matriciais Preparados com Hidroxipropilmetilcelulose e Pectina contendo Quercetina para Liberação Cólon-específica. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 26, n. 2, p. 179-184, 2007.

MULHOLLAND, P. J.; FERRY, D. R.; ANDERSON, D.; HUSSAIN, S. A.; YOUNG, A. M.; COOK, J.E.; HODGKIN, E.; SEYMOUR, L.M.; KERR, D. J. Pre-clinical and clinical study of QC12, a water-soluble, pro-drug of quercetina. **Annals of Oncology**, v. 12, n. 2, p. 245-248, 2001.

NAKANISHI, K.; SOLOMON, P.; M. **Infrared Absorption Spectroscopy**. 2 ed. San Francisco: Holden Day, 1997.

NERY, C. C.; PIRES, M. A. S.; PIANETTI, G. A.; VIANNA-SOARES, C. D. Caracterização do fármaco hipoglicemiante glibenclamida. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 44, n. 1, p. 61-73, 2008.

NEWMAN, A.; KNIPP, G.; ZOGRAFI, G. Assessing the Performance of Amorphous Solid Dispersions. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 101, n. 4, p. 1355-77, 2012.

NIJVELDT, R. J.; NOOD, E. van; HOORN, D. E. C.; BOELEN, P. G.; NORREN, K.; LEEUWEN, P. A. M. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 74, n. 4, p. 418-425, 2001.

NUMATA, Y.; TANAKA, H. Quantitative analysis of quercetin using Raman spectroscopy. **Food Chemistry**, v. 126, n. , p. 751-755, 2011.

OLEJNICZAK, S.; POTRZEBOWSKI, M. J. Solid state NMR studies and density functional theory (DFT) calculations of conformers of quercetin. **Organic & Biomolecular Chemistry**, v. 2, n. 16, p. 2315-2322, 2004.

OLIVEIRA, E. G. **Micropartículas de Poli(ácido láctico)/Poloxâmero Obtidas por spray drying para Liberação Modificada de Metotrexato**. 2013. 109f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2013.

PACZKOWSKA, M.; LEWANDOWSKA, K.; BEDNARSKI, W.; MIZERA, M.; PODBORSKA, A.; KRAUSE, A.; CIELECKA-PIONTEK, J. Application of spectroscopic methods for identification (FT-IR, Raman spectroscopy) and determination (UV, EPR) of quercetin-3-O-rutinoside. Experimental and DFT based approach, **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 5, n. 140, p. 132-139, 2015.

PADDEN, B. E.; MILLER, J. M.; ROBBINS, T.; ZOCHARSKI, P. D.; PRASAD, L.; SPENCE, J. K.; LAFONTAINE, J. Amorphous solid dispersions as enabling formulations for discovery and early development. **American Pharmaceutical Review**, v. 14, n. 1, p. 66–73, 2011.

PALERMO, R. N.; ANDERSON, C. A.; DRENNEN, J. K. Review: use of thermal, diffraction, and vibrational analytical methods to determine mechanisms of solid dispersion stability. **Journal of Pharmaceutical Innovation**, v. 7, n. 1, p. 2-12, mar. 2012.

PATEL, H. R.; PATEL, R. P.; PATEL, M. M. Poloxamers: A pharmaceutical excipients with therapeutic Behaviors. **International Journal of Pharm Tech Research**, v. 1, n. 2, p. 299-303, abr. 2009.

PATEL, R., P.; PATEL, D., J.; BHIMANI, D., B., PATEL, J., K. Physicochemical Characterization and Dissolution Study of Solid Dispersions of Furosemide with Polyethylene Glycol 6000 and Polyvinylpyrrolidone K-30. **Dissolution Technologies**, v. 15, n. 3, p.17-25, 2008.

PATIL, M. P.; GAIKWAD, N., J. Preparation and characterization of gliclazide-polyethylene glycol 4000 solid dispersions. **Acta Pharmaceutica**, v.59, n. 2009, p. 57-65, 2008.

PAULKE, A.; NÖLDNER, M.; SCHUBERT-ZSILAVECZ, M.; WURGLICS, M. St. John's wort flavonoids and their metabolites show antidepressant activity and accumulate in brain after multiple oral doses. **Pharmazie**, v. 63, n. 4, p. 296-302, 2008.

PAVIA, D. L.; KRIZ, G. S.; LAMPMANN, G. M.; VYVYAN, J. R. **Introdução a espectroscopia**. 1ª ed.; São Paulo: Cengage Learning, 2010

PERISSUTTI, B.; RUBESSA, F.; MONEGHINI, M.; VOINOVICH, D. Formulation design of carbamazepine fast-release tablets prepared by melt granulation technique. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 256, n. 1-2, p. 53-63, 2003.

PHAM-HUY, L. A.; HE, H.; PHAM-HUY, C. Free radicals, antioxidants in disease and health. **International Journal of Biomedical science**, v. 4, n. 2, p. 89-96, 2008.

PRALAHAD, T.; RAJENDRAKUMAR, K. Study of Freeze-dried Quercetin-cyclodextrin Binary Systems by DSC, FT-IR, X-ray diffraction and SEM Analysis. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 34, n. 2, p. 333-339, 2004.

RAMA, A. C. R.; VEIGA, F.; FIGUEIREDO, I. V.; SOUSA, A.; CARAMONA, M. Complexos de Inclusão de Indometacina com Hidroxipropil- β -ciclodextrina. Estudos de dissolução e coeficiente de partição. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 42, n. 1, p. 59-68, 2006.

RICE-EVANS, C. A.; MILLER, N. J.; PAGANGA, G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 20, n. 7, p. 933-956, 1996.

RIEKES, M. K. **Nimodipino: do Polimorfismo à Obtenção de Dispersões Sólidas Amorfas Destinadas ao Tratamento da Hipertensão Arterial**. Dissertação (Mestrado em Farmácia) – Programa de Pós-Graduação em Farmácia, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2013.

ROGERIO, A. P.; ANDRADE, E. L.; LEITE, D. F. P.; FIGUEIREDO, C. P.; CALIXTO, J. B. Preventive and therapeutic anti-inflammatory properties of the sesquiterpene α -humulene in experimental airways allergic inflammatory model. **British Journal Pharmacology**, v. 158, n. 4, p. 1074-1087, 2009.

ROGERS, T. L. Hypromellose. In: ROWE, R. C.; SHESKEY, P. J.; QUINN, M. E. **Handbook of Pharmaceutical Excipients**. 6 ed. London: Pharmaceutical Press, 2009, p. 326-329.

ROWE, R. C.; SHESKEY, Paul J.; QUINN, M. E. **Handbook of Pharmaceutical Excipients**. 6. ed. Pharmaceutical Press e Estados Unidos: American Pharmacists Association, 2009.

ROYALL, P. G.; HUANG, CY.; TANG, SW. J.; DUNCAN, J.; VAN-DE-VELDE, G.; MARC, B. B. The development of DMA for the detection of amorphous content in pharmaceutical powdered materials. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 301, n. 1-2, p. 181-191, 2005.

RUCKER, G.; NEUGEBAUER, M.; WILLEMS, G. G. **Instrumentelle Pharmazeutische Analytik**. Stuttgart: Wissenschaftliche, 1998.

SAHOO, G. N.; KAKRAN, M.; SHAAL, L.; A.; LI, L.; MULLER, R.; H.; PAL, M.; TAN, L. P.; Preparation and characterization of quercetin nanocrystals. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 100, n. 6, p. 2379-2390, maio 2011.

SANDHAR, H. K.; KUMAR, B.; PRASHER, S.; TIWARI, P.; SALHAN, M.; SHARMA, P. A review of phytochemistry and pharmacology of flavonoids. **Internationale Pharmaceutica Scientia**, v. 1, n. 1, p. 25-41, 2011.

SANTOS, A. S. **Avaliação das Propriedades de Estado Sólido de Dispersões de Hidroclorotiazida em Polivinilpirrolidona**. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Programa de Pós-Graduação em Biociências Aplicadas à Farmácia, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2008.

SASSI, J. F.; CHANZY, H. Ultrastructural aspects of the acetylation of cellulose. **Cellulose**, v. 2, n. 2, p. 111-127, 1995.

SAVOLAINEN, M.; KOGERMANN, K.; HEINZ, A.; AALTONEN, J.; PELTONEN, L.; STRACHAN, C.; YLIRUUSI, J. Better understanding of dissolution behaviour of amorphous drugs by in situ solid-state analysis using Raman spectroscopy. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 71, n. 9, p. 71-79, 2009.

SCHAFFAZICK, S. R.; GUTERRES, S. S.; FREITAS, L. L.; POHLMANN, A. R. R. Caracterização e estabilidade físico-química de sistemas poliméricos nanoparticulados para administração de fármacos. **Química Nova**, v. 26, n. 5, p. 726-737, 2003.

SEKIKAWA, H.; FUKUDA, N.; TAKADA M.; OHTANI, K.; ARITA, T.; NAKANO, M. Dissolution behaviors and gastrointestinal absorption of dicumarol from solid dispersion systems of dicumarol-polyvinylpyrrolidone and dicumarol- β -cyclodextrin. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, v. 31, n. 4, p. 1350-1356, 1983.

SEKIKAWA, H.; NAGANUMA, T.; FUJIWARA, J.; NAKANO, M.; ARITA, T. Dissolution behaviors and gastrointestinal absorption of tolbutamide in tolbutamide-PVP coprecipitate. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, v. 27, n. 1, p. 31-37, 1979.

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

SERAJUDDIN, A. T. M.; SHEEN, PC.; AUGUSTINE, M. A. Improved dissolution of a poorly water-soluble drug from solid dispersions in polyethylene glycol: polysorbate 80 mixtures. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.79, n. 5, p. 463-464, 1990.

SETHIA, S.; SQUILLANTE, E. Solid dispersions: revival with greater possibilities and applications in oral drug delivery. **Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems**, v. 20, n. 2-3, p. 215-247, 2003.

SETYAWAN, D.; SARI, R.; YUSUF, H.; PRIMAHARINASTITI, R. Preparation and characterization of artesunate - nicotinamide cocrystal by solvent evaporation and slurry method. **Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research**, v. 7, Suppl. 1, p. 62-65, 2014.

SHARMA, A.; JAIN, C.P. Solid dispersion: a promising technique to enhance solubility of poorly water soluble drug. **International Journal of Drug Delivery**, v. 3, n. 2, p. 149-170, 2011.

SHEEN, P.C.; KHETARPAL, V. K.; CARIOLA, C. M.; ROWLINGS, C. E. Formulation studies of a poorly soluble drug in solid dispersion to improve bioavailability. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 118, n. 2, p. 221-227, 1995.

SHIBAYAMA, Y.; TAKEDA, Y.; YAMADA, K. Effect of methotrexate treatment on expression levels of organic anion transporter polypeptide 2,P-glycoprotein and bile salt export pump in rats. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, v. 32, n. 3, p. 493-496, 2009.

SILVERSTEIN, R. M.; BASSLER, G. C.; MORRILL, T. C. **Identificação espectroscópica dos compostos orgânicos**. 6 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J. **Identificação espectroscópica de compostos orgânicos**. 6ª Edição, Editora LTC: Rio de Janeiro, 2000.

SILVERSTEIN, R. M.; BASSLER, G. C.; MORRILL, T. C. **Spectrometric Identification of Organic Compounds**. 7th ed. New York: John Wiley & Sons, 2005.

SISA, M.; BONNET, S. L.; FERREIRA, D.; VAN DER WESTHUIZEN, J. H. Photochemistry of flavonoids. **Molecules**, v. 15, n. 8, p. 5196-5245, 2010.

SOUZA, F. B.; PACHECO, M. T. T.; VERDE, A. B. V.; SILVEIRA JR, LANDULFO,; MARCOS, R. L.; LOPES-MARTINS, R. A. B.; Avaliação do ácido láctico intramuscular através da espectroscopia Raman: novas perspectivas em medicina do esporte. **Revista Brasileira Medicina do Esporte**. v. 9, n.6, p. 388-395, 2003.

SOUZA, S. J.; FERRÃO, F. M. Aplicações da espectroscopia no infravermelho no controle de qualidade de medicamentos contendo diclofenaco de potássio. Parte I : Dosagem por regressão multivariada. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 42, n. 3, P. 437-445, 2006.

SRINIVAS, K.; KING, J. W.; HOWARD, L. R.; MONRAD, J. K. Solubility and solution thermodynamic properties of quercetin and quercetin dehydrate in subcritical water. **Journal of Food Engineering**, v. 100, n. 2, p. 208-218, 2010.

STEPHENSON, G. A.; FORBES, R. A.; REUTZEL-EDENS, S. M. Characterization of the solid state: quantitative issues. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 48, n. 1, p. 67-90, 2001.

STUART, B. **Infrared Spectroscopy: Fundamentals and Applications**. 1ª ed, New Jersey: Wiley. 2004. 244p.

STULZER, H. K.; TAGLIARI, M. P.; SILVA, M. A. S.; LARANJEIRA, M. C. M. Desenvolvimento, avaliação e caracterização físico-química de micropartículas constituídas de aciclovir/quitosana desenvolvidas pela técnica de spray-drying. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 26, n. 6, p. 866-871, 2007.

SUN, C.; GRANT, D. J. W. Influence of crystal structure on the tableting properties of sulfamerazine polymorphs. **Pharmaceutical Research**, v. 18, n. 3, p. 274-280, mar. 2001.

TACHIBANA, T.; NAKAMURA, A. A method of preparing an aqueous colloidal dispersion of organic materials by using water-soluble polymers: Dispersion of β -carotene by polyvinylpyrrolidone. **Colloid and Polymer Science**, v. 203, n. 2, p. 130-133, 1965.

TAKAYAMA, K.; NAMBU, N.; NAGAI, T. Factors affecting the dissolution of ketoprofen from solid dispersion in various water-soluble polymers. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, v. 30, n. 8, p.3013-3016, 1982.

TALALAY, P.; FAHEY, J. W.; HOLTZCLAW, W. D. PRESTERA, T.; ZHANG, Yuesheng. Chemoprotection against cancer by phase 2 enzyme induction. **Toxicology Letters**, v. 82-83, p. 173-179, 1995.

TAPAS, A. R.; SAKARKAR, D. M.; KAKDE, R. B. Flavonoids as Nutraceuticals: A Review. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, v.7, n.3, p. 1089-1099, 2008.

TAYLOR, L. S.; LANGKILDE, F. W.; ZOGRAFI, G. Fourier transform Raman spectroscopic study of the interaction of water vapor with amorphous polymers. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 90, n. 7, p. 888-901, 2001.

TAYLOR, L. S.; ZOGRAFI, G. Spectroscopic characterization of interactions between PVP and indomethacin in amorphous molecular dispersions. **Pharmaceutical Research**, v. 14, n.12, p.1691-1698, 1997.

USAMI, E.; KUSANO, G.; KATAYOSE, T.; WACHI, H.; SEYAMA, Y. Assessment of antioxidant capacity of natural compound by water- and lipid-soluble antioxidant factor. **Yakugaku Zasshi: Journal of Pharmaceutical Society of Japan**, v. 124, n. 11, p. 847-850, 2004.

USP. **THE UNITED STATES PHARMACOPOEIA**. 34. ed. Rockville: United States Pharmacopeial Convention, 2011.

VAN ACKER, S. A.; GROOT, M. J.; VAN DEN BERG, DJ.; TROMP, M. N. J. L.; KELDER, G. DO.; VAN DER VIJGH, W. J. F.; BAST, A. A quantum chemical explanation of the antioxidant activity of flavonoids. **Chemical Research in Toxicology**, v. 9, n. 8, p. 1305-1312, 1996.

VAN DEN MOOTER, W. M.; BLANTON, B. R.; GROBET, P.; AUGUSTIJNS, P.; KINGET, R. Physical stabilization of amorphous ketoconazole in aolid dispersions with polyvilypyrrolidon K25. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, 2001, v. 12, p. 261 – 269.

VARIANKAVAL, N. E.; JACOB, K. I.; DINH, S. M. Characterization of crystal form estradiol – thermal analysis, Raman microscopy, X-ray analysis and solid-state NMR. **Journal of Crystal Growth**, v. 217, n. 3, p. 320-331, 2000.

VASANTHAVADA, M.; TONG, WQ.; JOSHI, Y.; KISLALIOGLU, MS. Phase behavior of amorphous molecular dispersions II: Role of hydrogen bonding in solid solubility and phase separation kinetics. **Pharmaceutical Research**, v. 22, n. 3, p. 440-448, 2005.

VASCONCELOS, T.; SARMENTO, B.; COSTA, P. Solid dispersions as strategy to improve oral bioavailability of poor water soluble drugs. **Drug Discovery Today**, v. 12, n. 23-24, p. 1068-1075, 2007.

VEIGA, F.; PECORELLI, C.; RIBEIRO, L. **As ciclodextrinas em tecnologia farmacêutica**. 1. Ed. Coimbra: Minerva Coimbra, 2006.

WALLE, T.; WALLE, U. K.; HALUSHKA, P. V. Carbon dioxide is the major metabolite of quercetin in humans. **The Journal of Nutrition**, v. 131, n. 10, p. 2648-2652, 2001.

WALSKY, R. L.; GAMAN, E. A.; OBACH, R. S. Examination of 209 drugs for inhibition of cytochrome P450 2C8. **Journal of Clinical Pharmacology**, v. 45, n. 1, p. 68-78, 2005.

WAWER, I.; WITKOWSKI, S. Analysis of solid state ^{13}C NMR Spectra of biologically active compounds. **Current Organic Chemistry**, v. 5, n. 10, p. 987-999, 2001.

WENZEL, E.; SOMOZA, V. Metabolism and bioavailability of trans-resveratrol. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 49, n. 5, p. 472-481, 2005.

WINKEL-SHIRLEY, B. Biosynthesis of flavonoids and effects of stress. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 5, n. 31, p. 218-223, jun. 2002.

XIAO, X.; SHI, D.; LIU, L.; WANG, J.; XIE, X.; KANG, T.; DENG, W. Quercetin suppresses cyclooxygenase-2 expression and angiogenesis through inactivation of P300 signaling. **Plos One**, v. 6, n. 8, p. 1-10, 2011.

XIE, S.; POORNACHARY, S.K.; CHOW, P.S.; TAN, R.B. Direct precipitation of micron-size salbutamol sulfate: new insights into the action of surfactants and polymeric additives. **Crystal Growth & Design**, v. 10, p. 3363-3371, 2010.

YAMAMOTO, N.; MOON, JH.; TSUSHIDA, T.; NAGAO, A.; TERAOKA, J. Inhibitory effect of quercetin metabolites and their related derivatives on copper ion-induced lipid peroxidation in human low-density lipoprotein. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 372, n. 2, p. 347-354, 1999.

YAMINI, D. VENKATASUBBU, D. G.; KUMAR, J.; RAMAKRISHNAN, V. Raman scattering studies on PEG functionalized hydroxyapatite nanoparticles. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 117, n. 20014, p. 299-303.

YOSHIHASHI, Y.; KITANO, H.; YONEMOCHI, E.; TERADA, K. Quantitative correlation between initial dissolution rate and heat of fusion drug substance. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 204, n. 1-2, p. 1-6, 2000.

YOSHIOKA, S.; ASO, Y. Correlations between molecular mobility and chemical stability during storage of amorphous pharmaceuticals, **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 96, p. 960-981, 2007.

YU, L.; REUTZEL, S. M.; STEPHENSON, G. A. Physical characterization of polymorphic drugs: an integrated characterization strategy. **Pharmaceutical Science and Technology Today**, v. 1, n. 3, p. 118-127, 1998.

ZAINI, E.; SUMIRTAPURA, Y. C.; SOEWANDHI, S. N.; HALIM, A.; UEKUSA, H.; FUJII, K. Cocrystalline phase transformation of binary mixture of trimethoprim and sulfamethoxazole by slurry technique. **Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research**, v. 3, n. 4, p. 26-29, 2010.

ZHANG, Y.; TALALAY, P.; CHO, C. G.; POSNER, G. H. A major inducer of anticarcinogenic protective enzymes from broccoli: isolation and elucidation of structure. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 89, n. 6, p. 2399-2403, 1992.

ZHENG, X.; YANG, R.; TANG, X.; ZHENG, L. Part I: Characterization of solid dispersions of nimodipino prepared by hot-melt extrusion. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 33, v. 7, p. 791-802, 2007.