

Gislaine Kuminek

**APLICAÇÃO DE ESTRATÉGIAS NO ESTADO SÓLIDO
VISANDO AO AUMENTO DA SOLUBILIDADE DOS
FÁRMACOS: CLORIDRATO DE TERBINAFINA,
CARVEDILOL E NEVIRAPINA**

Tese submetida ao Programa de Pós-graduação em Farmácia, Departamento de Ciências Farmacêuticas, do Centro de Ciências da Saúde, da Universidade Federal de Santa Catarina, como requisito parcial para obtenção do Título de Doutor em Farmácia.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Simone Gonçalves Cardoso

Coorientadora: Prof^ª. Dr^ª. Silvia Lucia Cuffini

Florianópolis
2014

Kuminek, Gislaine

APLICAÇÃO DE ESTRATÉGIAS NO ESTADO SÓLIDO VISANDO AO AUMENTO DA SOLUBILIDADE DOS FÁRMACOS: CLORIDRATO DE TERBINAFINA, CARVEDILOL E NEVIRAPINA / Gislaine Kuminek ; orientadora, Simone Gonçalves Cardoso ; coorientadora, Sílvia Lucia Cuffini. - Florianópolis, SC, 2014.
215 p.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências da Saúde. Programa de Pós-Graduação em Farmácia.

Inclui referências

1. Farmácia. 2. Hábito Cristlino . 3. Sal. 4. Cocrystal. I. Gonçalves Cardoso, Simone . II. Cuffini, Sílvia Lucia. III. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Farmácia. IV. Título.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Goreti e Romão, por acreditarem em mim e sempre apoiarem e incentivarem com muito amor a minha luta durante todos estes anos. Aos meus irmãos, Régis e Eriel, por estarem sempre conectados comigo mesmo nas maiores distâncias. Ao André, meu companheiro de todos os momentos, que dividiu comigo as angústias e alegrias, incentivou-me e me deu forças para seguir adiante e não desistir dos meus sonhos.

À minha orientadora, Simone Cardoso, meu grande exemplo de profissional e mulher, pela confiança, ensinamentos, amizade, motivação, apoio e incentivo. Obrigada por acompanhar e participar do meu crescimento profissional e pessoal!

À professora Naír Rodríguez, com quem eu tive o imenso privilégio de poder compartilhar muitos momentos, pelos conhecimentos, amizade, confiança, acolhimento e oportunidades. Os seus ensinamentos me permitiram crescer muito como cientista e como ser humano.

À professora Silvia Cuffini, por ter me apresentado à química do estado sólido. Obrigada pelas discussões, conselhos, ideias, ajudas e todo aprendizado!

Ao professor Marcos Segatto e a professora Hellen Stulzer pelos anos de convívio, pelo apoio e amizade.

Às minhas amigas-irmãs Manu, Monika e Gabi, que foram essenciais neste trabalho e na minha vida, por toda ajuda, descontração, desabafos, aprendizado e companhia! Ao amigo Thiago Caon, pelo auxílio e amizade! E à amiga Fabi por compartilhar desde o apartamento até momentos de diferentes emoções.

Aos colegas de laboratório Aline, Amarilis, Ana Carolina, Andréa Granada, Andréa Mayumi, Bruno, Camila, Caroline, Cassiana, Cinira, Jéssica, Juliana, Larissa, Paola, Paulo, Rafael, Thaís e Viviane pelas risadas, convivência e troca de conhecimentos.

Aos colegas da Universidade de Michigan, Feng, Maya, Larissa, Leo e Yitian, pela recepção, compreensão, ajuda e valiosas discussões.

Ao professor Adailton Bortoluzzi, pelos ensinamentos, colaboração e paciência.

Ao professor Carlos Eduardo Maduro de Campos pela colaboração neste trabalho.

Aos colegas, professores e servidores de outros laboratórios da UFSC, que contribuíram de alguma forma na realização deste trabalho;

À UFSC, ao PGFAR e à CAPES, por possibilitarem a realização deste trabalho, através do apoio financeiro e/ou infraestrutura.

“Podes dizer-me, por favor, qual caminho eu devo seguir?”

Isso depende muito de onde desejas chegar...” (Lewis Carroll)

RESUMO

Em medicamentos administrados via oral, as características físico-químicas dos fármacos estão diretamente relacionadas à sua eficácia terapêutica. Desta forma, conhecer e controlar estas características é de fundamental importância na área farmacêutica. Neste contexto, o presente trabalho aplicou diferentes estratégias envolvendo as engenharias de cristais e partículas visando ao aperfeiçoamento das propriedades biofarmacêuticas dos fármacos cloridrato de terbinafina, carvedilol e nevirapina. Para o cloridrato de terbinafina, um novo hábito cristalino foi obtido a partir da técnica de evaporação lenta de solvente. A comparação entre os resultados de velocidade de dissolução intrínseca da matéria-prima e dos cristais aciculares do fármaco revelaram valores inferiores para o novo hábito. A estratégia aplicada ao carvedilol abrangeu ensaios de cristais multicomponentes com diversos *coformers*. O *screening* foi iniciado via moagem assistida por solvente e sistemas promissores foram obtidos com carvedilol:ácido benzoico e carvedilol:ácido oxálico. Estes sistemas foram então selecionados para a cristalização pelas técnicas de *slurry* e gel. Os resultados demonstraram que a técnica de *slurry* foi melhor sucedida no sistema carvedilol:ácido oxálico uma vez que permitiu a obtenção de uma única fase cristalina em oposição à mistura de fases obtida por moagem assistida por solvente. Por outro lado, a técnica de cristalização em gel permitiu o preparo de monocristais compostos por carvedilol:ácido oxálico que foram caracterizados por difração de raios X de monocristal, espectroscopia no infravermelho e calorimetria exploratória diferencial. As duas últimas técnicas mencionadas também foram aplicadas ao sistema carvedilol:ácido benzoico e resultados complementares permitiram a identificação destes sistemas como sais de carvedilol. Cocristais compostos por fármaco base fraca e *coformer* ácido utilizaram como fármaco modelo a nevirapina e demonstraram que a solubilidade destes cocristais é pH dependente e pode ser modelada pela seleção dos componentes do cocrystal. Os modelos matemáticos que preveem a solubilidade destes sistemas demonstram a influência do pH, do pK_a e da concentração do *coformer*. Os diagramas de solubilidade de fases gerados apresentaram um ponto de intersecção (pH_{max}) o qual estabeleceu regiões de solubilidade e estabilidade dos cocristais. Os resultados experimentais de solubilidade apresentaram excelente concordância com os valores calculados.

Palavras-chave: Cloridrato de Terbinafina 1. Carvedilol 2. Nevirapina 3. Hábito Cristalino 4. Cocrystal 5. Sal 6.

ABSTRACT

The physicochemical characteristics of a drug are directly related to its therapeutic efficacy in solid oral dosage forms. Thus, the knowledge and the control of these characteristics are of great importance in the pharmaceutical area. In this context, the present work applied different strategies involving the crystal and particle engineering aiming the enhancement of the biopharmaceutical properties of terbinafine hydrochloride, carvedilol and nevirapine. For terbinafine hydrochloride, a new crystal habit of needle-like shape was obtained through the slow solvent evaporation technique. A comparison between the results regarding the intrinsic dissolution rate of the raw material and the needle-like crystal revealed lower values for the new crystal habit. The strategy applied to carvedilol involved tests of multicomponent crystals with different coformers. Firstly, the screening was performed via solvent-assisted grinding and promising systems were achieved with carvedilol:benzoic acid and carvedilol:oxalic acid. These systems were then selected for assays with the slurry and gel crystallization techniques. The results demonstrated that the slurry technique was adequate to obtain a single crystalline phase of carvedilol:oxalic acid system. On the other hand, the gel crystallization allowed the preparation of single crystals composed of carvedilol:oxalic acid which were characterized through single crystal X-ray diffraction analysis, infrared spectroscopy and differential scanning calorimetry. The two last mentioned techniques were also applied to carvedilol:benzoic acid system and the complementary results contributed to identify both multicomponent systems as carvedilol salts. Cocrystals composed of basic drug and acidic coformer used nevirapine as a model drug. This system showed pH-dependent solubility which can be modeled by selecting the cocrystal components. The mathematical models that predict the solubility of these systems displayed an influence based on pH, pK_a and coformer concentration. The phase solubility diagrams exhibited an intersection point (pH_{max}) which establishes regions of cocrystal solubility and stability. The experimental measured solubility values were in excellent agreement with values predicted by the mathematical models.

Keywords: Terbinafine Hydrochloride 1. Carvedilol 2. Nevirapine 3. Crystal Habit 4. Cocrystal 5. Salt 6.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Representação esquemática para as possíveis formas sólidas de um fármaco.....	44
Figura 2	Formação de <i>synthons</i> supramoleculares entre ácidos e amidas: a) <i>homosynthon</i> entre dímeros ácido-ácido e amida-amida; b) <i>heterosynthon</i> entre dímeros ácido-amida.....	50
Figura 3	Relação de alguns dos <i>coformers</i> mais utilizados na formação de cocristais de uso farmacêutico.....	52
Figura 4	Diagrama de solubilidade de fase para um cristal A e cocrystal AB.....	55
Figura 5	Estrutura química do cloridrato de terbinafina.....	57
Figura 6	Estrutura química do carvedilol.....	59
Figura 7	Superposição dos enantiomorfos S presentes nas formas cristalinas do CAR. Forma A (vermelho), forma B (amarelo), molécula 1 da forma C (azul claro), molécula 2 da forma C (azul) e forma D (verde). Os hidrogênios não foram mostrados para melhor visualização.....	61
Figura 8	Estrutura química da nevirapina.....	62
Figura 9	Representação ORTEP da unidade assimétrica da TBF mostrando os átomos rotulados e 50 % de probabilidade de elipsoides.....	98
Figura 10	Difratogramas referentes às amostras TBFm (A), TBFa (B), TBFt (C) e ao padrão calculado de TBF (D).....	101
Figura 11	Dados térmicos referentes a TBFm (A), TBFa (B) e TBFt (C): (1) curvas DSC e (2) curvas TG.....	103
Figura 12	Espectros IV (A) e Raman (B) referentes à amostra TBFm.....	104
Figura 13	Espectros ¹³ C CP/MAS (A) e NQS (B) referentes à amostra TBFm.....	105
Figura 14	Imagens referentes às amostras (A) TBFt (etanol:água, 1:1, v/v) e (B) TBFa (solução de acetato de etila).....	106
Figura 15	Fotomicrografias obtidas por MEV referentes à amostra TBFm.....	107
Figura 16	Perfis de VDI para (♦) TBFm e (■) TBFa.....	108

Figura 17	Espectro na região do ultravioleta do meio de dissolução (A) e da TBF (solução em meio de dissolução, concentração de 30 µg/mL) (B).....	110
Figura 18	Curva de calibração média da TBF, com sua respectiva equação da reta e coeficiente de correlação (r).....	111
Figura 19	Cromatogramas referentes ao TBF (A) e seu comportamento de degradação em 1 hora de fotólise em (B) água, (C) acetonitrila e (D) metanol.....	126
Figura 20	Perfil de fotodegradação da TBF em metanol, acetonitrila e água.....	128
Figura 21	Representação dos experimentos de cristalização em gel em tubo em U: (A) tubo preenchido com gel de POE, (B) adição das soluções contendo fármaco ou coformer ao tubo preenchido com gel, (C) fechamento do tubo para início da difusão das soluções no gel.....	139
Figura 22	Difratogramas comparando as amostras obtidas por LAG e os insumos de partida. *As intensidades não estão representadas equivalentemente.....	141
Figura 23	Curvas DSC comparando as amostras obtidas por LAG e os insumos de partida. A – mistura fármaco <i>former</i> processada, B – carvedilol, C – ácido benzoico.....	145
Figura 24	Curvas DSC comparando as amostras obtidas por LAG e os insumos de partida. A – mistura fármaco <i>former</i> processada, B – carvedilol, C – ácido oxálico.....	147
Figura 25	Espectros IV comparando as amostras obtidas por LAG, mistura física (MF) e os insumos de partida. CAR:ACBENZ – mistura fármaco <i>former</i> processada, CAR:ACBENZ MF – mistura física fármaco <i>former</i>	148
Figura 26	Espectros IV comparando as amostras obtidas por LAG, mistura física (MF) e os insumos de partida. CAR:ACOXÁ – mistura fármaco <i>former</i> processada, CAR:ACOXÁ MF – mistura física fármaco <i>former</i>	150
Figura 27	Difratogramas comparando as amostras obtidas por cristalização em suspensão e os insumos de partida. (1) CAR:ACBENZ, (2) CAR:ACOXÁ *As	150

	intensidades não estão representadas equivalentemente.....	
Figura 28	Curvas DSC comparando as amostras obtidas por cristalização em suspensão e os insumos de partida. A – mistura fármaco <i>former</i> processada, B – carvedilol, C – ácido benzoico.....	151
Figura 29	Curvas DSC comparando as amostras obtidas por cristalização em suspensão e os insumos de partida. A – mistura fármaco <i>former</i> processada, B – carvedilol C – ácido oxálico.....	152
Figura 30	Espectros IV comparando as amostras obtidas por cristalização em suspensão e os insumos de partida. CAR ACBENZ – mistura fármaco <i>former</i> processada.....	153
Figura 31	Espectros IV comparando as amostras obtidas por <i>slurry</i> e os insumos de partida CAR ACOXA – mistura fármaco <i>former</i> processada.....	154
Figura 32	(A) Imagens referentes aos cristais de CAR obtidos por cristalização em gel em tubo em U, (B) ampliação da região do tubo contendo os monocristais aciculares.....	155
Figura 33	Imagens de microscopia óptica referente aos monocristais de CAR obtidos por cristalização em gel (A) com luz polarizada, (B) sem luz polarizada.....	155
Figura 34	Representação ORTEP da unidade assimétrica do CAR:ACOXÁ mostrando os átomos rotulados e 50 % de probabilidade de elipsoides.....	156
Figura 35	Ligações de hidrogênio no sal oxalato de carvedilol....	158
Figura 36	Difratogramas comparando a amostra CAR:ACOXÁ obtida por <i>slurry</i> e o padrão calculado do CAR:ACOXÁ.....	159
Figura 37	Espectros IV (1) Patente do sal benzoato de CAR (2) amostra CAR:ACBENZ obtida por <i>slurry</i>	160
Figura 38	Representação de medidas de solubilidade por método cinético para cocristais que apresentam conversão rápida e lenta para a forma do IFA mais estável.....	171
Figura 39	Difratogramas comparando a amostra obtida por recristalização da NVP em etanol:água e o padrão de difração calculado da NVP HH.....	180

Figura 40	Difratogramas comparando as amostras obtidas por cristalização por reação e os padrões calculados dos cocristais NVP-MLE, NVP-SAC e NVP-SLI.....	181
Figura 41	Curva de DSC referente à matéria-prima recristalizada da NVP.....	182
Figura 42	Curvas de DSC referentes à amostra obtidas por cristalização por reação para o sistema NVP-MLE.....	184
Figura 43	Curvas de DSC referentes às amostras obtidas por cristalização por reação para o sistema NVP-SAC.....	184
Figura 44	Curvas de DSC referentes às amostras obtidas por cristalização por reação para o sistema NVP-SLI.....	185
Figura 45	Diagrama de concentrações logarítmicas das espécies ionizadas e não ionizadas da NVP e do MLE construídos a partir das medidas do eutético em água..	186
Figura 46	Diagrama de concentrações logarítmicas das espécies ionizadas e não ionizadas da NVP e do SAC construídos a partir das medidas do eutético em água..	186
Figura 47	Diagrama de concentrações logarítmicas das espécies ionizadas e não ionizadas da NVP e do SLI construídos a partir das medidas do eutético em água..	187
Figura 48	Diagramas de solubilidade de fases em função do pH para a NVPHH e os cocristais NVP-MLE, NVP-SAC e NVP-SLI.....	188
Figura 49	Diagramas de solubilidade de fases em função do pH para a NVPHH e os cocristais NVP-SAC e NVP-SLI destacando o pH_{max}	189
Figura 50	Diagramas de solubilidade de fases em função do pH para a NVPHH e NVP-MLE. Os símbolos abertos representam os valores de solubilidade do cocristal obtidos experimentalmente.....	190
Figura 51	Diagramas de solubilidade de fases em função do pH para a NVPHH e NVP-SAC. Os símbolos abertos representam os valores de solubilidade do cocristal obtidos experimentalmente.....	191
Figura 52	Diagramas de solubilidade de fases em função do pH para a NVPHH e NVP-SLI. Os símbolos abertos representam os valores de solubilidade do cocristal obtidos experimentalmente.....	191
Figura 53	Razão da solubilidade entre NVP-MLE e NVPHH em função do pH.....	192

Figura 54	Razão da solubilidade entre NVP-SAC e NVPHH em função do pH.....	192
Figura 55	Razão da solubilidade entre NVP-SLI e NVPHH em função do pH.....	193
Figura 56	Concentrações eutéticas de NVP e MLE em diferentes pHs.....	194
Figura 57	Concentrações eutéticas de NVP e SAC em diferentes pHs.....	194
Figura 58	Concentrações eutéticas de NVP e SLI em diferentes pHs.....	195

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Solubilidades descritivas comumente encontradas em monografias oficiais.....	35
Tabela 2	Classificação de solubilidade de fármacos com dose aproximada de 1 mg/kg (mg de fármaco/kg de peso corporal).....	36
Tabela 3	Representação esquemática dos sistemas cristalinos fundamentais.....	42
Tabela 4	Parâmetros cristalográficos da TBF.....	99
Tabela 5	Ligações de hidrogênio respectivas à TBF (Å e °).....	99
Tabela 6	Propriedades térmicas e calorimétricas de TBFm, TBFa e TBFt.....	102
Tabela 7	Dados de RMNs referentes à TBFm.....	105
Tabela 8	Dados de precisão intra e inter-dia para o método de dissolução intrínseca.....	111
Tabela 9	Equações para determinação dos parâmetros cinéticos.....	124
Tabela 10	Resultados referentes à exatidão do método.....	127
Tabela 11	Dados referentes à cinética de fotodegradação do TBF.....	129
Tabela 12	Parâmetros cristalográficos do CAR:ACOXa.....	157
Tabela 13	Ligações de hidrogênio respectivas ao CAR:ACOXa (Å e °).....	158
Tabela 14	Eluição gradiente do método de CLAE utilizado para a quantificação dos componentes dos cocristais NVP-SAC e NVP-MLE.....	175
Tabela 15	Concentrações das espécies não ionizadas de NVP e coformers, K_{sp} e concentração hidrogeniônica obtidos das medidas no ponto eutético em água.....	185
Tabela 16	Solubilidade da NVP _{HH} em pH 1,2 e pH 4,5.....	187

LISTA DE QUADROS

Quadro 1	Classificação dos fármacos conforme sua solubilidade e permeabilidade, de acordo com o Sistema de Classificação Biofarmacêutica.....	38
Quadro 2	Lista de fabricantes e lotes dos <i>coformers</i> utilizados...	139

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E UNIDADES

Å	Ângstrons
ACASC	Ácido ascórbico
ACBENZ	Ácido benzoico
ACCIT	Ácido cítrico
ACFUM	Ácido fumárico
ACOXÁ	Ácido oxálico
ACTAR	Ácido tartárico
ALANT	Alantoína
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
CAF	Cafeína
CAR	Carvedilol
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
C_{\max}	Concentração plasmática máxima
CP/MAS	<i>Cross-polarization magic angle spinning</i> ou Polarização cruzada em torno do ângulo mágico
CSD	<i>Cambridge Structural Database</i>
DPR	Desvio padrão relativo
DRX	Difração de raios X
DRXM	Difração de raios X de monocristal
DRXP	Difração de raios X de pó
DSC	<i>Differential scanning calorimetry</i> ou Calorimetria exploratória diferencial
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
HPLC	<i>High performance liquid chromatography</i>
ICH	<i>International Conference on Harmonisation</i>
IV	Espectroscopia na região do infravermelho
J	Joule
K	Kelvin
LAG	<i>Liquid Assisted Grinding</i> ou Moagem Assistida.
LD	Limite de detecção
LQ	Limite de quantificação
m	Massa
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
MF	Mistura física
MO	Microscopia Ótica
mW	Miliwatts
NIC	Nicotina
NVP	Nevirapina

NQS	“ <i>Non-quaternary suppression</i> ” ou Supressão de carbonos não quaternários
ORTEP	“ <i>Oak Ridge thermal-ellipsoid plot program</i> ” ou Programa de plotagem das elipsóides Oak Ridge
PD	Produto de degradação
pH	Potencial hidrogeniônico
PIP	Piperazina
RMNes	Ressonância magnética nuclear em estado sólido
SAC	Sacarina
SCB	Sistema de classificação biofarmacêutica
TBF	Cloridrato de terbinafina
TBFm	Cloridrato de terbinafina matéria-prima
TG	Termogravimetria
T _{máx}	Tempo de concentração plasmática máxima
U. R.	Umidade relativa
USP	<i>United States Pharmacopoeia</i>
UV	Ultravioleta
v	Volume
Vis	Visível
VDI	Velocidade de dissolução intrínseca

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO GERAL.....	29
1.1	OBJETIVOS.....	30
1.1.1	Objetivo geral.....	30
1.1.2	Objetivos específicos.....	30

CAPÍTULO I – REVISÃO DE LITERATURA

1	REVISÃO DE LITERATURA.....	35
1.1	SOLUBILIDADE E SUAS IMPLICAÇÕES FARMACÊUTICAS.....	35
1.2	SÓLIDOS CRISTALINOS.....	40
1.2.1	Hábito cristalino.....	44
1.2.2	Sais e cocristais.....	46
1.3	CRISTALIZAÇÃO E TÉCNICAS DE PREPARO.....	51
1.4	CLORIDRATO DE TERBINAFINA.....	55
1.5	CARVEDILOL.....	58
1.6	NEVIRAPINA.....	61
2	REFERÊNCIAS.....	64

CAPÍTULO II – ESTUDOS EM ESTADO SÓLIDO DO CLORIDRATO DE TERBINAFINA: CARACTERIZAÇÃO, OBTENÇÃO DE NOVO HÁBITO CRISTALINO E RESOLUÇÃO DE ESTRUTURA CRISTALINA POR MONOCRISTAL

1	INTRODUÇÃO.....	91
2	METODOLOGIA.....	92
2.1	MATERIAIS.....	92
2.2	MÉTODOS.....	92
2.2.1	Obtenção do novo hábito cristalino de TBF.....	92
2.2.2	Caracterização em estado sólido de TBF.....	92
2.2.2.1	Difração de raios X de monocristal (DRXMC) e difração de raios X de pó (DRXP).....	92
2.2.2.2	Calorimetria exploratória diferencial (DSC) e análise termogravimétrica (TG).....	93
2.2.2.3	Espectroscopias vibracionais Raman e na região do infravermelho (IV).....	93

2.2.2.4	Ressonância magnética nuclear em estado sólido (RMNes).....	94
2.2.2.5	Microscopia ótica (MO) e microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	95
2.2.2.6	Velocidade de dissolução intrínseca (VDI).....	95
2.2.2.6.1	<i>Solubilidade e condição “sink”</i>	96
2.2.2.6.2	<i>Validação analítica do método de dissolução intrínseca</i>	96
2.2.2.6.2.1	Especificidade.....	96
2.2.2.6.2.2	Linearidade, limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ).....	97
2.2.2.6.2.3	Exatidão/Precisão.....	97
2.2.2.6.2.4	Estabilidade no meio de dissolução.....	97
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	98
3.1	CARACTERIZAÇÃO EM ESTADO SÓLIDO DO TBF.....	98
3.1.1	DRXM e DRXP	98
3.1.2	DSC e TG	101
3.1.3	Espectroscopias vibracionais Raman e IV	103
3.1.4	RMNes	104
3.1.5	MO e MEV	105
3.1.6	VDI	107
3.1.6.1	<i>Solubilidade e condição “sink”</i>	109
3.1.6.2	<i>Validação analítica do método de dissolução intrínseca</i>	109
3.1.6.2.1	Especificidade.....	109
3.1.6.2.2	Linearidade, LD e LQ.....	110
3.1.6.2.3	Exatidão/Precisão.....	111
3.1.6.2.4	Estabilidade no meio de dissolução.....	111
4	CONCLUSÕES	112
5	REFERÊNCIAS	113

CAPÍTULO III – DETERMINAÇÃO DA CINÉTICA DE FOTODEGRADAÇÃO DO CLORIDRATO DE TERBINAFINA ATRAVÉS DE METODOLOGIA POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA

1	INTRODUÇÃO	119
2	METODOLOGIA	120
2.1	MATERIAIS.....	120
2.2	MÉTODOS.....	120

2.2.1	Instrumentação e condições cromatográficas....	120
2.2.2	Preparo das soluções padrão.....	121
2.2.3	Validação analítica do método de quantificação do TBF por CLAE.....	121
2.2.3.1	Especificidade.....	121
2.2.3.2	Linearidade, limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ).....	121
2.2.3.3	Exatidão.....	122
2.2.3.4	Precisão.....	122
2.2.3.5	Robustez.....	122
2.2.3.6	Análise estatística.....	122
2.2.4	Estudos de fotodegradação.....	123
2.2.5	Cálculos cinéticos.....	123
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	124
3.1	DESENVOLVIMENTO DO MÉTODO ANALÍTICO POR CLAE.....	124
3.2	VALIDAÇÃO ANALÍTICA DO MÉTODO DE QUANTIFICAÇÃO DO TBF POR CLAE.....	124
3.3	ESTUDOS DE FOTODEGRADAÇÃO.....	127
3.3.1	Determinação da cinética de fotodegradação do TBF.....	128
4	CONCLUSÕES.....	129
5	REFERÊNCIAS.....	130

CAPÍTULO IV – SAL OU COCRISTAL? O IMPACTO DA TÉCNICA DE CARACTERIZAÇÃO EM ESTADO SÓLIDO NA IDENTIFICAÇÃO DE FASES CRISTALINAS

1	INTRODUÇÃO.....	135
2	METODOLOGIA.....	136
2.1	MATERIAIS.....	136
2.2	MÉTODOS.....	137
2.2.1	Cristalização por LAG.....	138
2.2.2	Cristalização por suspensão (<i>slurry</i>).....	138
2.2.3	Cristalização em gel.....	138
2.2.4	Caracterização no estado sólido.....	139
2.2.4.1	Difração de raios X de pó (DRXP).....	139
2.2.4.2	Difração de raios X de monocristal (DRXM).....	139
2.2.4.3	Calorimetria exploratória diferencial (DSC).....	140
2.2.4.4	Espectroscopia vibracional na região do infravermelho (IV).....	140

2.2.4.5	Microscopia óptica (MO).....	140
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	141
3.1	CRISTALIZAÇÃO POR LAG.....	141
3.2	CRISTALIZAÇÃO POR SUSPENSÃO (<i>SLURRY</i>).....	149
3.3	CRISTALIZAÇÃO EM GEL.....	154
4	CONCLUSÕES.....	162
5	REFERÊNCIAS.....	163

CAPÍTULO V – MECANISMO E PREDIÇÃO DA SOLUBILIDADE DE COCRISTAIS COMPOSTOS POR FÁRMACOS DO TIPO BASE FRACA E COFORMERS ÁCIDOS

1	INTRODUÇÃO.....	171
2	METODOLOGIA.....	173
2.1	MATERIAIS.....	173
2.2	MÉTODOS.....	173
2.2.1	Definição de modelos matemáticos.....	173
2.2.2	Técnica de recristalização para obtenção do hemihidrato de NVP (NVP_{HH}).....	173
2.2.3	Cristalização por reação.....	173
2.2.4	Difrações de raios X de pó (DRXP).....	174
2.2.5	Calorimetrias exploratória diferencial (DSC)...	174
2.2.6	Cromatografias líquida de alta eficiência (CLAE).....	174
2.2.7	Medidas dos pontos eutéticos e da solubilidade dos cocristais.....	175
2.2.8	Solubilidade da NVP_{HH}.....	175
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	176
4	CONCLUSÕES.....	195
5	REFERÊNCIAS.....	196
	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	299

APÊNDICE A – CARACTERIZAÇÃO EM ESTADO SÓLIDO DO CARVEDILOL 201

ANEXO 1 – PUBLICAÇÃO CIENTÍFICA NO PERIÓDICO <i>JOURNAL OF PHARMACEUTICAL AND BIOMEDICAL ANALYSIS</i>.....	213
---	------------

1 INTRODUÇÃO GERAL

Muito embora novas formas farmacêuticas continuem a ser desenvolvidas, a maioria dos fármacos ainda é administrada na forma sólida (BRITTAIN, 1995), devido à melhor aceitação pelo paciente, conveniência, confiabilidade da dose veiculada e estabilidade (NEHA et al., 2012). No entanto, a eficácia terapêutica destas formulações está diretamente relacionada às características do fármaco no estado sólido que incluem: forma cristalina, tamanho de partícula, hábito cristalino, constante de dissociação, higroscopicidade e solubilidade, dentre outros (LACHMAN; LIEBERMAN; KANING, 2001; ASHFORD, 2005). Assim, é de grande interesse que as propriedades físico-químicas dos fármacos sejam conhecidas e monitoradas, tornando-se elementos essenciais no processo de desenvolvimento de um medicamento (DRESSMAN et al., 1998; FLORENCE; ATTWOOD, 2003; ASHFORD, 2005). Além disso, o domínio de tecnologias para a cristalização de fármacos representa um conhecimento que, além de garantir a eficácia do medicamento, permite proteger a sua propriedade intelectual.

A cristalização é amplamente utilizada em processos de obtenção de fármacos. Esta etapa pode afetar as propriedades do estado sólido, assim como a estabilidade e desempenho do produto final. Ainda, pode beneficiar a formação de cristais com características que podem levar a um incremento do perfil de dissolução (NEHA et al., 2012). Da mesma forma, a cocrystalização, técnica que permite a cristalização de dois ou mais compostos em única fase cristalina, oferece oportunidades no desenvolvimento de medicamentos por modificar propriedades como a solubilidade e a estabilidade de fármacos. Estas técnicas enquadram-se como formas racionais de otimização da terapêutica de fármacos de baixa biodisponibilidade pelo aperfeiçoamento de suas propriedades físico-químicas (THAKURIA et al., 2013). Adequados a estes propósitos, o cloridrato de terbinafina, o carvedilol e a nevirapina, fármacos que apresentam reduzida solubilidade aquosa, representam modelos para estes estudos.

Neste âmbito, o presente trabalho utilizou técnicas de cristalização para obter modificações em estado sólido visando a melhoria das propriedades físico-químicas de distintos fármacos. A tese foi organizada na forma de capítulos. A revisão da literatura está apresentada no capítulo I. O capítulo II apresenta a caracterização no estado sólido e a obtenção de diferente hábito cristalino para o cloridrato de terbinafina. O capítulo III aprofunda os conhecimentos sobre o cloridrato de

terbinafina através da avaliação da cinética de fotodegradação do fármaco. O capítulo IV abrange o *screening* de cristais multicomponentes de carvedilol e a análise estrutural de sais do fármaco e, finalmente, o capítulo V utiliza a nevirapina como fármaco modelo para o estudo do mecanismo e predição da solubilidade de cocristais de compostos ionizáveis.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo geral

- Utilizar estratégias de engenharia de cristais e/ou partículas visando ao aperfeiçoamento das propriedades biofarmacêuticas dos fármacos cloridrato de terbinafina, carvedilol e nevirapina.

1.1.2 Objetivos específicos

- Realizar a caracterização físico-química da matéria-prima e das formas cristalinas obtidas do cloridrato de terbinafina por técnicas térmicas, microscópicas, cristalográficas e espectroscópicas;
- Obter um monocristal do cloridrato de terbinafina a fim de realizar sua elucidação estrutural pela técnica de difração de raios X de monocristal;
- Obter e avaliar o impacto de novo hábito cristalino nas características físico-químicas do cloridrato de terbinafina;
- Desenvolver e validar metodologia analítica de dissolução intrínseca para o cloridrato de terbinafina;
- Desenvolver e validar metodologia analítica por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) visando à avaliação da fotoestabilidade e quantificação do cloridrato de terbinafina;

- Realizar o *screening* de cristais multicomponentes farmacêuticos contendo o carvedilol;
- Realizar caracterização em estado sólido dos compostos obtidos durante o *screening* de cristais multicomponentes;
- Aplicar a cristalização em gel para obtenção de monocristais dos cristais multicomponentes de carvedilol para posterior elucidação estrutural;
- Derivar equações que descrevem a solubilidade de cocristais compostos por fármaco base fraca e *coformers* ácidos em termos de constante de equilíbrio associada à ionização dos componentes do cocrystal em solução;
- Gerar diagramas de solubilidade de fases para cocristais de nevirapina descritos na literatura a partir das equações derivadas;
- Aplicar métodos de equilíbrio para acessar a solubilidade dos cocristais de nevirapina;
- Avaliar o poder preditivo dos modelos matemáticos através da comparação dos valores calculados com os experimentais.

CAPÍTULO I
REVISÃO DE LITERATURA

1 REVISÃO DA LITERATURA

1.1 SOLUBILIDADE E SUAS IMPLICAÇÕES FARMACÊUTICAS

A solubilidade é um parâmetro termodinâmico definido como a quantidade máxima de soluto que se dissolve em um determinado solvente ou solução à temperatura e pressão constantes e especificadas (SHARGEL; YU, 2007; BUENO; RECH, 2009). Diversos fatores influenciam a solubilidade, dentre os quais podem ser mencionados o solvente, o pH, a temperatura, a pressão, o tamanho de partícula, a polaridade do soluto e solvente e o polimorfismo (JAMES, 1986; VASCONCELOS; SARMENTO; COSTA, 2007). Ela pode ser expressa através de quaisquer unidades de concentração, as quais relacionam massa de soluto por volume de solvente, ambos nas condições máximas de um determinado sólido. As farmacopeias apresentam solubilidades aproximadas de substâncias oficiais em termos do número de partes de volume de solvente requerido para dissolver uma parte de massa do sólido (1 g de um sólido no número de mL do solvente) (Tabela 1). A menos que outra especificação seja informada, os valores de solubilidade expressos em monografias oficiais aplicam-se à temperatura de 25 °C (Farmacopeia Brasileira, 2010).

Tabela 1 – Solubilidades descritivas comumente encontradas em monografias oficiais

Solvente	Termo descritivo (partes)
Muito solúvel	Menos de 1
Facilmente solúvel	De 1 a 10
Solúvel	De 10 a 30
Ligeiramente solúvel	De 30 a 100
Pouco solúvel	De 100 a 1000
Muito pouco solúvel	De 1000 e 10 000
Praticamente insolúvel	Mais de 10 000

Fonte: Adaptado de Farmacopeia Brasileira (2010).

Recentemente, Babu e Nangia (2011) estabeleceram a classificação de solubilidade para fármacos nas categorias baixa, moderada ou alta, como apresentado na Tabela 2.

Tabela 2 – Classificação de solubilidade de fármacos com dose aproximada de 1 mg/kg (mg de fármaco/kg de peso corporal)

Solubilidade (mg/L)	Classificação	Comentários
< 20	Baixa	Terá problemas de solubilidade
20-65	Moderada	Pode ter problemas de solubilidade
> 65	Alta	Sem problemas de solubilidade

Fonte: Adaptado de Babu; Nangia (2011).

Ainda, a solubilidade aquosa de um fármaco pode ser medida através de sua propensão em distribuir-se entre octanol e água, definida como coeficiente de partição octanol/água ($\log P$). Tal medida é relacionada à habilidade do fármaco em formar pontes de hidrogênio com a molécula de água, sendo a solubilidade aquosa diretamente proporcional ao número de pontes de hidrogênio formadas. Os valores de $\log P$ são usualmente tabelados e quanto menor for este valor, mais hidrofílico é o composto (STENBERG; LUTHMAN; ARTURSSON, 1999; MARTINEZ; AMIDON, 2002). Observa-se que muitas vezes a alta solubilidade de um fármaco é responsável por um aumento na sua dissolução, entretanto, o mesmo também acaba exibindo baixa permeabilidade, devido à sua alta polaridade e baixa lipofilicidade. Apesar do $\log P$ ser bastante utilizado para descrever a solubilidade de fármacos, existem algumas evidências de que esta pode ser melhor descrita pelas propriedades energéticas dinâmicas do composto (MARTINI et al., 1999; MARTINEZ; AMIDON, 2002).

De acordo com o guia para isenção e substituição de estudos de biodisponibilidade relativa/bioequivalência da ANVISA, a solubilidade de um fármaco é determinada pela dissolução da dosagem mais alta de uma forma farmacêutica de liberação imediata em 250 mL de uma solução tampão de pH entre 1,2 a 6,8. O fármaco é considerado altamente solúvel quando a maior dose deste é solúvel em um volume de tampão menor ou igual a 250 mL (BRASIL, 2011).

Várias razões justificam a importância em se conhecer como os fármacos se dissolvem e os fatores que mantem a sua solubilidade ou que causam a sua precipitação. Entre eles, ressalta-se que a condição mínima para que um fármaco seja absorvido deve-se ao fato deste estar molecularmente disperso, uma vez que, antes da absorção, através das

membranas biológicas, o mesmo precisa encontrar-se solubilizado (FLORENCE; ATTWOOD, 2003).

De forma simplificada, a importância da solubilidade aquosa para determinar a absorção oral pode ser prevista a partir da seguinte equação (Equação 1) que descreve o fluxo de fármaco através da membrana intestinal:

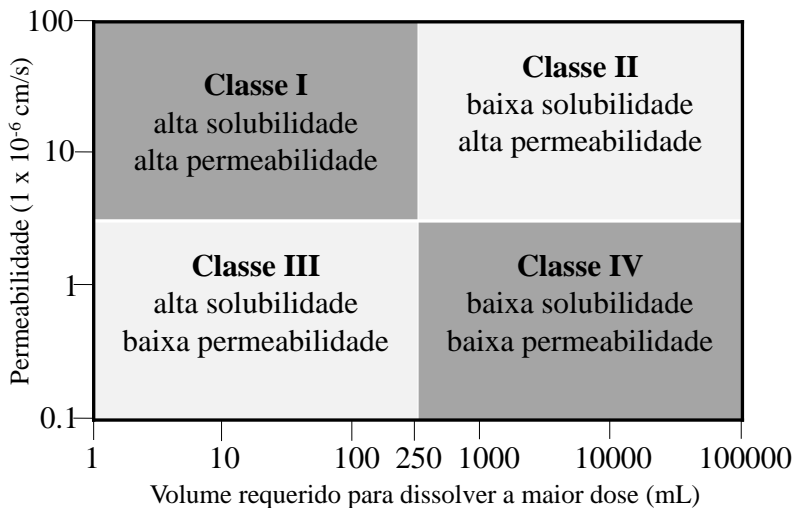
$$\text{Fluxo} = P_m * (C_i - C_b) \quad (1)$$

onde, P_m = permeabilidade na membrana intestinal; C_i = concentração aquosa do fármaco (não-ionizado) no intestino; C_b = concentração sanguínea portal.

Se o fármaco estiver no intestino, a sua concentração pode aproximar-se ou igualar-se à sua solubilidade aquosa se a dissolução e a liberação do fármaco pela formulação forem suficientemente rápidas. A partir da equação 1 observa-se que o fluxo do fármaco no intestino é diretamente proporcional à sua solubilidade aquosa. Para fármacos que apresentam alta P_m , a solubilidade é o fator determinante na sua absorção. Geralmente, apenas as espécies não-ionizadas são absorvidas, logo, para compostos ionizáveis, a concentração das formas não-ionizadas deve ser considerada na equação 1 (MARTINEZ; AMIDON, 2002).

O sistema de classificação biofarmacêutico (SCB) proposto por Amidon e seus colaboradores (1995) qualifica os fármacos em quatro classes distintas de acordo com a sua solubilidade e permeabilidade (Quadro 1). Estas propriedades foram selecionadas considerando que a maioria dos fármacos administrados oralmente é absorvida via um processo de difusão passiva através do intestino delgado, onde a extensão da absorção oral é largamente influenciada pela solubilidade do composto nos fluidos biológicos e pela sua permeabilidade às membranas biológicas (AMIDON et al., 1995; HE, 2009).

Quadro 1 – Classificação dos fármacos conforme sua solubilidade e permeabilidade, de acordo com o Sistema de Classificação Biofarmacêutica



Fonte: Adaptado de Rautio et al. (2008).

Atualmente, aproximadamente 40 % dos fármacos se enquadram nas classes II e IV do SCB (KAWABATA et al., 2011). Além disso, cerca de 75 % dos fármacos em desenvolvimento exibe solubilidade aquosa menor que 0,1 mg/mL. Desta forma, melhorias na solubilidade aquosa dos compostos pertencentes às classes II e IV do SCB podem resultar no aumento da sua biodisponibilidade oral (STEGEMANN et al., 2007), bem como na redução da dosagem e efeitos colaterais (SAVJANI; GAJJAR; SAVJANI, 2012).

A baixa solubilidade de um fármaco pode estar relacionada com as propriedades do estado sólido (energia da rede cristalina), com a solvatação (interações soluto-solvente em solução) ou por um efeito combinado de ambos. Na prática, a maioria dos fármacos pouco solúveis se enquadra nas duas categorias. A diferença entre estes tipos de moléculas pode ser ilustrada utilizando analogias de “bolas de gordura” (*grease balls*) quando a resistência à solubilidade é a hidrofobicidade, e “pó de tijolo” (*brick dust*) quando a solubilidade é limitada pela alta energia da rede cristalina (STELLA; NTI-ADDAE, 2007; ROY; LIPERT; RODRÍGUEZ-HORNEDO, 2012). Desta forma, as estratégias

utilizadas para o aperfeiçoamento da solubilidade requerem a combinação de tecnologias para modificar tanto as forças de interação entre solvente-soluto como entre soluto-soluto (WILLIAMS et al., 2013). Estas alterações ocorrem principalmente em dois níveis, através de engenharia de materiais no *design* do fármaco ou através de abordagens na formulação. Independentemente da via escolhida para melhorar ou modificar estas propriedades, ela precisa ser escalável a um processo comercialmente viável no desenvolvimento do medicamento (STEGEMANN et al., 2007).

É importante ressaltar que a solubilidade de fármacos ionizáveis é altamente dependente do seu grau de ionização (dissociação), uma vez que a hidrofiliabilidade das espécies ionizadas é maior em relação às espécies não-ionizadas. O grau de dissociação, por sua vez, é dependente do pK_a do composto e do pH da solução. Neste contexto, valores de pH acima do pK_a de um ácido fraco e abaixo do pK_a de bases fracas culminam em um aumento significativo da solubilidade como resultado da ionização. Desta forma, a manipulação das formas sólidas visando ao aumento da solubilidade pelos princípios da dependência do pH pode ser atingida através da obtenção de sais ou cocristais com compostos ionizáveis (NEHM; RODRÍGUEZ-SPONG; RODRÍGUEZ-HORNEDO, 2006; WILLIAMS et al., 2013).

Sendo a solubilidade de um fármaco uma medida de equilíbrio, a velocidade em que o sólido passa para solução (taxa de dissolução) é muito importante quando o tempo disponível para a sua dissolução é limitado (KAWABATA et al., 2011). Esta taxa é particularmente relevante após a administração oral, pois o tempo de trânsito no intestino é finito e a taxa de dissolução deve exceder significativamente a taxa de trânsito intestinal para que a absorção seja maximizada. Da mesma forma, mesmo que a taxa de dissolução seja rápida, se a solubilidade em equilíbrio for baixa, a quantidade de fármaco disponível em solução para absorção não será suficiente para atingir sua dosagem efetiva em tempo acessível.

Neste âmbito, como os principais determinantes da dissolução de um fármaco são a solubilidade e a área superficial, três principais estratégias podem ser definidas para aumentar a solubilidade e a taxa de dissolução:

- reduzir as forças intermoleculares no estado sólido;
- aumentar as forças de interação soluto-solvente em solução;
- aumentar a área superficial disponível para dissolução (WILLIAMS et al., 2013).

Portanto, observa-se que muito esforço tem sido dedicado à melhoria da solubilidade no desenvolvimento farmacêutico e para tanto, diferentes abordagens são utilizadas. Nanotecnologia, redução do tamanho de partícula, mudança no hábito cristalino, dispersões sólidas amorfas, formulações lipídicas, surfactantes, ciclodextrinas, cosolventes, polimorfismo, sais e cocristais, entre outras podem ser mencionadas, destacando-se aqui a manipulação das propriedades sólidas dos fármacos (BLAGDEN et al., 2007; WEYNA et al., 2012a; WEYNA et al., 2012b; KAWAKAMI, 2012; WILLIAMS et al., 2013).

1.2 SÓLIDOS CRISTALINOS

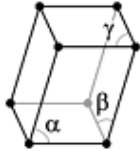
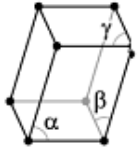
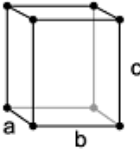
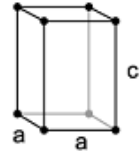
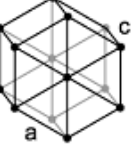
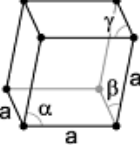
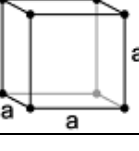
As propriedades físico-químicas de uma forma sólida dependem do arranjo das moléculas na rede cristalina (BYRN; PFEIFFER; STOWELL, 1999; DATTA; GRANT, 2004). A maioria dos fármacos existe em diferentes formas sólidas como polimorfos, solvatos, hidratos, sais e cocristais. Escolher a melhor forma cristalina de um fármaco é um passo essencial do desenvolvimento de um medicamento, uma vez que esta pode impactar significativamente na sua performance (RODRÍGUEZ-SPONG et al., 2004; DATTA; GRANT, 2004).

De acordo com a distribuição espacial dos átomos, moléculas ou íons, os sólidos podem ser classificados em cristalinos ou amorfos. Os sólidos amorfos não apresentam ordem tridimensional de longo alcance, suas moléculas constituintes encontram-se aleatoriamente distribuídas no espaço e suas interações com moléculas vizinhas, como pontes de hidrogênio e repulsão eletrostática, não são repetidas com nenhuma regularidade por toda a amostra. Por outro lado, os sólidos cristalinos apresentam um arranjo periódico e bem estruturado das moléculas que se repete regularmente nas três dimensões (CULLITY, 1978; HILFIKER, 2006; HANCOCK, 2007). Quando este arranjo é perfeito e se estende por toda amostra sem interrupção, tem-se um monocristal. Por vezes, as condições externas no momento da cristalização, como temperatura, pressão, taxa de resfriamento, entre outras, podem não permitir o arranjo periódico dos átomos. Estes são interrompidos aleatoriamente ao longo de secções bidimensionais que podem se cruzar, dividindo o volume sólido em numerosas regiões de pequenos grãos monocristalinos. Estes materiais não possuem a menor energia interna possível, mas são estáveis, sendo chamados de policristalinos (BYRN; PFEIFFER; STOWELL, 1999; CALLISTER; RETHWISCH, 2009; RAZEGHI, 2009).

A simetria é a característica fundamental do estado sólido cristalino. Os elementos de simetria (eixos, planos ou centros) seguidos pelas operações de translação formam a base dos 230 grupos espaciais (CULLITY, 1978; GIACOVAZZO, 2011). Todos os grupos espaciais, suas simetrias e as simetrias de seus padrões de difração estão compilados nas Tabelas Internacionais de Cristalografia (HAHN, 1987). Alguns grupos espaciais são vistos frequentemente, enquanto outros nunca foram encontrados em cristais. De acordo com o Banco de Dados Estruturais da Cambridge (CSD, *Cambridge Structural Database*), aproximadamente 76 % de todos os compostos orgânicos e organo-metálicos cristalizam-se em apenas cinco grupos: $P2_1/c$, $P2_12_12_1$, $P-1$, $P2_1$ e $C2/c$ (DATTA; GRANT, 2004).

A menor unidade de volume que contém toda informação estrutural e de simetria e que por translação reproduz um padrão em todo espaço é a chamada célula unitária. Suas dimensões são caracterizadas pelos parâmetros de rede: eixos cristalográficos, a , b e c e os ângulos entre eles, α , β , γ , os quais descrevem a forma e o tamanho da célula unitária (BYRN; PFEIFFER; STOWELL, 1999; VIPPAGUNTA; BRITAIN; GRANT, 2001). Ainda, dentro da célula unitária o maior agregado de moléculas equivalente por operações de simetria forma a unidade assimétrica. Todas as redes cristalinas possíveis podem ser geradas por 14 tipos de células, as chamadas Redes de Bravais e podem ser agrupadas em 7 sistemas cristalinos: triclinico, monoclinico, ortorrômbico, tetragonal, hexagonal, trigonal e cúbico (Tabela 3) (BYRN; PFEIFFER; STOWELL, 1999; CARSTENSEN, 2001; VIPPAGUNTA; BRITAIN; GRANT, 2001; BRITAIN, 2009; GIACOVAZZO, 2011).

Tabela 3 - Representação esquemática dos sistemas cristalinos fundamentais

Sistema cristalino	Geometria da célula unitária	Parâmetros de rede
Triclínico		$a \neq b \neq c$ $\alpha \neq \beta \neq \gamma \neq 90^\circ$
Monoclínico		$a \neq b \neq c$ $\alpha = \gamma = 90^\circ \neq \beta$
Ortorrômico		$a \neq b \neq c$ $\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$
Tetragonal		$a = b \neq c$ $\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$
Hexagonal		$a = b \neq c$ $\alpha = \beta = 90^\circ,$ $\gamma = 120^\circ$
Trigonal		$a = b = c$ $\alpha = \beta = \gamma \neq 90^\circ$
Cúbico		$a = b = c$ $\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$

Fonte: Adaptado de Giacovazzo (2011).

A análise dos sólidos cristalinos, caracterização, identificação e quantificação de fases, avaliação de tamanho de partícula e detecção de defeitos na rede cristalina pode ser realizada através do fenômeno de difração de raios X (DRX) (CULLITY, 1978; BRITAIN, 1995; GIACOVAZZO, 2011).

A DRX baseia-se na interação entre o feixe de raios X incidente e os elétrons dos átomos componentes de um material, a partir do qual se geram feixes de fótons difratados, que serão posteriormente detectados. O fenômeno de difração está diretamente relacionado com a distância que separa os planos em um cristal, obedecendo à lei de Bragg (Equação 2). Quando um feixe de raios X incide sobre um cristal constituído de planos atômicos sucessivos, este é difratado gerando um ângulo característico (CULLITY, 1978).

$$n \lambda = 2 d \sin\theta, \quad (2)$$

onde:

d é a distância entre planos do cristal

θ é o ângulo de difração dos raios X

λ é o comprimento de onda dos raios X

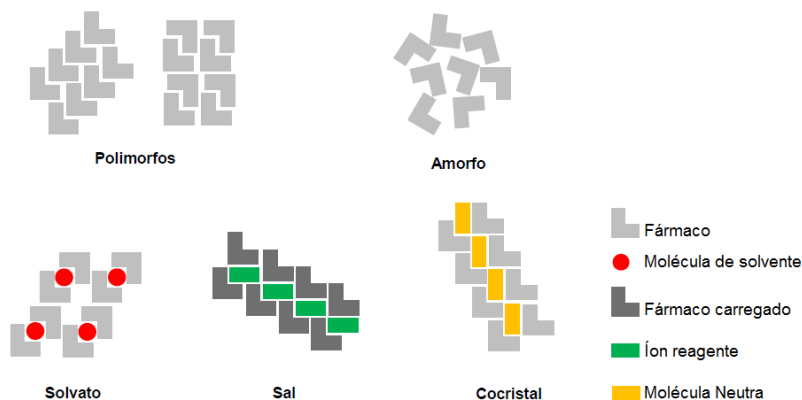
n é o número de comprimentos de onda utilizados.

Este fenômeno é capaz de revelar a distribuição eletrônica na célula unitária e assim determinar os comprimentos de ligação, ângulos e posições atômicas (CULLITY, 1978; BRITAIN, 1995; GIACOVAZZO, 2011).

Os sólidos cristalinos ainda podem ser classificados como unicomponentes ou multicomponentes. Os cristais unicomponentes são formados por um único composto químico, o qual pode apresentar diferentes estruturas cristalinas que surgem quando as moléculas adotam mais de um arranjo e/ou conformação na rede cristalina e são definidas como polimorfos (VIPPAGUNTA; BRITAIN; GRANT, 2001; STAHLY, 2007; CHIENG; RADES; AALTONEN, 2011). Por outro lado, os cristais multicomponentes apresentam dois ou mais compostos estequiometricamente relacionados na sua estrutura cristalina. Estes englobam os solvatos, sais e cocrystalis (Figura 1) que, por sua vez, também podem apresentar-se na forma de polimorfos (RODRÍGUEZ-SPONG et al., 2004; CHILDS; STAHLY; PARK, 2007; AITIPAMULA et al., 2012; LIMWIKRANT et al., 2012). Quando ocorre formação de pontes de hidrogênio entre o composto e a água ou outro solvente, estes podem ser incorporados na estrutura cristalina durante a cristalização

formando os hidratos e os solvatos, respectivamente. A presença destas moléculas de solvente altera o padrão de interação fármaco-fármaco e, desta forma, modifica o arranjo cristalino. Entretanto, solvatos e hidratos não são polimorfos no verdadeiro sentido e muitas vezes são referidos como pseudopolimorfos. Da mesma forma, o amorfo não deveria, em teoria, ser descrito como forma polimórfica uma vez que não apresenta ordem de longo alcance. Porém, pragmaticamente, o FDA e o ICH classificam hidratos, solvatos e amorfos como polimorfos (KU, 2010). Neste trabalho, o termo multicomponente será utilizado para descrever sais e cocrystalis.

Figura 1 - Representação esquemática para as possíveis formas sólidas de um fármaco



Fonte: Adaptado de Prado (2012).

1.2.1 Hábito cristalino

Define-se como hábito cristalino a aparência externa ou a morfologia do cristal (FLORENCE; ATTWOOD, 2003; MODI et al., 2013). Ele é resultante da interação de inúmeros fatores, além da estrutura interna, como o grau de saturação da solução, o tipo de solvente, a presença de impurezas, a agitação e a temperatura. Estes fatores levam à inibição ou diferentes velocidades de crescimento de determinadas faces do cristal durante a cristalização (STOICA et al., 2004; DI MARTINO et al., 2007; MODI et al., 2013). As morfologias comumente encontradas

incluem formas de agulhas (aciculares), prismáticas, piramidais, tabulares, plaquetas, colunares e lamelares (DESTRI et al., 2011)

O hábito cristalino pode influenciar e modificar características como fluidez, compressibilidade, molhabilidade, densidade, estabilidade e a taxa de dissolução (RASENACK; MÜLLER, 2002; KERALIYA et al., 2010; DESTRI et al., 2011; DESTRI et al., 2013).

O efeito que o hábito cristalino desempenha sobre a molhabilidade e a taxa de dissolução está relacionado às propriedades de superfície das faces cristalinas e suas interações intermoleculares com as moléculas do meio dissolvente (RASENACK; MÜLLER, 2002; TENHO et al., 2007). Logo, uma exata compreensão do desempenho farmacêutico de diferentes hábitos cristalinos depende do conhecimento do arranjo molecular na superfície destes sólidos (MODI et al., 2013). O trabalho de Modi e colaboradores (2013) envolvendo diferentes hábitos cristalinos de celecoxibe demonstra cinética de dissolução significativamente mais rápida, assim como maior concentração plasmática máxima (C_{max}) e menor tempo de concentração plasmática máxima (T_{max}) nos estudos de biodisponibilidade oral para os cristais em forma de plaqueta quando comparados aos aciculares. Este resultado pode ser atribuído à maior abundância de superfície hidrofílica na morfologia das plaquetas. Na literatura encontram-se outros exemplos de sólidos com diferentes hábitos cristalinos que apresentam modificações na solubilidade e/ou no perfil de dissolução (BURT; MITCHELL, 1980; TENHO et al., 2007a; RODOMONTE et al., 2008; KERALIYA et al.; 2010; LYN et al., 2011; THENGE et al., 2013).

A morfologia cristalina pode impactar na orientação da partícula e alterar a distribuição aleatória dos planos cristalinos sobre a superfície de uma amostra compactada, característica conhecida como “orientação preferencial”. Existem relatos de que as propriedades de dissolução de comprimidos altamente orientados podem diferir das propriedades de um comprimido sem orientação, pois a exposição de determinadas faces cristalinas na superfície é diferenciada (TENHO et al., 2007a; TENHO et al., 2007b).

Diferenças de morfologia podem ser encontradas em diferentes polimorfos de um fármaco, mas não necessariamente, como é o caso da prednisona, na qual a forma II pode existir com hábito acicular ou prismático. Por outro lado, as formas I e V do mesmo fármaco podem se apresentar com o mesmo formato de agulhas (TIWARY, 2001; ARAUJO et al., 2012).

Embora em alguns casos possa não haver diferenças significativas na biodisponibilidade de fármacos em diferentes hábitos, a

importância deve ser considerada sob o ponto de vista tecnológico, como a influência na compressão de comprimidos durante o processo produtivo e nas propriedades de fluidez do pó no estado sólido. Exemplo importante é verificado no caso da tolbutamina, a qual pode apresentar-se nas formas polimórficas A e B. A forma B possui aspecto de placa e causa decapagem dos comprimidos durante a compressão. Por outro lado, a forma A, que não possui este formato, não apresenta problemas durante a etapa de compressão (HALEBLIAN, 1975; ARAUJO et al., 2012).

1.2.2 Sais e cocristais

A formação de sais é comumente empregada na indústria farmacêutica, visto que os fármacos desenvolvidos com estes compostos podem apresentar vantagens em relação ao ácido ou base livre correspondente em termos de propriedades físicas como estabilidade térmica, cristalinidade, higroscopicidade, taxa de dissolução e solubilidade (BLACK et al., 2007; SERAJUDDIN, 2007).

Os sais são formados via transferência de prótons entre um ácido e uma base onde ocorre ligação eletrostática entre os íons de cargas opostas (BERNSTEIN, 2005; BOND, 2012).

O aumento da solubilidade por meio de sais pode ser atribuído aos efeitos na rede cristalina, entretanto, a química em solução demonstra ser a variável determinante na solubilidade aquosa de uma série de sais (BLACK et al., 2007). Stephenson e colaboradores (2011) relataram para o sal mesilato de delviridina um valor de solubilidade de 320 mg/mL, enquanto a solubilidade intrínseca da base livre é 143 µg/mL em pH 6,0, o que resulta em um aumento de mais de 2000 vezes. Ainda, Elder e colaboradores (2010) relataram que sais mesilatos foram os mais solúveis de todos os sais de fármacos amínicos selecionados.

Serajuddin (2007) indicou que um maior enfoque na formação de sais está ocorrendo como resultado do aumento do desenvolvimento de fármacos pouco solúveis por meio de iniciativas químicas combinatórias e de alto rendimento na indústria farmacêutica. Muitos trabalhos vêm buscando regras simples para a otimização da seleção de sais e cocristais, entretanto, ainda não há medidas reportadas na literatura com dados suficientes para uma análise certa de relação estrutura-propriedades (BLACK et al., 2007). Para muitos compostos cristalinos, a única diferença entre um sal e um cocrystal formado por uma base e um ácido é se a localização da transferência do próton está no ácido ou na base. Para predizer o estado de ionização final das moléculas em um cristal multicomponente, neste caso estabelecer se haverá formação de um sal

ou cocristal, os valores de constante de ionização ácida (pK_a) devem ser considerados (LI et al., 2006). Apesar dos valores de pK_a serem adequadamente definidos apenas em soluções sob condições de equilíbrio, a formação de sal no estado sólido é estabelecida experimentalmente por ocorrer quando a diferença de pK_a é suficientemente grande. Utiliza-se comumente como orientação a “regra do três”, a qual determina a possibilidade de formação de um sal quando a diferença de pK_a entre o ácido e a base for maior que três unidades (SARMA et al., 2009; BOND, 2012). Porém, alguns autores indicam que um limite menor deve ser requerido e que esta diferença de pK_a deverá ser de pelo menos duas unidades para obtenção de sais estáveis (STAHLY, 2007; CHILDS; STHALY; PARK, 2007). Logo, estas regras devem ser tratadas com cuidado, visto que o comportamento de transferência de prótons em cristais moleculares é influenciado também pelo ambiente químico cristalino e pela temperatura (STEINER et al., 2001; STAHLY, 2007). Cabe mencionar que compostos não ionizáveis ou compostos com valores de pK_a onde a formação de sal é bastante limitada apresentam como uma alternativa atrativa a obtenção de cocristais (ELDER et al., 2013).

Existem divergências na literatura e muitas discussões em andamento sobre a definição de cocristais. De acordo com a agência regulatória *Food and Drug Administration* (FDA), os cocristais podem ser classificados como “materiais sólidos cristalinos compostos por duas ou mais moléculas na mesma rede e regulados comparavelmente a produtos intermediários da produção” (FDA, 2011). Entretanto, neste trabalho adotamos a definição sugerida por Aitipamula et al. (2012), que definem cocristais como materiais apresentando uma única fase cristalina formada por dois ou mais compostos moleculares e/ou iônicos (fármaco + *coformer*) interagindo intermolecularmente e que, isolados, são sólidos em condições ambientes (25 °C/1 atm) (AAKERÖY; FASULO; DESPER, 2007; SHAN; ZAWOROTKO, 2008; BOND, 2012).

O aumento da solubilidade por meio de cocristais é decorrente de um rearranjo do empacotamento molecular na rede cristalina, o qual pode mudar drasticamente a termodinâmica do estado sólido. Desta forma, o aumento da solubilidade ocorre devido a uma maior afinidade pelo solvente e/ou a diminuição da energia da rede cristalina (MAHESHWARI et al., 2012; WEYNA et al., 2012b; THAKURIA et al., 2013).

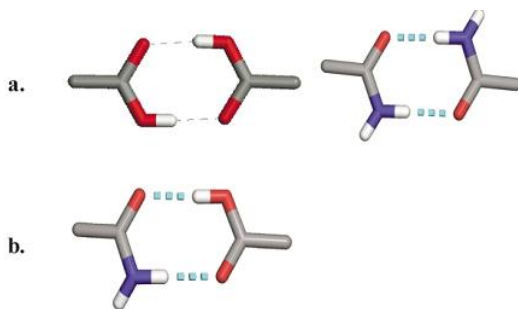
A literatura apresenta diversos exemplos de obtenção de cocristais como estratégia para otimizar características físico-químicas de fármacos, principalmente com relação ao aumento da solubilidade.

Podem-se citar como exemplos o cloridrato de fluoxetina, a indometacina, a lamotrigina, a furosemida e a carbamazepina (REMENAR et al., 2003; CHILDS et al., 2004; CHENEY et al., 2010; ALHALAWEH et al., 2012; RAUBER, 2013; THAKURIA, 2013). Além de apresentar a solubilidade aumentada comparada ao sólido amorfo, essas alterações podem promover melhorias na manipulação do fármaco, as quais incluem facilidades na filtração, fluxo do pó e secagem (REMENAR et al., 2003).

Devido à sua direcionalidade, força e frequência, as ligações de hidrogênio são amplamente utilizadas no *design* de cocristais (ETTER; FRANKENBACH, 1989; ETTER, 1991; FLEISCHMAN et al., 2003; TRASK; MOTHERWELL; JONES, 2005). Assim, muitas vezes, a seleção dos *coformers* para a formação de cocristais é feita através da presença de grupos funcionais capazes de formar ligações de hidrogênio com o fármaco. De fato, análises no CSD revelam que o modo predominante de interação nos cocristais são as ligações de hidrogênio (ETTER; JAHN; DONAHUE, 1986; ETTER, 1990; NANGIA; DESIRAJU, 1998a; NANGIA; DESIRAJU, 1998b).

Neste sentido, os arranjos dos grupos funcionais que resultam em uma ou mais ligações de hidrogênio são chamados *synthons* de ligação de hidrogênio. *Synthons* formados por interações entre duas moléculas do mesmo grupo funcional são classificados como *homosynthons*, enquanto que as interações entre dois grupos funcionais diferentes caracterizam os *heterosynthons* (DESIRAJU, 1995; DESIRAJU, 1997; ALMARSSON; ZAWOROTKO, 2004) (Figura 2).

Figura 2 – Formação de *synthons* supramoleculares entre ácidos e amidas: a) *homosynthon* entre dímeros ácido-ácido e amida-amida; b) *heterosynthon* entre dímeros ácido-amida

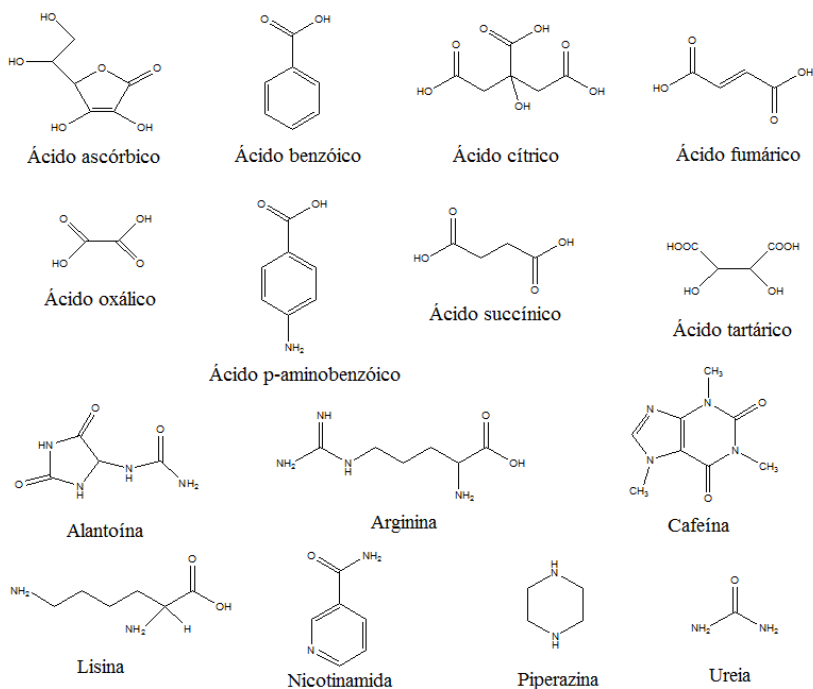


Fonte: Almarsson; Zawarotko (2004).

Cabe ressaltar que a presença de interações de hidrogênio isoladamente não indica a formação de um cocrystal. Ainda, as interações do tipo *van der Waals*, empilhamentos π e a estereoquímica dos componentes devem ser consideradas durante a seleção do *coformer* e o *design* do cocrystal (NANGIA; DESIRAJU, 1998a; KARKI et al., 2007; MORAGUES-BARTOLOME; JONES; CRUZ-CABEZA, 2012).

Os *coformers* de cocrystalis adequados para uso farmacêutico são inúmeros e continuam sendo estudados. Entre eles existem mais de centena de materiais sólidos que se encontram na lista do FDA de “Geralmente reconhecido como seguro” (GRAS, do inglês *Generally Recognized as Safe*), dentre os quais incluem-se aditivos alimentares e outras substâncias bem conhecidas. Ainda, quantidades subterapêuticas de fármacos eminentemente seguros, como ácido acetilsalicílico e paracetamol, também são utilizados como *coformers*. Na literatura, alguns *coformers* se destacam na formação de cocrystalis (Figura 3) (VISHWESHWAR et al., 2006; FÁBIÁN, 2009; STANTON et al., 2009; WOUTERS; ROME; QUÉRÉ, 2012).

Figura 3 – Relação de alguns dos *coformers* mais utilizados na formação de cocristais de uso farmacêutico



Fonte: Adaptado de Wouters; Rome; Quéré (2012).

O número de publicações na área dos cocristais cresceu significativamente nos últimos 20 anos e a possibilidade de uso destas formas cristalinas na indústria farmacêutica como aprimoradores das propriedades físico-químicas de fármacos vem sendo discutida (AITIPAMULA et al., 2012). Ainda, existem alguns medicamentos já comercializados como sais que poderiam ser classificados como cocristais (AITIPAMULA et al., 2012), como é o caso do citrato de cafeína (KARKI et al., 2007), do Depakote® (valproato de sódio) (SHERMAN, 2000; PETRUŠEVSKI et al., 2008) e do oxalato de escitalopram.

Além disso, é importante mencionar que como os cocristais permitem a diversificação considerável do número de formas cristalinas existentes de um fármaco, os mesmos são passíveis de patente. Isto porque, os cocristais satisfazem os três critérios de patenteabilidade: a

novidade, a utilidade e a atividade inventiva e, ainda, podem ser usados em formulações farmacêuticas caso apresentem vantagens terapêuticas (TRASK, 2007; SHAN e ZAWOROTKO, 2008).

Existem diversas patentes internacionais, na Europa e Estados Unidos de cocristais compostos por nutracêuticos, anti-inflamatórios não esteroidais, antifúngicos, antivirais, antitumorais, dentre outros (BUCHHOLZ et al., 2009; SEPENDA; STOREY, 2009; BUSCHMANN; TESSON; FARRAN, 2010; BABU; NANGIA, 2011; BETHUNE; SCHULTHEISS; HENCK, 2011; SANPHUI et al., 2011; SCHULTHEISS; ROE; BOERRIGTER, 2011; BAERT et al., 2012; KRUTHIVENTI et al., 2012; LEUNG et al., 2012; SALAMAN; TESSON, 2012; SEKHON, 2012). No Brasil, há apenas duas patentes de cocristais farmacêuticos depositadas no Instituto Nacional de Propriedade Intelectual (INPI) e referem-se aos fármacos etravirina e nicotinamida; e ticagrelor (DANNEMANN et al., 2012; DANNEMANN et al., 2014).

1.3 CRISTALIZAÇÃO E TÉCNICAS DE PREPARO

A cristalização é um processo amplamente empregado para produzir uma variedade de materiais na indústria farmacêutica e impacta diretamente nas propriedades do estado sólido, assim como na estabilidade e desempenho do produto (SHEKUNOV; YORK, 2000).

Embora as reações de cristalização ocorram quase sempre simultaneamente, elas são separadas basicamente em duas etapas: a nucleação e o crescimento dos cristais (LINDFORS et al., 2008; KAWASAKI; TANAKA, 2010). A nucleação é o início do processo de cristalização, onde íons, átomos ou moléculas arranjam-se no padrão característico do sólido cristalino, formando um núcleo onde moléculas adicionais ordenadamente serão reunidas para o crescimento do cristal. Em teoria, a nucleação é controlada pela competição entre o ganho de energia livre devido à transformação líquido-cristal e a perda desta energia associada a formação da interface líquido-cristalina (LINDFORS et al., 2008; CHEN et al., 2011). Durante esta etapa, define-se a fase cristalina formada e o número de partículas resultantes final (ERDEMIR; LEE; MYERSON, 2009; CHEN et al., 2011). O próximo processo da cristalização é o crescimento dos cristais, que ocorre de camada em camada com a evolução definida pelo empacotamento da célula unitária. O processo também é afetado pela presença de moléculas de solvente e de aditivos (BHOOGALA et al., 2008). Nesta etapa ocorrem os processos de resolução quiral e polimórfica e o controle do tamanho e morfologia da partícula (BLAGDEN et al., 2007; CHEN et al., 2011).

Diversas técnicas são utilizadas nos processos de cristalização na área farmacêutica, sendo mais comuns as reações em soluções líquidas por evaporação ou resfriamento do solvente e adição de antissolvente (BAG; PATNI; REDDY, 2011; GAGNIERE et al., 2011). Porém, outras técnicas têm surgido com o intuito de diminuir a produção de resíduos químicos, melhorar a efetiva capacidade de *screening* de novas formas sólidas e aumentar o controle dos sistemas em desenvolvimento. Dentre os novos processos tecnológicos destacam-se os métodos de cristalização por reação e suspensão (*slurry*), a utilização de fluido supercrítico, as reações livres de solvente via moagem e aquecimento e a heteronucleação via filmes poliméricos (BAG; PATNI; REDDY, 2011; GAGNIERE et al., 2011; MALAJ et al., 2011; COX; FERRIS; THALLADI, 2007; TAKATA et al., 2008; PADRELA et al., 2010; BYSOUTH; BIS; IGO, 2011; CHEN et al., 2011).

A cristalização por evaporação lenta do solvente é uma técnica tradicionalmente utilizada para obtenção de monocristais. Esta consiste no preparo de soluções saturadas do fármaco seguidas de filtração ou não para remoção de impurezas, e finalmente, repouso por período variável, normalmente dias a semanas, até o crescimento dos cristais. A cristalização ocorre em função da supersaturação da solução que é atingida pela evaporação do solvente. A taxa de evaporação pode ser controlada através da variação de temperatura ou da vedação parcial ou completa do recipiente (GULLORY, 1999). Monocristais de tamanhos suficientes para serem analisados são frequentemente obtidos por esta técnica (RIVERA et al., 2000; CUFFINI et al., 2007; PALUCH et al., 2011).

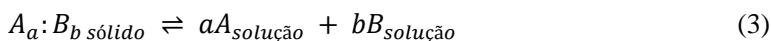
Materiais monocristalinos também têm sido obtidos com sucesso através da técnica de cristalização em gel (DHANARAJ et al., 2010; CHOQUESILLO-LAZARTE; GARCÍA-RUIZ, 2011). Neste método, os compostos difundem através de um meio geleificado inativo onde há a menor densidade de nucleação, o que favorece a formação de cristais maiores, de boa qualidade e isolados distribuídos espacialmente (DHANARAJ et al., 2010). A cristalização em gel permite o controle efetivo sobre fatores como densidade, concentração e pH do meio e apresenta-se como um método simples e adequado para obtenção de monocristais de sais, compostos de pequenas moléculas e macromoléculas (GARCÍA-RUIZ et al., 1998; CHOQUESILLO-LAZARTE; GARCÍA-RUIZ, 2011) e ainda, demonstra-se ideal para os sistemas cocrystalinos.

A técnica de moagem assistida (LAG, do inglês *Liquid Assisted Grinding*) tem sido amplamente empregada em estudos de *screening* de

cocristais demonstrando-se muito promissora (SHAN; TODA; JONES; 2002; TRASK; MOTHERWELL; JONES, 2004; WEYNA et al., 2009; QIAO et al., 2011). Na LAG, fármaco e *coformer* são misturados em quantidades estequiométricas seguido por adição de pequenas quantidades de solvente as quais são submetidas à moagem, podendo esta ser manual, com auxílio de gral e pistilo, ou mecânica em moinho de bolas ou vibratório. A grande eficiência desta técnica consiste em efeitos cinéticos de incremento da taxa de reação na presença de líquido. A natureza dos solventes utilizados na LAG pode ter efeito impactante no processo da reação mecanoquímica que está relacionado com as interações soluto-solvente em nível molecular e seus efeitos sobre a nucleação e o crescimento cristalino (QIAO et al., 2011).

Outra técnica de grande visibilidade no *screening* de cocristais farmacêuticos é a cristalização por suspensão (*slurry*). Nela, fármaco e *coformer* são suspensos em solvente pré-determinado e deixados sob agitação durante certo tempo. Esta abordagem é baseada no equilíbrio químico entre os reagentes formadores e o cocristal em suspensão e por apresentar a mesma base da técnica seguinte está mais detalhada adiante (BUCAR et al., 2010). A rápida obtenção de diversos cocristais através da cristalização por *slurry* demonstra a viabilidade e a praticidade desta técnica (TAKATA et al., 2008; KOJIMA et al.; 2010).

Ainda dentro das técnicas de cristalização em solução, a cristalização por reação também se destaca no *screening* de cocristais e diferencia-se das anteriores principalmente por tratar-se de uma condição não estequiométrica. Esta técnica está fundamentada em considerações de equilíbrio e comportamento de solubilidade do cocristal (RODRÍGUEZ-HORNEDO et al., 2006). Considerando-se a reação de equilíbrio para um cocristal binário A:B dissociando-se em solução em A e B de acordo com a equação 3:



Em que, A:B representa o cocristal, A o fármaco, B o *coformer* e os subscritos referem-se ao número de moléculas estequiométricas de A e B no cocristal. A constante de equilíbrio para esta reação é dada pela equação 4:

$$K_{eq} = \frac{a_A^a a_B^b}{a_{A:B}} \quad (4)$$

e é proporcional aos produtos de atividade termodinâmicos dos componentes do cocrystal. Se a atividade do sólido é igual a 1 ou constante, a solubilidade do cocrystal pode ser descrita através do produto de solubilidade (K_{sp}) (Equação 5):

$$K_{sp} = a_A^a a_B^b \approx [A]^a [B]^b \quad (5)$$

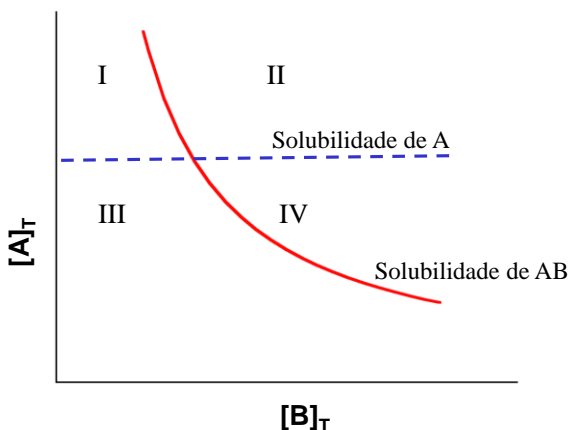
Em que [A] e [B] são as concentrações molares de cada componente do cocrystal em equilíbrio enquanto a atividade dos coeficientes for unidade (RODRÍGUEZ-HORNEDO et al., 2006).

Com base neste comportamento, através da adição de excessos de suas estequiometrias de fármaco ou *coformer* à solução ocorre diminuição da solubilidade do cocrystal, gerando supersaturação da solução e, finalmente, a nucleação e a cristalização do complexo molecular (RODRÍGUEZ-HORNEDO et al., 2006; CHILDS et al., 2008).

O diagrama de solubilidade de fase do cocrystal (Figura 4) em que este método é baseado demonstra condições de insaturação, saturação e supersaturação com relação ao cocrystal e/ou às fases únicas cristalinas. Enquanto a cristalização ocorre em condições supersaturadas, ocorrerá dissolução em condições de insaturação. O domínio I é supersaturado com relação ao reagente A (fármaco) mas insaturado com respeito ao cocrystal (AB). Ambos A e AB estão supersaturados no domínio II mas insaturados no domínio III. Por fim, o domínio IV é supersaturado com relação a AB mas insaturado em respeito a A. Este gráfico também representa as regiões de estabilidade termodinâmica onde as formas cristalinas tendem a dissolver-se ou têm o potencial de cristalizarem-se (NEHM et al., 2006; RODRÍGUEZ-HORNEDO et al., 2006; GOOD; RODRÍGUEZ-HORNEDO, 2009).

Portanto, a supersaturação com relação unicamente ao cocrystal pode ser gerada preparando-se soluções dos reagentes A e B de tal modo que as concentrações se encontrem na região IV. Esta condição pode ser alcançada através da mistura de soluções onde os reagentes estão dissolvidos ou dissolvendo-se o(s) reagente(s) sólido(s) A e/ou B no solvente puro ou em soluções dos reagentes. As fases sólidas A e B podem então transformar-se em cocrystal (AB) através de reação mediada em solução. Enquanto o cocrystal AB é formado, ele consome A e B da solução e mais reagentes dissolvem-se até que o processo atinja o estado de equilíbrio determinado pela curva de solubilidade do cocrystal (NEHM et al., 2006; RODRÍGUEZ-HORNEDO et al., 2006).

Figura 4 – Diagrama de solubilidade de fase para um cristal A e cocrystal AB



Fonte: Adaptado de Nehm et al. (2006).

1.4 CLORIDRATO DE TERBINAFINA

O cloridrato de terbinafina (TBF) é um potente agente antifúngico da classe das alilaminas recomendado para infecções fúngicas superficiais de pele e unhas, uma vez que possui um amplo espectro de ação contra leveduras, fungos dimórficos e dermatófitos (PETRANYI; RYDER; STÜTZ, 1984; STÜTZ; PETRANYI, 1984; STÜTZ, 1987; GUPTA; SHEAR; VILLARS; MARSOLAIS, 1992; ALBERTI et al., 2001a). O seu mecanismo de ação envolve a inibição irreversível da enzima esqualeno epoxidase na biossíntese do ergosterol fúngico, promovendo a acumulação intracelular de esqualeno, que por sua vez, compromete a integridade da parede celular (RYDER, 1992; ALBERTI et al., 2001a).

O TBF é extremamente efetivo no tratamento de infecções dermatofílicas de pele, produzindo aproximadamente 90 % de cura micológica em pacientes com *Tinea corporis/pruritis* e *Tinea pedis*, com cura clínica em cerca de 80 % dos casos (BALFOUR; FAULDS, 1992; FROMTLING, 1992; ABDEL-RAHMAN; NAHATA, 1997; RYDER; FAVRE, 1997; McCLELLAN et al., 1999).

Aproximadamente 70 a 80 % da administração oral é absorvida no trato gastrointestinal (KOVARICK et al., 1992; KORTING et al., 1995). A dose oral única de 250 mg produz pico de C_{\max} de 0,86 a 1,34

mg/L, duas horas (T_{max}) após a administração (McCLELLAN et al., 1999). O TBF é extensivamente distribuído para tecido e fluidos corporais, incluindo leite materno, após administração oral. Por ser um fármaco altamente lipofílico e queratofílico (log P 3,3), o TBF é distribuído no tecido adiposo, derme, epiderme e unhas (KOVARICK et al., 1995; GUPTA; SHEAR, 1997; ALBERTI et al., 2001b; TANRIVERDI; ÖZER, 2013). Devido às suas características lipofílicas, liga-se fortemente e de maneira não específica às proteínas plasmáticas (BALFOUR; FAULDS, 1992).

O fármaco absorvido é rapidamente metabolizado no fígado e sofre extensa biotransformação através de N-desmetilação e oxidação do grupo butil (ZEHENDER et al., 1995). A meia-vida de eliminação do TBF varia de 16 a 26 horas após administração oral de 250 mg (McCLELLAN et al., 1999).

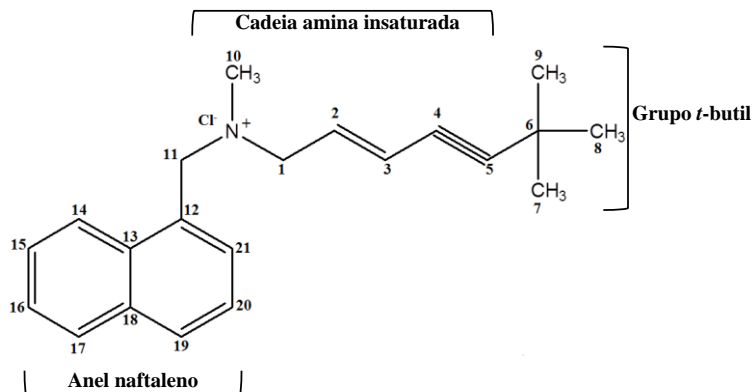
O TBF foi desenvolvido em 1983 pelo laboratório Sandoz, tornando-se comercialmente disponível na forma de creme no ano de 1991. A forma oral foi aprovada nos Estados Unidos no ano de 1996 e ficou disponível no mercado somente como medicamento referência Lamisil® (Novartis Pharmaceuticals) até dezembro de 2006, quando sua patente expirou (SAKAI et al., 2011).

No Brasil, o TBF é comercializado na forma de comprimidos e cápsulas contendo 125 e 250 mg do fármaco bem como na forma de cremes (10 mg/g) e sprays de soluções (10 mg/mL).

Quimicamente chamado de cloridrato de (*E*)-*N*-(6,6-dimetil-2-hepten-4-inil)-*N*-metil-1-naftalenometilamina, o TBF é um pó branco ou quase branco, muito ligeiramente ou ligeiramente solúvel em água, facilmente solúvel em etanol anidro e em metanol e levemente solúvel em acetona. Apresenta faixa de fusão entre 204 e 208 °C (BRITISH PHARMACOPOEIA, 2009). As informações sobre a sua classificação no SCB são divergentes, sendo encontradas na literatura como classe I e II (TUBIC-GROZDANIS; BOLGER; LANGGUTH, 2008; JAIN et al., 2011). Considerando a sua solubilidade em água classificada como ligeiramente solúvel (BRITISH PHARMACOPOEIA, 2009), assumimos neste trabalho o TBF como pertencente à classe II do SCB.

Como se verifica na Figura 5, a molécula apresenta um anel naftaleno substituído com cadeia lateral amina insaturada e grupo terminal *t*-butil. O grupamento amina fornece à molécula caráter básico e a mesma apresenta pK_a 7,1 (ALBERTI et al., 2001a; TANRIVERDI; ÖZER, 2013).

Figura 5 – Estrutura química do cloridrato de terbinafina



A configuração *trans* da ligação dupla é uma importante modificação estrutural uma vez que aumenta a atividade antifúngica, particularmente após administração oral. O correspondente isômero *cis* apresenta atividade significativamente menor. O grupo *t*-butilacetileno do TBF é responsável por aumento de 10 a 100 vezes na atividade *in vitro* e eficácia oral em relação à naftifina (STÜTZ; PETRANI, 1984; STÜTZ, 1987).

A baixa solubilidade em água do TBF é motivo de vários estudos que visam contornar esta limitação através de diferentes estratégias como a utilização de dispersões sólidas (KUMAR et al., 2008a; KUMAR et al., 2008b; AGGARWAL; JINDAL, 2014), a formação de complexos com ciclodextrinas (UZQUEDA et al., 2010) e o desenvolvimento de nanopartículas lipídicas sólidas (VAGHASIYA; KUMAR; SAWANT, 2013).

Embora o polimorfismo seja um fenômeno muito comum em fármacos, não há relatos sobre o polimorfismo ou solvatos do TBF publicados na literatura. Em alguns casos, a inexistência de polimorfismo pode ser uma vantagem, uma vez que nenhuma transformação de fase ocorre, o que poderia afetar algumas etapas do desenvolvimento farmacêutico ou o desempenho do medicamento (BRITAIN, 2002; ZHANG et al., 2004).

Entretanto, são escassas na literatura informações sobre as características do estado sólido do TBF. Com relação às propriedades cristalográficas, o banco de dados da Cambridge, (CSD, do inglês *Cambridge Structural Database*) apresenta apenas uma estrutura

cristalina depositada em 2002 por Tedesco, Giron e Pfeffer (TEDESCO; GIRON; PFEFFER, 2002) com dados obtidos através de difração de raios X a partir de fontes de radiação síncrotron. Estes autores identificaram os parâmetros de célula e grupo espacial, porém não foram relatadas coordenadas posicionais atômicas.

1.5 CARVEDILOL

O carvedilol (CAR) é um agente anti-hipertensivo de terceira geração que apresenta múltiplas ações no sistema cardiovascular. Este fármaco exhibe propriedades β -bloqueadoras não seletivas e propriedades vasodilatadoras atribuídas ao bloqueio α -adrenérgico. Devido ao bloqueio dos receptores β -adrenérgicos, o CAR suprime o sistema renina-angiotensina-aldosterona e o bloqueio dos receptores α_1 -adrenérgicos resulta na redução da resistência vascular periférica por vasodilatação (ROBERT; RUFFOLO; FEUERSTEIN, 1997).

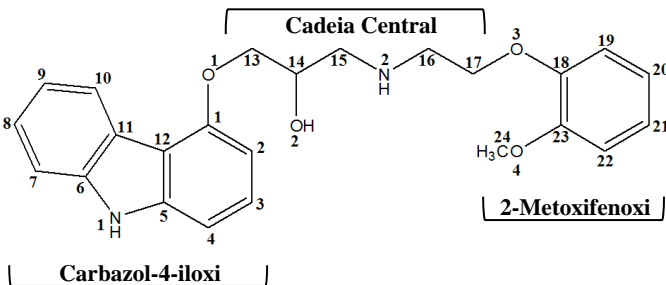
O CAR é o único β -bloqueador que apresenta o grupo carbazol em sua estrutura. A este grupo atribui-se a sua atividade antioxidante responsável pela cardioproteção, capaz de reduzir a mortalidade e morbidade dos pacientes (YUE; RUFFOLO; FEUERSTEIN, 1999). Devido às suas propriedades, o CAR é utilizado no tratamento da insuficiência cardíaca congestiva, da angina do peito e da hipertensão arterial (BRISTOW et al., 2003). A aprovação do CAR para uso no Brasil ocorreu em 1999 e em 2001 o FDA aprovou o uso do fármaco para o tratamento da insuficiência cardíaca grave, sendo o único β -bloqueador indicado para o aumento da sobrevida em pacientes com insuficiência cardíaca leve, moderada e grave (GSK, 2007). No Brasil, o CAR é comercializado sob forma de comprimidos de 3,125; 6,25; 12,5 e 25 mg e cápsulas manipuladas em farmácias magistrais.

Após administração oral, o CAR é rapidamente absorvido, atingindo a concentração sérica máxima em aproximadamente 1 hora. É um fármaco altamente lipofílico e cerca de 98 % do mesmo liga-se às proteínas plasmáticas. O CAR é extensamente metabolizado no fígado, principalmente por reações de glucuronidação, a diversos metabólitos que são eliminados principalmente pela bile. O efeito de primeira passagem após administração oral é estereosseletivo. A biodisponibilidade oral do *R*-CAR é duas vezes maior que para o *S*-CAR, 30 % para o primeiro e 15 % para segundo, sendo a biodisponibilidade absoluta de 25 % (RUFFOLO et al., 1990; GEHR et al., 1999). A desmetilação e a hidroxilação do anel fenólico produzem três metabólitos com atividade β -bloqueadora, os quais possuem atividade vasodilatadora fraca. Além

disso, dois metabólitos do CAR são antioxidantes 30 a 80 vezes mais potentes que o próprio CAR (RUFFOLO et al., 1990).

Apresentando fórmula molecular $C_{24}H_{26}N_2O_4$, massa molar de 406,5 g/mol e estrutura química conforme ilustrado na Figura 6, o CAR apresenta-se fisicamente como um pó cristalino branco ou quase branco, praticamente insolúvel em água, ligeiramente solúvel em álcool e praticamente insolúvel em ácidos diluídos (BRITISH PHARMACOPOEIA, 2009). Ainda, trata-se de uma base fraca, com valores de pK_a encontrados na literatura entre 7,6 e 8,2 e solubilidade dependente do pH (CARON et al., 1999; MARQUES et al., 2002; SHEWALE et al., 2008; BEATTIE; PHADKE; NOVAKOVIC, 2013). O CAR tem sua solubilidade aumentada em pH baixo devido à protonação que ocorre na amina secundária presente na cadeia central (MARQUES et al., 2002; LOFTSSON et al., 2008). A matéria-prima é comercializada na forma de racemato; os enantiômeros do CAR apresentam atividade semelhante sobre os receptores α_1 -adrenérgicos, porém o bloqueio β -adrenérgico é atribuído ao *S*-enantiômero (GEHR et al., 1999).

Figura 6 – Estrutura química do carvedilol.



Como se observa na Figura 6, a molécula apresenta um grupo carbazol ligado ao grupo metoxifenoxi por uma cadeia central. Para a estabilização do empacotamento cristalino, a hidroxila e a amina da cadeia central, o grupo amino do carbazol e ainda, os oxigênios da cadeia central e do grupo metofenoxi possibilitam a ocorrência de ligações de hidrogênio importantes no que se refere a interações fármaco-fármaco e fármaco-excipientes (PRADO et al., 2014).

O CAR exibe polimorfismo, podendo apresentar-se em diferentes formas cristalinas. Na nomenclatura utilizada nas patentes encontram-se variações entre as denominações para uma mesma forma

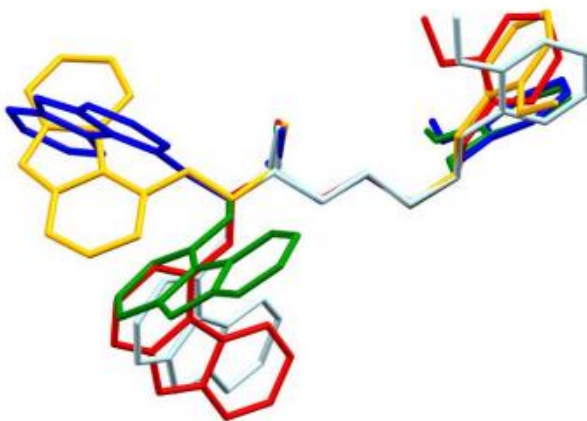
cristalina e a literatura contém poucos dados de caracterização das estruturas cristalinas do CAR. Dentre as formas descritas em patentes internacionais existem três polimorfos, um hidrato e quatro solvatos (ERHARD; PETER, 1999; REINHOLZ; BEYER, 1999; HILDESHEIM et al., 2002; CHEN; GALOP; OH, 2004; RAMANJANEYULU et al., 2004; KUMAR; RAO; KISHORE, 2004; CHEN, LAMEY; OH, 2006; BUBENDORF et al., 2006; LIFSHITZ; WIZEL, 2006; KOR-SADE; WIZEL, 2009).

No CSD estão depositadas duas estruturas, uma delas empacota-se em um grupo espacial centrossimétrico $P2_1/c$ com quatro moléculas na célula unitária (CHEN et al., 1998) e a outra forma também cristaliza no sistema cristalino monoclinico e grupo espacial $P2_1/c$ com quatro moléculas na célula unitária (YATHIRAJAN et al., 2007). Estas formas diferem em suas conformações moleculares e em seus parâmetros de rede. Além destas estruturas, a literatura apresenta um hemidrato de CAR que cristaliza como racemato em grupo espacial $P2_1/n$ com duas moléculas independentes do fármaco e uma molécula de água na unidade assimétrica (DÍAZ et al., 2011). Recentemente, uma nova estrutura cristalina do CAR foi elucidada e também empacota-se em grupo espacial $P2_1/c$ (PRADO et al, 2014).

As formas cristalinas I (CHEN et al., 1998), II (YATHIRAJAN et al., 2007), III (PRADO et al, 2014) e hidrato (DÍAZ et al., 2011) do CAR tratam-se de misturas racêmicas (grupo espacial centrossimétrico). As formas I, II e III apresentam dois pares de enantiomorfos na célula unitária. O hidrato apresenta quatro pares de enantiomorfos na célula unitária, sendo dois pares formados pela molécula 1 e dois pela molécula 2 (PRADO, 2012).

A principal diferença entre as formas cristalinas do CAR reside na conformação molecular. As imagens da superposição das moléculas das formas cristalinas I, II, III e hidrato do CAR expõem variações conformacionais relacionadas principalmente às diferentes orientações do grupo carbazol-4-iloxi (Figura 7). Observam-se também diferenças nas orientações do grupo metoxifenoxi ligado do lado oposto da cadeia alifática central (PRADO, 2014).

Figura 7 – Superposição dos enantiomorfos S presentes nas formas cristalinas do CAR. Forma I (vermelho), forma II (amarelo), forma III (verde), molécula 1 do hidrato (azul claro), molécula 2 do hidrato (azul). Os hidrogênios não foram mostrados para melhor visualização.



Adaptado de PRADO, 2014.

Neste âmbito, o β -bloqueador CAR, fármaco eficaz no tratamento de distúrbios cardiovasculares, apresenta-se como um candidato em potencial ao desenvolvimento de cristais multicomponentes, uma vez que apresenta reduzida biodisponibilidade e baixíssima solubilidade em água, sendo caracterizado como classe II no SCB (STROE; GHEORGHIADÉ, 2004; WU; BENET, 2005; SWEETMAN, 2009).

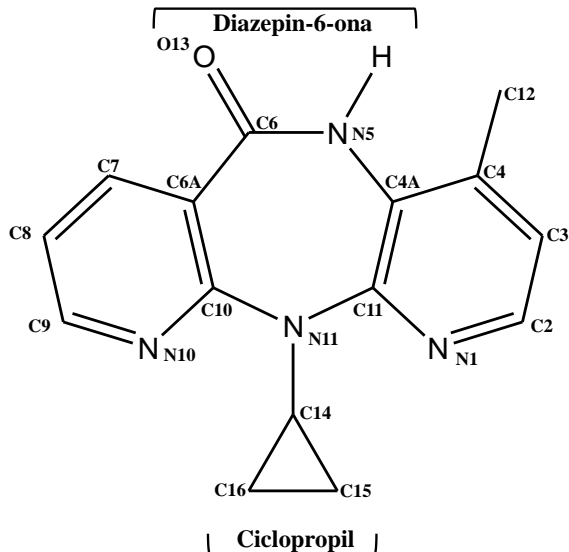
1.6 NEVIRAPINA

O antirretroviral nevirapina (NVP), pertencente à classe das dipiridodiazepinonas, é um inibidor não-nucleosídeo da transcriptase reversa (INNTR) utilizado em terapias combinadas para o tratamento da síndrome da imunodeficiência adquirida (SIDA) causada por infecção pelo vírus HIV-1 (GROB et al., 1992; GOODMAN, GILMAN, 2008). Ainda, é recomendada na profilaxia da transmissão vertical do HIV e na terapia antirretroviral em gestantes (BRASIL, 2003). Encontra-se disponível comercialmente sob a forma de comprimidos de 200 mg e em suspensão oral contendo 10 mg/mL de NVP na forma hemidrato.

O mecanismo de ação dos INNTR envolve a inibição não competitiva através da ligação a um sítio alostérico da enzima. Como resultado desta interação, o sítio ativo responsável pela formação da dupla hélice de DNA tem sua mobilidade e flexibilidade reduzidas levando a uma drástica redução da eficiência da enzima (GROB et al., 1992; HANNONGBUA; PRASITHICHOKEKUL; PUNGPO, 2001; GOODMAN, GILMAN, 2008; SHEN et al., 2003).

A NVP, quimicamente chamada como 11-ciclopropil-5,11-dihidro-4-metil-6H-dipirido[3,2-b:2',3']-[1,4]diazepin-6-ona, é uma base fraca, com pKa 2,8 e que conseqüentemente, possui solubilidade aumentada em soluções ácidas (com valores de pH menores que 3) (PEREIRA et al., 2007). Apresenta fórmula molecular $C_{15}H_{14}N_4O$, massa molar de 266,3 g/mol e estrutura química conforme apresentado na Figura 8. Fisicamente, a NVP é um pó cristalino branco ou quase branco, praticamente insolúvel em água, moderadamente ou ligeiramente solúvel em diclorometano e ligeiramente solúvel em metanol (BRITISH PHARMACOPOEIA, 2009; USP, 2011).

Figura 8 – Estrutura química da nevirapina.



Fonte: Adaptado de Raju; Burton; Hillier (2010).

Como apresentado na Figura 9, a molécula possui dois anéis piridínicos (um deles substituído com uma metila no C4) ligados entre si por um grupo hidrofílico central, diazepin-6-ona, ao qual encontra-se ligado o radical ciclopropil através do N11. A estrutura adota uma conformação em “ borboleta” essencial para sua ligação no sítio enzimático (HANNONGBUA; PRASITHICHOKEKUL; PUNGPO, 2001; CUNICO; GOMES; VELLASCO JUNIOR, 2008).

Embora a NVP pareça ser bem absorvida por via oral, em doses mais altas a sua biodisponibilidade é baixa e variável. Observou-se que a administração única de 400 mg/dia substituindo a terapêutica convencional de 200 mg duas vezes ao dia resultou em perfis de biodisponibilidade variável. Este fato é atribuído à sua baixa solubilidade e absorção limitada pela taxa de dissolução (KAPPELHOFF et al., 2005).

No CSD é possível encontrar diversas estruturas cristalinas contendo NVP, dentre elas a estrutura anidra (MUI et al., 1992; CAIRA et al., 2008), o hemidrato (PEREIRA et al., 2007; CAIRA et al., 2008), os solvatos de 1-hexanol, 1-heptanol, 1-octanol, 1-butanol, etanol (STIEGER et al., 2010), *n*-butanol (SILVA et al., 2008), acetato de etila (PEREIRA et al., 2007; CAIRA et al., 2008) diclorometano, tolueno e 1,4 dioxano (CAIRA et al., 2008) e ainda, cocristais com os *coformers* ácido glutárico, ácido maleico, sacarina, ácido salicílico e ácido tartárico (CAIRA et al., 2012).

2 REFERÊNCIAS

- AALTONEN, J.; GORDON, K. C.; STRACHAN, C. J.; RADES, T. Perspectives in the use of spectroscopy to characterise pharmaceutical solids. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 364, n. 2, p. 159–169, 2008.
- AAKERÖY, C. B.; FASULO, M. E.; DESPER, J. Cocrystal or salt: Does it really matter? **Molecular Pharmaceutics**, v. 4, n. 3, p. 317–322, 2007.
- ABDEL-RAHMAN, S.; NAHATA, M. Oral terbinafine: a new antifungal agent. **The Annals of Pharmacotherapy**, v. 31, p. 445–456, 1997.
- AGGARWAL, A. K.; JINDAL, P. Interaction of terbinafine hydrochloride with nicotinamide in solution and solid state. **Journal of Pharmaceutical Investigation**, v.44, p. 23–32, 2014.
- AITIPAMULA, S.; BANERJEE, R.; BANSAL, A. K.; BIRADHA, K.; CHENEY, M. L.; CHOUDHURY, A. R.; DESIRAJU, G. R.; DIKUNDWAR, A. G.; DUBEY, R.; DUGGIRALA, N. Polymorphs, Salts, and Cocrystals: What's in a Name? **Crystal Growth & Design**, v. 12, n. 5, p. 2147-2152, 2012.
- ALBERTI, I.; KALIA, Y.N.; NAIK, A.; BONNY, J.D.; GUY, R. H. R.H. *In vivo* assessment of enhanced topical delivery of terbinafine to human stratum corneum. **Journal of Controlled Release**, v. 71, p. 319–327, 2001a.
- ALBERTI, I.; KALIA, Y.N.; NAIK, A.; GUY, R. H. Assessment and prediction of the cutaneous bioavailability of topical terbinafine, *in vivo*, in man. **Pharmaceutical Research**, v. 18, p. 1472–1475, 2001b.
- ALHALAWEH, A.; ROY, L.; RODRIGUEZ-HORNEDO, N.; VELAGA, S.P. pH-dependent solubility of indomethacin-saccharin and carbamazepine-saccharine cocrystals in aqueous media. **Molecular Pharmaceutics**, v. 9, 2605–2612, 2012.
- ALMARSSON, O.; ZAWOROTKO, M. J. Crystal engineering of the composition of pharmaceutical phases. Do pharmaceutical co-crystals

represent a new path to improved medicines? **Chemical Communications**, v. 7, 1889 – 1896, 2004.

AMIDON, G. L.; LENNERNÅS, H; SHAH, V. P; CRISON, J.R. A theoretical basis for a biopharmaceutic drug classification: the correlation of in vitro drug product dissolution and in vivo bioavailability. **Pharmaceutical Research**, v.12, p.413-420, 1995.

ARAUJO, G. L. B.; PITALUGA JR, A.; ANTONIO, S. G.; SANTOS, C. O. P.; MATOS, J. R. Polimorfismo na produção de medicamentos. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 33, n. 1, p. 27–36, 2012.

ASHFORD, M. Biodisponibilidade – Fatores físico-químicos e relacionados à forma farmacêutica. In: AULTON, M. E. **Delineamento de Formas Farmacêuticas**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005, p. 245 – 263.

BABU, N. J.; NANGIA, A. Solubility advantage of amorphous drugs and pharmaceutical cocrystals. **Crystal Growth & Design**, v. 11, n. 7, p. 2662-2679, 2011.

BAERT, L. E. C.; REMENAR, J. F.; SANSONE, M. F.; TAWA, M. **Cocrystal of etravirine and nicotinamide**: secondary title. Europe Union: Tibotec Pharmaceuticals, 2012. EP 2413936 A1, 12 p.

BAG, P. P.; PATNI, M.; REDDY, C. M. A kinetically controlled crystallization process for identifying new co-crystal forms: fast evaporation of solvent from solutions to dryness. **Crystal Engineering Communications**, v. 13, n. 19, p. 5650-5652, 2011.

BALFOUR, J. A.; FAULDS, D. Terbinafine. A Review of its pharmacodynamic; pharmacokinetic properties, therapeutic potential in superficial mycoses. **Drugs**, v. 43, n. 2, p. 259–284, 1992.

BEATTIE, K.; PHADKE, G.; NOVAKOVIC, J. Carvedilol. In: BRITAIN, H. (Ed.) **Profiles of Drug Substances, Excipients and Related Methodology**. San Diego: Academic Press, 2013.

BERNSTEIN, J. **Polymorphism in molecular crystals**. Oxford: Oxford University Press, 2002. 410 p.

BETHUNE, S. J.; SCHULTHEISS, N.; HENCK, J. O. Improving the poor aqueous solubility of nutraceutical compound pterostilbene through cocrystal formation. **Crystal Growth & Design**, v. 11, n. 7, p. 2817-2823, 2011.

BLACK, S.N.; COLLIER, E.A.; DAVEY, R.J.; ROBERTS, R.J. Structure, solubility, screening and synthesis of molecular salts. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 96, p. 1053–1068. 2007.

BOND, A. D. Fundamental Aspects of Salts and Co-crystals. In: WOUTERS, J.; QUÉRÉ, L. (Ed.). **Pharmaceutical Salts and Co-crystals**. Cambridge: The Royal Society of Chemistry, 2012, p.390.

BRASIL. **Recomendações para profilaxia da transmissão vertical do HIV e terapia anti-retroviral em gestantes**. Ministério da Saúde – CN–DST/AIDS, 2003. 39 p.

BRASIL. Resolução nº 37, de 03 de agosto de 2011. **Dispõe sobre o Guia para isenção e substituição de estudos de biodisponibilidade relativa/bioequivalência e dá outras providências**. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 2011. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2011/res0037_03_08_2011.html>. Acesso em: 17 jun. 2013.

BRISTOW, M. R.; FELDMAN, A. M.; ADAMS, K. F. JR.; GOLDSTEIN, S. Selective versus nonselective β -blockade for heart failure therapy: are the lessons to be learned from the COMET trial. **Journal of Cardiac Failure**, v. 9, n. 6, p. 444–453, 2003.

BRITISH PHARMACOPOEIA, The Department of Health. London, 2009.

BRITAIN, H. G. **Physical Characterization of Pharmaceutical Solids**. New York: Marcel Dekker, 1995. v.70. 424 p.

BRITAIN H. G. Polymorphism: Pharmaceutical Aspects. In: SWARBRICK, J. **Encyclopedia of Pharmaceutical Technology**. 2 ed. New York: Marcel Dekker, 2002. p. 2239-2249.

BRITAIN. **Polymorphism in Pharmaceutical Solids**. New York: Informa Healthcare, 2009. v.192. 640 p. (Drugs and the Pharmaceutical Sciences).

BUBENDORF, A. G.; ROLF-DIETER, G.; HENNIG, M.; KRIMMER, S.; NEUGEBAUER, G.; PREIS, W.; WIRL, A. **Pseudopolymorphic Forms of Carvedilol**. US 20060148878, 6 jul. 2006. 16 p.

BUENO, M. M.; RECH, N. Insumos farmacêuticos – Aspectos técnicos, científicos e regulatórios. In: STORPIRTIS, S.; GONÇALVES, J. E.; CHIANN, C.; GAI, M. N. **Ciências Farmacêuticas: Biofarmacotécnica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2009. p. 12–20.

BURT, H. M.; MITCHELL, A.G. Effect of habit modification on dissolution rate. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 5, p. 239–251, 1980.

BUSCHMANN, H. H.; TESSON, N.; FARRAN, J. **Co-crystals of tramadol and paracetamol**. European Union: Laboratorios del Dr. Esteve, S.A., Barcelona (ES), 2010. EP 2199274 A1, 19 p.

BYRN, S. R.; PFEIFFER, R. R.; STOWELL, J. G. **Solid-State chemistry of Drugs**. Indiana: SSCI, 1999. 574 p.

BYSOUTH, S. R.; BIS, J. A.; IGO, D. CocrySTALLIZATION via planetary milling: Enhancing throughput of solid-state screening methods. **International journal of pharmaceutics**, v. 411, n. 1, p. 169-171, 2011.

CAIRA, M. R.; STIEGER, N.; LIEBENBERG, W.; DE VILLIERS, M. M.; SAMSODIEN, H. Solvent inclusion by the anti-HIV drug nevirapine: X-ray structures and thermal decomposition of representative solvates. **Crystal Growth and Design**, v. 8, p. 17–23, 2008.

CAIRA, M. R.; BOURNE, S. A.; SAMSODIEN, H.; ENGEL, E.; LIEBENBERG, W.; STIEGER, N.; AUCAMP, M. Co-crystals of the antiretroviral nevirapine: crystal structures, thermal analysis and dissolution behavior. **Crystal Engineering Communication**, v. 14, p. 2541–2551, 2012.

CALLISTER, W. D.; RETHWISCH, D. G. **Materials Science and Engineering: An Introduction**. New York: John Wiley & Sons, 2009. 992 p.

CARON, G.; STEYAERT, G.; PAGLIARA, A.; REYMOND, F.; CRIVORI, P.; GAILLARD, P.; CARRUPT, P.; AVDEEF, A.; CORNER, J.; BOX, J. K.; GIRUALT, H. H.; TESTA, B. Structure-lipophilicity relationships of neutral and protonated β -blockers (Part I). **Helvetica Chimica Acta**, v. 82, p. 1211–1222, 1999.

CHEN, W.-M.; ZENG, L.-M.; YU, K.-B.; XU, J.-H. Synthesis and crystal structure of carvedilol. **Jiegou Huaxue**, v. 17, n. 5, p. 325–328, 1998.

CHEN, W.; GALOP, M.; OH, C. K. **Carvedilol Polymorph**. US 20040152756A1, 5 ago. 2004. 16 p.

CHEN, W.; LAMEY, K. A.; OH, C. **Carvedilol Pharmsolve Solvate**. US 20060094771A1, 4 mai. 2006.

CHEN, J.; SARMA, B.; EVANS, J. M. B.; MYERSON, A. S. Pharmaceutical crystallization. **Crystal Growth & Design**, v. 11, n. 4, p. 887–895, 2011.

CHENEY, M.L.; WEYNA, D.R.; SHAN, N.; HANNA, M.; WOJTAS, L.; ZAWOROTKO, M.J. Cofomer selection in pharmaceutical cocrystal development: a case study of a meloxicam aspirin cocrystal that exhibits enhanced solubility and pharmacokinetics. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 100, p. 2172–2181. 2011.

CHIENG, N.; RADES, T.; AALTONEN, J. An overview of recent studies on the analysis of pharmaceutical polymorphs. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 55, n. 4, p. 618–644, 2011.

CHILDS, S. L.; CHYALL, L. J.; DUNLAP, J. T.; SMOLENSKAYA, V. N.; STAHLY, B. C.; STAHLY, G. P. Crystal engineering approach to forming cocrystals of amine hydrochlorides with organic acids. Molecular complexes of fluoxetine hydrochloride with benzoic, succinic, and fumaric acids. **Journal of the American Chemical Society**, v. 126, n. 41, p. 13335–13342, 2004.

CHILDS, S. L.; STAHLY, G. P.; PARK, A. The salt cocrystal continuum: the influence of crystal structure on ionization state. **Molecular Pharmaceutics**, v. 4, n. 3, p. 323–338, 2007.

CHILDS, S. L.; RODRÍGUEZ-HORNEDO, N.; REDDY, L. S.; JAYASANKAR, A.; MAHESHWARI, C.; MCCAUSLAND, L.; SHIPPLETT, R.; STAHLY, B. C. Screening strategies based on solubility and solution composition generate pharmaceutically acceptable cocrystals of carbamazepine. **Crystal Engineering Communications**, v. 10, n. 7, p. 856–864, 2008.

CHOQUESILLO-LAZARTE, D.; GARCÍA-RUIZ, J. M. Poly(ethylene) oxide for small-molecule crystal growth in gelled organic solvents. **Journal of Applied Crystallography**, v. 44, n. 1, p.172-176, 2011.

CUFFINI, S. L.; ELLENA, J. F.; MASCARENHAS, Y. P.; AYALAC, A. P.; SIELSER, H. W.; MENDES FILHO, J.; MONTI, G. A.; AIASSA, V.; SPERANDEO, N. R. Physicochemical characterization of deflazacort: Thermal analysis, crystallographic and spectroscopic study. **Steroids**, v. 72, p. 261–269, 2007.

CULLITY, B. D. **Elements of X-Ray Diffraction**. 2. ed. Massachusetts: Addison-Wesley, 1978. 555 p.

CUNICO, W.; GOMES, C. R. B.; VELLASCO JUNIOR, W. T. HIV – recentes avanços na pesquisa de fármacos. **Química Nova**, v. 31, p. 2111-2117, 2008.

DATTA, S.; GRANT, D. J. W. Crystal structures of drugs: advances in determination, prediction and engineering. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 3, n. 9, p. 42–57, 2004.

DANNEMANN; SIEMSEN; BIGLER; MOREIRA, I. **Cocrystal de Etravirina e Nicotinamida**. Brasil: Tibotec Pharmaceuticals, 2012. PI1012666-0 A2.

DANNEMANN; SIEMSEN; BIGLER; MOREIRA, I. **Cocrystal de Ticagrelor**. Brasil: Astrazenica AB, 2014. BR112013030547-9 A2.

DESIRAJU, G. R., Supramolecular Synthons in Crystal Engineering-A New Organic Synthesis. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 34, p. 2311-2327, 1995.

DESIRAJU, G. R., Designer crystals: intermolecular interactions, network structures and supramolecular synthons. **Chemical Communications**, 1475-1482, 1997.

DESTRI, G. L.; MARRAZZO, A.; RESCIFINA, A.; PUNZO, F. How molecular interactions affect crystal morphology: the case of haloperidol. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 100, n. 11, p. 4896-4906, 2011.

DESTRI, G. L.; MARRAZZO, A.; RESCIFINA, A.; PUNZO, F. Crystal morphologies and polymorphs in tolbutamide microcrystalline powder. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 102, p. 73-83, 2013.

DI MARTINO, P.; CENSI, R.; MALAJ, L.; CAPSONI, D.; MASSAROTTI, V.; MARTELLI, S. Influence of solvent and crystallization method on the crystal habit of metronidazole. **Crystal Research and Technology**, v. 42, 800-806, 2007.

DÍAZ, F.; BENASSI, A.; QUINTERO, M.; POLLA, G.; FREIRE, E.; BAGGIO, G. 1-(9H-Carbazol-4-yloxy)-3-{{2-(2-methoxyphenoxy) ethyl}amino}-propan-2-ol hemihydrate: a carvedilol solvatomorph. **Acta Crystallographica Section C**, v. 67, p. o222-o225, 2011.

DHANARAJ, G.; BYRAPPA, K.; PRASAD, V.; DUDLEY, M. **Springer Handbook of Crystal Growth**. Berlin: Springer Verlag, 2010.

DRESSMAN, J.B.; AMIDON, G.L.; REPPAS, C.; SHAH, V.P. Dissolution testing as a prognostics tool for oral absorption immediate dosage forms. **Pharmaceutical Research**, v. 15, p. 11-22, 1998.

ELDER, D.P.; DELANEY, E.; TEASEDALE, A.; EYLEY, S.; REIF VAN, D.; JACQ, K.; FACCHINE, K.L.; OESTRICH, R.; SANDRA, P.; DAVID, F. The utility of sulfonate salts in drug development. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 99, p. 2948–2961, 2010.

ELDER, D.P.; HOLM, R.; DIEGO, H. L. Use of pharmaceutical salts and cocrystals to address the issue of poor solubility. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 453, p. 88– 100, 2013.

ERDEMIR, D.; LEE, A. Y.; MYERSON, A. S. Nucleation of crystals from solution: classical and two-step models. **Accounts of chemical research**, v. 42, n. 5, p. 621–629, 2009.

ETTER, M. C.; JAHN, D. A.; DONAHUE, B. S., Growth and characterization of small molecule organic-crystals. **Journal of Crystal Growth**, v. 76, p. 645–655, 1986.

ETTER, M. C.; FRANKENBACH, G. M. Hydrogen-Bond directed cocrystallization as a tool for designing acentric organic solids. **Chemistry of Materials**, v. 1, n. 1, p. 3, 1989.

ETTER, M. C. Encoding and decoding hydrogen-bond patterns of organic compounds. **Accounts of Chemical Research**, v. 23, p. 120–126, 1990.

ETTER, M. C. Hydrogen bonds as design elements in organic chemistry. **The Journal of Physical Chemistry**, v. 95, n. 12, p. 4601–4610, 1991.

FARMACOPEIA BRASILEIRA. 5. ed. São Paulo: Atheneu, 2010.

FDA. **Guidance for Industry – Regulatory Classification of Pharmaceutical Co-crystals**. U.S. Department of Health and Human Services, 2011.

FLEISCHMAN, S. G.; KUDUVA, S. S.; MCMAHON, J. A.; MOULTON, B.; BAILEY WALSH, R. D. B.; RODRÍGUEZ-

HORNEDO, N.; ZAWOROTKO, M. J. Crystal engineering of the composition of pharmaceutical phases: multiple-component crystalline solids involving carbamazepine. **Crystal Growth and Design**, v.3, p. 909–919, 2003.

FLORENCE, A. T; ATTWOOD, D. **Princípios físico-químicos em farmácia**. 3. ed. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo, 2003, p. 29–65.

FROMTLING, R. A. Terbinafine (Lamisil). **Drugs of Today**, v.28, n. 7, p. 501–508, 1992.

GAGNIERE, E.; MANGIN, D.; PUEL, F.; VALOUR, J. P.; KLEIN, J. P.; MONNIER, O. Cocrystal formation in solution: Inducing phase transition by manipulating the amount of cocrystallizing agent. **Journal of Crystal Growth**, v. 316, n. 1, p. 118-125, 2011.

GEHR, T. W.; TENERO, D. M.; BOYLE, D. A.; QIAN, Y.; SICA, D. A.; SHUSTERMAN, N. H. The pharmacokinetics of carvedilol and its metabolites after single and multiple dose oral administration in patients with hypertension and renal insufficiency. **European Journal of Clinical Pharmacology**, v. 55, n. 4, p. 269-277, 1999.

GARCÍA-RUIZ, J. M.; GAVIRA1, J. A.; OTÁLORA, F.; GUASCH, A.; COLL, M. Reinforced protein crystals. **Materials Research Bulletin**, v. 33, p. 1593–1598, 1998.

GIACOVAZZO, C. **Fundamentals of Crystallography**. Oxford: Oxford University Press, 2011. 864 p.

GOOD, D. J.; RODRÍGUEZ-HORNEDO, N. Solubility advantage of pharmaceutical cocrystals. **Crystal Growth & Design**, v. 9, n. 5, p. 2252–2264, 2009.

GOODMAN, L. S; GILMAN, A. Antiretroviralagents and treatment of HIV infection. In: **Manual of Pharmacology and Therapeutics**. 11.ed. New York: Mc Graw Hill Medical, 2008, p. 846–848.

GROB, P. M.; WU, J. C.; COHEN, K. A.; INGRAHAM, R. H.; SHIH, C. K.; HARGRAVE, K. D.; MCTAGUE, T. L.; MERLUZZI, V. J.

Nonnucleoside inhibitors of HIV-1 reverse transcriptase: nevirapine as a prototype drug. **AIDS Research and Human Retroviruses**, v. 8, p.145–52, 1992.

GSK. GLAXOSMITHKLINE. New JACC analysis details cardiovascular protective benefits of carvedilol in heart failure patients, 2007. Disponível em: <<http://www.gsk.com/media/press-releases/2007/new-jacc-analysis-details-cardiovascular-protective-benefits-of-carvedilol-in-heart-failure-patients.html>>. Acesso em 24 de junho de 2013.

GULLORY, J. K. Generation of polymorphs, hydrates, solvates, and amorphous solids. In: BRITTAIN H. G. **Polymorphism in Pharmaceutical Solids**. New York: Marcel Dekker, 1999. p. 183–226.

GUPTA, A. K.; SHEAR, N. H. Terbinafine: an update. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 37, p. 979–988, 1997.

HAHN, T. **International Tables for Crystallography**. International Union of Crystallography, Boston, MA, 1987.

HANCOCK, B. C. Amorphous pharmaceutical systems. In: SWARBRICK, J. **Encyclopedia of Pharmaceutical Technology**. 3 ed. New York: Marcel Dekker, Inc., 2007, p. 83–91.

HALEBLIAN, J. Characterization of habits and crystalline modification of solids and their pharmaceutical applications. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 64, n.8, p. 1269–88, 1975.

HANNONGBUA, S.; PRASITHICHOKEKUL, S.; PUNGPO, P. Conformational analysis of nevirapine, a non-nucleoside HIV-1 reverse transcriptase inhibitor, based on quantum mechanical calculations. **Journal of Computer-Aided Molecular Design**, v. 15, p. 997–1004, 2001.

HE, X. Integration of physical, chemical, mechanical, and biopharmaceutical properties in solid oral dosage form development. In: QIU, Y.; CHEN, Y.; ZHANG, G. G. Z.; LIU, L.; PORTER, W. R. **Developing solid oral dosage forms**. Burlington: Academic Press, 2009, p. 410–441.

HILDESHEIM, J.; FINOGUEEV S.; ARONHIME, J.; DOLITZKY, B.Z.; BEN-VALID, S.; KOR, I. **Carvedilol**. WO 0200216, 3 jan. 2002. 42 p.

HILFIKER, R. **Polymorphism in the pharmaceutical industry**. Weinheim: WILLWY-VHC, 2006, p. 433.

ICH. INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION. **Specifications: Test procedures and acceptance criteria for new drug substances and new drug products: Chemical Substances, Q6A**, 1999. Disponível em: <www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Q6A/Step4/Q6Astep4.pdf>. Acesso em 14 jun. 2012.

JAIN, H.; GEDIYA, S.; SUTARIYA, V.; SHAH, H. Biopharmaceutical Classification System: A review. **Journal of Pharmaceutics and Cosmetology**, v. 1, p. 106-116, 2011.

KAPPELHOFF, B. S.; HUITEMA, A. D.; VAN LETH, F.; ROBINSON, P. A.; MACGREGOR, T. R.; LANGE, J. M. Pharmacokinetics of nevirapine: Once-daily versus twice-daily dosing in the 2NN study. **HIV Clinical Trials**, v. 6, p. 254–261, 2005.

KARKI, S.; FRIŠČIĆ, T.; JONES, W.; MOTHERWELL, W. D. S. Screening for pharmaceutical cocrystal hydrates via neat and liquid-assisted grinding. **Molecular Pharmaceutics**, v. 4, p. 347–354, 2007.

KAWABATA, Y.; WADA, K.; NAKATANI, M.; YAMADA, S.; ONOUE, S. Formulation design for poorly water-soluble drugs based on biopharmaceutics classification system: basic approaches and practical applications. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 420, p. 1–10, 2011.

KAWASAKI, T.; TANAKA, H. Formation of a crystal nucleus from liquid. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 107, p. 14036–14041, 2010.

KERALIYA, R. A.; SONI, T. G.; THAKKAR, V. T.; GANDHI, T. R. Effect of solvent on crystal habit and dissolution behavior of

tolbutamide by initial solvent screening. **Dissolution Technologies**, p. 16–21, 2010.

KOJIMA, Y.; TSUTSUMI, S.; YAMAMOTO, K.; IKEDA, Y.; MORIWAKI, T. High-throughput cocrystal slurry screening by use of in situ Raman microscopy and multi-well plate. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 399, p. 52–59, 2010.

KOR-SADE, I.; WIZEL, S. **Crystalline Solids of Carvedilol and Process for Their Preparation**. US 7598396, 6 out. 2009. 9 p.

KRUTHIVENTI, A. K.; JAVED, I.; JAGGAVARAPA, S. R.; NAGALAPALLI, R.; VISWANADHA, G. S.; ANAND, S. K. **Pharmaceutical co-crystals of quercetin**. Estados Unidos: Nutracyst Therapeutics Private Limited, Noida (IN), 2012. US 2012/0258170 A1, 21p.

KU, M. S. Salt and polymorph selection strategy based on the biopharmaceutical classification system for early pharmaceutical development. **American Pharmaceutical Review**, 2010.

KUMAR, N.; JAIN, A.K.; SINGH, C.; KUMAR, R. Development, characterization and solubility studies of solid dispersion of terbinafine hydrochloride by solvent evaporation method. **Asian Journal of Pharmaceutics**, v. 9, p.154-158, 2008a.

KUMAR, N.; JAIN A.K.; AKHILESH, C. S.; KSHITIJ A.; NEMA R.K. Development, Characterization and solubility study of solid dispersion of terbinafine hydrochloride. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Nanotechnology**, v. 1, n.2, 2008b.

LACHMAN, L.; LIEBERMAN, H.A.; KANING, J.L. **Teoria e Prática na Indústria Farmacêutica**. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2001, p. 295–339.

LIFSHITZ, I.; WIZEL, S. **Crystalline Forms of Carvedilol and Process for their Preparation**. WO 2006135757, 21 dez. 2006. 17 p.

LIMWIKRANT, W.; NAGAI, A.; HAGIWARA, Y.; HIGASHI, K.; YAMAMOTO, K.; MORIBE, K. Formation mechanism of a new

carbamazepine/malonic acid cocrystal polymorph. **International journal of pharmaceutics**, v. 431, p. 237–240, 2012.

LINDFORS, L.; FORSSÉN, S.; WESTERGREN, J.; OLSSON, U. Nucleation and crystal growth in supersaturated solutions of a model drug. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 325, p. 404–413, 2008.

LOFTSSON, T.; VOGENSEN, S. B.; DESBOS, C.; JANSOOK, P. Carvedilol: Solubilization and Cyclodextrin Complexation: A Technical Note. **AAPS PharmSciTech**, v. 9, p. 425–430, 2008.

LYN, L. Y.; SZE, H. W.; RAJENDRAN, A.; ADINARAYANA, G.; DUA, K.; GARG, S. Crystal modifications and dissolution rate of piroxicam. **Acta Pharmaceutica**, v. 61, p. 391–402, 2011.

MAHESHWARI, C.; ANDRÉ, V.; REDDY, S.; ROY, L.; DUARTE, T.; RODRÍGUEZ-HORNEDO, N. Tailoring aqueous solubility of a highly soluble compound via cocrystallization: effect of coformer ionization, pH_{max} and solute–solvent interactions. **Crystal Engineering Communications**, v. 14, p. 4801–4811, 2012.

MARTINEZ, M. N.; AMIDON, G. L. A mechanistic approach to understanding the factors affecting drug absorption: a review of fundamentals. **Journal of Clinical Pharmacology**, v. 42, p. 620–643, 2002.

MARTINI, L.G.; AVONTUUR, P.; GEORGE, A.; WILLSON, R. J.; CROWLEY, P. J. Solubility parameter and oral absorption. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, v. 48, p. 259–263, 1999.

MARQUES, M. P. M.; OLIVEIRA, P. J.; MORENO, A. J. M.; BATISTA DE CARVALHO, L. A. E. Study of carvedilol by combined Raman spectroscopy and ab initio MO calculations. **Journal of Raman Spectroscopy**, v. 33, p. 778–783, 2002.

MCCLELLAN, K. J.; WISEMAN, L.; MARKHAM, A. Terbinafine. An update of its use in superficial mycoses. **Drugs**, v. 58, n. 1; p. 179–202, 1999.

MCNAMARA, D. C.; CHILDS, S.L.; GIORDANO, J.; IARRICCIO, A.; CASSIDY, J.; SHET, M. S.; MANNION, R.; O'DONNELL, E.; PARK, A. Use of a Glutaric Acid Cocrystal to Improve Oral Bioavailability of a Low Solubility API. **Pharmaceutical Research**, v. 23, p. 1888–1897, 2006.

MODI, S. R.; DANTULURI, A. K. R.; PURI, V.; PAWAR, Y. B.; NANDEKAR, P.; SANGAMWAR, A. T.; PERUMALLA, S. R.; SUN, C. C.; BANSAL, A. K. Impact of Crystal Habit on Biopharmaceutical Performance of Celecoxib. **Crystal Growth and Design**, v. 13, p 2824–2832, 2013.

MORAGUES-BARTOLOME, A. M.; JONES, W.; CRUZ-CABEZA, A. J. Synthon preferences in cocrystals of cis-carboxamides: carboxylic acids. **Crystal Engineering Communications**, v. 14, p. 2552-2559, 2012.

MUI; P. W.; JACOBBER, S. P.; HARGRAVE, K. D.; ADAM, J. Crystal structure of nevirapine, a non-nucleoside inhibitor of HIV-1 reverse transcriptase, and computational alignment with a structurally diverse inhibitor. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 35, p. 201–202, 1992.

MYERSON, A. S. **Handbook of Industrial Crystallization**. 2 ed. Woburn: Butterworth-Heinemann, 2002. 312p.

NANGIA, A.; DESIRAJU, G. R. Supramolecular synthons and pattern recognition. In: WEBER, E. (Ed.). **Design of Organic Solids**, 1998a, p.39

NANGIA, A.; DESIRAJU, G. R. Supramolecular Structures - Reason and Imagination. **Acta Crystallographica Section A**, v. A54, p. 934–944, 1998b.

NEHA; PREETI, C.; ATIN, K.; RAJAN, P.; KUMAR, M. R.; SANTANU, M.; PARDEEP, K.; MUNSAB, A.; SHAMIM, A. Approaches to improve the solubility and bioavailability of poorly soluble drugs and different parameter to screen them. **Novel Science**

International Journal of Pharmaceutical Science, v. 1, n. 4, p. 171–182, 2012.

NEHM, S. J.; RODRÍGUEZ-SPONG, B.; RODRÍGUEZ-HORNEDO, N. Phase solubility diagrams of cocrystals are explained by solubility product and solution complexation. **Crystal Growth and Design**, v. 6, p. 592–600, 2006.

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

PALUCH, J. K.; TAJBER, L.; ELCOATE, C.J.; CORRIGAN, O.I.; LAWRENCE, S. E.; HEALY, A. M. Solid-state characterization of novel active pharmaceutical ingredients: cocrystal of a salbutamol hemiadipate salt with adipic acid (2:1:1) and salbutamol hemisuccinate salt. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 100, n. 8, p. 3268–3283, 2011.

PEREIRA, B. G.; FONTE-BOA, F. D.; RESENDE, J. A. L. C.; PINHEIRO, C. B.; FERNANDES, N. G.; YOSHIDA, M. I.; VIANNA-SOARES, C. D. Pseudopolymorphs and intrinsic dissolution of nevirapine. **Crystal Growth and Design**, v. 7, p. 2016–2023, 2007.

PETRANYI, G.; RYDER, N.S.; STÜTZ, A. Allylamine derivatives: new class of synthetic antifungal agents inhibiting fungal squalene epoxidase. **Science**, v. 224 p. 1239–1241, 1984.

PETRUŠEVSKI, G.; NAUMOV, P.; JOVANOVSKI, G.; WENG, N.G. Unprecedented sodium–oxygen clusters in the solid-state structure of trisodium hydrogentetravalproate monohydrate: A model for the physiological activity of the anticonvulsant drug Epilim®. **Inorganic Chemistry Communications**, v. 11, p. 81–84, 2008.

PRADO, L. D. **Preparação e caracterização de polimorfos de mebendazol e carvedilol**. 2012. 173 f. Dissertação (Mestrado em Química) Centro de Estudos Gerais, Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2012.

PRADO, L. D.; ROCHA, H. V. A.; RESENDE, J. A. L. C.; FERREIRA, G. B.; TEIXEIRA, A. M. R. F. An insight into carvedilol solid forms: effect of supramolecular interactions on the dissolution profiles. **Crystal Engineering Communications**, v. 16, p. 3168–3179, 2014.

QIAO, N.; LI, M.; SCHLINDWEIN, W.; MALEK, N.; DAVIES, A.; TRAPPITT, G. Pharmaceutical cocrystals: An overview. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 419, p. 1–11, 2011.

RAJU, R. K.; BURTON, N. A.; HILLIER, I. H. Modelling the binding of HIV-reverse transcriptase and nevirapine: an assessment of quantum mechanical and force field approaches and predictions of the effect of mutations on binding. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 12, p. 7117–7125, 2010.

RAMANJANEYULU, G. S.; KUMAR, I. V. S.; RAO, K. N.; KISHORE, J. V. V. K. **Process for the Preparation of Carvedilol Form-II**. WO 2004094378, 4 nov. 2004. 4 p.

RASENACK, N.; MÜLLER, B. W. Crystal habit and tableting behavior. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 244, n. 1, p. 45–57, 2002.

RAUBER, G. S. **Cocristais farmacêuticos de furosemida: obtenção, caracterização e estudos de estabilidade**. 2013. 235 f. Dissertação (Mestrado em Farmácia) Programa de Pós-graduação em Farmácia, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2013.

RAUTIO, J.; KUMPULAINEN, H.; HEIMBACH, T.; OLIYAI, R.; OH, D.; JÄRVINEN, T.; SAVOLAINEN, J. Prodrugs: design and clinical applications. **Nature Reviews**, v. 7, p. 255–270, 2008.

RAZEGHI, M. **Fundamentals of Solid State Engineering**. New York: Springer, 2009. 757 p.

REINHOLZ, E.; BEYER, P. **Thermodynamically Stable Modification of 1-(4-Carbazolyloxy)-3-[2-(2-Methoxyphenoxy)Ethylamino]-2-Propanole, Process for Its Preparation and Pharmaceutical Compositions Containing It**. WO 199905105, 4 fev. 1999. 20 p.

REMENAR, J. F.; MORISSETTE, S. L.; PETERSON, M. L.; MOULTON, B.; MACPHEE, J. M.; GUZMÁN, H. R.; ALMARSSON, Ö. Crystal engineering of novel cocrystals of a triazole drug with 1, 4-dicarboxylic acids. **Journal of the American Chemical Society**, v. 125, n. 28, p. 8456–8457, 2003.

RIVERA, A. B.; HERNÁNDEZ, R. G.; ARMAS, H. N.; ELIZÁSTEGI, D. M.; LOSADA, M. V. Physico-chemical and solid-state characterization of secnidazole. **II Farmaco**, v. 55, p. 700–707, 2000.

ROBERT, R.; RUFFOLO, R. R.; FEUERSTEIN, G. Z. Pharmacology of carvedilol: rationale for use in hypertension, coronary artery disease, and congestive heart failure. **Cardiovascular Drugs and Therapy**, v. 11, p. 247–256, 1997.

RODOMONTE, A.; ANTONIELLA, E.; BERTOCCHI, P.; AUDIANO, M. C.; MANNA, L.; BARTOLOMEI, M. Different crystal morphologies arising from different preparation methods of a same polymorphic form may result in different properties of the final materials: The case of diclofenac sodium trihydrate. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 48, n. 2, p. 477–481, 2008.

RODRÍGUEZ-SPONG, B.; PRICE, C.P.; JAYASANKAR, A.; MATZGER, A.J.; RODRÍGUEZ-HORNEDO, N. General principles of pharmaceutical solid polymorphism: a supramolecular perspective. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 56, p. 241–274, 2004.

RODRÍGUEZ-HORNEDO, N.; NEHM, S. J.; SEEFELDT, K. F.; PAGÁN-TORRES, Y.; FALKIEWICZ, C. J. Reaction crystallization of pharmaceutical molecular complexes. **Molecular Pharmaceutics**, v. 3, p. 362–367, 2006.

ROY, L.; LIPERT, M.; RODRÍGUEZ-HORNEDO, N. Co-crystal solubility and thermodynamic stability. In: WOUTERS, J. E.; QUÉRÉ, L. (Ed.). **Pharmaceutical Salts and Co-crystals**. Cambridge: The Royal Society of Chemistry, 2012, p.390.

RUFFOLO, R. R.; GELLAI, M.; HIEBLE, J. R.; WILLETTE, R. N.; NICHOLS, A. J. The pharmacology of carvedilol. **European Journal of Clinical Pharmacology**, v. 38, p. S82–S88, 1990.

RYDER, N.S. Terbinafine: Mode of action and properties of the squalene epoxidase inhibition. **British Journal of Dermatology**, v. 126, p. 2–7, 1992.

RYDER, N. S.; FAVRE, B. Antifungal activity and mechanism of action of terbinafine. **Reviews in Contemporary Pharmacotherapy**, v. 8, p. 275–287, 1997.

SAKAI, M. R.; MAY, E. R.; IMERMAN, P. M.; FELZ, C.; DAY, T. A.; CARLSON, S. A.; NOXON, J. O. Terbinafine pharmacokinetics after single dose oral administration in the dog. **Veterinary Dermatology**, v. 22, n. 6, p. 528–534, 2011.

SALAMAN, C. R. P.; TESSON, N. **Co-crystals of tramadol and coxibs**: secondary title. Estados Unidos: Laboratorios del Dr. Esteve, S.A., Barcelona (ES), 2012. US 2012/0172398 A1, 9 p.

SARMA, B., NATH, N.K., BHOGALA, B.R., NANGIA, A. Synthon competition and cooperation in molecular salts of hydroxybenzoic acids and aminopyridines. **Crystal Growth and Design**, v. 9, p. 1546–1557, 2009.

SAVJANI, K. T.; GAJJAR, A. K.; SAVJANI, J. K. Drug solubility: importance and enhancement techniques. **International Scholarly Research Network**, v. 2012, p. 1–10, 2012.

SCHULTHEISS, N.; NEWMAN, A. Pharmaceutical cocrystals and their physicochemical properties. **Crystal Growth and Design**, v. 9, n. 6, p. 2950–2967, 2009.

SCHULTHEISS, N.; HENCK, J. O. Role of Co-crystals in Pharmaceutical Development Continuum. In: WOUTERS, J. E QUÉRÉ, L. (Ed.). **Pharmaceutical Salts and Co-crystals**. Cambridge: The Royal Society of Chemistry, 2012, p.110–126.

SEKHON, B. S. Nutraceutical Cocrystals: An overview. **RGUHS Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 2, n. 2, p. 10, 2012.

SEPENDA, G. J.; STOREY, R. **Co-crystal**: secondary title. United States: AstraZeneca AB, Sodertalje (SE), 2009. US 7,625,910 B2, 23 p.

SERAJUDDIN, A.T.M. Salt formation to improve drug solubility. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 59, p. 603–616, 2007.

SHAN, N.; ZAWOROTKO, M. J. The role of cocrystals in pharmaceutical science. **Drug Discovery Today**, v. 13, n. 9–10, p. 440, 2008.

SHEKUNOV, B.; CHATTOPADHYAY, P.; TONG, H.; CHOW, A. Particle Size Analysis in Pharmaceutics: Principles, Methods and Applications. **Pharmaceutical Research**, v. 24, n. 2, 2006.

SHEAR, N. H.; VILLARS, V. V.; MARSOLAIS, C. Terbinafine: An Oral and Topical Antifungal Agent. **Clinics in Dermatology**, v. 9, p. 487–495, 1992.

SHERMAN, B. C. U.S. Patent 6077542, 2000.

SHEN, L.; SHEN, J.; LUO, X.; CHENG, F.; XU, Y.; CHEN, K.; ARNOLD, E.; DING, J.; JIANG, H. Steered Molecular Dynamics Simulation on the Binding of NNRTI to HIV-1 RT. **Biophysical Journal**, v. 84, p. 3547–3563, 2003.

SHEWALE, B. D.; SAPKAL N. P.; RAUT, N. A.; GAIKWAD, N. J.; FURSULE, R. A. Effect of hydroxylpropyl-beta-cyclodextrin on Solubility of Carvedilol. **Indian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 70, p. 255–257, 2008.

SILVA, C. C. P.; CUFFINI, S. L.; FAUDONE, S. N.; AYALAC, A. P.; ELLENA, J. Low-temperature study of a new nevirapine pseudopolymorph. **Acta Crystallographica Section E**, v. E64, p. o292, 2008.

SORRENTI, M.; CATENACCI, G.; BRUNI, B.; LUPPI, B.; BIGUCCI, F.; BETTINETTI, G. Solid-state characterization of tacrine

hydrochloride. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 63, p. 53–61, 2012.

STAHLY, G. Diversity in single -and multiple- component crystals. The search for prevalence of polymorphs and cocrystals. **Crystal Growth and Design**, v. 7, p. 1007–1016, 2007.

STEGEMANN, S.; LEVEILLER, F.; FRANCHI, D.; DE JONG, H.; LINDÉN, H. When poor solubility becomes an issue: From early stage to proof of concept. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 31, p. 249–261, 2007.

STEINER, T.; MAJERZ, I.; WILSON, C. C. First O-H-N hydrogen bond with a centered proton obtained by thermally induced proton migration. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 40, p. 2651–2653, 2001.

STELLA, V. J.; NTI-ADDAE, K. W. Prodrug strategies to overcome poor water solubility. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 59, p. 677–694, 2007.

STENBERG, P.; LUTHMAN, K.; ARTURSSON, P. Prediction of membrane permeability to peptides from calculated dynamic molecular surface properties. **Pharmaceutical Research**, v. 16, p. 205–212, 1999.

STEPHENSON, G.A.; ARURUB, A.; WOODS, T.A. Physical stability of salts of weak bases in the solid-state. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 100, p. 1607–1617, 2011.

STIEGER, N.; LIEBENBERG, W.; WESSELS, J. C.; SAMSODIEN, H.; CAIRA, M. R. Channel inclusion of primary alcohols in isostructural solvates of the antiretroviral nevirapine: an X-ray and thermal analysis study. **Structural Chemistry**, v. 21; p.771–777, 2010.

STOICA, C.; VERWER, P.; MEEKES, H.; VAN HOOFF, P.; KASPERSEN, F. M.; Vlieg, E. Understanding the effect of a solvent on the crystal habit. **Crystal Growth and Design**, v. 4, p. 765–768, 2004.

STROE, A. F.; GHEORGHIADU, M. Carvedilol: β -blockade and beyond. **Reviews in Cardiovascular Medicine**, v. 5, n. 1, p. 18–27, 2004.

STÜTZ, A.; PETRANYI, G. Synthesis and antifungal activity of (E)-N-(6,6-dimethyl-2-hepten-4-ynyl)-N-methyl-1-naphthalenemethanamide (SF 86-317); related allylamine derivatives with enhanced oral activity. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 27, p. 1539–1543, 1984.

STÜTZ, A. Allylamine derivatives – a new class of active substances in antifungal chemotherapy. **Angewandte Chemie**, v. 26, p. 320–328, 1987.

SWEETMAN, S. C. **Carvedilol**. In: Martindale: The complete drug reference. 36 ed. London: Pharmaceutical Press, 2009.

TAKATA, N.; SHIRAKI, K.; TAKANO, R.; HAYASHI, Y.; TERADA, K. Cocrystal screening of stanolone and mestanolone using slurry crystallization. **Crystal Growth and Design**, v. 8, n. 8, p. 3032–3037, 2008.

TANRIVERDI, S. T.; ÖZER, Ö. Novel topical formulations of terbinafine-HCl for treatment of onychomycosis. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 48, p. 628–636, 2013.

TEDESCO, E.; GIRON, D.; PFEFFER, S. Crystal structure elucidation and morphology study of pharmaceuticals in development. **Crystal Engineering Communications**, v. 4, p. 393–400, 2002.

TENHO, M.; HEINÄNEN, P.; TANNINEN, V. P.; LEHTO, V. P. Does the preferred orientation of crystallites in tablets affect the intrinsic dissolution? **Journal of pharmaceutical and biomedical analysis**, v. 43, n. 4, p. 1315–1323, 2007a.

TENHO, M.; AALTONEN, J.; HEINÄNEN, P.; PELTONEN, L.; LEHTO, V. P. Effect of texture on the intrinsic dissolution behaviour of acetylsalicylic acid and tolbutamide compacts. **Journal of Applied Crystallography**, v. 40, p. 857–864, 2007b.

THAKURIA, R.; DELORI, A.; JONES, W.; LIPERT, M. P.; ROY, L.; RODRÍGUEZ-HORNEDO, N. Pharmaceutical cocrystals and poorly

soluble drugs. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 453, p. 101–125, 2013.

THENGE, R.R.; GANESAN, V.; TEKADE, N.P. Studies on crystal form of lomefloxacin hydrochloride: preparation, characterization and dissolution profile. **International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences**, v. 4, n. 1, p. 12–17, 2013.

TIWARY, A.K. Modification of crystal habit and its role in dosage form performance. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 27, n. 7, p. 699–709, 2001.

TONG, W.Q.; WEN, H. Preformulation aspects of insoluble compounds. In: LIU, R. **Water-Insoluble Drug Formulation**. Boca Raton: CRC Press, 2008. p. 63.

TRASK, A. V.; MOTHERWELL, W. D. S.; JONES, W. Pharmaceutical Cocrystallization: Engineering a Remedy for Caffeine Hydration. **Crystal Growth and Design**, v. 5, p. 1013–1021, 2005.

TRASK, A.V. An overview of pharmaceutical cocrystals as intellectual property. **Molecular Pharmaceutics**, v. 4, n. 3, p. 301–309, 2007.

TUBIC-GROZDANIS, M.; BOLGER, M. B.; LANGGUTH, P. Application of gastrointestinal simulation for extensions for biowaivers of highly permeable compounds. **The AAPS Journal**, v. 10, n. 1, p. 213–226, 2008.

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

UZQUEDA, M.; MARTIN, C.; ZORNOZA, A.; SANCHEZ, M.; VELAZ, I. Physicochemical characterization of terbinafine-cyclodextrin complexes in solution and in the solid state. **Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry**, v. 66, p. 393–402, 2010.

VAGHASIYA, H.; KUMAR, A.; SAWANT, K. Development of solid lipid nanoparticles based controlled release system for topical delivery

of terbinafine hydrochloride. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 49, p. 311–322, 2013.

VIPPAGUNTA, S. R.; BRITAIN, H. G.; GRANT, D. J. Crystalline solids. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 48, p. 3–26, 2001.

WEYNA, D. R.; SHATTOCK, T.; VISHWESHWAR, P.; ZAWOROTKO, M. J. Synthesis and structural characterization of cocrystals and pharmaceutical cocrystals: mechanochemistry vs slow evaporation from solution. **Crystal Growth and Design**, v.9, n. 2, p. 1106–1123, 2009.

WEYNA, D. R.; CHENEY, M. L.; SHAN, N.; HANNA, M.; WOJTAS, L.; ZAWOROTKO, M. J. Crystal engineering of multiple-component organic solids: Pharmaceutical cocrystals of tadalafil with persistent hydrogen bonding motifs. **Crystal Engineering Communications**, v. 14, n. 7, p. 2377–2380, 2012a.

WEYNA, D. R.; CHENEY, M. L.; SHAN, N.; HANNA, M.; ZAWOROTKO, M. J.; SAVA, V.; SONG, S.; SANCHEZ-RAMOS, J. R. Improving solubility and pharmacokinetics of meloxicam via multiple-component crystal formation. **Molecular Pharmaceutics**, v. 9, p. 2094–2102, 2012b.

WILLIAMS, H. D.; TREVASKIS, N. L.; CHARMAN, S. A.; SHANKER, R. M.; CHARMAN, W. N.; POUTON, C. W.; PORTER, C. J. H. Strategies to address low drug solubility in discovery and development. **Pharmacological Reviews**, v. 65, p. 315–499, 2013.

WOUTERS, J.; ROME, S.; QUÉRÉ, L. Monographs of most frequent co-crystal formers. In: WOUTERS, J.; QUÉRÉ, L. (Ed.). **Pharmaceutical Salts and Co-crystals**. Cambridge: The Royal Society of Chemistry, 2012, p.390.

WU, C. Y.; BENET, L. Z. Predicting drug disposition via application of bcs: transport/absorption/elimination interplay and development of a biopharmaceutics drug disposition classification system. **Pharmaceutical Research**, v. 22, n. 1, p. 11–23, 2005.

YATHIRAJAN, H. S.; BINDYA, S.; SREEVIDYA, T.V.;
NARAYANA, B.; BOLTE, M. A second polymorph of carvedilol. **Acta Crystallographica Section E**, v. E63, p. o542-o544, 2007.

YUE, T. L.; RUFFOLO R. R.; FEUERSTEIN G. Antioxidant action of carvedilol: A potencial role in treatment of heart failure. **Heart Failure Reviews**, v. 4, p. 39–51, 1999.

ZHANG, G. G.Z.; HENRY, R. F.; BORCHARDT, T. B.; LU, X.
Efficient Co-crystal Screening using solution-mediated phase transformation. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 96, n. 5, p. 990–995, 2007.

ZHANG, G. G.; ZHI, Z.; LI, X.; GAO, J.; SONG, Y. Carboxylated mesoporous carbon microparticles as new approach to improve the oral bioavailability of poorly water-soluble carvedilol **International Journal of Pharmaceutics**, v. 454, p. 403–411, 2013.

CAPÍTULO II

ESTUDOS EM ESTADO SÓLIDO DO CLORIDRATO DE TERBINAFINA: CARACTERIZAÇÃO, OBTENÇÃO DE NOVO HÁBITO CRISTALINO E RESOLUÇÃO DE ESTRUTURA CRISTALINA POR MONOCRISTAL

1 INTRODUÇÃO

O conhecimento das propriedades do estado sólido é de fundamental importância e relevância na área farmacêutica uma vez que estas propriedades têm um impacto profundo sobre a solubilidade, biodisponibilidade e estabilidade química dos fármacos (HUANG; TONG, 2004; CHIENG; RADES; AALTONEN, 2011; SORRENTI et al., 2012).

Como mencionado anteriormente, a estrutura e o hábito cristalinos exercem importante influência nas propriedades físico-químicas de fármacos e, portanto, devem ser conhecidos e monitorados (BRITAIN, 2009; SCHULTHEISS; NEWMAN, 2009; LU; LI; JIANG, 2010; CHIENG; RADES; AALTONEN, 2011). Ainda, a elucidação da estrutura cristalina de fármacos possibilita a avaliação direta do empacotamento e conformação das moléculas, bem como o conhecimento das interações intra e intermoleculares (BYRN; PFEIFFER; STOWELL, 1999; NANGIA, 2008; BRITAIN, 2009; CHIENG; RADES; AALTONEN, 2011).

Inicialmente, a ideia deste capítulo consistia em um *screening* de polimorfismo do cloridrato de terbinafina (TBF), uma vez que até o momento não existem relatos de novas estruturas deste fármaco disponíveis na literatura. Entretanto, apesar de diversas técnicas de recristalização e diferentes solventes terem sido investigados, nenhum polimorfo foi encontrado para o TBF. Porém, considerou-se a possibilidade de um novo hábito cristalino a partir da mesma estrutura interna. Desta forma, um dos objetivos deste capítulo situou-se em obter e avaliar o impacto de nova morfologia de cristais nas características físico-químicas do TBF.

Além disso, o único relato de determinação da estrutura cristalina do fármaco consistia em uma resolução através de difração de raios X a partir de fontes de radiação síncrotron (TEDESCO; GIRON; PFEIFFER, 2002) com informações incompletas. Logo, objetivou-se também a obtenção de um monocristal de TBF que possibilitasse sua completa elucidação estrutural pela técnica de difração de raios X de monocristal (DRXMC).

Cabe mencionar que os resultados deste capítulo já se encontram publicados no periódico *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, sendo o manuscrito intitulado *Single crystal structure, solid state characterization and dissolution rate of terbinafine hydrochloride* (ANEXO A).

2 METODOLOGIA

2.1 MATERIAIS

A matéria-prima de TBF (TBFm) foi obtida de Zhejiang East-Asia Pharmaceutical, lote DC-0107-09122001. Todos os outros materiais e solventes utilizados apresentam grau analítico.

2.2 MÉTODOS

2.2.1 Obtenção do novo hábito cristalino de TBF

Um novo hábito cristalino de TBF, denominado como TBFa, foi obtido através da técnica de evaporação lenta de solvente. Uma solução saturada de TBF em acetato de etila foi matida em temperatura ambiente e protegida da luz. Sob estas condições, uma amostra de hábito acicular foi observada, sendo a mesma caracterizada por meio de microscopia óptica, como descrito no tópico 2.2.2.5.

2.2.2 Caracterização em estado sólido do TBF

2.2.2.1 Difração de raios X de monocristal (DRXM) e difração de raios X de pó (DRXP)

Monocristais de TBF foram obtidos em solução hidroalcoólica (etanol:água, 50:50, v/v), por meio de evaporação lenta de solvente a 8 °C. Nestas condições obteve-se um cristal incolor de hábito cristalino tabular (TBFt) e dimensões de 0,50 mm x 0,40 mm x 0,13 mm, adequado para as análises em difratômetro de raios X de monocristal. O cristal foi posicionado em fibra de vidro e as medidas foram realizadas em difratômetro de monocristal Enraf-Nonius CAD-4, utilizando fonte de molibdênio, acoplada a um monocromador de grafite ($K\alpha = 0,71073 \text{ \AA}$), na temperatura de 20 °C. As dimensões da célula unitária foram adquiridas por meio de ajuste por mínimos quadrados dos valores 2θ de 25 reflexões de maior ordem. A estrutura foi resolvida por métodos diretos e refinada aplicando o método dos mínimos quadrados utilizando matriz completa através dos *softwares* SIR97 (AL TOMARE et al., 1999) e SHELXL97 (SHELDRICK, 1997), respectivamente. A figura da estrutura molecular foi realizada utilizando o programa PLATON (SPEK, 2009).

Os demais átomos além do hidrogênio foram refinados com parâmetros de deslocamento anisotrópico. Os átomos de hidrogênio foram posicionados em suas posições idealizadas com distâncias de 0,93 Å para C-H_{Ar}, de 0,97 Å para C-H₂ e de 0,96 Å para grupos C-H₃. Os valores de U_{iso} para os átomos de hidrogênio foram fixados em 1,2 vezes (para compostos aromáticos e metileno) e em 1,5 vezes (para metil) o U_{eq} do átomo carreador (C).

Os padrões de difração de raios X de pó das amostras foram obtidos em um difratômetro θ - θ (Xpert Pro, PanAlytical), com uma radiação de cobre $K\alpha$ ($\lambda = 1,5418$ Å), operando em uma corrente de 40 mA e voltagem de 45 kV, equipado com rotacionador de amostra e detector do tipo *Real Time Multiple Strip* (RTMS). As medidas foram realizadas em temperatura ambiente, sob ausência de luz, por meio de varredura angular a 2θ na faixa de 4° a 50° , com *step* angular de $0,016^\circ$ e *step* de tempo de 20 segundos.

2.2.2.2 Calorimetria exploratória diferencial (DSC) e análise termogravimétrica (TG)

As curvas (DSC, do inglês *Differential scanning calorimetry*) contendo aproximadamente 1,5 mg das amostras foram obtidas em triplicata em célula Shimadzu DSC-60, com sensibilidade de $\pm 0,1$ °C, utilizando cadinhos de alumínio hermeticamente fechados (modelo 201-53090). A faixa de temperatura analisada foi de 40 a 250 °C, a uma taxa de aquecimento de 10 °C/min e sob atmosfera dinâmica de N₂ de 50 mL/min. A célula de DSC foi previamente calibrada com índio e zinco.

As curvas TG das matérias-primas foram obtidas em termobalança Shimadzu TGA-50, utilizando cadinho de platina aberto. Aproximadamente 3 mg de amostras foram analisadas na faixa de 30 a 300 °C, à uma taxa de aquecimento de 10 °C/min e sob atmosfera dinâmica de N₂ de 50 mL/min. O equipamento foi previamente calibrado com um padrão de oxalato de cálcio, com pureza determinada de 99,99%.

Os dados térmicos obtidos foram processados em *software* TA-60.

2.2.2.3 Espectroscopias vibracionais Raman e na região do infravermelho (IV)

Os experimentos Raman foram realizados em equipamento PeakSeeker 785 (RAM-PRO-785), operando com laser diodo de 785 nm e voltagem de 300 mW na fonte. A radiação Raman coletada foi dispersa

e focada em dispositivo Peltier refrigerado dotado de uma câmara de dispositivo de carga acoplada (CCD), o qual permitiu a obtenção de uma resolução espectral de 6 cm^{-1} . O laser foi focado na amostra através de lentes objetivas com aumento de 4x, gerando um campo de análise de $2 \mu\text{m}$ de diâmetro. Todos os espectros foram registrados na janela espectral de 200 a 1800 cm^{-1} , com o mesmo tempo de aquisição (30 s). As amostras foram analisadas em lâminas de vidro, em temperatura ambiente.

Os espectros IV foram obtidos em equipamento Shimadzu (FTIR Prestige), em uma faixa espectral de 4000 a 400 cm^{-1} , com uma média de 20 varreduras em resolução espectral de 4 cm^{-1} . Cada amostra foi preparada misturando-se 2 % (m/m) em brometo de potássio (KBr).

2.2.2.4 Ressonância magnética nuclear em estado sólido (RMNes)

Espectros de carbono (^{13}C) de alta resolução referentes ao TBF foram adquiridos pela técnica de CP/MAS (polarização cruzada com rotação em torno do ângulo mágico) com desacoplamento de prótons durante a aquisição. Os experimentos de RMNes foram realizados a temperatura ambiente em espectrômetro Bruker Avance II operando a 300,13 MHz para prótons e equipado com sonda MAS de 4 mm. A frequência de operação para carbonos foi de 75,46 MHz. Adamantano foi utilizado como uma referência externa para os espectros ^{13}C e para alcançar a condição de Hartmann-Hahn nos experimentos de polarização cruzada (CP). A taxa de rotação foi de 10 kHz. O número de transientes foi fixado em 384 de maneira a obter uma adequada proporção de sinal/ruído. O tempo de reciclagem foi de 10 segundos e o tempo de contato durante a polarização cruzada foi de 20 ms. A sequência SPINAL 64 foi utilizada para desacoplamento durante a aquisição com um campo de prótons H_{1H} satisfazendo $\omega_{1H}/2\pi = \gamma_H 1H/2\pi = 78,2 \text{ kHz}$. O espectro de carbono quaternário foi adquirido por supressão de carbonos não quaternários (NQS), no qual os campos de rádio-frequência de ^1H e ^{13}C foram removidos por 60 μs antes da polarização cruzada e depois da aquisição. Este atraso permite o decaimento da magnetização do carbono devido ao acoplamento bipolar ^1H - ^{13}C , resultando em espectros CH e CH_2 são substancialmente removidos. Este experimento permite, portanto, a identificação dos sinais de carbono quaternário e grupos metila.

2.2.2.5 Microscopia óptica (MO) e microscopia eletrônica de varredura (MEV)

As análises em microscópio eletrônico de varredura foram realizadas em equipamento JEOL JSM-6390LV, com campo de emissão sob pressão variável, sob as seguintes condições: resolução de 3 nm a 30 kV, voltagem de aceleração de 5 kV, fase de 300 a 330 nm (Compucentric) e detecção por elétrons secundários. As amostras foram posicionadas em *stubs* de alumínio e revestidas a vácuo com ouro previamente à análise.

As fotografias em microscópio óptico foram tiradas em axiofotomicroscópio Carl Zeiss equipado com iluminador Carl Zeiss HB050, em aumento de 10 vezes. As imagens foram capturadas com câmera digital Carl Zeiss Axiocam.

2.2.2.6 Velocidade de dissolução intrínseca (VDI)

A VDI foi avaliada em triplicata utilizando aparato de disco rotativo em dissolutor Varian (VK 7000), de acordo com as especificações da Farmacopeia Americana (USP, 2011).

Aproximadamente 100 mg das amostras foram comprimidas em prensa hidráulica (ASTA) a 12.000 psi, por 1 min, em uma matriz contendo disco de 8 mm de diâmetro e área superficial de 0,5 cm². O aparato contendo a pastilha comprimida foi primeiramente levado à estufa a 40 °C por 15 minutos, visando remover possíveis moléculas de água adsorvidas. Posteriormente, as amostras foram levadas à dissolução intrínseca, sendo rotacionadas a 75 rpm em 250 mL de HCl 0,001 M (pH 3) previamente desaerado, e mantidas a temperatura de 37 ± 0,5 °C. Alíquotas de 4 mL foram retiradas (com reposição imediata de mesmo meio e volume) em intervalos pré-definidos de tempo (5, 10, 15, 20, 30, 40, 50 e 60 min) e filtradas através de papéis filtro de tamanho de poro de 28 µm imediatamente antes das leituras em espectrofotômetro na região do ultravioleta (UV) (Varian UV/Vis CARY), a 223 nm, em cubeta de quartzo de caminho óptico de 0,5 cm. As leituras foram zeradas com HCl 0,001 M (pH 3) e o cálculo do teor de dissolução foi baseado em equação da reta desenvolvida na validação analítica do método, mais especificamente no parâmetro de linearidade (Tópico 2.2.2.6.2.2 deste capítulo). Todas as análises foram realizadas protegidas da luz utilizando-se lâminas de alumínio para revestir as cubas.

Ao final do procedimento de VDI, os discos foram removidos, secos a 40 °C e suas superfícies foram avaliadas por difração de raios X

de pó e calorimetria exploratória diferencial, de acordo com as especificações descritas nos tópicos 2.2.2.1 e 2.2.2.2 deste capítulo, respectivamente. Estas análises também foram realizadas antes da VDI em pastilha preparada separadamente para verificar a ocorrência de transição de fase devido à pressão utilizada para o preparo da pastilha.

A análise estatística dos dados para TBFa e TBFm foi realizada através do teste-*t* de Student, no qual resultados significativos apresentam probabilidade menor do que 5 % ($p \leq 0,05$ com intervalo de confiança de 95%).

2.2.2.6.1 Solubilidade e condição “sink”

A solubilidade do TBF no meio de dissolução também foi determinada visando garantir a condição *sink* durante todo o procedimento. Para isso, um excesso de fármaco foi adicionado ao meio de dissolução em triplicata, sob rotação de 150 rpm (utilizando o aparato de dissolução II), a $37 \pm 0,5$ °C e protegido da luz. Após um período de equilíbrio de 24 h, as amostras foram filtradas em papel de filtro com tamanho de poro de 28 μm e analisadas pelo método de UV previamente descrito.

2.2.2.6.2 Validação analítica do método de dissolução intrínseca

O método de dissolução intrínseca foi validado de acordo com as atuais normativas (ICH, 2005; USP, 2011). Parâmetros como especificidade, linearidade, exatidão, precisão e estabilidade no meio de dissolução foram determinados e avaliados. Vale destacar que todos os ensaios realizados foram protegidos da luz.

2.2.2.6.2.1 Especificidade

A especificidade foi avaliada através da análise espectrofotométrica do meio de dissolução (HCl 0,001 M) entre 200 e 400 nm. Buscou-se avaliar a presença de possíveis máximos de absorção do meio de dissolução no mesmo comprimento de onda do fármaco, o que inviabilizaria a sua quantificação.

2.2.2.6.2.2 Linearidade, limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ)

A linearidade do método de dissolução intrínseca foi avaliada através da construção de três curvas de calibração em três dias diferentes. Para a construção de cada curva de calibração sete concentrações padrão de TBF (4, 8, 20, 30, 40, 60 e 80 µg/mL) foram preparadas no meio de dissolução. As leituras foram realizadas a 223 nm.

Os limites de quantificação (LQ) e de detecção (LD) foram calculados a partir do desvio padrão da resposta (σ) e coeficiente angular (S) (Equações 3 e 4), obtidos através da equação da reta média.

$$LQ = (10 \sigma) / S \quad (6)$$

$$LD = (3,3 \sigma) / S \quad (7)$$

2.2.2.6.2.3 Exatidão / Precisão

A exatidão do método de dissolução foi verificada pelo teste de recuperação de quantidades conhecidas de TBF adicionadas ao meio de dissolução. Alíquotas de uma solução padrão foram adicionadas às cubas contendo meio de dissolução até um volume final de 250 mL, de modo que as concentrações finais obtidas foram de 24, 30 e 36 µg/mL, respectivamente. Estas soluções foram então submetidas ao ensaio de dissolução utilizando-se aparato pá e ambiente a $37 \pm 0,5$ °C com rotação de 75 rpm. Depois de transcorrida 1 hora de ensaio, foram retiradas alíquotas de 4 mL de cada cuba, as quais foram filtradas em papel filtro com tamanho de poro de 28 µm e posteriormente analisadas em espectrofotômetro a 223 nm. As análises foram feitas em triplicata, em dias diferentes.

As mesmas soluções de concentração igual a 30 µg/mL utilizadas no teste de exatidão foram analisadas para garantir a precisão do método. A repetibilidade (intradia) e a precisão intermediária (interdia) foram estabelecidas em termos de valores de desvio padrão relativo (DPR).

2.2.2.6.2.4 Estabilidade no meio de dissolução

A estabilidade em meio de dissolução foi avaliada em soluções de TBF a 30 µg/mL. As soluções foram submetidas ao teste de dissolução com volume de 250 mL, utilizando aparato pá, ambiente a $37 \pm 0,5$ °C e rotação de 75 rpm, por 1 h. Após este período, as soluções foram

removidas das cubas de dissolução e mantidas à temperatura ambiente, e adequadamente vedadas para evitar a evaporação do solvente. Alíquotas destas soluções foram retiradas e analisadas espectrofotometricamente nos tempos 0, 30 min, 60 min e 24 h.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 CARACTERIZAÇÃO EM ESTADO SÓLIDO DO TBF

3.1.1 DRXM e DRXP

A representação das elipsoides térmicas (ORTEP, do inglês *Oak Ridge Thermal-Ellipsoid Plot Program*) da unidade assimétrica do TBF é apresentada na Figura 9. Este composto cristaliza em um sistema monoclinico e grupo espacial $P2_1/n$. Dados cristalográficos adicionais encontram-se resumidos na Tabela 4.

Figura 9 – Representação ORTEP da unidade assimétrica do TBF mostrando os átomos rotulados e 50 % de probabilidade de elipsoides.

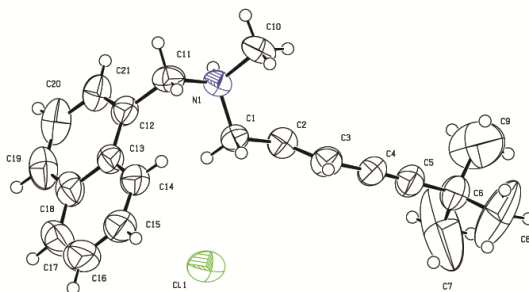


Tabela 4 – Parâmetros cristalográficos do TBF.

Fórmula empírica	C ₂₁ H ₂₆ ClN
Peso molecular (g/mol)	327,88
Sistema cristalino	Monoclínico
Grupo espacial	P2 ₁ /n
<i>a</i> (Å)	5,9208(6)
<i>b</i> (Å)	29,420(2)
<i>c</i> (Å)	11,4347(14)
β (°)	98,870(9)
<i>V</i> (Å ³)	1973,0(3)
<i>Z</i>	4
<i>D</i> _{calc} (g/cm ³)	1,104
Coeficiente de absorção (mm ⁻¹)	0,194
<i>F</i> (0 0 0)	704
Tamanho do cristal (mm)	0,50 x 0,40 x 0,13
Cor	incolor
Temperatura (°C)	20(2)
Radiação, λ (Å)	Mo Kα, 0,71073
Reflexões medidas	3814
Reflexões independentes	3636 (<i>R</i> _{int} = 0,0275)
Parâmetros refinados	216
Adequação de ajuste em <i>F</i> ²	1,056
Índices <i>R</i> finais [<i>I</i> > 2σ (<i>I</i>)]	<i>R</i> ₁ = 0,0655 w <i>R</i> ₂ = 0,1734
Índices <i>R</i> (todos os dados)	<i>R</i> ₁ = 0,1748 w <i>R</i> ₂ = 0,2178

O ângulo de torção C21-C12-C11-N1 entre o esqueleto de carbonos e o grupo naftaleno de -78,0 (5) demonstra que eles apresentam diferentes orientações. O átomo de nitrogênio está protonado e o cloridrato encontra-se interagindo com a proximidade através de ligação de hidrogênio N-H...Cl (N1...Cl1 = 2,995 (3) e N1-H1...Cl1 = 175 (3)°) (Tabela 5). O ânion também interage com a molécula via contato CH₃...Cl, ambos ocorrendo ao longo do eixo *c*.

Tabela 5 – Ligações de hidrogênio respectivas ao TBF (Å e °)

D-H...A	d(D-H)	d(H...A)	d(D...A)	<(DHA)
N(1)-H(1)...Cl(1) ^a	0,97(4)	2,03(4)	2,995(3)	175(3)

Transformações de simetria usadas para gerar átomos equivalentes:

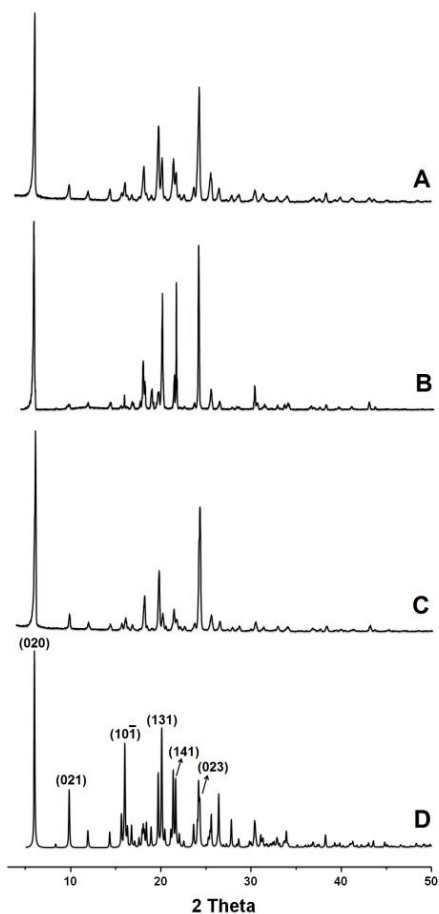
^a x + ½, -y + ½, z + 1/2

Em relação à estrutura cristalina apresentada por Tedesco, Giron e Pfeffer (TEDESCO; GIRON; PFEFFER, 2002), os parâmetros de célula e o grupo espacial são idênticos, entretanto, por meio da técnica de monocristal, informações muito mais precisas no tocante à estrutura foram obtidas. Dentre elas, citam-se por exemplo, os parâmetros de deslocamento iso/anisotrópicos, as coordenadas atômicas e os parâmetros geométricos.

Tabelas completas contendo dados cristalográficos foram depositadas no banco de dados da Cambridge (CSD, *Cambridge Structural Database*) com código CCDC 907850.

A Figura 10 mostra o padrão de difração de raios X de pó calculado do TBF e os difratogramas de TBFm, TBFa e TB Ft. Todos os padrões de difração apresentam os mesmos picos de Bragg e as reflexões de maior intensidade aparecem em 6,01; 9,84; 16,01; 19,73; 20,23; 21,35; 21,65; 24,27 e 26,39 °. De acordo com a Farmacopeia Americana (USP, 2011), a diferenciação entre amostras teste e a amostra referência é estabelecida por difração de raios X de pó se os ângulos de espalhamento das reflexões mais intensas obtidas a partir do material de referência variam em $\pm 0,10^\circ$, enquanto as intensidades relativas podem variar consideravelmente, indicando orientação preferencial. Desta forma, é possível afirmar que TBFm, TBFa e TB Ft apresentam a mesma estrutura cristalina, embora os padrões de difração apresentem notável orientação preferencial. Os índices *hkl* referentes aos planos com maior orientação são mostrados na Figura 11D.

Figura 10 – Difratogramas referentes às amostras TBFm (A), TBFa (B), TBFt (C) e ao padrão calculado de TBF (D).



3.1.2 DSC e TG

As curvas DSC para TBFm, TBFa e TBFt são mostradas na Figura 11 (1). Picos representando eventos de fusão são observados em aproximadamente as mesmas temperaturas para todas as amostras (208,68 °C; 210,95 °C e 211,41 °C para TBFm, TBFa e TBFt, respectivamente), e as temperaturas de início e fim da fusão também são similares (Tabela 6). Diferenças no calor de fusão das amostras foram

observadas, sugerindo um efeito combinado de impurezas de cristalização e cristalinidade. Estes resultados calorimétricos encontram-se de acordo com os dados obtidos por difração de raios X de pó, confirmando que TBFm, TBFa e TBFt apresentam a mesma estrutura cristalina.

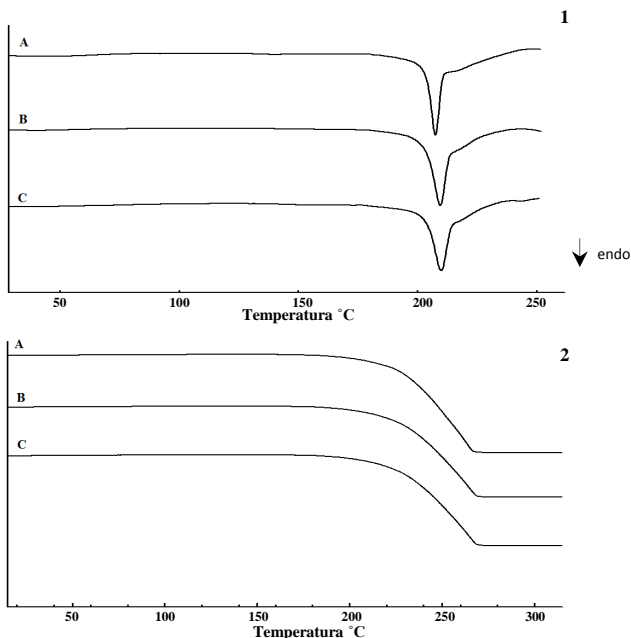
Tabela 6 – Propriedades térmicas e calorimétricas de TBFm, TBFa e TBFt.

Propriedades	TBFm	TBFa	TBFt
Temperatura de fusão (°C ± DP ^a)	208,68 ± 0,45	210,95 ± 0,23	211,41 ± 0,11
Temperatura de início da fusão (°C ± DP ^a)	204,92 ± 0,20	206,44 ± 0,10	208,17 ± 1,11
Temperatura de finalização da fusão (°C ± DP ^a)	211,74 ± 0,49	214,56 ± 0,60	213,87 ± 0,27
Calor de fusão (J/g ± DP ^a)	92,00 ± 8,10	90,07 ± 8,50	119,82 ± 9,03

^aDP = Desvio Padrão

As curvas de TG correspondentes a TBFm, TBFa e TBFt apresentam um padrão de decomposição térmica similar (Figura 11 (2)) e portanto, pode-se concluir que os diferentes hábitos cristalinos não parecem influenciar a característica térmica do TBF. Além disso, também é possível observar que a decomposição do fármaco ocorre imediatamente após a sua fusão.

Figura 11 – Dados térmicos referentes a TBFm (A), TBFa (B) e TBFt (C): (1) curvas DSC e (2) curvas TG.

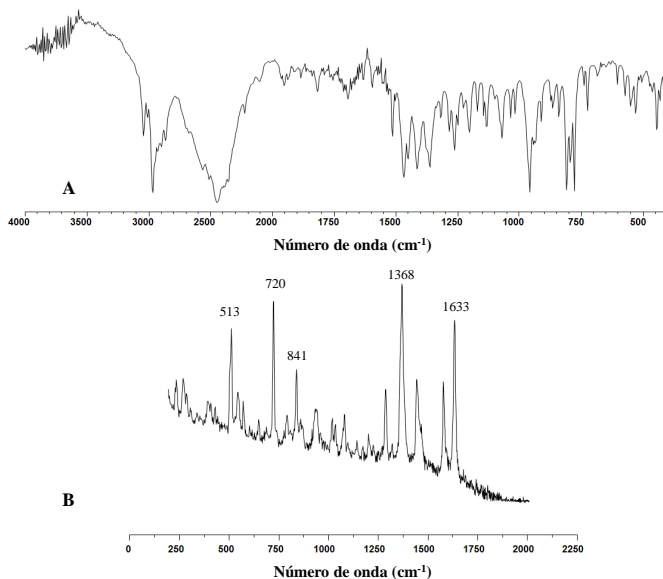


3.1.3 Espectroscopias vibracionais Raman e IV

As análises espectroscópicas (Figura 12) forneceram informações complementares no tocante às interações intermoleculares da estrutura cristalina de TBF. O espectro Raman da amostra TBFm apresentou os picos mais intensos em 513, 720, 841, 1287, 1368, 1442, 1462, 1577 e 1633 cm^{-1} . Em relação ao espectro IV da mesma amostra, as bandas características são encontradas em 3039,81; 2968,45; 2447,87; 1631,78; 1514,12; 1469,70; 1415,76; 1361,74; 1261,45 e 958,62 cm^{-1} . As bandas respectivas à deformação alifática C-H que aparecem em 2968,45 cm^{-1} referem-se aos grupos metil e metileno. Por outro lado, a banda de grande intensidade em 2447,87 cm^{-1} pode ser atribuída ao grupo amina. O grupamento *t*-butil gerou duas bandas de deformação axial, em 1361,74 e 1415,76 cm^{-1} . As deformações axiais assimétricas referentes ao grupamento C=C alifático e aromático estão presentes em 1631,78 e

1514,12 cm^{-1} , respectivamente. A banda intensa em 958,62 cm^{-1} pode ser atribuída à olefina *trans* substituída.

Figura 12 – Espectros IV (A) e Raman (B) referentes à amostra TBFm



3.1.4 RMNes

Os espectros ^{13}C CP/MAS e NQS referentes à amostra TBFm são mostrados na Figura 13, enquanto as atribuições de carbonos e os valores de deslocamento químico são descritos na Tabela 7. Como ilustrado na Figura 13A, o espectro CP/MAS exibiu dezesseis sinais bem resolvidos, indicando que existe apenas uma molécula na unidade assimétrica cristalina, de acordo com os resultados prévios obtidos por difração de raios X de monocristal. O espectro do TBF foi elucidado em comparação ao espectro do fármaco em solução, levando em consideração os dados NQS em estado sólido e com o auxílio de cálculos de deslocamento químico obtidos através de programas comerciais. O espectro NQS (Figura 13B) exibiu seis sinais, sendo dois deles (em 28,3 e 41,4 ppm) correspondentes aos grupos metila, os quais não são completamente

suprimidos devido ao rápido movimento do grupo metila. Os outros cinco sinais são relacionados aos cinco carbonos quaternários da molécula.

Figura 13 – Espectros ^{13}C CP/MAS (A) e NQS (B) referentes à amostra TBFm.

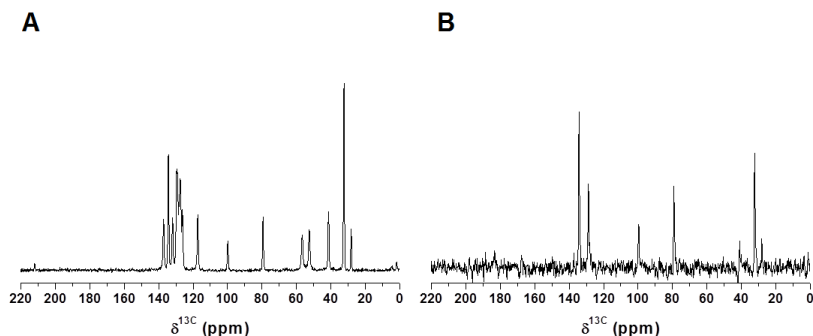


Tabela 7 – Dados de RMNeS referentes ao TBFm.

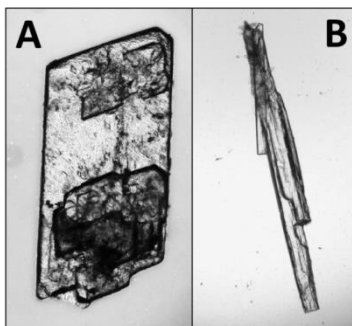
Átomo de carbono	Deslocamentos químicos (^{13}C)
C14-C17, C19-C21	126,2; 127,4; 128,9; 129,6; 131,9
C18	128,8
C12, C13	134,2
C3	117,3
C2	137,59
C4	79,4
C5	99,9
C1, C11	56,7; 52,6
C10	41,4
C7, C8, C9	32,5
C6	28,3

3.1.5 MO e MEV

As imagens referentes aos hábitos cristalinos de TBF gerados por diferentes solventes encontram-se ilustrados na Figura 15. O cristal TBFt (Figura 14A) obtido a partir de uma solução hidroalcoólica saturada (etanol:água, 1:1, v/v) demonstrou uma morfologia tabular. Por outro lado, cristais desenvolvidos em solução saturada de acetato de etila (TBFa) apresentaram formato acicular (Figura 14B). Estes resultados indicam que o solvente de cristalização influencia a morfologia cristalina devido a interações soluto-solvente em várias interfaces cristal-solução.

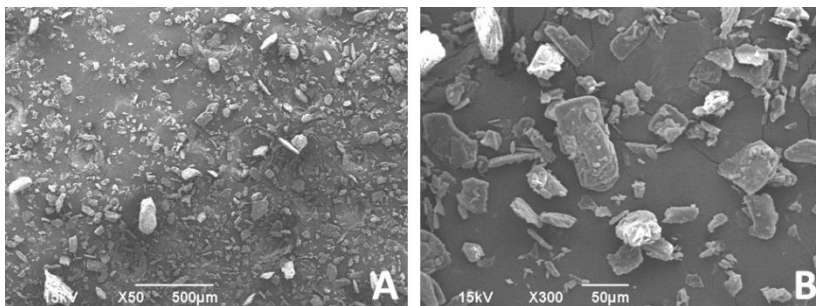
Mudanças na cinética de crescimento do cristal, aumento ou inibição do crescimento em certas faces cristalinas e o arredondamento de interfaces são alguns fatores afetados. Ainda, a polaridade do solvente e a interação que leva a uma adsorção preferencial em determinadas faces do soluto são fatores críticos na determinação do hábito de um sólido em cristalização (DAVEY, 1982; BERKOVITCH-YELLIN, 1985).

Figura 14 – Imagens referentes às amostras (A) TB Ft (etanol:água, 1:1, v/v) e (B) TB Fa (solução de acetato de etila).



As fotomicrografias de TB Fm são mostradas na Figura 15 onde pode-se observar uma distribuição heterogênea de tamanho de partícula e a presença de aglomerados. A análise morfológica de TBF também revelou hábito tabular, claramente diferente do observado para a amostra TB Fa. É sabido que a morfologia cristalina desempenha um importante papel no processamento e desenvolvimento de um produto farmacêutico, uma vez que este impacta nas propriedades físicas, como orientação da partícula, taxa de dissolução, compactação e compressibilidade, e fluxo de pó além do processo de mistura dos componentes da formulação (GAREKANI et al., 2000; TIWARY, 2001; CHAWLA et al., 2003; RASENACK; HARTENHAUER; MULLER, 2003).

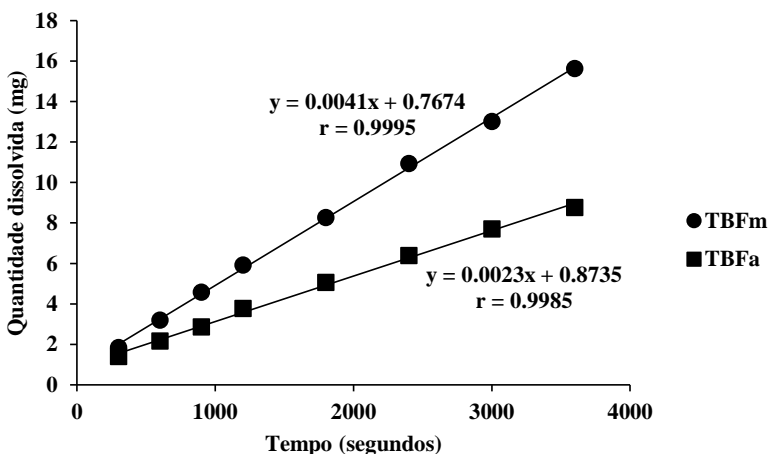
Figura 15 – Fotomicrografias obtidas por MEV referentes à amostra TBFm.



3.1.6 VDI

A Figura 16 apresenta a liberação cumulativa do fármaco *versus* tempo, a partir de amostras sólidas de TBF em HCl 0,001 M. A análise estatística realizada através do teste-*t* de Student revelou perfis significativamente diferentes entre as amostras TBFa e TBFm ($p \leq 0,05$). A inclinação das retas obtidas pela linearização dos pontos de cada curva foram usadas para calcular os valores de VDI e os resultados obtidos foram maiores para TBFm (0,0082 mg/cm²/s) em comparação à TBFa (0,0046 mg/cm²/s). Não foram observadas alterações nas análises de difração de raios X de pó e calorimetria exploratória diferencial realizadas antes e depois do procedimento da VDI, indicando a ausência de transformações de fase mediadas por pressão ou solvente.

Figura 16 – Perfis de VDI para (●) TBFm e (■) TBFa.



É difícil racionalizar os resultados diretamente uma vez que existem muitos processos e propriedades das amostras que controlam o processo de dissolução. Dentre as várias abordagens, a literatura menciona como possíveis causas para a ocorrência deste fenômeno o aumento da área superficial cristalina (CHOW et al., 1995; MARTENA et al., 2013), os defeitos estruturais (JAGTAP; VIDYASAGAR; DVIVEDI, 2014) e a redução do tamanho dos cristais (CHAVHAN et al., 2013; ZU et al., 2014). Entretanto, nós também propomos a influência da orientação preferencial dos cristais nas pastilhas comprimidas na VDI como um dos fatores predominantes. É sabido que a orientação preferencial altera a distribuição aleatória dos planos cristalinos na superfície de uma amostra compactada. Portanto, diferenças podem ocorrer nas propriedades de dissolução de comprimidos apresentando diferentes graus de orientação preferencial (TENHO et al., 2007). A exposição de diferentes planos cristalinos pode levar à interação de distintos grupos moleculares com o meio de dissolução, o que pode estar associado às diferenças na hidrofobicidade da molécula e na sua molhabilidade. Ainda, a orientação preferencial pode também impactar no grau de ionização de bases fracas como o TBF, uma vez que variações no pH da superfície de contato podem ocorrer.

Embora o método de dissolução intrínseca reduza ou até elimine os efeitos de tamanho e formato da partícula, existem vários estudos

sugerindo que a orientação preferencial das amostras afeta as suas propriedades de dissolução (BURT; MITCHELL, 1980). Tenho e colaboradores (TENHO et al., 2007) estudaram o efeito da orientação preferencial na determinação da VDI em discos compactados de ácido acetilsalicílico e tolbutamida e os resultados obtidos demonstraram que as amostras com maior orientação preferencial apresentaram valores de VDI claramente menores. Também, de acordo com os estudos de Prasad e colaboradores (PRASAD et al., 2002) em monocristais de paracetamol, a face cristalina (1 1 0) revelou uma taxa de dissolução um pouco maior do que a face (0 0 1).

De maneira geral, os resultados obtidos acerca dos estudos de dissolução intrínseca indicam a existência de diferentes planos cristalinos expostos nas amostras TBFm e TBFa, o que pode influenciar a taxa de dissolução destes distintos hábitos cristalinos no meio proposto. Este fato sugere que o hábito cristalino pode influenciar não somente as características de fluidez e compactabilidade de um pó, mas também a sua taxa de dissolução, podendo inclusive afetar a sua biodisponibilidade.

3.1.6.1 Solubilidade e condição “sink”

Condição *sink* é o termo que se refere ao excesso de volume do meio que permite que o sólido se dissolva continuamente. Segundo a Farmacopeia Americana esta condição é definida não se excedendo 10 % da solubilidade máxima do fármaco neste meio, ao final do teste (USP, 2004).

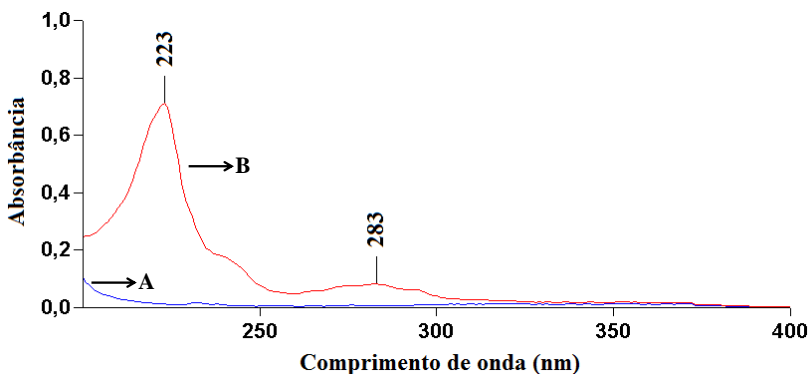
Baseado nesta definição foi possível assegurar a manutenção da condição *sink* durante todo o procedimento de dissolução intrínseca, uma vez que a solubilidade do TBF após um período de equilíbrio de 24 horas foi de 883,42 µg/mL enquanto que a sua concentração no tempo de 60 minutos corresponde a 62,53 µg/mL.

3.1.6.2 Validação analítica do método de dissolução intrínseca

3.1.6.2.1 Especificidade

O espectro de varredura do meio de dissolução é mostrado na Figura 17. Como pode ser observado, não ocorreu nenhuma absorção entre os comprimentos de onda analisados, de modo que o método pode ser considerado específico.

Figura 17 – Espectro na região do ultravioleta do meio de dissolução (A) e do TBF (solução em meio de dissolução, concentração de 30 µg/mL) (B).



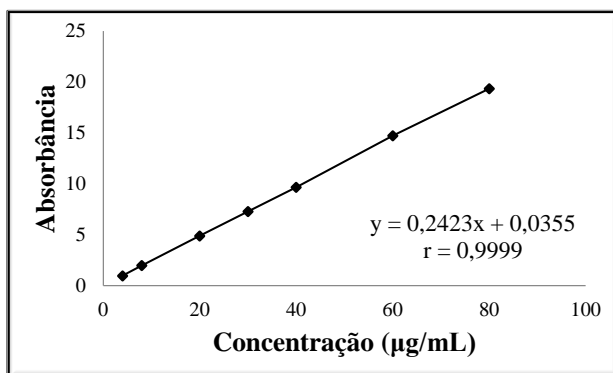
3.1.6.2.2 Linearidade, limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ)

A curva de calibração obtida a partir da avaliação da linearidade está representada na Figura 18. Os resultados obtidos na avaliação da linearidade demonstraram que soluções de TBF diluídas no meio de dissolução apresentam correlação linear entre a absorvância e a concentração das soluções. Ainda, uma vez que a faixa recomendada para avaliação da linearidade em ensaios de dissolução deve compreender valores 20 % abaixo do ponto de menor concentração e 20 % acima do ponto de maior concentração (USP 2011), a faixa de 4 a 80 µg/mL encontra-se dentro do preconizado.

A análise de variância ANOVA demonstrou regressão linear significativa e desvio da linearidade não significativo ($p < 0,05$). Estes dados indicam que o método é linear para o TBF.

O LQ e o LD calculados a partir da equação da reta foram 2,23 e 0,66 µg/mL, respectivamente.

Figura 18 – Curva de calibração média do TBF, com sua respectiva equação da reta e coeficiente de correlação (r).



3.1.6.2.3 Exatidão / Precisão

As recuperações médias de TBF para as concentrações de x; y e z µg/mL foram de $98,6 \pm 1,0$; $99,6 \pm 0,63$ e $97,7 \pm 1,19$ %, respectivamente, encontrando-se dentro dos limites preconizados de 95 a 105 % (USP, 2011).

Os resultados da precisão intra e interdia apresentaram valores de DPR menores do que 2,0 % e estão descritos na Tabela 8. O teor de TBF encontrado nos três diferentes dias foi equivalente ($p < 0,05$).

Tabela 8 – Dados de precisão intra e interdia para o método de dissolução intrínseca.

	Intradia	Interdia
Dia	Recuperação (%) ± DPR	DPR
1	$96,0 \pm 1,19$	0,94
2	$103,6 \pm 0,62$	
3	$96,1 \pm 1,21$	

3.1.6.2.4 Estabilidade no meio de dissolução

O TBF demonstrou ser estável no meio de dissolução por um período de até 24 horas. Nenhuma evidência de degradação foi detectada e o teor das soluções variou entre $98,9 \pm 1,3$ % no período analisado.

4 CONCLUSÕES

A determinação da estrutura cristalina e a caracterização em estado sólido do TBF foram realizadas. Diferentes hábitos cristalinos foram obtidos, sendo observada a influência destes na taxa de dissolução do fármaco. Os resultados da validação analítica demonstram que o método de dissolução intrínseca foi considerado exato, específico, linear e preciso. Os resultados deste estudo serão úteis para controle físico-químico de matérias-primas de TBF e demonstram a importância do controle de hábitos cristalinos distintos em estudos de pré-formulação e especificações de controle de qualidade do fármaco em questão.

5 REFERÊNCIAS

ALTOMARE, A.; BURLA, M. C.; CAMALLI, M.; CASCARANO, G. L.; GIACOVAZZO, C.; GUAGLIARDI A.; MOLITERNI, A. G. G.; POLIDORI, G.; SPAGNA, R. SIR97: a new tool for crystal structure determination and refinement. **Journal of Applied Crystallography**, v. 32, p. 115–119, 1999.

BRITAIN, H. G. **Polymorphism in Pharmaceutical Solids**. New York: Informa Healthcare, 2009. v.192. 640 p. (Drugs and the Pharmaceutical Sciences).

BURT, H. M.; MITCHELL, A.G. Effect of habit modification on dissolution rate. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 5, p. 239–251, 1980.

BYRN, S. R.; PFEIFFE, R. R.; STOWELL, J. G. **Solid-State chemistry of Drugs**. Indiana: SSCI, 1999. 574 p.

CHAVHAN, S.; JOSHI, G.; PETKAR, K.; SAWANT, K. Enhanced bioavailability and hypolipidemic activity of Simvastatin formulations by particle size engineering: Physicochemical aspects and in vivo investigations. **Biochemical Engineering Journal**, v. 79, p. 221–229, 2013.

CHAWLA, G.; GUPTA, P.; THILAGAVATHI, R.; CHAKRABORTI, A. K.; BANSAL, A.K. Characterization of solid-state forms of celecoxib. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 20, p. 305–317, 2003.

CHIENG, N.; RADES, T.; AALTONEN, J. An overview of recent studies on the analysis of pharmaceutical polymorphs. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 55, n. 4, p. 618–644, 2011.

CHOW, A. H. L.; HSIA, C. K.; GORDON, J. D.; YOUNG, J. W. M.; VARGHA-BUTLEFF, E. I. Assessment of wettability and its relationship to the intrinsic dissolution rate of doped phenytoin crystals. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 126, p. 21–28, 1995.

GAREKANI, H.; FORD, J. L.; RUBINSTEIN, M. H.; RAJABI-SIAHBOOMI, A. R. Highly compressible paracetamol: I: crystallization and characterization. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 208, p. 87–99, 2000.

HUANG, L. F.; TONG, W. Q. Impact of solid state properties on developability assessment of drug candidates. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 56, p. 321–334, 2004.

ICH. **ICH - Validation of analytical procedures: text and methodology Q2 (R1)**. International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, 2005.

JAGTAP, V. A.; VIDYASAGAR, G.; DVIVEDI, S. C. Solubility enhancement of rosiglitazone by using melt sonocrystallization technique. **Journal of Ultrasound**, v. 17, p. 27–32, 2014.

LU, J.; LI, Z.; JIANG, X. Polymorphism of pharmaceutical molecules: perspectives on nucleation. **Frontiers of Chemical Engineering in China**, v. 4, n. 1, p. 37–44, 2010.

MARTENA, V.; CENSI, R.; HOTI, E.; MALAJ, L.; DI MARTINO, P. Preparation of glibenclamide nanocrystals by a simple laboratory scale ultra cryo-milling. **Journal of Nanoparticle Research**, v. 15, p. 1–10, 2013.

NANGIA, A. Conformational polymorphism in organic crystals. **Accounts of Chemical Research**, v. 41, n. 5, p. 595–604, 2008.

PRASAD, K. V. R.; RISTIC, R. I.; SHEEN, D. B.; SHERWOOD, J. N. Dissolution kinetics of paracetamol single crystals. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 238, p. 29–41, 2002.

RASENACK, N.; HARTENHAUER, H.; MÜLLER, B. W. Microcrystals for dissolution rate enhancement of poorly water-soluble drugs. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 254, p. 137–145, 2003.

SCHULTHEISS, N.; NEWMAN, A. Pharmaceutical cocrystals and their physicochemical properties. **Crystal Growth and Design**, v. 9, n. 6, p. 2950–2967, 2009.

SHELDRICK, G. M. SHELXL-97. **Program for the Refinement of Crystal Structure**. University of Göttingen, Göttingen, 1997.

SORRENTI, M.; CATENACCI, G.; BRUNI, B.; LUPPI, B.; BIGUCCI, F.; BETTINETTI, G. Solid-state characterization of tacrine hydrochloride. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 63, p. 53–61, 2012.

SPEK, A. L. Structure validation in chemical crystallography. **Acta Crystallographica Section D**, v. 65, p. 148–155, 2009.

TEDESCO, E.; GIRON, D.; PFEFFER, S. Crystal structure elucidation and morphology study of pharmaceuticals in development. **Crystal Engineering Communications**, v. 4, p. 393–400, 2002.

TENHO, M.; HEINÄNEN, P.; TANNINEN, V. P.; LEHTO, V. P. Does the preferred orientation of crystallites in tablets affect the intrinsic dissolution? **Journal of pharmaceutical and biomedical analysis**, v. 43, n. 4, p. 1315–1323, 2007.

TIWARY, A.K. Modification of crystal habit and its role in dosage form performance. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 27, n. 7, p. 699–709, 2001.

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

ZU, W.; LI, N.; ZHAO, X.; LI, Y.; GE, Y.; WANG, W.; WANG, K., LIU, Y. In vitro dissolution enhancement of micronized l-nimodipine by antisolvent re-crystallization from its crystal form H. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 464, p. 1–9, 2014.

CAPÍTULO III

DETERMINAÇÃO DA CINÉTICA DE FOTODEGRADAÇÃO DO CLORIDRATO DE TERBINAFINA POR CROMATOGRÁFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA

1 INTRODUÇÃO

A estabilidade dos fármacos ou dos medicamentos pode ser afetada por fatores externos, tais como calor, umidade, oxigênio e luz. Estudos demonstram que o TBF é estável à temperatura, à hidrólise e à oxidação. Entretanto, o fármaco possui em sua estrutura química, ligações triplas e duplas conjugadas apresentando sensibilidade à luz (CARDOSO; SCHAPOVAL, 1999; CARDOSO, 2000). O conhecimento dos produtos de degradação obtidos sob diferentes condições é de grande importância, uma vez que estes podem alterar as propriedades químicas, farmacológicas e toxicológicas do fármaco, afetando a sua eficácia e segurança (ALVAREZ-LUEJE et al., 2002). O principal produto de degradação do TBF frente à luz é o seu isômero Z ultravioleta (CARDOSO; SCHAPOVAL, 1999; MATYSOVÁ et al., 2006) o qual apresenta menor atividade que o isômero E (KAZAKOV; GOLOSOV, 2004).

Uma proposta em andamento neste trabalho é o *screening* de cocristais de TBF e a caracterização dos sólidos obtidos. Considerando-se os desafios de um fármaco fotossensível, buscou-se obter um método indicativo de estabilidade e avaliar a cinética de degradação do TBF para estabelecer o planejamento experimental, visando evitar a degradação do fármaco durante os ensaios.

Diferentes metodologias visando à determinação analítica do TBF são relatadas na literatura, incluindo a volumetria em meio não-aquoso e espectrofotometria no ultravioleta (CARDOSO; SCHAPOVAL, 1999), espectrometria derivada no ultravioleta (EL-SAHARTY; HASSAN; METWALLY, 2002), cromatografia em camada delgada de alta performance (AHMAD et al., 2009; SUMA et al., 2011) e cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) (CARDOSO, 1999; ABDEL-MOETY; KELANI; AL-ALAMEIN, 2003; MATYSOVÁ et al., 2006; RANI et al., 2006). Os métodos cromatográficos têm se mostrado adequados para a quantificação da TBF e de seus produtos de degradação mas apresentam algumas limitações. O método descrito por Matysová e colaboradores utiliza coluna ciano, a qual não é usual em laboratórios de controle de qualidade, e apresenta um solvente de relativa toxicidade na fase móvel (MATYSOVÁ et al., 2006). Por outro lado, no método proposto por Abdel-Moety e colaboradores, a vazão de fase móvel não permitiu uma boa separação entre o fármaco e seu produto de degradação, sendo esta uma característica imprescindível para estudos envolvendo cinética (ABDEL-MOETY; KELANI; AL-ALAMEIN, 2003). Da mesma forma, os métodos propostos por Tagliari e colaboradores

(TAGLIARI et al., 2010) e Cardoso e Schapoval (CARDOSO; SCHAPOVAL, 1999) para determinação do TBF em formulações farmacêuticas são rápidos e simples, porém não são indicativos de estabilidade. Considerando que a cinética de fotodegradação do TBF não foi ainda relatada na literatura, e que os métodos de quantificação disponíveis apresentam limitações para aplicação em estudos de estabilidade, este capítulo apresenta o desenvolvimento de um método capaz de determinar os produtos de fotodegradação do TBF, bem como a avaliação da sua cinética de reação sob esta condição.

2 METODOLOGIA

2.1 MATERIAIS

O TBF substância química de referência (SQR) foi adquirido de Zhejiang East-Asia Pharmaceutical, lote DC-0107-09122001. Acetonitrila e metanol grau CLAE foram obtidos de J. T. Baker (Phillipsburg, Estados Unidos). Todos os outros materiais e solventes utilizados apresentam grau analítico e a água ultrapura foi obtida a partir de um Sistema de Gradiente Milli-Q (Millipore, Bedford, Estados Unidos).

2.2 MÉTODOS

2.2.1 Instrumentação e condições cromatográficas

As análises de CLAE foram realizadas em cromatógrafo Shimadzu LC-10A (Kyoto, Japão), equipado com bomba LC-10AD, degaseificador DGU-14A, detector de comprimento de onda variável (fixado em 254 nm) SPD-10AV e unidade controladora de sistema SCL-10AVP. Os experimentos foram conduzidos em coluna cromatográfica de fase reversa Phenomenex (Torrance, Estados Unidos) Luna C18 (250 x 4,6 mm; 5 µm), com pré-coluna C18, 4,0 x 3,0 mm, mantidas a 25 ± 1 °C. A fase móvel, constituída de metanol:água (80:20, v/v) foi eluída em modo isocrático, em vazão de 1,0 mL/min. As amostras foram filtradas em membrana de poliamida 0,45 µm, e um volume de 20 µL foi injetado em triplicata. A aquisição dos dados foi realizada por meio de *software* CLASS-VP® V 6.14.

2.2.2 Preparo das soluções padrão

A solução padrão estoque contendo 1000 µg/mL de TBF SQR foi preparada em metanol. Esta solução foi mantida refrigerada e protegida da luz. Soluções padrão de trabalho foram preparadas por diluição da solução estoque, conforme apropriado, em fase móvel. A solução foi filtrada através de membrana de *nylon* de 0,45 µm antes da injeção.

2.2.3 Validação analítica do método de quantificação do TBF por CLAE

O método proposto foi validado seguindo os parâmetros referentes à especificidade, linearidade, limites de detecção (LD) e quantificação (LQ), exatidão, precisão e robustez, conforme critérios propostos pela Resolução da ANVISA RE nº 899 (BRASIL, 2003) e pela International Conference on Harmonization (ICH, 2005).

2.2.3.1 Especificidade

A especificidade do método foi determinada através da análise do TBF em presença de potenciais produtos de degradação obtidos através de condições de estresse.

2.2.3.2 Linearidade, limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ)

A linearidade do método cromatográfico foi determinada pela análise de cinco concentrações crescentes de TBF na faixa de 5,0 – 50,0 µg/mL, em triplicata, em três dias diferentes. Estas soluções foram preparadas a partir de solução estoque a 1000 µg/mL em metanol. A linearidade foi avaliada pela análise da regressão linear, a qual foi calculada pelo método dos mínimos quadrados e pela análise da variância (ANOVA).

Os valores de LD e LQ foram calculados a partir do desvio padrão da resposta (σ) e coeficiente angular (s), obtidos através da equação da reta média, como demonstrado pelas Equações 6 e 7 descritas no Capítulo II.

2.2.3.3 Exatidão

A exatidão foi determinada através da comparação entre os resultados da quantificação do fármaco obtidos através do método proposto e de um segundo método, bem caracterizado e descrito em literatura (TAGLIARI et al., 2010). Concentrações de 20, 25 e 30 µg/mL, as quais correspondem a 80, 100 e 120 % da concentração de injeção, foram analisadas em triplicata através de ambos os métodos de CLAE.

2.2.3.4 Precisão

A precisão do método foi avaliada através da repetibilidade (intradia) e da precisão intermediária (interdia). A repetibilidade foi avaliada através da análise de seis amostras durante o mesmo dia e sob as mesmas condições experimentais. A precisão intermediária foi determinada por meio da análise de três amostras em três diferentes dias. A concentração analítica teórica compreendeu 25 µg/mL (ponto médio aproximado da curva analítica). As medidas foram realizadas em triplicata e expressas como desvio padrão relativo (DPR) (%).

2.2.3.5 Robustez

A robustez do método foi analisada a partir de pequenas e deliberadas modificações nas condições do método, como o comprimento de onda de detecção (253, 254 e 255 nm), a temperatura do forno (20, 25 e 30 °C) e o volume de injeção (18, 20 e 22 µL). As amostras submetidas à essas condições foram analisadas em triplicata.

2.2.3.6 Análise estatística

A análise estatística dos dados foi conduzida através de análise de variância ANOVA e estabelecidos resultados significativos aqueles com probabilidade menor do que 5 % ($p < 0,05$). A avaliação estatística dos resultados foi realizada no software MS Excel® (Microsoft Office Excel 2011).

No parâmetro exatidão, a análise estatística foi realizada através do teste-*t* de Student, seguindo os mesmos critérios estatísticos descritos acima.

2.2.4 Estudos de fotodegradação

Soluções de TBF a 1000 $\mu\text{g/mL}$ (preparadas em água:metanol 70:30, v/v; metanol ou acetonitrila) foram submetidas à radiação emitida através de lâmpada UVC Philips® (30 W), em 254 nm, instalada em uma câmara revestida internamente com superfície espelhada temperatura ambiente. As amostras foram mantidas em cubetas de quartzo a uma distância de 10 cm da lâmpada. O sistema de iluminação utilizado encontra-se em acordo com a Opção 2 do guia Q1B do ICH (ICH, 1998). Em períodos aleatórios a intensidade da lâmpada UVC foi testada através de um luxímetro calibrado (Mimipa® modelo MLM 1011). A temperatura no interior da câmara foi monitorada durante todo o experimento através de um termohigrômetro instalado no interior da câmara. Alíquotas das amostras foram coletadas durante um período de 1 hora, nos intervalos de 5, 10, 15, 30, 45 e 60 minutos. As alíquotas coletadas foram diluídas a uma concentração de 25 $\mu\text{g/mL}$ com fase móvel, filtradas em membrana de *nylon* de 0,45 μm e analisadas. Todas as amostras foram analisadas em duplicata.

2.2.5 Cálculos cinéticos

As cinéticas de degradação do TBF foram determinadas a partir das concentrações obtidas nos diferentes tempos de coletas, plotando-se gráficos da concentração remanescente do fármaco *versus* tempo (reação de ordem zero), o log da concentração do fármaco *versus* tempo (reação de primeira ordem) e o recíproco da concentração do fármaco *versus* tempo (reação de segunda ordem). A ordem da reação foi definida a partir do coeficiente de correlação (r). A velocidade da reação (k), o $t_{50\%}$ (tempo no qual 50 % do fármaco encontra-se remanescente) e o $t_{90\%}$ (tempo no qual 90 % do fármaco encontra-se remanescente) também foram obtidos. As equações utilizadas para determinação desses parâmetros são mostradas na Tabela 9, onde C_0 corresponde à concentração do fármaco no tempo zero, C representa a concentração após um tempo de reação t e k refere-se à velocidade da reação.

Tabela 9 – Equações para determinação dos parâmetros cinéticos

Ordem da reação	Plotagem da concentração	$t_{50\%}$	$t_{90\%}$
Ordem zero	$C = C_0 - kt$	$t_{50\%} = C_0/2k$	$t_{90\%} = 0,1C_0/k$
Primeira ordem	$\log C = \log C_0 - kt$	$t_{50\%} = 0,693/k$	$t_{90\%} = 0,106/k$
Segunda ordem	$1/C = 1/C_0$	$t_{50\%} = 1/kC_0$	$t_{90\%} = 1/9kC_0$

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 DESENVOLVIMENTO DO MÉTODO ANALÍTICO POR CLAE

Para garantir a adequada separação entre o fármaco e os potenciais produtos de fotodegradação as condições cromatográficas foram ajustadas com base em relatos anteriores disponíveis na literatura. (CARDOSO, 2000; ABDEL-MOETY; KELANI; AL-ALAMEIN, 2003; TAGLIARI et al., 2010). Nestes estudos, as fases móveis eram constituídas de metanol:água (v/v) na proporção de 95:5 (CARDOSO, 2000; TAGLIARI et al., 2010) ou 80:20 (ABDEL-MOETY; KELANI; AL-ALAMEIN, 2003), mas não permitiram a resolução adequada entre o TBF e seus produtos de fotodegradação. Após várias combinações, a fase móvel constituída de metanol:água (80:20, v/v), com vazão de 1,0 mL min/min e comprimento de onda de 254 nm, foi a que permitiu obter picos simétricos e com adequada resolução. Embora o espectro de absorção no UV do TBF apresente uma absorção máxima em 224 nm, o comprimento de onda escolhido foi de 254 nm, uma vez que este oferece maior seletividade no que diz respeito aos solventes selecionados para a fase móvel e por ser um comprimento de onda universal, em que vários compostos apresentam absorção. Como vantagens frente à metodologia por CLAE proposta por Abdel-Moety e colaboradores (ABDEL-MOETY; KELANI; AL-ALAMEIN, 2003) o método aqui proposto apresentou adequada determinação de TBF em presença de seus produtos de fotodegradação, o que é considerado importante para estudos cinéticos.

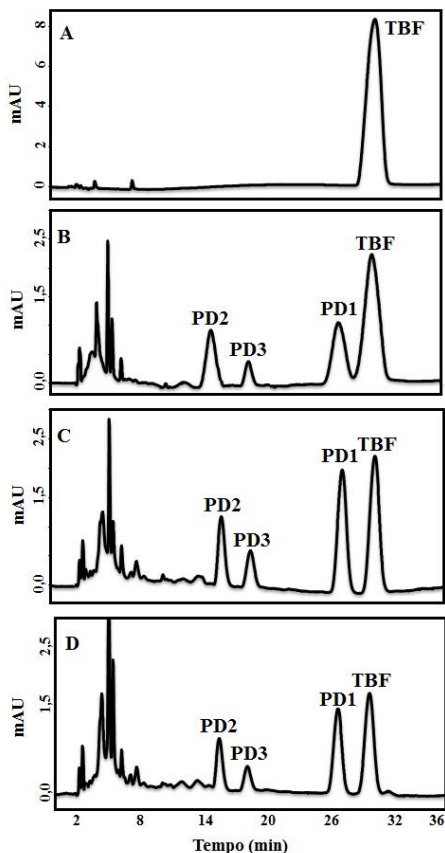
3.2 VALIDAÇÃO ANALÍTICA DO MÉTODO DE QUANTIFICAÇÃO DO TBF POR CLAE

A validação de um método analítico é o processo que estabelece, através de estudos laboratoriais, que este procedimento é adequado para

a aplicação pretendida (BRASIL, 2003; ICH, 2005; USP, 2011). A validação assegura a confiabilidade nos resultados de uma análise, embora não determine que o método seja livre de erros, mas aprova que o mesmo seja adequado para aquilo a que é proposto (MEHTA, 1995; RIBANI et al., 2004). Os atributos normalmente recomendados nos processos de validação de um método são: exatidão, precisão, especificidade, faixa de medição, limite de detecção, limite de quantificação, linearidade e robustez. Entretanto, tanto o ICH (ICH, 2005) como a Farmacopeia Americana (USP, 2011) reconhecem que não há necessidade de serem avaliados todos os parâmetros. Desta forma, é responsabilidade do analista determinar quais características serão avaliadas, visto que, o tipo de método e o seu propósito é que irão determinar o desenvolvimento do processo (SWARTZ; KRULL, 1998; EREMER, 2001).

Inicialmente, verificou-se a capacidade do método avaliar o fármaco na presença de potenciais produtos de degradação formados em condições de degradação forçada. A Figura 19 apresenta os cromatogramas referentes aos produtos de degradação do TBF obtidos através da exposição à luz UV em diferentes diluentes. Foram observados três picos adicionais denominados produto de degradação 1 (PD1, tempo de retenção de 27,3 min), produto de degradação 2 (PD2, tempo de retenção de 15,6 min) e produto de degradação 3 (PD3, tempo de retenção de 18,3 min). Não foi observada sobreposição entre os picos do fármaco e seus degradados, comprovando a especificidade do método de quantificação do TBF por CLAE.

Figura 19 – Cromatogramas referentes ao TBF (A) e seu comportamento de degradação em 1 hora de fotólise (lâmpada UVC, 254 nm) em (B) água, (C) acetonitrila e (D) metanol. [Coluna C18, fase móvel composta por metanol:água (80:20 v/v), eluição isocrática, vazão de 1 mL/min e detecção em 254 nm]. PD1 – produto de degradação 1. PD2 – produto de degradação 2. PD3 – produto de degradação 3



A avaliação da linearidade demonstrou que o TBF apresentou uma correlação linear na faixa de 5 a 50 $\mu\text{g/mL}$, com um coeficiente de correlação linear superior a 0,999. A equação da reta obtida para a reta média de calibração foi $y = 17525x - 13259$, onde x refere-se à concentração em $\mu\text{g/mL}$ e y corresponde à área do pico em unidades de absorbância (mAU). Os dados foram validados por meio de análise

estatística ANOVA, a qual demonstrou regressão linear significativa ($p < 0,05$) e desvio da linearidade não significativo ($p > 0,05$).

Os valores calculados para LD e LQ foram de 1,0 e 3,3 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente, garantindo a sensibilidade do método em valores abaixo do primeiro ponto da curva de calibração.

A exatidão foi avaliada através da comparação entre os resultados obtidos pelo método proposto e o outro método previamente desenvolvido no grupo (TAGLIARI et al., 2010), e os resultados estão apresentados na Tabela 2. Através do teste-t de Student não foi observada diferença significativa ($p \geq 0,05$) entre os resultados.

Tabela 10 – Resultados referentes à exatidão do método

Concentração analisada (%)	Método proposto		Método de comparação	
	Recuperação (%)	DPR (%)	Recuperação (%)	DPR (%)
80	97,27	0,45	96,36	0,37
100	96,26	0,13	95,36	0,36
120	101,34	0,45	100,24	0,54

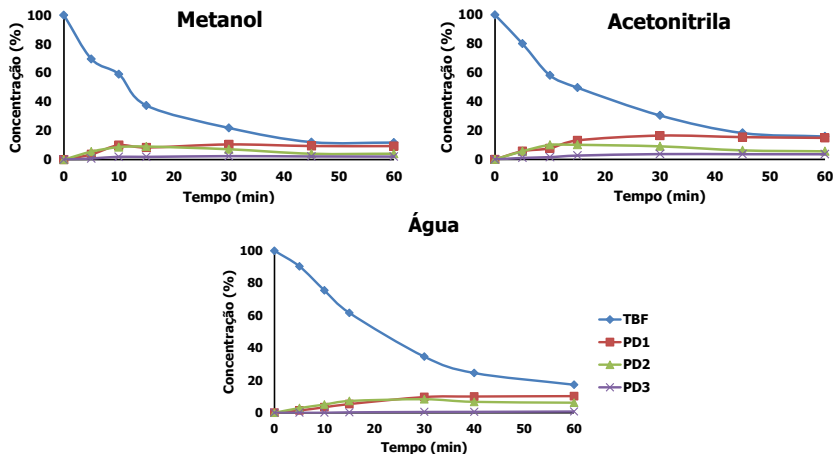
A precisão, que representa a dispersão de resultados entre ensaios independentes repetidos de uma mesma amostra, foi estimada pelo DPR (BRASIL, 2003). Os valores de DPR encontram-se dentro do critério de aceitação de 5 % (BRASIL, 2003), sendo iguais a 0,7 e 0,8 % para análises intradia e interdia, respectivamente. O teor de TBF encontrado nos três diferentes dias foi equivalente ($p \geq 0,05$) com valores de 100,4 % (intradia) e 98,2 % (interdia). Os ensaios de robustez demonstraram que a resposta do método não foi influenciada por pequenas e deliberadas modificações em condições do método. O percentual de fármaco encontrado variou de 95,5 a 103,8 %, de 100,6 a 101,4 % e de 98,1 a 101,8, para alterações no comprimento de onda de detecção, na temperatura do forno e no volume de injeção, respectivamente.

3.3 ESTUDOS DE FOTODEGRADAÇÃO

Na Figura 20 é possível observar a degradação do TBF sob a condição fotolítica em solução aquosa, metanólica e em acetonitrila. Estas soluções foram selecionadas em função da solubilidade do fármaco. Em todos os solventes testados os mesmos três produtos de fotodegradação (PD) foram gerados sendo que em metanol houve degradação mais rápida (em menor tempo t_{90} , Tabela 3). É interessante notar que a diminuição

do fármaco foi concomitante ao aparecimento e aumento do PD3. Por outro lado, PD1 e PD2 atingiram sua percentagem máxima aos 30 minutos e depois começaram a diminuir. Cardoso (2000) observou que não ocorre formação de produto de degradação quando amostras de TBF são submetidas à luz com espectro de emissão entre 320 e 400 nm por 30 dias. Além disso, o principal produto de fotodegradação identificado pela autora corresponde ao isômero Z do TBF, o qual apresenta diminuição da atividade antifúngica comparado ao isômero E (CARDOSO, 2000). Matysová e colaboradores (2006) elucidaram uma impureza e três produtos de degradação do TBF em cremes tópicos após testes de estabilidade de longo prazo. A impureza 1-metil-amino-metil-naftaleno (MAMN) é matéria-prima de síntese do TBF. Os produtos β -terbinafina e o 4-metil-terbinafina foram identificados como derivados do correspondente isômero da matéria prima MAMN e o Z-terbinafina como um potencial produto de degradação que ocorre durante estocagem da formulação (MATYSOVÁ et al., 2006).

Figura 20 – Perfil de fotodegradação do TBF em metanol, acetonitrila e água



3.3.1 Determinação da cinética de fotodegradação do TBF

Os dados referentes à cinética de fotodegradação do TBF demonstrados na Tabela 11. A estimativa matemática revelou uma reação

de primeira ordem para a fotólise em todas as soluções testadas, indicando que a degradação é dependente da concentração dos reagentes.

Tabela 11 – Dados referentes à cinética de fotodegradação do TBF

Solvente empregado	Ordem de reação	<i>t</i>_{50%} (h)	<i>t</i>_{90%} (h)
Solução aquosa	Primeira ordem	18,5	2,8
Metanol	Primeira ordem	15,8	2,4
Acetonitrila	Primeira ordem	19,7	3,0

4 CONCLUSÕES

O método indicativo de estabilidade por CLAE demonstrou ser capaz de separar o TBF de seus produtos de degradação, sendo validado e considerado específico, linear, sensível, preciso, exato e robusto. O TBF demonstrou ser lábil frente à luz e a cinética de reação para esta condição foi determinada como sendo de primeira ordem.

O conhecimento dos potenciais produtos de degradação do TBF gerados sob condições de fotólise e de sua cinética de degradação serão úteis para determinação dos parâmetros durante o *screening* de cocristais de TBF, bem como no estabelecimento das suas condições de análise. Através destes estudos foi possível perceber que o fármaco deve ser protegido da luz desde o início de todos os ensaios visando evitar a sua degradação.

5 REFERÊNCIAS

ABDEL-MOETY, E. M.; KELANI, K. O.; AL-ALAMEIN, A. A. M. Chromatographic determination of terbinafine in presence of its photodegradation products. **Saudi Pharmaceutical Journal**, v. 11, p. 37–45, 2003.

AHMAD, S.; JAIN, G. K.; FAIYAZUDDIN, M.; IQBAL, Z.; TALEGAONKAR, S.; SULTANA, Y.; AHMAD, F. J. Stability-indicating high-performance thin-layer chromatographic method for analysis of terbinafine in pharmaceutical formulations. **Acta Chromatographica**, v. 21, n. 4, p. 631–639, 2009.

ALVAREZ-LUEJE, A.; STURM, J.; SQUELLA, J. A.; NUNEZ, J. N. Hydrolytic degradation of nitrendipine and nisoldipine **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 28, 887–895, 2002.

BRASIL. Portaria 899, de 29 de maio de 2003. Disponível em: <portal.anvisa.gov.br>. Acesso em: 29 de julho de 2013.

BRITISH PHARMACOPOEIA, The Department of Health. London, 2009.

CARDOSO, S. G. **Terbinafina: validação de metodologia de análise e estabilidade fotoquímica**. 2000. 219 f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2000.

CARDOSO, S. G.; SCHAPOVAL, E. E. S. UV Spectrophotometry and nonaqueous determination of terbinafine hydrochloride in dosage forms. **Journal of AOAC International**, v. 82, n. 4, p. 830–833, 1999.

EL-SAHARTY, Y. S.; HASSAN, N. Y.; METWALLY, F.H. Simultaneous determination of terbinafine HCl and triamcinolone acetone by UV derivative spectrophotometry and spectrodensitometry.

Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, v. 28, n. 3-4, p. 569-580, 2002.

ERMER, J. Validation in Pharmaceutical Analysis. Part I: An Integrated approach. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 24, p. 755-767, 2001.

ICH. INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION.
Photostability testing of new active substances and medicinal products (Q1B), Geneva, 1998.

ICH. INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION.
Validation of analytical procedures: text and methodology (Q2R1), Geneva, 2005.

KAZAKOV, P. V.; GOLOSOV, S. N. A simple method for obtaining terbinafine hydrochloride. **Pharmaceutical Chemistry Journal**, v. 38, p. 206–208, 2004.

MATYSOVÁ, L.; SOLICH, P.; MAREK, P.; HAVLÍKOVÁ, L.; L.NOVÁKOVÁ, J.; SÍCHA, J. Separation and determination of terbinafine and its four impurities of similar structure using simple RP-HPLC method. **Talanta**, v. 68, p. 713–720, 2006.

MEHTA, A. C. Quality management in drug analysis. **Analyst**, v. 122, p. 83R–88R, 1997.

RANI, B. S.; REDDY, P. V.; BABU, G. S.; SANKAR, G. G.; RAO, J. V. L. N. S. Reverse phase HPLC determination of terbinafine hydrochloride in tablets. **Asian Journal of Chemistry**, v. 18, n. 4, p. 3154–3156, 2006.

RAUBER, G. S. **Cocristsais farmacêuticos de furosemdia: obtenção, caracterização e estudos de estabilidade**. 2013. 235 f. Dissertação

(Mestrado em Farmácia) Programa de Pós-graduação em Farmácia, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2013.

RIBANI, M.; BOTTOLI, C. B. G.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F.; MELO, L. F. C. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química Nova**, v. 27, 771–780, 2004.

RIEKES, M. K.; RAUBER, G. S.; KUMINEK, G.; TAGLIARI, M. P.; CARDOSO, S. G.; STULZER, H. K. Determination of nimodipine in the presence of its degradation products and overall kinetics through a stability-indicating LC method. **Journal of Chromatographic Sciences**, v. 51, n. 6, p. 511–516, 2013.

SUMA, B.V.; KANNAN, K.; MADHAVAN, V.; CHANDINI, R. N. HPTLC method for determination of terbinafine in the bulk drug and tablet dosage form. **International Journal of ChemTech Research**, v. 3, n. 2, p. 742–748, 2011.

SWARTZ, M. E.; KRULL, I. S. Validação de métodos cromatográficos. **Pharmaceutical Technology**, v. 2, n. 3, p. 12-20, 1998.

TAGLIARI, M. P.; KUMINEK, G.; BORGMANN, S. H. M.; BERTOL, C. D.; CARDOSO, S. G. Terbinafine: optimization of a LC method for quantitative analysis in pharmaceutical formulations and its application for a tablet dissolution test. **Química Nova**, v. 33, n. 8, p. 1790–1793, 2010.

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

CAPÍTULO IV

SAL OU COCRISTAL? O IMPACTO DA TÉCNICA DE CARACTERIZAÇÃO EM ESTADO SÓLIDO NA IDENTIFICAÇÃO DE FASES CRISTALINAS

1 INTRODUÇÃO

A cocristalização representa uma estratégia de modificação de sólidos, visando ao aperfeiçoamento das propriedades físico-químicas e biofarmacêuticas de fármacos pouco solúveis (THAKURIA et al., 2013). Quando comparados com outras formas sólidas utilizadas na tecnologia farmacêutica, os cocristais proporcionam uma maior diversidade de entidades possíveis de serem produzidas, além de possibilitarem o desenho da estrutura de interesse (RODRIGUEZ-SPONG et al., 2004; SHAN, ZAWOROTKO, 2008; NANGIA, BABU, 2011).

A produção desses sólidos envolve a prévia avaliação das interações supramoleculares dos grupos funcionais presentes nas moléculas a fim de selecionar os *coformers* apropriados (HE et al., 2008; FABIÁN, 2009). Dentre as diversas técnicas de recristalização, destacam-se a moagem assistida por solvente (LAG, do inglês *liquid assisted grinding*) e a cristalização por suspensão (*slurry*), por se tratarem de técnicas com ampla tendência à cocristalização entre moléculas e por proporcionarem rapidez de *screening* (SHAN; TODA; JONES, 2002; ZHANG et al., 2007; TAKATA et al., 2008). Ainda, com relação à obtenção de monocristais, a técnica de cristalização em gel demonstra-se bastante promissora (DHANARAJ et al., 2010; CHOQUESILLO-LAZARTE, D.; GARCÍA-RUIZ, 2011).

O carvedilol (CAR) apresenta-se como um candidato em potencial ao desenvolvimento de sistemas multicomponentes, uma vez que apresenta reduzida biodisponibilidade e baixíssima solubilidade em água, sendo qualificado como classe II no Sistema de Classificação Biofarmacêutico (SCB) (STROE; GHEORGHIADÉ, 2004; WU; BENET, 2005; SWEETMAN, 2009).

A literatura apresenta diversos estudos recentes visando ao aperfeiçoamento das características biofarmacêuticas do carvedilol, dentre as quais se citam: a obtenção de dispersões sólidas (PLANINSEK; KOVACIC; VRECER, 2011; SHAMMA; BASHA, 2013); a preparação de sistemas intercalados com minerais de argila (LAKSHMI et al., 2010); a produção de filmes mucoadesivos orais (KAUR; KAUR, 2012; MEHER et al., 2013); o desenvolvimento de micro e nanopartículas (RIEKES et al., 2011; VENISHETTY et al., 2012; ZHANG et al., 2013), entre outras. Entretanto, não há relatos de cocristais farmacêuticos envolvendo o CAR, o que motivou a realização de um *screening* visando obter cocristais do fármaco.

A seleção dos *coformers* para o *screening* de cocristais foi estabelecida levando-se em consideração a presença de grupamentos

capazes de formar ligações de hidrogênio com a molécula de CAR. Entretanto, diversos estudos presentes na literatura indicam que os valores de pK_a do fármaco e do *coformer* são fatores determinante durante a escolha dos componentes do cocristal, especialmente em casos de espécies ionizáveis. De maneira geral, ocorrerá a formação de um sal entre um ácido fraco ou uma base fraca e o seu contra-íon se a diferença de pK_a entre eles for maior do que três unidades e ocorrerá a formação de um cocristal se a diferença for menor que duas unidades. Alguns refinamentos desta regra afirmam que existe uma “área cinza” em diferenças de pK_a entre duas e três unidades não sendo possível prever a formação de sal ou cocristal nesta faixa (STAHL; WERMUTH, 2002; BLACK et al., 2007; BOND, 2012; WILLIAMS et al., 2013).

Neste sentido, o presente capítulo apresenta o *screening* e a caracterização no estado sólido com o objetivo de identificar novas fases cristalinas de sistemas multicomponentes de CAR com vários *coformers*.

2 METODOLOGIA

2.1 MATERIAIS

A matéria-prima de CAR foi obtida do fornecedor DEG Importação de Produtos Químicos LTDA, São Paulo, Brasil, lote CA10005R. Os *coformers* utilizados para os experimentos (vide estruturas página 52) e seus respectivos lotes e fabricantes estão apresentados no Quadro 2. Os *coformers* foram selecionados de acordo com a presença de grupamentos potenciais formadores de ligações de hidrogênio com a molécula do CAR.

Quadro 2 – Lista dos *coformers* utilizados, com seus respectivos fabricantes e lotes

Coformer (sigla)	Fabricante	Lote
Ácido ascórbico (ACASC)	LabSynth	141869
Ácido benzóico (ACBENZ)	LabSynth	140407
Ácido cítrico (ACCIT)	LabSynth	140103
Ácido fumárico (ACFUM)	LabSynth	134245
Ácido oxálico (ACOXÁ)	LabSynth	140282
Ácido tartárico (ACTAR)	LabSynth	141735
Alantoína (ALANT)	Isp do Brasil	775
Cafeína (CAF)	LabSynth	154575
Nicotina (NIC)	LabSynth	140134
Piperazina (PIP)	Vetec	RV27604
Sacarina (SAC)	Vetec	1006470

Acetonitrila e metanol grau CLAE foram obtidos de J. T. Baker (Phillipsburg, Estados Unidos). Metanol e acetona grau P.A. foram adquiridos de Hexis Científica (Jundiaí, Brasil) e LabSynth (Diadema, Brasil), respectivamente. O polióxido de etileno (POE) 4.000.000 foi adquirido de Sigma-Aldrich (St Louis, EUA). Todos os outros reagentes utilizados são de grau farmacêutico.

2.2 MÉTODOS

Os grupos funcionais pertencentes ao CAR capazes de formar ligações de hidrogênio englobam a hidroxila e a amina da cadeia central, o grupo amino do carbazol e ainda, os oxigênios da cadeia central e do grupo metofenoxi. Com relação aos *coformers* utilizados para o *screening*, os ácidos benzoico, fumárico e oxálico apresentam o grupo ácido carboxílico que pode atuar como doador ou acceptor de ligações de hidrogênio. Os ácidos cítricos, tartárico e ascórbico, além de apresentarem grupos ácido carboxílico, apresentam hidroxila adicional. A piperazina apresenta em sua estrutura dois grupos aminas secundárias que podem atuar como doadores ou aceptores de ligação de hidrogênio, enquanto a amina terciária da nicotina pode agir como acceptor destas ligações. A presença de aminas, amidas ou imidas potenciais formadores de ligação de hidrogênio são encontradas na alantoína, cafeína e sacarina. Desta forma, diferentes tipos de grupos funcionais foram considerados durante a etapa de *screening* por cristalização por LAG.

2.2.1 Cristalização por LAG

Esta técnica foi realizada em gral e pistilo com a adição de pequenas quantidades de solvente (200 a 400 μ L) e moagem durante o tempo de 2 minutos. A proporção molar avaliada para todas as misturas CAR:*coformer* foi 1:1 (n/n), a proporção em massa CAR:*coformer* foi variável, mas buscou-se obter uma massa total de aproximadamente 100 mg. Foram utilizados os *coformers* apresentados no Quadro 2 e os seguintes solventes: acetona, acetonitrila e metanol, com base na sua estrutura e polaridade.

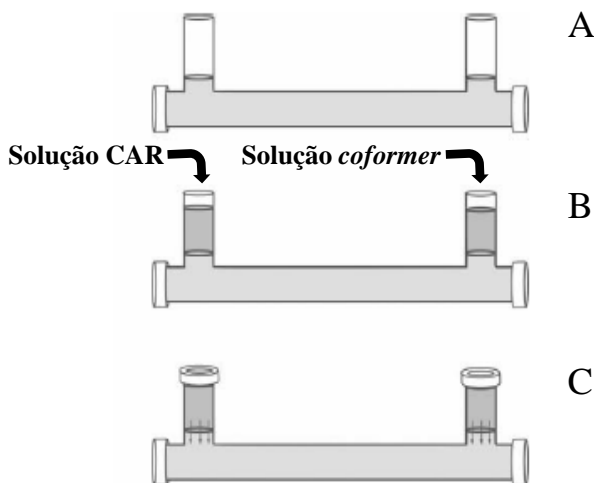
2.2.2 Cristalização por suspensão (*slurry*)

Neste método, fármaco e *coformer* em proporção 1:1 (n/n) foram suspensos no solvente (4 mL) e deixados sob agitação magnética e temperatura ambiente durante 24 horas ou tempo necessário para formação de amostra com características finais esperadas. Os *coformers* utilizados foram o ácido benzoico e o ácido oxálico e os solventes selecionados foram acetona, metanol e água.

2.2.3 Cristalização em gel

As condições definidas para esta técnica foram: gel de POE 4.000.000 5% (m/v), preparado com *mixer*, utilizando acetona:água (50:50) como diluente e inserido em tubos em U (Figura 21A). Em uma das extremidades do tubo foi adicionada solução do CAR 1 mg/mL em acetona:água (50:50), enquanto na outra extremidade foi introduzida solução do *coformer* (ácido benzoico – ACBENZ ou ácido oxálico – ACOXA) na mesma mistura de solventes e mesma concentração que o fármaco (Figura 21B). Finalmente, o tubo foi tampado e mantido em capela a temperatura ambiente até cristalização (30 dias) (Figura 21C).

Figura 21 – Representação dos experimentos de cristalização em gel em tubo em U: (A) tubo preenchido com gel de POE, (B) adição das soluções contendo fármaco ou *coformer* ao tubo preenchido com gel, (C) fechamento do tubo para início da difusão das soluções no gel



Fonte: Adaptado de Choquesillo-Lazarte; García-Ruiz (2011).

2.2.4 Caracterização no estado sólido

2.2.4.1 Difração de raios X de pó (DRXP)

Os difratogramas foram obtidos utilizando-se equipamento θ - θ D2 Phaser (Bruker), com radiação de cobre $K\alpha$ ($\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$), operando em corrente de 10 mA e voltagem de 30 kV, equipado com detector de cintilação unidimensional LINXEYE. As medidas foram realizadas a temperatura ambiente, em porta amostras com cavidade, através de varredura angular a 2θ na faixa de 5° a 50° , com *step* angular de $0,091^\circ/s$.

2.2.4.2 Difração de raios X de monocristal (DRXM)

As medidas foram realizadas em difratômetro de monocristal Bruker APEX II DUO, utilizando fonte de molibdênio, acoplada a um monocromador de grafite ($K\alpha = 0,71073 \text{ \AA}$), na temperatura de -100°C . As medidas foram registradas em varreduras phi e ômega com exposições

de 30 s por quadro utilizando *software* APEX2 (BRUKER, 2005a). Os dados coletados foram corrigidos por Lorentz e efeitos de polarização e por absorção utilizando método semi-empírico *multi-scan* SADABS (BRUKER, 2005b). A estrutura foi resolvida por métodos diretos e refinada aplicando o método dos mínimos quadrados utilizando matriz completa através dos *softwares* SIR97 (ALTOMARE et al., 1999) e SHELXL97 (SHELDRICK, 1997), respectivamente. A figura da estrutura molecular foi realizada utilizando o programa PLATON (SPEK, 2009). Os átomos de hidrogênio foram posicionados em suas posições idealizadas com distâncias de 0,93 Å para C-H_{Ar}, de 0,97 Å para C-H₂ e de 0,96 Å para grupos C-H₃. Os valores de U_{iso} para os átomos de hidrogênio foram fixados em 1,2 vezes (para compostos aromáticos e metileno) e em 1,5 vezes (para metil) o U_{eq} do átomo carreador (C). Os demais átomos além do hidrogênio foram refinados com parâmetros de deslocamento anisotrópico.

2.2.4.3 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

As curvas DSC contendo aproximadamente 1,5 mg das amostras foram obtidas em célula Shimadzu DSC-50, utilizando cadinhos de alumínio hermeticamente fechados. A faixa de temperatura analisada foi de 40 a 220 °C, a uma razão de aquecimento de 10 °C/min e sob atmosfera dinâmica de N₂ de 50 mL/min. Os dados obtidos foram processados em *software* TA-60. O equipamento foi previamente calibrado com índio (ponto de fusão: 156,6 °C, entalpia de fusão = 28,54 J/g) e zinco (ponto de fusão 419,6 °C).

2.2.4.4 Espectroscopia vibracional na região do infravermelho (IV)

Os espectros IV foram obtidos em equipamento PerkinElmer Frontier FI-IR, em uma faixa espectral de 650 a 4000 cm⁻¹, com uma média de 4 varreduras em resolução espectral de 0,4 cm⁻¹.

2.2.4.5 Microscopia óptica (MO)

As análises em microscópio óptico foram realizadas em equipamento Olympus SZ61. As imagens foram capturadas com câmera digital Olympus SC30.

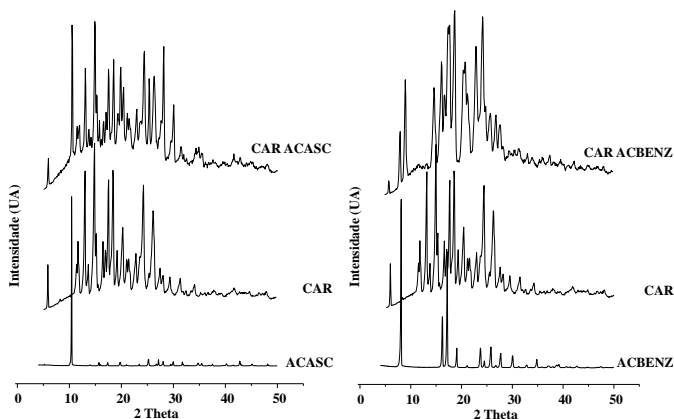
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

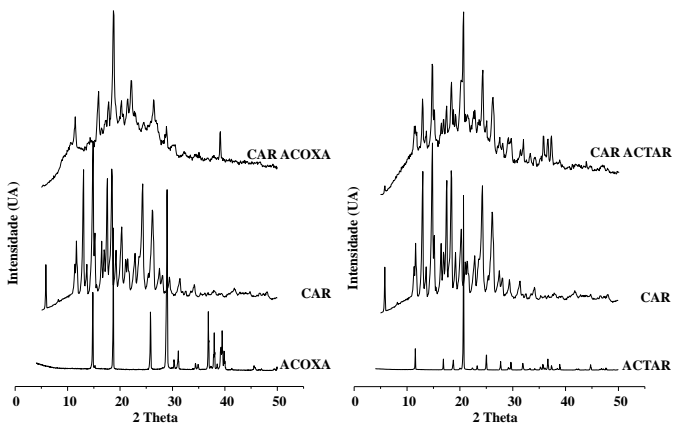
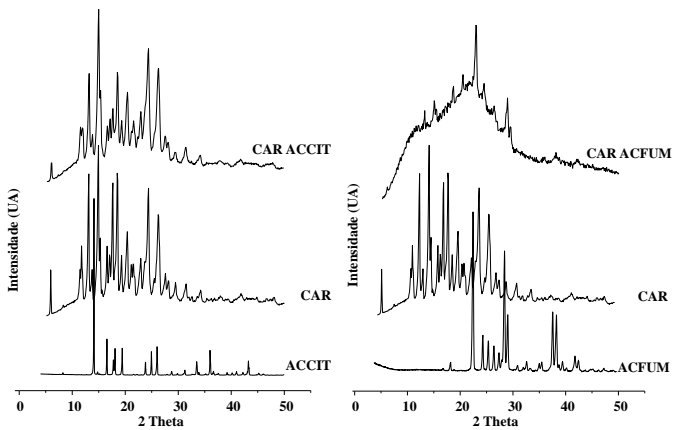
3.1 CRISTALIZAÇÃO POR LAG

Os estudos preliminares de cocrystalização foram conduzidos através de LAG, utilizando-se sistema não automatizado e pequenas quantidades de amostra. As misturas que passaram por processo de LAG resultaram em amostras com padrão de difração com discreto halo amorfo, mas com reflexões definidas. Uma vez que a acetona demonstrou ser o solvente mais promissor, foi realizado *screening* de todos os *coformers* selecionados apenas com este solvente.

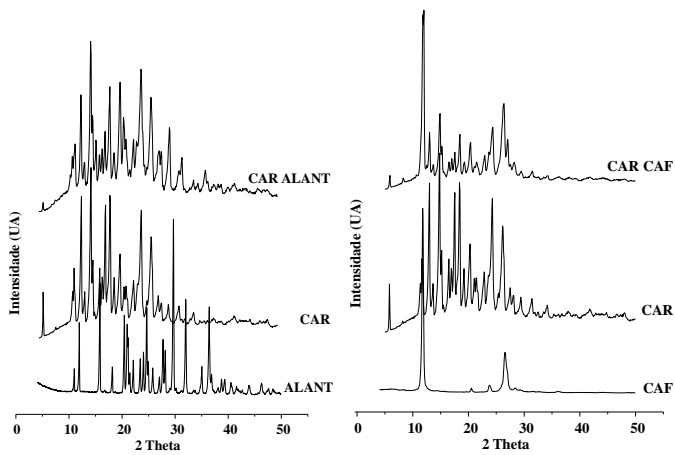
A técnica de DRXP permite observar que dentre as amostras avaliadas, a grande maioria compreende as fases CAR e *coformer* segregadas. Apenas os cristalizados com ácido benzoico e ácido oxálico apresentaram reflexões distintas dos insumos (Figura 22), dando evidências de se tratarem de novas fases cristalinas. Desta forma, análises posteriores foram realizadas apenas com os sólidos obtidos com estes *coformers*.

Figura 22 – Difratomogramas comparando as amostras obtidas por LAG e os insumos de partida. *As intensidades não estão representadas equivalentemente

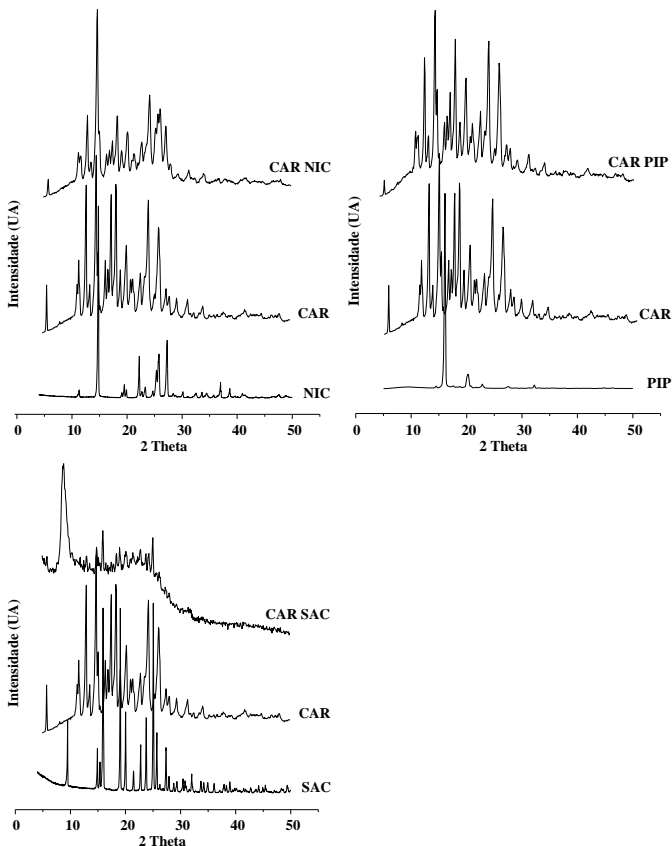




(continua na próxima página)



(continua na próxima página)



A curva de DSC da amostra CAR:ACBENZ demonstrou um evento único endotérmico característico de fusão em 155,4 °C e entalpia de 135,6 J/g (Figura 23). Este evento apresenta-se em temperatura superior à fusão do CAR (115,0 °C) e do ACBENZ (123,9 °C) sendo, em conjunto com os dados obtidos por DRXP, um bom indicativo de cocrystalização. Por outro lado, a amostra CAR:ACOXÁ apresentou dois eventos de fusão; o primeiro em 143,5 °C e o segundo em 192,1 °C (Figura 24). A ocorrência de duas endotermas nesta amostra pode sugerir uma mistura de duas fases diferentes da fase cristalina dos insumos de partida.

Figura 23 – Curvas DSC comparando as amostras obtidas por LAG e os insumos de partida. A – mistura fármaco *coformer* processada, B – carvedilol, C – ácido benzoico

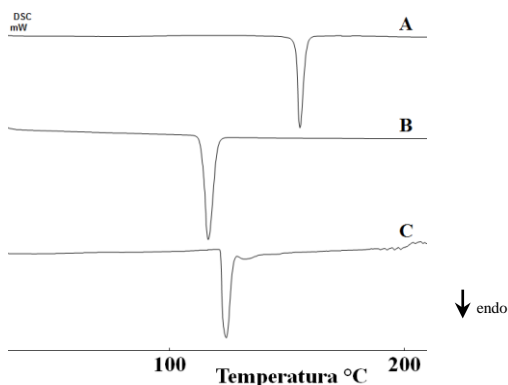
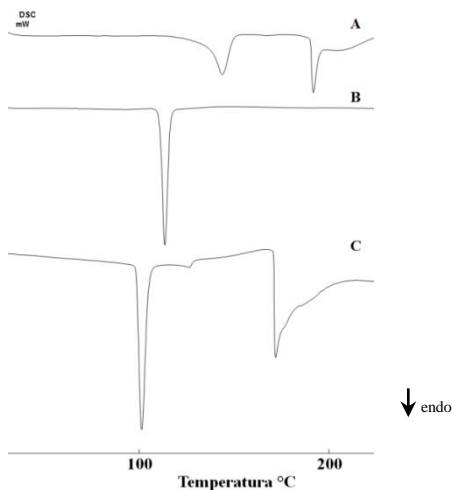


Figura 24 – Curvas DSC comparando as amostras obtidas por LAG e os insumos de partida. A – mistura fármaco *coformer* processada, B – carvedilol, C – ácido oxálico



As análises dos espectros no IV, apresentadas nas Figuras 25 e 26, demonstraram modificações em bandas características para as amostras processadas. Tanto o espectro do CAR:ACBENZ como do

CAR:ACOXÁ apresentam divisão e alargamento das bandas de absorção de O–H (em 3428 e 3448 cm^{-1} , respectivamente) e N–H (em 3183 e 3181 cm^{-1} , respectivamente). Especificamente para a amostra CAR:ACOXÁ observou-se o aparecimento de uma nova banda em 1718 cm^{-1} característico de grupamentos carbonila. Este dado associado ao desdobramento e deslocamento da banda referente ao grupo N–H do CAR sugere que estes materiais estejam ligados por meio de interações de hidrogênio.

A técnica de IV foi selecionada para a análise da mistura física do fármaco e *coformer* uma vez que a mesma possibilita a observação de potenciais interações moleculares entre os compostos. Os espectros obtidos para as misturas físicas entre CAR e ACBENZ e entre CAR e ACOXA (ambas na proporção molar de 1:1) revelaram sobreposição das bandas de cada um dos compostos, indicando a inexistência de interações físicas entre fármaco e molécula utilizada como *coformer* nesta condição.

Figura 25 – Espectros IV comparando as amostras obtidas por LAG, mistura física (MF) e os insumos de partida. CAR:ACBENZ – mistura fármaco *coformer* processada, CAR:ACBENZ MF – mistura física fármaco *coformer*

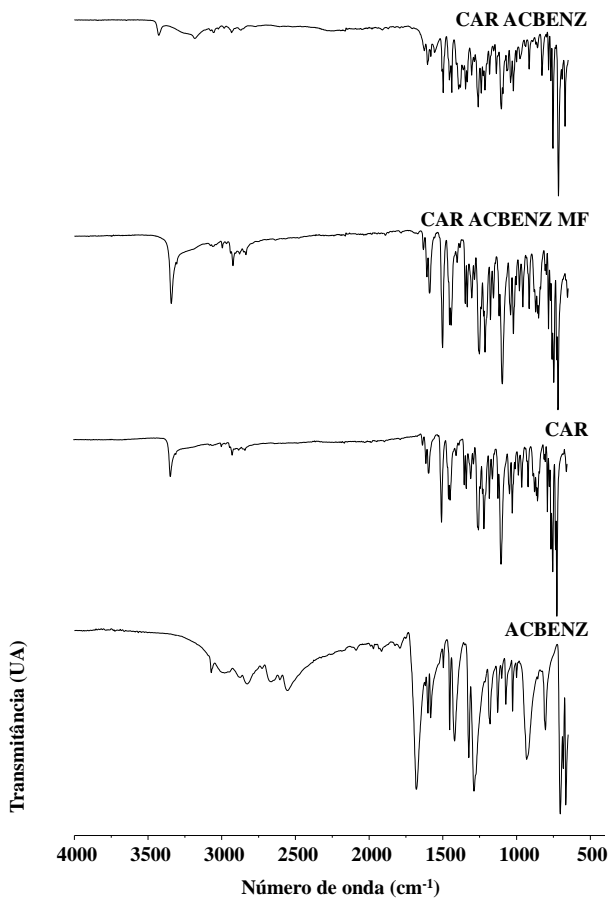
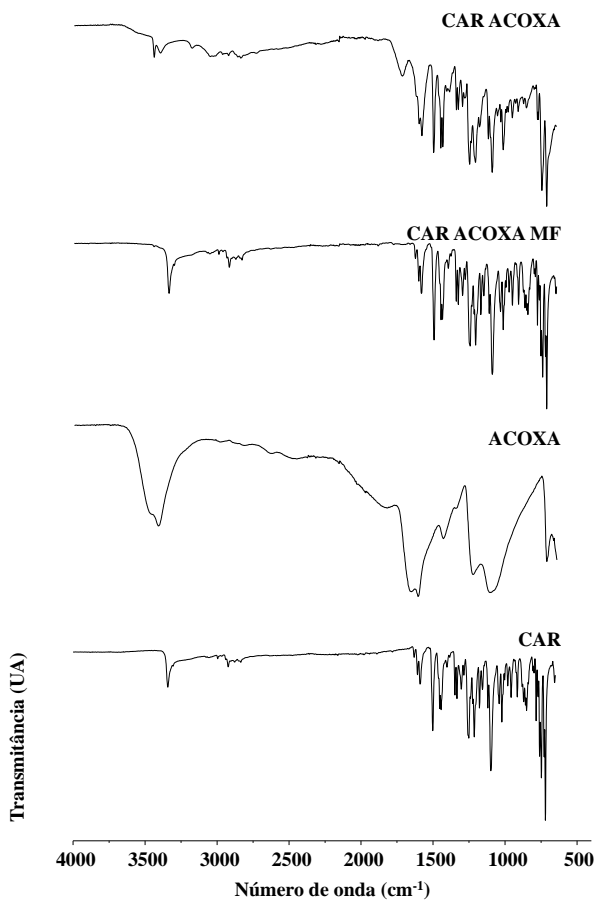


Figura 26 – Espectros IV comparando as amostras obtidas por LAG, mistura física (MF) e os insumos de partida, CAR:ACOXA – mistura fármaco *coformer* processada. CAR:ACOXA MF – mistura física fármaco *coformer*



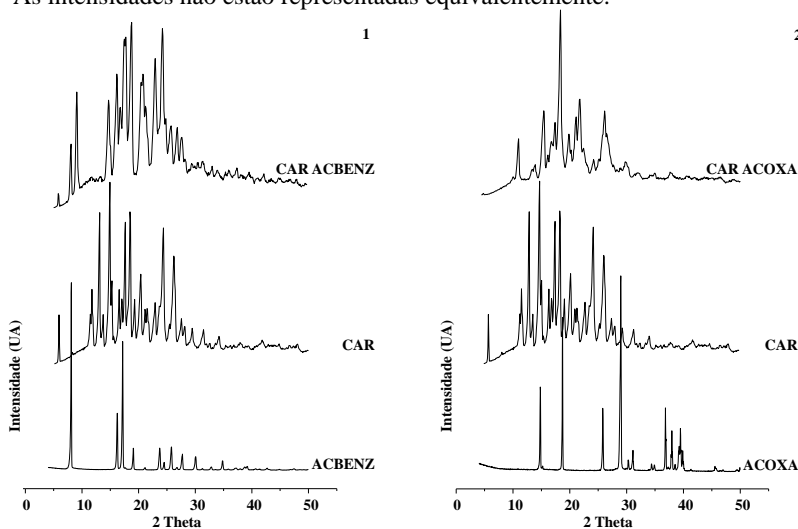
3.2 CRISTALIZAÇÃO POR SUSPENSÃO (*SLURRY*)

A partir dos resultados promissores obtidos pela técnica de LAG, foram selecionados os *coformers* ACBENZ e ACOXA para a obtenção de sistemas cristalinos com o CAR através de experimentos por *slurry*. Esta técnica apresenta como vantagem a obtenção de maior quantidade de amostra e melhor reprodução lote-a-lote.

Os solventes orgânicos acetona e metanol foram selecionados para a realização dos experimentos com CAR:ACOXÁ. Por outro lado, acetona e água foram utilizados para obtenção de CAR:ACBENZ. Porém, da mesma forma que na cristalização por LAG, o solvente de cristalização mais promissor foi a acetona.

Como podem ser observados na Figura 27, os difratogramas de ambas as amostras resultantes da cristalização por *slurry* demonstram reflexões distintas dos insumos de partida com evidências de se tratarem de novas fases cristalinas. CAR:ACBENZ obtido por ambas as técnicas apresentou difratogramas semelhantes, de modo que a mesma fase cristalina pura de CAR:ACBENZ obtida por LAG é encontrada para esta amostra. Para o sistema CAR:ACOXÁ, o difratograma da amostra obtida pela técnica de *slurry* apresenta-se semelhante ao difratograma da amostra CAR:ACOXÁ preparado por LAG.

Figura 27 – Difratogramas comparando as amostras obtidas por cristalização em suspensão e os insumos de partida. (1) CAR:ACBENZ, (2) CAR:ACOXÁ
*As intensidades não estão representadas equivalentemente.



Como pode ser visualizado na Figura 28, a curva de DSC da amostra CAR:ACBENZ demonstrou um único evento endotérmico em 155,4 °C e entalpia de 136,8 J/g. Estes dados são semelhantes aos encontrados na análise térmica da amostra CAR:ACBENZ obtida por LAG, confirmando em conjunto ao DRXP que as duas amostras correspondem à mesma fase cristalina. Este resultado indica que para prováveis sistemas cocrystalinos entre CAR e ACBENZ a técnica de obtenção não demonstra ser um fator tão impactante.

Por outro lado, a curva de DSC referente à amostra CAR:ACOXÁ obtida por *slurry* apresentou um único evento de fusão em 194,7 °C (Figura 29). Este resultado não era esperado, uma vez que esta amostra apresentou difratograma semelhante à amostra CAR:ACOXÁ obtida por LAG e caracterizada como uma mistura de fases multicomponentes. Este dado térmico confirma que CAR:ACOXÁ obtida por *slurry* trata-se de um provável sistema cocrystalino em uma única fase, já que o evento de fusão observado para esta amostra é único, superior e diferente das amostras cristalinas de partida. Com estes resultados, sugere-se a partir de então que a mistura de fases multicomponentes determinada para a amostra CAR:ACOXÁ obtida por LAG não foi detectada pela técnica de DRXP. Isto se deve provavelmente à presença

de uma fase cristalina minoritária na amostra obtida por LAG e diferente da fase cristalina única CAR:ACOXÁ obtida por *slurry* que é indetectável devido aos limites de detecção inferiores do DRXP (nunca inferiores a 5 %) (GAISFORD, 2012) em relação ao DSC. A confirmação de uma única fase cristalina para a amostra CAR:ACOXÁ demonstra a vantagem da utilização da técnica de *slurry* frente à técnica de LAG, uma vez que esta última gerou mistura de fases cristalinas.

Figura 28 – Curvas DSC comparando as amostras obtidas por *slurry* e os insumos de partida. A – mistura fármaco *coformer* processada, B – carvedilol, C – ácido benzoico

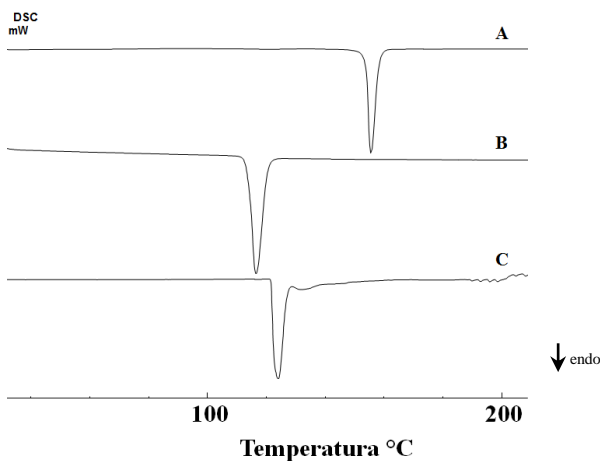
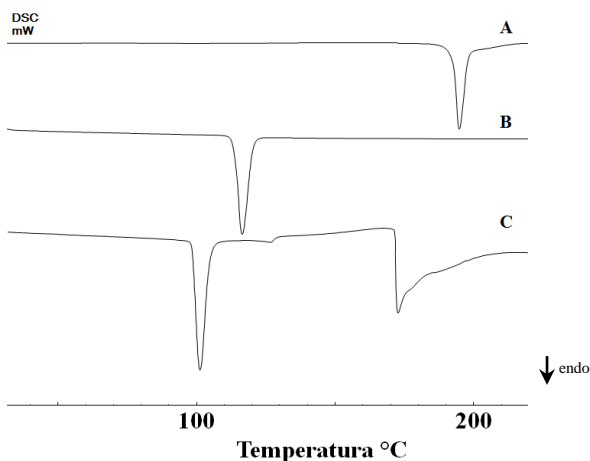


Figura 29 – Curvas DSC comparando as amostras obtidas por cristalização em suspensão e os insumos de partida. A – mistura fármaco *coformer* processada, B – carvedilol, C – ácido oxálico



Os espectros de IV referentes às amostras CAR:ACBENZ e CAR:ACOXÁ obtidos pela técnica de *slurry* são apresentados nas Figuras 30 e 31, respectivamente. O sistema CAR:ACBENZ apresentou espectro semelhante ao encontrado para a amostra CAR:ACBENZ preparada por LAG. Este resultado confirma novamente que estas duas amostras referem-se à mesma fase cristalina. Para a amostra CAR:ACOXÁ, a banda em 1718 cm^{-1} observada para o sistema obtida por LAG não foi observada, bem como o desdobramento da banda N-H em $3401,7\text{ cm}^{-1}$. Entretanto, a banda referente ao grupamento N-H para a amostra CAR:ACOXÁ obtida por *slurry* é observada em $3448,3\text{ cm}^{-1}$. Estes resultados demonstram novamente que esta amostra trata-se de uma única fase cristalina. Além disso, pode-se sugerir que a fase cristalina de CAR:ACOXÁ obtida por LAG e que estabelece ligações de hidrogênio entre o grupamento carbonila e o grupamento amina representa a fase cristalina minoritária que não é detectada pelo DRXP.

Figura 30 – Espectros IV comparando as amostras obtidas por cristalização em suspensão e os insumos de partida. CAR ACBENZ – mistura fármaco *coformer* processada.

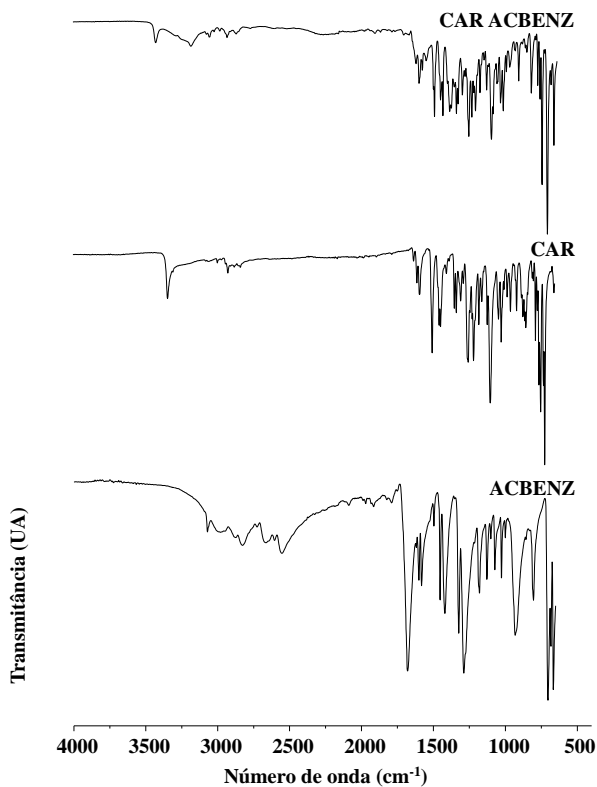
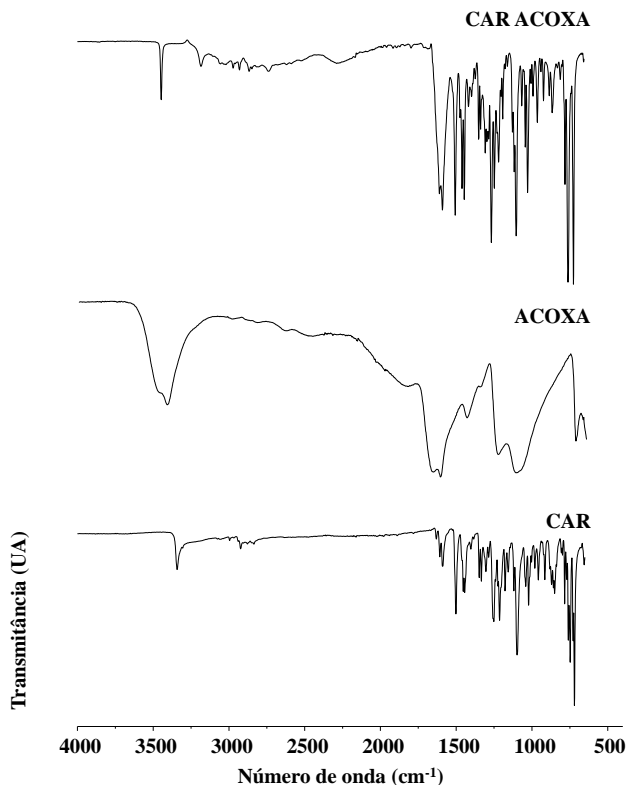


Figura 31 – Espectros IV comparando as amostras obtidas por *slurry* e os insumos de partida CAR ACOXA – mistura fármaco *coformer* processada



3.3 CRISTALIZAÇÃO EM GEL

Considerando-se os resultados obtidos pelas técnicas de LAG e *slurry* que apresentaram fortes indicativos de obtenção de nova fase cristalina, os mesmos *coformers* (ACBENZ e ACOXA) foram submetidos à cristalização em gel com o CAR, visando a obtenção de um monocristal para elucidação estrutural e confirmação da identidade da nova fase cristalina obtida.

Para o sistema CAR:ACBENZ a obtenção de monocristais não foi possível, uma vez que ocorreu solubilização dos componentes no polímero.

Em contrapartida, para o sistema CAR:ACOXÁ, observou-se a migração do fármaco e *coformer* no gel, onde o ACOXA difundiu mais rapidamente, resultando na obtenção de cristais aciculares de espessura fina mais próximos à extremidade onde foi inserida a solução do CAR (Figura 32). As imagens obtidas através de microscopia óptica de luz polarizada estão ilustradas na Figura 33 e confirmam o hábito acicular dos cristais além de sua natureza monocristalina.

Figura 32 – (A) Imagens referentes aos cristais de CAR obtidos por cristalização em gel em tubo em U, (B) ampliação da região do tubo contendo os monocristais aciculares.

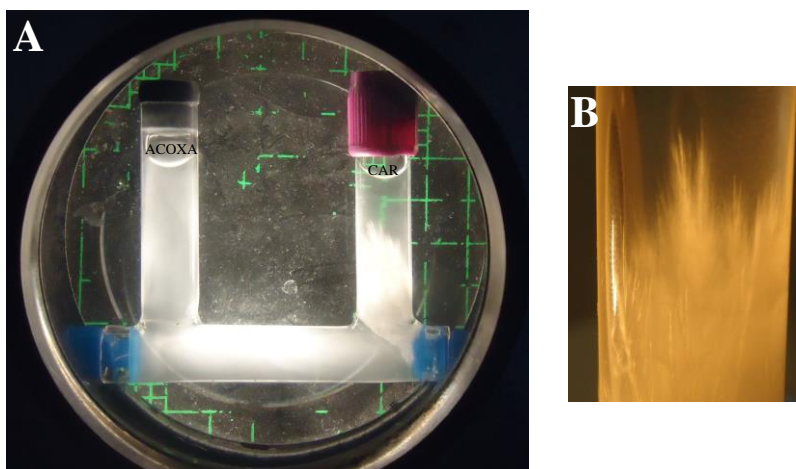
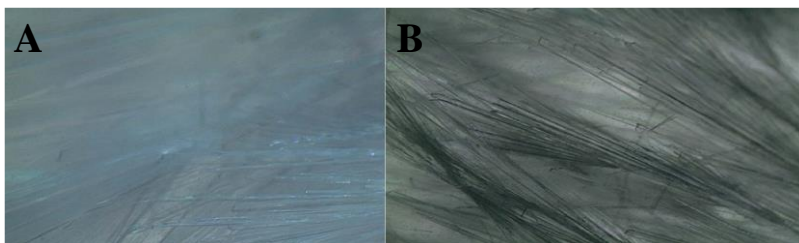


Figura 33 – Imagens de microscopia óptica referente aos monocristais de CAR obtidos por cristalização em gel (A) com luz polarizada, (B) sem luz polarizada.



Estes cristais foram então isolados do gel e submetidos à análise de DRXM. A representação ORTEP da unidade assimétrica do CAR:ACOXa é apresentada na Figura 34. O composto cristaliza em um sistema ortorrômbico de grupo espacial *Pbca* apresentando uma molécula de CAR e uma molécula de ACOXA na unidade assimétrica. Dados cristalográficos adicionais encontram-se resumidos na Tabela 12.

Figura 34 – Representação ORTEP da unidade assimétrica do CAR:ACOXa mostrando os átomos rotulados e 50 % de probabilidade de elipsoides.

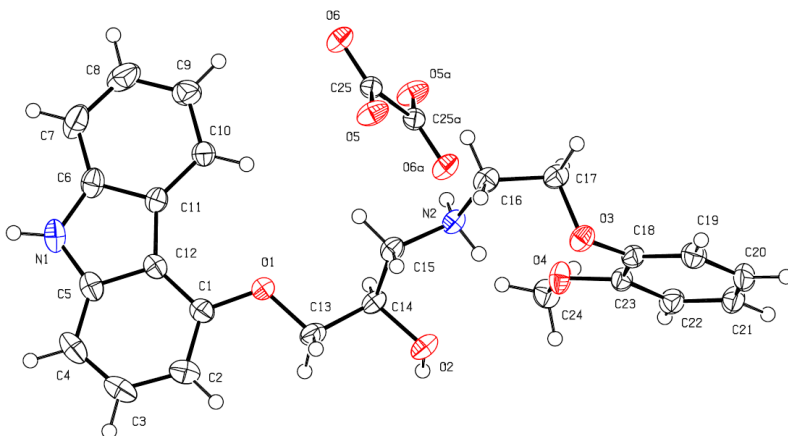


Tabela 12 – Parâmetros cristalográficos do CAR:ACOXÁ.

Fórmula empírica	C ₂₆ H ₂₆ N ₂ O ₅
Peso molecular (g/mol)	446,49
Sistema cristalino	Ortorrômbico
Grupo espacial	<i>Pbca</i>
<i>a</i> (Å)	19,760(2)
<i>b</i> (Å)	6,8377(6)
<i>c</i> (Å)	33,121(3)
α (°)	90
β (°)	90
γ (°)	90
<i>V</i> (Å ³)	4475,1(7)
<i>Z</i>	8
<i>D</i> _{calc} (g/cm ³)	1,325
Coefficiente de absorção (mm ⁻¹)	0,092
<i>F</i> (0 0 0)	1888
Tamanho do cristal (mm)	0,02 x 0,08 x 0,24
Cor	Incolor
Temperatura (° K)	173(2)
Radiação, λ (Å)	Mo K α , 0,71073
Reflexões medidas	24286
Reflexões independentes	7050 (<i>R</i> _{int} = 0,0420)
Parâmetros refinados	315
Adequação de ajuste em <i>F</i> ²	0,963
Índices <i>R</i> finais [<i>I</i> > 2 σ (<i>I</i>)]	<i>R</i> ₁ = 0,0473 w <i>R</i> ₂ = 0,1171
Índices <i>R</i> (todos os dados)	<i>R</i> ₁ = 0,0846 w <i>R</i> ₂ = 0,1558

A molécula de CAR está ligada ao ACOXA através de ligações de hidrogênio e também existe outra ligação de hidrogênio intramolecular (Tabela 13 e Figura 35).

A diferença entre as distâncias de ligação C–O do grupo carboxilato do ácido oxálico *d*(1,2584) e *d*(1,2504) é bem pequena Δd_{C-O} = 0,008 Å e o valor do ângulo θ é 126,15(16), o que indica uma transferência de prótons do ácido (grupo –COOH) para a molécula de CAR, caracterizando o sólido como um sal (MARTIN et al., 2013; CHADHA et al., 2014).

Tabela 13 – Ligações de hidrogênio respectivas ao CAR:ACOXÁ (Å e °).

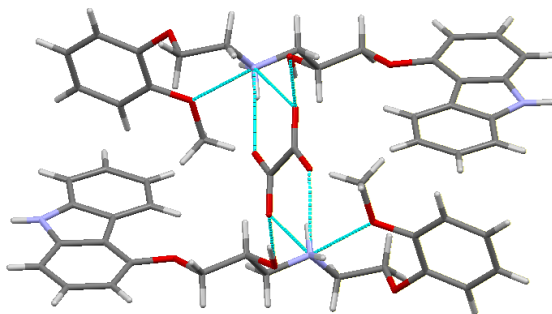
D-H...A	d(D-H)	d(H...A)	d(D...A)	<(DHA)
O2-H2O...O5 ^a	0,92	1,70	2,6106 (14)	172
N2-H2NA...O4	0,87	2,27	2,9698 (14)	137
N2-H2NA...O2	0,87	2,31	2,7578 (15)	112
N2-H2NB...O6 ^b	0,93	1,78	2,7056 (15)	169

Transformações de simetria usadas para gerar átomos equivalentes:

^a x, y+1, z

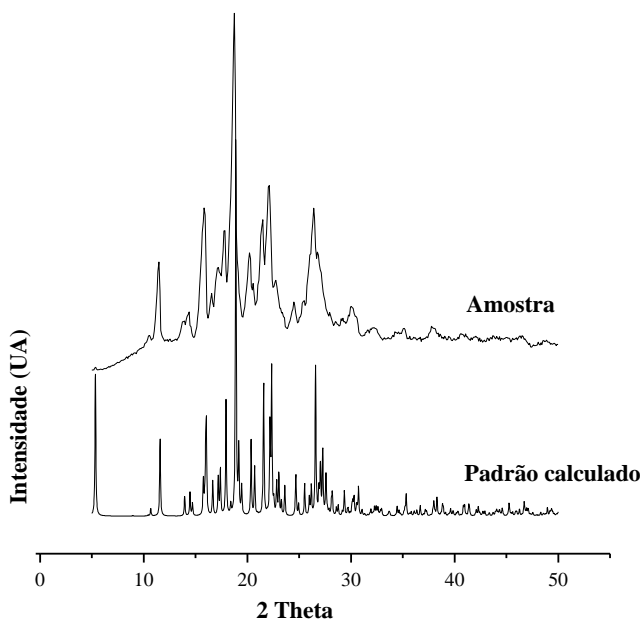
^b -x+1, -y+1, -z

Figura 35 – Ligações de hidrogênio no sal oxalato de carvedilol.



A Figura 36 apresenta o padrão de difração de raios X de pó calculado e experimental referentes a amostra CAR:ACOXÁ obtida por *slurry*. Ambos padrões de difração apresentam os mesmos picos de Bragg e as principais reflexões aparecem em 5,36; 11,60; 16,04; 17,96; 18,88; 21,60; 22,36 e 26,60 °. De acordo com a Farmacopeia Americana (USP, 2011), a diferenciação entre amostras teste e a amostra referência é estabelecida por difração de raios X de pó se os ângulos de espalhamento das reflexões mais intensas obtidas a partir do material de referência variam em $\pm 0,10^\circ$, enquanto as intensidades relativas podem variar consideravelmente, indicando orientação preferencial. Assim, é possível afirmar que a amostra obtida por *slurry* apresenta a mesma estrutura cristalina do monocristal obtido pela cristalização em gel, indicando tratar-se de sal de CAR:ACOXÁ. As diferenças de intensidade dos picos de difração são provenientes da orientação preferencial da amostra experimental.

Figura 36 – Difratogramas da amostra CAR:ACOXÁ obtida por *slurry* e o padrão calculado do CAR:ACOXÁ.



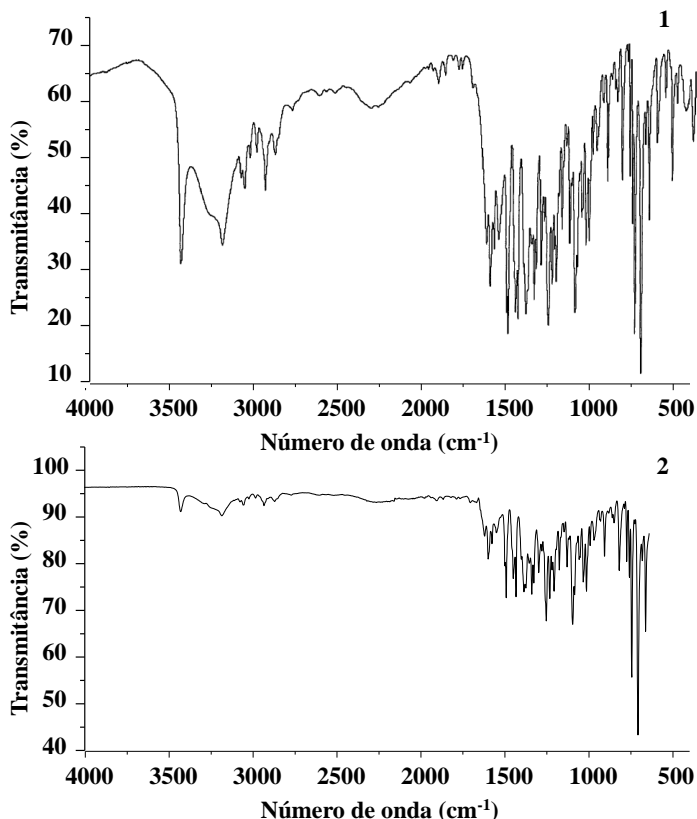
Com relação ao espectro IV da amostra CAR:ACOXÁ, o deslocamento e modificação da banda de absorção N–H em $3448,3\text{ cm}^{-1}$ apresentada na Figura 31 pode ser atribuída as novas ligações de hidrogênio que foram identificadas pela técnica de DRXM e ilustrada na Figura 35. Desta forma, as análises de IV juntamente com os resultados de DRXM e o padrão de raio X calculado confirmam a identidade da amostra CAR:ACOXÁ como sal oxalato de CAR.

Estes resultados corroboram com os relatos da literatura que indicam que, de maneira geral, ocorrerá a formação de um sal entre um ácido fraco ou uma base fraca e o seu contra-íon se a diferença de pK_a entre eles for maior do 3 unidades (STAHL; WERMUTH, 2002; BLACK et al., 2007; BOND, 2012; WILLIAMS et al., 2013). O CAR é uma base fraca e apresenta um pK_a próximo a 8, enquanto o ácido oxálico é um ácido diprótico e apresenta dois valores de pK_a 1,2 e 4,2, sendo assim esperada a formação de um sal entre ambos.

O mesmo ocorre com relação ao ACBENZ que apresenta pK_a 4,2. Embora não tenha sido possível a obtenção de um monocristal com

o sistema CAR:ACBENZ, a comparação dos espectros de IV referentes a esta amostra e o apresentado na patente US 7750036 (BROOK et al., 2010) (Figura 37) corrobora também na confirmação da identidade da amostra como um sal CAR:ACBENZ.

Figura 37 – Espectros IV (1) Patente do sal benzoato de CAR (2) amostra CAR:ACBENZ obtida por *slurry*



Fonte : (1) BROOK et al. (2010).

Assim, optar pela obtenção de um sal ou cocrystal durante as etapas de desenvolvimento de formas farmacêuticas dependerá muito das características físico-químicas inerentes aos componentes destes sólidos. Ainda, a caracterização em estado sólido é fundamental para correta

identificação da fase cristalina e a avaliação prévia de outras variáveis além da complementaridade molecular, em especial a diferença de pK_a entre os componentes, demonstra-se essencial para a formação do sistema multicomponente desejado.

A formação de sais é amplamente empregada na indústria farmacêutica visando o aumento da solubilidade aquosa e da taxa de dissolução de fármacos ionizáveis em relação ao ácido ou base livre correspondente (BLACK et al., 2007; SERAJUDDIN, 2007). Para as formas farmacêuticas sólidas, desde a década de 50 encontram-se estudos demonstrando maior taxa de dissolução para sais com relação à sua forma livre em meios simulando o pH do trato gastrointestinal (GI). Atribuiu-se este aumento a maior solubilidade do sal na camada de difusão aquosa em torno do sólido (NELSON, 1957; NELSON, 1958). Neste âmbito, para ter-se uma ideia da importância da formação de sais, das 37 novas entidades químicas registradas pelo FDA entre maio de 2013 a maio de 2014, 49 % delas referem-se a sais (FDA, 2014).

A literatura relata exemplos de sais oxalatos e benzoatos que aumentam significativamente a solubilidade de fármacos. Os sais oxalato de cetoconazol, oxalato de mebendazol, oxalato de haloperidol e benzoato de sertralina aumentaram 53; 1,3; 313 e 90 vezes, respectivamente, a solubilidade em relação ao fármaco livre (SERAJUDDIN, 2007; CHEN et al., 2012; MARTIN et al., 2013; HSIEH et al., 2014). Desta forma, a obtenção dos sais CAR:ACOXÁ e CAR:ACBENZ demonstra-se bastante promissora no aprimoramento da solubilidade do CAR. Os estudos de solubilidade e taxa de dissolução para estes sólidos devem ser feitos com cautela afim de evitar a conversão do sal para sua forma ácido ou base correspondente durante o ensaio e que pode também ocorrer após administração oral no fluido GI resultando na precipitação do fármaco (SERAJUDDIN, 2007).

4 CONCLUSÕES

As técnicas de cristalização por LAG e *slurry* permitiram a obtenção e a caracterização de materiais de fases cristalinas distintas com os *coformers* ácido benzoico e ácido oxálico. Entretanto, especificamente para o sistema CAR:ACOXÁ, a técnica de *slurry* demonstrou ser mais promissora, uma vez que permitiu a obtenção de uma única fase cristalina em oposição à mistura de fases obtida por LAG. Por outro lado, ambas técnicas foram bem sucedidas na obtenção de uma única fase cristalina para os sistemas CAR:ACBENZ. A cristalização em gel realizada em tubo em U demonstrou ser uma técnica promissora na obtenção de monocristais de sistemas multicomponentes. A análise estrutural do CAR:ACOXÁ aliada aos resultados da caracterização pelas técnicas de DSC e IV, também realizadas para o CAR:ACBENZ, revelaram que as amostras não eram compostas por cocristais, mas permitiram a identificação destes sistemas como sais de CAR. Estes resultados enfatizam a importância de avaliar não somente a complementaridade molecular entre fármaco e *coformer* durante a escolha dos componentes do cocrystal para realização de um *screening*, mas sim considerar outras características físico-químicas dos mesmos. Ainda, ressalta-se a importância da caracterização no estado sólido na identificação das fases cristalinas de sistemas multicomponentes. Finalmente, cabe mencionar que a determinação da solubilidade dos sais obtidos em comparação ao fármaco puro está sendo realizada para confirmação do aperfeiçoamento das características físico-químicas do CAR.

5 REFERÊNCIAS

ALTOMARE, A.; BURLA, M. C.; CAMALLI, M.; CASCARANO, G. L.; GIACOVAZZO, C.; GUAGLIARDI A.; MOLITERNI, A. G. G.; POLIDORI, G.; SPAGNA, R. SIR97: a new tool for crystal structure determination and refinement. **Journal of Applied Crystallography**, v. 32, p. 115–119, 1999.

BABU, N. J.; NANGIA, A. Solubility advantage of amorphous drugs and pharmaceutical cocrystals. **Crystal Growth & Design**, v. 11, n. 7, p. 2662-2679, 2011.

BLACK, S.N.; COLLIER, E.A.; DAVEY, R.J.; ROBERTS, R.J. Structure, solubility, screening and synthesis of molecular salts. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 96, p. 1053–1068. 2007.

BOND, A. D. Fundamental Aspects of Salts and Co-crystals. In: WOUTERS, J.; QUÉRÉ, L. (Ed.). **Pharmaceutical Salts and Co-crystals**. Cambridge: The Royal Society of Chemistry, 2012, p.390.

BROOK, C.S. et al. U.S. Patent 7750036, 2010.

BRUKER. APEX2, SAINT and SADABS. Bruker AXS Inc., Madison, EUA, 2005a.

BRUKER. APEX2, Data Collection Software, version 2011.8-0. Bruker AXS Inc.: Madison, EUA, 2005b.

CHADHA, R.; BHANDARI, S.; KHULLAR, S.; & MANDAL, S. K.; JAIN, D. V. S. Characterization and evaluation of multi-component crystals of hydrochlorothiazide. **Pharmaceutical Research**, 2014.

CHEN, J. M.; WANG, Z. Z.; WU, C. B.; LI, S.; LU, T.B. Crystal engineering approach to improve the solubility of mebendazole. **Crystal Engineering Communications**, v. 14, 6221–6229, 2012.

FÁBIÁN, L. Cambridge Structural Database analysis of molecular complementarity in cocrystals. **Crystal Growth and Design**, v. 9, n. 3, p. 1436-1443, 2009.

FDA. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION.

<http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/drugsatfda/index.cfm?fuseaction=Reports.ReportsMenu>. Acesso em 29 de maio de 2014.

GAISFORD, S. Isothermal microcalorimetry for quantifying amorphous content in processed pharmaceuticals. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 64, p. 431-439, 2012.

HE, G.; JACOB, C.; GUO, L.; CHOW, P. S.; TAN, R. B. H. Screening for cocrystallization tendency: the role of intermolecular interactions. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 112, n. 32, p. 9890-9895, 2008.

HSIEH, Y. L.; YU, W.; XIANG, Y.; PAN, W.; WATERMAN, K. C.; SHALAEV, E. Y.; SHAMBLIN, S. L.; TAYLOR, L. S. Impact of sertraline salt form on the oxidative stability in powder blends. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 461, p. 322–330, 2014.

KAUR, A.; KAUR, G. Mucoadhesive buccal patches based on interpolymer complexes of chitosan–pectin for delivery of carvedilol. **Saudi Pharmaceutical Journal**, v. 20, p. 21–27, 2012.

LAKSHMI, M. S.; BAKRUDEEN, H. B.; KANNAN, A. S.; MANDAL, A. B.; REDDY, B. S. R. Carvedilol/montmorillonite: Processing, characterization and release studies. **Applied Clay Science**, v. 48, p. 589–593, 2010.

MARTIN, F. A.; POP, M. M.; BORODI, G.; FILIP, X.; KACSO, I. Ketoconazole salt and co-crystals with enhanced aqueous solubility. **Crystal Growth and Design**, v. 13, p. 4295–4304, 2013.

MEHER, J. G.; TARAI, M.; YADAV, N. P.; PATNAIK, A.; MISHRA, P.; YADAV, K. S. Development and characterization of cellulose–polymethacrylate mucoadhesive film for buccal delivery of carvedilol. **Carbohydrate Polymers**, v. 96, p.172– 180, 2013.

NELSON, E. Solution rate of theophylline salts and effects from oral administration. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 46, p. 607–614, 1957.

NELSON, E. Comparative dissolution rates of weak acids and their sodium salts. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 47, p. 297–299, 1958.

PLANINSEK, O.; KOVACIC, B.; VRECER, F. Carvedilol dissolution improvement by preparation of solid dispersions with porous silica. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 406, p. 41–48, 2011.

RIEKES, M. K.; BARBOZA, F. M.; VECCHIA, D. D.; BOHATCH JR., M.; FARAGO, P. V.; FERNANDES, D.; SILVA, M. A. S.; STULZER, H. K. Evaluation of oral carvedilol microparticles prepared by simple emulsion technique using poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) and polycaprolactone as polymers. **Materials Science and Engineering C**, v. 31, p. 962–968, 2011.

RODRÍGUEZ-SPONG, B.; PRICE, C.P.; JAYASANKAR, A.; MATZGER, A.J.; RODRÍGUEZ-HORNEDO, N. General principles of pharmaceutical solid polymorphism: a supramolecular perspective. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 56, p. 241–274, 2004.

SERAJUDDIN, A.T.M. Salt formation to improve drug solubility. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 59, p. 603–616, 2007.

SHAMMA, R. N.; BASHA, M. Soluplus®: A novel polymeric solubilizer for optimization of Carvedilol solid dispersions: Formulation design and effect of method of preparation. **Powder Technology**, v. 237, p. 406–414, 2013.

SHAN, N.; TODA, F.; JONES, W. Mechanochemistry and co-crystal formation: effect of solvent on reaction kinetics. **Chemical Communications**, v., n. 20, p. 2372–2373, 2002.

SHAN, N.; ZAWOROTKO, M. J. The role of cocrystals in pharmaceutical science. **Drug Discovery Today**, v. 13, n. 9–10, p. 440, 2008.

SHELDRIK, G. M. SHELXL-97. **Program for the Refinement of Crystal Structure**. University of Göttingen, Göttingen, 1997.

STAHL, P. H.; WERMUTH, G. H. Handbook of pharmaceutical salts: properties, selection and use. Wiley-VCH: Weinheim, 2002.

STROE, A. F.; GHEORGHIADU, M. Carvedilol: β -blockade and beyond. **Reviews in Cardiovascular Medicine**, v. 5, n. 1, p. 18–27, 2004.

TAKATA, N.; SHIRAKI, K.; TAKANO, R.; HAYASHI, Y.; TERADA, K. Cocrystal screening of stanolone and mestanolone using slurry crystallization. **Crystal Growth and Design**, v. 8, n. 8, p. 3032–3037, 2008.

THAKURIA, R.; DELORI, A.; JONES, W.; LIPERT, M. P.; ROY, L.; RODRÍGUEZ-HORNEDO, N. Pharmaceutical cocrystals and poorly soluble drugs. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 453, p. 101–125, 2013.

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

VENISHETTY, V.K.; CHEDE, R.; KOMURAVELLI, R.; ADEPU, L.; SISTLA, R.; DIWAN, P. V. Design and evaluation of polymer coated carvedilol loaded solid lipid nanoparticles to improve the oral bioavailability: A novel strategy to avoid intraduodenal administration. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 95, p. 1–9, 2012.

WILLIAMS, H. D.; TREVASKIS, N. L.; CHARMAN, S. A.; SHANKER, R. M.; CHARMAN, W. N.; POUTON, C. W.; PORTER, C. J. H. Strategies to address low drug solubility in discovery and development. **Pharmacological Reviews**, v. 65, p. 315–499, 2013.

WU, C. Y.; BENET, L. Z. Predicting drug disposition via application of BCS: transport/absorption/elimination interplay and development of a biopharmaceutics drug disposition classification system. **Pharmaceutical Research**, v. 22, n. 1, p. 11–23, 2005.

ZHANG, G. G.Z.; HENRY, R. F.; BORCHARDT, T. B.; LU, X. Efficient co-crystal screening using solution-mediated phase transformation. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 96, n. 5, p. 990–995, 2007.

ZHANG, Y.; ZHI, Z.; GAO, J.; SONG, Y. Carboxylated mesoporous carbon microparticles as new approach to improve the oral

bioavailability of poorly water-soluble carvedilol. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 454, p. 403–11, 2013.

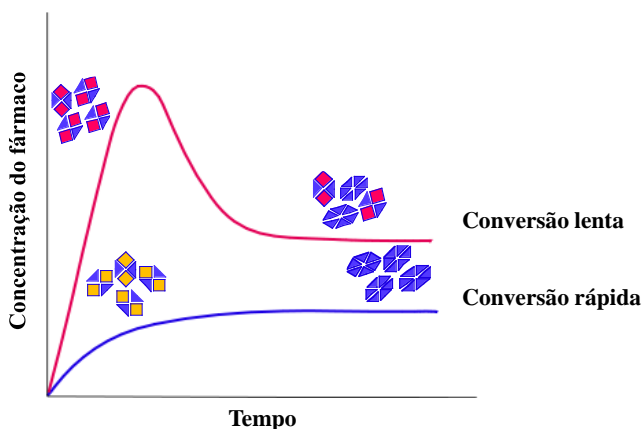
CAPÍTULO V

MECANISMO E PREDIÇÃO DA SOLUBILIDADE DE COCRISTAIS COMPOSTOS POR FÁRMACOS DO TIPO BASE FRACA E *COFORMERS* ÁCIDOS

1 INTRODUÇÃO

As interações dos cocrystalis em solução representam um grande impacto na capacidade de se entender e modelar a solubilidade destes sistemas. Sabendo-se que os cocrystalis farmacêuticos aumentam significativamente a solubilidade de fármacos, a escolha do método para determinar este parâmetro é essencial para a correta medida do mesmo (GOOD; RODRÍGUEZ-HORNEDO, 2009). Embora os métodos cinéticos sejam bem aceitos e amplamente empregados na determinação da solubilidade e velocidade de dissolução de fármacos (DONATO et al., 2008; CARINI et al., 2009; GILCHRIST; LETCHFORD; BURT, 2012; RIEKES et al., 2014) eles podem não ter o mesmo sucesso quando aplicados aos cocrystalis. Muitos cocrystalis de interesse farmacêutico aumentam a solubilidade do fármaco em tamanha extensão tal que o cocrystalis converte rapidamente para a forma menos solúvel do fármaco durante os ensaios de solubilidade ou dissolução (Figura 38) podendo resultar em valores inexatos e subestimados. Quanto mais solúvel um cocrystalis for, maior é o risco de erro em medidas de solubilidade por métodos cinéticos (BETHUNE et al., 2009; ROY; LIPERT; RODRÍGUEZ-HORNEDO, 2012). A concentração máxima atingida durante estes experimentos é determinada pela taxa de dissolução do cocrystalis e a cristalização da forma mais estável do fármaco.

Figura 38 – Representação de medidas de solubilidade por método cinético para cocrystalis que apresentam conversão rápida e lenta para a forma do fármaco mais estável.



Fonte: Adaptado de Roy; Lipert; Rodríguez-Hornedo (2012).

Neste âmbito, estudos recentes demonstram que os métodos de equilíbrio termodinâmico são mais confiáveis na determinação da solubilidade de cocristais. Estes métodos envolvem reações de equilíbrio de fases em solução que, neste contexto, englobam as fases líquida e sólida (ROY; LIPERT; RODRÍGUEZ-HORNEDO, 2012). Através destas reações é possível estabelecer equações que predizem e descrevem a solubilidade de cocristais de diferentes estequiometrias. Modelos matemáticos que descrevem a solubilidade de cocristais formados por um ou mais compostos ionizáveis são apresentados na literatura (BETHUNE et al., 2009); entretanto, estudos da solubilidade de cocristais que apresentem em sua composição fármaco que seja base fraca e *coformer* ácido, em diferentes estequiometrias, e a confirmação do poder preditivo destas equações, são escassos.

A proposta inicial foi estudar cocristais de carvedilol. No entanto, como foram obtidos sais de carvedilol com os *coformes* estudados (Capítulo 4), utilizou-se a nevirapina (NVP) como fármaco modelo, tendo em vista que este antirretroviral é uma base fraca de pK_a 2,8. Além disso, Caira e colaboradores (2012) já haviam obtido cocristais da NVP com o ácido maleico (pK_a 1,9 e 6,6), a sacarina (pK_a 1,8) e o ácido salicílico (pK_a 3,0), cujas solubilidades foram avaliadas por métodos cinéticos.

Assim, este capítulo apresenta o desenvolvimento de equações que descrevem a solubilidade de cocristais de NVP em termos de constantes de equilíbrio associado à ionização dos seus componentes em solução, incluindo a geração de diagramas de fase para determinar os descritores de solubilidade destes sistemas e, finalmente, a avaliação do poder preditivo destes modelos através da comparação dos valores calculados com os experimentais.

Destaca-se que estes estudos foram realizados na Universidade de Michigan, durante o período de estágio sanduíche, sob supervisão da Prof^a Dr^a Naír Rodríguez-Hornedo.

2 METODOLOGIA

2.1 MATERIAIS

A matéria-prima de NVP foi gentilmente recebida por doação do Laboratório de Sistemas Farmacêuticos Avançados (LaSiFa) da Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brasil, registro 55071, lote 155875/RM:47.011. Os *coformers* ácido maleico (MLE) lote 09004LH e ácido salicílico (SLI) lote 055K5429 foram obtidos do fornecedor Sigma Chemical Company (Saint Louis, EUA). A sacarina (SAC) lote A014870201 foi adquirida do fornecedor Acros (Geel, Bélgica) e os solventes clorofórmio e pentanol foram obtidos de Fischer Scientific (Ottawa, EUA). Todos os outros reagentes utilizados são de grau farmacêutico.

2.2 MÉTODOS

2.2.1 Definição de modelos matemáticos

Os modelos matemáticos foram derivados considerando-se as reações de equilíbrio químico em solução e a relação de Henderson-Hasselbach (BUTLER, 1964).

2.2.2 Técnica de recristalização para obtenção do hemihidrato de NVP (NVP_{HH})

Uma solução contendo 2 g de NVP anidra em 90 mL de etanol foi aquecida até 75 °C em chapa quente sob agitação magnética. Uma vez que a solução atingiu esta temperatura, foram adicionados gradualmente 135 mL de água. A solução foi mantida em repouso para resfriamento até atingir temperatura ambiente e então foi filtrada a vácuo em filtros de papel qualitativo Whatman® (STIEGER et al., 2010). A caracterização da amostra obtida foi realizada por DRX e DSC.

2.2.3 Cristalização por reação

A síntese dos cocristais foi realizada pela técnica de cristalização por reação em temperatura ambiente através da adição de misturas estequiométricas de NVP e *coformer* em soluções de *coformers* próximas à saturação (RODRÍGUEZ-HORNEDO et al., 2006). NVP-MLE e NVP-SLI foram preparados em clorofórmio enquanto NVP-SAC foi preparado

em pentanol. As suspensões obtidas foram filtradas em filtro de papel qualitativo Whatman® sob vácuo e a identidade das amostras foi confirmada por DRXP e DSC. A seleção dos *coformers* e dos solventes foi feita de acordo com o descrito por Caira e colaboradores (2012).

2.2.4 Difrações de raios X de pó (DRXP)

Os padrões de DRXP dos cocristais e da amostra NVP HH foram obtidos em difratômetro Rigaku Miniflex (Danvers, MA, EUA) com uma radiação de cobre $K\alpha$ ($\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$), operando em uma corrente de 15 mA e voltagem de 30 kV. As medidas foram realizadas à temperatura ambiente, através de varredura angular a 2θ na faixa de 2° a 40° .

2.2.5 Calorimetrias exploratória diferencial (DSC)

As curvas DSC contendo aproximadamente 1,5 mg das amostras foram obtidas em célula TA Instrument (Newark, DE, EUA), utilizando cadinhos de alumínio hermeticamente fechados. A faixa de temperatura analisada foi de 25 a 300 °C, a uma taxa de aquecimento de 10 °C/min e sob atmosfera dinâmica de N_2 de 50 mL/min.

2.2.6 Cromatografias líquida de alta eficiência (CLAE)

As análises foram realizadas em cromatógrafo líquido de alta eficiência Waters 2690/5 (Milford, MA, EUA) com detector Waters PDA 2996 (fixado em 240 nm). Foi utilizada uma coluna de fase reversa C_{18} Waters (250 mm x 4,6 mm, 5 μm) e o sistema mantido a temperatura de 25 ± 1 °C. Uma pré-coluna (4,0 mm x 3,0 mm) foi utilizada para proteger a coluna analítica. As áreas dos picos foram integradas automaticamente através do *software* Empower™. A fase móvel consistiu numa mistura de metanol:tampão fosfato 10 mM com pH ajustado para 2,5 com ácido fosfórico (85 %) e eluída de diferentes maneiras dependendo do cocrystal analisado. Para os cocristais de NVP-SLI a eluição foi isocrática e a composição foi 50:50 metanol:tampão fosfato. Por outro lado, para os cocristais NVP-SAC e NVP-MLE a eluição foi gradiente de acordo com o apresentado na tabela 14. As análises foram realizadas com fluxo de 1,0 mL/min e o volume de injeção foi 20 μL .

Tabela 14 – Eluição gradiente do método de CLAE utilizado para a quantificação dos componentes dos cocristais NVP-SAC e NVP-MLE.

Tempo (min)	Metanol (%)	Tampão (%) ^a	Eluição
0-4	30	70	Isocrática
4-10	30-50	70-50	Gradiente linear
10-11	50	50	Isocrática
11-15	50-30	50-70	Gradiente linear

^aTampão fosfato 10 mM pH 2,5

2.2.7 Medidas dos pontos eutéticos e da solubilidade dos cocristais

Os estudos do ponto eutético foram realizados em água e em tampões com pHs 1,2 e 4,5 preparados de acordo com a Farmacopeia Americana (USP, 2011). Excessos de NVP_{HH} e cocristal foram adicionados a 3 mL de cada solução e mantidos sob agitação magnética a 25 °C ± 0,2 °C até atingirem o equilíbrio. Em intervalos de 24, 48 e 72 horas, alíquotas de 0,5 mL foram coletadas e centrifugadas em tubos para centrífuga contendo filtros de acetato de celulose 0,45 µm durante 3 minutos em 9000 rpm. A fase líquida foi diluída em metanol e as concentrações de NVP e *coformers* foram quantificadas por CLAE enquanto a fase sólida foi analisada por DRXP. Estes experimentos foram realizados em triplicata. As solubilidades dos cocristais foi obtida a partir das concentrações dos componentes dos cocristais no ponto eutético de acordo com as equações:

$$S_{cocristal\ 1:1} = \sqrt{[NVP]_{eu}[COF]_{eu}} \quad (8)$$

$$S_{cocristal\ 2:1} = 2 \left(\sqrt[3]{\frac{[NVP]_{eu}^2[COF]_{eu}}{4}} \right) \quad (9)$$

2.2.8 Solubilidade da NVP_{HH}

A solubilidade da NVP_{HH} em pH 1,2 e 4,5 foi determinada a partir da adição de um excesso de fármaco nos meios e foram mantidos sob agitação durante 48 horas a temperatura de 25 ± 0,2 °C. Após intervalos de 24 e 48 horas, alíquotas de 0,5 mL foram coletadas e centrifugadas em tubos para centrífuga contendo filtros de acetato de celulose 0,45 µm durante 3 minutos em 9000 rpm. A fase líquida foi

diluída em metanol e analisada por CLAE. A fase sólida foi verificada por DRXP para garantir que não houve transição de fase durante o ensaio.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

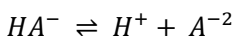
O equilíbrio em solução de um cocristal é descrito pelo produto de solubilidade (K_{sp}) e a sua solubilidade diminuirá com o aumento da concentração do *coformer* em solução. Se um ou mais componentes do cocristal for ionizável, o equilíbrio ácido ou básico também deve ser respeitado (NEHM; RODRÍGUEZ-SPONG; RODRÍGUEZ-HORNEDO, 2006; JAYASANKAR et al., 2009). Descrever as equações de equilíbrio para a dissociação do cocristal e a ionização dos componentes é a primeira etapa para avaliar a termodinâmica do processo. Desta forma, considerando-se um cocristal RH_2A na estequiometria 1:1, onde R é o fármaco básico e o *coformer* é H_2A , um ácido diprótico, as reações de equilíbrio para a dissociação do cocristal e a ionização do fármaco e *coformer* são:



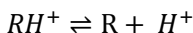
$$K_{sp} = [R][H_2A] \quad (10)$$



$$K_{a1,H_2A} = \frac{[HA^-][H^+]}{[H_2A]} \quad (11)$$



$$K_{a2,H_2A} = \frac{[H^+][A^{-2}]}{[HA^-]} \quad (12)$$



$$K_{a,R} = \frac{[R][H^+]}{[RH^+]} \quad (13)$$

Em que K_{sp} é o produto de solubilidade do cocristal e K_a é a constante ácida. As espécies sem subscritos indicam fase em solução. Cabe destacar que as análises aqui apresentadas assumem o

comportamento ideal com concentrações substituindo a atividade nas constantes de equilíbrio. Tratam-se de aproximações com o propósito de estabelecer tendências gerais e desconsideram a complexação, interações iônicas e interações solvente-soluto que devem ser avaliados para uma análise mais rígida, particularmente em concentrações mais altas e com maior força iônica.

A concentração ácida analítica ou total considera as espécies ionizadas e não ionizadas e é dada por:

$$[A]_T = H_2A + HA^- + A^{-2} \quad (14)$$

Enquanto a concentração analítica ou total do fármaco base fraca é:

$$[R]_T = [R] + [RH^+] \quad (15)$$

Através da substituição de $[H_2A]$, $[HA^-]$ e $[A^-]$ das equações 10, 11 e 12, a equação 14 pode ser rearranjada em:

$$[A]_T = \frac{K_{sp}}{[R]} \left(1 + \frac{K_{a1,H_2A}}{[H^+]} + \frac{K_{a1,H_2A}K_{a2,H_2A}}{[H^+]^2} \right) \quad (16)$$

A substituição de $[R]$ e $[RH^+]$ da equação 13 na equação 15 resulta em:

$$[R] = [R]_T \left(1 + \frac{K_{a,R}}{[H^+]} \right) \quad (17)$$

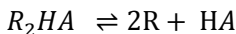
Para um cocristal binário na razão molar 1:1, a solubilidade é igual a concentração total de fármaco ou *coformer* em solução,

$$S_{CC} = [A]_T = [R]_T \quad (18)$$

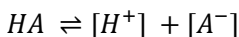
Então, a equação 16 pode ser reescrita em:

$$S_{cocystal} = \sqrt{K_{sp} \left(1 + \frac{[H^+]}{K_{a,R}} \right) \left(1 + \frac{K_{a1,H_2A}}{[H^+]} + \frac{K_{a1,H_2A}K_{a2,H_2A}}{[H^+]^2} \right)} \quad (19)$$

Por outro lado, se considerarmos um cocristal binário na estequiometria 2:1, onde R é o fármaco básico e HA o *coformer* ácido monoprotico, as reações de equilíbrio para a dissociação do cocristal e a ionização do fármaco e *coformer* são:



$$K_{sp} = [R]^2[HA] \quad (20)$$



$$K_{a,HA} \rightleftharpoons \frac{[H^+][A^-]}{[HA]} \quad (21)$$

A concentração ácida analítica ou total é dada por:

$$[A]_T = [HA] + [A^-] \quad (22)$$

A ionização do fármaco e sua concentração analítica ou total continuam de acordo com as equações 13 e 15, respectivamente. A substituição das espécies ácidas das equações 20 e 21 na equação 22 resulta em:

$$[A]_T = \frac{K_{sp}}{[R]^2} \left(1 + \frac{K_{a,HA}}{[H^+]} \right) \quad (23)$$

Para um cocristal binário na razão molar 2:1, a solubilidade é igual a metade da concentração total de fármaco ou total do *coformer* em solução,

$$S_{CC} = [A]_T = \frac{1}{2}[R]_T \quad (24)$$

Assim, a equação 23 pode ser reescrita em:

$$S_{cocristal} = \sqrt[3]{\frac{K_{sp}}{4} \left(1 + \frac{[H^+]}{[K_{a,R}]} \right)^2 \left(1 + \frac{K_{a,HA}}{[H^+]} \right)} \quad (25)$$

As equações 18 e 25 preveem o aumento da solubilidade do cocristal com o aumento do pH e sua dependência com os respectivos

valores de K_{sp} e dos pK_a dos *coformers* e fármaco. Isto indica que se o valor de K_{sp} for obtido, a solubilidade dos cocristais pode ser calculada em qualquer pH, assim como, se a solubilidade do cocrystal for obtida em um pH, o K_{sp} pode ser calculado pelas equações 18 e 25. Ainda, enquanto as espécies HA ou H_2A ionizam de acordo com o seu pK_a e o pH da solução, mais cocrystal dissolve para manter o equilíbrio de dissociação e, desta forma, aumenta a concentração de fármaco em solução. Uma vez que as estabilidades de fármaco e cocrystal são críticas para prever as transformações que podem ocorrer durante o desenvolvimento de uma forma farmacêutica, o produto de solubilidade é importante para o desenvolvimento de diagramas de solubilidade de fase, o qual é capaz de revelar as regiões de estabilidade termodinâmica de cristais uni ou multicomponentes (REDDY et al., 2009).

Desta forma, os modelos matemáticos aqui derivados para a solubilidade de cocristais foram aplicadas para os cocristais de NVP com ácido maleico, sacarina e ácido salicílico descritos por Caira e colaboradores (2012), uma vez que estes cocristais apresentam diferentes estequiometrias e os seus componentes apresentam-se como modelo de fármaco base fraca e *coformers* ácidos monopróticos e dipróticos. Para a obtenção dos cocristais utilizou-se a técnica de cristalização por reação, a qual foi desenvolvida e encontra-se consolidada no laboratório da Dr^a Rodríguez-Hornedo. Para o estudo do ponto eutético e solubilidade dos cocristais, a forma cristalina termodinamicamente mais estável do fármaco deve ser utilizada. Neste caso, foi necessário o preparo da NVP_{HH} (forma mais estável), pois a forma disponível comercialmente é a NVP anidra (forma menos estável).

A técnica de DRXP permite observar que a recristalização realizada na obtenção da NVP_{HH} foi bem sucedida assim como a cristalização por reação foi na obtenção de cocristais de NVP. A NVP_{HH} recristalizada apresenta em seu difratograma as principais reflexões observadas no seu padrão de difração calculado (Figura 39). Como apresentado na Figura 40, as reflexões das amostras NVP-MLE, NVP-SAC e NVP-SLI obtidas são coincidentes com as reflexões dos padrões de difração calculados (CAIRA et al., 2012) para os respectivos cocristais. Embora nem todas as reflexões sejam observadas devido a orientação preferencial das amostras, não ocorrem reflexões adicionais.

Figura 39 – Difratomogramas comparando a amostra obtida por recristalização da NVP em etanol:água e o padrão de difração calculado da NVPHH.

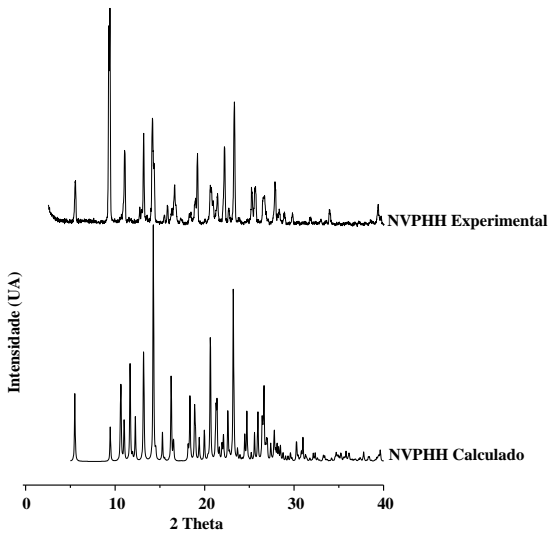
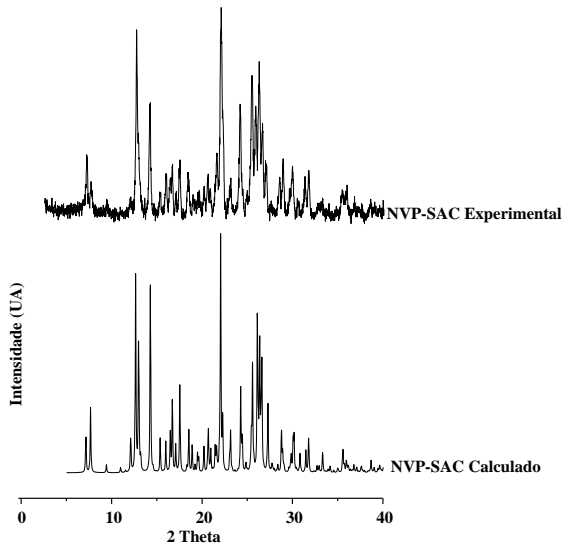
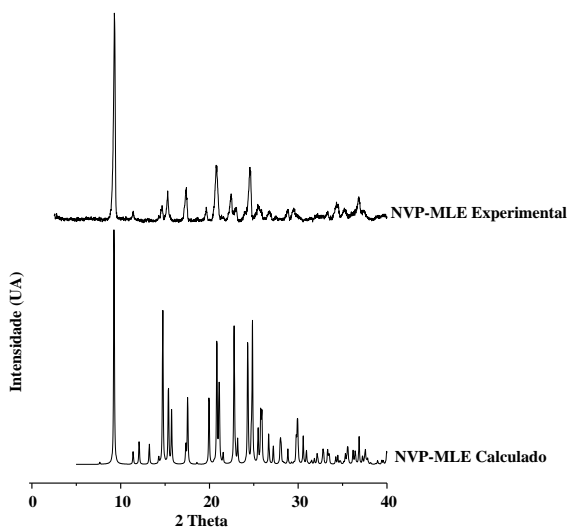
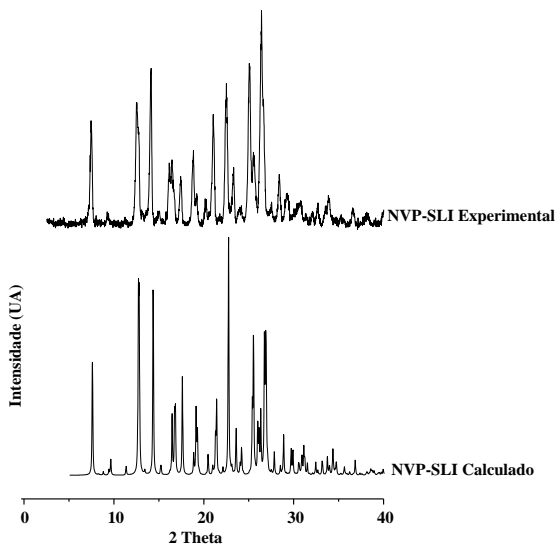


Figura 40 – Difratogramas comparando as amostras obtidas por cristalização por reação e os padrões calculados dos cocrystalos NVP-MLE, NVP-SAC e NVP-SLI.

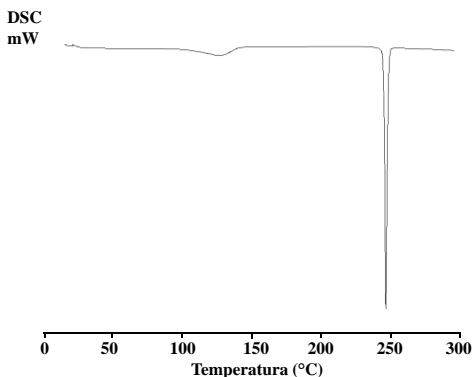


(continua na próxima página)



As curvas DSC obtidas para a matéria-prima recristalizada da NVP e as amostras obtidas por cristalização por reação estão ilustradas nas Figuras 41 e 42. Como pode ser verificado, a amostra recristalizada apresenta um evento de perda de solvente em 129,8 °C com calor de fusão de 46,08 J/g seguido de um evento de fusão em 246,4 °C com calor de fusão de 138,6 J/g (Figura 41). Estes resultados ao encontro dos valores reportados previamente na literatura (STIEGER et al., 2010) e reforçam os resultados obtidos por DRXP referentes a NVPHH.

Figura 41 – Curva de DSC referente à matéria-prima recristalizada da NVP.



As amostras obtidas por cristalização por reação apresentaram eventos de fusão de acordo com o estudo apresentado por Caira e colaboradores (2012), onde os cocristais de NVP foram descobertos e caracterizados pela primeira vez. Os eventos de fusão podem ser observados nas Figuras 42, 43 e 44 e apresentam-se em 187 °C (257,7 J/g), 220 °C (135,0 J/g) e 205 °C (203,5J/g) para NVP-MLE, NVP-SAC e NVP-SLI, respectivamente. Na curva DSC do cocrystal NVP-MLE, além do evento principal em 187 °C referente a fusão do cocrystal, observa-se uma endoterma menor em 241,5 °C, próxima à temperatura de fusão da NVP (243-246 °C). Este evento também foi observado no estudo de Caira e colaboradores (2012), que realizaram análises complementares de microscopia *hot-stage* e DRXP com variação de temperatura e assim justificaram que a medida que o cocrystal funde ocorre a liberação das moléculas de NVP da rede cristalina que, então livres, recristalizam-se no mesmo arranjo da fase cristalina do material de partida. Por outro lado, as moléculas de MLE livres permanecem fundidas e são então subsequentemente vaporizadas. Uma vez que a fusão do cocrystal e a recristalização da NVP ocorrem simultaneamente na faixa de 170-200 °C e há o cancelamento parcial dos eventos endotérmicos e exotérmicos, nenhum evento exotérmico de recristalização é evidente nesta região da curva DSC. Desta forma, o evento observado em 241,5 °C pode ser atribuído à NVP livre liberada do cocrystal. Todos os resultados de DSC também vão ao encontro àqueles obtidos por DRXP referentes aos cocristais de NVP com os *coformers* MLE, SAC e SLI.

Figura 42 – Curva de DSC referente à amostra obtida por cristalização por reação para o sistema NVP-MLE

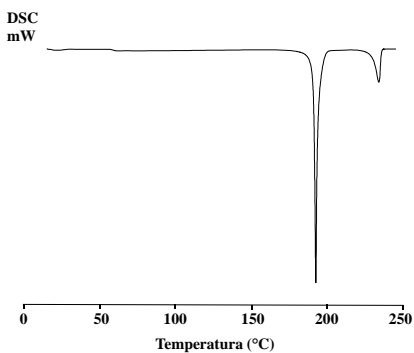


Figura 43 – Curva de DSC referente à amostra obtida por cristalização por reação para o sistema NVP-SAC.

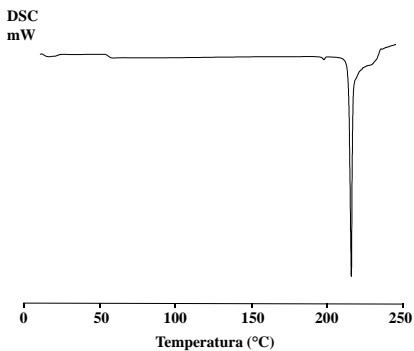
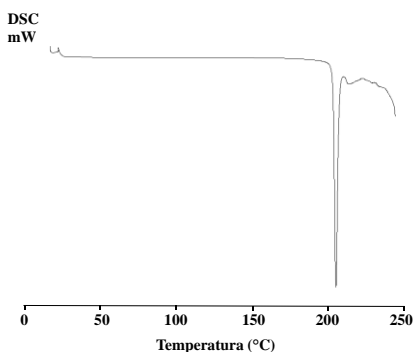


Figura 44 – Curvas de DSC referentes às amostras obtidas por cristalização por reação para o sistema NVP-SLI.



O produto de solubilidade (K_{sp}) dos cocristais obtidos foi calculado a partir das equações 8 (NVP-MLE, cocristal 1:1) e 18 (NVP-SAC e NVP-SLI, cocristais 2:1) utilizando-se as concentrações medidas dos componentes dos cocristais no ponto eutético em água, considerando-se apenas as espécies não ionizadas, estes valores estão apresentados na Tabela 15.

Tabela 15 – Concentrações das espécies não ionizadas de NVP e *coformers*, K_{sp} e concentração hidrogeniônica obtidas das medidas no ponto eutético em água

Cocristal	[NVP] _{eu} (M)	[COF] _{eu} (M)	K_{sp} (M ² ou M ³)	[H ⁺] (M)
NVP-MLE	$1,19 \times 10^{-4}$	$1,42 \times 10^{-1}$	$1,70 \times 10^{-5}$	$4,67 \times 10^{-2}$
NVP-SAC	$2,73 \times 10^{-4}$	$1,41 \times 10^{-3}$	$1,05 \times 10^{-10}$	$3,71 \times 10^{-3}$
NVP-SLI	$2,22 \times 10^{-4}$	$7,34 \times 10^{-4}$	$3,63 \times 10^{-11}$	$6,76 \times 10^{-4}$

O cálculo das concentrações das formas não ionizadas considera as reações de equilíbrio químico em solução e a relação de Henderson-Hasselbach e encontram-se ilustradas nas Figuras 45, 46 e 47. Observa-se que a concentrações das espécies não ionizadas diminui com o aumento do pH para os *coformers* ácidos e o inverso é observado para a NVP, fármaco base fraca.

Figura 45 – Diagrama de concentrações logarítmicas das espécies ionizadas e não ionizadas da NVP e do MLE construídos a partir das medidas do ponto eutético em água

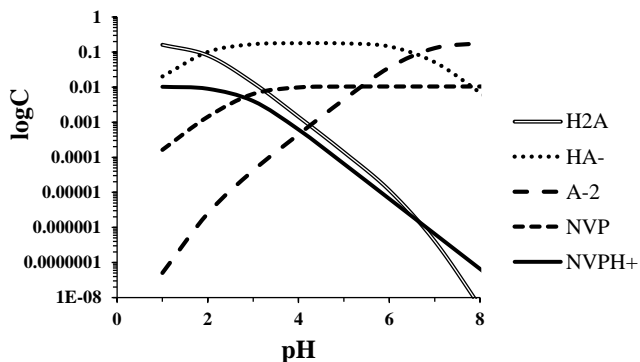


Figura 46 – Diagrama de concentrações logarítmicas das espécies ionizadas e não ionizadas da NVP e do SAC construídos a partir das medidas do ponto eutético em água

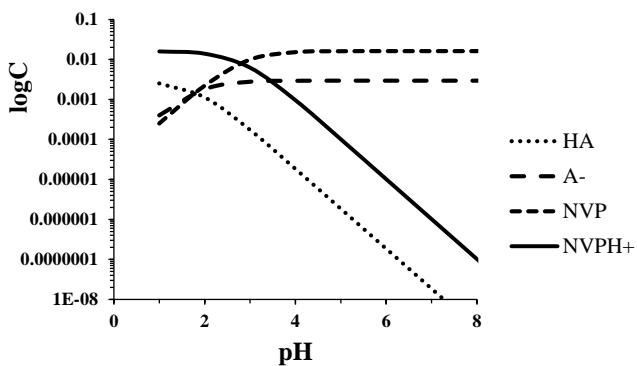
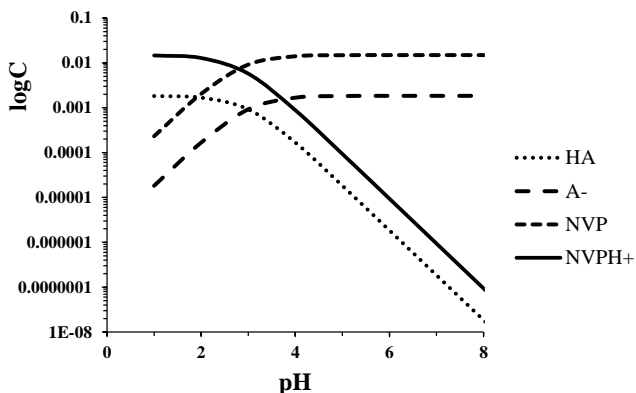


Figura 47 – Diagrama de concentrações logarítmicas das espécies ionizadas e não ionizadas da NVP e do SLI construídos a partir das medidas do ponto eutético em água

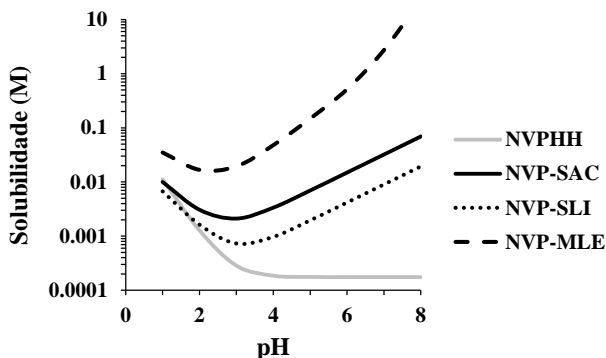


O valor obtido de K_{sp} foi aplicado nas equações 17 e 23, para obtenção da solubilidade dos cocristais, permitindo, também, a construção do diagrama de solubilidade de fases apresentado na Figura 48. Os valores de solubilidade obtidos para a NVPHH apresentado na Tabela 16 não apresentam diferenças significativas ($p > 0,05$) entre os valores obtidos para 24 e 48 horas demonstrando que o equilíbrio foi atingido. A relação de Henderson-Hasselbalch foi utilizada para calcular a solubilidade intrínseca de cada espécie e então a solubilidade da NVP em função do pH foi calculada, estes dados também encontram-se ilustrados nos diagramas de solubilidade de fases para comparação com a solubilidade dos cocristais.

Tabela 16 – Solubilidade da NVPHH em pH 1,2 e pH 4,5

Tempo (h)	Solubilidade (M) $\times 10^{-3}$	
	pH 1,2	pH 4,5
24	$7,50 \pm 3,4 \times 10^{-3}$	$0,18 \pm 2,6 \times 10^{-7}$
48	$7,48 \pm 2,2 \times 10^{-3}$	$0,17 \pm 1,6 \times 10^{-7}$

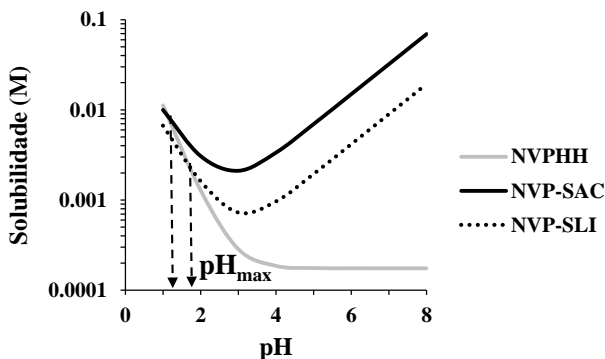
Figura 48 – Diagramas de solubilidade de fases em função do pH para a NVPHH e os cocristais NVP-MLE, NVP-SAC e NVP-SLI



De acordo com os diagramas de solubilidade de fases em função do pH obtidos para a NVPHH e seus cocristais observa-se que todos os sistemas apresentam solubilidade dependente do pH. A curva de solubilidade da NVPHH diminui exponencialmente em função do aumento do pH até atingir um valor constante, comportamento característico de um fármaco base fraca. Por outro lado, as curvas de solubilidade de todos os cocristais apresentam o formato de U, onde a solubilidade diminui e aumenta exponencialmente, inicia com valores decrescentes até atingir um valor mínimo em um certo pH a partir de onde começa a aumentar. O cocrystal NVP-MLE é o único que apresenta maior solubilidade em comparação a NVPHH em qualquer pH. Por outro lado, os cocristais NVP-SAC e NVP-SLI exibem um pK_a de Gibbs, também chamado pH máximo (pH_{max}) (Figura 49), onde fármaco e cocrystal estão em equilíbrio em solução. Abaixo do pH_{max} , a NVPHH é a forma mais solúvel, porém, acima deste valor ocorre uma inversão no diagrama e o cocrystal passa a ser a forma mais solúvel. Assim, demonstra-se que o comportamento de solubilidade pH dependente de cocristais formados por fármaco base fraca e *coformer* ácido são diferentes dependendo das propriedades de ionização do *coformer*, as quais podem ser consideradas para modular o valor de pH_{max} .

Ainda, o pH demonstra-se uma variável muito importante na determinação da solubilidade aquosa do cocrystal, na dependência da concentração do *coformer* na solubilidade do cocrystal e na efetividade do *coformer* em estabilizar ou precipitar o cocrystal.

Figura 49 – Diagramas de solubilidade de fases em função do pH para a NVPHH e os cocrystalos NVP-SAC e NVP-SLI destacando o pH_{max}



Curvas de solubilidade de cocrystalos farmacêuticos formados por um ou mais compostos ionizáveis são encontrados na literatura onde fármaco e/ou *coformer* são ionizáveis e incluem moléculas ácidas, anfotéricas e zwitteriônicas como cocrystalos de carbamazepina com ácido benzoico, ácido glicólico, sacarina, ácido 1-hidroxi-2-naftoico entre outros (FLEISCHMAN et al., 2003; CHILDS et al., 2008); cafeína com ácido maleico, ácido glutárico e ácido oxálico (TRASK, MOTHERWELL; JONES, 2005); piroxicam com ácido malônico, ácido caprílico, ácido fumárico, etc (CHILDS; HARDCASTLE, 2007); e gabapentina com ácido 3-hidroxibenzoico (REDDY et al., 2009). A solubilidade do cocrystal pode ser maior ou menor do que a solubilidade do fármaco puro ou seu hidrato, dependendo da escolha do *coformer* (REMENAR et al., 2003; BAK et al., 2008; MCNAMARA et al., 2006).

A partir do diagrama de solubilidade de fases também é possível estabelecer as regiões de estabilidade termodinâmica dos cocrystalos. Para o cocrystal NVP-MLE, a NVPHH é a fase mais estável em qualquer valor de pH, assim, os cocrystalos apresentam a tendência de recrystalizar-se na forma mais estável da NVP quando submetidos a meios aquosos. Entretanto, para os cocrystalos NVP-SAC e NVP-SLI, o cocrystal é a fase termodinamicamente mais estável em valores de pH menores que o pH_{max} . Acima deste valor, a solubilidade do cocrystal somente aumenta em relação à NVPHH, o que predispõe o cocrystal a recrystalizar-se no fármaco hidratado. Assim, estes cocrystalos podem ser sintetizados em condições estequiométricas em valores de pH abaixo do pH_{max} , mas condições não estequiométricas seriam necessárias para sintetizar os

mesmos cocristais em pHs acima deste valor. É notável que a escolha do *coformer* é capaz de modular a solubilidade e estabilidade dos cocristais.

Os valores experimentais de solubilidade dos cocristais realizados em tampões pH 1,2 e 4,5 e em água estão apresentados nas Figuras 50, 51 e 52 em conjunto com a solubilidade prevista pelas equações 17 e 23 para os cocristais e pela relação de Henderson-Hasselbalch para o fármaco, encontram-se em excelente concordância com o comportamento previsto e demonstram o ótimo poder preditivo dos modelos matemáticos. É importante destacar que os valores de pH dos tampões referem-se aos valores iniciais, porém, ao final dos ensaios o pH foi novamente verificado e estes foram os valores utilizados nas equações. Percebe-se que uma vez que o *coformer* é um ácido, sua solubilização no meio diminui os valores de pH de maneira que a solubilidade do cocristal em valores de pH altos não pode ser acessada experimentalmente devido a este efeito auto-tamponante do *coformer*.

Figura 50 – Diagramas de solubilidade de fases em função do pH para a NVPHH e NVP-MLE. Os símbolos abertos representam os valores de solubilidade do cocristal obtidos experimentalmente

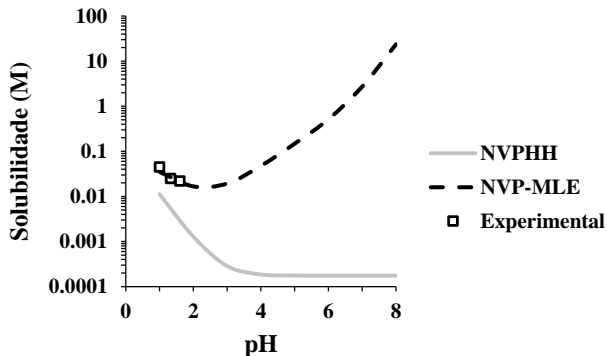


Figura 51 – Diagramas de solubilidade de fases em função do pH para a NVPHH e NVP-SAC. Os símbolos abertos representam os valores de solubilidade do cocristal obtidos experimentalmente

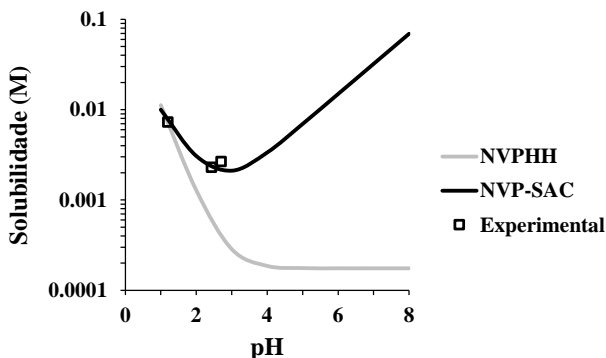
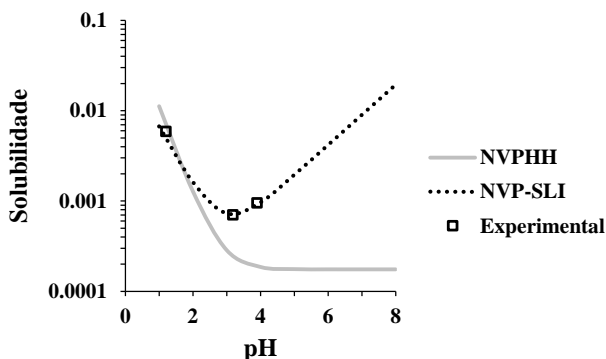


Figura 52 – Diagramas de solubilidade de fases em função do pH para a NVPHH e NVP-SLI. Os símbolos abertos representam os valores de solubilidade do cocristal obtidos experimentalmente



Os resultados aqui apresentados destacam mais uma vez a importância da utilização dos métodos de equilíbrio na determinação da solubilidade de cocristais. No trabalho desenvolvido por Cairra e colaboradores (2012), as medidas de solubilidade dos cocristais de NVP foram realizadas por métodos cinéticos e demonstraram aumento na solubilidade aquosa do cocristal com relação ao fármaco ($S_{\text{cocristal}}/S_{\text{fármaco}}$) na ordem de 5,3; 1,4 e 1,1 vezes para NVP-MLE, NVP-SAC e NVP-SLI, respectivamente. Cabe destacar que os autores não informam o pH final

do meio e a fase cristalina presente no final do ensaio. Possivelmente estes valores são subestimados e duvidosos, uma vez que se tratam de cocristais altamente solúveis em meios aquosos e que apresentam solubilidade pH dependente. Ainda, é provável que ocorra uma transição de fases do cocrystal para a forma mais estável do fármaco em faixas de pH favoráveis a este fenômeno. Como apresentado nas Figuras 53, 54 e 55, as razões da solubilidade $S_{\text{cocrystal}}/S_{\text{fármaco}}$ encontradas neste trabalho representam valores muito superiores aos apresentados pelos autores acima citados e são dependentes do pH.

Figura 53 – Razão da solubilidade entre NVP-MLE e NVPHH em função do pH

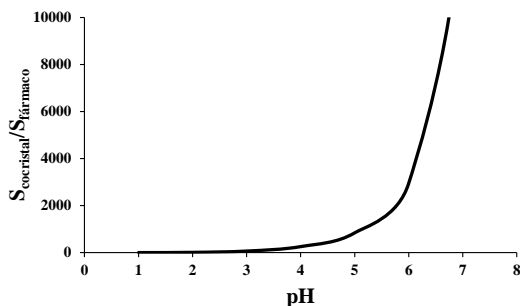


Figura 54 – Razão da solubilidade entre NVP-SAC e NVPHH em função do pH

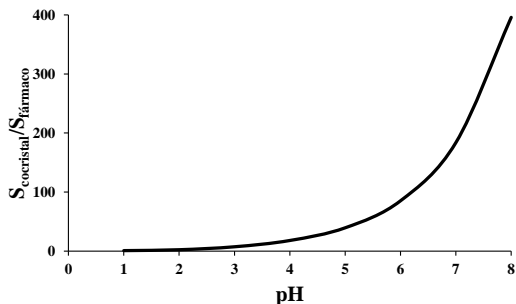
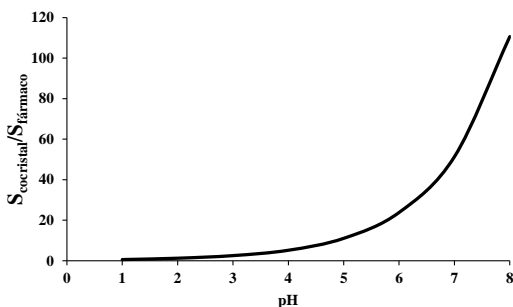


Figura 55 – Razão da solubilidade entre NVP-SLI e NVPHH em função do pH



Similarmente à solubilidade dos cocristais, espera-se que as concentrações dos *coformers* no ponto eutético aumentem com o aumento da ionização de acordo com seus respectivos valores de pK_a (HUANG; RODRÍGUEZ-HORNEDO, 2011). Os resultados obtidos experimentalmente confirmam o comportamento esperado (Figuras 56, 57 e 58). Em valores de pH favoráveis à ionização, observa-se maiores concentrações de MLE, SAC e SLI. O aumento da concentração de *coformer* em solução no ponto eutético indica que maiores concentrações deste componente são necessárias para estabilizar o cocristal. Ainda, a razão da concentração do *coformer* e do fármaco no ponto eutético ($[COF]_{eu}/[Fármaco]_{eu}$) apontam a fase mais solúvel naquelas condições. Se ($[COF]_{eu}/[Fármaco]_{eu}$) for maior que 1, o cocristal é mais solúvel que o fármaco, por outro lado, se ($[COF]_{eu}/[Fármaco]_{eu}$) for menor que 1, o fármaco é mais solúvel que o cocristal (GOOD; RODRÍGUEZ-HORNEDO, 2010).

Figura 56 – Concentrações eutéticas de NVP e MLE em diferentes valores de pH

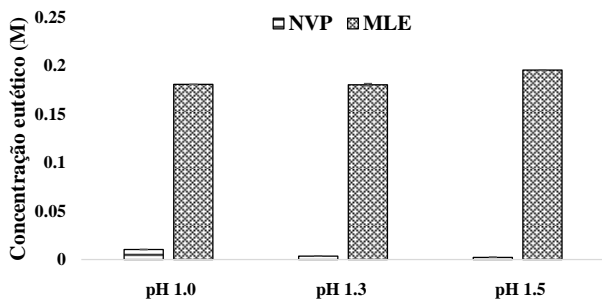


Figura 57 – Concentrações eutéticas de NVP e SAC em diferentes valores de pH

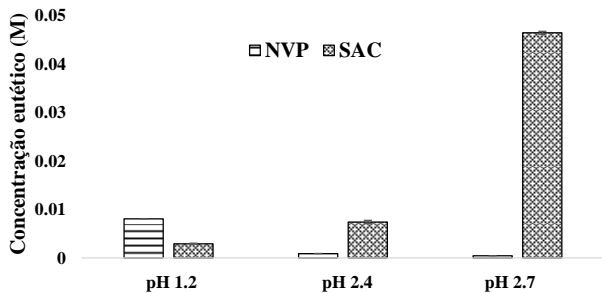
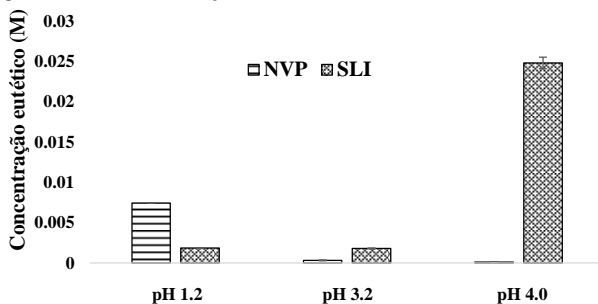


Figura 58 – Concentrações eutéticas de NVP e SLI em diferentes valores de pH



4 CONCLUSÕES

Os estudos com cocristais compostos por fármaco base fraca e *coformer* ácido demonstraram que a solubilidade destes cocristais é pH dependente e pode ser modelada pela seleção dos componentes do cocristal. Os modelos matemáticos baseados na dissociação do cocristal e na ionização de seus componentes explicam como a solubilidade dos cocristais pode ser influenciada pelo pH, pK_a e concentração do *coformer*. As equações foram utilizadas para gerar os diagramas de solubilidade de fases os quais apresentam um pH_{max} que estabelece as regiões de solubilidade e estabilidade dos cocristais, demonstra ser dependente do pK_a dos componentes e pode guiar a seleção do cocristal de maneira rápida e de baixo custo. A aplicação dos métodos de equilíbrio para determinação da solubilidade dos cocristais apresentou resultados em excelente acordo com os valores calculados demonstrando o ótimo poder preditivo dos modelos matemáticos desenvolvidos.

O desenvolvimento de equações que preveem a solubilidade de cocristais pode ser aplicado também para sais (MAHESHWARI, 2012). Assim, estes estudos encontram-se em desenvolvimento para os sais de carvedilol apresentados no Capítulo IV.

5 REFERÊNCIAS

BAK, A.; GORE, A.; YANEZ, E.; STANTON, M.; TUFEKCIC, S.; M.; SYED, R.; AKRAMI, A.; ROSE, M.; SURAPANENI, S.; BOSTICK, T.; KING, A.; NEERVANNAN, S.; OSTOVIC, D.; KOPARKAR, A. The co-crystal approach to improve the exposure of a water insoluble compound: AMG 517 sorbic acid cocrystal characterization and pharmacokinetics. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 97, p. 3942–3956, 2008.

BETHUNE, S. J.; HUANG, N.; JAYASANKAR, A.; RODRÍGUEZ-HORNEDO, N. Understanding and predicting the effect of cocrystal components and pH on cocrystal solubility. **Crystal Growth & Design**, v. 9, n. 9, p. 3976–3988, 2009.

BUTLER, J. N. **Ionic equilibrium: a mathematical approach**. 1 ed. Massachusetts: Addison-Wesley, 1964.

CAIRA, M. R.; BOURNE, S. A.; SAMSODIEN, H.; ENGEL, E.; LIEBENBERG, W.; STIEGER, N.; AUCAMP, M. Co-crystals of the antiretroviral nevirapine: crystal structures, thermal analysis and dissolution behavior. **Crystal Engineering Communication**, v. 14, p. 2541–2551, 2012.

CARINI, J. P.; PAVEI, C.; SILVA, A. P. C.; MACHADO, G.; MEXIAS, A. S.; PEREIRA, V. P.; FIALHO, S. L.; MAYORGA, P. Solid state evaluation of some thalidomide raw materials. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 372, p. 17–23, 2009.

CHILDS, S. L.; HARDCASTLE, K. I. Cocystals of piroxicam with carboxylic acids. **Crystal Growth & Design**, v. 7, p. 1291–1304, 2007.

CHILDS, S. L., RODRÍGUEZ-HORNEDO, N.; REDDY, L. S.; JAYASANKAR, A.; MAHESHWARI, C.; MCCAUSLAND, L.; SHIPPLETTA, R.; STAHLY, B. C. Screening strategies based on solubility and solution composition generate pharmaceutically acceptable cocrystals of carbamazepine. **Crystal Engineering Communications**, v. 10, p. 856–864, 2008.

DONATO, E. M.; MARTINS, L. A.; FRÖEHLICH, P. E.; BERGOLD, A. M. Development and validation of dissolution test for lopinavir, a

poorly water-soluble drug, in soft gel capsules, based on in vivo data. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 47, p. 547–552, 2008.

FLEISCHMAN, S. G.; KUDUVA, S. S.; MCMAHON, J. A.; MOULTON, B.; WALSH, R. D. B.; RODRÍGUEZ-HORNEDO, N.; ZAWOROTKO, M. J. Crystal engineering of the composition of pharmaceutical phases: multiple-component crystalline solids involving carbamazepine. **Crystal Growth & Design**, v. 3, p. 909–919, 2003.

GILCHRIST, S. E.; LETCHFORD, K.; BURT, H. M. The solid-state characterization of fusidic acid. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 422, p. 245–253, 2012.

GOOD, D. J.; RODRÍGUEZ-HORNEDO, N. Solubility advantage of pharmaceutical cocrystals. **Crystal Growth & Design**, v. 9, n. 5, p. 2252–2264, 2009.

HUANG, N; RODRÍGUEZ-HORNEDO, N. Effect of micellar solubilization on cocrystal solubility and stability. **Crystal Growth & Design**, v. 10, p. 2050–2053, 2010.

JAYASANKAR, A.; REDDY, L. S.; BETHUNE, S. J.; RODRÍGUEZ-HORNEDO, N. Role of cocrystal and solution chemistry on the formation and stability of cocrystals with different stoichiometry. **Crystal Growth and Design**, v. 9, p. 889–897, 2009.

MAHESHWARI, C. **Understanding the Solution Phase Chemistry and Solid State Thermodynamic Behavior of Pharmaceutical Cocrystals**. 2012. 221 f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) University of Michigan, Ann Arbor, 2012.

MCNAMARA, D. P.; CHILDS, S. L.; GIORDANO, J.; IARRICCIO, A.; CASSIDY, J.; SHET, M. S.; MANNION, R.; O'DONNELL, E.; PARK, A. Use of a glutaric acid cocrystal to improve oral bioavailability of a low solubility API. **Pharmaceutical Research**, v. 23, p. 1888–1897, 2006.

NEHM, S.; RODRÍGUEZ-SPONG, B.; RODRÍGUEZ-HORNEDO, N. Phase solubility diagrams of cocrystals are explained by solubility

product and solution complexation. **Crystal Growth and Design**, v. 6, p. 592–600, 2006.

REDDY, L. S.; BETHUNE, S. J.; KAMPF, J. W.; RODRÍGUEZ-HORNEDO, N. Cocrystals and Salts of Gabapentin: pH Dependent Cocrystal Stability and Solubility. **Crystal Growth and Design**, v. 9, n. 1, p. 378–385, 2009.

REMENAR, J. F.; MORISSETTE, S. L.; PETERSON, M. L.; MOULTON, B.; MACPHEE, J. M.; GUZMÁN, H. R.; ALMARSSON, O. Crystal Engineering of novel cocrystals of a triazole drug with 1,4-dicarboxylic acids. **Journal of the American Chemical Society**, v. 125, p. 8456–8457, 2003.

RIEKES, M. K.; KUMINEK, G.; RAUBER, G. S.; SILVIA L. CUFFINI, S. L.; STULZER, H. K. Development and validation of an intrinsic dissolution method for nimodipine polymorphs. **Central European Journal of Chemistry**, v. 12, p. 549–556, 2014.

RODRÍGUEZ-HORNEDO, N.; NEHM, S. J.; SEEFELDT, K. F.; PAGÁN-TORRES, Y.; FALKIEWICZ, C. J. Reaction crystallization of pharmaceutical molecular complexes. **Molecular Pharmaceutics**, v. 3, p. 362–367, 2006.

ROY, L.; LIPERT, M.; RODRÍGUEZ-HORNEDO, N. Co-crystal solubility and thermodynamic stability. In: WOUTERS, J. E.; QUÉRÉ, L. (Ed.). **Pharmaceutical Salts and Co-crystals**. Cambridge: The Royal Society of Chemistry, 2012, p.390.

STIEGER, N.; CAIRA, M. R.; LIEBENBERG, W.; TIEDT, L. R.; WESSELS, J. C.; DE VILLIERS, M. M. Influence of the composition of water/ethanol mixtures on the solubility and recrystallization of nevirapine. **Crystal Growth and Design**, v. 10, p. 3859–3868, 2010.

TRASK, A. V., MOTHERWELL, W. D. S.; JONES, W. Pharmaceutical cocrystallization: engineering a remedy for caffeine hydration. **Crystal Growth & Design**, v. 5, p. 1013–1021, 2005.

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

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Devido ao grande número de fármacos com baixa solubilidade aquosa, a demanda por estratégias tecnológicas que contornem esta situação vem recebendo destaque no cenário farmacêutico. Neste âmbito, pode-se mencionar o modelamento das características do estado sólido.

A modificação do hábito cristalino, apresentada para o cloridrato de terbinafina, embora não tenha demonstrado aumento na VDI, ressalta que a alteração da morfologia do cristal pode influenciar a sua taxa de dissolução, e em casos mais drásticos afetar a sua biodisponibilidade.

As estratégias de formação de sais e cocristais demonstrada com os fármacos carvedilol e nevirapina, respectivamente, apresentam facilidade no preparo e escalonamento e ainda, são passíveis de patenteabilidade. Apresentam vantagens em relação aos métodos de processamento instáveis termodinamicamente como os amorfos. Ainda, apresentam vasta aplicação no aumento da solubilidade de fármacos, além da sua promissora aplicação biofarmacêutica.

Finalmente, a aplicação de diferentes estratégias das engenharias de cristais e partículas apresentadas neste trabalho apresentaram-se muito promissoras no aprimoramento de propriedades biofarmacêuticas de fármacos pertencentes à classe II do SCB.

APÊNDICE A
CARACTERIZAÇÃO EM ESTADO SÓLIDO DO
CARVEDILOL

1 INTRODUÇÃO

Estes estudos foram desenvolvidos com a finalidade de caracterizar em estado sólido o material de partida e obter as diferentes estruturas cristalinas de CAR através de técnicas descritas na literatura (YATHIRAJAN et al., 2007; DÍAZ et al., 2011; PRADO, 2012; PRADO et al., 2014). A caracterização no estado sólido e o conhecimento de todos os possíveis polimorfos do fármaco são importantes para a obtenção de informações que permitam a sua identificação em eventual aparecimento durante o *screening* de cristais multicomponentes.

2 METODOLOGIA

2.1 MATERIAIS

Matéria-prima comercial de CAR foi obtida do fornecedor DEG Importação de Produtos Químicos LTDA, São Paulo, Brasil, lote CA10005R, procedente da Índia, apresentado teor de 99,97 % segundo laudo de análise do controle de qualidade.

2.2 MÉTODOS

2.2.1 Técnica de recristalização para obtenção do polimorfo III, hidrato e solvato de butanona do CAR

Os experimentos foram realizados a partir da evaporação de solventes ou mistura de solventes, conforme condições apresentadas na Tabela A1. As soluções foram preparadas em temperatura ambiente e deixadas em béqueres lacrados com Parafilm® com alguns furos feitos com agulha para evaporação lenta do solvente. As amostras obtidas foram filtradas e secas a temperatura ambiente. Apenas na recristalização em acetona, o fármaco foi deixado em suspensão e sob agitação magnética por 24 horas.

Tabela A1 – Condições experimentais dos procedimentos de recristalização do carvedilol.

Solvente	Massa de fármaco	Volume de solvente	Tempo
Metanol ^a	1,6 g	140 mL	30 dias
Butanona ^a	1,8 g	60 mL	10 min
Acetona	1,6 g	4 mL	24 h

^a PRADO, 2012.

2.2.2 Caracterização no estado sólido de matérias-primas e polimorfos do CAR

2.2.2.1 Difração de raios X de pó (DRXP)

Os padrões de DRXP das amostras CAR foram obtidos em difratômetro θ - θ Bruker D2 Phaser, com uma radiação de cobre $K\alpha$ ($\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$), operando em uma corrente de 10 mA e voltagem de 30 kV, equipado com um detector de cintilação unidimensional LINXEYE. As medidas foram realizadas a temperatura ambiente, através de varredura angular a 2θ na faixa de 5° a 50° , com *step* angular de $0,091^\circ$.

2.2.2.2 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

As curvas DSC contendo aproximadamente 1,5 mg das amostras foram obtidas em célula Shimadzu DSC-50, utilizando cadinhos de alumínio hermeticamente fechados. A faixa de temperatura analisada foi de 25 a 150 °C, a uma taxa de aquecimento de 10 °C/min e sob atmosfera dinâmica de N₂ de 50 mL/min. A célula de DSC foi previamente calibrada com índio e zinco. Os dados obtidos foram processados em *software* TA-60.

2.2.2.3 Termogravimetria (TG)

As curvas TG das matérias-primas e polimorfos foram obtidas em termobalança Shimadzu TGA-50, utilizando cadinho de platina aberto. Aproximadamente 3 mg de amostras foram analisadas na faixa de 40 a 500 °C, a uma taxa de aquecimento de 10 °C/min ou 2,5 °C/min e sob atmosfera dinâmica de N₂ de 50 mL/min. O equipamento foi previamente calibrado com um padrão de oxalato de cálcio, com pureza determinada de 99,99 %. Os dados obtidos foram processados em *software* TA-60.

2.2.2.4 Espectroscopia vibracional na região do infravermelho (IV)

Os espectros IV foram obtidos em equipamento PerkinElmer Frontier FI-IR, em uma faixa espectral de 650 a 4000 cm^{-1} , com uma média de 4 varreduras em resolução espectral de 0,4 cm^{-1} .

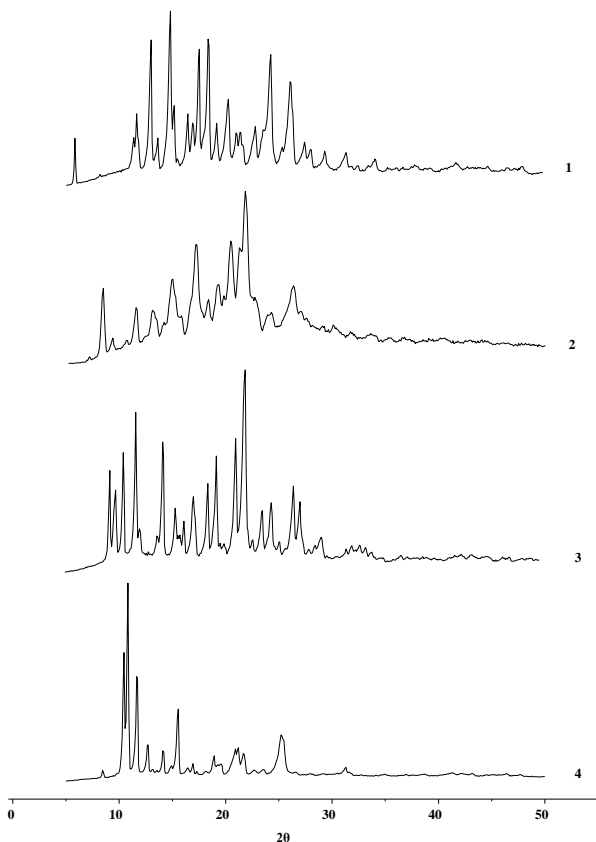
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 DRXP

Os padrões de DRXP da matéria-prima e das amostras obtidas a partir dos experimentos de recristalização são apresentados na Figura A. Todas as amostras e a matéria-prima apresentaram picos de difração bem definidos, confirmando, assim, a natureza cristalina das amostras. A técnica de DRX demonstrou-se capaz de diferenciar os polimorfos do CAR, mostrando difratogramas muito distintos entre as amostras, especialmente a baixos ângulos 2θ .

Comparando os difratogramas aos padrões de difração calculados) para o polimorfo II e hidrato do CAR (YATHIRAJAN et al., 2007, DÍAZ et al., 2011) confirma-se a identidade polimórfica de II para a matéria-prima (Figura A1 (1)), e hidrato (Figura A1 (2)) para o recristalizado em metanol, nas quais observam-se apenas as reflexões características destes polimorfos, representadas principalmente pela reflexão em 5,8°; 11,4°; 13,0°; 14,9° e 6,9°; 11,4°; 17,1°; 21,8°, respectivamente. Para os recristalizados em acetona e butanona, a identificação foi realizada comparando-se os difratogramas experimentais aos resultados obtidos por Prado (PRADO, 2012). O polimorfo III foi identificado na amostra obtida pela recristalização em acetona (Figura A1 (3)) ao passo que em butanona (Figura A1 (4)) obteve-se o solvato. A presença das reflexões em 9,2; 11,7°; 22° e 8,6°; 10,5°; 25,4°, respectivamente, confirmam a identidade das formas cristalinas, respectivamente.

Figura A1 – Padrões de DRXP de CAR matéria-prima (1) e dos materiais obtidos nos experimentos de recristalização em metanol (2), acetona (3) e butanona (4).



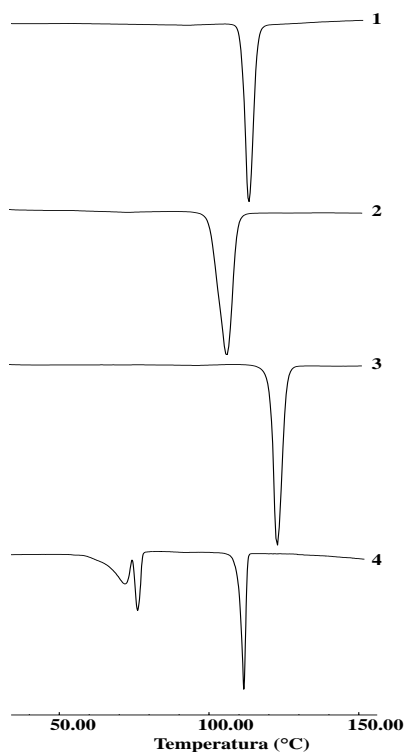
3.2 DSC

A combinação entre DRX e análise térmica apresenta-se útil para a determinação de diferenças de ordem molecular (PALERMO; ANDERSON; DRENNEN, 2012). Desta forma, busca-se através da análise térmica uma correlação com os resultados obtidos por DRXP.

As curvas de DSC obtidas para a matéria-prima e recristalizados do CAR estão ilustradas na Figura A2. Como pode ser verificado, a amostra obtida comercialmente apresenta um único evento de fusão, em 113,61 °C com calor de fusão de 117,04 J/g (Figura A2 (1)). Estes resultados vão ao encontro a valores reportados previamente na literatura

(POKHARKAR, 2009; CHEN et al., 2004), reforçando os dados obtidos por DRXP referentes ao polimorfo II. O recristalizado em metanol apresentou um único evento de fusão de 106,55 °C com calor de fusão de 128,62 J/g (Figura A2 (2)). Da mesma forma, os dados são concordantes com a literatura e vão ao encontro aos resultados obtidos por DRXP referentes hemidrato de CAR. O menor ponto de fusão observado para o hemidrato pode ser resultado de características estruturais, uma vez que a literatura reporta que devido à desordem molecular, as interações de hidrogênio não são regulares ao longo do cristal (DÍAZ et al., 2011). O recristalizado em acetona apresentou resultados concordantes com o polimorfo III descrito na literatura (PRADO et al., 2014) que apresenta evento único de fusão em 123,27 °C com calor de fusão de 133,68 J/g (Figura A2 (3)). A maior estabilidade térmica da forma III está de acordo com o estudo supramolecular e a avaliação dos padrões de interações de hidrogênio apresentados por Prado (PRADO et al., 2014), que revelam interações de hidrogênio mais fortes e formação de dímeros para esta estrutura cristalina. Os dados de DSC são complementares aos obtidos por DRXP, confirmando a identidade polimórfica da amostra. Finalmente, a curva DSC obtida para o recristalizado em butanona apresenta um primeiro evento endotérmico entre 64,8 e 74,3 °C associado à perda de solvente da estrutura cristalina seguido por outros dois eventos endotérmicos em 76,1 °C e 112,7 °C (Figura A2 (4)), referentes à fusão de outras formas do CAR. Os dados encontrados na literatura (PRADO, 2012) apresentam-se similares, entretanto, evidencia-se um evento exotérmico em 114 °C referente à recristalização da forma II, não observado na nossa amostra. Isto pode estar relacionado a fatores como a razão de aquecimento, tipo de cadinho e equipamento. Porém, tratando os dados em conjunto com o DRXP, técnica padrão ouro para determinação de estruturas cristalinas, pode-se comprovar a natureza polimórfica da amostra como o solvato de butanona.

Figura A2 – Curvas de DSC referentes às formas cristalinas do CAR: forma II (1); hemidrato (2); forma III (3) e solvato de butanona (4).



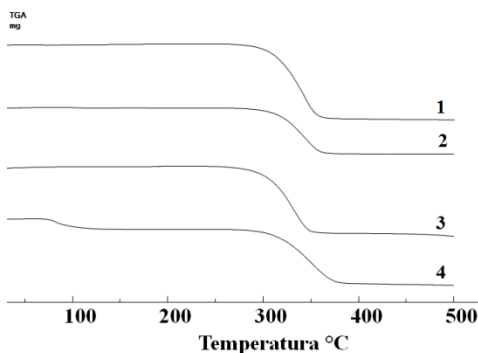
3.3 TG

As curvas TG da matéria-prima e das amostras obtidas a partir dos experimentos de recristalização do CAR são apresentadas na Figura 26. As curvas de TG de matéria-prima e do recristalizado em acetona não mostram perda de massa durante o evento endotérmico apresentado pela curva de DSC, ou seja, as formas II e o solvato de butanona do CAR não sofrem decomposição ou perda de solvente com o aquecimento até 200 °C. Assim, é possível confirmar que estas formas cristalinas são sólidos anidros. Por outro lado, a curva TG do recristalizado em metanol apresentou perda de massa de aproximadamente 2 % entre 90 e 115 °C (Figura A3). Esta perda de massa está associada à perda de água presente na estrutura cristalina do hemidrato (DÍAZ et al., 2011), onde se observa

duas moléculas de CAR para uma molécula de água. Os dados são complementares uma vez que os resultados da TG indicam uma estequiometria 2:1 de CAR:água.

A curva TG da amostra recristalizada em butanona apresenta uma perda de massa de 14 % entre 70 e 102 °C, coincidente com o evento de perda de solvente obtido por DSC. O valor calculado estequiométrico corresponde a 15 % para um solvato 1:1 de carvedilol:butanona.

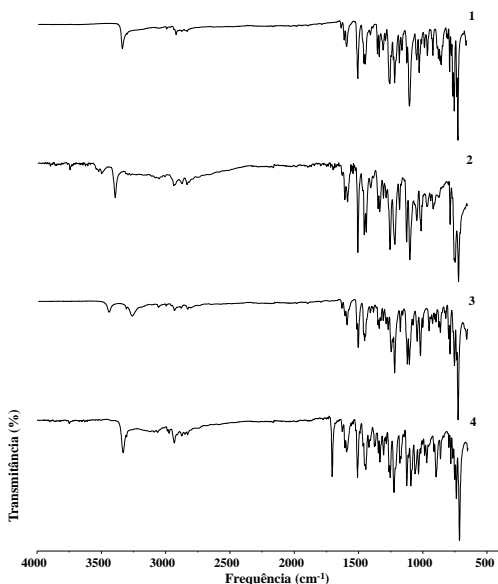
Figura A3 – Curvas de TG referentes às formas cristalinas do CAR: forma II (1); hemidrato (2); forma III (3) e solvato de butanona (4).



3.4 ESPECTROSCOPIA VIBRACIONAL IV

A Figura A4 apresenta os espectros IV referentes à matéria-prima e às amostras recristalizadas do CAR. As diferenças observadas nos espectros estão relacionadas às vibrações moleculares como do grupo éter, de grupos envolvidos em interações de hidrogênio (amina e hidroxila) e de grupos afetados por variações conformacionais como o grupo alquil. Os resultados obtidos para a matéria-prima e os recristalizados em acetona, metanol e butanona vão ao encontro aos apresentados na literatura para os polimorfos II, III, hemidrato e solvato de butanona do CAR, respectivamente, e são concordantes com os resultados obtidos pelas técnicas de DRXP, DSC e TG.

Figura A4 – Espectros IV das formas cristalinas do CAR: forma II (1); hemidrato (2); forma III (3) e solvato de butanona (4).



4 CONCLUSÕES

A caracterização no estado sólido foi realizada através de diferentes técnicas analíticas, as quais permitiram diferenciar os polimorfos, hidrato e solvato de CAR, confirmando a identidade do CAR obtido comercialmente e dos recristalizados.

Não foi possível a obtenção do polimorfo I. Esta forma encontra-se descrita em patente (CHEN et al., 1998), porém, mesmo reproduzindo-se as condições experimentais descritas, a forma obtida foi a II. Este fato pode ser atribuído à falta de dados, não explícitos na patente, como temperatura e concentração.

A caracterização da matéria-prima e polimorfos no estado sólido fornece informações detalhadas sobre as propriedades do estado sólido do CAR, bem como servem de base para a identificação de nova fase no *screening* de cristais multicomponentes. Além disso, possibilitam o monitoramento de possíveis transformações polimórficas que possam a

vir ocorrer durante o processo produtivo e/ou estudos de estabilidade estes sistemas.

5 REFERÊNCIAS

CHEN, W.-M.; ZENG, L.-M.; YU, K.-B.; XU, J.-H. Synthesis and crystal structure of carvedilol. **Jiegou Huaxue**, v. 17, n. 5, p. 325-328, 1998.

CHEN, W.; GALOP, M.; OH, C. K. **Carvedilol Polymorph**. US 20040152756A1, 5 ago. 2004. 16 p.

DÍAZ, F.; BENASSI, A.; QUINTERO, M.; POLLA, G.; FREIRE, E.; BAGGIO, G. 1-(9H-Carbazol-4-yloxy)-3-{{[2-(2-methoxyphenoxy)ethyl]amino}-propan-2-ol hemihydrate: a carvedilol solvatomorph. **Acta Crystallographica Section C**, v. 67, p. o222-o225, 2011.

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

POKHARKAR, V. KHANNA, A.; VENKATPURWAR, V.; DHAR, S.; MANDPE, L. Ternary complexation of carvedilol, beta-cyclodextrin and citric acid for mouth-dissolving tablet formulation. **Acta Pharmaceutica**, v.59, n. 2, p. 121-132, 2009.

PRADO, L. D. **Preparação e caracterização de polimorfos de mebendazol e carvedilol**. 2012. 173 f. Dissertação (Mestrado em Química) Centro de Estudos Gerais, Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2012.

PRADO, L. D.; ROCHA, H. V. A.; RESENDE, J. A. L. C.; FERREIRA, G. B.; TEIXEIRA, A. M. R. F. An insight into carvedilol solid forms: effect of supramolecular interactions on the dissolution profiles. **Crystal Engineering Communications**, v. 16, p. 3168-3179, 2014.

YATHIRAJAN, H. S.; BINDYA, S.; SREEVIDYA, T.V.;
NARAYANA, B.; BOLTE, M. A second polymorph of carvedilol. **Acta
Crystallographica Section E**, v. E63, p. o542-o544, 2007.

ANEXO A

PUBLICAÇÃO CIENTÍFICA NO PERIÓDICO *JOURNAL OF PHARMACEUTICAL AND BIOMEDICAL ANALYSIS*



Single crystal structure, solid state characterization and dissolution rate of terbinafine hydrochloride

Gislaine Kuminek^{a,*}, Gabriela Schneider Rauber^a, Manoela Klüppel Riekens^a, Carlos Eduardo Maduro de Campos^b, Gustavo Alberto Monti^c, Adailton João Bortoluzzi^d, Sílvia Lucia Cuffini^a, Simone Gonçalves Cardoso^a

^a Programa de Pós-graduação em Farmácia, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC, 88040-970, Brazil

^b Programa de Pós-graduação em Física, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC, 88040-970, Brazil

^c FAMAF - Universidad Nacional de Córdoba & IFEG - CONICET, 5000 Córdoba, Argentina

^d Depto. de Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC, 88040-970, Brazil

ARTICLE INFO

Article history:

Received 25 November 2012

Received in revised form 30 January 2013

Accepted 4 February 2013

Available online 13 February 2013

Keywords:

Terbinafine hydrochloride

Single crystal structure

Solid state characterization

Intrinsic dissolution rate

ABSTRACT

Terbinafine hydrochloride (TH), a poorly water soluble antifungal agent, was characterized by solid state techniques including differential scanning calorimetry, thermogravimetry, X-ray powder diffraction, optical and electron microscopies, Fourier transform infrared, Raman and solid-state nuclear magnetic resonance spectroscopies and intrinsic dissolution rate (IDR). A colorless single crystal of TH was grown from an ethanol/water solution and its crystalline structure was determined through X-ray single crystal diffraction. Also, a new crystal habit of TH was obtained through the slow solvent evaporation technique revealing a needle-like shape. A comparison between the IDR results for the TH raw material and TH needle-like crystal revealed lower values for the new crystal habit, which can be attributed to the preferential orientation of the crystals in the compressed disks.

© 2013 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

The solid state characterization of active pharmaceutical ingredients (APIs) plays an important role in drug development due to its implications in terms of the physicochemical and biopharmaceutical properties, such as solubility, dissolution rate, bioavailability and stability [1–5]. The characterization and an understanding of solid properties are essential for quality control and regulatory purposes [6,7]. The polymorphism of APIs is routinely controlled since its influence on several solid state properties is a well-established [8]. In some cases, it is also of interest to control the crystal habits and/or morphology of the particles. Recently, researchers in the pharmaceutical industry have demonstrated considerable interest in the possibility of predicting the crystal morphology to optimize drug manufacturing [9]. Regarding the crystal habit, the main differences between solids of different morphologies include the dissolution rate, compaction behavior and powder flow properties [10–12].

The obtention of distinct crystal habits is greatly influenced by the solvent recrystallization since the morphology is defined by the solute-solvent interaction at various crystal faces [13]. As it occurs with polymorphism, depending on the crystallization conditions (solvent, cooling rate, evaporation rate, final temperature, solution concentration, etc.), several polymorphic forms can be crystallized. The crystal habit or morphology is also dependent on the crystallization conditions. The crystal habit influences the solid state properties, such as fluidity, apparent density, dissolution rate and stability APIs, such as ibuprofen, dipyrindamole and phenytoin, which presented distinct morphologies, differ in terms of their physicochemical and/or mechanical properties [13–17].

Terbinafine hydrochloride, (E)-N-(6,6-dimethyl-2-hepten-4-ynyl)-N-methyl-1-naphthalene ethanamine hydrochloride (TH) (Fig. 1), is a potent antifungal agent of the allylamine class. The FDA recommends its use in superficial skin and nail fungal infections since it has a broad spectrum of activity against yeasts, dimorphic fungi and dermatophytes [18–20]. The mechanism of action involves irreversible inhibition of the enzyme squalene epoxidase in fungal ergosterol biosynthesis, promoting intracellular squalene accumulation, which compromises the cell wall integrity [21,22].

This compound is currently marketed in solid state as tablets, capsules and oral granules [18,22] and presents poor solubility in

* Corresponding author. Tel.: +55 48 3721 5066.

E-mail address: giskuminek@gmail.com (G. Kuminek).