



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO**  
**Fundação Instituída nos termos da lei nº 5.152, 21/10/1966- São Luís-MA**  
**Centro de Ciências Sociais, Saúde e Tecnologia – CCSST**  
**Coordenação do Programa de Mestrado em Ciência dos Materiais – PPGCM**



**CARLIANA RODRIGUES DA SILVA**

**ESTUDO DE COMPOSTOS DE AZITROMICINA VIA DIFRAÇÃO DE RAIOS X E  
ESPECTROSCOPIA RAMAN**

**IMPERATRIZ – MA**  
**2021**

CARLIANA RODRIGUES DA SILVA

ESTUDO DE COMPOSTOS DE AZITROMICINA VIA DIFRAÇÃO DE RAIOS X E  
ESPECTROSCOPIA RAMAN

Dissertação de mestrado apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Materiais, da Universidade Federal do Maranhão como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciência dos Materiais.

Área de concentração: Ciências Exatas e da Terra

Orientador: Prof. Dr. Francisco Ferreira de Sousa

Coorientador: Prof. Dr. Adenilson Oliveira dos Santos



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO – UFMA**  
**Centro de Ciências de Imperatriz - CCIM**



**Programa Pós-Graduação em Ciência dos Materiais - PPGCM**

Membros da comissão julgadora da defesa da dissertação de mestrado da aluna **Carlina Rodrigues da Silva** apresentada e aprovada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Materiais (PPGCM), em 30/07/2021.

**COMISSÃO JULGADORA:**

- Prof. Dr. Francisco Ferreira de Sousa (PPGCM/UFMA) – Presidente e Orientador.
- Prof. Dr. Gilberto Dantas Saraiva (FECLES/UECE) – Avaliador externo.
- Prof. Dr. Adenilson Oliveira dos Santos (PPGCM/UFMA) – Avaliador interno.

OBS.: Ata de defesa com as respectivas assinatura dos membros encontra-se na coordenação do programa da unidade.

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a) autor(a).  
Diretoria Integrada de Bibliotecas/UFMA

Rodrigues da Silva, Carliana.

Estudo de Compostos de Azitromicina via Difração de Raios X e Espectroscopia Raman / Carliana Rodrigues da Silva. - 2021.

77 p.

Coorientador(a) 1: Adenilson Oliveira dos Santos.

Orientador(a): Francisco Ferreira de Sousa.

Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em Ciência dos Materiais/ccim, Universidade Federal do Maranhão, Imperatriz - Ma, 2021.

1. Azitromicina. 2. Cristal. 3. Cobre. I. Ferreira de Sousa, Francisco. II. Oliveira dos Santos, Adenilson. III. Título.

## AGRADECIMENTOS

A Deus pelo dom da existência, por se fazer presente em todos os momentos.

Meu pai Cicero Neves e minha mãe Maria das Dores, obrigada por nunca desistir de me proporcionar a melhor educação e por aceitar minhas escolhas.

Minhas irmãs Claudiana e Catiana, minhas sobrinhas Giovanna, Letícia, Rosanha, Isadora, Ana Rosa Freitas e meu afilhado Sérgio Neto, obrigada por serem minha base e refúgio, amo vocês.

Aos melhores e bons amigos: Almi Brito, Camila Mello, Caio Bezerra, Gabriela Brito, Marina Abreu, Giuliane Miléo e o pequeno George, Tia Vanda, Angélica Cavalcante, Yara Melo, Elmar Teles e sua esposa Paula, Daniel Sindeaux, Gleison Lopes, Raychimam Bezerra, Ingrid Freitas, Jaqueline Lima, Larissa Rodrigues, Anderson Santos, Brenda Gomes, Sara Silva, Raiany Tertualino, Isabelle Lima, e Felipe Gonçalves obrigada por partilhar uma amizade ímpar, pelas conversas, alegrias, risos, choros, pelos conselhos e o apoio em todos os momentos. Amo vocês.

A minha melhor amiga/irmã imperatrizense Marina Ramos, muito obrigada por tudo, pelas caronas, saídas, conversas, viagens e por se fazer presente mesmo longe, te amo!

Ao meu amigo Luís Henrique, por ser uma pessoa autêntica, engraçada, prestativa, empática e por se fazer presente em todos os momentos.

Aos meus colegas do PPGCM em especial na figura do João Neto, Jhonatam Carvalho, Kamila Rodrigues e Alexandre Costa.

Aos professores do PPGCM pelos ensinamentos transmitidos. Em especial meu orientador Prof. Dr. Francisco Ferreira de Sousa e coorientador Prof. Dr. Adenilson Oliveira dos Santos. E todos os funcionários, em especial a Dona Antônia e a Kátia.

Aos amigos do grupo GERTRAF em especial Adrya, Naiane, Armando, Gislayllson e Elder Mota, pelo companheirismo, carinho e amizade.

A UFPA e o programa PPGF pelas medidas de Espectroscopia Raman.

Ao LAT pela realização das medidas de Análise Térmica.

Ao LDRX, pela contribuição das medidas estruturais de Difração de Raios X em especial ao técnico do laboratório Jailton Melo.

Ao LEOF pelas medidas de FT-IR.

Ao professor Dr. Alejandro Ayala da Universidade Federal do Ceará (UFC), pela contribuição para a resolução da estrutura do cristal de AZM-Cu(II).

Aos órgãos financiadores para a execução e conclusão desta pesquisa CAPES e FAPEMA.

*“Regozijai-vos na esperança, sede pacientes na tribulação, na oração perseverante”.*

*(Romanos 12.12)*

## RESUMO

A azitromicina (AZM) é um macrolídeo semissintético de 15 membros, que deriva da eritromicina A, destaca-se por apresentar um amplo espectro de ação contra bactérias Gram positivas e Gram negativas, tornando-se o antibiótico mais utilizado mundialmente, porém os antibióticos passaram a ser resistentes aos micro-organismos, logo uma possível forma de contornar tais mecanismos de resistência é a coordenação de íons metálicos a antibióticos. Neste contexto, este trabalho tem como objetivo a síntese e o crescimento de cristais de azitromicina, assim como o estudo de suas propriedades estruturais, vibracionais e térmicas. Todos os materiais foram obtidos pelo método ELS. A obtenção do cristal AZM-MH-EtOH foi confirmada pela técnica de DRX juntamente com refinamento pelo método de Rietveld verificando que o cristal apresenta um sistema monoclinico com grupo espacial  $P2_1$ , contendo 4 moléculas por célula unitária. O complexo metálico AZM-Cu (II) apresentou coloração violeta e padrão de difração diferente aos relatados na literatura, indicando a formação de uma nova fase. A AZM-TRIS-Cu(II) apresentou ausência de picos de difração de Raios X no difratograma, confirmando a amorfização do material. De acordo com a teoria de grupos para o cristal AZM-MH-EtOH os modos são ativos tanto no infravermelho como no Raman, logo, a caracterização por Espectroscopia Raman possibilitou analisar as possíveis bandas vibracionais deste solvato em três regiões do espectro, como: torções dos grupos CCCH e CCOH, combinações de torções, e das estruturas dos anéis de lactona, cladinose e desonamina, modos de estiramentos das unidades C44C48 e C9C8, deformações angular da ligação CCC, entre outras atribuições. Foi possível identificar por FT-IR, bandas atribuídas de vibração da hidroxilas (OH) e um conjunto de estiramento atribuídos aos grupos CH<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub> e CH. Observou-se também o estiramento do grupo carbonila, que pode participar da formação de ligações de hidrogênio. As análises térmicas realizadas por TG-DTG indicaram que a estabilidade térmica deste solvato foi de até 487 K. As curvas DTA e DSC indicaram que a amostra sofre desidratação e, posteriormente, ocorre uma amorfização do material em torno de 386-390 K. Esta amorfização foi confirmada pelo DRX em função da temperatura. Por fim, os resultados obtidos neste trabalho podem contribuir para diversas áreas do conhecimento assim como para a indústria farmacêutica e manipulação de fármacos pois possui resultados inéditos para o antibiótico azitromicina.

**Palavras-chaves:** Azitromicina. Cristal. Amorfo. Cobre.

## ABSTRACT

Azithromycin (AZM) is a 15-membered semisynthetic macrolide, which is derived from erythromycin A, stands out for having a broad spectrum of action against Gram-positive and Gram-negative bacteria, becoming the most widely used antibiotic worldwide, but the antibiotics have become resistant to microorganisms, so a possible way to circumvent such resistance mechanisms is the coordination of metal ions to antibiotics. In this context, this work aims at the synthesis and growth of azithromycin crystals, as well as the study of their structural, vibrational and thermal properties. All materials were obtained by the ELS method. The obtaining of the AZM-MH-EtOH crystal was confirmed by XRD technique along with refinement by the Rietveld method verifying that the crystal presents a monoclinic system with space group  $P2_1$ , containing 4 molecules per unit cell. The AZM-Cu (II) metal complex showed violet coloration and diffraction pattern different from those reported in the literature, indicating the formation of a new phase. AZM-TRIS-Cu(II) showed absence of X-ray diffraction peaks in the diffractogram, confirming the amorphization of the material. According to the group theory for the AZM-MH-EtOH crystal the modes are active in both infrared and Raman, therefore, the characterization by Raman Spectroscopy made it possible to analyze the possible vibrational bands of this solvate in three regions of the spectrum, such as: twists of the CCCH and CCOH groups, combinations of twists, and the structures of the lactone, cladinose and desonamine rings, stretching modes of the C44C48 and C9C8 units, angular strains of the CCC bond, among other assignments. It was possible to identify by FT-IR, assigned vibration bands of the hydroxyl (OH) and a set of stretching assigned to the CH<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub> and CH groups. Stretching of the carbonyl group was also observed, which may participate in the formation of hydrogen bonds. The thermal analyses performed by TG-DTG indicated that the thermal stability of this solvent was up to 487 K. DTA and DSC curves indicated that the sample undergoes dehydration and subsequently amorphization of the material occurs around 386-390 K. This amorphization was confirmed by XRD as a function of temperature. Finally, the results obtained in this work can contribute to various areas of knowledge as well as to the pharmaceutical industry and drug handling because it has unprecedented results for the antibiotic azithromycin.

**Key-words:** Azithromycin. Crystal. Amorphous. Copper.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b> Representação química da Azitromicina <b>Fonte:</b> Ref. [15].....	17
<b>Figura 2:</b> Estrutura molecular tridimensional do solvato de azitromicina monohidratada. <b>Fonte:</b> Ref. [16].....	19
<b>Figura 3:</b> Representação da Difração de Raios X por planos de átomos (A-A' E B-B') de um cristal. <b>Fonte:</b> Adaptado de [60]. .....	24
<b>Figura 4:</b> Tipos de vibrações moleculares. <b>Fonte:</b> Adaptado de [69].....	29
<b>Figura 5:</b> Diagrama de transição de energia para o espalhamento Raman normal <b>Fonte:</b> Adaptado de [70]. .....	32
<b>Figura 6:</b> Relação entre as intensidades do espalhamento Rayleing e Raman (Stokes e anti-stokes) <b>Fonte:</b> Adaptado de [71] .....	32
<b>Figura 7:</b> Representação da curva TG/DTG <b>Fonte:</b> Adaptado de [80].....	34
<b>Figura 8:</b> Representação da curva DTA <b>Fonte:</b> Adaptada de [82]. .....	35
<b>Figura 9:</b> Representação da curva DSC <b>Fonte:</b> Adaptada de [79].....	36
<b>Figura 10:</b> Difratorômetro de raios X da marca PANalytical modelo Empyrean. ....	40
<b>Figura 11:</b> Espectrômetro da Horiba Jobin Yvon modelo T64000 usado para obter espectros Raman em diversas condições termodinâmicas .....	41
<b>Figura 12:</b> Espectrômetro da marca Bruker modelo Vertex 70V usado para medir espectros de absorção no região do infravermelho.....	42
<b>Figura 13:</b> Analizador térmico (TG/DTA) marca Shimadzu modelo DTG-60.....	43
<b>Figura 14:</b> Calorímetro da marca Shimadzu modelo DSC-60, com detalhe do forno (à direita).....	43
<b>Figura 15:</b> Cristal de AZM-MH-EtOH. ....	44
<b>Figura 16:</b> Difratorograma do AZM-MH-EtOH refinados pelo método de Rietveld. ....	45
<b>Figura 17:</b> Célula unitária do AZM-MH-EtOH. Fonte: Adaptado de [16]. .....	47
<b>Figura 18:</b> Cristais de AZM-Cu(II). .....	48
<b>Figura 19:</b> Difratorogramas da AZM-Cu(II) e da célula unitária (ZINCEE) [48]. ....	48
<b>Figura 20:</b> Aspecto macroscópico do amorfo de AZM-TRIS-Cu(II) .....	50
<b>Figura 21:</b> Difratorogramas referentes aos compostos de partida recristalizados (AZM e TRIS) e o amorfo AZM-TRIS-Cu(II).....	51
<b>Figura 22:</b> Espectro Raman para o cristal de AZM-OH-EtOH a temperatura ambiente na região espectral de 100 a 1000 $\text{cm}^{-1}$ .....	53

<b>Figura 23:</b> Espectro Raman para o cristal de AZM-OH-EtOH a temperatura ambiente na região espectral de 1000 a 1800 $\text{cm}^{-1}$ .	55
<b>Figura 24:</b> Espectro Raman para o cristal de AZM-OH-EtOH a temperatura ambiente na região espectral de 2700 a 3200 $\text{cm}^{-1}$ .	57
<b>Figura 25:</b> FT-IR do solvato de azitromicina monohidratado.	58
<b>Figura 26:</b> Curvas TG/DTG-DTA da AZM-MH-EtOH.	61
<b>Figura 27:</b> Curva de DSC para o AZM-MH-EtOH.	62
<b>Figura 28:</b> Padrão de Difração de Raios X do Solvato de Azitromicina Monohidratada em função da temperatura de 299 a 393 K, no intervalo de 5-25° (2 $\theta$ ).	63
<b>Figura 29:</b> Parâmetros de rede a, b e c do cristal de AZM-MH-EtOH obtido pelo refinamento de Rietveld em função da temperatura.	64
<b>Figura 30:</b> Volume da célula unitário e o ângulo $\beta$ do cristal de AZM-MH-EtOH obtidos pelo refinamento de Rietveld em função da temperatura.	65

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1:</b> Dados cristalográficos das várias fases de cristais de AZM.....	20
<b>Tabela 2:</b> Informações sobre os reagentes e solventes usados na obtenção dos materiais e fornecedores.....	37
<b>Tabela 3:</b> Dados cristalográficos para o solvato de azitromicina com comparação com entre os dados experimentais e da literatura [16]. .....	46
<b>Tabela 4:</b> Dados cristalográficos para uma nova fase do AZM-Cu(II) e comparação entre os dados experimentais com os da literatura .....	49
<b>Tabela 5:</b> Tabela de caracteres para o grupo fator C2 do cristal de simetria monoclinica [93] .....	52
<b>Tabela 6:</b> Classificação das bandas do cristal de AZM-MH-EtOH da região espectral 100 à 1000 $\text{cm}^{-1}$ .....	54
<b>Tabela 7:</b> Classificação das bandas do cristal de AZM-MH-EtOH da região espectral 1000 à 1800 $\text{cm}^{-1}$ .....	56
<b>Tabela 8:</b> Classificação das bandas do cristal de AZM-MH-EtOH da região espectral 2700 à 3200 $\text{cm}^{-1}$ .....	57
<b>Tabela 9:</b> Classificação das bandas do cristal de AZM-MH-EtOH e suas atribuições .	59

## SUMÁRIO

<b>1.</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>14</b>
<b>2.</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>16</b>
<b>2.1.</b>	<b>Características gerais da Azitromicina (AZM)</b> .....	<b>16</b>
<b>2.2.</b>	<b>Coordenação de metais à resistência bacteriana</b> .....	<b>20</b>
<b>2.3.</b>	<b>Cobre e sua importância biológica</b> .....	<b>21</b>
<b>3.</b>	<b>FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA</b> .....	<b>23</b>
<b>3.1.</b>	<b>Técnicas de Caracterização</b> .....	<b>23</b>
3.1.1.	<i>Difração de Raio-X (DRX)</i> .....	23
3.1.1.1.	Método de Rietveld.....	25
3.1.3.	<i>Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR)</i> .....	27
3.1.4.	<i>Espectroscopia Raman</i> .....	29
3.1.5.	<i>Termogravimetria (TG) e Análise Térmica Diferencial (DTA)</i> .....	33
3.1.6.	<i>Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)</i> .....	35
<b>4.</b>	<b>METODOLOGIA</b> .....	<b>37</b>
<b>4.1.</b>	<b>Materiais</b> .....	<b>37</b>
<b>4.2.</b>	<b>Síntese dos cristais de azitromicina</b> .....	<b>37</b>
4.2.1.	<i>Obtenção do solvato de azitromicina monohidratada (AZM-MH-EtOH)</i> .....	38
4.2.2.	<i>Síntese do complexo de azitromicina com cobre (II) [AZM-Cu(II)]</i> .....	38
4.2.3.	<i>Síntese do amorfo de azitromicina com trometamina e cobre (II) [AZM-TRIS-Cu(II)]</i> 38	
<b>4.3.</b>	<b>Caracterização dos cristais de azitromicina</b> .....	<b>39</b>
4.3.1.	<i>Difração de Raios X (DRX)</i> .....	39
4.3.2.	<i>Espectroscopia Raman</i> .....	40
4.3.2.1.	Espectroscopia Raman em temperatura e pressão ambiente .....	40
4.3.3.	<i>Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR)</i> .....	41
4.3.4.	<i>Análises térmicas</i> .....	42
4.3.4.1.	Termogravimetria e análise térmica diferencial simultâneas (TG-DTA) .....	42

4.3.4.2.	Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC differential scanning calorimetry) .....	43
<b>5.</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>44</b>
<b>5.1.</b>	<b>Crescimento e caracterização por DRX dos cristais de azitromicina .....</b>	<b>44</b>
5.1.1.	<i>Obtenção do solvato de azitromicina monohidratado (AZM-MH-EtOH).....</i>	44
5.1.1.1.	Difração de Raio X (DRX) e refinamento pelo Método Rietveld para a AZM-MH-EtOH. 44	
5.1.2.	<i>Síntese do cristal de Azitromicina complexado com Cobre II [AZM-Cu(II)] ....</i>	47
5.1.3.	<i>Padrão de Difração de Raios X para a AZM-Cu(II).....</i>	48
5.1.4.	<i>Obtenção do amorfo de AZM-TRIS-Cu(II).....</i>	49
5.1.4.1.	Difração de raios X para AZM-TRIS-Cu(II).....	50
<b>5.2.</b>	<b>Caracterização vibracional da AZM-MH-EtOH em condições ambiente de temperatura e pressão .....</b>	<b>51</b>
5.2.1.	<i>Teoria de grupos para AZM-MH-EtOH.....</i>	51
5.2.2.	<i>Espectroscopia Raman em Temperatura Ambiente.....</i>	52
5.2.2.1.	Região espectral entre 100 e 1000 $\text{cm}^{-1}$ .....	53
5.2.2.2.	Região de 1000 a 1800 $\text{cm}^{-1}$ .....	55
5.2.2.3.	Região de 2700 a 3200 $\text{cm}^{-1}$ .....	56
5.2.3.	<i>Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FT-IR).....</i>	57
<b>5.3.</b>	<b>Estudo de estabilidade para AZM-MH-EtOH .....</b>	<b>60</b>
5.3.1.	<i>Análise Térmica.....</i>	60
5.3.1.1.	Termogravimetria, Termogravimetria Derivada e Análise Térmica Diferencial simultâneas (TG/DTG-DTA) para AZM-MH-EtOH.....	60
5.3.1.2.	Caracterização por Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC).....	61
5.3.2.	<i>Difração de Raios X em Função da Temperatura.....</i>	62
<b>6.</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>66</b>
<b>7.</b>	<b>PESPECTIVAS.....</b>	<b>68</b>
	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>71</b>

## 1. INTRODUÇÃO

A indústria farmacêutica vem buscando desenvolver fármacos com atividade antimicrobiana, e para este fim, vários agentes já foram isolados, modificados sinteticamente ou empregados para fins terapêuticos, como no caso dos antibióticos que estão disponíveis no mercado farmacêutico como compostos naturais ou sintéticos. Sua síntese e comercialização provocaram um avanço no tratamento de doenças infecciosas, acarretando uma diminuição na taxa de mortalidade e um aumento na expectativa de vida e bem-estar [1]. Os antibióticos podem ser classificados como bactericidas, quando promove a morte da bactéria, ou bacteriostáticos, quando promove a inibição do crescimento microbiano, dependendo das concentrações plasmáticas, teciduais, o tamanho do inóculo e dos micro-organismos infectados [2].

Existem várias classes de antibióticos desenvolvidos no mercado, dentre elas destacam-se os macrolídeos que podem ser caracterizados pelo tamanho do anel de lactonas macrocíclicas de origem polícetídeos de 14 membros (eritromicina), 15 membros (azitromicina) e 16 membros (tilosina), sendo ligados a açúcares laterais amino e neutro, geralmente a desosamina e cladinose. Sua atividade antibacteriana ocorre pela ligação reversível às subunidades ribossômicas 50S bacteriana e pelo bloqueio da progressão das proteínas nascentes através de seu túnel de saída na biossíntese de proteínas bacterianas [3-5].

A eritromicina foi o primeiro macrólido de 14 membros isolado pelo actinomiceto (*Streptomyces erythreus*). É empregada para infecções respiratórias como pneumonia, bronquite crônica, sinusite aguda, faringites, entre outras doenças, sendo considerada segura e amplamente prescrita [2,4,5]. Contudo a eritromicina apresenta um espectro antibacteriano limitado e sua estabilidade em meio ácido é reduzida, provocando efeitos gastrointestinais adversos que inibe o metabolismo do medicamento. Como forma de minimizar a incidência de seus efeitos colaterais, novos antibióticos foram sintetizados com melhores perfis farmacocinéticos em relação a sua precursora denominados de antibióticos de segunda geração, como a roxitromicina, claritromicina e azitromicina [6-8].

A azitromicina (AZM) é um macrolídeo semissintético de 15 membros, que deriva da eritromicina A, sendo produzido por uma sequência de oximação, rearranjo de Beckmann, redução e N-metilação. Destaca-se por apresentar um amplo espectro de ação, possui melhores perfis físico-químicos, farmacocinéticos, biodisponibilidade, aumento

no tempo de meia-vida, maior concentração intracelular e uma diminuição dos efeitos colaterais tornando-se o antibiótico mais empregado mundialmente sendo encontrado na relação nacional de medicamentos essenciais (RENAME) [9-13].

Mediante um cenário de pandemia, ocasionada pelo novo Coronavírus, a AZM foi utilizada como tratamento para amenizar os sintomas da doença em seus estágios iniciais, por promover a redução dos efeitos das doenças crônicas nas vias respiratórias. A AZM também é utilizada para tratar outras doenças como faringite, amigdalite e H1N1 entre outras doenças infecciosas. Este fármaco apresenta polimorfismo, que é a capacidade de um material cristalizar-se em mais de uma estrutura, sendo que cada forma apresenta diferentes capacidades físico-químicas, como ponto de fusão, densidade, solubilidade entre outras. Um fator imprescindível para alterar a qualidade e eficiência do insumo farmacológico ativo (IFA) [14]. Entre as fases polimórficas da AZM encontra-se a dihidratada (AZM-DH), monohidratada (AZM-MH), anidra (AZM-A), solvatos e amorfa. Sendo que a AZM-DH é a mais estável e portanto, a mais comercializada. Contudo, as características vibracionais e térmicas para o solvato de azitromicina monohidratado são pouco relatadas na literatura [15,16].

Apesar dos avanços nos estudos, os micro-organismos desenvolveram mecanismos de resistência aos antibióticos, incluindo os macrolídeos. Uma forma de contornar tais mecanismos de resistência, é a coordenação de metais a antibióticos pois a interação entre o íon metálico e um ligante permite obter complexos com diferentes números de coordenação, estados de oxidação, geometria, entre outras características sendo uma nova estratégia para a produção de fármacos mais eficientes contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas [17,18].

Neste contexto, este trabalho tem como objetivo estudar o fármaco azitromicina em suas fases: solvato de azitromicina monohidratado (AZM-MH-EtOH), o cristal de azitromicina com cobre (II) [AZM-Cu(II)] e o amorfo de AZM-TRIS-Cu(II), sendo necessário uma caracterização completa e criteriosa a partir de técnicas experimentais apropriadas. As suas propriedades estudadas serão: estrutural por Difração de Raios X (DRX), determinação das propriedades vibracionais via Espectroscopias Raman (temperatura e pressão ambiente) e Espectroscopia por Infravermelho por Transformada de Fourier (FT-IR) e análise térmica por Termogravimetria, Termogravimetria Derivativa e Análise térmica diferencial simultâneas (TG/DTA-DTG) e Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC).

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1. Características gerais da Azitromicina (AZM)

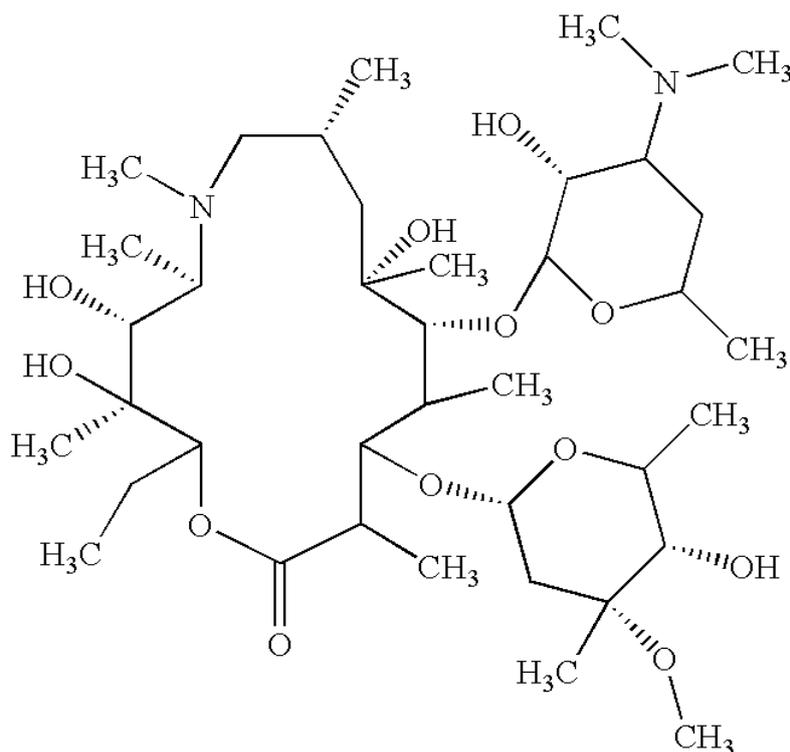
A AZM é o primeiro antibiótico da classe das azalidas e pode ser administrada via oral ou parenteral, sendo prescrita em dose diária única e por um curto período. O fármaco move-se rapidamente da corrente sanguínea para o compartimento intersticial resultando em baixas concentrações séricas e altas concentrações teciduais. Acumulando-se nas células inflamatórias, particularmente nos neutrófilos, monócitos na corrente sanguínea e macrófagos teciduais [19-22].

Seu mecanismo de ação assim como dos macrolídeos atua pela ligação com o RNA ribossômico 23S, este possui uma estrutura secundária dobrada devido ao emparelhamento de bases e forma seis domínios, numerados de I à VI, encontrando-se próximo ao túnel de saída do peptídeo com aproximadamente 8-10 Å do centro da peptidil transferase da subunidade 50S. Assim, interfere no alongamento das cadeias peptídicas nascentes durante a translação, inibindo a síntese de proteínas. Desta maneira sua penetração nas células fagocíticas é necessária para a atividade contra patógenos intracelulares como a *Staphylococcus aureus*, *Legionella pneumophila*, *Salmonella typhi* [23-27].

A AZM é comercialmente utilizada para uso clínico quanto farmacêutico, abrangendo doenças respiratórias como: a otite média aguda (OMA), faringite, amigdalite, entre outras. Pode ser considerada uma alternativa para o tratamento da leptospirose, cólera e algumas doenças sexualmente transmissíveis (DST) como a *Chlamydia trachomatis*, *Treponema pallidum*, *Ureaplasma urealyticum* e *Human immunodeficiency virus* (HIV). A AZM também pode ser usada em conjunto com outros medicamentos como a cloroquina ou hidroxicloroquina para tratar a malária provocada pelo *Plasmodium falciparum*, como também para COVID-19 em seu estado inicial, sendo uma possível forma terapêutica antiviral [5, 28,29].

A AZM (Figura 1), possui um átomo de nitrogênio substituído com metil incorporado no anel de lactona, na posição 9a, expandindo o anel para 15 membros essa estrutura molecular confere uma carga extra positiva à molécula, permitindo que o medicamento seja mais estável em condições ácidas e promovendo um melhor perfil físico-químico e farmacocinético [9,10,30]. Foi produzida em 1980 pelos pesquisadores

dos laboratórios PLIVA. Todavia o nitrogênio inserido não contribui para a ligação da AZM ao ribossomo, porém altera a conformação do anel de lactona o suficiente para induzir interações. Desse modo, a molécula de AZM pode interagir com os domínios IV e V do 23S rRNA e a segunda molécula de AZM interage com as proteínas ribossômicas L4 e L22 e o domínio II do 23S rRNA, sendo o único macrólido que possui duas formas de ligação [13, 26, 27].



**Figura 1:** Representação química da Azitromicina  
**Fonte:** Ref. [15]

Segundo a IUPAC sua nomenclatura é denominada de (2R, 3S, 4R, 5R, 8R, 10R, 11R, 12S, 13S, 14R)-11-[(2S,3R,4S,6R)-(dimetilamino)-3-hidroxi-6-metiloxan-2-il]oxi-2-etil-3,4,10-tri-hidroxi-13-[(2R, 4R, 5S, 6S)-5-hidroxi-4-metoxi-4,6-dimetiloxan-2-il]oxi-3,5,6,8,10,12,14-heptametil-1-oxa-6-azaciclopentadecan-15-ona, possui fórmula molecular  $C_{38}H_{72}N_2O_{12}$  e massa molar de 748,98 g/mol. É um sólido cristalino branco pouco solúvel em água e soluções hidróxidos alcalinos, facilmente solúvel em etanol, metanol e soluções ácidas. Esse fármaco possui ponto de fusão em aproximadamente 114 °C e um  $pK_a = 8,5$  [13].

A AZM apresenta o fenômeno de polimorfismo, que é a habilidade de um material sólido cristalino existir em pelo menos duas formas estruturais distintas e com a

mesma composição química. Essas diferentes configurações moleculares dentro do ambiente cristalino podem atribuir características estruturais e microbiológicas específicas para cada fase. Assim, a ocorrência de inúmeros tipos de interações intermoleculares, em especial as ligações de hidrogênio, podem ser modificadas com o processo de produção do medicamento, ocorrendo possíveis transições de fase contribuindo para a ineficiência do mesmo [31-33].

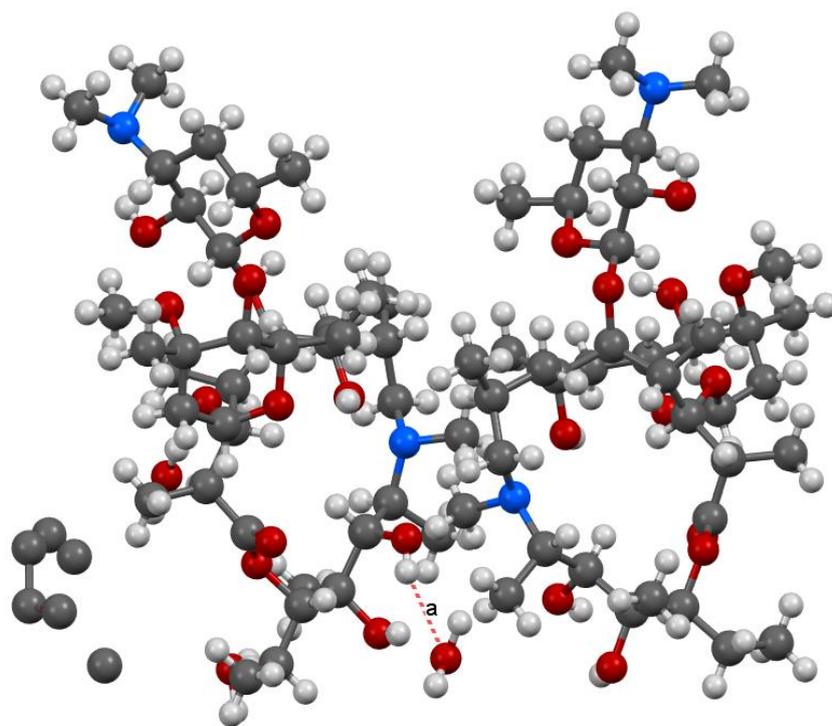
Foram relatadas 16 formas polimórficas da AZM subdivididas em duas famílias isomórficas, que podem se cristalizar no mesmo grupo espacial com modificações nos parâmetros de rede, isso ocorre devido a forma como o material é recristalizado, podendo ocorrer variações nas quantidades de água/solvente de cada amostra. A família I encontra-se as formas F, G, H, J, M, N, O e P que pertencem ao grupo espacial  $P2_1$ , monoclinico, já a família II inclui as formas C, D, E e R com grupo espacial  $P2_12_12_1$ , ortorrômbico. Assim como, um dihidrato (forma A), um hidrato não estequiométrico (forma B) e todavia quando o material perde a molécula de água ou solvente que se encontra na estrutura cristalina, torna-se amorfa [15].

Dentre as formas polimórficas da AZM, se destaca a fase da AZM-A ( $C_{38}H_{72}N_2O_{12}$ ) que possui características estruturais amorfa. Se ela for recristalizada utilizando como solvente uma mistura de acetona/água ou terc-butanol/água o produto final obtido é a AZM-DH ( $C_{38}H_{72}N_2O_{12} \cdot 2H_2O$ ) que apresenta estrutura cristalina referente ao sistema ortorrômbico com 4 molécula por célula unitária e pertencente ao grupo espacial  $P2_12_12_1$  com parâmetros de rede  $a = 14,735$  (5) Å,  $b = 16,844$  (7) Å,  $c = 17,810$  (1) Å e  $\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$  e volume de  $4449,76$  Å<sup>3</sup> [15].

O hidrato de azitromicina (AZM-H) possui fórmula química  $C_{38}H_{72}N_2O_{12} \cdot 1,8(H_2O)$ , com estrutura cristalina ortorrômbica (grupo espacial  $P2_12_12_1$ ) com 4 moléculas por célula unitária e parâmetros de rede  $a = 14,638$  Å,  $b = 16,801$  Å,  $c = 17,801$  Å e  $\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$ . Já na fase sesqui-hidratada (AZM-SH), possui fórmula molecular ( $C_{38}H_{72}N_2O_{12} \cdot 1,5H_2O$ ) estrutura monoclinica (grupo espacial  $P2_1$ ), com 4 moléculas por célula unitária. Se a AZM-SH for recristalizada em uma mistura de água e álcool (metanol, etanol ou propanol), a forma obtida é AZM-MH ( $C_{38}H_{72}N_2O_{12} \cdot H_2O$ ), estrutura ortorrômbica, (grupo espacial  $P2_12_12_1$ ), com 4 moléculas por célula unitária e parâmetros de rede  $a = 8,809$  (3) Å,  $b = 12,475$  (8) Å,  $c = 45,590$  (3) Å e  $\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$  [15,16, 34, 35].

Os solvatos ou pseudopolimorfos, são sólidos cristalinos que contém moléculas de solvente dentro da estrutura cristalina, na qual podem modificam as propriedades do

fármaco, como no caso do AZM-MH (Figura 2), os solventes (água e álcool) são incluídos na célula unitária no grande volume vazio disponível entre as moléculas. Apesar da diferença de tamanho ou a perda desses solventes, o volume unitário das células não sofre alterações. Assim, na literatura, são relatados os pseudopolimorfos de AZM como o monohidrato-etanol (MH-EtOH), monohidrato-metanol (MH-MeOH) e monohidrato-isopropanol (MH-i-PrOH) [15, 16].



**Figura 2:** Estrutura molecular tridimensional do solvato de azitromicina monohidratada.  
**Fonte:** Ref. [16]

A Figura 2 mostra a estrutura molecular do solvato de azitromicina monohidratado (AZM-MH-EtOH) que possui fórmula molecular  $C_{38}H_{72}N_2O_{12} \cdot 0.5(C_2H_6O) \cdot H_2O$ , estrutura cristalina monoclinica, grupo espacial  $P2_1$  com 4 moléculas por célula unitárias e parâmetros de redes  $a = 16.158(4) \text{ \AA}$ ,  $b = 16.114(5) \text{ \AA}$ ,  $c = 18.311(4) \text{ \AA}$  e  $\alpha = \gamma = 90^\circ$   $\beta = 109.44^\circ$ . A molécula de AZM possui centros reativos que podem ser coordenados a metais de transição, sendo uma estratégia para a produção de novos fármacos com uma maior resistência bacteriana [16, 36].

A Tabela 1 apresenta algumas informações dos principais polimorfos da AZM, como a fórmula molecular, sistema cristalino, parâmetros de rede, ângulo e número de moléculas por célula unitária.

Tabela 1: Dados cristalográficos das várias fases de cristais de AZM.

Dados Cristalográficos [15]				
Composto	AZM-DH	AZM-SH	AZM-MH	AZM-MH-EtOH
<b>Fórmula Molecular</b>	$C_{38}H_{72}N_2O_{12} \cdot 2H_2O$	$C_{38}H_{72}N_2O_{12} \cdot 1,5H_2O$	$C_{38}H_{72}N_2O_{12} \cdot H_2O$	$C_{38}H_{72}N_2O_{12} \cdot 0,5(C_2H_6O) \cdot H_2O$
<b>Sistema cristalino</b>	Ortorrômbica (P2 <sub>1</sub> 2 <sub>1</sub> 2 <sub>1</sub> )	Monoclínico (P2 <sub>1</sub> )	Ortorrômbica (P2 <sub>1</sub> 2 <sub>1</sub> 2 <sub>1</sub> )	Monoclínico (P2 <sub>1</sub> )
<b>Parâmetros de rede</b>	$a = 14,735 (5) \text{ \AA}$ $b = 16,844 (7) \text{ \AA}$ $c = 17,810 (1) \text{ \AA}$	$a = 16,407 (8) \text{ \AA}$ $b = 16,292 (8) \text{ \AA}$ $c = 18,383 (9) \text{ \AA}$	$a = 8,809 (3) \text{ \AA}$ $b = 12,475 (8) \text{ \AA}$ $c = 45,590 (3) \text{ \AA}$	$a = 16,158 (4) \text{ \AA}$ $b = 16,114 (5) \text{ \AA}$ $c = 18,311 (4) \text{ \AA}$
<b>Ângulo</b>	$\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$	$\alpha = \gamma = 90^\circ$ $\beta = 110, 21^\circ$	$\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$	$\alpha = \gamma = 90^\circ$ $\beta = 109,44^\circ$
<b>Número de moléculas por célula unitária</b>	Z = 4	Z = 4	Z = 4	Z = 4

## 2.2. Coordenação de metais à resistência bacteriana

Ao introduzir um medicamento no mercado, o seu uso extensivo, por algumas vezes inapropriado e a demora no diagnóstico das infecções bacterianas, começa a diminuir a sua utilidade clínica, até o momento que há uma restrição em seu uso. Esta restrição ocasiona a resistência de cepas, que pode ser causada por fatores, como: a inativação do antibiótico diretamente na molécula bioativa por alterações químicas, geralmente promovidas por enzimas bacterianas; modificação do alvo que leva à perda de sensibilidade ao medicamento; a capacidade de transmitir a inativação de uma determinada enzima, entre outros fatores que promove essa resistência [5,37-39].

Algumas classes de micro-organismos como a *S. aureus* vancomicina-resistente (VRSA), *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae* entre outras, são resistentes a vários medicamentos. Os processos infecciosos causados por tais micro-organismos estão associados com uma alta letalidade e um elevado custo durante o tratamento. Nesse sentido, os metalofármacos podem ser mais ativos que os antibióticos não coordenados, podendo ser considerado como um tratamento eficaz de uma série de enfermidades [40,41].

Os compostos de coordenação são formados por um metal como átomo/íon central envolvidos por íons ou moléculas ligados por forças eletrostáticas e compartilhamento de elétrons, essas espécies podem ser neutras ou iônicas, definidas como ligantes. A interação entre o íon metálico e um ligante permite obter complexos que apresentam ampla variedade estrutural, como diferentes geometrias ou conformações, números de coordenação, estados de oxidação, aspectos cinéticos e termodinâmicos em função da substituição dos ligantes, fatores esses que também alteram sua reatividade e propriedades estruturais, atendendo desta forma, diversas necessidades biológicas [17,18].

Logo, antibióticos como a Tetraciclina foram sintetizados com o paládio (II) que apresentou maior atividade antibacteriana contra a linha resistente (*Escherichia coli* HB101/pBR322), sendo dezesseis vezes mais potente que a droga livre. Assim como as sulfonamidas complexada com os íons de Co(II), Cu(II), Ni(II) e Zn(II), apresentaram uma melhoria na eficiência biológica, sendo que o complexo de cobre  $[\text{Cu}(\text{sulfametoxazol})_2(\text{H}_2\text{O})_4] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ , é quatro vezes mais ativo nas linhagens *S. aureus* ATCC 29213 (MIC = 4  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) e *E. coli* ATCC 25922 (MIC = 32  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) [42-44].

Diversos complexos de cobre (II) ligados com compostos terapêuticos mostraram atividade contra bactérias, fungos, vírus e leveduras, por exemplo:  $[\text{Cu}_2(\text{ibuprofeno})_2(\text{H}_2\text{O})_2]$ ,  $[\text{Cu}_2(\text{mefenamato})_2(\text{H}_2\text{O})_2]$ ,  $[\text{Cu}_2(\text{naproxeno})_2(\text{H}_2\text{O})_2]$  e  $[\text{Cu}_2(\text{diclofenaco})_2(\text{H}_2\text{O})_2]$ . No complexo de ciprofloxacina com cobre foi constatado um aumento da atividade antitubercular pois sua formação facilitou o transporte do medicamento. Já nos estudos desenvolvidos por Saeed Arayane e colaboradores (2014) sobre a azitromicina complexada com metais bivalentes os complexos de  $\text{Mn}(\text{Azi})_2$ ,  $\text{Fe}(\text{Azi})_2$  e  $\text{Cu}(\text{Azi})_2$  exibiram atividade biológica aumentada em relação ao medicamento original [45-48].

### 2.3. Cobre e sua importância biológica

O cobre (Cu) é um elemento químico de número atômico 29 e massa atômica de 63,546 g/mol. É um metal de transição pertencente ao grupo 11, localiza-se no 4º período, bloco d na tabela periódica, possui configuração eletrônica  $[\text{Ar}] 3d^9 4s^2$ . Possui estado de oxidação I, II e III, sendo que o Cu (+II) é o mais estável. O Cu (+ I) apresenta configuração  $d^{10}$  formando compostos diamagnéticos e incolores, já o Cu (+ II) tem configuração  $d^9$ , contendo um elétron desemparelhado, este fato faz com que ocorra

transições do tipo d-d, ocasionando compostos paramagnéticos e coloridos. Compostos com o estado de oxidação (+III) raramente são encontrados [49].

O Cu é um oligoelemento essencial para o corpo humano pois desempenha um papel na fisiologia humana, como a lisina oxidase que controla a elasticidade das paredes da aorta, a dopamina hidroxilase, que participa das funções cerebrais, a tirosinase que influencia a pigmentação da pele e na ceruloplasmina, que atua no metabolismo do ferro, entre outras funções importantes. É o terceiro metal de transição mais abundante no corpo (cerca de 80 mg) e em uma dieta diária o ser humano precisa de 4 a 5 mg de cobre. Na indústria o cobre desempenha diversas aplicações como a fabricação de maçanetas e superfícies de toque usadas em hospitais e ambientes de saúde, pois possui atividade bactericida, uma vez que o crescimento e a transferência de bactérias e doenças são inibidos [50-53].

Os complexos com o íon Cu(+II) estão entre os mais estudados e reportados literatura, assim como o trabalho de Djokic e colaboradores em 1995, que sintetizaram a azitromicina utilizando íons metálicos divalentes [Ni (II), Ca (II), Mg (II), Zn (II) e Cu (II)], a fim de investigar as possíveis mudanças farmacológicas, toxicológicas e estruturais promovidas pela formação destes complexos metálicos, como resultado deste estudos somente o complexo de azitromicina com o íon cobre apresentou uma melhor estabilidade em relação aos demais complexos, logo, foi submetido a análise estrutural utilizando a técnica de Difração de Raios-X (DRX) [54]. Neste contexto, com o intuito de investigar as mudanças estruturais, físico-químicas, térmicas entre outras características da complexação de metais a antibióticos.

### 3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Este capítulo descreve os conceitos necessários para compreender os princípios fundamentais das técnicas instrumentais de caracterização, possibilitando o entendimento de cada técnica que será abordada posteriormente com as propriedades dos materiais.

#### 3.1. Técnicas de Caracterização

##### 3.1.1. Difração de Raio-X (DRX)

Em 1895 o físico alemão Wilhelm Conrad Roentgen, estudando a radiação eletromagnética proveniente do experimento conhecido como “tubo de Crookes” de Joseph J. Thompson, descobrindo os raios X, nome designado devido à sua natureza desconhecida. A descoberta desta nova radiação lhe conferiu o primeiro prêmio Nobel de Física em 1901. Sendo que os raios X assim como a luz visível é uma forma de radiação eletromagnética com comprimento de onda pequeno que varia entre 0,1 a 100 Å o que difere das demais radiações [55-58].

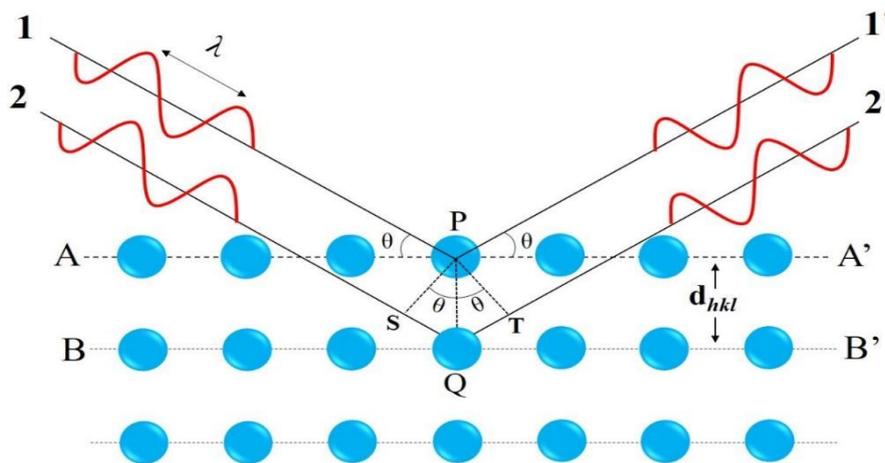
A geração de raios X pode ser produzidos de duas formas distintas: a primeira forma é um dispositivo, denominado de tubo de raios X, na qual ondas eletromagnéticas são geradas a partir de impactos de elétrons de alta energia com um alvo de metal. Já o segundo método é uma fonte mais avançada de radiação de raios X, o síncrotron, onde os elétrons de alta energia estão confinados em um anel de armazenamento, quando eles se movem, em uma órbita, os elétrons circulam e aceleram em direção ao centro do anel, emitindo radiação eletromagnética [55, 59]. Vale salientar que as fontes de raios X mais utilizadas em laboratórios são os tubos de raios X, por serem facilmente acomodados em laboratórios de todos os tamanhos e ser mais acessível financeiramente em comparação com a Luz síncrotron.

Os tubos de raios X são formados por dois eletrodos acoplados em suas extremidades lacrados em uma ampola de vidro a vácuo. Em um dos eletrodos funciona o cátodo, formado por um filamento de tungstênio que ao ser aquecido são emitidos os elétrons devido ao efeito termiônico, já o outro eletrodo é composto pelo ânodo sendo um alvo metálico atingido pelos elétrons formados no cátodo [55]. Geralmente, a diferença de potencial ocasionada pela colisão dos elétrons com o ânodo faz com que os elétrons

das camadas mais internas (K, L, M) do ânodo podem ser liberados ocasionando vacâncias. Por sua vez os elétrons da camada mais externa decaem para camada mais interna preenchendo as lacunas gerando fótons de raios X, porém cerca de 98% da energia cinética é convertida em calor, necessitando que o alvo seja refrigerado constantemente [56].

O físico alemão Max Von Laue em 1912 foi responsável pela descoberta da utilização de materiais cristalinos como rede de difração para os raios X. Ele sugeriu que os materiais tem propriedades cristalinas e podem difratar os raios X considerando que esta radiação possui comprimento de onda da mesma grandeza da radiação incidente. Apesar da descoberta de Laue, foi William Henry Bragg e seu filho William Laurence Bragg, que estudando o fenômeno de difração de raios X demonstrou a natureza ondulatória dos mesmos utilizando um cristal. A natureza ondulatória dos raios X rendeu aos Braggs um prêmio Nobel de Física em 1915 ao deduzir uma equação denominada de “Lei de Bragg” [59].

De acordo com Henry Bragg e Laurence Bragg, ao incidir um feixe de raios X sobre um material sólido, uma parte desse feixe será disperso em todas as direções pelos elétrons que estão associados a cada átomo ou íon que se encontra no caminho do feixe, produzindo uma interferência construtiva [60], como pode ser observado na Figura 3.



**Figura 3:** Representação da Difração de Raios X por planos de átomos (A-A' e B-B') de um cristal.  
**Fonte:** Adaptado de [60].

A partir da Figura 3, é possível observar três planos paralelos horizontalmente, entretanto considerando dois planos atômicos A-A' e B-B' que estão separados por um espaçamento interplanar ( $d_{hkl}$ ), na qual possuem índices de Miller (h, k, l) equivalentes.

Se um feixe de raios X (1 e 2), com comprimento de onda ( $\lambda$ ) e monocromático incidir sobre os dois planos é difratado em fase (1' e 2'), segundo um ângulo ( $\theta$ ). Os raios 1 e 2 são espalhados pelos átomos P e Q, e a diferença entre a trajetória 1-P-1' e 2-Q-2' (SQ e QT) sucede em um número inteiro ( $n$ ), de comprimento de onda que encontra-se em fase, ou seja resulta em uma interferência construtiva [60], a Lei de Bragg (Equação 1) é satisfeita e a condição para a difração é dada por:

$$n\lambda = SQ + QT = n\lambda = d_{hkl}\text{sen}\theta + d_{hkl}\text{sen}\theta = 2d_{hkl}\text{sen}\theta \quad (1)$$

A técnica de difração de raios X (DRX) é empregada para determinar a estrutura cristalina de materiais policristalinos e amorfos, assim como o tamanho e a geometria da célula unitária. Os materiais são pulverizados em cristalitos pequenos de forma aleatória, de tal maneira que todos os planos do cristal sejam favorecidos na análise do difratômetro. A amostra deve ser orientada com um ângulo  $\theta$  em relação ao feixe incidente de raios X e com ângulo  $2\theta$ , para que o detector, correspondendo a condição proposta por Bragg. Após a medida de difração é obtido o difratograma que passa por tratamentos matemáticos, empregando o método de Rietveld e o método *Le Bail* [55,58,61,62].

#### 3.1.1.1. Método de Rietveld

O método de Rietveld, desenvolvido por Hugor Rietveld, consiste em obter o melhor ajuste possível entre os difratogramas, minimizando a diferença entre as intensidades dos picos observados experimentalmente com o padrão calculado, relacionado ao método dos mínimos quadrados, [63-66] como pode ser observado na Equação 2.

$$S_y = \sum_i \frac{1}{y_{obs}} (y_{obs} - y_{calc})^2 \quad (2)$$

Onde,  $y_{obs}$  é a intensidade observada para o  $i$ -ésimo ponto e  $y_{calc}$  é a intensidade calculada no  $i$ -ésimo ponto.

Para obter um bom refinamento as intensidades do difratograma calculado sobrepõem às intensidades do difratograma experimental, de tal maneira que a linha de diferença entre eles seja o mais próximo de uma reta, sendo representado graficamente. Assim, a finalidade do método Rietveld é minimizar a divergência que existe entre as

intensidades observadas e calculadas do material em estudo, desta forma quanto menor o valor do  $S_y$  mais ajustado será os parâmetros do material [64]. O acompanhamento da qualidade do refinamento, assim como os parâmetros mais utilizados para avaliar o ajuste entre  $y_{obs}$  e  $y_{calc}$  em cada passo são os índices numéricos  $R_{wp}$  e  $R_{exp}$  que são expressos nas equações (3,4 e 5) a seguir. Onde,  $N$  é o número dos pontos experimentais coletados no padrão de difração e  $P$  é o número de parâmetros refinados.

$$R - perfil = R_p = \frac{\sum |y_{obs} - y_{calc}|}{\sum y_{obs}} \quad (3)$$

$$R - ponderado = R_{wp} = \sqrt{\frac{\sum \frac{1}{y_{obs}} (y_{obs} - y_{calc})^2}{\sum \frac{1}{y_{obs}} (y_{obs})^2}} \quad (4)$$

$$R - esperado = R_{exp} = \sqrt{\frac{N - P}{\sum \frac{1}{y_{obs}} (y_{obs})^2}} \quad (5)$$

Um dos parâmetros utilizados para o monitoramento da qualidade do refinamento sendo estatisticamente o mais significativo é o  $R_{wp}$  que corresponde a expressão a ser minimizado pelo programa mostrando o avanço do tratamento de dados que deve ser minimizado, sendo o melhor indicador para verificar se o refinamento está convergindo. As diferenças na forma dos picos (como a largura) e a estatística da radiação de fundo são os fatores que modificam o  $R_{wp}$ . Para o refinamento ser tido como bom e de qualidade é necessário que os valores do  $R_{wp}$ , seja inferior a 10%, todavia existem valores na literatura que variam de 10 a 20% que são considerados resultados razoáveis [64, 67].

O goodness-of-fit (GOF) é outro parâmetro empregado para definir a qualidade do refinamento, é representado pela razão entre o  $R_{wp}$  e o  $R_{exp}$ , como mostra a Equação 6. Para obter um refinamento de boa qualidade e próximo do desejado o valor do GOF deverá ser próximo de 1,0 a 1,5. Entretanto também são considerados aceitáveis, valor obtido até 4 para ajustes nos difratogramas [63, 65, 67, 68].

$$Goodness - of - fit = GOF = S = \frac{R_{wp}}{R_{exp}} \quad (6)$$

Por meio do método de Rietveld é possível obter uma variedade de informações estruturais, como a possibilidade de análise simultânea de várias fases presentes em uma amostra, refinar os parâmetros de vibração anisotrópicos dos átomos, permite determinar a concentração da fase amorfo, se um padrão interno for utilizado, determinar o tamanho do cristalito e microdeformações na rede, assim como os efeitos de orientação preferencial são minimizadas e as possibilidade de determinar a estequiometria do material em estudo, entre outras informações características do material [64, 65].

### 3.1.2. *Vibrações Moleculares*

Os métodos espectroscópicos de análise são baseados na medida da quantidade de radiação produzida ou absorvida pelas moléculas ou espécies atômicas de interesse. Logo, estas técnicas são amplamente utilizadas para a elucidação de estruturas moleculares, ligações químicas, transições estruturais e transições dos níveis de energia, pois descrevem com eficiência as vibrações moleculares dos materiais [69,70].

Neste contexto, um sistema molecular possui liberdade de movimento rotacional e translacional nas três direções espaciais (x, y e z), porém existem condições matemáticas relacionada ao centro de gravidade que restringe os movimentos de translação e de rotação, ou seja uma molécula não linear terá  $3N-6$  e uma molécula linear terá  $3N-5$  coordenadas internas [70,71].

As coordenadas internas correspondem aos graus de liberdade ou modos vibracionais internos de uma molécula não linear. Em cada modo normal de vibração todos os átomos vibram com a mesma frequência e todos passam por sua posição de equilíbrio simultaneamente. A amplitude relativa da vibração de cada átomo individual pode ser diferente em magnitude e direção, entretanto o centro de gravidade da molécula não se movimenta, assim não sofre rotação [71].

### 3.1.3. *Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR)*

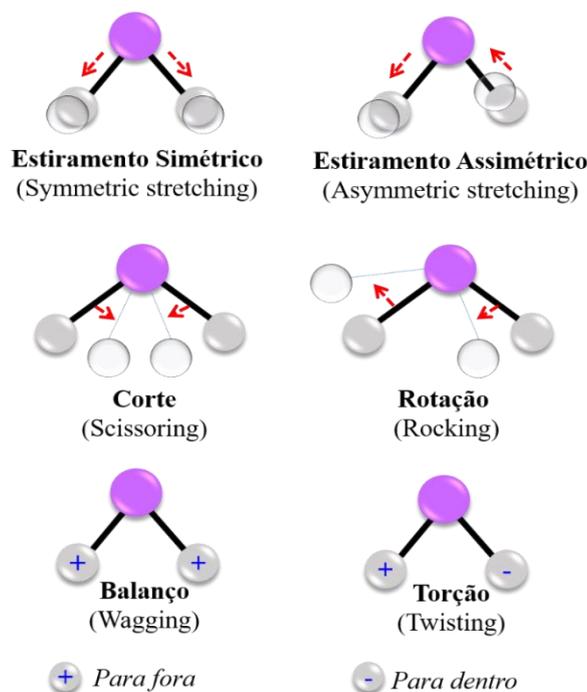
A radiação no infravermelho aplicada para fins espectroscópicos geralmente não possui energia suficiente para ocasionar transições eletrônicas nos átomos, podendo ser absorvida ou emitida pelas moléculas ocasionando transições nos estados rotacionais e vibracionais que são associados ao estado fundamental. Sendo que a possibilidade e

variações de vibração de uma molécula permitem compreender a estrutura molecular correspondentes aos grupos químicos de um determinado material [72].

Logo, a espectroscopia no infravermelho baseia-se na interação entre um feixe da radiação infravermelha com uma molécula do material, resultando em alterações na energia de vibração das moléculas que o constituem. Nos estudos espectroscópicos a radiação infravermelha empregada possui uma faixa de frequência entre 4000 a 400  $\text{cm}^{-1}$ , para que aconteça a absorção a frequência incidida deve ser igualada a frequência vibracional das ligações químicas do material em análise, ou seja, deve ocorrer um momento dipolo [73].

A técnica de espectroscopia no infravermelho é muito usada para identificar grupos funcionais nas amostras, pois estes grupos possuem bandas características em termos de frequência e vibração. No entanto, a técnica de espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR) utiliza feixes eletromagnéticos que geram interferogramas e, posteriormente, incidem na amostra medindo a quantidade de feixe que foi absorvida, sendo um aperfeiçoamento da técnica convencional de espectroscopia no infravermelho. O espectro é obtido a partir de uma função matemática, na qual converte o domínio do tempo em domínio de frequência e no interferômetro os comprimentos de ondas são detectados e medidos de forma simultânea, por esse motivo os dados são coletados com maior rapidez [69,73].

A partir da Figura 4, é possível observar o estiramento (*stretchig*), onde os átomos se afastam e se aproximam quando ligados a um átomo central, podendo resultar no encurtamento ou alongamento da ligação. O estiramento pode ser classificado em simétrico (ocorre em fase) ou assimétrico (ocorre fora de fase). Para o dobramento (*Bending*) as posições atômicas quase não são alteradas. Esta vibração forma um eixo perpendicular no sentido das ligações, assim promove deformações dentro e fora do plano, como alterações nos ângulos existente entre os átomos, podem ser classificadas em corte (*Scissoring*), oscilação (*Rocking*), balanço em fase (*Wagging*) e balanço fora de fase (*Twisting*). No entanto, para a torção as distâncias atômicas e os ângulo de ligação praticamente não se alteram e os átomos giram em torno de um eixo que passa pelo centro da molécula [69, 73].



**Figura 4:** Tipos de vibrações moleculares.  
**Fonte:** Adaptado de [69].

Assim, as vibrações simétricas podem ser relacionadas ao Raman ativo, uma vez que são descritas por um tensor simétrico de segunda ordem. Entretanto as vibrações assimétricas são associadas ao infravermelho ativo, devido ao deslocamento de cargas que formam polarizações temporárias, é válido afirmar que os modos infravermelho ativos são inativos no Raman, com algumas exceções. Logo, a Espectroscopia Raman é a técnica mais indicada para obter informações aprofundadas dos modos associados às vibrações de rede cristalina [74].

#### 3.1.4. Espectroscopia Raman

O efeito Raman consiste no espalhamento inelástico de uma radiação monocromática, geralmente compreendida na região da luz visível do espectro eletromagnético. Foi previsto teoricamente pelo físico Adolf Smekal (1923) e confirmado experimentalmente pelo físico indiano Chandrashekhara V. Raman (1928). A espectroscopia Raman começou a ser empregada para obtenção de informações relativas às ligações químicas e à simetria molecular. Somente em 1962 o físico brasileiro Sérgio Porto empregou a radiação monocromática (radiação *maser*) para o estudo das vibrações

moleculares, contudo em 1963 o laser contínuo de Hélio-Neônio (632,8 nm) foi utilizado como fonte de excitação na espectroscopia Raman [70, 71, 75,76].

O efeito Raman pode ser compreendido de duas maneiras: o tratamento clássico e o tratamento quântico. No tratamento clássico, se uma molécula é colocada sob influência de um campo elétrico, os prótons sofrerão uma força elétrica no mesmo sentido do campo e os elétrons sofrem uma força no sentido contrário ao campo. Deste modo a molécula será polarizada com o deslocamento dos elétrons. Ou seja, isto ocorre devido a deformação da nuvem eletrônica na presença de um campo elétrico externo, podendo ser observada na Equação 7.

$$\mu_{ind} = \alpha \mathbf{E} \quad (7)$$

Onde, o momento de dipolo elétrico induzido ( $\mu_{ind}$ ) é formado como consequência da ação do campo externo (E), em que ( $\alpha$ ) é a polarizabilidade da molécula. Considerando a perturbação induzida pelo campo externo com a frequência, a polarizabilidade pode ser expressa em série de Taylor em função do deslocamento vibracional Q (Equação 8) uma vez que determinadas vibrações e rotação moleculares fazem com que a polarizabilidade não seja constante. Considerando-se os dois primeiros termos.

$$\alpha = \alpha_0 + \frac{\partial \alpha}{\partial Q} Q \dots, \quad (8)$$

Uma vez que  $\alpha_0$  é a polarizabilidade na posição de equilíbrio e Q é a coordenada normal equivalente a  $r - r_0$  para moléculas diatômicas, na qual r representa o deslocamento produzido durante a vibração.

O deslocamento vibracional e o campo elétrico são funções periódicas do tempo. Levando em consideração a Equação 7 e 8, pode-se obter uma expressão geral para o momento de dipolo de acordo com a Equação 9.

$$\mu_{ind} = \alpha_e E_0 \cos(2\pi\nu_0 t) + \frac{1}{2} \left( \frac{d\alpha}{dq} \right) q_0 E_0 \{ \cos[2\pi(\nu + \nu_0)t] + \cos[2\pi(\nu - \nu_0)t] \} \quad (9)$$

No qual,  $Q_0$  é a amplitude do deslocamento,  $E_0$  é a amplitude do campo elétrico,  $\nu_0$  é a frequência da radiação incidente e  $\nu$  é a vibração do sistema (número de onda), os ângulos de fase presentes nas funções cosseno que possuem  $\nu_0$ ,  $\nu + \nu_0$ ,  $\nu - \nu_0$ , corresponde ao espalhamento Rayleing, Raman anti-Stokes e Raman Stokes, respectivamente. Vale

salientar que para ocorrer os espalhamentos Stokes e anti-Stokes a  $\frac{\partial \alpha}{\partial Q}$  deve ser diferente de zero, ou seja, vibrações moleculares serão ativas no Raman quando ocasionarem variação na polarizabilidade com o deslocamento da coordenada interna da molécula em torno da posição de equilíbrio [70,71,75].

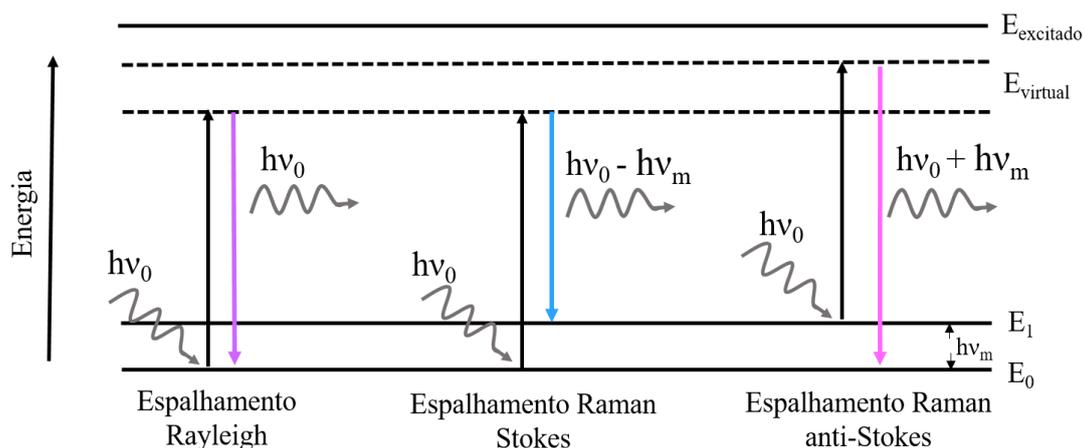
Já na interpretação do tratamento quântico, a radiação eletromagnética é constituída de pequenos pacotes de energia denominados fótons, por sua vez, o efeito Raman pode ser compreendido como a colisão inelástica entre os fótons de energias incidentes ( $h\nu_i$ ) em uma molécula, resultando em uma mudança de energia vibracional e rotacional da molécula por um valor  $\Delta E_m$  e em um fóton espalhado de energia ( $h\nu_e$ ). Esta relação entre as energias e frequências dos fótons incidentes e espalhados com relação à variação da energia e a frequência de vibração da molécula é mostrada nas Equações 10 e 11.

$$h\nu_i - h\nu_e = \Delta E_m = h\nu_m, \quad (10)$$

$$\nu_e = \nu_i - \nu_m \text{ se } \Delta\nu = +1 \quad (11)$$

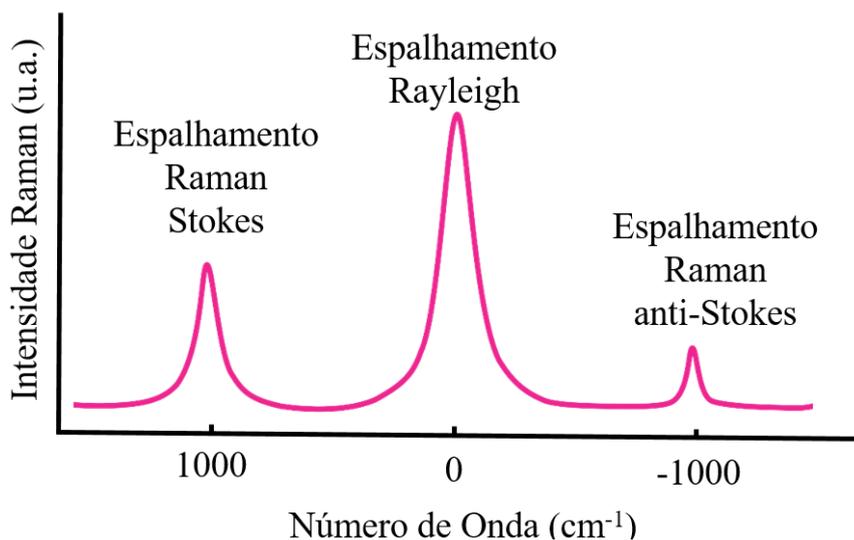
Onde,  $h$  corresponde a constante de Planck ( $6,63 \times 10^{-34}$  J.s.),  $\nu_i$ ,  $\nu_e$  e  $\nu_m$  são as frequências da radiação incidente, radiação espalhada e da vibração molecular, respectivamente. Quando a molécula sofre transição do seu estado fundamental até o estado virtual e retorna ao mesmo nível de energia inicial e o fóton é espalhado sem modificação na frequência, ou seja, se  $\nu_e = \nu_i$  **a variação da energia vibracional molecular é nula** ( $\Delta E_m = 0$ ), corresponde ao espalhamento Rayleigh [77].

Todavia, quando a molécula transitar do estado fundamental para o estado virtual e posteriormente decair para um estado vibracional “excitado” de energia logo acima do estado inicial, onde  $\nu_e < \nu_i$  sendo que parte da energia do fóton incidente é cedida para a molécula ( $\Delta E_m > 0$ ), configura-se o espalhamento Raman Stokes. No entanto quando a molécula já se encontra no estado “excitado” e após a transição decai para o estado fundamental logo abaixo do estado inicial, sendo que a diferença de energia resultante dessa transição é cedida ao fóton incidente, logo, o fóton é espalhado com energia maior  $\nu_e > \nu_i$ , ( $\Delta E_m < 0$ ), denomina-se Espalhamento Raman anti-Stokes. Os processos de espalhamento Raman, em nível de transição de energia vibracional, são demonstrados na Figura 5 [70,75,77].



**Figura 5:** Diagrama de transição de energia para o espalhamento Raman normal  
**Fonte:** Adaptado de [70].

Para o efeito Raman, a intensidade da radiação proveniente do espalhamento Rayleigh é maior que a oriunda do espalhamento Raman Stokes, que por sua vez é superior à intensidade da radiação proveniente do espalhamento Raman anti-Stokes, ou seja, à medida que os deslocamentos de frequência aumentam suas intensidades diminuem, como pode ser observado na Figura 6.



**Figura 6:** Relação entre as intensidades do espalhamento Rayleigh e Raman (Stokes e anti-stokes)  
**Fonte:** Adaptado de [71]

Logo, a distribuição de Boltzmann para a população dos estados excitados, explica esse comportamento. A relação entre duas intensidades anti-Stokes e Stokes é dada pela Equação 12.

$$\frac{I_a}{I_s} = \left( \frac{\nu_0 + \nu}{\nu_0 - \nu} \right)^4 e^{-\frac{E_v}{kT}} \quad (12)$$

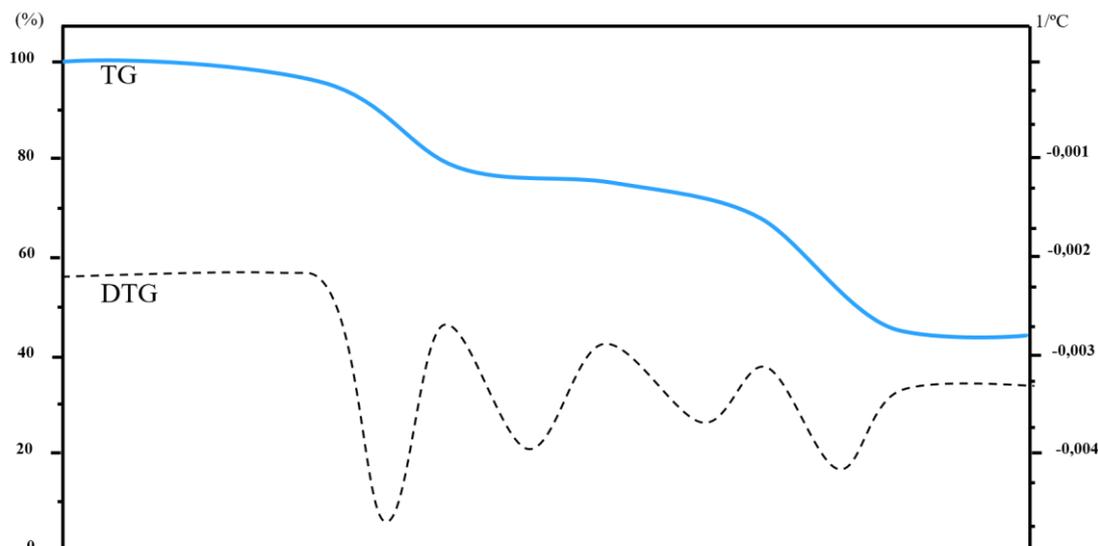
Em que  $E_v$  corresponde à energia de transição entre o estado final e inicial da molécula,  $k$  a constante de Boltzmann e  $T$  a temperatura absoluta, podendo ser observada que o efeito de temperatura ocorre de maneira, que as intensidades  $I_s$  diminuem com o aumento da temperatura, por sua vez, para baixas frequências as intensidades Stokes e anti-Stokes são comparáveis, porém para frequências vibracionais muito altas fica difícil observar as bandas anti-Stokes [70].

### 3.1.5. Termogravimetria (TG) e Análise Térmica Diferencial (DTA)

A termogravimetria (TG) é uma técnica termoanalítica que consiste no estudo da variação de massa de um determinado material em função da temperatura e/ou do tempo, podendo apresentar eventos químicos e/ou físicos característicos da substância analisada [78].

A escolha da programação de temperatura depende de quais informações se deseja obter, dessa forma, essa técnica pode ser utilizada de três maneiras distintas. A amostra pode ser aquecida a uma taxa de aquecimento constante, que consiste na medição dinâmica, assim como a medida isotérmica em que a amostra se mantém em uma temperatura fixa, variando o tempo, e também pode se utilizar programas de temperatura não linear [78-80].

Geralmente os resultados são apresentados em uma curva TG, uma vez que a porcentagem da massa é traçada em função da temperatura ou tempo. Na qual são extraídas informações sobre a estabilidade térmica, composição inicial da amostra e de compostos intermediários decorrentes da decomposição térmica e a caso exista, a composição do resíduo, como mostra a Figura 7 [78, 80].



**Figura 7:** Representação da curva TG/DTG  
**Fonte:** Adaptado de [80]

Para uma melhor compreensão e análise dos dados da curva TG, se utiliza sua primeira derivada ( $dm/dT$ ), a Termogravimetria Derivada (DTG), na qual confere uma maior precisão e clareza à taxa de variação de massa da amostra. As curvas DTG mostram com exatidão as temperaturas iniciais e o momento em que se alcança a velocidade de reação máxima, assim como os picos agudos possibilitam a distinção de uma sucessão de reações que são pouco evidenciadas na TG, a perda ou ganho de massa pode ser representada pela área dos picos, na qual possibilita sua utilização em determinações quantitativas [78].

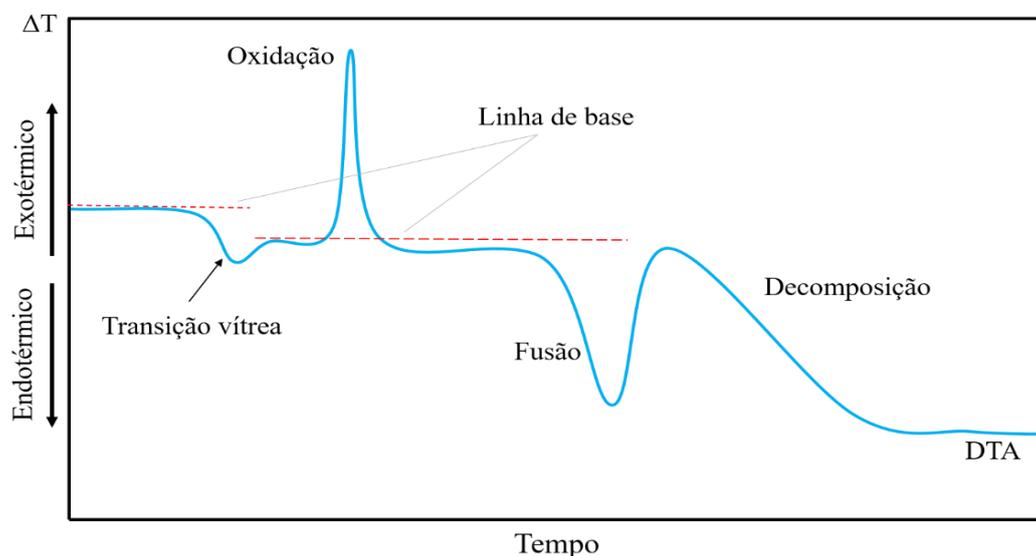
A TG pode ser aplicada para averiguar a estabilidade térmica de fármacos, corrosão de materiais em várias atmosferas, decomposição de materiais explosivos, decomposição térmica ou pirólise de materiais orgânicos, inorgânicos e biológicos, entre outras aplicações [79,81].

Com o intuito de obter uma maior resolução, precisão e informação na medida de determinadas temperaturas, os equipamentos de TG mais modernos disponíveis no mercado dispõem de medidas TG, fornecem dados de Análise Térmica Diferencial (DTA), simultaneamente, sendo uma grande vantagem possuir ambas as técnicas em um único equipamento [78, 80].

A técnica de Análise Térmica Diferencial (DTA), se baseia em uma medição contínua das temperaturas da amostra investigada ( $T_A$ ) e de um material de referência, ( $T_R$ ) termicamente inerte, à medida em que ambos vão sendo aquecidos ou resfriados em

um forno. As curvas de DTA, além de fornecer informações acerca da variação de peso da amostra, podem ser analisados eventos decorrentes de transições ou reações entálpicas de caráter endotérmico ou exotérmicos [78].

Na DTA as medidas de temperatura são diferenciais, sendo medido a diferença de temperatura entre a  $T_R$  e a  $T_A$ , ( $T_R - T_A = \Delta T$ ), em função da temperatura ou do tempo, realizadas em uma programação de temperatura, aquecimento ou resfriamento linear ( $dT/dt = Cte$ ). Os eventos captados podem ser referentes a alterações físicas e/ou químicos, como vaporização, fusão, absorção, oxidação, desidratação e decomposição. Os picos endotérmicos geram alterações como transição de fase e fusão, já os picos exotérmicos são relacionados a oxidação e cristalização [78,80, 82]. A Figura 8 apresenta alguns eventos relacionados à curva de DTA.



**Figura 8:** Representação da curva DTA

**Fonte:** Adaptada de [82].

A DTA é utilizada para a caracterização de polímeros, fármacos, determinação do ponto de fusão ou decomposição de compostos orgânicos, assim como possui aplicações na indústria de cerâmica e de metalurgia [83].

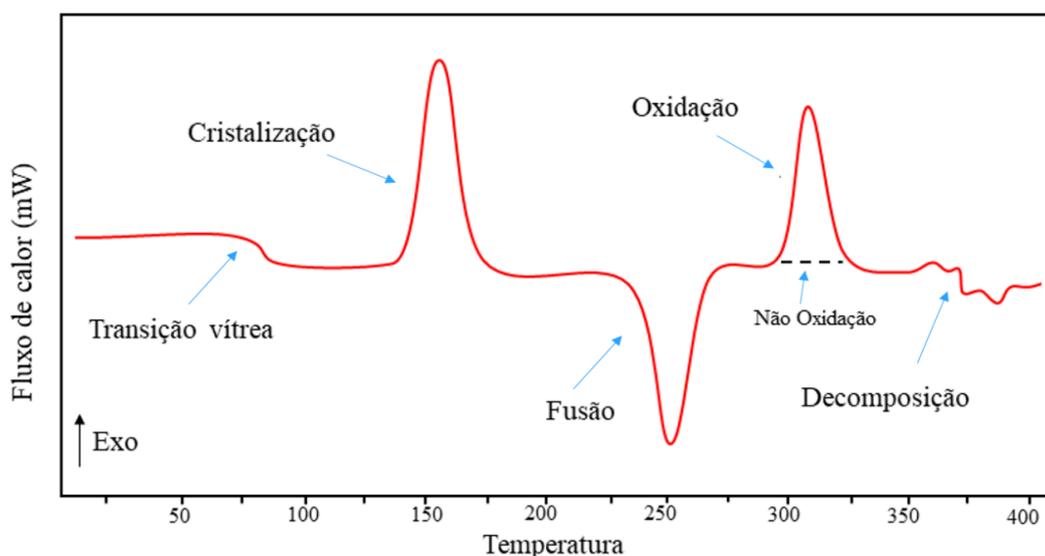
### 3.1.6. Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

A técnica de Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) consiste em medir as temperaturas e o fluxo de calor associados às transições do material em função da

temperatura e do tempo, a uma temperatura programada em uma atmosfera específica, sendo uma técnica de análise térmica derivada da DTA. Ou seja, é colocado em um forno um cadinho de metal, que contém a amostra a ser analisada, juntamente com outro cadinho de referência, geralmente vazio, assim a amostra e a referência são submetidas a um programa controlado de temperatura, sendo medido a diferença de energia fornecida entre a amostra e a referência [78,79,81].

A medida de DSC proporciona informações qualitativas e quantitativas que considera a variação de entalpia do sistema, decorrente das mudanças físico e químicas da amostra, através de processos endotérmicos (absorção de calor) e processos exotérmicos (liberação de calor) ou mudanças na capacidade calorífica [79].

Deste modo, na curva de DSC os eventos de cristalização, oxidação e algumas reações de decomposição são provenientes de efeitos exotérmicos, por outro lado, os eventos de mudanças de estrutura cristalina, desidratação e reações de decomposição são característicos de eventos endotérmicos, como podem ser observados na Figura 9.



**Figura 9:** Representação da curva DSC  
**Fonte:** Adaptada de [79]

A DSC também mostra informações envolvidas com a variação de entropia, como no caso de transições vítreas que aparecem em materiais amorfos e polímeros. Assim, esta técnica é empregada para estudos de pureza de fármacos, investigação de polimorfos, e propriedades térmicas de polímeros, materiais inorgânicos, sistemas biológicos, cerâmicos entre outros [80,82].

## 4. METODOLOGIA

Este capítulo apresenta uma breve descrição dos procedimentos experimentais utilizados para a obtenção dos cristais de azitromicina em sua fase monohidratada (AZM-MH-EtOH), complexada com cobre (II) [AZM-Cu(II)] e amorfa (AZM-TRIS-Cu(II)) assim como os equipamentos e parâmetros de análise usados em suas caracterizações.

Os procedimentos de síntese e métodos de caracterização dos materiais deste trabalho foram realizados na Unidade de Preparação e Caracterização de Materiais (UPCM) do Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Materiais (PPGCM) da Universidade Federal do Maranhão (UFMA) – *Campus Imperatriz II/Unidade Avançada* em parceria com o Programa de Pós-Graduação em Física (PPGF) da Universidade Federal do Pará (UFPA) – *Campus Belém*.

### 4.1. Materiais

As informações necessárias sobre os reagentes de grau analíticos utilizados neste trabalho são apresentadas na Tabela 2.

**Tabela 2:** Informações sobre os reagentes e solventes usados na obtenção dos materiais e fornecedores

Composto	Pureza (%)	Fornecedor	Massa molar (g/mol)
AZM-DH	> 97,0	Copemed	749,00
Etanol (P.A)	> 99,5	Sigma-aldrich	46,07
Cloreto de cobre (II) DH	≥ 99,0	Sigma-aldrich	170,48
Metanol (P.A)	≥ 99,8	Sigma-aldrich	32,04
Ácido clorídrico (P.A)	≥ 99,0	Sigma-aldrich	36,46
Hidróxido de Sódio (P.A)	≥ 98,0	Sigma-aldrich	39,99
Trometamina	≥ 99,0	Sigma-aldrich	121,14
Nitrato de cobre (II) trihidratado	≥ 99,0	Sigma-aldrich	241,80

### 4.2. Síntese dos cristais de azitromicina

#### 4.2.1. Obtenção do solvato de azitromicina monohidratada (AZM-MH-EtOH)

O cristal de AZM-MH-EtOH foi obtido usando a técnica de evaporação lenta do solvente (ELS). Inicialmente pesou-se 2,000 mg de AZM-DH, sendo solubilizada em 15 mL de EtOH, por aproximadamente 2 h, sob temperatura de 55 °C e agitação magnética constante de 240 rpm. Posteriormente, acrescentou-se 15 mL de água deionizada e verificou-se a formação de um precipitado branco, a partir do qual a temperatura da solução foi reduzida até atingir 25 °C com pH 6,5. Em seguida, o precipitado obtido foi filtrado e seco em estufa a 35 °C durante 2 h, para a completa evaporação do solvente no material. Após seco, o material foi colocado em um béquer onde foram acrescentados 10 mL de EtOH, depois da completa solubilização a solução foi vedada com filme plástico no qual foram feitos pequenos furos e, em seguida, deixada em uma estufa (marca *Ethiktechnology*) para evaporação lenta do solvente sob temperatura controlada à 35 °C. Em aproximadamente 15 dias, após a total evaporação do solvente, obteve-se um monocristal.

#### 4.2.2. Síntese do complexo de azitromicina com cobre (II) [AZM-Cu(II)]

Os cristais de AZM-Cu(II) também foram obtidos empregando o método de ELS. Para tanto, pesou-se uma massa de 50 mg de AZM-DH sendo dissolvida em 20 mL de água deionizada. Essa solução foi acidificada utilizando 2 mL de HCl, 0,1 M para a completa solubilização da AZM-DH. Em seguida, a solução foi deixada sob agitação magnética de 240 rpm à temperatura ambiente (25 °C) por aproximadamente 3 h. Posteriormente, adicionou-se 25 mg de  $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , logo a na proporção foi de 2:1, e o pH da solução foi ajustado até alcançar o valor 9,0 utilizando uma solução de NaOH 0,1 M. O precipitado obtido foi filtrado e seco em uma estufa (marca *Ethiktechnology*) à 35 °C por 2 h até a completa evaporação do solvente no material. Posteriormente, o precipitado foi solubilizado em 20 mL de MeOH em agitação magnética de 240 rpm a 25°C durante 3 h, em seguida, a solução foi vedada com filme plástico na qual foram feitos pequenos furos e colocada novamente na estufa sob temperatura controlada de 35 °C. Após 20 dias observou-se o aparecimento de pequenos cristais de coloração violeta.

#### 4.2.3. Síntese do amorfo de azitromicina com trometamina e cobre (II) [AZM-TRIS-Cu(II)]

Para obtenção do amorfo foi utilizado a técnica de evaporação lenta do solvente. Para tanto pesou-se 49,22 mg de AZM e 11,94 mg do coformador Trometamina (TRIS) e acrescentado 20 mL de MeOH, após complexa solubilização dos componentes foi adicionado à solução 23,83 mg de nitrato de cobre (II) trihidratado  $[\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}]$  de modo a obter uma mistura com aproximadamente 85 mg na razão molar (2:3:3). Em seguida a solução final de coloração azulada foi devidamente coberta com filme PVC, onde foram feitos pequenos furos e deixada em repouso em ambiente refrigerado a temperatura controlada e estabilizada de 6 °C durante 15 dias até a completa evaporação do solvente.

### 4.3. Caracterização dos cristais de azitromicina

#### 4.3.1. Difração de Raios X (DRX)

Os padrões de DRX foram obtidos no Laboratório de Difração de Raios X (LDRX) da UPCM. Com o intuito de confirmar a estrutura cristalina da AZM-MH-EtOH e da AZM-Cu(II), usou-se à técnica de difração de raios X em condições ambiente de temperatura e pressão, em que pulverizou-se os cristais em um almofariz de ágata e colocou-se em um porta amostra de vidro para a realização dos experimentos como desejado.

Para o estudo de DRX à temperatura ambiente foi utilizado um difratômetro da *PANalytical* modelo *Empyrean* como mostrado na Figura 10. O mesmo equipamento foi utilizado nos experimentos de altas temperaturas. Este difratômetro opera com radiação  $\text{CuK}_\alpha$  ( $\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$ ), energia 40 kV e uma corrente de 30 mA, com um monocromador de grafite pirolítico no feixe difratado, em condições de geometria Bragg-Bretano. Para inferir a temperatura, nós usamos uma câmera da Anton-Paar modelo TTK 450 em uma faixa de temperatura variando de 300 a 493 K. As medidas foram registradas no intervalo angular ( $2\theta$ ) variando de 5 à 45° com 2s aquisição e um passo de 0,02°.



**Figura 10:** Difratorômetro de raios X da marca *PANalytical* modelo *Empyrean*.

Após a obtenção dos padrões de difração da AZM-MH-EtOH nós aplicamos o refinamento de estruturas cristalinas empregando o método Rietveld, o qual faz uso de parâmetros de rede cristalina que podem ser encontrados na base de dados cristalográficos *Crystallography Open Database (COD)* e no banco de dados cristalográficos *Cambridge Crystallographic Data Centre (CCDC)*. Para o refinamento do padrão utilizou-se o software GSAS com interface EXPGUI [84]. Para descobrir a fase estrutural do complexo de azitromicina com cobre (II) foi realizada uma comparação entre o padrão teórico da ficha catalográfica que é encontrada no banco de dados CCDC e o difratograma obtido após a determinação estrutural do complexo de azitromicina com cobre.

#### 4.3.2. *Espectroscopia Raman*

As medidas de espectroscopia Raman em temperatura e pressão ambiente, altas temperaturas e baixas temperaturas foram obtidas no Laboratório de Espectroscopia Vibracional do Programa de Pós-Graduação em Física (PPGF) da Universidade Federal do Pará (UFPA) *campus* Belém.

##### 4.3.2.1. Espectroscopia Raman em temperatura e pressão ambiente

Os espectros Raman em temperatura e pressão ambiente (298 K e 1 atm) para o solvato de AZM-MH-EtOH foram obtidos utilizando um espectrômetro triplo, marca *Horiba Jobin Yvon* modelo *Triplemate 64000* (Figura 11), equipado com detector *CCD* (Dispositivo Sensível a Carga). Foi utilizado como fonte de excitação um laser de comprimento de onda  $\lambda = 514.5 \text{ nm}$  com potência de saída de 30 mW. A resolução espectral foi obtida com  $2 \text{ cm}^{-1}$  e cada espectro foi medido com 6 acumulações de 60 s cada uma delas. Além disso, para que o laser alcance a amostra, utilizou-se um microscópio *Olympus BH40* de lente objetiva com ampliação de 20x, distância focal de  $26,5 \text{ mm}$  e abertura numérica de 0,25.



**Figura 11:** Espectrômetro da *Horiba Jobin Yvon* modelo *T64000* usado para obter espectros Raman em diversas condições termodinâmicas

#### 4.3.3. Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR)

Os espectros de absorção no infravermelho foram obtidos por espectroscopia no infravermelho via transformada de Fourier (*FT-IR*, do inglês: *Fourier transform infrared*) e o experimento foi realizado no Laboratório de Espectroscopia Óptica e Fototérmica II (LEOF II) na UPCM. Os espectros dos cristais de AZM-MH-EtOH e AZM-Cu(II) foram medidos na região do infravermelho médio em um espectrômetro da marca Bruker e modelo *Vertex 70V* (Figura 12). Inicialmente a amostra foi pesada e pulverizada com Brometo de Potássio (KBr), em almofariz de ágata, pressionada em pastilhador com carga de 7 toneladas durante 30 s. A composição percentual da pastilha de 200 mg foi de 99%

de KBr e 1% da amostra. Foram realizadas 32 varreduras como média, em resolução espectral de  $4\text{ cm}^{-1}$  na região de número de onda compreendido de  $400$  à  $4000\text{ cm}^{-1}$ .



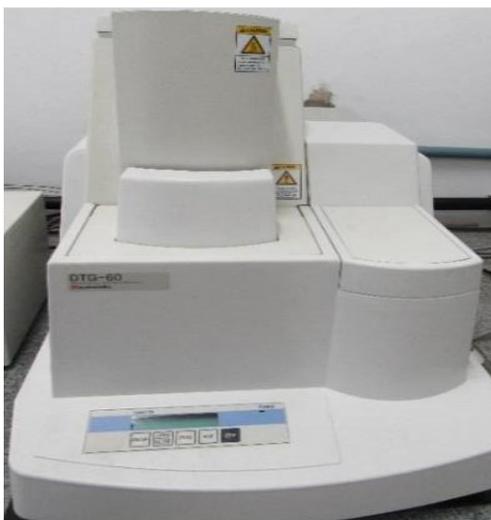
**Figura 12:** Espectrômetro da marca Bruker modelo Vertex 70V usado para medir espectros de absorção no região do infravermelho.

#### 4.3.4. Análises térmicas

##### 4.3.4.1. Termogravimetria e análise térmica diferencial simultâneas (TG-DTA)

As medidas de análise térmica foram obtidas no Laboratório de Análises Térmicas (LAT) na UPCM. Com o intuito de avaliar a estabilidade térmica dos cristais de AZM-MH-EtOH e AZM-Cu(II), foram realizadas obtenção das curvas de TG e DTA.

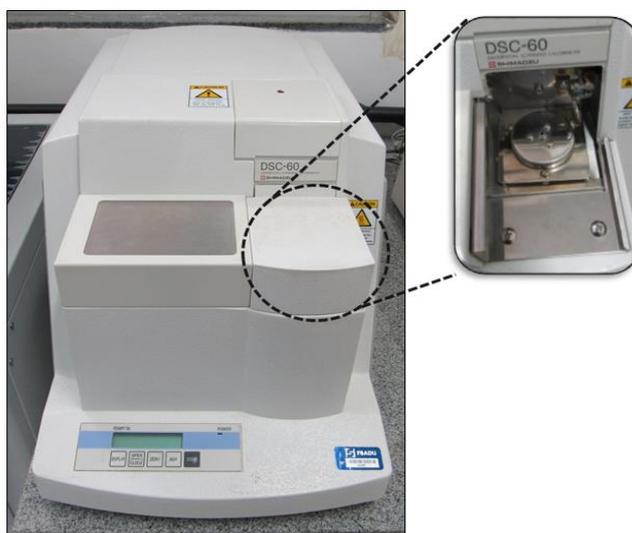
Na obtenção das medidas de TG e DTA as curvas são medidas simultaneamente com um equipamento da *Shimadzu Instruments*, modelo DTG-60, equipado com uma balança do tipo “*Top plan*” (Figura 13). Para tal objetivo, foram pesados cerca de  $3,11\text{ mg}$  do AZM-MH-EtOH e  $4,08\text{ mg}$  do complexo de AZM-Cu(II) em seguida colocados em um cadinho de  $\alpha$ -alumina. A temperatura das amostras foi variada num intervalo de temperatura de  $298$  à  $700\text{ K}$  com taxa de aquecimento de  $10\text{ K}\cdot\text{min}^{-1}$  sob atmosfera inerte de nitrogênio e uma com vazão de  $50\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ .



**Figura 13:** Analizador térmico (TG/DTA) marca *Shimadzu* modelo DTG-60.

#### 4.3.4.2. Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC *differential scanning calorimetry*)

A medida de *DSC* do solvato (AZM-MH-EtOH) foi realizada em um calorímetro da marca *Shimadzu Instruments* modelo *DSC-60* exibido na Figura 14. Para a análise, foi utilizada uma massa de aproximadamente 1,68 mg de AZM-MH-EtOH que foi inserida em um cadinho de alumínio e analisada na faixa de temperatura a partir de 25 à 220 K.min<sup>-1</sup> com taxa de aquecimento de 10 K.min<sup>-1</sup> sob atmosfera inerte de nitrogênio e com vazão de 50 mL.min<sup>-1</sup>. Como referência, foi utilizado um cadinho de alumínio vazio. O equipamento de *DSC* foi previamente calibrado para a temperatura e energia utilizando como padrão o ponto de fusão do índio metálico ( $T_{onset} = 156,4^{\circ}\text{C}$ ;  $\Delta H_{fus} = 28,5 \text{ J.g}^{-1}$ ) com pureza de 99,99%.



**Figura 14:** Calorímetro da marca *Shimadzu* modelo DSC-60, com detalhe do forno (à direita)

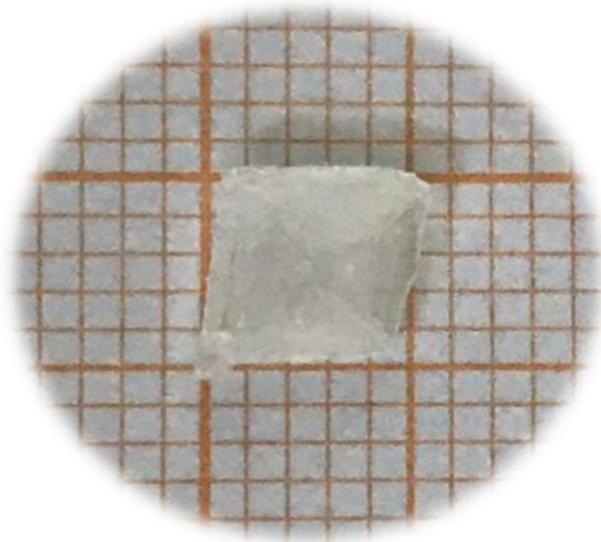
## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Este capítulo está dividido em tópicos que abrange os resultados dos crescimentos e a caracterização estrutural para os materiais derivados da Azitromicina em sua fase monohidratada, complexada e amorfa. Assim como uma completa caracterização vibracional e térmica para o solvato de azitromicina monohidratado.

### 5.1. Crescimento e caracterização por DRX dos cristais de azitromicina

#### 5.1.1. Obtenção do solvato de azitromicina monohidratado (AZM-MH-EtOH)

A técnica de evaporação lenta do solvente é muito utilizada para a síntese de novas formulações farmacêuticas. A partir desta técnica o cristal de AZM-MH-EtOH foi obtido, após um período de 15 dias com pH de 6,5. O cristal formado exibe coloração translúcida, apresentou dimensão média de 1,32 x 4,86 x 4,91 mm<sup>3</sup>, como pode ser observado na Figura 15 após o processo de recristalização.



**Figura 15:** Cristal de AZM-MH-EtOH.

5.1.1.1. Difração de Raio X (DRX) e refinamento pelo Método Rietveld para a AZM-MH-EtOH.

As propriedades físico-químicas de um medicamento podem ser alteradas pela influência do polimorfismo, resultando das diferentes condições de obtenção para um determinado material como ocorre com a AZM. Para confirmar a fase polimórfica obtida pelo processo de recristalização pelo método de evaporação lenta do solvente (ELS) foram analisados os difratogramas do Solvato refinados pelo método de Rietveld, onde se comparou o difratograma experimental (pontos), com o teórico (linha vermelha) e a diferença ( $I_{\text{exp}} - I_{\text{cal}}$ ) que existe entre as duas intensidades.

Após o refinamento pelo método de Rietveld, foi confirmada a fase para o AZM-MH-EtOH com os parâmetros de ajuste:  $R_{\text{wp}} = 5,75\%$ ,  $R_{\text{p}} = 4,37\%$  e  $S = 1,04$ , o refinamento apresentou valores abaixo de 10% o que indicando boa confiabilidade. O Solvato foi cristalizado em um sistema monoclinico com grupo espacial  $P2_1$ , contendo 4 moléculas por célula unitária ( $Z=4$ ) com parâmetros de rede de  $a = 16,388$  (7) Å,  $b = 16,324$  (9) Å,  $c = 18,406$  (1) Å,  $\alpha = \gamma = 90^\circ$  e  $\beta = 109,92^\circ$ , os dados obtidos assemelham-se com os valores encontrados por Montejo (2003), como pode ser observado na Figura 16.

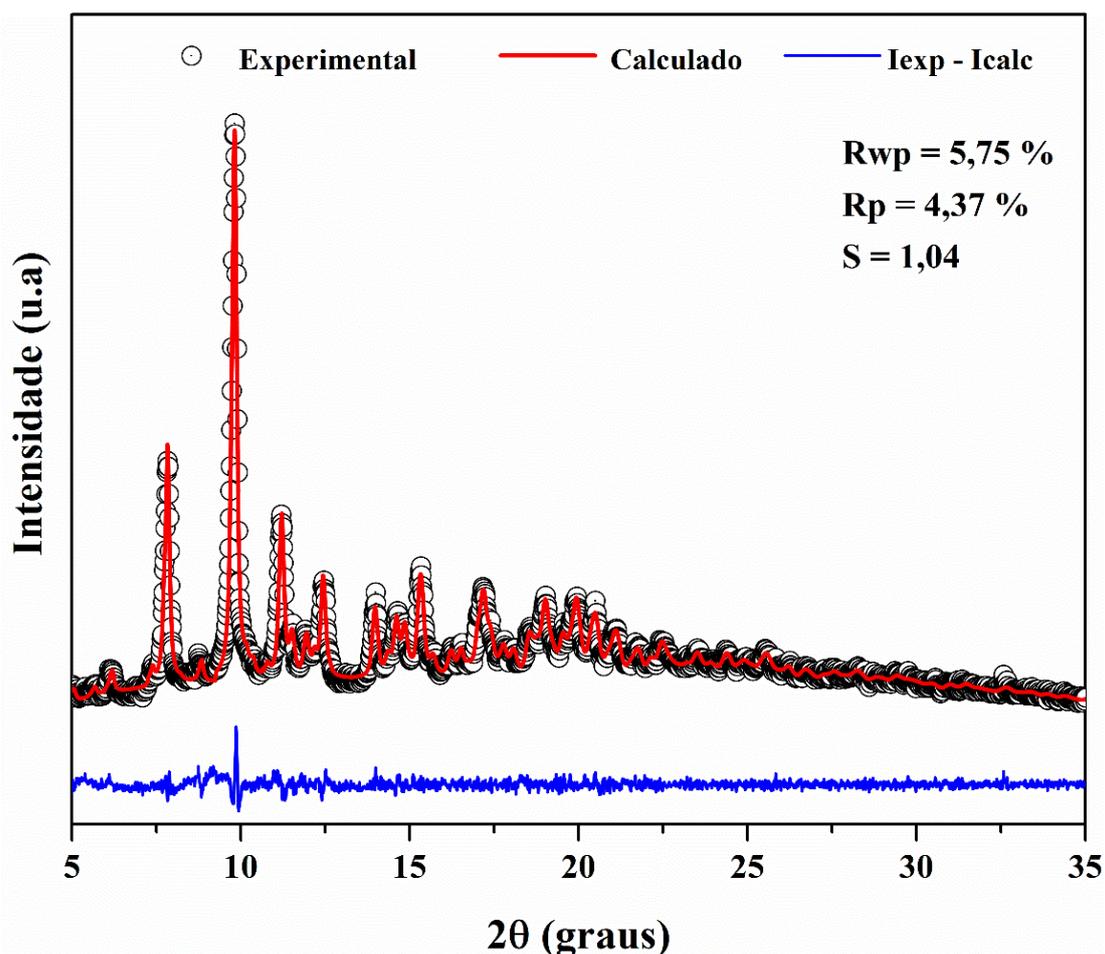


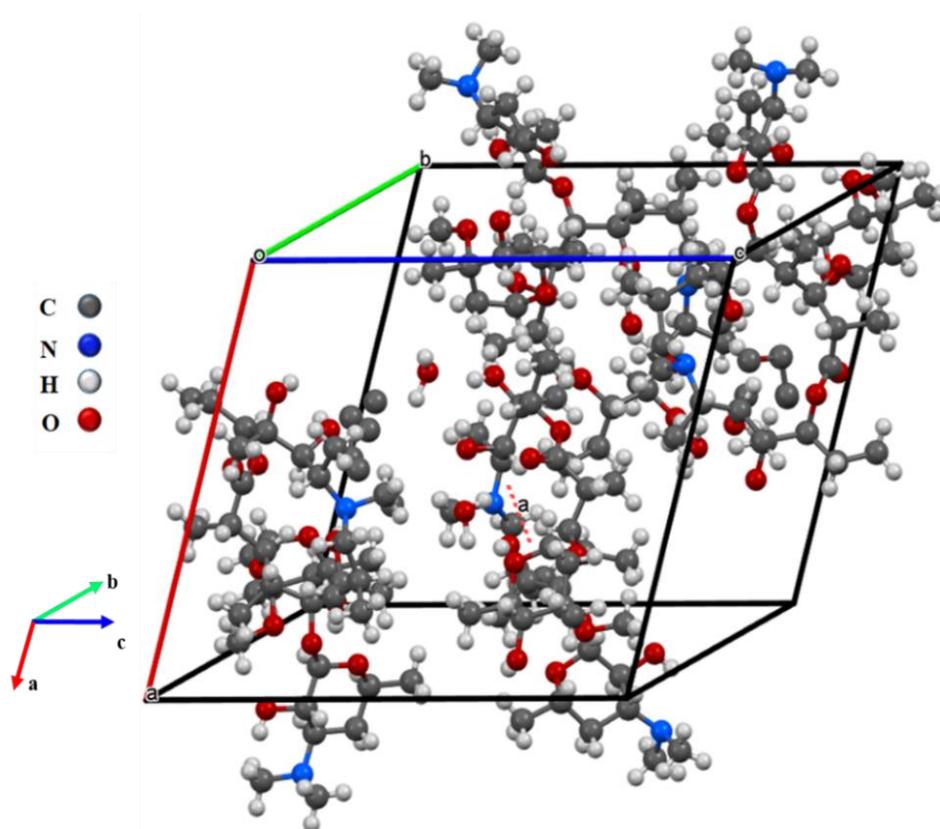
Figura 16: Difratograma do AZM-MH-EtOH refinados pelo método de Rietveld.

Na Tabela 3, os valores obtidos no presente trabalho e os valores reportados na literatura são comparados, podendo ser verificado uma aproximação entre os dados com uma diferença percentual de 6,61 %.

**Tabela 3:** Dados cristalográficos para o solvato de azitromicina com comparação com entre os dados experimentais e da literatura [16].

<b>AZM-MH-EtOH</b>			
<b>Dados Cristalográficos</b>	<b>Valores da Literatura [16]</b>	<b>Valores deste Trabalho</b>	<b>Diferença Percentual (%)</b>
<b>Sistema Cristalino</b>	Monoclínico (P2 <sub>1</sub> )	Monoclínico (P2 <sub>1</sub> )	-----
<b>Parâmetros de Rede</b>	$a = 16,158 (4) \text{ \AA}$	$a = 16,388 (7) \text{ \AA}$	1,42 %
	$b = 16,114 (5) \text{ \AA}$	$b = 16,324 (9) \text{ \AA}$	1,30 %
	$c = 18,311 (4) \text{ \AA}$	$c = 18,406 (1) \text{ \AA}$	0,51 %
<b>Ângulo</b>	$\alpha = 90^\circ$	$\alpha = 90^\circ$	0 %
	$\beta = 109,44^\circ$	$\beta = 109,92^\circ$	0,43 %
	$\gamma = 90^\circ$	$\gamma = 90^\circ$	0 %
<b>Volume</b>	$4495,9 \text{ \AA}^3$	$4628,5 \text{ \AA}^3$	2,95 %
<b>Número de moléculas por célula unitária</b>	$Z = 4$	$Z = 4$	-----

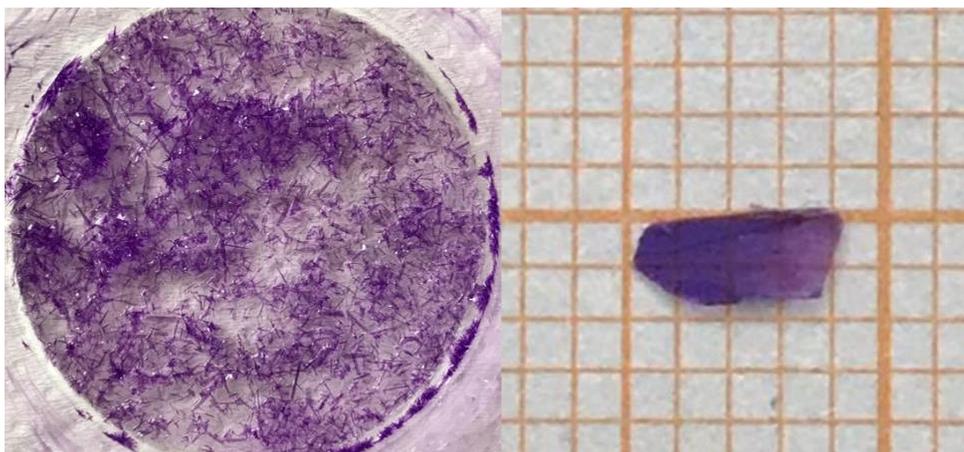
Em uma perspectiva ao longo do parâmetro b (Figura 17) a célula unitária do AZM-MH-EtOH na fase monoclínica, em temperatura ambiente. A molécula é formada por um total de 12 átomos de oxigênio (O), 38 átomos de carbono (C), 79 átomos de hidrogênio (H) e 2 átomos de nitrogênio (N), totalizando 124 átomos. Entretanto, o solvato de AZM,  $[\text{C}_{38}\text{H}_{72}\text{N}_2\text{O}_{12} \cdot 0,5(\text{C}_2\text{H}_6\text{O}) \cdot \text{H}_2\text{O}]$  em sua estrutura, apresenta uma molécula de H<sub>2</sub>O e o solvente etanol (C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>O), totalizando 520 átomos e 4 moléculas por célula unitária



**Figura 17:** Célula unitária do AZM-MH-EtOH.  
Fonte: Adaptado de [16].

### 5.1.2. Síntese do cristal de Azitromicina complexado com Cobre II [AZM-Cu(II)]

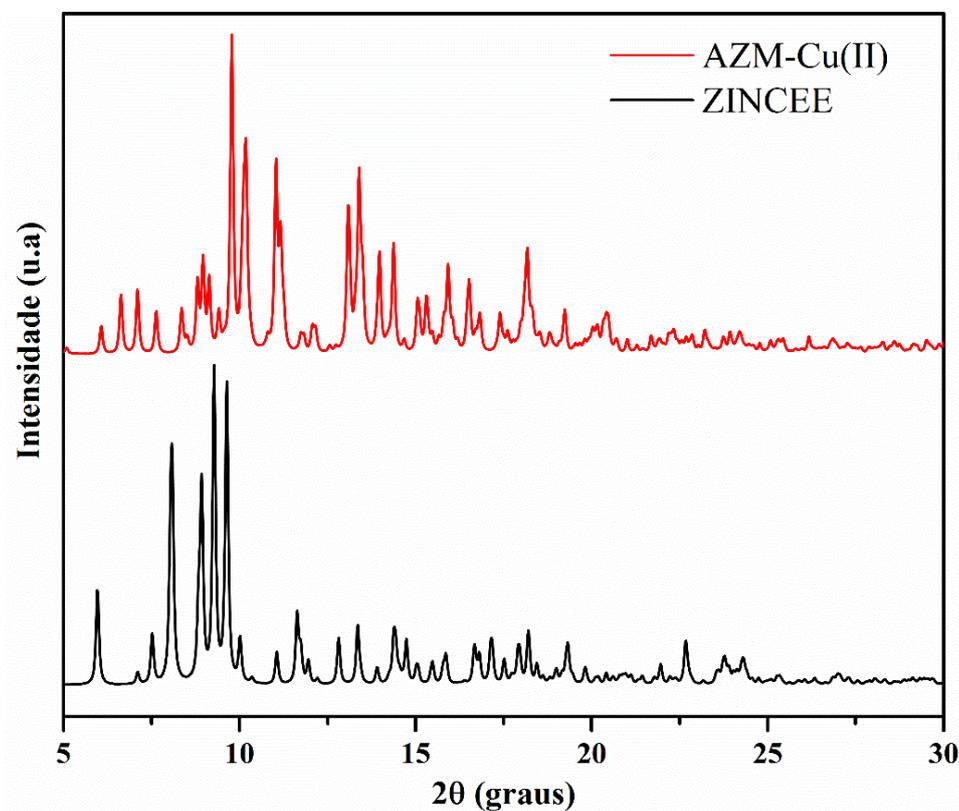
O cristal de AZM-Cu(II), foi obtido após 20 dias, mediante a técnica de evaporação lenta do solvente, em um pH 9,0. O cristal formado apresenta uma coloração violeta e aparência no formato de agulhas, com dimensões médias de aproximadamente  $0,82 \times 4,03 \times 1,78 \text{ mm}^3$ . Sugerindo a possível complexação da AZM aos íons de Cu (II), pois o cobre (II) apresenta orbitais  $t_{2g}$  completos, enquanto os orbitais  $e_g$  estão semipreenchidos, devido sua configuração eletrônica ser  $[\text{Ar}] 3d^9$  e apresentar elétrons desemparelhados ocorrendo transições do tipo d-d, como consequência, os compostos são paramagnéticos e coloridos como no caso do complexo AZM-Cu(II) [48], como pode ser observado na Figura 18.



**Figura 18:** Cristais de AZM-Cu(II).

### 5.1.3. Padrão de Difração de Raios X para a AZM-Cu(II)

O padrão de difração de raios X para o novo cristal de azitromicina complexado com cobre (II) em comparação com o padrão relatado na literatura é apresentado na Figura 19. Observa-se pela posição dos picos que trata-se de uma nova fase para a azitromicina complexada com o metal de transição Cobre (II) em vermelho.



**Figura 19:** Difrátogramas da AZM-Cu(II) e da célula unitária (ZINCEE) [54].

Os dados cristalográficos obtidos no presente trabalho e os valores reportados na literatura [54] são apresentados na Tabela 4, na qual observa-se que para os dados deste estudos e o relatado na literatura ambos os sistemas classificam-se em monoclinico  $P2_1$ , com diferentes valores nos parâmetros de redes, ângulos, onde um sistema apresenta 4 moléculas por célula unitária ( $Z=4$ ), diferente da relatada na literatura que apresenta 2 moléculas por célula unitária ( $Z=2$ ). Portanto, justificando o aumento no volume: 9599,87  $\text{\AA}^3$ . Comparando os valores deste trabalho com o relatado por Djokic e colaboradores em (1995) é possível confirmar a obtenção da nova fase cristalina para o complexo de azitromicina com cobre (II), sendo que estes dados são inéditos na literatura.

**Tabela 4:** Dados cristalográficos para uma nova fase do AZM-Cu(II) e comparação entre os dados experimentais com os da literatura

Dados Cristalográficos	Valores da Literatura [54]	Valores deste Trabalho
Sistema Cristalino	Monoclinico ( $P2_1$ )	Monoclinico ( $P2_1$ )
Parâmetros de Rede	$a = 19,143 (5)\text{\AA}$ $b = 23,491 (5) \text{\AA}$ $c = 12,486 (4) \text{\AA}$	$a = 10,384 (6)\text{\AA}$ $b = 26,626 (14) \text{\AA}$ $c = 34,736 (2) \text{\AA}$
Ângulo	$\alpha = 90^\circ$ $\beta = 95,71^\circ$ $\gamma = 90^\circ$	$\alpha = 90^\circ$ $\beta = 91,83^\circ$ $\gamma = 90^\circ$
Volume	5586,95 $\text{\AA}^3$	9599,87 $\text{\AA}^3$
Número de moléculas por célula unitária	$Z = 2$	$Z = 4$

#### 5.1.4. Obtenção do amorfo de AZM-TRIS-Cu(II).

O amorfo foi obtido pelo método de evaporação lenta do solvente, após 15 dias. A Figura 20 mostra o aspecto macroscópico da composição AZM-TRIS-Cu(II) na qual apresenta-se como um sólido de coloração azul com a presença de pequenos grânulos dispersos por tudo fundo do béquer ao qual a solução foi deixada evaporar.



**Figura 20:** Aspecto macroscópico do amorfo de AZM-TRIS-Cu(II)

#### 5.1.4.1. Difração de raios X para AZM-TRIS-Cu(II)

A Figura 21 exibe os padrões de Difrações de Raios X para a AZM não recristalizada o sistema amorfo AZM-TRIS-Cu(II) (3:2:2) e a TRIS não recristalizada. O perfil de difração obtido para a amostra de AZM-TRIS-Cu(II) apresentou ausência de picos cristalinos, o padrão mostra duas bandas de centro máximo localizadas por volta de  $10^\circ$  e  $20^\circ$  ( $2\theta$ ), respectivamente. Esse resultado aponta para a formação de um novo material obtido por meio da interação entre os compostos AZM, TRIS e  $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ .

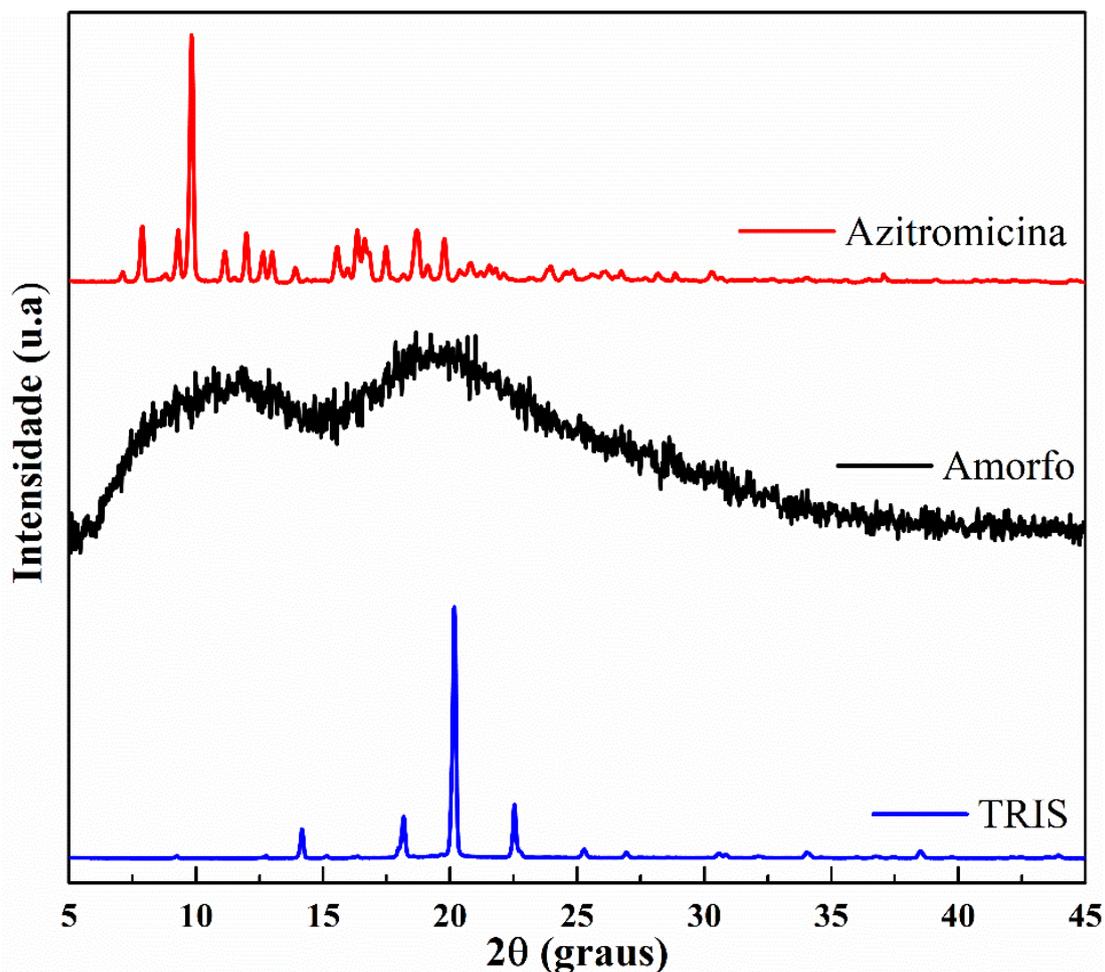


Figura 21: Difratogramas referentes aos compostos de partida recristalizados (AZM e TRIS) e o amorfo AZM-TRIS-Cu(II)

## 5.2. Caracterização vibracional da AZM-MH-EtOH em condições ambiente de temperatura e pressão

### 5.2.1. Teoria de grupos para AZM-MH-EtOH

O AZM-MH-EtOH  $[C_{38}H_{72}N_2O_{12} \cdot 0.5(C_2H_6O) H_2O]$  possui simetria monoclinica e pertencem ao grupo espacial  $P2_1 (C_2^2)$  com quatro moléculas por célula unitária, sendo cada unidade cristalina formada por um total de 520 átomos.

De acordo com a tabela (3A) da referência [85] mostra que todos os sítios de simetria  $C_1$  são ocupados por 2 átomos, logo, os 520 átomos contidos na célula unitária ocupam 260 sítios do tipo  $C_1(2)$ . De acordo com a tabela [3B] [85] observa-se que os dois átomos de cada sítio  $C_1$  contribuem com seis modos de vibração entre as representações irreduzíveis do grupo  $C_2$ , de acordo com a seguinte expressão  $C_1: \Gamma = 3A + 3B$ .

Considerando os 260 sítios  $C_1(2)$  a representação total ( $\Gamma$ ) dos modos de vibração decomposta em termos das representações irreduzíveis do grupo  $C_2$  é:

$$\Gamma = 260(3A + 3B) = 780A + 780B. \quad (13)$$

**Tabela 5:** Tabela de caracteres para o grupo fator  $C_2$  do cristal de simetria monoclinica [85]

$C_2$	E	$C_2$	Infravermelho	Raman
A	1	1	z, $R_z$	$x^2, y^2, z^2, xy$
B	1	-1	x, y, $R_x, R_y$	yz, xz

De acordo com a Tabela 5 percebe-se que os modos acústicos, translação da célula unitária das direções x, y e z, são distribuídos a seguir:

$$\Gamma_{\text{acústicos}} = A + 2B \quad (14)$$

Logo, subtraindo a expressão (13) de (14), tem-se a representação dos modos óticos de vibração:

$$\Gamma_{\text{óticos}} = 779A + 778B \quad (15)$$

Deste modo, observa-se na tabela de caracteres do grupo fator  $C_2$ , que são determinados pelas regras de seleção, que os modos são ativos tanto no infravermelho como no Raman, isso decorre do fato da estrutura do cristal não apresentar centro de inversão.

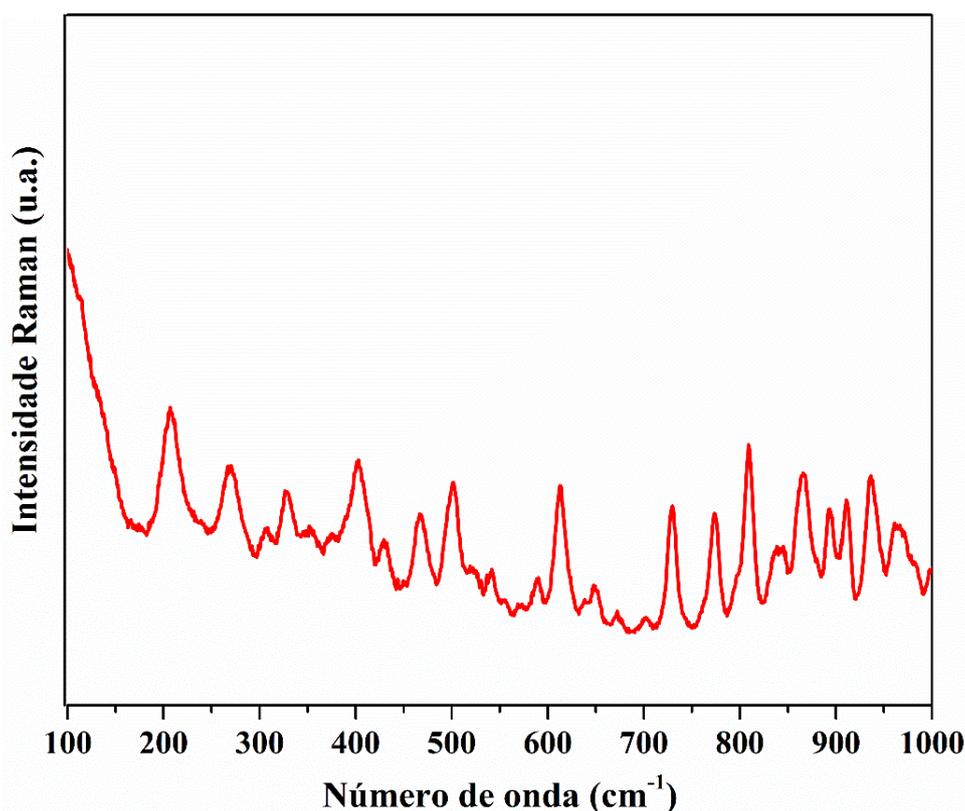
### 5.2.2. Espectroscopia Raman em Temperatura Ambiente

Os experimentos de espectroscopia Raman para o cristal de AZM-MH-EtOH foram realizados no intervalo de três regiões, a fim de analisar as possíveis bandas, são elas: 100 a 1000  $\text{cm}^{-1}$ , 1000 a 1800  $\text{cm}^{-1}$  e 2700 a 3200  $\text{cm}^{-1}$ . Os dados obtidos foram analisados por meio de comparações com os dados relatados na literatura referentes aos

materiais precursores ou semelhantes. Para uma melhor visualização os resultados são divididos por região. Vale salientar que para a fase AZM-MH-EtOH a caracterização vibracional via Raman não é reportada na literatura.

#### 5.2.2.1. Região espectral entre 100 e 1000 $\text{cm}^{-1}$

Modos de Raman ativo, em região de vibrações de baixo número de onda, podem ser associados a vibrações de rede, geralmente são atribuídos juntamente com torções e deformações da unidade assimétrica [86]. A AZM apresenta modos externos da rede na região espectral de 20 a 200  $\text{cm}^{-1}$ , já na região de 200 a 600  $\text{cm}^{-1}$  podem corresponder aos modos internos. Figura 22 apresenta o espectro Raman do cristal de AZM-MH-EtOH no intervalo de 100 a 1000  $\text{cm}^{-1}$  à temperatura ambiente, juntamente com as possíveis atribuições dos modos vibracionais.



**Figura 22:** Espectro Raman para o cristal de AZM-OH-EtOH a temperatura ambiente na região espectral de 100 a 1000  $\text{cm}^{-1}$

Os modos observados experimentalmente de intensidade média centrados em 207, 270, 308 e 328  $\text{cm}^{-1}$  podem ser relacionadas a torções dos grupos CCCH e CCOH,

uma combinação de deformações (NCC + CCC + CNC) e CCNC, respectivamente, sendo atribuído a estrutura dos anéis de lactona, cladinose e desosamina. Os modos na região de 966 a 810  $\text{cm}^{-1}$  são atribuídos ao átomo de oxigênio que participa indiretamente das ligações de hidrogênio responsáveis pelas ligações entre os anéis que compõem a estrutura da AZM-MH-EtOH. Entretanto, vale salientar que nos comprimentos de onda de 842 e 810  $\text{cm}^{-1}$  os modos são atribuídos ao estiramento das unidades C44C48 e C9C8 como é possível observar na Tabela 6, na qual encontra-se uma comparação entre os valores experimentais deste trabalho e os dados relatados na literatura [87] suas possíveis atribuições, assim como os valores numéricos dos PEDs (colchetes internos).

**Tabela 6:** Classificação das bandas do cristal de AZM-MH-EtOH da região espectral 100 à 1000  $\text{cm}^{-1}$

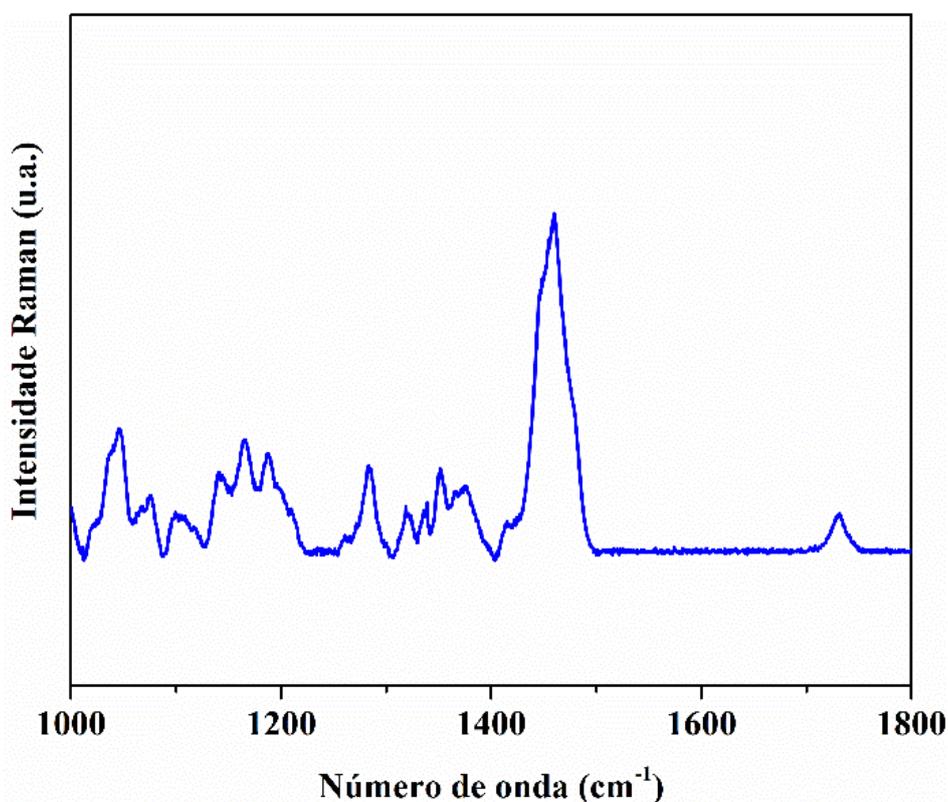
Número de onda ( $\text{cm}^{-1}$ )		Atribuições[87]
Experimental	Literatura[87]	
207	210	$\tau(\text{C28C29C30H90}) + \tau(\text{C28C25C26H84}) + \tau(\text{C43C44C45H111})$
270	271	$\tau(\text{C50C48O49H124}) + \tau(\text{C48C44C45H111})$
308	308	$\delta(\text{N19C18C16}) + \delta(\text{C16C15C12}) + \delta(\text{C37N35C34})$
328	329	$\delta(\text{C20N19C21})$ [20] + $\gamma(\text{C22C23N19C21})$ [10]
402	405	$\gamma(\text{C51C48O52C50})$ [10]
428	426	$(\text{C39O41C31}) + \tau(\text{C8C10C12O13})$
468	471	$\gamma(\text{C39C39O41C40}) + \delta(\text{C45C44C48})$ Breathing
501	504	$\delta(\text{C44C48C50}) + \delta(\text{C48C44C43})$ Breathing
589	590	$\delta(\text{C10C8C6})$
614	616	$\delta(\text{C38C39O41}) + \tau(\text{C25C23O24H123}) + \delta(\text{C32C31O11})$
730	736	$\gamma(\text{O3C4O1C2})$ [55]
773	773	$\nu(\text{N19C21})$ [18] + $\tau(\text{H63O13C12C10})$ [30]
810	814	$\nu(\text{C44C48})$ [12]
842	840	$\nu(\text{C9C8})$ [22]
866	870	$\tau(\text{H103C38C39C40})$ [10] + $\tau(\text{C38C39C40H105})$
893	893	$\nu(\text{C28O1})$
911	909	$\nu(\text{C21N19}) + \tau(\text{C21N19C18H74}) + \nu(\text{C25O27})$

938	939	$\nu(\text{O13C12})$ [15]
966	964	$\nu(\text{O7C6})$ [12]

Definição para os modos:  $\tau$  = torção (torsion);  $\nu$  = estiramento;  $\delta$  = dobramento (bending);  $\gamma$  = deformação angular fora do plano;  $\nu_{\text{as}}$  = estiramento assimétrico;  $\nu_{\text{s}}$  = estiramento simétrico.

### 5.2.2.2. Região de 1000 a 1800 $\text{cm}^{-1}$

Na região espectral de 1047  $\text{cm}^{-1}$  pode ser atribuída a uma combinação dos modos de estiramento do tipo CN e CC e deformação angular da ligação CCC. Além disso, bandas de média intensidade em 1186, 1165, 1140 e 1075  $\text{cm}^{-1}$  foram associadas a estiramentos, torções e deformações dos seguintes grupos OC, HCCC e HCC. Já em 1283  $\text{cm}^{-1}$  movimentos de deformação angular no plano e torção das ligações HCC e HCOC podem ser associadas as vibrações no anel de lactona e cladínose. Bandas entre 1320 a 1376  $\text{cm}^{-1}$  foram atribuídos a deformação angular das unidades HCC, HCO e HCH, assim como uma torção do grupo HCCN. Observou-se uma banda com alta intensidade aproximadamente na região de 1460  $\text{cm}^{-1}$  sendo modos de deformação angular no plano como é mostrado na Figura 23.



**Figura 23:** Espectro Raman para o cristal de AZM-OH-EtOH a temperatura ambiente na região espectral de 1000 a 1800  $\text{cm}^{-1}$ .

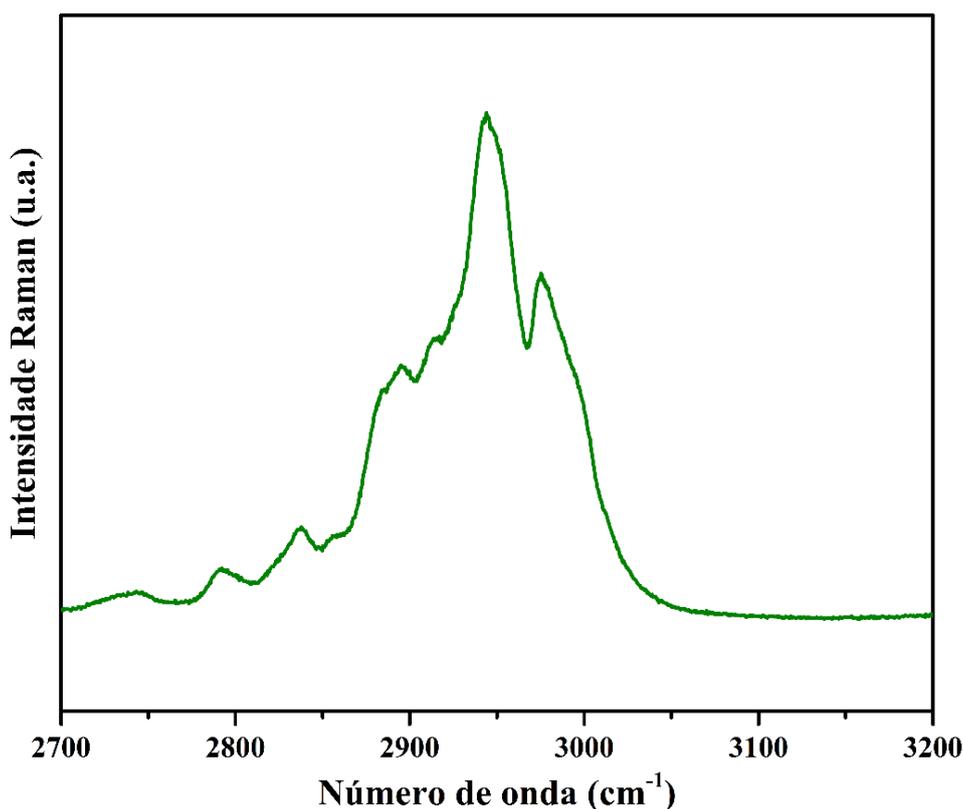
**Tabela 7:** Classificação das bandas do cristal de AZM-MH-EtOH da região espectral 1000 à 1800  $\text{cm}^{-1}$ 

Número de onda ( $\text{cm}^{-1}$ )		Atribuições [87]
Experimental	Literatura[87]	
1047	1047	$\nu(\text{C21N19}) + \nu(\text{C21C23}) + \delta(\text{C18C16C15})$
1075	1075	$\nu(\text{O11C31})$ [14]
1140	1142	$\tau(\text{H106C40C39C38})$ [11]
1165	1166	$\nu(\text{O1C2})$ [36] $\delta(\text{H53C4C2})$ [14]
1186	1186	$\tau(\text{H85C26C25C23})$ [10]
1284	1283	$\delta(\text{H109C43C44})$ [16] $\tau(\text{H62C10O11C31})$ [10]
1320	1325	$\delta(\text{H118C50C51})$ [27] $\delta(\text{H93C31O41})$ [12]
1351	1353	$\tau(\text{H69C16C18N19})$ [26]
1376	1376	$\delta(\text{H111C45H113})$ [24] + $\delta(\text{H112C45H111})$ [22] + $\delta(\text{H113C45H112})$ [18]
1460	1460	$\delta(\text{H105C40H107})$ [24] + $\delta(\text{H107C40H106})$ [30] + $\delta(\text{H121C51H120})$ [10] sci

Definição para os modos:  $\tau$  = torção (torsion);  $\nu$  = estiramento;  $\delta$  = dobramento (bending);  $\gamma$  = deformação angular fora do plano;  $\nu_{as}$  = estiramento assimétrico;  $\nu_s$  = estiramento simétrico.

### 5.2.2.3. Região de 2700 a 3200 $\text{cm}^{-1}$

A Figura 24 a região de 2700 a 3000  $\text{cm}^{-1}$  podem ser atribuídas às vibrações de estiramento assimétrico e simétrico de CH, CH<sub>2</sub> e CH<sub>3</sub>. Bandas de intensidade média localizada a cerca de 2895 e 2976  $\text{cm}^{-1}$  foram atribuídas a um estiramento simétrico de C<sub>26</sub>H<sub>3</sub> e um estiramento de C<sub>9</sub>H<sub>60</sub>, respectivamente, ainda é possível observar uma banca de forte intensidade em 2944  $\text{cm}^{-1}$  sendo atribuída a uma combinação de estiramento nas respectivas ligações C<sub>40</sub>H<sub>105</sub>, C<sub>50</sub>H<sub>118</sub> e C<sub>51</sub>H<sub>120</sub>.



**Figura 24:** Espectro Raman para o cristal de AZM-OH-EtOH a temperatura ambiente na região espectral de 2700 a 3200  $\text{cm}^{-1}$

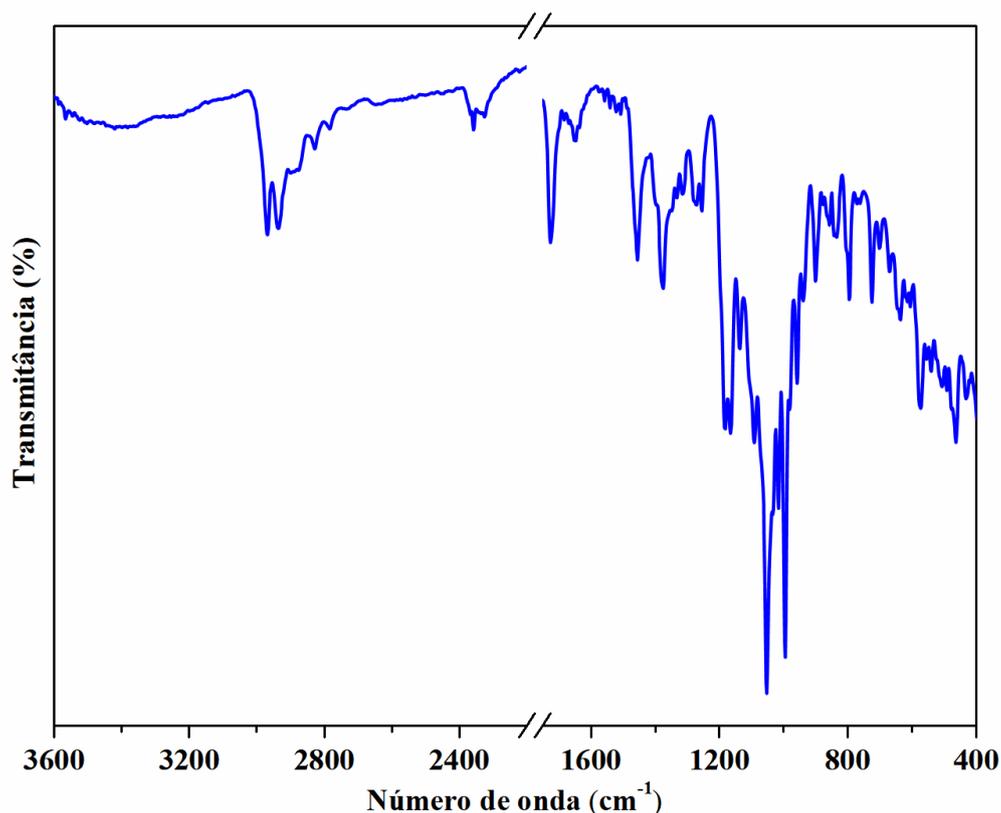
**Tabela 8:** Classificação das bandas do cristal de AZM-MH-EtOH da região espectral 2700 à 3200  $\text{cm}^{-1}$

Número de onda ( $\text{cm}^{-1}$ )		Atribuições [87]
Experimental	Literatura [87]	
2837	2838	$\nu(\text{C39H104})$ [93]
2895	2889	$\nu_s(\text{C26H}_3)$ [84]
2944	2944	$\nu(\text{C40H105})$ [26] + $\nu(\text{C50H118})$ [26] + $\nu(\text{C51H120})$ [20]
2976	2976	$\nu(\text{C9H60})$ [86]

Definição para os modos:  $\tau$  = torção (torsion);  $\nu$  = estiramento;  $\delta$  = dobramento (bending);  $\gamma$  = deformação angular fora do plano;  $\nu_{as}$  = estiramento assimétrico;  $\nu_s$  = estiramento simétrico.

### 5.2.3. Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FT-IR)

Para identificar a presença de grupos funcionais no composto sintetizado foi realizado uma análise de FT-IR. A Figura 25 mostra o espectro de FT-IR para o AZM-MH-EtOH que compreende duas regiões na faixa de 3600 a 1400  $\text{cm}^{-1}$ , que encontra a maior parte dos grupos funcionais, denominado de grupos funcionais e a segunda região de 1400 a 600  $\text{cm}^{-1}$ , denominada de região de “impressão digital” que é característica de cada material.



**Figura 25:** FT-IR do solvato de azitromicina monohidratado.

Na literatura são relatadas as regiões características da azitromicina, observa-se que entre  $3652$  a  $3300\text{ cm}^{-1}$  que pode ser atribuída as vibrações dos grupos hidroxila O-H e N-H que sofrem deformações axiais e um conjunto de bandas mais fortes na entre  $3000$  e  $2800\text{ cm}^{-1}$  pode ser atribuído como estiramento simétrico e assimétrico dos grupos ( $\text{CH}_3$ ,  $\text{CH}_2$ ,  $\text{CH}$ ). O intervalo entre a região  $1750$  e  $1652\text{ cm}^{-1}$  podem ser associados aos grupos lactona e carbonila cetônica, respectivamente, sendo que o pico de média intensidade em  $1726\text{ cm}^{-1}$  pode ser atribuído ao estiramento da carbolina ( $\text{C}=\text{O}$ ). Por meio das ligações de hidrogênio este grupo pode participar de interações intermoleculares, possibilitando o estudo da estabilidade termodinâmica de sistemas moleculares em condições não ambientes [87].

As bandas de absorção entre  $1453$  a  $1374\text{ cm}^{-1}$  podem ser atribuídos a torção de  $\text{HCOC}$ , em  $1182$  e  $1164\text{ cm}^{-1}$  é associada ao estiramento da unidade  $\text{HCC}$ . Na região de  $1136$  a  $796\text{ cm}^{-1}$  são atribuídas as vibrações que pertencem aos átomos de oxigênio que contribuem para a formação das ligações de hidrogênio. Em  $725$  a  $573$  são atribuídos a torções do grupo  $\text{HOCC}$  do anel de lactona [87,88]. A Tabela 9 apresenta o intervalo de

região experimental em comparação com a literatura e suas possíveis atribuições, com os valores do PED no mínimo de 9% para todos os valores de número de onda.

**Tabela 9:** Classificação das bandas da região espectral 4000 – 400  $\text{cm}^{-1}$ .

Número de onda ( $\text{cm}^{-1}$ )		Atribuições [87,88]
Experimental	Literatura[87,88]	
-	3560	$\nu(\text{O49H124})$ [100]
-	3490	$\nu(\text{O33H122})$ [100]
-	3420	$\nu(\text{O27H83})$ [96]
-	3100	$\nu(\text{O13H63})$ [99]
2968	2971	$\nu(\text{C14H65})$ [81]
2935	2934	$\nu_{\text{as}}(\text{C30H}_3)$ [78] + $\nu(\text{C28H87})$ [17]
2828	2829	$\nu(\text{C32H94})$ [80]
2784	2783	$\nu(\text{C18H73})$ [95]
1726	1720	$\nu(\text{O3C2})$ [87]
1456	1452	$\delta(\text{H86C26H85})$ [14] + $\delta(\text{H89C29H88})$ [55]
1374	1377	$\delta(\text{H56C5H55})$ [10] wag
1315	1317	$\delta(\text{H53C4C2})$ [14] + $\delta(\text{H87C28O1})$ [14] + $\tau(\text{H53C4C2O1})$ [23]
1276	1283	$\delta(\text{H83O27C25})$ [14] + $\delta(\text{H88C29C30})$ [19] + $\tau(\text{H87C28O1C2})$ [35]
1254	1250	$\delta(\text{H67C15C16})$ [12] + $\tau(\text{H68C15C16C17})$ [12] + $\tau(\text{H69C16C18N19})$ [12]
1183	1188	$\delta(\text{H95C34C38})$ [10] + $\delta(\text{H102C38C39})$ [19]
1165	1166	$\nu(\text{O1C2})$ [36] + $\delta(\text{H53C4C2})$ [14]
1091	1096	$\delta(\text{N35C36H98})$ + $\tau(\text{C34N35C36H97})$
1053	1049	$\nu(\text{O49C48})$ [10] + $\nu(\text{O52C50})$ [12] + $\tau(\text{H121C51C50C48})$ [10]
1016	1018	$\nu(\text{C30C29})$ [27]
995	992	$\nu(\text{O7C42})$ [18] + $\nu(\text{O11C10})$ [10]
980	978	$\nu(\text{O11C10})$ [14]
957	956	$\nu(\text{O7C6})$ [12]
940	943	$\nu(\text{C30C29})$ [27]
901	903	$\nu(\text{C21N19})$ + $\tau(\text{C21N19C18H74})$ + $\nu(\text{C25O27})$
878	880	$\tau(\text{H103C38C39C40})$ [10] + $\tau(\text{C38C39C40H105})$
859	848	$\tau(\text{H102C38C39C40})$ [17]
838	834	$\delta(\text{C43C42O52})$
796	796	$\tau(\text{C15C12O13H63})$

772	776	$\nu(\text{N19C21})$ [18] + $\tau(\text{H63O13C12C10})$ [30]
762	-	-
725	722	$\nu(\text{O46C44})$ [30] + $\nu(\text{C45C44})$ [10]
701	697	$\tau(\text{C25C23O24H123})$ + $\delta(\text{C26C25C28})$
671	674	$\delta(\text{O3C2O1})$ [19]
637	639	$\tau(\text{H83O27C25C23})$ + $\tau(\text{H123O24C23C21})$
614	611	$\delta(\text{C38C39O41})$ + $\tau(\text{C25C23O24H123})$ + $\delta(\text{C32C31O11})$
606	601	$\delta(\text{O52C42O7})$ [20] + $\delta(\text{C50O52C42})$ [10]
572	571	$\tau(\text{C25C23O24H123})$ + $\gamma(\text{N19C18C21C20})$
541	540	$\tau(\text{H123O24C23C21})$ [34] + $\tau(\text{H83O27C25C23})$ [49]
507	506	$\delta(\text{C44C48C50})$ + $\delta(\text{C48C44C43})$ Breathing
492	494	$\delta(\text{O13C12C14})$ [10]
463	460	$\gamma(\text{C39C39O41C40})$ + $\delta(\text{C45C44C48})$ Breathing
431	-	-

Definição para os modos:  $\tau$  = torção (torsion);  $\nu$  = estiramento;  $\delta$  = dobramento (bending);  $\gamma$  = deformação angular fora do plano;  $\nu_{\text{as}}$  = estiramento assimétrico;  $\nu_{\text{s}}$  = estiramento simétrico.

### 5.3. Estudo de estabilidade para AZM-MH-EtOH

#### 5.3.1. Análise Térmica

5.3.1.1. Termogravimetria, Termogravimetria Derivada e Análise Térmica Diferencial simultâneas (TG/DTG-DTA) para AZM-MH-EtOH.

Para a realização da caracterização térmica da amostra de AZM-MH-EtOH utilizou-se a técnica de Termogravimetria, Termogravimetria Derivada e Análise Térmica Diferencial Simultânea (TG/DTG-DTA). Inicialmente foi utilizada uma massa de 3,115 mg do cristal em pó, com faixa de temperatura entre 298 a 973 K, como disposto na Figura 26.

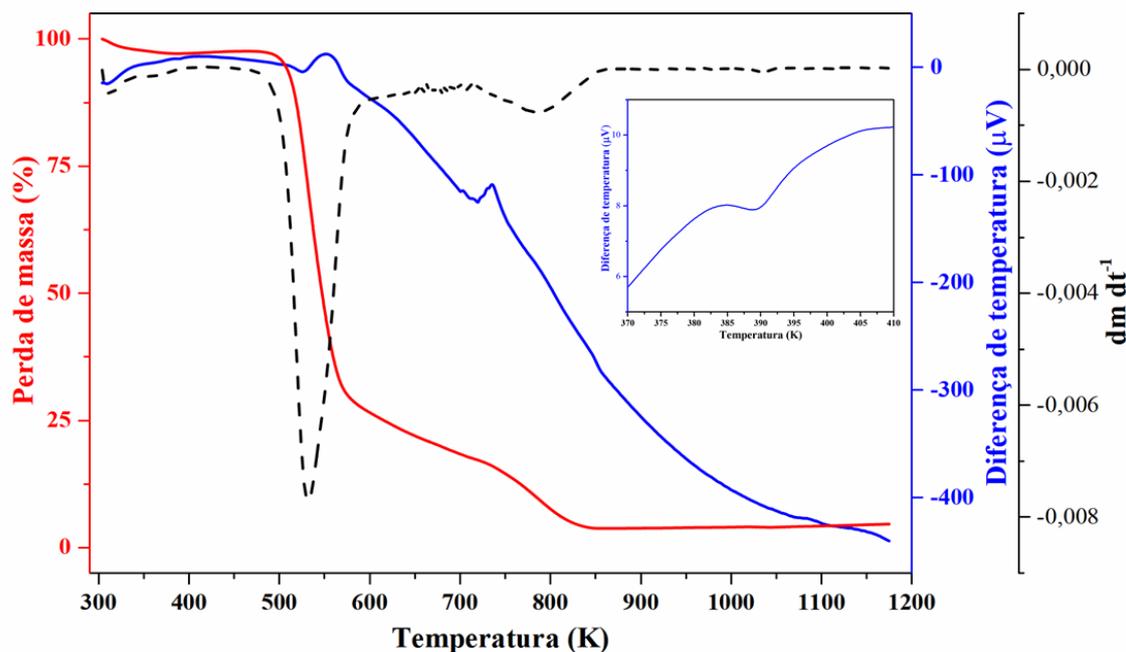


Figura 26: Curvas TG/DTG-DTA da AZM-MH-EtOH

Conforme os dados na curva DTA constatou-se três eventos térmicos, o primeiro na região I, evento que ocorrendo entre as temperaturas 304 a 339 K, caracterizado por um pico endotérmico, que pode ser atribuído a um evento de desidratação, com a perda da molécula de água ( $H_2O$ ) presente na estrutura do material sendo atribuída a fase anidra. A partir dos cálculos obtidos com base na curva TG realizado no intervalo de ocorrência deste evento, foi possível determinar uma perda de massa de 2,022 % (0,069 mg). Foi também observado na curva DTA um evento endotérmico com o  $T_{onset}$  em 383 K e  $T_{endset}$  em 395 K neste intervalo de temperatura não constatou perda de massa, estando atribuindo uma possível amorfização do material.

O segundo evento registrado na curva DTA para AZM-MH-EtOH, ocorreu  $T_{onset} = 487$  K, como mostra a região II, tal evento corresponde a decomposição do material. Desta forma, a curva TG apresentou uma expressiva perda de massa de aproximadamente 70,305 % da massa utilizada para análise. O terceiro evento que compreende a região III mostra a decomposição de compostos intermediários, ocorrendo a temperaturas superiores com o  $T_{onset} = 715$  K, e uma perda de massa de 13,644% do material.

### 5.3.1.2. Caracterização por Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

A curva DSC obtida para o AZM-MH-EtOH é apresentada pela Figura 27, foram registrados dois eventos térmicos ocorrendo em  $T_{\text{onset}} = 324 \text{ K}$  e  $T_{\text{onset}} = 386 \text{ K}$  tais eventos estão de acordo com os analisados na curva DTA, logo, o primeiro evento corresponde a desidratação e o segundo evento térmico corresponde a amorfização do material, observada pela mudança da linha de base da curva DSC.

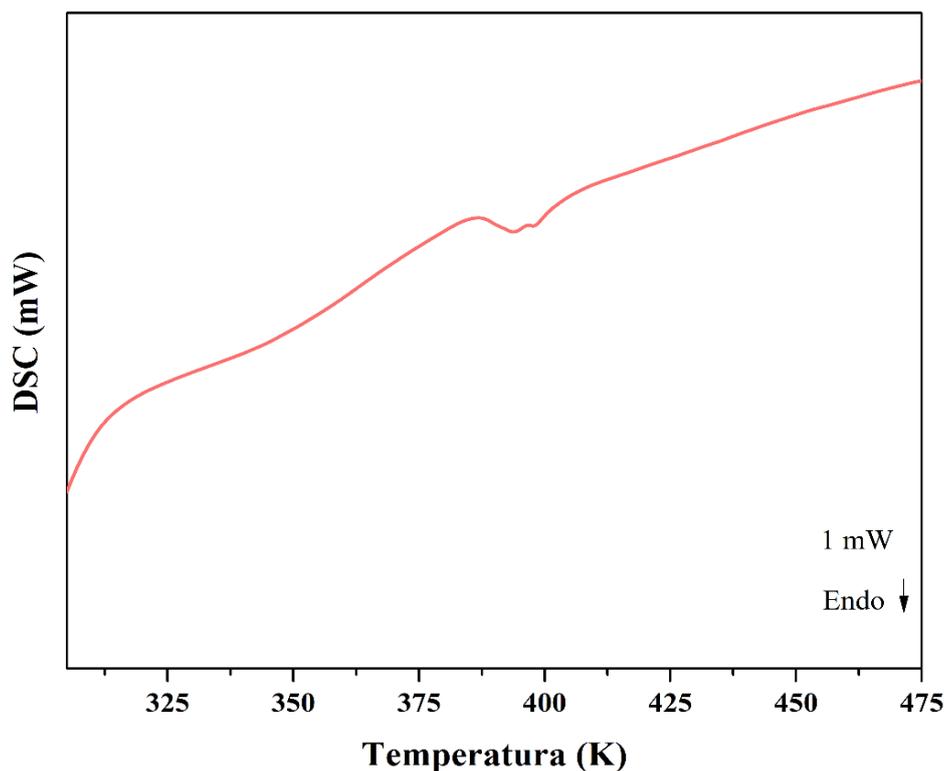
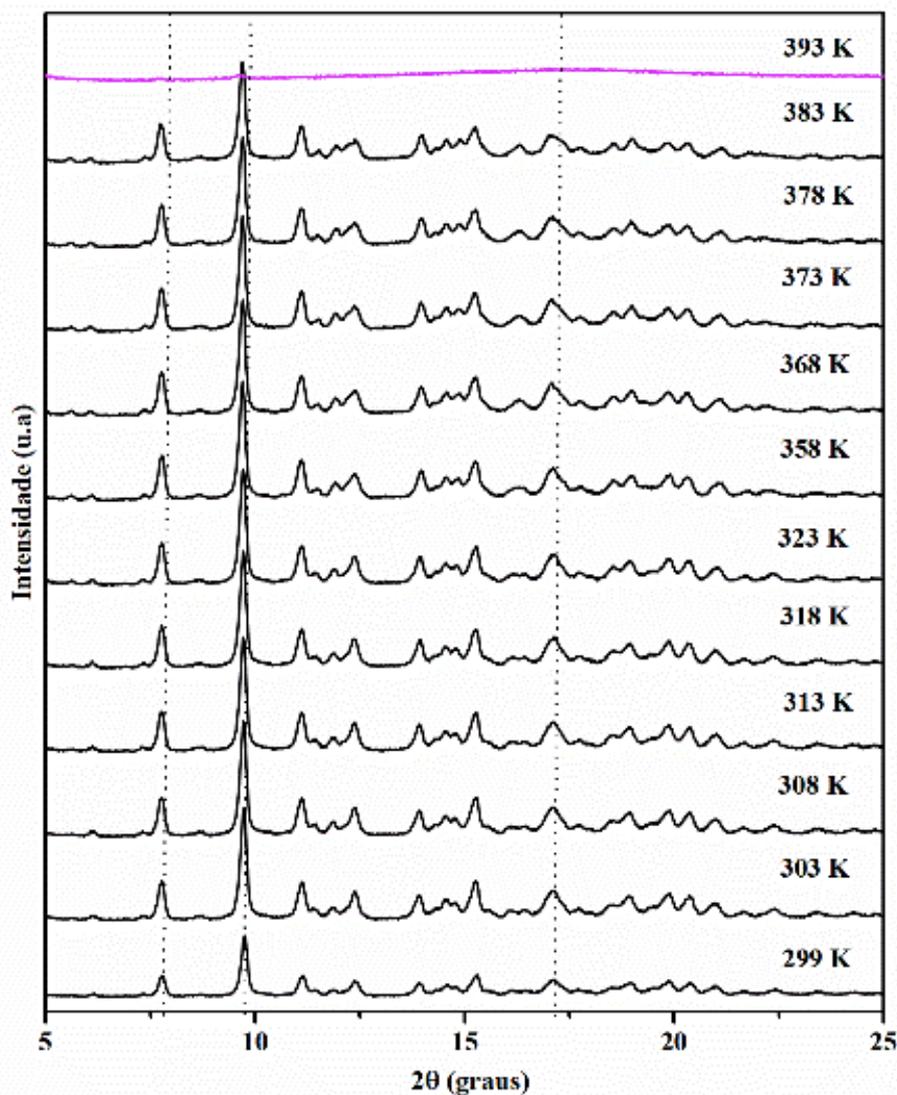


Figura 27: Curva de DSC para o AZM-MH-EtOH

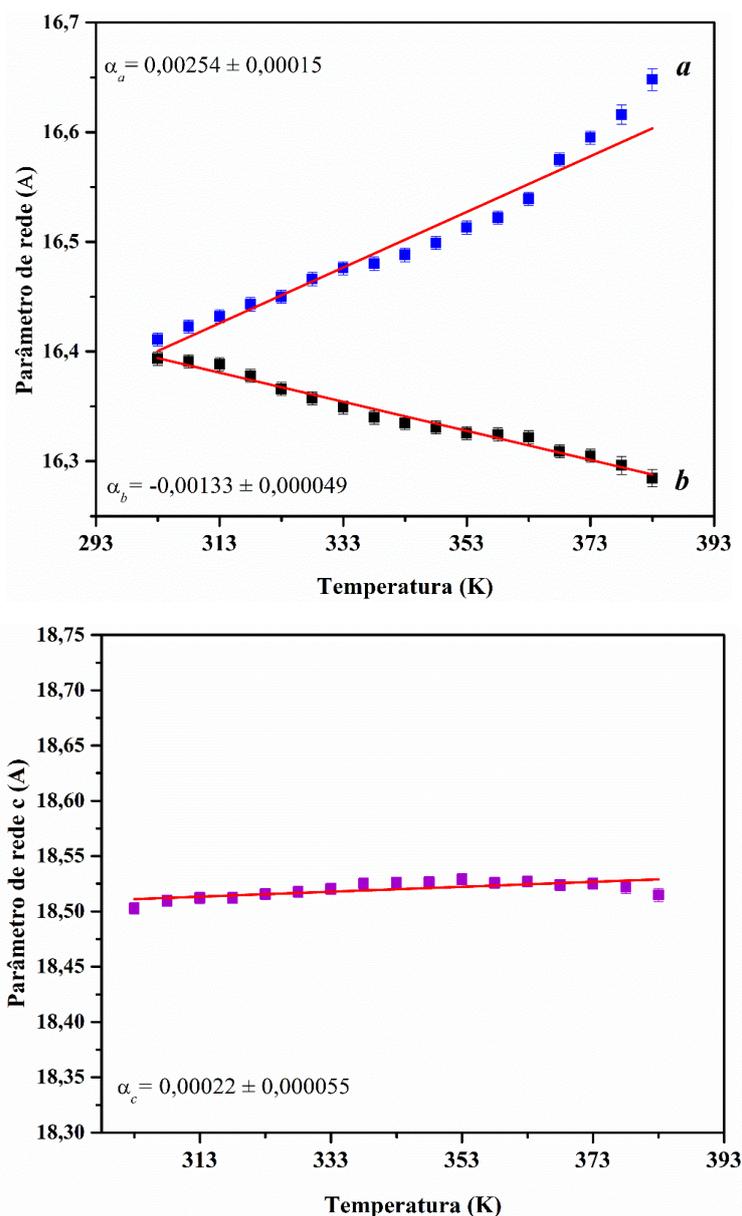
### 5.3.2. Difração de Raios X em Função da Temperatura

A Figura 28 mostra o padrão de difração de raios X em função da temperatura no intervalo angular  $2\theta = 5 - 25^\circ$  compreendendo a faixa de temperatura (299 a 393 K). Verifica-se que com o aumento da temperatura do cristal não houve mudanças no perfil dos difratogramas, existindo apenas um pequeno deslocamento observado em alguns picos. Na temperatura de 383 K ocorre o alargamento dos picos fato que sugere a total amorfização do material na temperatura de 393 K, como também foi observado nas técnicas de DTA e DSC.



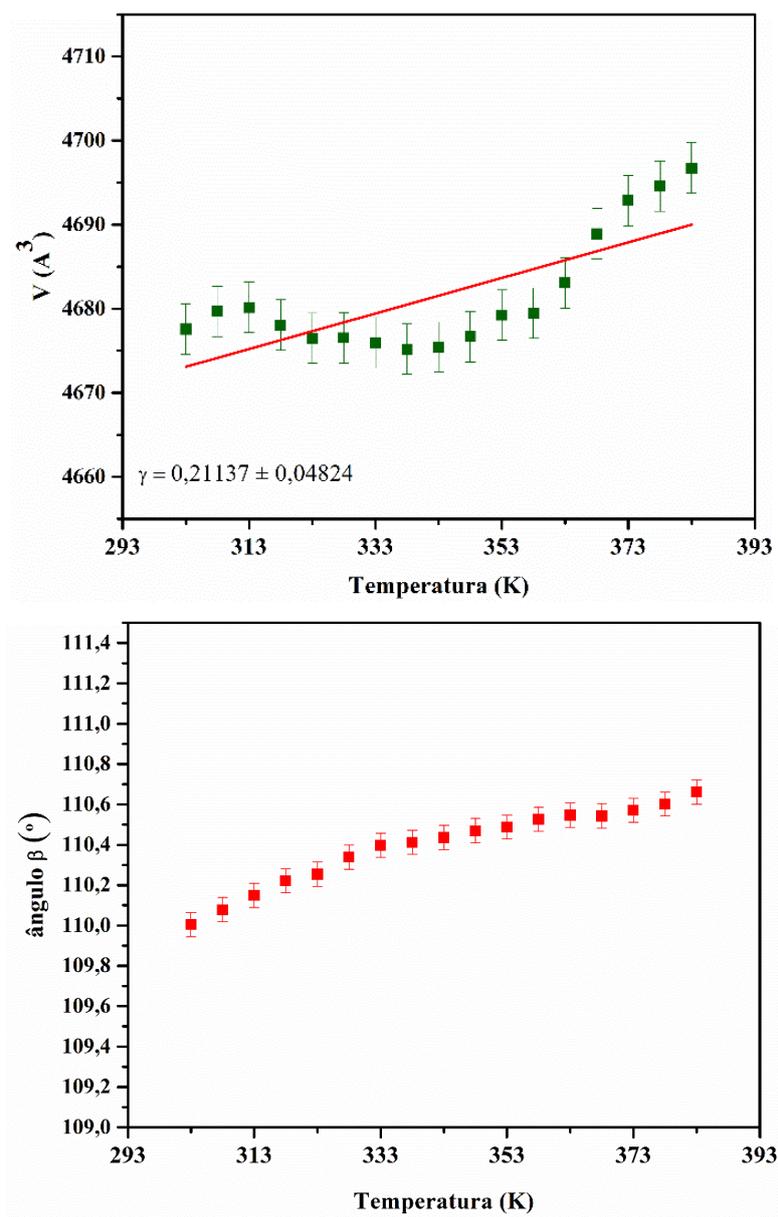
**Figura 28:** Padrão de Difração de Raios X do Solvato de Azitromicina Monohidratada em função da temperatura de 299 a 393 K, no intervalo de  $5\text{-}25^\circ$  ( $2\theta$ ).

Para observar a variação nos parâmetros de rede conforme o aumento da temperatura, os dados de DRX em função da temperatura, foram tratados pelo refinamento de estruturas empregando o método de Rietveld. A Figura 29 mostra o efeito de dilatação térmica dos parâmetros  $a$ ,  $b$  e  $c$  na temperatura de 303 a 383 K. O efeito da temperatura é mais perceptível no parâmetro de rede  $a$  ( $\sim 1,44\%$ ), enquanto o parâmetro de rede  $b$  e  $c$  a variação é menor ( $\sim 0,06\%$  e  $\sim 0,67\%$ ), respectivamente). Pode-se observar que ocorre uma mudança na inclinação da curva a partir de 307 K que pode ser relacionada a perda de água do cristal.



**Figura 29:** Parâmetros de rede *a*, *b* e *c* do cristal de AZM-MH-EtOH obtido pelo refinamento de Rietveld em função da temperatura.

Foi possível estimar os valores dos coeficientes de dilatação que é observado na Figura 31, que são:  $\alpha_a = 0,00254 \pm 0,00015$ ,  $\alpha_b = -0,00133 \pm 0,000049$  e  $\alpha_c = 0,00022 \pm 0,000055$  para o cristal de AZM-MH-EtOH. Com o aumento da temperatura foi possível observar o comportamento do ângulo  $\beta$  da célula unitária do cristal de AZM-MH-EtOH que aumenta de forma gradativa. Com o aumento da temperatura para o volume da célula unitária ocorre uma diminuição gradativa a partir da temperatura de 318 K, posteriormente houve o aumento após a temperatura de 362 K, com uma variação de  $\gamma = 0,21137 \pm 0,04824$  como apresenta a Figura 30.



**Figura 30:** Volume da célula unitário e o ângulo  $\beta$  do cristal de AZM-MH-EtOH obtidos pelo refinamento de Rietveld em função da temperatura.

## 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os materiais foram obtidos pela técnica de evaporação lenta do solvente (ELS). O Solvato de Azitromicina monohidratado (AZM-MH-EtOH) de coloração translúcida, foi obtido após 15 dias em pH 6,5. A análise de DRX em conjunto com o refinamento de Rietveld a temperatura ambiente comprovou a cristalização no sistema monoclinico com grupo espacial  $P2_1$  para o cristal, com parâmetros de rede de  $a = 16,388$  (7) Å,  $b = 16,324$  (9) Å,  $c = 18,406$  (1) Å,  $\alpha = \gamma = 90^\circ$  e  $\beta = 109,92^\circ$ , contendo 4 moléculas por célula unitária.

Para o cristal AZM-Cu(II), de coloração violeta foi obtido após 20 dias em pH = 9,0. A determinação estrutural do material comprovou que se trata de uma nova fase com sistema cristalino Monoclinico  $P2_1$ , com parâmetros de rede  $a = 10,384$  (6) Å,  $b = 26,626$  (14) Å e  $c = 34,736$  (2) Å,  $\alpha = \gamma = 90^\circ$  e  $\beta = 91,83^\circ$  e contendo 4 moléculas por célula unitária.

O amorfo de AZM-TRIS-Cu(II), foi obtido após 15 dias, apresenta coloração azul. A análise de DRX apresentou a ausência de picos cristalinos, confirmando a amorfização do material, onde ocorre o aparecimento de duas bandas de centro máximo em  $10^\circ$  e  $20^\circ$  ( $2\theta$ ), respectivamente.

A teoria de grupos para AZM-MH-EtOH mostra que de acordo com a tabela de caracteres do grupo fator  $C_2$ , os modos são ativos tanto no infravermelho como Raman, decorrente do cristal não apresentar centro de inversão.

A caracterização vibracional via espectroscopia Raman mostra as possíveis atribuições do material na região espectral de  $207$  a  $328\text{ cm}^{-1}$  caracterizada por torções e deformações dos grupos (CCCH e CCOH), (NCC + CCC + CNC) e CCNC, respectivamente, atribuído a estrutura dos anéis de lactona, cladínose e desosamina. Na região espectral de  $1047$  a  $1460\text{ cm}^{-1}$  pode ser atribuída a uma combinação dos modos de estiramento, deformação angular no plano, torções dos grupos CN, CC, OC, HCCC, HCC, HCOC e HCCN, respectivamente. Já a região de  $2700$  a  $3000\text{ cm}^{-1}$  podem ser associada as vibrações de estiramento simétrico e assimétrico de CH, CH<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub>.

As regiões características da azitromicina via FT-IR mostra que em  $3650$  a  $3300\text{ cm}^{-1}$  apresenta o estiramento do grupo hidroxila (OH), em  $3000$  e  $2800\text{ cm}^{-1}$  pode ser atribuído como estiramento simétrico e assimétrico dos grupos (CH<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>, CH). O pico de média intensidade em  $1726\text{ cm}^{-1}$  é atribuída ao estiramento da carbonila (C=O). E na

região de 1453 a 573  $\text{cm}^{-1}$  podem ser associados as vibrações de estiramento e torções dos grupos HCOC, HCC e HOCC.

As análises térmicas realizadas por TG-DTG indicaram que a estabilidade térmica deste solvato foi de até 487 K e as curvas DTA e DSC indicaram que a amostra sofre desidratação que corresponde a fase anidra e, posteriormente, ocorre uma amorfização do material em torno de 386-390 K. Por meio da técnica de DRX em função da temperatura, esta amorfização foi confirmada em 393 K. Por sua vez este trabalho apresenta dados inéditos para as fases monoclinica, complexada com cobre e amorfa da azitromicina, colaborando para o desenvolvimento de várias áreas do conhecimento.

## 7. PESPECTIVAS

- Realizar testes biológicos para o cristal de AZM-Cu(II) e o amorfo AZM-TRIS-Cu(II);
- Realizar testes de solubilidade para o amorfo [AZM-TRIS-Cu(II)], assim como sua completa caracterização para a produção de artigos científicos;
- Submeter a patente para o cristal de AZM-Cu(II);
- Publicações de artigos científicos dos materiais sintetizados como: solvato de azitromicina monohidratada (AZM-MH-EtOH) e complexo de azitromicina com cobre.

## ATIVIDADE DESENVOLVIDAS

### Trabalhos Apresentados em Eventos Científicos

- SANTOS, G. C.; OLIVEIRA NETO, J. G.; REIS, I. F. S.; RAMOS, M. C.; ABREU, K. R.; **SILVA, C. R.**; VIANA, J. R.; SANTOS, A. O. Complex of L-Glutamic Acid and 1,10-Phenanthroline with Copper (II) for antitumor application. XVIII Brazilian MRS Meeting. Balneário Camboriú – SC, 2019.
- **SILVA, C. R.**; QUEIROZ, L. H. S.; SANTOS, A. O.; CORDEIRO, A. J. P.; SANTANA, N. S.; OLIVEIRA NETO, J. G.; BEZERRA, R. D. S.; CARVALHO, J. O.; SOUSA, F. F. Síntese e caracterização polimórfica de Cristais de Azitromicina por DRX e Espectroscopia Raman. VI Encontro Brasileiro de Espectroscopia Raman (VI EnBraER). Belém – PA, 2019.
- OLIVEIRA NETO, J. G.; ABREU, K. R.; RODRIGUES, J. A. O.; REIS, I. F. S.; **SILVA, C. R.**; RAMOS, M. C.; OLIVEIRA, R. R. S. C.; SOUSA, F. F.; SANTOS, A. O. Estudo vibracional por espectroscopia Raman do cristal de 1,10-fenantrolina e glicina complexado com cobre (II) para uso em antitumorais. VI Encontro Brasileiro de Espectroscopia Raman (VI EnBraER). Belém – PA, 2019.
- CARVALHO, J. O.; MOURA, G. M.; MOREIRA, J. D. R.; **SILVA, C. R.**; PINHEIRO, G. S.; FREIRE, P. T. C.; S. FILHO, J. G.; SANTOS, A. O.; FACANHA FILHO, P. F. Estabilidade de monocristais de L-histidina hidrobromídrica monoidratada a altas pressões. VI Encontro Brasileiro de Espectroscopia Raman (VI EnBraER). Belém – PA, 2019.
- LAGE, M. R.; **SILVA, C. R.**; STOYANOV, S. R.; SOUSA, F. F.; SANTOS, A. O. DFT study of structure and electronic properties of the Cu(II) azithromycin complex. XX Simpósio Brasileiro de Química Teórica. João Pessoa – PB, 2019.
- SOARES, I. Q.; **SILVA, C. R.**; LAGE, M. R.; SANTOS, A. O.; SOUSA, F. F.; STOYANOV, S. R. A DFT study of the structure and electronic properties of the Cu(II), Ni(II) and Zn(II) complexes of azithromycin. VIII Simpósio de Estrutura Eletrônica e Dinâmica Molecular (VIII SEEDMOL). Brasília – DF, 2020.

### Patentes Depositadas

- OLIVEIRA NETO, J. G.; **SILVA, C. R.**; SILVA NETO, O. C.; REIS, I. F. S.; SANTOS, A. O. Fosfatos de Cálcio Funcionalizados com Íons Mg, Sr e Ba para Remoção por Adsorção de Compostos Sulfurados em Combustíveis. 2019, Brasil. Patente: Privilégio de Inovação. Número do registro: BR1020190167360. Depósito: 13/08/2019.
- RAMOS, M. C.; OLIVEIRA NETO, J. G.; SANTOS, J. C.; **SILVA, C. R.**; SANTOS, A. O. Filme biodegradável com propriedade antitumoral e seu processo de obtenção. 2020, Brasil. Patente: Privilégio de Inovação. Número do registro: BR10202000274. Depósito: 10/02/2020.

### Patentes Submetidas

- **SILVA, C.R.**; SANTOS, A.O; RIBEIRO, P. R.S; SOUSA, F.F; Fase Triclínica do cristal de Azitromicina. Universidade Federal do Maranhão, 2021.
- **SILVA, C.R.**; RAMOS, M.C; OLIVEIRA NETO, J. G; SANTOS, A.O; CORDEIRO, A.J.P; SANTANA, N.S; SOUSA, F.F. Obtenção de uma nova dispersão sólida do tipo amorfo terciário de azitromicina com trometamida e cobre. Universidade Federal do Maranhão, 2021.

### *Crystallographic Information File (CIF) submetido*

- **SILVA, C.R.**; SANTOS, A.O; SOUSA, F.F; AYALA, A.P; e colaboradores. Pedido de submissão para depósito crystallographic information file (CIF) da nova fase do cristal de azitromicina complexado com cobre (II) [AZM-Cu(II)].

**REFERÊNCIAS**

1. Walsh, C., *Antibiotics: actions, origins, resistance*. American Society for Microbiology (ASM), 2003.
2. Omura, S., *Macrolide antibiotics: chemistry, biology, and practice*. Elsevier, 2002.
3. Gaynor, M. and A.S. Mankin, *Macrolide antibiotics: binding site, mechanism of action, resistance*. Current topics in medicinal chemistry, 2003. **3**(9): p. 949-960. DOI: <https://doi.org/10.2174/1568026033452159>
4. Von Nussbaum, F., et al., *Medicinal chemistry of antibacterial natural products—exodus or revival*. Angew. Chem. Int. Ed, 2006. **45**(31): p. 5072-5129.
5. Kirst, H.A., *Macrolide antibiotics*. Annual Reports in Medicinal Chemistry, 1990. **25**: p. 119-128. DOI: [ps://doi.org/10.1016/S0065-7743\(08\)61589-4](https://doi.org/10.1016/S0065-7743(08)61589-4)
6. Schönfeld, W. and H.A. Kirst, *Macrolide antibiotics*. 2002: Springer Science & Business Media.
7. Fiese, E. and S. Steffen, *Comparison of the acid stability of azithromycin and erythromycin A*. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 1990. **25**(suppl\_A): p. 39-47. DOI: [https://doi.org/10.1093/jac/25.suppl\\_A.39](https://doi.org/10.1093/jac/25.suppl_A.39)
8. Kim, H.C. and S.H. Kang, *Total synthesis of azithromycin*. Angewandte Chemie, 2009. **121**(10): p. 1859-1861. <https://doi.org/10.1002/ange.200805334>
9. Djokić, S., et al., *Erythromycin series. Part 11. Ring expansion of erythromycin A oxime by the Beckmann rearrangement*. Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1, 1986: p. 1881-1890. DOI: <https://doi.org/10.1039/P19860001881>
10. Girard, A.E., et al., *Pharmacokinetic and in vivo studies with azithromycin (CP-62,993), a new macrolide with an extended half-life and excellent tissue distribution*. Antimicrobial agents and chemotherapy, 1987. **31**(12): p. 1948-1954. [10.1128/AAC.31.12.1948](https://doi.org/10.1128/AAC.31.12.1948)
11. Foulds, G., R. Shepard, and R. Johnson, *The pharmacokinetics of azithromycin in human serum and tissues*. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 1990. **25**(suppl\_A): p. 73-82. [https://doi.org/10.1093/jac/25.suppl\\_A.73](https://doi.org/10.1093/jac/25.suppl_A.73)
12. Banić Tomišić, Z., *Priča o azitromicinu*. Kemija u industriji: Časopis kemičara i kemijskih inženjera Hrvatske, 2011. **60**(12): p. 603-617.

13. Brasil, *Farmacopeia Brasileira*. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Anvisa, 2010. **2**: p. 666.
14. Araujo, G. L. B., Pitaluga Jr, A., Antonio, S. G., Santos, C. D. O. P., Matos, J. D. R., *Polimorfismo na produção de medicamentos*. Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada, 2012. **33**(1): p. 27-36.
15. Li, Z.J. and A.V. Trask, *Crystal forms of azithromycin*. 2006, Google Patents.
16. Montejo-Bernardo, J., et al., *X-ray study of the pseudopolymorphism of the azithromycin monohydrate*. Zeitschrift für Kristallographie-Crystalline Materials, 2003. **218**(10): p. 703-707.
17. Barry, N.P. and P.J. Sadler, *Exploration of the medical periodic table: towards new targets*. Chemical communications, 2013. **49**(45): p. 5106-5131. DOI: 10.1039/C3CC41143E
18. Bruijninx, P.C. and P.J. Sadler, *New trends for metal complexes with anticancer activity*. Current opinion in chemical biology, 2008. **12**(2): p. 197-206. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2007.11.013>
19. Amsden, G.W., C.H. Ballow, and A. Forrest, *Comparison of the plasma, urine and blister fluid pharmacokinetics of clarithromycin and azithromycin in normal subjects*. Clinical drug investigation, 1997. **13**(3): p. 152-161.
20. Mandell, G.L. and E. Coleman, *Uptake, transport, and delivery of antimicrobial agents by human polymorphonuclear neutrophils*. Antimicrobial agents and chemotherapy, 2001. **45**(6): p. 1794-1798. DOI: 10.1128/AAC.45.6.1794-1798.2001
21. Blumer, J.L., *Evolution of a new drug formulation: the rationale for high-dose, short-course therapy with azithromycin*. International Journal of Antimicrobial Agents, 2005. **26**: p. S143-S147. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0924-8579\(05\)80320-6](https://doi.org/10.1016/S0924-8579(05)80320-6)
22. Bohte, R., et al., *Efficacy and safety of azithromycin versus benzylpenicillin or erythromycin in community-acquired pneumonia*. European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, 1995. **14**(3): p. 182-187.
23. Bulkley, D., et al., *Revisiting the structures of several antibiotics bound to the bacterial ribosome*. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2010. **107**(40): p. 17158-17163. <https://doi.org/10.1073/pnas.1008685107>
24. Hermann, T., *Drugs targeting the ribosome*. Current opinion in structural biology, 2005. **15**(3): p. 355-366. <https://doi.org/10.1016/j.sbi.2005.05.001>
25. Yonath, A., *Antibiotics targeting ribosomes: resistance, selectivity, synergism, and cellular regulation*. Annu. Rev. Biochem., 2005. **74**: p. 649-679.

26. Hansen, L.H., P. Mauvais, and S. Douthwaite, *The macrolide–ketolide antibiotic binding site is formed by structures in domains II and V of 23S ribosomal RNA*. *Molecular microbiology*, 1999. **31**(2): p. 623-631. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.1999.01202.x>
27. Schlünzen, F., et al., *Structural basis for the interaction of antibiotics with the peptidyl transferase centre in eubacteria*. *Nature*, 2001. **413**(6858): p. 814-821.
28. Ohe, M., et al., *Macrolide treatment for COVID-19: Will this be the way forward?* *BioScience Trends*, 2020. <https://doi.org/10.5582/bst.2020.03058>
29. Perter, D., H. Friedel, and D. Mctwsh, *Azithromycin a review of its antimicrobial activity, pharmacokinetic properties and clinical efficiency*. *Drugs*, 1992. **44**(5): p. 750.
30. Fass, R., *Erythromycin, clarithromycin, and azithromycin: use of frequency distribution curves, scattergrams, and regression analyses to compare in vitro activities and describe cross-resistance*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 1993. **37**(10): p. 2080-2086. [10.1128/AAC.37.10.2080](https://doi.org/10.1128/AAC.37.10.2080)
31. Haleblian, J. and W. McCrone, *Pharmaceutical applications of polymorphism*. *Journal of pharmaceutical sciences*, 1969. **58**(8): p. 911-929. <https://doi.org/10.1002/jps.2600580802>
32. Gouveia, M.A., *Obtenção e caracterização de dispersões sólidas de nimesulida*. 2011, Universidade de São Paulo.
33. Paula, K.d., *Caracterização de estado sólido de fármacos: Cloridrato de Mebendazol Monohidratado e Estradiol 17β Valerato*. 2012.
34. Neglur, R., et al., *Water and the relationship to the crystal structure stability of azithromycin*. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 2018. **132**(1): p. 373-384.
35. Gandhi, R., et al., *Characterization of azithromycin hydrates*. *European journal of pharmaceutical sciences*, 2002. **16**(3): p. 175-184. [https://doi.org/10.1016/S0928-0987\(02\)00087-8](https://doi.org/10.1016/S0928-0987(02)00087-8)
36. Montejo-Bernardo, J.M., et al., *On the solid state conformation of azithromycin monohydrate and dihydrate pseudopolymorphs*. *Zeitschrift für Kristallographie-Crystalline Materials*, 2005. **220**(1): p. 66-73.
37. Demain, A.L. and S. Sanchez, *Microbial drug discovery: 80 years of progress*. *The Journal of antibiotics*, 2009. **62**(1): p. 5-16.
38. Wright, G.D., *Bacterial resistance to antibiotics: enzymatic degradation and modification*. *Advanced drug delivery reviews*, 2005. **57**(10): p. 1451-1470. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2005.04.002>

39. Lambert, P.A., *Bacterial resistance to antibiotics: modified target sites*. Advanced drug delivery reviews, 2005. **57**(10): p. 1471-1485. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2005.04.003>
40. Nicolaou, K. C.; Montagnon, T. *Molecules that changed the world*. Weinheim: Wiley-VCH, 2008.
41. Projan, S. J.; Shlaes, D. M. *Antibacterial drug discovery: is it all downhill from here?*. Clinical Microbiology and Infection, 2004. **10**, p. 18-22. <https://doi.org/10.1111/j.1465-0691.2004.1006.x>
42. Guerra, W., et al., *Synthesis, characterization, and antibacterial activity of three palladium (II) complexes of tetracyclines*. Journal of inorganic biochemistry, 2005. **99**(12): p. 2348-2354. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2005.09.001>
43. Chohan, Z.H., A.U. Shaikh, and M.M. Naseer, *Metal-based isatin-bearing sulfonamides: their synthesis, characterization and biological properties*. Applied organometallic chemistry, 2006. **20**(11): p. 729-739. <https://doi.org/10.1002/aoc.1134>
44. Kremer, E., et al., *Copper complexes with heterocyclic sulfonamides: Synthesis, spectroscopic characterization, microbiological and SOD-like activities: Crystal structure of [Cu (sulfisoxazole) 2 (H<sub>2</sub>O) 4]· 2H<sub>2</sub>O*. Journal of inorganic biochemistry, 2006. **100**(7): p. 1167-1175. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2006.01.042>
45. Trincherro, A., et al., *Spectroscopic behavior of copper complexes of nonsteroidal anti-inflammatory drugs*. Biopolymers: Original Research on Biomolecules, 2004. **74**(1-2): p. 120-124. <https://doi.org/10.1002/bip.20057>
46. Dimiza, F., et al., *Non-steroidal antiinflammatory drug–copper (II) complexes: structure and biological perspectives*. Dalton transactions, 2011. **40**(34): p. 8555-8568.
47. Saha, D.K., et al., *Hydrothermal synthesis, crystal structure, spectroscopy, electrochemistry and antimycobacterial evaluation of the copper (II) ciprofloxacin complex: [Cu (cf) 2 (BF<sub>4</sub>) 2]· 6H<sub>2</sub>O*. Inorganic Chemistry Communications, 2002. **5**(12): p. 1022-1027. [https://doi.org/10.1016/S1387-7003\(02\)00635-4](https://doi.org/10.1016/S1387-7003(02)00635-4)
48. LEE, John David. *Química inorgânica não tão concisa*. Editora Blucher, 1999.
49. Chellan, P. and P.J. Sadler, *The elements of life and medicines*. Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences, 2015. **373**(2037): p. 20140182. <https://doi.org/10.1098/rsta.2014.0182>

50. Crisponi, G., et al., *Copper-related diseases: from chemistry to molecular pathology*. Coordination chemistry reviews, 2010. **254**(7-8): p. 876-889. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2009.12.018>
51. Tian, W.-X., et al., *Copper as an antimicrobial agent against opportunistic pathogenic and multidrug resistant Enterobacter bacteria*. Journal of Microbiology, 2012. **50**(4): p. 586-593. 10.1007/s12275-012-2067-8
52. Medici, S., et al., *Noble metals in medicine: Latest advances*. Coordination Chemistry Reviews, 2015. **284**: p. 329-350. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2014.08.002>
53. Pecharsky, V. and P. Zavalij, *Fundamentals of powder diffraction and structural characterization of materials*. 2008: Springer Science & Business Media.
54. Đokić, S., et al., *Complexes of azithromycin with some divalent metal ions*. Croatica Chemica Acta, 1995. **68**(2): p. 375-381.
55. Cullity, B. and S. Stock, *Elements of X-Ray Diffraction*, Pearson Education. 2014.
56. Lima, R.d.S., J.C. Afonso, and L.C.F. Pimentel, *Raios-X: fascinação, medo e ciência*. Química Nova, 2009. **32**(1): p. 263-270. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422009000100044>
57. Arruda, W.O., *Wilhelm Conrad Röntgen: 100 anos da descoberta do raios X*. Arquivos de Neuro-Psiquiatria, 1996. **54**(3): p. 525-531.
58. Da Silva, J.F., S.J. Garden, and A.C. Pinto, *The chemistry of isatins: a review from 1975 to 1999*. Journal of the Brazilian Chemical Society, 2001. **12**(3): p. 273-324.
59. Jaskolski, M., Z. Dauter, and A. Wlodawer, *A brief history of macromolecular crystallography, illustrated by a family tree and its Nobel fruits*. The FEBS journal, 2014. **281**(18): p. 3985-4009. <https://doi.org/10.1111/febs.12796>
60. Callister, W. and D. Rethwisch, *The structure of crystalline solids*. Materials science and engineering: an introduction. New York: John Wiley & Sons, Inc, 2007: p. 38-79.
61. 54 Pecharsky, V. and P. Zavalij, *Fundamentals of powder diffraction and structural characterization of materials*. 2008: Springer Science & Business Media.
62. Mannheimer, W.A., *Microscopia dos materiais: uma introdução*. 2002: Editora E-papers
63. Rietveld, H., *A profile refinement method for nuclear and magnetic structures*. Journal of applied Crystallography, 1969. **2**(2): p. 65-71.

64. Will, G., *Powder diffraction: The Rietveld method and the two stage method to determine and refine crystal structures from powder diffraction data*. 2006: Springer Science & Business Media.
65. Young, R.A., *The rietveld method*. Vol. 5. 1993: International union of crystallography.
66. Kim, Y.-I. and F. Izumi, *Structure Refinements with a new version of the Rietveld-Refinement program RIETAN*. Journal of the Ceramic Society of Japan, 1994. **102**(1184): p. 401-404.
67. Toby, B.H., *R factors in Rietveld analysis: how good is good enough?* Powder diffraction, 2006. **21**(1): p. 67-70.
68. Pawley, G., *Unit-cell refinement from powder diffraction scans*. Journal of Applied Crystallography, 1981. **14**(6): p. 357-361.
69. Holler, F.J., D.A. Skoog, and S.R. Crouch, *Princípios de análise instrumental*. 2009: Bookman.
70. Sala, O., *Fundamentos da espectroscopia Raman e no infravermelho*. 1996: Unesp.
71. Colthup, N., *Introduction to infrared and Raman spectroscopy*. 2012: Elsevier.
72. Foote, H. W. Elements of physical chemistry. *Science*, 1907. 26(670): p. 588-588.
73. Socrates, G., *Infrared and Raman characteristic group frequencies: tables and charts*. 2004: John Wiley & Sons.
74. De Sousa, F., et al., *Pressure-induced phase transitions in palmitic acid: C form*. Journal of Raman Spectroscopy, 2012. **43**(1): p. 146-152. <https://doi.org/10.1002/jrs.2980>
75. Hollas, J.M., *Modern spectroscopy*. 2004: John Wiley & Sons.
76. Porto, S. and D. Wood, *Ruby optical maser as a Raman source*. Applied Optics, 1962. **1**(101): p. 139-141.
77. Li-Chan, E., J.M. Chalmers, and P.R. Griffiths, *Applications of vibrational spectroscopy in food science*. 2010: John Wiley & Sons.
78. Ionashiro, M., F.J. Caires, and D. Gomes, *Giolito: fundamentos da termogravimetria e análise térmica diferencial/calorimetria exploratória diferencial*. São Paulo: Giz, 2005. **1**: p. 80.
79. Mothé, C.G. and A.d. Azevedo, *Análise térmica de materiais*. São Paulo: Editora, 2002: p. 113-115.

80. Gabbott, P., *Principles and applications of thermal analysis*. 2008: John Wiley & Sons.
81. Reading, M., et al., *4 Modulated Temperature Differential Scanning Calorimetry. Thermal Analysis of Pharmaceuticals*, 2006: p. 101.
82. Hatakeyama, T. and Z. Liu, *Handbook of thermal analysis*. 1998: Wiley.
83. Holler, F.J., D.A. Skoog, and S.R. Crouch, *Princípios de análise instrumental*. 2009: Bookman.
84. Larson, A.C., Dreele, R.B.V. *GSAS – General Structure Analysis System*. Los Alamos National Laboratory, 2004.
85. Rousseau, D. L.; Bauman, R. P.; Porto, S. P. S. Normal mode determination in crystals. *Journal of Raman Spectroscopy*, 1981. **10**(1): p. 253-290. <https://doi.org/10.1002/jrs.1250100152>
86. SANTOS SOUZA, Gislayllson D. et al. Low-Temperature Phase Transition of Dodecanoic Acid Crystals: A Study Using Raman, Powder X-ray Diffraction, and Density Functional Theory Calculations. **Crystal Growth & Design**, v. 20, n. 1, p. 281-290, 2019. <https://doi.org/10.1021/acs.cgd.9b01164>
87. SANTANA, Naiane S. et al. Phase Transformations of Azithromycin Crystals Investigated by Thermal and Spectroscopic Analyses Combined with Ab Initio Calculations. **Crystal Growth & Design**, 2021. **21**(6) p. 3602-9613. <https://doi.org/10.1021/acs.cgd.1c00375>
88. KOTECHA, Rashesh K.; BHADRA, S.; RAJESH, K. S. Formulation & process development of azithromycin ophthalmic nanosuspension. **Int J Pharm Pharm Sci**, 2013 v. 4, p. 490-497.