



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO TECNOLÓGICO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE ALIMENTOS

Guilherme Shigueru Barbosa Sakata

**Micronização e cocrystalização de berberina utilizando o método gás  
antissolvente (GAS)**

Florianópolis

2023

Guilherme Shigueru Barbosa Sakata

**Micronização e cocrystalização de berberina utilizando o método gás antissolvente (GAS)**

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do título de Doutor em Engenharia de Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Lanza  
Coorientadores: Prof. Dr. José Vladimir de Oliveira  
Dr. Gean Pablo Silva Aguiar

Florianópolis

2023

Ficha catalográfica gerada por meio de sistema automatizado gerenciado pela BU/UFSC.  
Dados inseridos pelo próprio autor.

Sakata, Guilherme Shigueru Barbosa  
Micronização e cocrystalização de berberina utilizando o  
método gás antissolvente (GAS) / Guilherme Shigueru  
Barbosa Sakata ; orientador, Marcelo Lanza,  
coorientador, José Vladimir de Oliveira, coorientador,  
Gean Pablo Silva Aguiar, 2023.  
124 p.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa  
Catarina, Centro Tecnológico, Programa de Pós-Graduação em  
Engenharia de Alimentos, Florianópolis, 2023.

Inclui referências.

1. Engenharia de Alimentos. 2. Berberina. 3.  
micronização. 4. antissolvente supercrítico. 5.  
cocrystalização. I. Lanza, Marcelo . II. Oliveira, José  
Vladimir de . III. Aguiar, Gean Pablo Silva IV.  
Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós  
Graduação em Engenharia de Alimentos. V. Título.

Guilherme Shigueru Barbosa Sakata

**Micronização e cocrystalização de berberina utilizando o método gás antissolvente  
(GAS)**

O presente trabalho em nível de Doutorado foi avaliado e aprovado, em 18 de dezembro de 2023, pela banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof. Dr. Cristiano José de Andrade  
Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC

Prof<sup>a</sup>. Dra. Liz Girardi Müller  
Universidade Comunitária da Região de Chapecó - UNOCHAPECÓ

Dr. Jônatas Lopes Dias,  
Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ

Certificamos que esta é a versão original e final do trabalho de conclusão que foi julgado adequado para obtenção do título de Doutor em Engenharia de Alimentos

---

Prof<sup>a</sup>. Dra. Jaciane Lutz Ienczak  
Coordenação do Programa de Pós-Graduação

---

Prof. Dr. Marcelo Lanza  
Orientador

Florianópolis, 2023.

Este trabalho é dedicado aos meus pais, família e amigos

“Não há mal que sempre dure,  
nem bem que nunca se acabe”  
(Provérbio português)

## RESUMO

A berberina, um composto amplamente empregado na fitoterapia, constitui o principal componente em diversas plantas de uso tradicional na medicina chinesa. Demonstra potencial terapêutico no tratamento de condições como diabetes, hipercolesterolemia, transtornos mentais, incluindo depressão e ansiedade, bem como atividade antimicrobiana. No entanto, sua aplicação encontra-se restrita devido à sua insolubilidade em água, o que compromete sua biodisponibilidade. Como resposta a essa limitação, diversas estratégias têm sido exploradas, tais abordagens incluem técnicas como micronização e cocristalização, as quais têm a capacidade de modificar as propriedades físico-químicas das substâncias por meio de alterações na morfologia das partículas, aumento da área superficial por meio da redução do tamanho e modificação na estrutura cristalina. O uso de fluidos supercríticos tem surgido como uma alternativa promissora às técnicas convencionais, proporcionando temperaturas mais brandas para a preservação de compostos termolábeis e reduzindo a necessidade de solventes orgânicos. Uma das técnicas que se vale do uso de fluidos supercríticos é o GAS (Gás antissolvente), no qual o fluido supercrítico atua como um antissolvente, diminuindo a solubilidade do soluto no solvente. Neste contexto, o presente estudo tem como propósito aprimorar a taxa de dissolução da berberina mediante a aplicação da técnica GAS antissolvente, com o intuito de reduzir o tamanho das partículas e promover alterações na estrutura cristalina para a formação de cocristais. As partículas micronizadas e os cocristais obtidos foram submetidos à análise por calorimetria diferencial de varredura, difração de raios-X de pó e espectroscopia no infravermelho. Adicionalmente, foram conduzidos estudos do sistema binário líquido-vapor entre o solvente e o CO<sub>2</sub> supercrítico (antissolvente) para determinar as condições de temperatura e pressão ideais para a micronização. Com êxito, a micronização resultou em uma redução de tamanho das partículas, de 13,24 µm para 6,34 µm, e uma nova estrutura polimórfica da berberina pode ter sido obtida nas partículas produzidas com etanol. Além disso, observou-se um aumento na taxa de dissolução das partículas micronizadas em comparação com a amostra comercial. No intuito de determinar coformadores com potencial para a formação de cocristais com a berberina, foi realizada uma investigação utilizando a técnica de moagem assistida por líquido. Ácido ascórbico e resveratrol foram os coformadores selecionados para a produção de cocristais com a berberina por meio da técnica supercrítica. A formação dos cocristais foi confirmada por meio da análise de calorimetria diferencial de varredura, que revelaram um novo evento endotérmico, espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR), que indicou interações entre os compostos, e difração de raios-X (PDRX), que demonstrou a formação de novos planos cristalinos na amostra, diferenciando-a de ambos os compostos originais. Nesse contexto, o emprego da técnica GAS antissolvente demonstrou seu potencial tanto na micronização de compostos quanto na formação de cocristais de berberina, contribuindo para o aprimoramento das taxas de dissolução dos compostos em meio aquoso. Dessa forma, esta abordagem representa uma alternativa promissora para melhorar as propriedades de compostos bioativos.

**Palavras-chave:** Antissolvente supercrítico, formação de partículas, CO<sub>2</sub> supercrítico, micropartículas, cocristalização

## ABSTRACT

Berberine, a compound widely used in traditional Chinese herbal medicine, is the predominant constituent in various plants with established use in traditional Chinese medicine. It exhibits therapeutic potential in the treatment of conditions such as diabetes, hypercholesterolemia, mental disorders, including depression and anxiety, and antimicrobial effects. However, its application is constrained due to its pronounced insolubility in water, limiting its bioavailability. In response to this limitation, several strategies have been explored, particularly concerning the presence of the quaternary ammonium cation in its structure. These approaches encompass techniques such as micronization and cocrystallization, which have the capability to modify the physicochemical properties of substances by altering particle morphology, increasing surface area through particle size reduction, and modifying the crystalline structure. The utilization of supercritical fluids has emerged as a promising alternative to conventional techniques, providing milder temperatures for the preservation of thermolabile compounds and reducing the need for organic solvents. One such technique utilizing supercritical fluids is the GAS (Gas Antisolvent) method, in which the supercritical fluid acts as an antisolvent, reducing the solubility of the solute in the solvent. In this context, the present study aims to enhance the dissolution rate of compounds through the application of the GAS antisolvent technique, with the objective of reducing particle size and inducing alterations in the crystalline structure for cocrystal formation. Micronized particles and cocrystals obtained were subjected to differential scanning calorimetry, X-ray powder diffraction, and infrared spectroscopy analysis. Additionally, binary liquid-vapor system studies were conducted between the anti-solvent and supercritical CO<sub>2</sub> to determine the optimal temperature and pressure conditions for micronization. Successfully, micronization led to a reduction in particle size from 13.24 μm to 6.34 μm, and a new polymorphic structure of berberine was achieved in particles produced with ethanol. Furthermore, an increase in the dissolution rate was observed for micronized particles compared to the commercial sample. In order to identify cofomers with potential for cocrystal formation with berberine, an investigation was conducted using the liquid-assisted grinding technique. Ascorbic acid and resveratrol emerged as the selected cofomers for cocrystal production with berberine using the supercritical technique. The formation of cocrystals was confirmed through differential scanning calorimetry, revealing a new endothermic event, Fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR) indicating interactions between the compounds, and X-ray diffraction (PDRX) demonstrating the formation of new crystalline planes in the sample, distinguishing it from both original compounds. In this context, the utilization of the GAS antisolvent technique demonstrated its potential in both the micronization of compounds and the formation of berberine cocrystals, contributing to the enhancement of dissolution rates of compounds in aqueous media. Thus, this approach represents a promising alternative for improving the properties of bioactive compounds.

**Keywords:** supercritical antisolvent; particle formation; supercritical CO<sub>2</sub>; microparticles, cocrystallization

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Estrutura química dos compostos (a) estrutura básica de alcaloides quaternários de protoberberina e (b) estrutura da berberina.....	21
Figura 2 – Perspectiva histórica da berberina .....	22
Figura 3 – Diagrama de fases P-T de um composto puro .....	29
Figura 4 – Diagrama esquemático da técnica RESS.....	31
Figura 5 – Diagrama esquemático da técnica PGSS.....	32
Figura 6 – Diagrama esquemático da técnica GAS .....	33
Figura 7 – Fluxograma esquemático do processo GAS antissolvente.....	34
Figura 8 – Diagrama esquemático da técnica SAS .....	35
Figura 9 – Diagrama esquemático da técnica SEDS.....	36
Figura 10 – Diagrama esquemático do bocal coaxial da técnica SEDS .....	36
Figura 11 – Expansão da fase líquida e fração molar do soluto na fase líquida para os sistemas ternários (a) CO <sub>2</sub> – Tolueno - Naftalina e (b) CO <sub>2</sub> – Tolueno - Fenantreno .....	37
Figura 12 – Difratoograma com padrão de difração da indometacina (a) amorfa e (b) cristalina.....	44
Figura 13 – Diagrama esquemático do aparato experimental GAS antissolvente .....	52
Figura 14 – Diagramas de equilíbrio líquido-vapor da acetona a 308 K.....	57
Figura 15 – Diagramas de equilíbrio líquido-vapor da DCM a 308 K.....	58
Figura 16 – Diagramas de equilíbrio líquido-vapor do etanol a 308 K.....	58
Figura 17 – Diagramas de equilíbrio líquido-vapor do metanol a 308 K.....	59
Figura 18 – Comparação da redução do volume parcial molar relativo em diferentes temperaturas. ....	60
Figura 19 – Redução do volume parcial molar da fase líquida em função da pressão na temperatura de 308 K.....	61
Figura 20 – Diagrama pressão-composição para o sistema ternário dióxido de carbono (1) + etanol (2) + quercetina (3) na temperatura de 308 K. ....	62
Figura 21 – Diagrama pressão-composição para o sistema ternário dióxido de carbono (1) + etanol (2) + quercetina (3) na temperatura de 318 K. ....	62
Figura 22 – Diagrama pressão-composição para o sistema ternário dióxido de carbono (1) + etanol (2) + quercetina (3) na temperatura de 328 K. ....	62

Figura 23 – Diagrama pressão-composição para o sistema ternário dióxido de carbono (1) + acetona (2) + berberina (3) na temperatura de 308 K.....	64
Figura 24 – Diagrama pressão-composição para o sistema ternário dióxido de carbono (1) + DCM (2) + berberina (3) na temperatura de 308 K. ....	64
Figura 25 – Diagrama pressão-composição para o sistema ternário dióxido de carbono (1) + etanol (2) + berberina (3) na temperatura de 308 K.....	64
Figura 26 – Diagrama pressão-composição para o sistema ternário dióxido de carbono (1) + metanol (2) + berberina (3) na temperatura de 308 K.....	65
Figura 27 – Diagrama pressão-composição calculado para berberina em vários solventes a 308 K. ....	65
Figura 28 – Espectro Infravermelho (FTIR) das amostras produzidas com diclorometano.....	67
Figura 29 – Espectro Infravermelho (FTIR) das amostras produzidas com etanol .....	67
Figura 30 – Espectro Infravermelho (FTIR) das amostras produzidas com metanol .....	68
Figura 31 – Calorimetria diferencial de varredura (DSC) das amostras com DCM.....	69
Figura 32 – Calorimetria diferencial de varredura (DSC) das amostras com etanol .....	70
Figura 33 – Calorimetria diferencial de varredura (DSC) das amostras com metanol .....	70
Figura 34 – Difração de raio-x das amostras produzidas e do composto puro .....	72
Figura 35 – Difratoograma das estruturas cristalinas da berberina com amostra etOH10.....	74
Figura 36 – Difratoograma das estruturas cristalinas da berberina com amostra etOH20.....	74
Figura 37 – MEV da berberina comercial e micronizada produzidas com DCM, etanol e metanol utilizando 20 mL/min de fluxo de antissolvente.....	75
Figura 38 – Taxa de dissolução da berberina comercial e micronizada produzidas com DCM, etanol e metanol utilizando vazão de antissolvente de 20 mL/min .....	77

Figura 39 – Comportamento térmico da mistura física, cocristais LAG da berberina e ácido ascórbico .....	80
Figura 40 – Comportamento térmico da mistura física, cocristais LAG da berberina e ácido nicotínico.....	81
Figura 41 – Comportamento térmico da mistura física, cocristais LAG da berberina e cafeína .....	82
Figura 42 – Comportamento térmico da mistura física, cocristais LAG da berberina e curcumina.....	83
Figura 43 – Comportamento térmico da mistura física, cocristais LAG da berberina e piperina .....	84
Figura 44 – Termograma de DSC da mistura física, cocristais LAG da berberina e resveratrol .....	85
Figura 45 – Termograma de DSC da berberina, ácido ascórbico e do cocrystal produzido pela técnica GAS antissolvente .....	86
Figura 46 – Termograma de DSC da berberina, resveratrol e do cocrystal produzido pela técnica GAS antissolvente .....	88
Figura 47 – Espectros FTIR da berberina, ácido ascórbico e cocrystal produzido por GAS antissolvente .....	90
Figura 48 – Espectros FTIR da berberina, resveratrol e cocrystal produzido por GAS antissolvente.....	91
Figura 49 – DRXP da berberina, ácido ascórbico e cocrystal produzido pela técnica GAS antissolvente .....	92
Figura 50 – DRXP da berberina, resveratrol e cocrystal produzido pela técnica GAS antissolvente.....	93
Figura 51 – Imagens de MEV dos cocristais produzidos com ácido ascórbico (A e B) e os cocristais produzidos com resveratrol (C e B). .....	94
Figura 52 – Perfil de dissolução da berberina e cocristais formados (BRB-AA e BRB-RSV) em água a 37 °C .....	95
Figura 53 – Cristais de berberina em (a) metanol e (b) 1-propanol .....	96

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Termos descritivos para classificação de solubilidade .....	24
Tabela 2 – Geometria de sistemas cristalinos .....	43
Tabela 3 – Dados de ELV de sistemas binários contendo CO <sub>2</sub> e solvente ..	49
Tabela 4 – Coformadores utilizados no estudo preliminar para produção de cocristais .....	54
Tabela 5 – Solubilidade da berberina em vários solventes a 25 °C e 35 °C.	63
Tabela 6 – Comprimentos de ondas e ligações característicos da berberina .....	68
Tabela 7 – Dados de fusão e entalpia de fusão das amostras .....	71
Tabela 8 – Tamanho de partículas da berberina comercial e das amostras utilizando DCM, etanol e metanol em diferentes vazões de antissolvente (10 e 20 mL/min) .....	76
Tabela 9 – Dados de tamanho de partícula dos cocristais produzidos pela técnica GAS antissolvente.....	95

## LISTA DE QUADRO

Quadro 1 – Dados das estruturas de polimorfos da berberina .....	73
--	----

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

$\bar{v}_2$	Volume parcial molar do solvente puro
$\bar{v}_l$	Volume molar da fase líquida
$\hat{\phi}_i^L$	Coefficiente de fugacidade da fase líquida
$\hat{\phi}_i^V$	Coefficiente de fugacidade da fase vapor
$C_s$	Solubilidade na saturação
$P_0$	Pressão de referência
$X_1$	Fração de CO <sub>2</sub> em base livre de soluto
$X_{10}$	Fração de CO <sub>2</sub> no solvente em base livre de soluto
$f_i^L$	Fugacidade da fase líquida
$f_i^V$	Fugacidade da fase vapor
$k_{ij}$	Parâmetro de interação binária
$x_{30}$	Fração molar de soluto no sistema ternário
AA	Ácido Ascórbico
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
API	Ingrediente farmacêutico ativo
C	Concentração instantânea
CO <sub>2</sub>	Dióxido de carbono
CSD	Cambridge Structural Database
CSS	Cristalização em solvente supercrítico
D	Coefficiente de difusão
DCM	Diclorometano
DRXP	Difração de raio x de pó
DSC	Calorimetria diferencial de varredura
EFSA	<i>European Food Safety Authority</i>
ELV	Equilíbrio líquido-vapor
EoS	Equação de estado
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
FTIR	<i>Fourier-transform infrared spectroscopy</i>
FVPM	Fração do volume parcial molar do solvente
GAS	Gas Antissolvente
GRAS	<i>Generally recognized as safe</i>
h	Espessura da camada de difusão
HP- $\beta$ -CD	hidroxipropil-beta-ciclodextrina
IUPAC	<i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i>
$k_{ij}$	Parâmetro de interação binária
LAG	Moagem assistida por líquido
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
P	Pressão
$P_c$	Pressão crítica
PGSS	Partículas por solução saturadas de gás
PHBV	Poli(3-hidroxibutirato-co-3-hidroxivalerato)
PREOS	<i>Peng-Robinson equation of state</i>
PVP	polivinilpirrolidona
RESS	Rápida expansão de solução supercrítica
RMN	Ressonância magnética nuclear
RPM	Rotações por minuto

RPMVR	Redução do volume molar parcial relativo
RSV	Resveratrol
S	Área superficial
SAS	Antissolvente Supercrítico
SCF	Fluido Supercrítico
SCB	Sistema de Classificação Biofarmacêutica
SEDS	Dispersão de Solução Aumentada por Fluidos Supercríticos
T	Temperatura
$T_c$	Temperatura crítica
V	Volume de solução
$v_2$	Volume total solvente puro
VdW	Van der Waals
$v_L$	Volume total de solução
$x_1$	Fração molar de $CO_2$
$x_2$	Fração molar de solvente
$x_3$	Fração molar de soluto
$y_1$	Fração molar de $CO_2$ na fase vapor
$y_2$	Fração molar de solvente na fase vapor
$\Delta G$	Energia livre de Gibbs
$\Delta H_{\text{fusão}}$	Entalpia de fusão
$\Delta H_{\text{sol}}$	Entalpia de solução

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>16</b>
1.1	OBJETIVOS.....	19
1.1.1	<b>Objetivo geral</b> .....	<b>19</b>
1.1.2	<b>Objetivos específicos</b> .....	<b>19</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>20</b>
2.1	BERBERINA.....	20
2.2	SOLUBILIDADE.....	24
2.3	DISSOLUÇÃO.....	25
2.4	MICRONIZAÇÃO.....	27
2.5	FLUIDO SUPERCRÍTICO.....	28
<b>2.5.1</b>	<b>Rápida Expansão de Solução Supercrítica (RESS)</b> .....	<b>30</b>
<b>2.5.2</b>	<b>Partículas de Solução Saturadas por Gás (PGSS)</b> .....	<b>31</b>
<b>2.5.3</b>	<b>Antissolvente Supercrítico</b> .....	<b>32</b>
2.5.3.1	<i>GAS Antissolvente (GAS)</i> .....	33
2.5.3.2	<i>Antissolvente supercrítico (SAS)</i> .....	34
2.5.3.3	<i>Dispersão Aprimorada de Solução por Fluido Supercrítico (SEDS)</i> .....	35
2.6	VOLUME PARCIAL MOLAR.....	37
2.7	EQUILÍBRIO DE FASES.....	40
2.8	ESTRUTURAS CRISTALINAS.....	42
2.9	POLIMORFISMO E PSEUDOPOLIMORFISMO.....	44
2.10	COCRISTAIS.....	45
<b>3</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>48</b>
3.1	MATERIAIS.....	48
3.2	SOLUBILIDADE.....	48
3.3	OTIMIZAÇÃO DE PARÂMETROS.....	48
3.4	APARATO EXPERIMENTAL.....	51
3.5	GAS ANTISSOLVENTE.....	52
3.6	MOAGEM ASSISTIDA POR LIQUIDO (LAG).....	53
3.7	ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR).....	54
3.8	CALORIMETRIA DIFERENCIAL DE VARREDURA (DSC).....	54

3.9	DIFRAÇÃO DE RAIO-X (DRXP).....	55
3.10	MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV) .....	56
3.11	DISSOLUÇÃO.....	56
3.12	FORMAÇÃO DE MONOCRISTAIS.....	56
<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>57</b>
4.1	MODELAGEM DO EQUILÍBRIO .....	57
4.2	MICRONIZAÇÃO DA BERBERINA UTILIZANDO MÉTODO GAS .....	66
<b>4.2.1</b>	<b>FTIR.....</b>	<b>66</b>
<b>4.2.2</b>	<b>DSC .....</b>	<b>69</b>
<b>4.2.3</b>	<b>DRX .....</b>	<b>71</b>
<b>4.2.4</b>	<b>TAMANHO MÉDIO DE PARTÍCULA .....</b>	<b>75</b>
<b>4.2.5</b>	<b>DISSOLUÇÃO .....</b>	<b>77</b>
4.3	ESTUDO DOS COFORMADORES .....	79
<b>4.3.1</b>	<b>Ácido ascórbico .....</b>	<b>79</b>
<b>4.3.2</b>	<b>Ácido Nicotínico.....</b>	<b>80</b>
<b>4.3.3</b>	<b>Cafeína .....</b>	<b>81</b>
<b>4.3.4</b>	<b>Curcumina .....</b>	<b>82</b>
<b>4.3.5</b>	<b>Piperina.....</b>	<b>83</b>
<b>4.3.6</b>	<b>Resveratrol .....</b>	<b>84</b>
4.4	PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO COCRISTAIS.....	85
<b>4.4.1</b>	<b>DSC .....</b>	<b>86</b>
<b>4.4.2</b>	<b>FTIR.....</b>	<b>89</b>
<b>4.4.3</b>	<b>DRXP .....</b>	<b>92</b>
<b>4.4.4</b>	<b>Tamanho médio de partícula.....</b>	<b>94</b>
<b>4.4.5</b>	<b>Dissolução .....</b>	<b>95</b>
4.5	PRODUÇÃO DE MONOCRISTAIS.....	96
<b>5</b>	<b>CONCLUSÃO .....</b>	<b>98</b>
	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>99</b>
	<b>APÊNDICE A – CÓDIGO DA OTIMIZAÇÃO.....</b>	<b>117</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A Medicina Tradicional Chinesa abrange uma variedade de modalidades terapêuticas como acupuntura, fitoterapia, massagem, bem como diversas outras técnicas, e se destaca como um dos sistemas terapêuticos mais antigos, desempenhando um papel preponderante na preservação da saúde na prática médica oriental, enquanto também demonstra sua relevância e aplicação na esfera da medicina ocidental (Tang; Liu; Ma, 2008).

A fitoterapia desempenha um papel integral na rica herança cultural da medicina tradicional chinesa e nas abordagens médicas (Lao; Xu; Xu, 2012). Engloba o emprego de diversas plantas, como o *Coptidis rhizoma* e o *Phellodendri cortex*, para o tratamento de problemas gastrointestinais, dores abdominais e diarreia. É digno de nota que a *Coptis chinensis franch*, uma erva de grande relevância na farmacopeia chinesa, destaca-se pela sua ação antibiótica e antifúngica (Liu; Xia; Fang, 2005). Ambas as plantas compartilham como principal constituinte os alcaloides de protoberberina, notadamente a berberina (Liu; Xia; Fang, 2005; Meng *et al.*, 2018; Sun *et al.*, 2019).

A berberina exibe uma diversidade de efeitos farmacológicos, conferindo-lhe versatilidade para sua utilização em uma ampla gama de áreas terapêuticas. É um dos produtos naturais mais utilizados no mundo com mais de 25 bilhões de comprimidos utilizados anualmente nos países da Ásia e África (Javed Iqbal *et al.*, 2021). Com extensa aplicação que se estende a domínios distintos quanto o tratamento do câncer, diabetes, depressão, bem como distúrbios cardiovasculares e hipertensão, demonstrando seu potencial terapêutico (Singh; Mahajan, 2013).

Entretanto, devido à presença do cátion de amônio quaternário na sua estrutura, possui uma baixa solubilidade resultando assim em uma baixa absorção gastrointestinal e baixa concentração plasmática (biodisponibilidade), fatos que limitam significativamente a aplicação farmacêutica em escala industrial (Zhu *et al.*, 2013). Está demonstrado que apenas 0,5% da berberina ingerida é absorvida pelo intestino delgado e esse percentual diminui ainda mais na circulação sistêmica (Javed Iqbal *et al.*, 2021) e uma dose oral maior que 1,5 g/dia é necessária para que se obtenha os efeitos farmacológicos desejados (Elsheikh *et al.*, 2018).

Os processos de micronização visam a redução do tamanho de partícula e podem promover modificações na estrutura e nas propriedades físico-químicas das

substâncias (de Oliveira *et al.*, 2023). Técnicas tradicionais de micronização podem trazer efeitos indesejados como uma possível degradação química e tamanho de partícula não uniforme (Dhiman; Prabhakar, 2021).

As técnicas com fluido supercrítico podem superar alguns desses efeitos indesejados (Hakuta; Hayashi; Arai, 2003) e possibilitam a utilização de uma técnica ambientalmente amigável e inovadora para uma grande série de produtos (Mishima, 2008). Fluidos supercríticos (SCF) são substâncias acima do seu ponto crítico e técnicas alternativas baseados neles foram desenvolvidas. O dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) apresenta uma temperatura crítica de 31 °C e pressão crítica de 73,8 bar sendo condições adequadas a precipitação de materiais termolábeis sem risco de degradação, além de ambientalmente amigável, não inflamável, e não tóxico (Tandya; Dehghani; Foster, 2006)

As técnicas com SCF na formação de partículas são categorizadas com base na função que o fluido supercrítico possui na técnica, podendo ser utilizado como solvente (RESS), antissolvente (GAS) e soluto (PGSS) (Yeo; Kiran, 2005). Técnicas antissolvente fazem uso da adição de um segundo fluido na mistura, reduzindo a solubilidade do soluto no solvente (Knez; Weidner, 2003).

Gallagher *et al.* (1989) propôs um método antissolvente para recristalização de compostos insolúveis em fluido supercrítico conhecido como GAS antissolvente. Essa técnica se baseia na baixa solubilidade de compostos e miscibilidade de solventes orgânicos em CO<sub>2</sub> supercrítico, em que a adição do SCF expande a solução de soluto e solvente reduzindo o poder solvente, levando a uma supersaturação da solução e conseqüentemente faz com que o soluto precipite (Muhrrer; Lin; Mazzotti, 2002; Warwick *et al.*, 2002). A técnica apresenta uma ampla utilidade podendo ser usada para diversas aplicações entre as quais podemos citar a micronização e a cocrystalização de compostos (De Oliveira *et al.*, 2023; Imchalee; Charoenchaitrakool, 2015).

A cocrystalização é a técnica utilizada para melhorar as propriedades de compostos bioativos formados ao menos duas moléculas em uma mesma rede cristalina ligados por interações moleculares não covalentes, como ligações de hidrogênio (Wichianphong; Charoenchaitrakool, 2018). Cocrystalis podem ser cocrystalis de sais, cocrystalis solvatos e cocrystalis sais solvatos (Grothe *et al.*, 2016)

Assim, com a ampla gama de aplicação da berberina, este trabalho tem como objetivo estudar a aplicação de técnicas supercríticas visando aumentar a solubilidade

do composto com o intuito de superar umas das principais barreiras que impedem sua aplicação.

## 1.1 OBJETIVOS

### 1.1.1 Objetivo geral

O estudo realizou uma investigação no sentido de analisar e explorar a técnica de micronização que, de forma direcionada, tenham por intuito aprimorar a taxa de dissolução da berberina em soluções aquosas, mediante a efetiva redução das dimensões das partículas, bem como por meio de modificações na estrutura cristalina. Adicionalmente, o estudo visou realizar uma avaliação da viabilidade da produção de cocristais envolvendo a berberina, valendo-se da aplicação de metodologias que se utilizam do processo de precipitação antissolvente com CO<sub>2</sub>, atuando como fluido antissolvente.

### 1.1.2 Objetivos específicos

Os objetivos específicos deste trabalho foram:

- Avaliar a influência das variáveis no processo de micronização com a utilização de fluido supercrítico e a sua relação com o tamanho de partícula;
- Obter partículas micronizadas de berberina por meio da técnica gás antissolvente (GAS);
- Investigar compostos com potencial para formação de cocristais de berberina;
- Observar possíveis alterações estruturais causadas por meio de espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR);
- Analisar possíveis alterações na estrutura cristalina no composto através da técnica de difração de raio x de pó (DRX);
- Verificar possíveis alterações nas propriedades térmicas do composto, como ponto de fusão por meio da técnica de calorimetria diferencial de varredura (DSC);
- Avaliar a solubilidade da berberina em acetona, diclorometano, etanol, metanol, 1-butanol e 1-propanol na temperatura de 25 °C e 35 °C;
- Estudar a taxa de dissolução das partículas e avaliar possíveis melhorias;

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

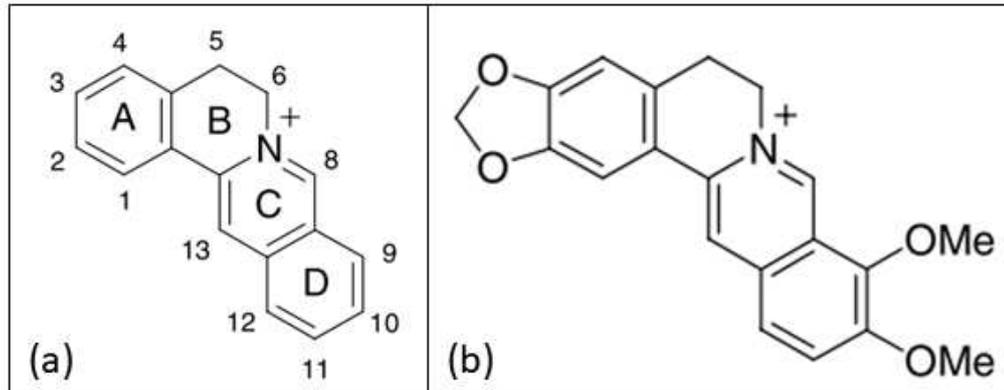
### 2.1 BERBERINA

O composto foi extraído pela primeira vez de raiz por Brandes, em 1825, na forma amorfa de raiz de *Berberis vulgaris* L. Em 1826, o composto foi extraído por Chevallier e Pelletan na sua forma cristalina de *Xanthoxylum clava-herculis* e denominaram esse corante de xanthopicri. O nome Berberina foi dado por Buchner e Herberger que isolaram o mesmo corante amarelo que Brandes de raiz *Berberis vulgaris* L. cinco anos antes (Perkin, 1889; Perrins, 1862; Schulz, 1926).

A berberina, uma substância de relevância farmacológica, é extraída de plantas pertencentes a diversas famílias botânicas, abrangendo Berberidaceae, Papaveraceae, Ranunculaceae, Rutaceae, Annonaceae e Menispermaceae (Huang, 1998). Entre essas fontes vegetais, *Coptidis rhizoma* e espécies da família Berberidaceae emergem como as principais produtoras de berberina, com concentrações variáveis que oscilam entre 1% e 4,3%. Este espectro de variação se deve à influência de alguns fatores, incluindo a diversidade de espécies, localizações geográficas, altitudes, pressões atmosféricas, temperaturas e técnicas empregadas na extração (Andola *et al.*, 2010; Liu *et al.*, 2013; Ong; Woo; Yong, 2000).

A berberina, um alcaloide de natureza quaternária pertencente à vasta classe estrutural das protoberberinas, é precisamente identificada pela denominação química de 5,6-di-hidro-9,10-dimetoxi-benzo[g]-1,3-benzodioxolo[5,6- $\alpha$ ]quinolizínio, este grupo de compostos, derivados da tirosina, representa uma parcela significativa, ultrapassando 25%, dos alcaloides encontrados em fontes naturais (Grycová; Dostál; Marek, 2007; Raju; Kulkarni; Wairkar, 2019). Sendo um composto pertencente ao grupo dos alcaloides, é um metabólito produzido em plantas como mecanismo de proteção contra animais herbívoros e parasitas. Com grandes atividades biológicas promissoras e alto poder de seletividade, alguns alcaloides apresentam potencial na medicina humana. A Figura 1a apresenta a estrutura básica dos alcaloides quaternários de protoberberina e a 1b estrutura da berberina.

Figura 1 – Estrutura química dos compostos (a) estrutura básica de alcaloides quaternários de protoberberina e (b) estrutura da berberina



Fonte: Grycová, Dostál, Marek (2007)

A berberina é um composto quaternário de protoberberina com ligações nos carbonos 2, 3, 9 e 10 sendo nas ligações 2 e 3 um grupo metilenodioxí (O-CH<sub>2</sub>-O) e nas ligações 9 e 10 um grupo metoxila (CH<sub>3</sub>-O), como demonstrado na Figura 1b (Bentley, 1965).

Os compostos fenólicos quaternários de protoberberina podem mudar de cor com a alteração do pH, tal como a jatrorrizina que em solução neutra tem coloração amarela e em solução alcalina fica vermelha, já compostos sem grupo fenólico tendem a alterar de coloração brilhante a cores menos intensas ou incolores (Grycová; Dostál; Marek, 2007; Shamma; Moniot, 1978).

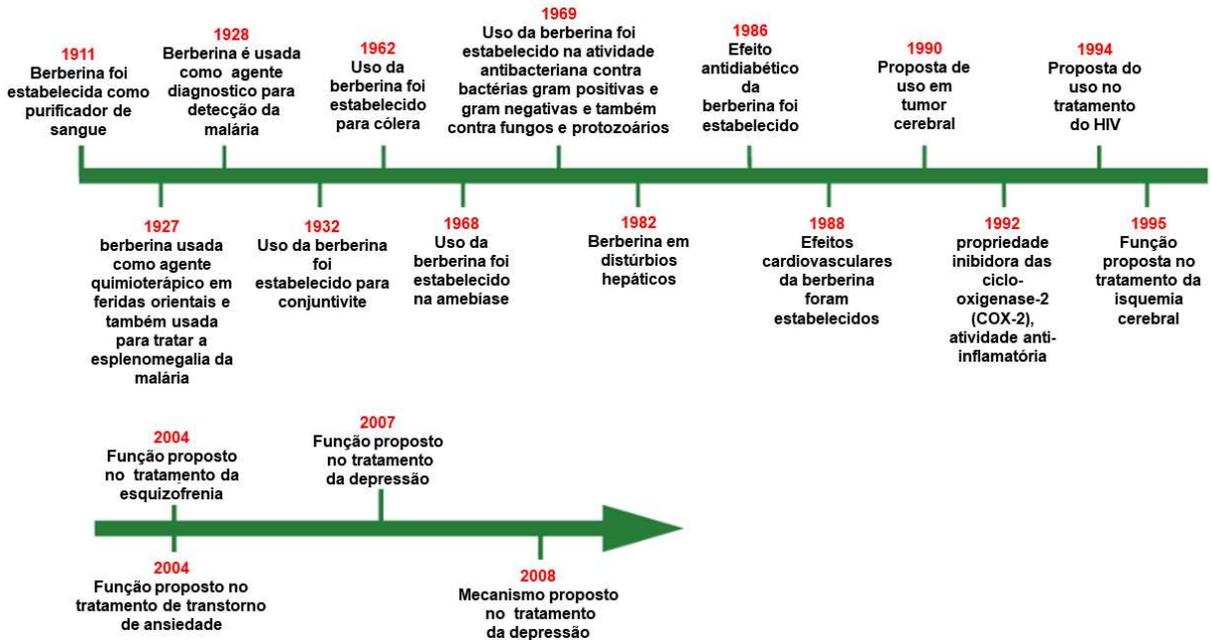
A berberina, quando submetida a procedimentos de isolamento, é obtida na forma de um sal, comumente o cloreto ou o sulfeto. No processo de obtenção do cloreto de berberina, o qual apresenta uma coloração característica de amarelo, a primeira etapa consiste na extração da berberina da casca de berberis mediante o uso de metanol. Em seguida, o extrato é concentrado, e a berberina na forma de cloreto é obtida através de cristalização utilizando ácido clorídrico, sendo posteriormente submetida a um processo de recristalização para purificação. O cloreto de 5,6-dihidro-9,10-dimetoxi-benzo[g]-1,3-benzodioxolo[5,6- $\alpha$ ]quinolizínio, com uma fórmula molecular de C<sub>20</sub>H<sub>18</sub>ClNO<sub>4</sub> e um peso molecular de 371,82 g/mol, exibe um ponto de fusão na faixa de temperatura entre 195-197 °C. Além disso, seu espectro UV/VIS revela picos distintos de absorção em 265 nm e 350 nm, e exibe fluorescência a uma emissão de 543 nm (Eckhardt *et al.*, 2017).

É um composto muito utilizado na medicina tradicional chinesa com potencial terapêutico antimicrobiano, antiprotozoários e antidiarreicos (Raju; Kulkarni; Wairkar,

2019) e também é utilizado como corante para tingimento de madeira, lã, couro e algodão (Deveoglu *et al.*, 2020).

A Figura 2, apresenta uma linha do tempo sobre a utilização da berberina para tratamento de diferentes doenças.

Figura 2 – Perspectiva histórica da berberina



Fonte: adaptado de Kulkarni e Dhir, 2010

Em um estudo para diabetes tipo 2, foram selecionados 60 pacientes separados em 2 grupos (tratados com 1 g de berberina ou placebo) durante 3 meses. Os resultados apresentaram uma redução significativa nos principais metabólitos dos ácidos graxos livres, sendo essa uma via de tratamento para diabetes tipo 2, demonstrando assim potencial para o tratamento da doença (Gu *et al.*, 2010; Pirillo; Catapano, 2015).

Uma redução de colesterol total, LDL e triglicerídeos indicadores de dislipidemias foi observada no tratamento com berberina em pacientes com hipercolesterolêmicos e em ratos hiperlipidêmicos, apresentando um potencial como um novo composto hipolipidêmica (Kong *et al.*, 2004).

Em pacientes com insuficiência renal crônica, o tratamento com diálise peritoneal pode levar a uma disfunção no cólon devido a alteração na membrana peritoneal. Em um estudo pré-clínico realizado em camundongos a administração de

100 mg/kg de berberina por via intragástrica reduziu as lesões causadas pela diálise e ainda foi capaz de reaver a função da membrana peritoneal (Zhang *et al.*, 2021).

Aplicação em transtornos do humor, como depressão, também foi testada, com potenciais efeitos antidepressivos e significativa redução dos sintomas (Wang *et al.*, 2022). Em modelos pré-clínicos de outros transtornos do sistema nervoso central, apresentou potencial na prevenção em modelo da doença de Alzheimer (Ji; Shen, 2011; Raju *et al.*, 2021), de esquizofrenia (Kulkarni; Dhir, 2010) e de ansiedade (Peng *et al.*, 2004) em roedores.

A berberina também apresentou efeito protetor *in vivo* contra os danos renais induzidos por ciclofosfamida (medicamento utilizado no combate ao câncer, que pode causar deterioração das funções renais), com melhora nos níveis dos indicadores da função renal e na histologia do tecido renal em função das suas propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias (Mombeini *et al.*, 2022).

A atividade antibacteriana da berberina frente a diferentes espécies de bactérias também já foi reportada na literatura (Cernakova; Košťálová, 2002; Jian-Ling *et al.*, 2010) com ação mais eficiente frente a bactérias Gram-positivas e uma ação mais fraca contra bactérias Gram-negativas (Vuddanda; Chakraborty; Singh, 2010).

Aplicação *in vivo* apresentou satisfatórios resultados na redução da infecção causada por *Staphylococcus aureus* tanto na contagem de bactérias quando nos danos causados (Tong *et al.*, 2022), bem como na inibição a formação de biofilmes (Pang *et al.*, 2022), demonstrando potencial aplicação terapêutica. Interações com antibióticos contra cepas de *Staphylococcus* spp. também demonstraram potencial para sua aplicação, podendo aumentar a eficácia dos medicamentos (Wojtyczka *et al.*, 2014). Em *Listeria monocytogenes* apresentou efeito inibitório contra a formação de biofilme em superfícies de poliestireno e aço inox (Kim *et al.*, 2021).

Apesar de todo o seu potencial de aplicação, esse composto tem uma baixa solubilidade em água devido à amina quaternária, apresentando assim baixa concentração e absorção limitada no trato gastrointestinal, o que dificulta a sua utilização (Tan *et al.*, 2011). A berberina se enquadra no Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB) como composto de classe III (Elsheikh *et al.*, 2018; Liu *et al.*, 2016) apresentando uma alta solubilidade e baixa permeabilidade com um valor de Log P de -1,51 apontando (Battu *et al.*, 2010).

## 2.2 SOLUBILIDADE

Segundo a União Internacional de Química Pura e Aplicada (IUPAC) solubilidade, é uma composição analítica em uma solução saturada, expressa em termos da proporção de um soluto em um solvente. A solubilidade pode ser expressa como a concentração, molaridade, fração molar, razão molar entre outros.

O termo saturado, refere-se ao equilíbrio em relação a processos de dissolução e precipitação para solubilidade de sólidos em líquidos. Sendo ele estável ou metaestável, mantendo seu valor constante por um longo período e mudando repentinamente ou gradativamente para um estado mais estável se submetido a perturbações (Hefter; Tomkins, 2003).

A Tabela 1 apresenta os termos utilizados na classificação quanto a solubilidade expressa em mililitros de solvente por gramas de sólido a  $25 \pm 5$  °C.

Tabela 1 – Termos descritivos para classificação de solubilidade

<b>Termo Descritivo</b>	<b>Volumes aproximados de solvente em mililitros por grama de substância</b>
Muito solúvel	Menos de 1
Facilmente solúvel	De 1 a 10 partes
Solúvel	De 10 a 30 parte
Moderadamente solúvel	De 30 a 100 partes
Pouco solúvel	De 100 a 1.000
Muito pouco solúvel	De 1.000 a 10.000 parte
Praticamente insolúvel ou insolúvel	Mais de 10.000 partes

Fonte: ANVISA (2019)

Em termos gerais, a solubilidade de equilíbrio de um componente deve ser a mesma em ambas as fases do sistema. A relação básica da termodinâmica, baseia-se na igualdade de potencial químico, onde cada fase do sistema para um completo equilíbrio termodinâmico deve estar em equilíbrio térmico e mecânico (Hefter; Tomkins, 2003), equação 1. Essa solubilidade pode ser alterada por alguns fatores como temperatura, pressão, forças intermoleculares (Petrucci *et al.*, 2017) e tamanho de partículas (Wu; Nancollas, 1998).

$$\mu^{\alpha}(T, P) = \mu^{\beta}(T, P) \quad (1)$$

Para sistemas entre sólidos e líquidos, a influência da temperatura na solubilidade de um componente se explica pela alteração na entalpia do sistema ( $\Delta H_{\text{sol}}$ ). Quando um sistema apresenta  $\Delta H_{\text{sol}} > 0$  um aumento da temperatura estimula o processo de dissolução, aumentando a solubilidade no solvente. Ao contrário em um sistema com  $\Delta H_{\text{sol}} < 0$  esse aumento de temperatura acarreta em uma redução na solubilidade do soluto, estimulando a cristalização/precipitação (Petrucci *et al.*, 2017).

Além da temperatura, as forças intermoleculares têm importante influência sobre a solubilidade, presente no popular guia “semelhante dissolve semelhante”, representando de maneira simples que compostos quimicamente similares apresentam forças de interação que levam a uma menor entalpia de solução (Prausnitz; Lichtenthaler; Azevedo, 1986).

Outra variável que influencia na solubilidade, porém de maneira menos expressiva é a pressão, que normalmente é negligenciada na solubilidade de sólidos em líquidos (Smith; Van Ness; Abbott, 2007). Já em sistemas líquido-vapor, a pressão demonstra ter sua influência expressa segundo a Lei de Henry descrita como a solubilidade do vapor em um líquido, sendo proporcional a pressão que o gás exerce sobre ele (Prausnitz; Lichtenthaler; Azevedo, 1986).

O aumento na solubilidade de um composto faz com que, conseqüentemente, sua taxa de difusão e a concentração no local de ação aumentem e assim um tratamento mais eficaz pode ser obtido pela redução da dose necessária do composto e de possíveis efeitos adversos causados (Amani; Saadati Ardestani; Majd, 2021).

## 2.3 DISSOLUÇÃO

Dissolução refere-se ao movimento de partículas de soluto na forma sólida de maior tamanho para partículas finas antes de ser disperso molecularmente, sendo entendido como a realocação do soluto em moléculas de solvente por forças de atração intermoleculares (Mehtani *et al.*, 2018). Basicamente, o processo de dissolução tem como um dos principais fatores a afinidade entre as moléculas de solvente e soluto, entretanto outros fatores como temperatura, pH, tamanho de partícula, polimorfismo alteram esse processo (Babu; Areefulla; Mallikarjun, 2010).

A taxa de dissolução pode ser definida como a concentração de composto que se dispersa no solvente por unidade de tempo (Kapoor *et al.*, 2019). Esses valores de dissolução podem ser interpretados matematicamente por equações

genéricas representando a curva de dissolução como função de alguns parâmetros (Costa; Sousa Lobo, 2001).

Os primeiros estudos sobre dissolução foram realizados com ácido benzóico e cloreto de chumbo em água e foram apresentados por Noyes e Whitney (1897) em seu trabalho sobre “a taxa de dissolução de substâncias sólidas em suas próprias soluções”. Tendo concluído que a taxa de dissolução é proporcional a diferença de concentração e pode ser representada de acordo com a equação 2.

$$\frac{dx}{dt} = k (C_s - C) \quad (2)$$

Com  $C_s$  sendo a solubilidade na saturação,  $C$  a concentração instantânea e  $k$  uma constante.

Brunner e Tolloczko (1900) publicaram um estudo em que aperfeiçoaram a equação de Noyes-Whitney, equação 2, e demonstraram a influência de outros fatores. Apresentando uma equação aperfeiçoada substituindo  $k = k_1 S$ , com  $S$  representando a área superficial (Dokoumetzidis; Macheras, 2006).

A aplicação do conceito de camada de difusão e da segunda Lei de Fick na equação de Noyes-Whitney com substituição de  $k_1 = \frac{D}{vh}$ , foi proposta Nernst (1904), equação 3.

$$\frac{dC}{dt} = \frac{DS}{vh} (C_s - C) \quad (3)$$

Com  $D$ ,  $S$ ,  $V$  e  $h$  sendo respectivamente o coeficiente de difusão, a área superficial do sólido, o volume da solução e a espessura da camada de difusão.

Sendo assim, é possível observar que segundo a equação de Noyes-Whitney que uma aumento na área superficial leva a um aumento na taxa de dissolução (Da Fonseca Antunes *et al.*, 2013), logo compostos que são constituídos de partículas menores têm uma área superficial maior e assim alta taxa de dissolução (Kumar *et al.*, 2021). Partículas com alta área superficial ainda apresentam uma fina camada de difusão, resultando em uma alta taxa de dissolução das moléculas (Bisrat; Nyström, 1988). O formato das partículas é outro fator que influencia na taxa de dissolução do composto, sendo partículas com formato esférico apresentam uma taxa maior em comparação com partículas de formato irregular (Mosharraf; Nyström, 1995).

## 2.4 MICRONIZAÇÃO

Uma das técnicas mais antigas para aumentar a solubilidade de compostos é a redução do tamanho de partícula, fazendo com que ocorra um aumento na área superficial aumentando assim, área disponível para solvatação (Khadka *et al.*, 2014).

A micronização é o termo utilizado para descrever a técnica utilizada na redução do tamanho de partícula, que resulta em distribuição de tamanho de partícula menores que 10  $\mu\text{m}$  (Joshi, 2011; Vandana *et al.*, 2014). Essa redução no tamanho de partícula conseqüentemente ocasiona um aumento na área superficial do composto e esse aumento faz com que a taxa de dissolução seja aumentada (Kayrak; Akman; Hortaçsu, 2003). Além do tamanho das partículas, compostos micronizados podem ter alterações em suas propriedades superficiais, comportamento de aglomeração e forma (Rasenack; Müller, 2004).

Como exemplo desse aumento nas propriedades, podemos citar o trans-resveratrol micronizado que teve um aumento de 2,8 vezes na sua solubilidade e um aumento na taxa de dissolução de 1,8 vezes (Aguiar *et al.*, 2018), ibuprofeno micronizado teve um aumento de 5 vezes na taxa de dissolução (Charoenchaitrakool *et al.*, 2000), luteolina micronizada pela técnica GAS antissolvente obteve melhora na dissolução e 18% de aumento na solubilidade (SANTOS *et al.*, 2022) e n-acetilcisteína micronizada que apresentou um expressivo aumento na sua taxa de dissolução com liberação de 100% no ponto inicial conta 420 segundos da amostra comercial (Aguiar *et al.*, 2017).

Existem diversas técnicas convencionais de micronização como a secagem por aspersão (*spray drying*), liofilização, cristalização com antissolvente ou processos de moagem, porém essas técnicas convencionais podem apresentar limitações como partículas mais grossas, alta distribuição granulométrica, contaminação por solventes orgânicos, aglomeração das partículas (Dhiman; Prabhakar, 2021; Martín; Cocero, 2008) e um sólido com comportamento inesperado ou instável pode ser formado após a micronização em compostos que apresentam polimorfismo (Perrut; Jung; Leboeuf, 2005).

Assim, técnicas não convencionais vêm sendo estudadas como alternativas para os problemas das técnicas convencionais. Dentre estas, os métodos que fazem uso de SCF apresentam potenciais vantagens como um produto livre de solvente, uma

difusividade com grandeza superior à dos líquidos em até duas ordens e diâmetros de partículas menores (Reverchon, 1999; Türk, 2022).

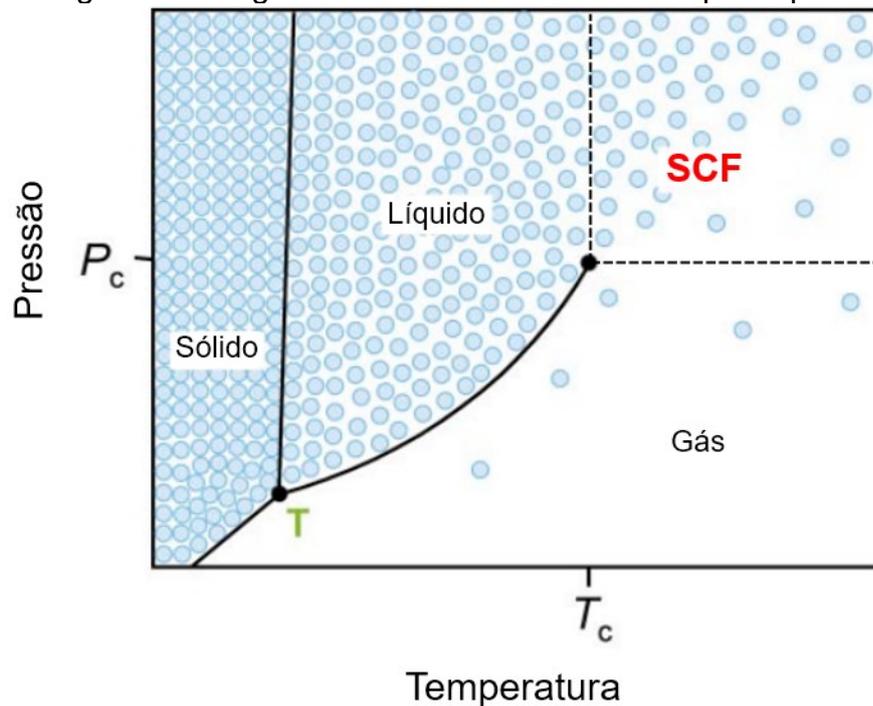
Aplicação de técnicas supercríticas como Dispersão de Solução Aumentada por Fluidos Supercríticos (SEDS) permitiu a redução do tamanho de partículas de resveratrol em 167 vezes (Aguiar *et al.*, 2016) e curcumina em 6 vezes (Sachett *et al.*, 2022). Antissolvente Supercrítico (SAS) foi capaz de reduzir partículas de imiquimode em 15 vezes (Remiro; Rosa; Moraes, 2022). Rápida expansão de solução supercrítica (RESS) reduziu partículas de aspirina de 497  $\mu\text{m}$  para tamanhos de 0,17  $\mu\text{m}$  até 6,6  $\mu\text{m}$  dependendo das condições (Rostamian; Lotfollahi, 2020) e paracetamol de 124  $\mu\text{m}$  a 54 nm (Kien, 2017).

## 2.5 FLUIDO SUPERCRÍTICO

O estado supercrítico é obtido para componentes puros que se encontram em temperatura e pressão maiores que seus valores críticos. Esse estado apresenta uma grande mudança nas propriedades do componente, de tal modo que ele apresenta propriedades tanto de líquidos quanto de gás (Brunner, 2005). A Figura 3 apresenta um diagrama P-T representativo de um composto puro.

Para o componente em estado supercrítico, sua densidade fica próxima a densidade de um líquido ( $0,2 - 0,9 \frac{\text{g}}{\text{cm}^3}$ ), já os valores de viscosidade com características de gás ( $1 - 9 \times 10^{-4} \frac{\text{g}}{\text{cm*s}}$ ) e valores de difusividade intermediárias entre líquidos e gases ( $0,2 - 0,7 \times 10^{-3} \frac{\text{cm}^2}{\text{s}}$ ) (Brunner, 1904).

Figura 3 – Diagrama de fases P-T de um composto puro



Fonte: adaptado de Cooper (2000).

Um composto muito utilizado no estado de SCF é  $\text{CO}_2$  devido suas condições críticas ( $T_c = 31 \text{ }^\circ\text{C}$  e  $P_c = 73,8 \text{ bar}$ ), por ser ambientalmente amigável, barato e ser considerado seguro pela *Food and Drug Administration* (FDA) e *European Food Safety Authority* (EFSA) (Mendiola *et al.*, 2007). Suas propriedades podem ser ajustadas com a alteração da pressão e temperatura de operação, é termodinamicamente estável, não tóxico, não inflamável e visto que a pressão ambiente o  $\text{CO}_2$  está na forma de gás, apenas a despressurização do sistema já fornece um produto final livre de solvente (Knez *et al.*, 2014; Türk, 2022).

Um dos principais problemas do  $\text{CO}_2$  como SCF é a baixa polaridade, tal fato pode ser superado com a adição de um cossolvente alterando assim a polaridade do SCF e aumentando o campo de aplicação desse solvente (Herrero *et al.*, 2010).

O SCF tem se mostrado um solvente muito versátil e vem demonstrando ser útil em várias aplicações como na extração de compostos (Mazzutti *et al.*, 2017), produção de biodiesel (Maçaira *et al.*, 2011), encapsulação (Sakata *et al.*, 2021), cocrystalização (Ribas *et al.*, 2019) e micronização (Aguiar *et al.*, 2018).

A formação de partícula com a utilização de fluido supercrítico pode ser dividida em diferentes categorias de acordo com o papel desempenhado pelo SCF,

que pode atuar como um solvente (RESS), soluto (PGSS) ou antissolvente (GAS/SAS/SEDS) na mistura (Martín; Cocero, 2008).

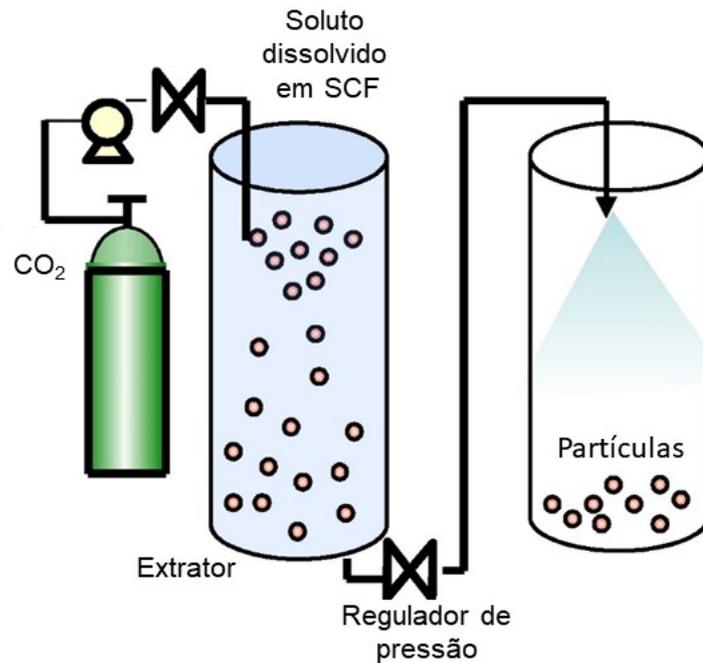
### **2.5.1 Rápida Expansão de Solução Supercrítica (RESS)**

O conceito do método foi primeiramente proposto por Hannay e Hogarth (1879), porém ele apenas foi compreendido e aperfeiçoado após os trabalhos de Krukonis (1981) (Jung; Perrut, 2001; Phillips; Stella, 1993).

A técnica faz uso do SCF como solvente no processo, primeiramente o soluto de interesse é dissolvido no SCF, em seguida a solução é expandida por meio de um bocal expansor (Fahim *et al.*, 2014; Türk, 2022). Essa rápida expansão da solução faz com que a densidade do SCF e a solubilidade do composto diminuam rapidamente, formando assim uma solução supersaturada que causa a precipitação do soluto (Pasquali; Bettini; Giordano, 2006; Phillips; Stella, 1993). Esta técnica já foi aplicada na produção de partículas de teofilina (Sakabe; Uchida, 2022), paracetamol (Bagheri *et al.*, 2021), ipriflavona (Wang; Su, 2020), timol (Martello *et al.*, 2019) e encapsulação de naproxeno (Kim; Paxton; Tomasko, 1996).

As principais desvantagens dessa técnica é proveniente da necessidade do composto ser solúvel em SCF (Jung; Perrut, 2001) e a tendência à aglomeração das partículas, assim algumas modificações no processo como a utilização de surfactantes e cossolventes sólidos podem ser aplicados (Türk, 2009). A Figura 4 mostra um diagrama esquemático da técnica RESS.

Figura 4 – Diagrama esquemático da técnica RESS

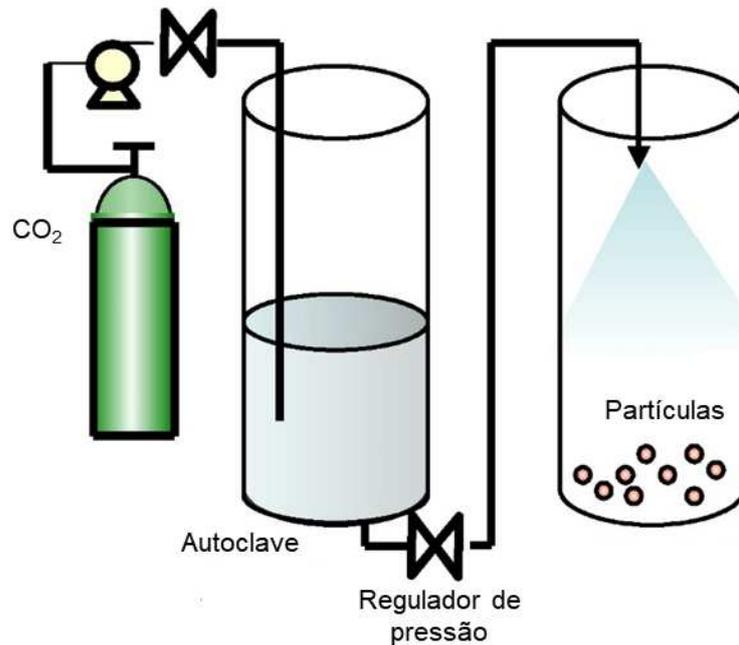


Fonte: adaptado de Mishima (2008)

### 2.5.2 Partículas de Solução Saturadas por Gás (PGSS)

Neste caso o SCF é utilizado como um soluto, onde ele é dissolvido em um material fundido e em seguida é expandida por meio de um bocal de pulverização resultando na formação das partículas (Vorobei; Parenago, 2021). O método faz uso do efeito de resfriamento que ocorre quando o  $\text{CO}_2$  é despressurizado da sua condição supercrítica até a pressão ambiente (Martín; Cocero, 2008). A Figura 5 apresenta um diagrama esquemático do processo.

Figura 5 – Diagrama esquemático da técnica PGSS



Fonte: adaptado de Mishima (2008)

Essa técnica demonstra-se adequada para a produção de polímeros em pó, em particular na aplicação de revestimento em pó e é extremamente útil na impregnação de ingredientes ativos em matrizes poliméricas (Yeo; Kiran, 2005). Para polímeros altamente viscosos, cerosos ou com baixa temperatura de transição vítrea apresenta vantagens com relação a outros métodos (Nalawade; Picchioni; Janssen, 2006).

O diferencial dessa técnica é a não utilização de solventes em comparação aos métodos antissolvente, além de não ser necessário realizar a dissolução do composto em SCF como no método RESS (Bahrami; Ranjbarian, 2007).

PGSS demonstrou alta eficiência de encapsulação na produção de micropartículas lipídicas de lidocaína em monoestearato de glicerila (López-Iglesias *et al.*, 2020), óleo de linhaça com bioativos de bagaço de cenoura em cera de girassol (Klettenhammer *et al.*, 2022) e apto na encapsulação de óleos comestíveis em cera de abelha (Aredo *et al.*, 2021).

### 2.5.3 Antissolvente Supercrítico

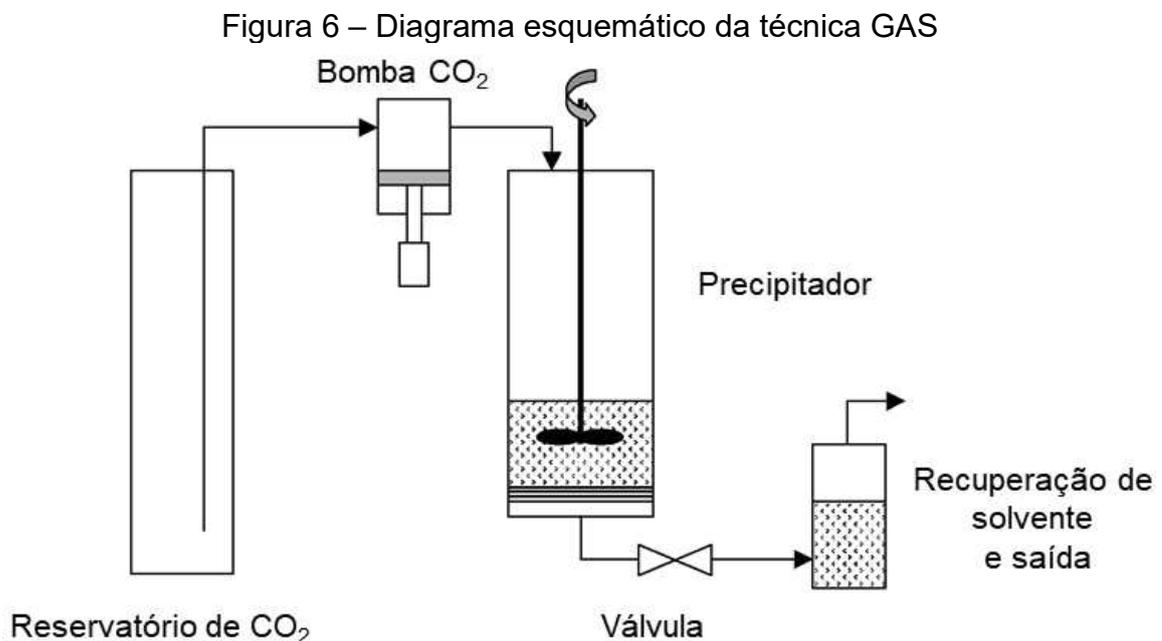
Essas técnicas baseiam-se na adição de um segundo fluido na mistura (soluto e solvente) que tem a função de diminuir a solubilidade do soluto no solvente, a

precipitação das partículas é governada pela difusão do antissolvente na mistura que causa a expansão do volume e conseqüente redução na solubilidade (Jung; Perrut, 2001). Logo nas condições operacionais o antissolvente e o solvente devem apresentar miscibilidade e o composto ser praticamente insolúvel no antissolvente e apresentar solubilidade no solvente (Zhang *et al.*, 2011).

Os métodos antissolvente são separados de acordo com a maneira que ocorre o contato entre solvente e antissolvente sendo elas SAS, GAS ou SEDS.

### 2.5.3.1 GAS Antissolvente (GAS)

O GAS pode apresentar uma versatilidade na escolha do solvente, podendo ser utilizado uma grande quantidade de soluto por vez, uma estreita distribuição de tamanho de partículas e um produto livre de solventes estão entre as vantagens desse método (Fahim *et al.*, 2014). A Figura 6 apresenta um diagrama esquemático da técnica GAS.

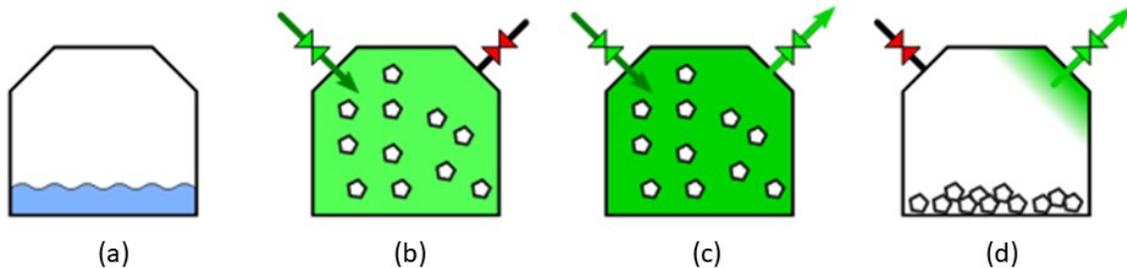


Fonte: adaptado de Martín e Cocero (2008)

Na técnica GAS o processo é descontínuo alimentado (Jafari *et al.*, 2015), onde primeiramente o recipiente é preenchido com a solução orgânica entre soluto e solvente, Figura 7a, para em seguida o SCF ser adicionado a mistura. A adição do SCF causa um aumento no volume da solução devido a dissolução do SCF na mesma,

assim uma redução na solubilidade do soluto no solvente expandido é obtida (Amani; Saadati Ardestani; Majd, 2021), Figura 7b, a seguir uma etapa de lavagem com dióxido de carbono supercrítico puro é aplicada para retirada do solvente, Figura 7c, para então realizar a despressurização e o pó seco ser coletado, Figura 7d (Kőrösi *et al.*, 2019). Um fluxograma esquemático do processo GAS antissolvente é apresentado na Figura 7.

Figura 7 – Fluxograma esquemático do processo GAS antissolvente



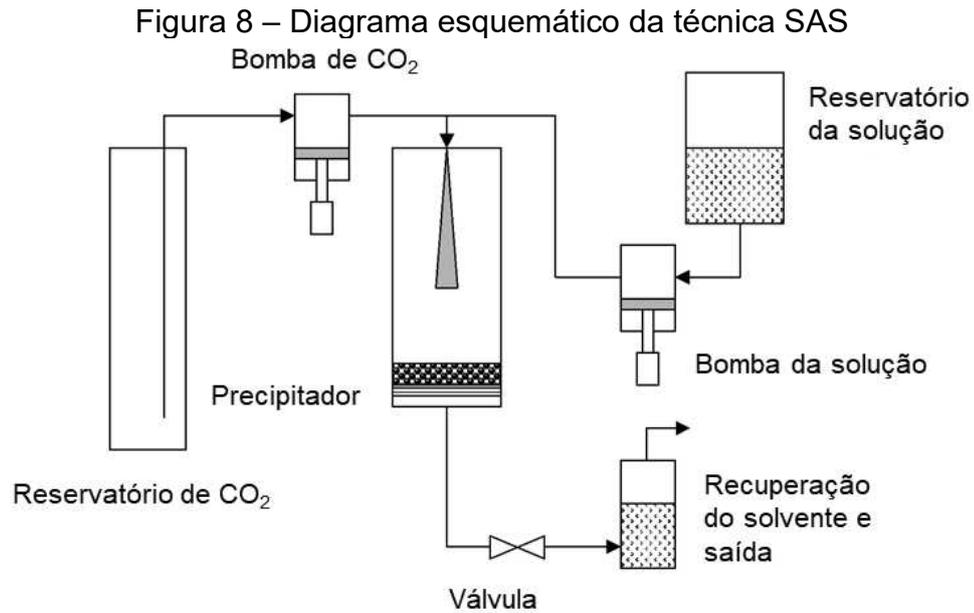
Fonte: Kőrösi *et al.* (2019)

Além de encapsulação (Sakata *et al.*, 2021) a técnica também apresentou potencial aplicação na produção de cocristais com fluido supercrítico como na produção de cocristais de posaconazol (Long *et al.*, 2021), curcumina-N-acetilcisteína (Paulazzi *et al.*, 2022) e resveratrol-isoniazida e resveratrol-nicotinamida (Pessoa *et al.*, 2019).

### 2.5.3.2 Antissolvente supercrítico (SAS)

No processo SAS a solução (soluto e solvente) é aspergida por meio de um bocal até a célula de precipitação contendo o SCF, a mistura da solução e o antissolvente resulta na expansão da solução, causando uma supersaturação com consequente precipitação das partículas (Kim *et al.*, 2007).

É um processo conduzido em modo contínuo, o que facilita sua utilização em grande escala. Além disso, este processo pode controlar a morfologia de partículas em uma grande faixa de tamanho (Fahim *et al.*, 2014). O tamanho médio de partícula pode variar de acordo com algumas variáveis como temperatura, pressão, concentração da solução, tipo de solvente e taxa de alimentação de CO<sub>2</sub> (Kim *et al.*, 2007). Um fluxograma esquemático do processo é representado na Figura 8.



Fonte: adaptado de Martín e Cocero (2008)

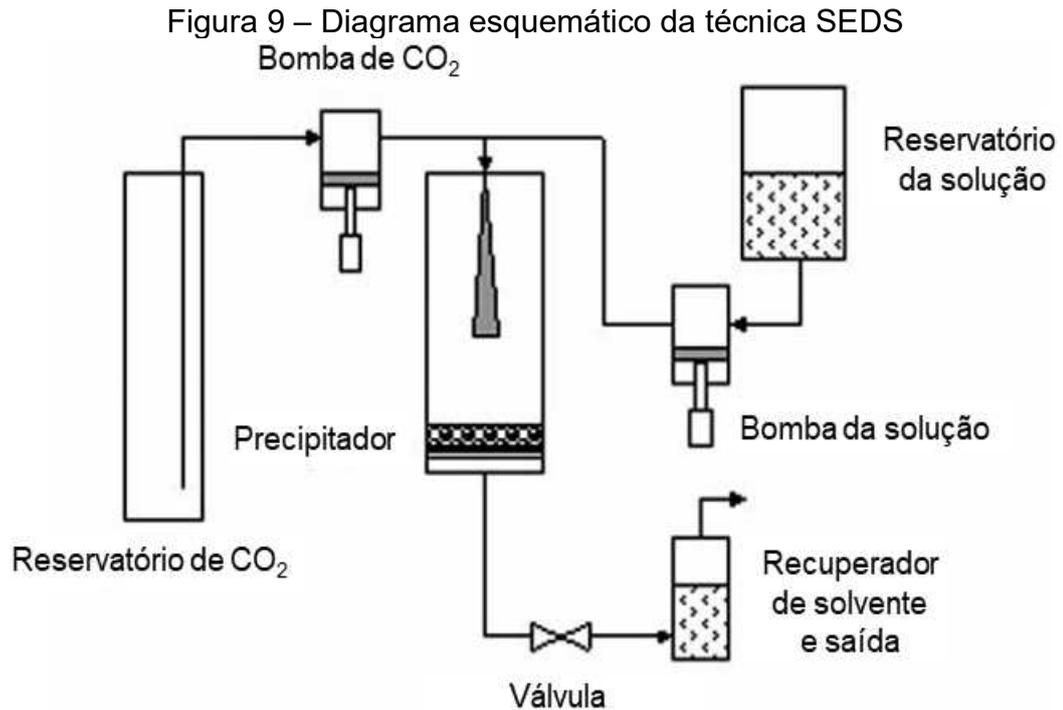
Micropartículas de miricetina em hidroxipropil-beta-ciclodextrina (HP- $\beta$ -CD) foram encapsuladas por SAS com e melhoraria em suas propriedades (Yan *et al.*, 2021). Comportamento similar foi observado em partículas encapsuladas de crisina em polivinilpirrolidona (PVP) por SAS (Pan *et al.*, 2020).

Além da encapsulação, o método também é capaz de micronizar partículas como no caso da imiquimode que obteve significativa redução nas partículas levando a um aumento na taxa de dissolução (Remiro; Rosa; Moraes, 2022).

### 2.5.3.3 *Dispersão Aprimorada de Solução por Fluido Supercrítico (SEDS)*

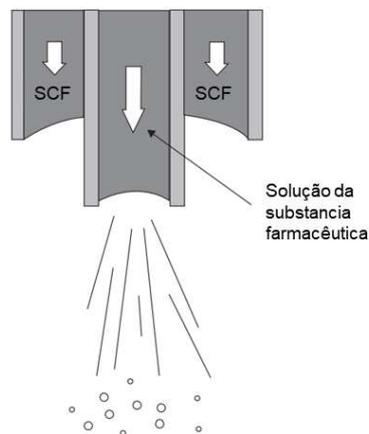
O processo tem como diferencial a utilização de um bocal coaxial (Figura 10), onde o SCF não tem apenas a função de antissolvente, mas também a função de agente pulverizante da solução que contém os solutos de interesse (Dhiman; Prabhakar, 2021). É um processo mais apropriado para polímeros devido sua insolubilidade em SCF (Fahim *et al.*, 2014).

A Figura 9 apresenta um diagrama esquemático da técnica SEDS e a Figura 10 um diagrama esquemático do bocal coaxial utilizado na técnica.



Fonte: adaptado de Martín e Cocero (2008)

Figura 10 – Diagrama esquemático do bocal coaxial da técnica SEDS



Fonte: adaptado de Kalani e Yunus (2011)

A técnica SEDS mostrou-se eficiente na encapsulação de astaxantina (Junior *et al.*, 2014),  $\beta$ -caroteno (Franceschi *et al.*, 2008) e extrato de pimenta rosa (Andrade *et al.*, 2020), na micronização de curcumina (Sachett *et al.*, 2022), resveratrol (Almeida *et al.*, 2021), N-acetilcisteína (Aguiar *et al.*, 2017) e na coprecipitação em PHBV de trans-resveratrol (Dal Magro *et al.*, 2017) e antocianinas (Aguiar *et al.*, 2020).

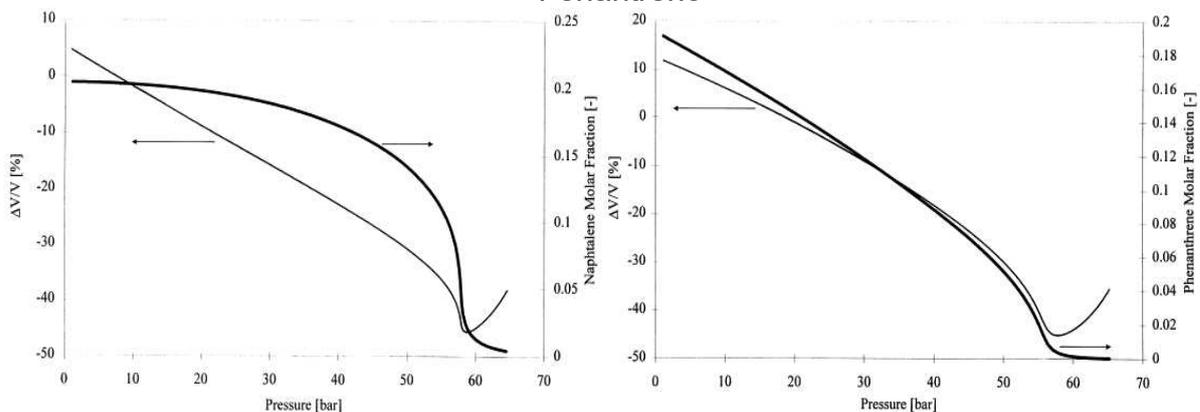
## 2.6 VOLUME PARCIAL MOLAR

Modelos termodinâmicos são necessários para precipitação de partículas em GAS antissolvente, visto que esse evento não ocorre em condições arbitrárias (Esfandiari; Ghoreishi, 2015).

A força de interação molecular entre solvente e antissolvente demonstra maior influência no sistema que a interação ternária soluto, solvente e antissolvente. Assim, na expansão da fase líquida, os parâmetros de solubilidade e supersaturação da solução podem ser preditos por uma equação de estado apenas com informações do sistema binário solvente-antissolvente (Chang; Randolph, 1990).

Observou-se que os melhores parâmetros pressão e temperatura para obtenção de partículas de menor tamanho pelo método GAS antissolvente, coincidem com o menor valor de volume na mistura binária (solvente + antissolvente), sugerindo assim que os parâmetros ótimos para o processo de GAS podem ser encontrados um ponto de menor valor para expansão da fase líquida (De La Fuente Badilla; Peters; De Swaan Arons, 2000) como demonstrado na Figura 11.

Figura 11 – Expansão da fase líquida e fração molar do soluto na fase líquida para os sistemas ternários (a) CO<sub>2</sub> – Tolueno - Naftalina e (b) CO<sub>2</sub> – Tolueno - Fenantreno



Fonte: de La Fuente Badilla; Peters; De Swaan Arons (2000)

Com o objetivo de propor alternativas para obter-se tais condições (pressão e temperatura) a definição clássica de expansão de volume da fase líquida, equação 4, é definida por Kordikowski *et al.* (1995).

$$\frac{\Delta v}{v} = \frac{v_L(T, P, x_1) - v_2(T, P_0)}{v_2(T, P_0)} \quad (4)$$

Sendo  $P_0$  uma pressão de referência, geralmente pressão atmosférica.

A equação considerada para expansão de volume, equação 4, não é capaz de distinguir em um determinado antissolvente a diferença no comportamento de expansão de diferentes solventes. Sendo o comportamento de expansão o mecanismo responsável pela precipitação do soluto, a definição clássica não se demonstra apropriada para esse fim. Assim, foi proposto um novo modelo para esse cálculo, equação 5, considerando apenas os o volume molar do solvente e da mistura (De La Fuente Badilla; Peters; De Swaan Arons, 2000).

$$\frac{\Delta v}{v} = \frac{\bar{v}_l(T,P,x_1) - \bar{v}_2(T,P_0)}{v(T,P_0)} \quad (5)$$

Onde  $v_L$  é o volume total da solução,  $v_2$  o volume total do solvente puro,  $\bar{v}_l$  o volume molar da fase líquida e  $\bar{v}_2$  o volume molar do solvente puro.

O valor de  $\frac{\Delta v}{v}$  tende a diminuir com o aumento da fração de antissolvente, podendo ser observado que não há literalmente falando uma expansão. O volume da solução é sempre menor que o volume do solvente puro, com exceção de frações de antissolvente muito altas ou valores acima do ponto crítico da mistura onde os compostos são completamente miscíveis (Mukhopadhyay, 2003).

O volume molar da fase líquida tende a diminuir até o ponto onde  $\bar{v}_1 = \bar{v}_2$  descrito por:

$$\left(\frac{\partial v}{\partial x_1}\right)_{P,T} = (\bar{v}_1 - \bar{v}_2) \quad (6)$$

Assim:

$$\frac{dv}{dx_1} = \left(\frac{\partial v}{\partial P}\right)_{x_1,T} \frac{dP}{dx_1} + \left(\frac{\partial v}{\partial x_1}\right)_{P,T} \quad (7)$$

O volume molar pode não ser destacado como pode ser notado em sistema com solventes densos e antissolvente leves, onde o volume molar líquidos da solução diminui marginalmente com a fração de antissolvente e supera o volume do solvente para altos frações de antissolvente. Em outro exemplo, como no caso de solventes

orgânicos o volume molar se achata em uma grande faixa de fração de antissolvente (Mukhopadhyay, 2003).

Assim tanto os modelos apresentados na equação 4 e na equação 5 se mostram ineficientes para o cálculo das condições ótimas para o processo de GAS antissolvente, assim um novo modelo baseado na redução do volume molar parcial relativo (RPMVR) proposto segundo a equação 8 (Mukhopadhyay, 2003).

$$-\frac{\Delta \bar{v}}{v} = 1 - \frac{\bar{v}_2}{v_2} \quad (8)$$

De acordo com a equação de Gibbs-Duhem  $\bar{v}_2$  calculado pela equação 9:

$$\bar{v}_2 = \left[ v - x_1 \left( \frac{\partial v}{\partial x_1} \right)_{P,T} \right] \quad (9)$$

Onde  $v$  é o volume líquido molar calculado pela equação de estado.

Partindo do princípio de que a variação do volume molar é usado como critério para otimização dos parâmetros, um modelo matemático para o cálculo da fração de soluto na solução (Mukhopadhyay, 2003).

$$x_3(T, P) = \frac{\bar{v}_2(T, P, x_1)}{\bar{v}_2(T, 1, 0)} x_3(T, 1) \quad (10)$$

Sendo  $x_3$  a fração molar de soluto no solvente (em base livre de antissolvente),  $x_1$  a fração de antissolvente no solvente (em base livre de soluto) e  $\bar{v}_2$  o volume parcial molar do solvente no sistema binário (solvente-antissolvente).

No entanto para determinados sólidos com alta solubilidade, o modelo matemático apresentado na equação 10 foi considerado inadequado. Assim uma nova equação com adição de um termo que leva em consideração a característica do solvente na mistura binária de solvente diluído em CO<sub>2</sub> para soluto sólido, demonstrado na equação 11 (Mukhopadhyay; Dalvi, 2004).

$$x_3(T, P) = \frac{\frac{(1-x_1)\bar{v}_2(T, P, x_1)}{v(P, x_1)}}{\frac{(1-x_{10})\bar{v}_2(T, P_0, x_{10})}{v(P_0, x_{10})}} x_{30}(T, P_0) \quad (11)$$

Sendo  $x_3 = X_3 (1 - x_1)$ ,  $x_1 = X_1(1 - x_3)$  e  $x_1 + x_2 + x_3 = 1$ , com  $x_{30}$  a fração molar de soluto no sistema ternário e  $X_{10}$  a fração de CO<sub>2</sub> no solvente em base livre de soluto na pressão de referência  $P_0$  e  $X_1$  a fração de CO<sub>2</sub> em base livre de soluto.

## 2.7 EQUILÍBRIO DE FASES

Um sistema é considerado em equilíbrio, quando em uma escala macroscópica não há variação em suas propriedades, ou seja, não há alterações em seus potenciais que podem levar à alguma mudança (Smith; Van Ness; Abbott, 2007).

Esse equilíbrio pode depender de uma série de variáveis como temperatura, pressão, estrutura química e fração da substância na mistura. O equilíbrio de fases termodinâmico procura estabelecer a relação entre essas variáveis (Prausnitz; Lichtenthaler; Azevedo, 1986).

O valor do volume parcial molar é necessário para a obtenção de valores ótimos de temperatura e pressão para a micronização a partir de um sistema líquido-vapor, considerando que a concentração de soluto é baixa e não acarretará em alterações de ponto de bolha e ponto de orvalho no sistema (De La Fuente; Shariati; Peters, 2004).

Assim, uma mistura na fase líquida em uma temperatura  $T$  e uma pressão  $P$  está em equilíbrio com uma fase vapor nas mesmas condições. Logo a condição termodinâmica de equilíbrio é dada por:

$$\hat{\phi}_i^L = \frac{f_i^L}{y_i P} \quad (12)$$

$$\hat{\phi}_i^V = \frac{f_i^V}{x_i P} \quad (13)$$

Para o sistema as seguintes restrições também se aplicam nas fases líquida e vapor (De La Fuente; Shariati; Peters, 2004).

$$\sum_{i=1}^n x_i = 1 \quad (14)$$

$$\sum_{i=1}^n y_i = 1 \quad (15)$$

Em condições controladas, com P e T fixas as equações 12-15 representam as equações com as variáveis desconhecidas na fase líquida e fase vapor (Shariati; Peters, 2002).

A utilização de uma equação de estado para o cálculo dos coeficientes de fugacidade em cada fase é necessária para a previsão da não idealidade do sistema. Uma equação que pode ser utilizada no cálculo do equilíbrio de fases é a de Peng-Robinson (PREOS) (Peng; Robinson, 1976), equação 16. É uma equação semi empírica com dois parâmetros  $\alpha$  e b, sendo o primeiro uma medida de forças atrativas intermoleculares a partir de um parâmetro de energia dependente da temperatura e o segundo um parâmetro de volume relacionado com o tamanho da molécula, demonstrados nas equações 17 e 20.

$$P = \frac{RT}{v-b} - \frac{\alpha(T)}{v(v+b)+b(v-b)} \quad (16)$$

$$\alpha(T) = \alpha(T_c) \times \alpha(T_r, \omega) \quad (17)$$

$$\alpha(T_c) = 0,45724 \left( \frac{R^2 (T_{ci})^2}{P_{ci}} \right) \quad (18)$$

$$\alpha(T_r, \omega) = \left[ 1 + (0,37464 + 1,54226\omega_i - 0,2699\omega^2) \left( 1 - \sqrt{\frac{T}{T_{ci}}} \right) \right]^2 \quad (19)$$

$$b_i = 0,07780 \frac{RT_{ci}}{P_{ci}} \quad (20)$$

$$Z^3 - (1 - B)Z^2 + (A - 3B^2 - 2B)Z - (AB - B^2 - B^3) = 0 \quad (21)$$

Onde

$$A = \frac{\alpha P}{R^2 T^2}$$

$$B = \frac{bP}{RT}$$

$$Z = \frac{Pv}{RT}$$

Para relacionar a dependência das frações molares com os parâmetros das substâncias puras na equação de estado, utiliza-se a regra de mistura para o cálculo dessa relação (Smith; Van Ness; Abbott, 2007). A regra de mistura linear para o parâmetro  $b$ , equação 23, e uma regra de mistura quadrática para o parâmetro  $\alpha$ , equação 22, foram utilizadas

$$\alpha = \sum_i \sum_j x_i x_j a_{ij} \quad (22)$$

$$b = \sum_i x_i b_i \quad (23)$$

Os parâmetros  $\alpha_{ii}$  e  $a_{jj}$  referem-se aos valores do parâmetro dos compostos puros, já os parâmetros  $\alpha_{ij}$  e  $\alpha_{ji}$  são obtidos por meio de uma regra de combinação, neste caso uma regra média geométrica, equação 24 (Smith; Van Ness; Abbott, 2007), com  $\alpha_{ij} = \alpha_{ji}$ .

$$a_{ij} = \sqrt{(\alpha_i \alpha_j)} (1 - k_{ij}) \quad (24)$$

Onde o parâmetro de interação binária  $k_{ij}$  representa as energias de atração e é obtido através da regressão de dados experimentais.

## 2.8 ESTRUTURAS CRISTALINAS

A classificação de materiais sólidos pode variar segundo uma série de critérios, dentre as mais significativas podemos destacar a descrição de materiais como sólidos cristalinos e sólidos amorfos (Blakemore, 1985).

Um sólido amorfo pode ser tratado como um líquido sub-resfriado, tendo seu arranjo molecular estruturado de forma aleatória, não apresenta ordem tridimensional como no caso de sólidos cristalinos, porém em pequenas direções podem apresentar alguma ordem (Hilden; Morris, 2004).

Já um cristal apresenta um arranjo com uma repetição de uma mesma estrutura de átomos, com sua formação toda descrita por átomos ligados a pontos de uma rede (Kittel, 1978). Uma rede cristalina é um arranjo infinito de pontos no espaço organizados de forma que cada ponto tem sua vizinhança idêntica, com todos os pontos geometricamente equivalentes (Myers, 2009). Existe para cada ponto da rede cristalina uma base de átomos idêntica em composição, arranjo e orientação, assim a estrutura cristalina se forma pela aplicação da base sobre a rede (Kittel, 1978). A essa base de átomos que se repete ao longo da estrutura cristalina damos o nome de célula unitária, assim essa célula unitária é a unidade básica estrutural do cristal (Callister; Rethwisch, 2012).

Três vetores de rede não coplanares podem apresentar uma série de células unitárias, variando conforme seu comprimento e orientação de ângulos. Essas coordenadas dão origem a apenas sete estruturas cristalinas, Tabela 2, que descrevem todas as redes de pontos possíveis, descrevendo assim os sete sistemas cristalinos (Cullity; Stock, 2001).

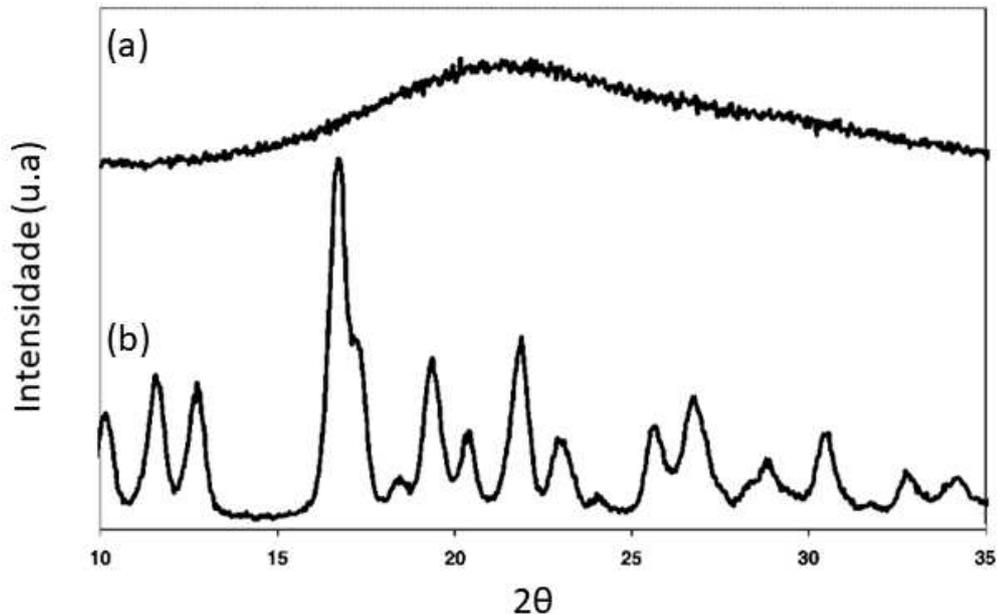
Tabela 2 – Geometria de sistemas cristalinos

Sistema	Eixos	Ângulos axiais
Cúbico	$a_1 = a_2 = a_3$	Todos os ângulos = $90^\circ$
Tetragonal	$a_1 = a_2 \neq c$	Todos os ângulos = $90^\circ$
Ortorrômico	$a \neq b \neq c$	Todos os ângulos = $90^\circ$
Monoclínico	$a \neq b \neq c$	2 ângulos = $90^\circ$ ; 1 ângulo $\neq 90^\circ$
Triclínico	$a \neq b \neq c$	Todos os ângulos diferentes; nenhum igual a $90^\circ$
Hexagonal	$a_1 = a_2 = a_3 \neq c$	Ângulo = $90^\circ$ e $120^\circ$
Romboédrico	$a_1 = a_2 = a_3$	Todos os ângulos iguais, mas não $90^\circ$

Fonte: Van Vlack (2000)

Sólidos amorfos e cristalinos podem ser diferenciados por algumas técnicas como difração de raio-x de pó (DRXP) ou calorimetria diferencial de varredura (DSC). Devido a esse arranjo molecular não ordenado, sólidos amorfos não difratam os raios-x da mesma maneira que sólidos cristalinos, como observado na Figura 12. Sólidos cristalinos, apresentam picos bem definidos enquanto sólidos amorfos apresentam apenas um halo largo e difuso (Hilden; Morris, 2004).

Figura 12 – Difratoograma com padrão de difração da indometacina (a) amorfa e (b) cristalina



Fonte: adaptado de Hilden e Morris (2004)

## 2.9 POLIMORFISMO E PSEUDOPOLIMORFISMO

É o termo referente a sistemas nos quais uma determinada substância pode existir em estruturas caracterizadas por diferentes células unitárias, mas apresentando a mesma composição elementar (Brittain, 2009). Estados idênticos de líquido e vapor a partir de estruturas cristalinas diferentes, pode ser entendido como uma definição mais “segura” de sistemas polimórficos (Bernstein, 2007).

Compostos cristalinos polimorfos apresentam a mesma composição química mas diferentes estruturas cristalinas, tal fato faz com que polimorfos tenham propriedades físico-químicas diferentes como temperatura de fusão, solubilidade, estabilidade e biodisponibilidade (Guerain, 2020; Vippagunta; Brittain; Grant, 2001).

Os solvatos se configuram como estruturas cristalinas que englobam proporções estequiométricas ou não estequiométricas de um solvente, sendo que, quando o solvente em questão é a água, essas entidades cristalinas são frequentemente denominadas hidratos (Raw *et al.*, 2004).

Para substâncias medicamentosas, é importante que sejam gerados estudos de possíveis polimorfos antes do início dos estudos clínicos (Snider; Addicks; Owens, 2004). Um caso de polimorfismo ocorreu com a produção de ritonavir pelo Laboratório Abbott em 1998, quando muitos lotes do produto falharam em testes de dissolução e

estavam precipitando nos frascos. Após análise mais profunda, foi observada então a formação de uma nova forma cristalina mais estável termodinamicamente e menos solúvel (Chemburkar *et al.*, 2000).

Os procedimentos que englobam métodos antissolvente têm se destacado não somente no contexto da micronização de partículas, mas também na produção de polimorfos de vários princípios farmacêuticos (Moribe; Tozuka; Yamamoto, 2008).

A utilização de um procedimento GAS para a recristalização de substâncias de natureza farmacêutica oferece uma abordagem versátil para a criação de novos polimorfos de fármacos, a variabilidade de parâmetros experimentais do processo permite uma ampla gama de condições para as fases de nucleação e crescimento de cristais, viabilizando assim, a obtenção de partículas com distintos arranjos cristalinos (Li *et al.*, 2016).

Atualmente a comprovação da ocorrência de polimorfismo baseia-se na apresentação de uma estrutura cristalina não equivalente, sendo a técnica de difração de raio-x de monocristal utilizada para demonstrar a presença de polimorfos (Raw *et al.*, 2004), outras técnicas como métodos térmicos, microscopia e espectroscopia no infravermelho também auxiliam na identificação de polimorfos (Yu *et al.*, 1998).

## 2.10 COCRISTAIS

A estrutura cristalina do sólido influencia as propriedades do composto, a introdução na rede cristalina de outra molécula pode modificar as características do estado sólido original sem afetar a identidade da molécula nativa (Bandaru *et al.*, 2021)

Um cocrystal é definido pela *Food and Drug Administration* (FDA) como “material cristalino composto por duas ou mais moléculas diferentes normalmente um ingrediente farmacêutico ativo (API) e formadores de cocrystal (coformadores), na mesma rede cristalina em proporção estequiométrica definida” (Food And Drug Administration, 2018), sendo esses coformadores componentes não tóxicos geralmente reconhecidos como seguros (GRAS) (Bandaru *et al.*, 2021).

A formação de cocrystal tem o potencial de melhorar as propriedades físico-química do API como estabilidade, biodisponibilidade, solubilidade (Chieng; Rades; Aaltonen, 2011; Karimi-Jafari *et al.*, 2018; Sokal; Pindelska, 2017) sem comprometer o seu benefício terapêutico, tornando-os uma opção atraente para o desenvolvimento de medicamentos (Kavanagh *et al.*, 2019).

Os métodos para produção de cocristais podem ser baseados em métodos em solução como, por exemplo, os métodos de evaporação de solvente, métodos antissolvente, cristalização por resfriamento ou então em métodos baseados em sólidos como o caso da cocrystalização por contato, moagem de sólidos, moagem assistida por líquidos ou cocrystalização por fusão (Guo *et al.*, 2021; Karimi-Jafari *et al.*, 2018). Metodologias como moagem assistida por líquido (LAG) e transformação de fase mediada por solução, são métodos eficientes para identificar possíveis cocristais (Friščić; Jones, 2010).

Além dos métodos citados, outros métodos podem ser aplicados para obter-se a cocrystalização de um API. A tecnologia supercrítica tem apresentado crescimento na área de processamento de materiais e se mostra como alternativa aos processos convencionais de formação de cocristais a base de solvente. Além disso, apresenta a vantagem de ocorrer em etapa única e ser ambientalmente amigável (Padrela *et al.*, 2009).

Vários cocristais já foram produzidos utilizando as tecnologias com CO<sub>2</sub> supercrítico. A técnica de cristalização em solvente supercrítico (CSS) foi utilizada para produzir cocristais de niclosamida-ureia (MacEachern *et al.*, 2023), GAS foi capaz de produzir cocristais de naproxeno-bipiridina (Ercicek *et al.*, 2023), quercetina-nicotinamida (Dias *et al.*, 2022), itraconazol-L-ácido málico (Ober; Montgomery; Gupta, 2013), itraconazol-ácido succínico (Ober; Gupta, 2012), naproxeno-nicotinamida (Neurohr *et al.*, 2013) e SAS produziu cocristais de diflunisal-nicotinamida (Cuadra *et al.*, 2016)

A caracterização de novos cocristais faz uso das principais técnicas para caracterização de materiais sólidos como difração de raio-x de pó, calorimetria diferencial de varredura, análises termogravimétricas, espectroscopia de infravermelho ou Raman e ressonância magnética nuclear (Duggirala *et al.*, 2016).

A análise de DRXP é utilizada de maneira a comparar as reflexões apresentadas pelo composto puro com as reflexões presentes no difratogramas da amostra suspeita de ser um cocrystal. A presença de reflexões não coincidentes ou o desaparecimento de picos entre a amostra e o composto puro, pode indicar a formação de nova fase cristalina. Já quando os difratogramas se sobrepõem podemos sugerir que há apenas uma mistura física (Pessoa *et al.*, 2019).

Análises térmicas também são aplicadas para a caracterização de cocristais, devido ao fato que o comportamento térmico do cocrystal pode ser diferente quando

comparado com comportamento térmico de ambos os compostos (Paulazzi *et al.*, 2022). Schultheiss e Newman (2009) em suas discussões sobre o ponto de fusão observaram que a temperatura de fusão pode ser maior, igual ou menor que a temperatura dos compostos puro, os cocristais formados apresentam em 51% dos casos uma temperatura de fusão intermediária entre as temperaturas de fusão dos compostos puros e em 39% dos casos uma temperatura de fusão inferior a temperatura dos compostos puros.

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 MATERIAIS

Berberina foi adquirida da Active Pharmaceutica (Florianópolis, Brasil), Diclorometano foi adquirido da Dinâmica Química Contemporânea (Indaiatuba, Brazil), Etanol (99,5%) foi adquirida da Êxodo Científica (Sumaré, Brasil), Metanol foi adquirido da Êxodo Científica (Sumaré, Brasil), ácido ascórbico foi adquirido da Êxodo Científica (Sumaré, Brasil), cafeína foi adquirido da Chem-impex (Wood Dale, USA) nicotinamida foi adquirido da Dinâmica Química Contemporânea (Indaiatuba, Brazil), curcumina foi adquirido da Neon (Suzano, Brasil), piperina foi adquirido da HanzHong TRG Bio-Tech Co (China), resveratrol foi adquirido da SM Empreendimentos (São Paulo, Brazil) e o dióxido de carbono (99,9% fase líquida) foi adquirido da White Martins (São Paulo, Brasil),

#### 3.2 SOLUBILIDADE

A solubilidade da berberina em vários solventes foi avaliada utilizando acetona, etanol, metanol, 1-propanol, 1-butanol e diclorometano (DCM).

A determinação da solubilidade foi adaptada de Maharana e Sarkar (2019) por meio de ensaios a temperaturas de 25 °C e 35 °C, onde uma quantidade em excesso do composto foi colocado em 100 mL de solvente. A amostra foi colocada em agitação a 100 rpm na temperatura selecionada por 24 h para atingir o equilíbrio sólido-líquido.

Em seguida, a solução foi mantida por 2 h na temperatura sem agitação para que ocorresse a sedimentação de partículas não solubilizadas. Uma alíquota foi retirada e a amostra foi analisada em espectrofotômetro de UV-Vis 8000XI FEMTO e comparado com a curva padrão.

#### 3.3 OTIMIZAÇÃO DE PARÂMETROS

Com o objetivo de encontrar a melhor condição para a execução do método GAS antissolvente é necessário o estudo do comportamento de fases do sistema. Tendo em vista que a força motriz para a precipitação das partículas é a variação do volume parcial molar, a mesma foi calculada segundo a equação 8:

$$-\frac{\Delta \bar{v}}{v} = 1 - \frac{\bar{v}_2}{v_2} \quad (8)$$

Como observado, a precipitação pelo GAS antissolvente está associada à variação do volume parcial molar do solvente, coincidindo a queda na variação da concentração de soluto na fase líquida, com a variação parcial do volume molar.

Para os cálculos se fez uso da abordagem proposta por Mukhopadhyay e Dalvi (2004), onde fração de soluto no sistema ternário é proporcional a fração do volume parcial molar do solvente (FVPM).

$$FVPM(T, P, X_S) = \frac{\bar{X}_S v_{L,S}}{v_L} \quad (16)$$

Para o cálculo da fração de soluto no sistema ternário, faz-se uso da razão entre a FVPM na determinada condição e a FVPM em um estado de referência (usualmente a pressão atmosférica):

$$x_p = \frac{FVPM(T,P,X_S)}{FVPM(T,P^o,X_{SO})} x_p^o \quad (10)$$

Onde  $x_p^o$  é a fração inicial do soluto dissolvido,  $P^o$  a pressão atmosférica e  $X_{SO}$  a fração de antissolvente no sistema.

Os valores do volume parcial molar foram calculados a partir de dados de sistemas binários disponíveis na literatura e são apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 – Dados de ELV de sistemas binários contendo CO<sub>2</sub> e solvente

<b>Solvente</b>	<b>K<sub>ij</sub></b>	<b>L<sub>ij</sub></b>	<b>Referência</b>
Acetona	0,0196	0,0241	Chiu; Lee; Lin (2008)
Diclorometano	0,0673	-0,0173	Tsvintzelis <i>et al.</i> (2004)
Etanol	0,0865	-0,1320	Balbinot Filho <i>et al.</i> (2021)
Metanol	0,0660	0,0180	Chang; Chiu; Day (1998)

Fonte: Elaborado pelo autor

Para obtenção dos valores de volume parcial molar uma equação de estado (EoS) cúbica é requerida, neste caso foi utilizado a equação de PREOS juntamente com a regra de mistura de van der Waals (VdW).

$$P = \frac{RT}{v-b} - \frac{\alpha(T)}{v^2+2bv-b^2} \quad (16)$$

Os parâmetros  $\alpha$  e  $b$  da equação de PREOS representam um parâmetro atrativo e um repulsivo respectivamente, e são calculados de acordo com as equações:

$$\alpha(T) = \alpha(T_c) \times \alpha(T_r, \omega) \quad (17)$$

$$\alpha(T_c) = 0,45724 \left( \frac{R^2 (T_{ci})^2}{P_{ci}} \right) \quad (18)$$

$$\alpha(T_r, \omega) = \left[ 1 + (0,37464 + 1,54226\omega_i - 0,2699\omega^2) \left( 1 - \sqrt{\frac{T}{T_{CI}}} \right) \right]^2 \quad (19)$$

$$b_i = 0,0778 \frac{RT_{ci}}{P_{ci}} \quad (20)$$

Regra de mistura para misturas.

$$\alpha = \sum_i \sum_j x_i x_j \alpha_{ij} \quad (22)$$

$$b = \sum_i \sum_j x_i x_j b_{ij} \quad (23)$$

Regra de combinação

$$a_{ij} = \sqrt{(\alpha_i \alpha_j)} (1 - k_{ij}) \quad (24)$$

$$b_{ij} = \left( \frac{b_i + b_j}{2} \right) (1 - l_{ij}) \quad (25)$$

As equações foram resolvidas utilizando um código desenvolvido em Python 3, utilizando a interface gráfica Spyder, o código utilizado está disponível no APÊNDICE A.

Tendo em vista que a força motriz para a precipitação das partículas é a variação do volume parcial molar coincidindo a queda no volume parcial molar com a concentração de soluto na fase líquida, a variação parcial do volume molar foi calculada segundo a equação 9:

$$\bar{v}_2 = \left[ v - x_1 \left( \frac{\partial v}{\partial x_1} \right)_{P,T} \right] \quad (9)$$

Assim a representação da concentração de soluto na fase líquida do sistema é demonstrada pela equação 11.

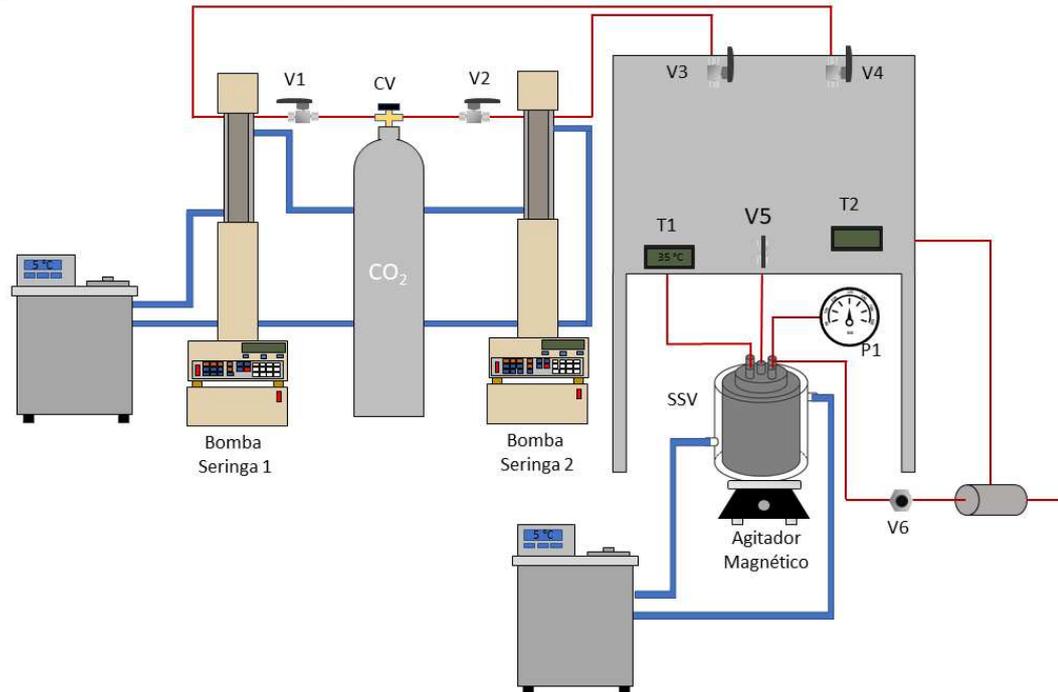
$$x_3(T, P) = \frac{\frac{(1-X_1)\bar{v}_2(T, P, X_1)}{v(P, X_1)}}{\frac{(1-X_{10})\bar{v}_2(T, P_0, X_{10})}{v(P_0, X_{10})}} x_{30}(T, P_0) \quad (11)$$

Sendo  $x_3 = X_3(1 - x_1)$ ,  $x_1 = X_1(1 - x_3)$  e  $x_1 + x_2 + x_3 = 1$ , com  $x_{30}$  a fração molar de soluto no sistema ternário e  $X_{10}$  a fração de CO<sub>2</sub> no solvente em base livre de soluto na pressão de referência  $P_0$  e  $X_1$  a fração de CO<sub>2</sub> em base livre de soluto.

### 3.4 APARATO EXPERIMENTAL

O aparato experimental utilizado na micronização do composto está demonstrado na Figura 13.

Figura 13 – Diagrama esquemático do aparato experimental GAS antissolvente



Fonte: Sakata *et al.* (2021)

O equipamento é composto pelas seguintes partes:

- Cilindro de CO<sub>2</sub> (White Martins, Brasil);
- Banho ultra termostático de recirculação (Nova Ética, modelo 521/2D);
- Bombas seringa (Isco, modelo 500D);
- Filtro de politetrafluoretileno de 0,22 µm;
- Câmara de precipitação de aço inox 316 encamisada de 600 mL (diâmetro interno de 8 cm, altura de 12 cm);
- CV: Válvula de sentido único (HIP, modelo 15-41AF1-T);
- V1, V2, V3, V4: Válvula esfera (Swagelok, modelo SS-83KS4);
- V5: Válvula esfera (HIP, modelo 15-11AF1);
- V6: Válvula métrica tipo agulha (Hoke, modelo 1315G2Y);
- P1: Manômetro (transdutor absoluto – 0 a 250 bar, Smar, modelo LC 301).

### 3.5 GAS ANTISSOLVENTE

O método GAS antissolvente utilizado foi baseado nos trabalhos de Pessoa *et al.* (2019), Yesil-Celiktas e Cetin-Uyanikgil (2012) e Sakata *et al.* (2021).

De acordo com Mukhopadhyay (2003), uma temperatura supercrítica apresenta cristalização rápida necessária para a micronização em comparação com uma temperatura subcrítica que apresenta cristalização mais seletiva melhor para purificação, assim a temperatura de operação escolhida foi 35 °C.

A taxa na qual o CO<sub>2</sub> é adicionado ao sistema de acordo com Dodds, Wood e Charpentier (2007) tem influência na distribuição do tamanho de partícula, tendo em vazões mais altas uma distribuição menor de tamanho de partícula, assim para observar tal fato vazões de 10 e 20 mL/min foram utilizados no experimento.

Com os dados de solubilidade, os valores de pressão e concentração foram escolhidos. Os dados de fração em função da pressão demonstram que a partir de uma pressão de 70 bar, todo soluto independentemente do solvente já está precipitado, assim uma pressão acima foi escolhida, sendo essa 80 bar. Os valores de concentração foram fixados em relação ao solvente com menor solubilidade.

Primeiramente, a solução foi colocada na célula de precipitação, em seguida foi adicionado CO<sub>2</sub> até a pressão de operação ser alcançada. Ao se alcançar a pressão de operação, o sistema foi mantido em agitação a pressão constante por 10 min antes do início da etapa de secagem. Em seguida iniciou-se na etapa de secagem onde CO<sub>2</sub> foi adicionado ao mesmo tempo em que a válvula de saída foi aberta para que a saída do CO<sub>2</sub> arraste o solvente para fora, assim secando as partículas. Esta etapa é realizada a pressão constante e neste estudo para uma solução de 25 mL foram utilizados aproximadamente 800 mL de CO<sub>2</sub> líquido para retirada de todo solvente da amostra.

### 3.6 MOAGEM ASSISTIDA POR LIQUIDO (LAG)

Um estudo preliminar sobre a formação de cocristais foi realizado para selecionar os coformadores para os cocristais utilizando a técnica LAG baseando-se em Goud *et al.* (2012), Ribas *et al.* (2019) e Sanphui *et al.* (2011). Berberina e os coformadores apresentados na Tabela 4 foram colocados em almofariz em proporção estequiométrica, com 100 µL de solvente e moídos com pistilo durante 15 min, ao final da moagem as amostras foram coletadas e armazenadas para caracterização.

Tabela 4 – Coformadores utilizados no estudo preliminar para produção de cocrystalis

Amostra	Coformador	Fração molar	Solvente
AA	Ácido Ascórbico	1:1	Etanol
AN	Ácido Nicotínico	1:1	Etanol
CAF	Cafeína	1:1	Etanol
CUR	Curcumina	1:1	Etanol
PIP	Piperina	1:1	Etanol
RSV	Resveratrol	1:1	Etanol

Fonte: Elaborado pelo autor

### 3.7 ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)

FTIR é a técnica espectroscópica utilizada para a identificação de grupos funcionais dos constituintes químicos (Bunaciu; Aboul-Enein; Fleschin, 2011). A radiação é direcionada para a amostra onde parte dela é absorvida pela amostra e parte dela é transmitida, criando assim um espectro representativo da absorbância e transmitância molecular (Dutta, 2017).

Os picos presentes no espectro de infravermelho são relativos a excitação dos modos vibracionais das moléculas presentes na amostra e estão associadas às ligações químicas e grupos funcionais presentes (Ismail; Van De Voort; Sedman, 1997).

A espectroscopia no infravermelho foi realizada na Central de Análises do Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos utilizando um equipamento Agilent Technologies (Cary 600 Series FTIR Spectrometer).

A análise foi realizada com a trituração da amostra seguida de prensagem e a caracterização por FTIR, foi realizada no comprimento de onda de 400 a 4000  $\text{cm}^{-1}$ , com uma resolução de 4  $\text{cm}^{-1}$ .

### 3.8 CALORIMETRIA DIFERENCIAL DE VARREDURA (DSC)

A calorimetria diferencial de varredura é capaz de prover informações detalhadas sobre as propriedades físicas e energéticas de substâncias, com ela temos

informações que não são obtidas facilmente, com precisão ou rapidamente com outras técnicas (Clas; Dalton; Hancock, 1999).

No DSC, a medida é feita pela relação entre a taxa de fluxo de calor da amostra em relação a um material inerte que são aquecidos a taxas iguais, onde mudanças no fluxo de calor direcional associadas a absorção ou evolução do calor são demonstrados como picos, sendo a área dos picos proporcional a mudança de entalpia com sua direção indicando um evento endotérmico ou exotérmico (Biliaderis, 1983).

A análise de DSC foi realizada na Central de Análises do Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos com o equipamento Jade DSC (Perkin Elmer).

A amostra foi aquecida a 40 °C por 1 min, em seguida a temperatura aumentou até 300 °C a uma taxa de aquecimento de 10 °C/min, com um fluxo de nitrogênio a uma taxa de 20 mL/min. O valor do  $\Delta H_{\text{fusão}}$  foi obtido calculando a área do pico.

### 3.9 DIFRAÇÃO DE RAIO-X (DRXP)

A difração de raio-x é um método que pode prover informação sobre a estrutura fina da matéria, como a distribuição e arranjo dos átomos, em uma estrutura cristalina e a distâncias entre átomos e ângulos entre ligações (Warren, 1941). É utilizada para o estudo da estrutura cristalina e espaço atômico, baseando-se na interferência construtiva de raios-x monocromáticos na amostra (Bunaciu; Udriștioiu; Aboul-Enein, 2015).

A análise de DRXP foi realizada no Laboratório Interdisciplinar para o Desenvolvimento de Nanoestruturas (LINDEN) do Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos utilizando equipamento MiniFlex 600 DRX Rigaku. Para o ensaio utilizou-se um intervalo de medida ( $2\theta$ ) de 2-40 nm com uma resolução de 0,02.

### 3.10 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)

As análises de microscopia eletrônica de varredura foram realizadas no Laboratório Central de Microscopia Eletrônica (LCME) da UFSC. Para a análise utilizou-se o microscópio eletrônico de varredura modelo JEOL JSM6390LV.

As amostras foram alocadas em fita de carbono dupla face sobre suporte metálico, em seguida recobertas com uma camada de ouro sob vácuo para então serem analisadas. As micrografias foram realizadas utilizando uma tensão de 10 kV com zoom de 2000 a 5000 vezes.

### 3.11 DISSOLUÇÃO

A metodologia utilizada para o estudo de dissolução foi baseada nos trabalhos de Aguiar *et al.* (2018), Dal Magro *et al.* (2017); Pessoa *et al.* (2019). Uma amostra de 10 mg foi adicionada a um frasco contendo 100 mL de água destilada a 37 °C em agitação constante de 100 rpm.

Alíquotas de 1 mL foram retiradas nos tempos 5, 10, 15, 20, 30, 45, 60 e 90 min, para cada alíquota retirada a mesma quantidade de meio era recolocado afim de manter o volume constante. A concentração foi determinada por espectrometria.

### 3.12 FORMAÇÃO DE MONOCRISTAIS

O estudo da formação de monocristais de berberina foi realizado em 6 solventes diferentes, acetona, etanol, metanol, 1-propanol, 1-butanol.

Uma quantidade em excesso de berberina foi adicionada à 100 mL do solvente e deixado em agitação por 24 h a 45 °C, em seguida foi retirado da agitação por 2 h para que ocorresse a precipitação da parte não solubilizada. Então foram retiradas alíquotas de 1 mL que foram armazenadas a temperatura ambiente.

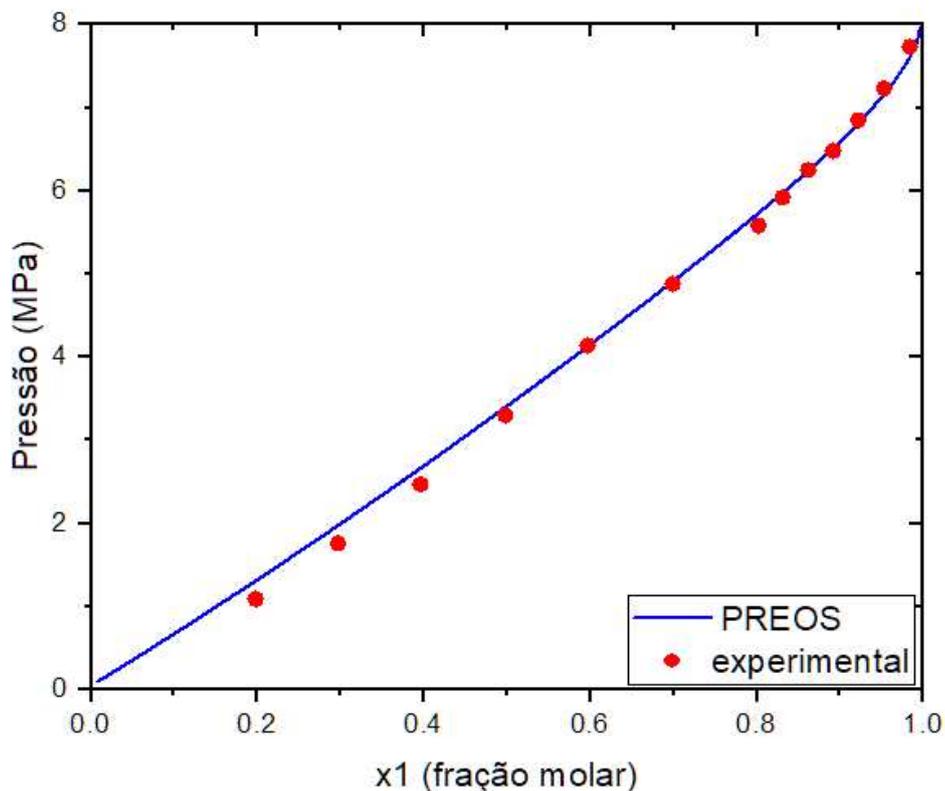
## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste capítulo serão apresentados os resultados obtidos na modelagem do sistema, onde foram obtidas informações sobre o comportamento do sistema e escolhidos os parâmetros de pressão e temperatura e o solvente utilizado. Também são apresentados os dados da caracterização das partículas micronizadas. Os resultados do estudo sobre os possíveis coformadores e a caracterização dos cocristais e a produção de monocristais.

### 4.1 MODELAGEM DO EQUILÍBRIO

Com o objetivo de otimizar as variáveis, pressão e temperatura, para a micronização, foi realizada a modelagem do equilíbrio líquido-vapor para sistemas contendo  $\text{CO}_2$  e solvente. Os solventes selecionados estão apresentados na tabela 3, juntamente com as referências e os valores de  $k_{ij}$  e  $l_{ij}$ . A Figura 14-17 representa os diagramas de equilíbrio líquido-vapor obtidos pelo modelo empregado.

Figura 14 – Diagramas de equilíbrio líquido-vapor da acetona a 308 K



Fonte: Elaborado pelo autor

Figura 15 – Diagramas de equilíbrio líquido-vapor da DCM a 308 K

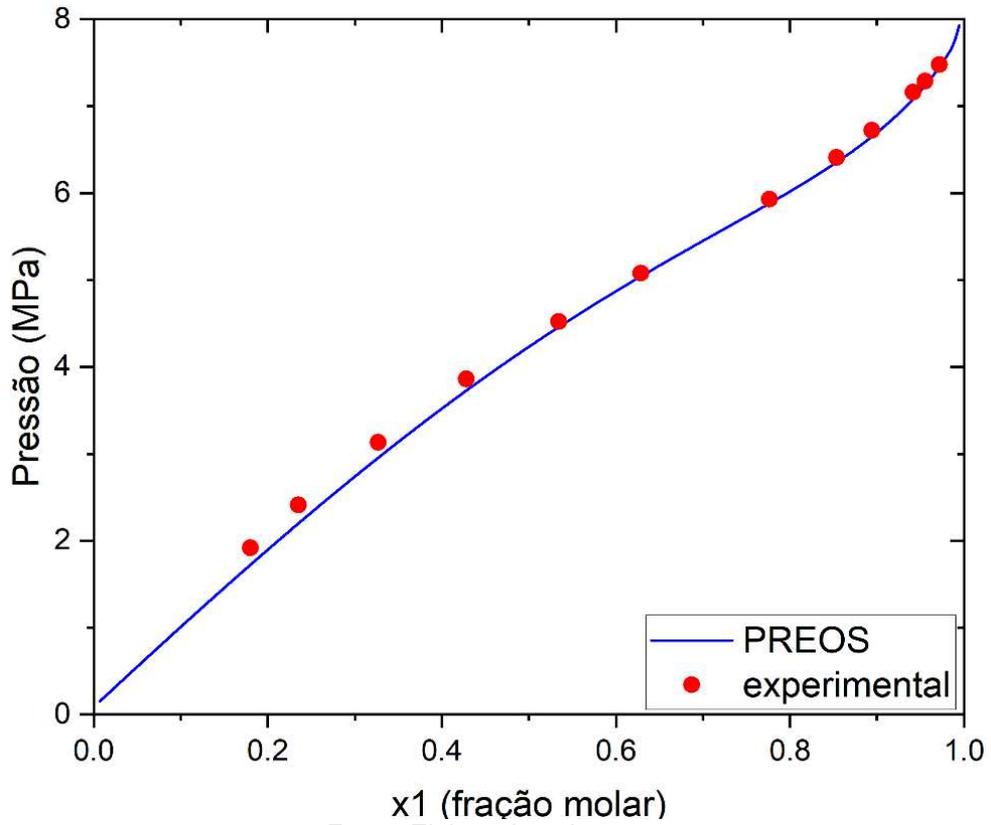


Figura 16 – Diagramas de equilíbrio líquido-vapor do etanol a 308 K

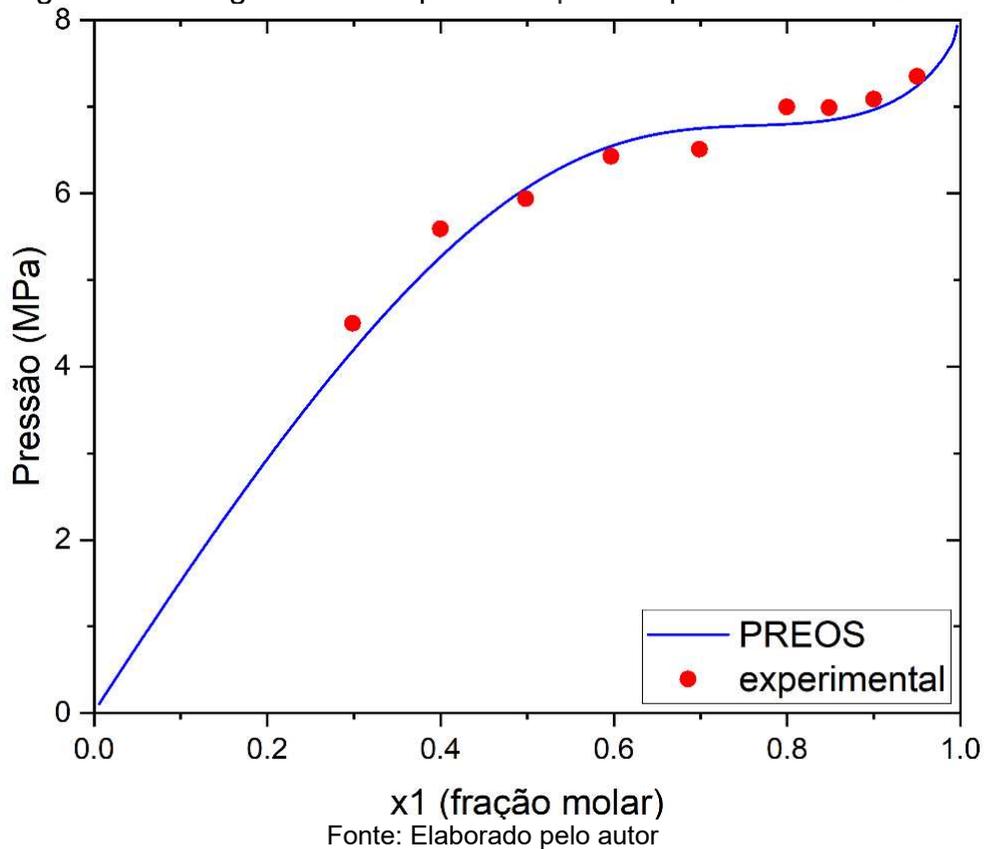
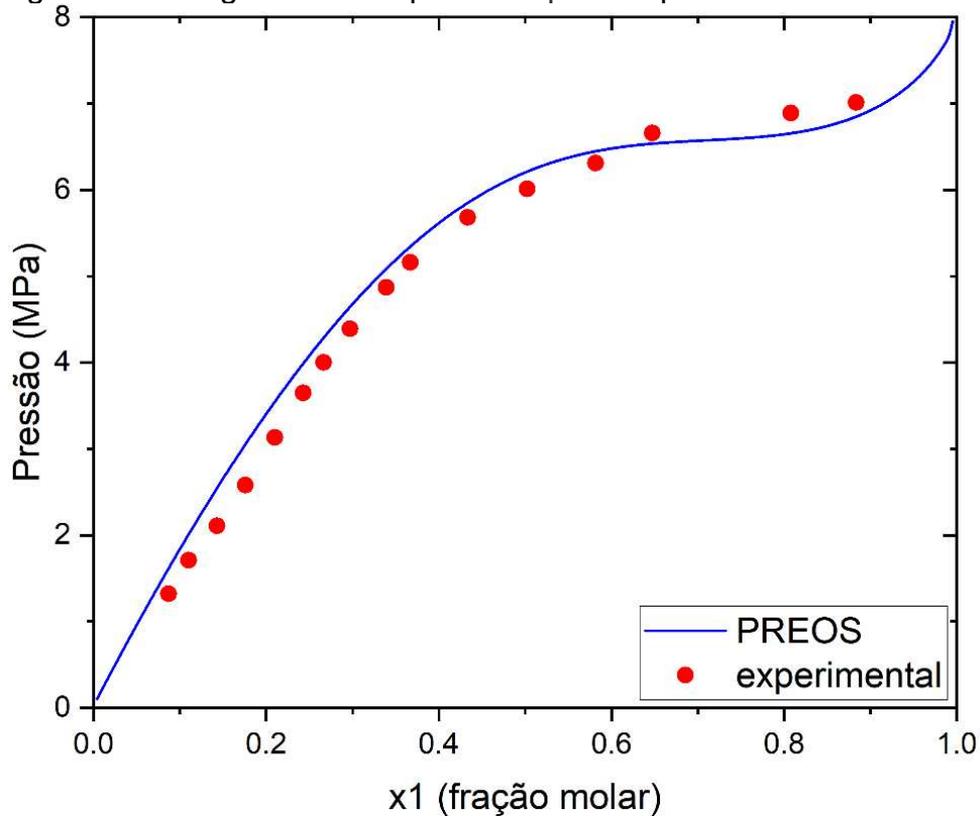


Figura 17 – Diagramas de equilíbrio líquido-vapor do metanol a 308 K

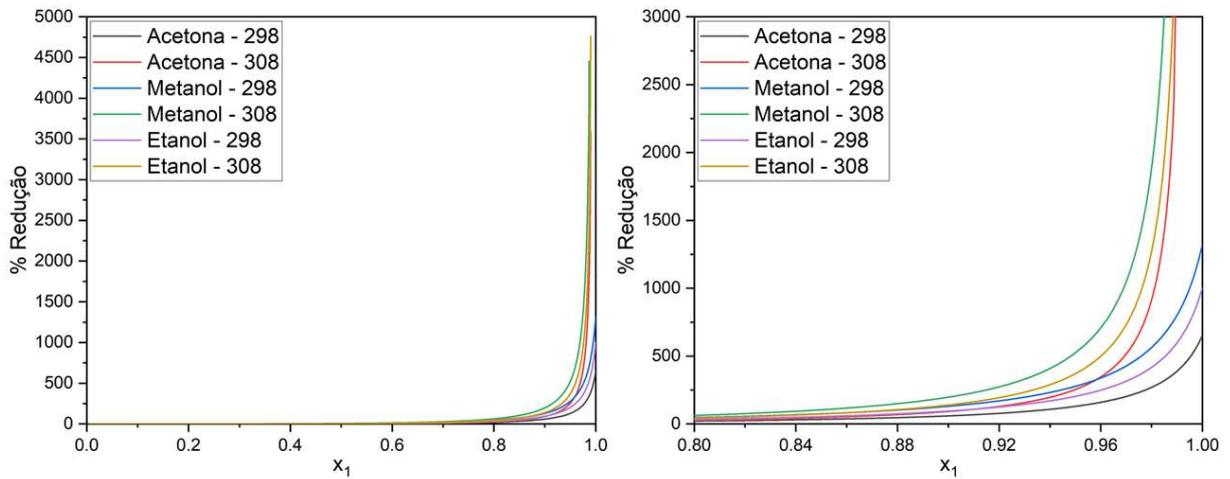


Fonte: Elaborado pelo autor

É possível observar que o modelo obteve êxito ao representar os dados de equilíbrio nos sistemas estudados e que a equação de Peng-Robinson foi capaz de representar o equilíbrio líquido-vapor, validando assim a capacidade do código utilizado (APÊNDICE A) na representação do equilíbrio líquido-vapor de sistemas binários.

A partir dos dados de equilíbrio líquido-vapor é possível a obtenção dos dados de volume parcial molar do solvente no sistema binário. A equação 9, foi utilizada para os cálculos, partindo dos dados de volume total obtidos pela modelagem do sistema, juntamente com a fração molar de antissolvente e a variação desse volume em função da variação da fração molar. Com o intuito de observar a influência da temperatura na variação do volume parcial molar os cálculos foram realizados em duas temperaturas sendo uma abaixo da temperatura crítica (25 °C – 298 K) e uma acima (35 °C – 308 K). Essa variação do volume parcial molar está representada na Figura 18.

Figura 18 – Comparação da redução do volume parcial molar relativo em diferentes temperaturas.



Fonte: Elaborado pelo autor

A partir do gráfico podemos observar a ação da temperatura na variação do volume parcial molar, demonstrando que, em temperatura subcrítica essa variação ocorre de maneira menos intensa em comparação com a temperatura supercrítica. A intensidade com que essa variação ocorre tem fundamental importância na formação de partículas, essa variação menos intensa desempenha uma melhor função em processos de cristalização, já variações mais intensas são exigidas por processos de micronização (Mukhopadhyay, 2003). Demonstrando assim, que uma temperatura supercrítica (35 °C) melhor aplica-se a uma micronização, logo essa foi a temperatura selecionada para a micronização das partículas.

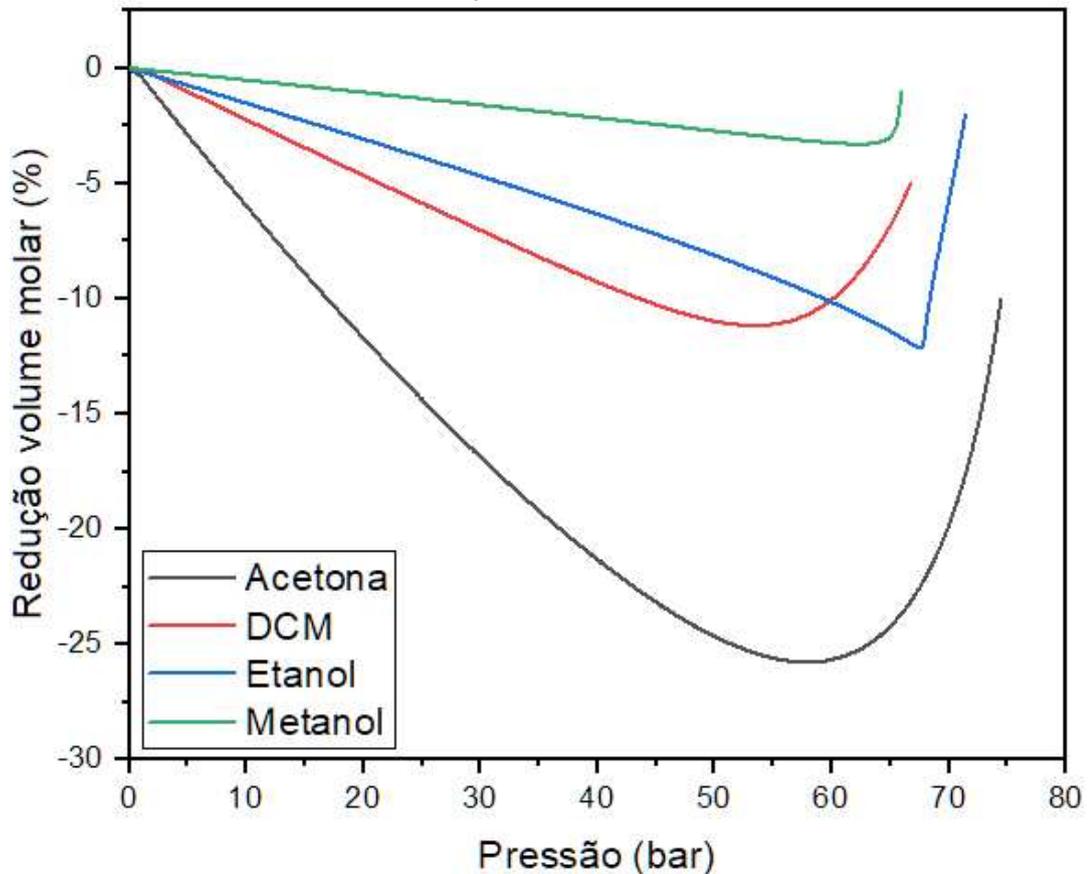
A escolha da pressão de operação utilizada na micronização foi realizada observando o comportamento da variação do volume em função da pressão, representado na Figura 19. É possível observar que em uma determinada pressão o volume apresenta um valor mínimo e a partir desse ponto ocorre uma expansão no volume molar do solvente.

O volume molar da fase líquida tende a diminuir com o aumento da fração de antissolvente enquanto  $\bar{v}_1 < \bar{v}_2$  e apresenta um mínimo em  $\bar{v}_1 = \bar{v}_2$  e um aumento é seguindo quando  $\bar{v}_1 > \bar{v}_2$  (Mukhopadhyay; Dalvi, 2004). Na equação 7, o primeiro termo da equação  $\left(\frac{\partial v}{\partial P}\right)_{x_1, T} \frac{dP}{dx_1}$  é negativo e tem um valor pequeno, já o segundo termo  $\left(\frac{\partial v}{\partial x_1}\right)_{P, T}$  começa negativo e depois torna-se positivo. Logo o volume molar do líquido

inicialmente diminui e depois aumenta com o aumento da fração de CO<sub>2</sub> devido ao aumento do segundo termo a altas pressões (Mukhopadhyay, 2003).

De acordo com De La Fuente Badilla, Peters e De Swaan Arons (2000) a pressão em que ocorre um mínimo na redução do volume molar percentual pode representar a pressão ótima para o processo de GAS.

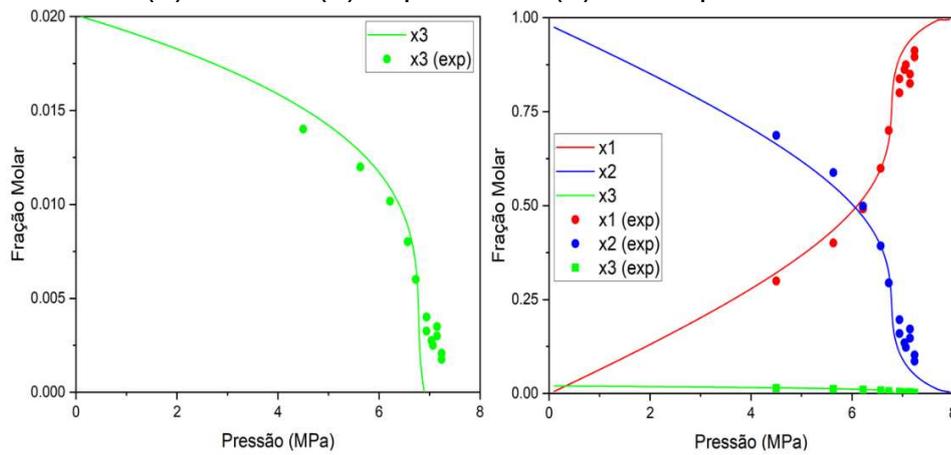
Figura 19 – Redução do volume parcial molar da fase líquida em função da pressão na temperatura de 308 K.



Fonte: Elaborado pelo autor

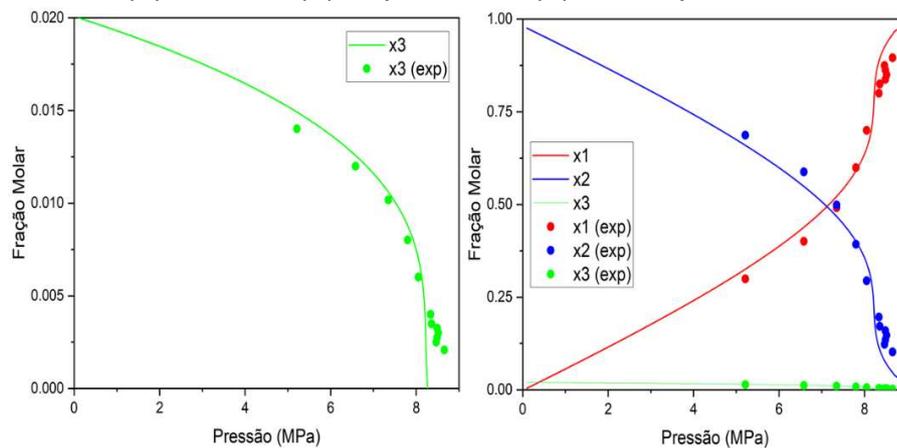
Com o intuito de verificar a aplicação do modelo produzido, dados de equilíbrio líquido-vapor de sistemas ternários contendo CO<sub>2</sub> + etanol + quercetina ou nicotinamida retirados de Balbinot Filho et al. (2021) foram utilizados para testar o código.

Figura 20 – Diagrama pressão-composição para o sistema ternário dióxido de carbono (1) + etanol (2) + quercetina (3) na temperatura de 308 K.



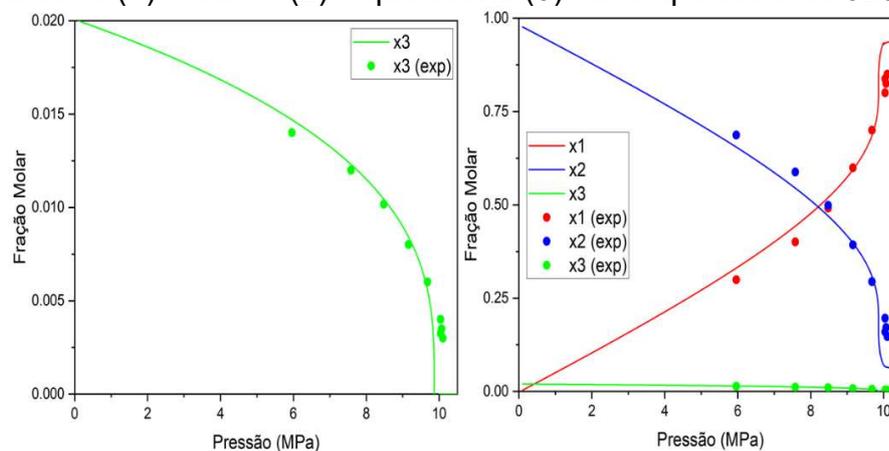
Fonte: Elaborado pelo autor

Figura 21 – Diagrama pressão-composição para o sistema ternário dióxido de carbono (1) + etanol (2) + quercetina (3) na temperatura de 318 K.



Fonte: Elaborado pelo autor

Figura 22 – Diagrama pressão-composição para o sistema ternário dióxido de carbono (1) + etanol (2) + quercetina (3) na temperatura de 328 K.



Fonte: Elaborado pelo autor

A partir das Figuras 20, 21 e 22 é possível observar uma boa representação do modelo para os dados obtidos, demonstrando a aptidão do código na aplicação das equações utilizadas.

Para a escolha dos solventes utilizados no processo de micronização foi realizado uma análise de solubilidade da berberina em 6 solventes e a tabela 5 demonstra os valores obtidos na análise de solubilidade para acetona, DCM, etanol, metanol, 1-butanol e 1-propanol, as análises foram realizadas em duas temperaturas sendo 25 °C e 35 °C com os resultados apresentados em miligramas por mililitros.

Tabela 5 – Solubilidade da berberina em vários solventes a 25 °C e 35 °C

Solvente	Solubilidade (mg/mL)	
	25 °C	35 °C
Acetona	0,16	0,21
DCM	1,27	0,34
Etanol	2,82	4,57
Metanol	15,37	35,00
1-Butanol	3,01	4,33
1-Propanol	5,40	9,49

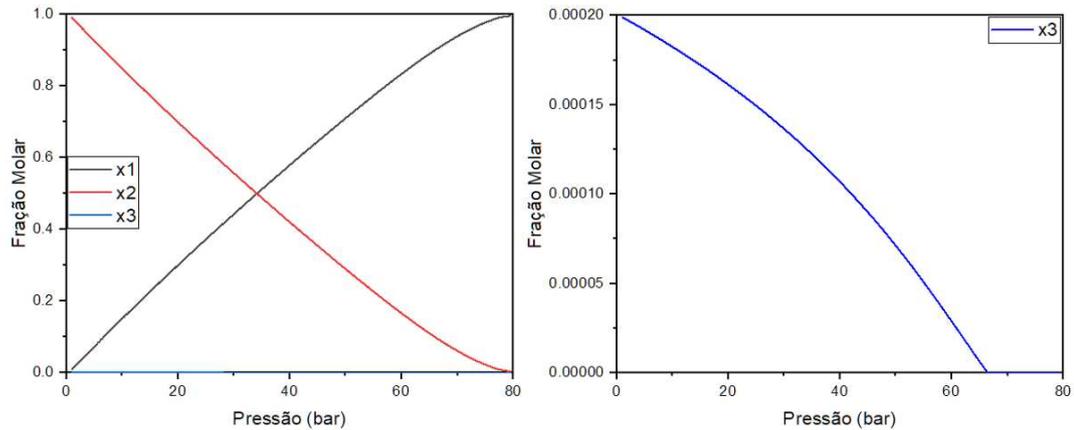
Fonte: Elaborado pelo autor

É possível observar que a solubilidade da berberina aumenta com o aumento da temperatura, isso indica que a dissolução da berberina em todos os solventes apresentam entalpia maior que zero, onde segundo Petrucci *et al.* (2017) sistemas com  $\Delta H_{sol} > 0$  quando aquecidos aumentam a solubilidade no solvente.

O metanol é o composto no qual a berberina apresenta maior solubilidade chegando a 35 mg/mL a 35 °C seguido por 1-propanol, 1-butanol, etanol, DCM e acetona. Partindo dos dados obtidos nas análises anteriores, foram selecionados o etanol, metanol e o diclorometano.

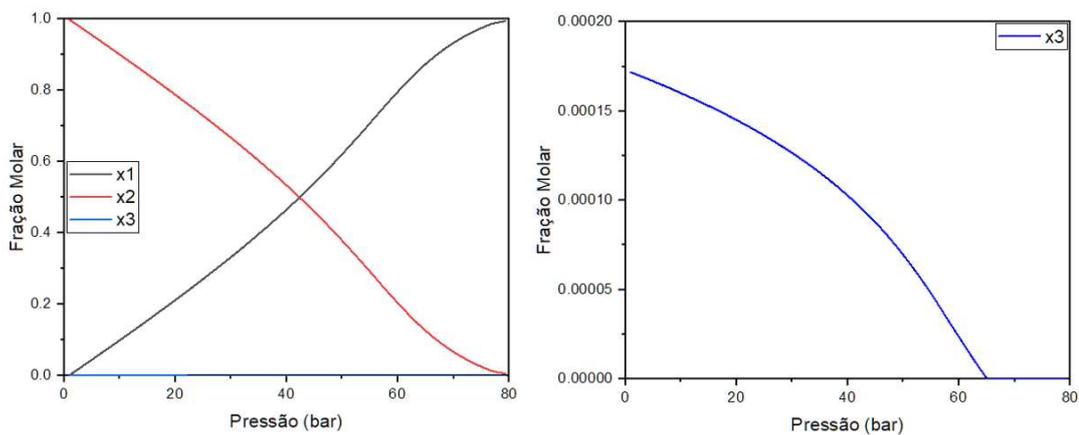
A simulação para o comportamento do sistema ternário (CO<sub>2</sub> + solvente + soluto) foi realizada partindo dos dados de volume parcial molar utilizando-se da equação 29 e está demonstrada nas Figuras 23, 24, 25 e 26.

Figura 23 – Diagrama pressão-composição para o sistema ternário dióxido de carbono (1) + acetona (2) + berberina (3) na temperatura de 308 K.



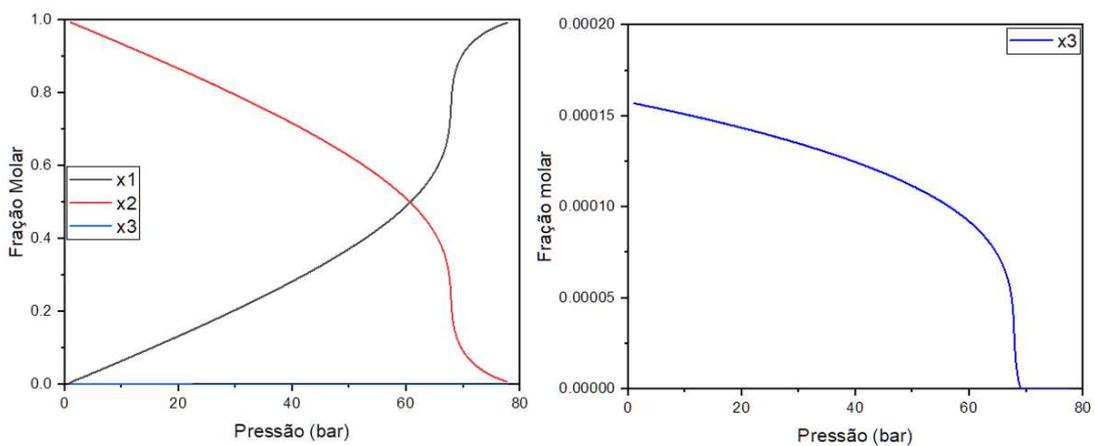
Fonte: Elaborado pelo autor

Figura 24 – Diagrama pressão-composição para o sistema ternário dióxido de carbono (1) + DCM (2) + berberina (3) na temperatura de 308 K.



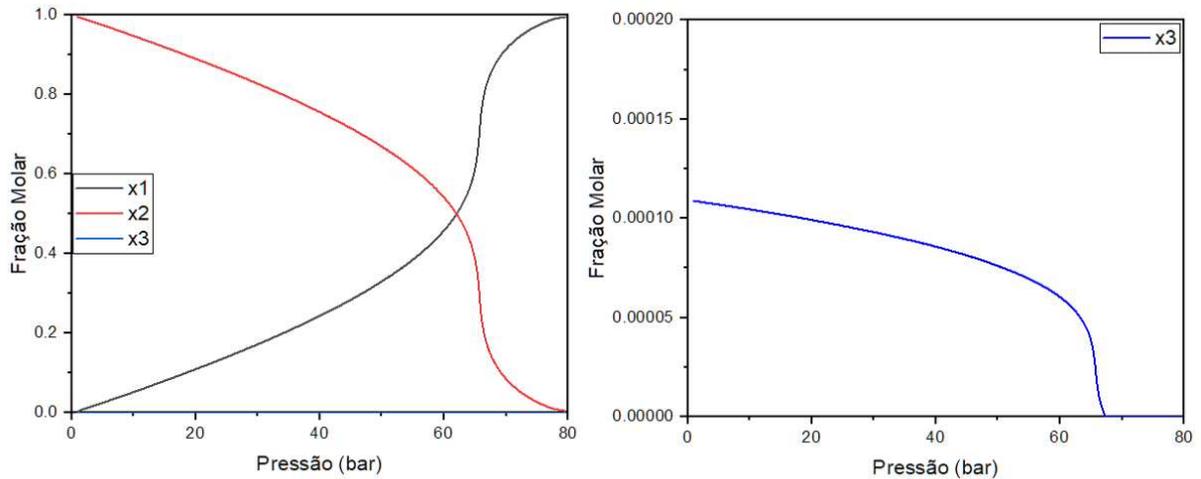
Fonte: Elaborado pelo autor

Figura 25 – Diagrama pressão-composição para o sistema ternário dióxido de carbono (1) + etanol (2) + berberina (3) na temperatura de 308 K.



Fonte: Elaborado pelo autor

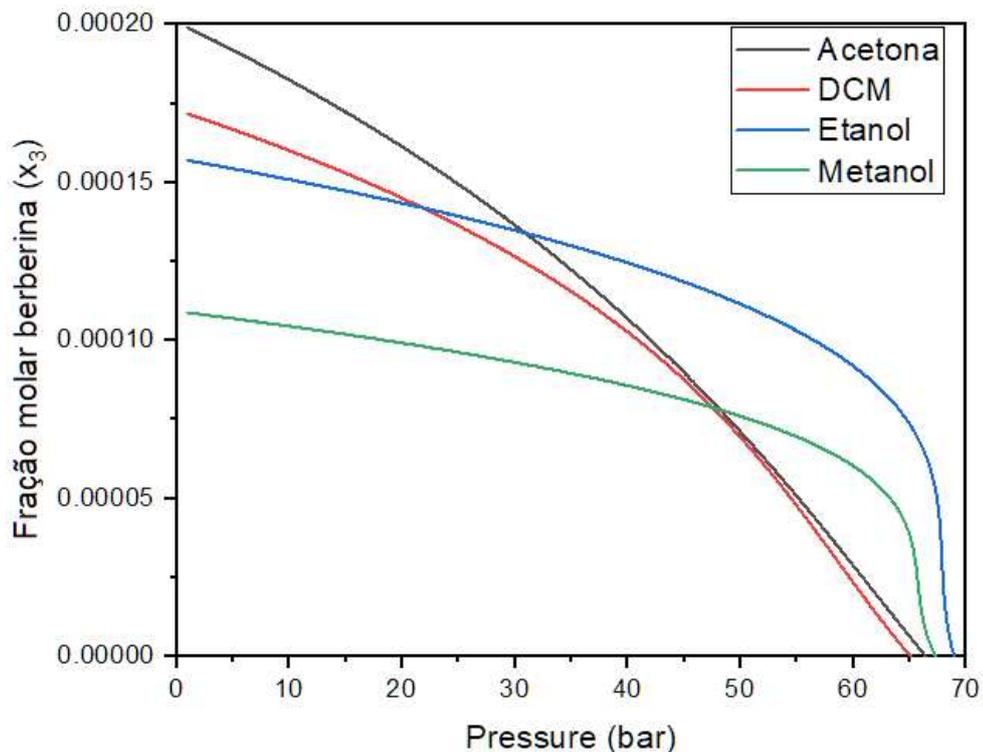
Figura 26 – Diagrama pressão-composição para o sistema ternário dióxido de carbono (1) + metanol (2) + berberina (3) na temperatura de 308 K.



Fonte: Elaborado pelo autor

É possível observar diferentes comportamentos na fração molar da berberina, tais comportamentos influenciam diretamente no tamanho das partículas, e afim de comparar esses comportamentos a Figura 27 apresenta o diagrama de fração em função da pressão para todos os solventes selecionados

Figura 27 – Diagrama pressão-composição calculado para berberina em vários solventes a 308 K.



Fonte: Elaborado pelo autor

A Figura 27 demonstra que para diferentes solventes, diferentes perfis de composição em função da pressão são obtidos. Estes perfis apresentam importantes informações sobre o tamanho de partícula obtido e é possível observar que independente do solvente escolhido em uma pressão de 70 bar todo o soluto está precipitado.

Sistemas com um decréscimo lento na solubilidade do sólido a medida em que o CO<sub>2</sub> é adicionado ao sistema, tendem a apresentar partículas com maiores tamanhos devido a precipitação ocorrer de forma contínua e relativamente lenta, já sistemas em que o decréscimo ocorre de forma mais rápida com uma queda acentuada na solubilidade tendem a apresentar partículas menores e com estreito tamanho devido a rápida e homogênea precipitação nessa região (Martín, A; Cocero, 2008). Com isso foi observado que os melhores parâmetros de pressão e temperatura para a realização da micronização será em 35 °C e 80 bar.

Essa abordagem já foi aplicada na previsão de solubilidade em solventes orgânicos com CO<sub>2</sub> (Su, 2013), otimização da precipitação de partículas em CO<sub>2</sub> (Kumar *et al.*, 2013; Prasad; Patsariya; Dalvi, 2017) e na coprecipitação em processos supercríticos (Guha; Vinjamur; Mukhopadhyay, 2011).

## 4.2 MICRONIZAÇÃO DA BERBERINA UTILIZANDO MÉTODO GAS

No capítulo a seguir serão apresentados os resultados da caracterização das partículas produzidas por Gás antissolvente com uma temperatura de 35 °C e pressão de 80 bar. Foram utilizados vazões de 10 e 20 mL/min para cada solvente, sendo as amostras nomeadas pelo solvente utilizado seguido do valor da vazão de CO<sub>2</sub>.

### 4.2.1 FTIR

Os espectros das partículas obtidas com cada solvente (DCM, etanol e metanol) foram obtidos e estão representados nas Figuras 28, 29 e 30 separados pelos solventes utilizados na produção das partículas em comparação com o composto comercial. A Tabela 6 apresenta as principais ligações características da berberina com seus respectivos comprimentos de onda.

Figura 28 – Espectro Infravermelho (FTIR) das amostras produzidas com diclorometano

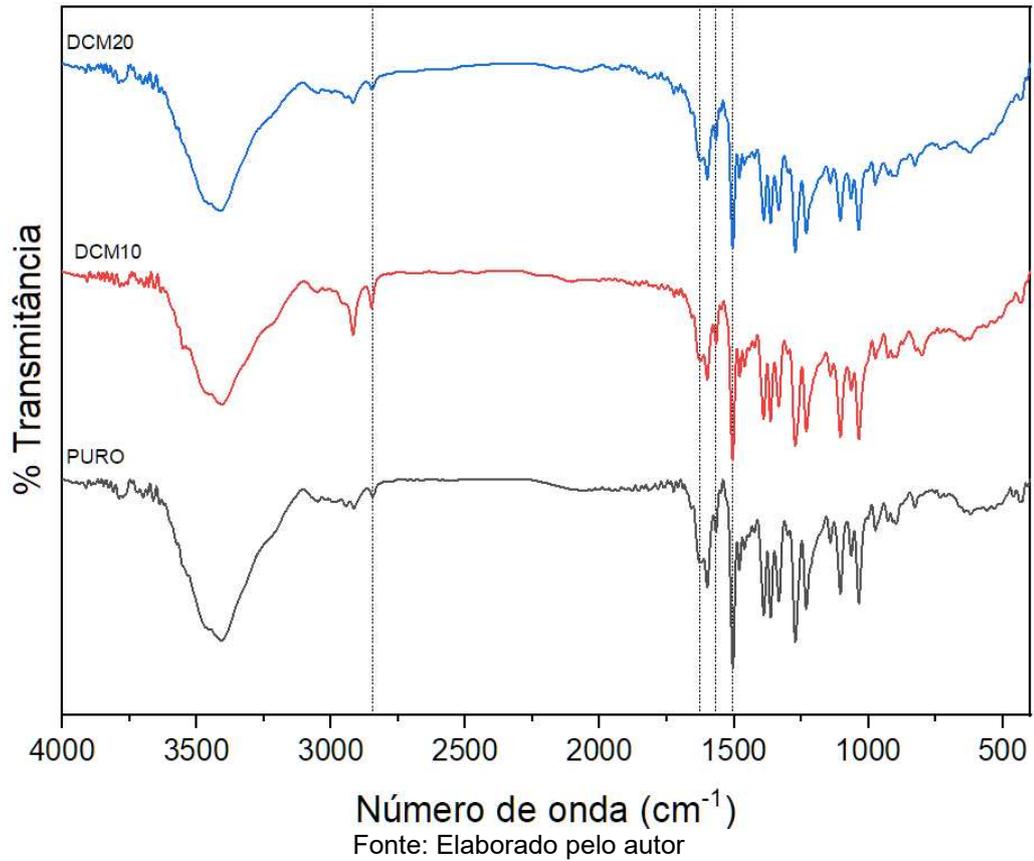


Figura 29 – Espectro Infravermelho (FTIR) das amostras produzidas com etanol

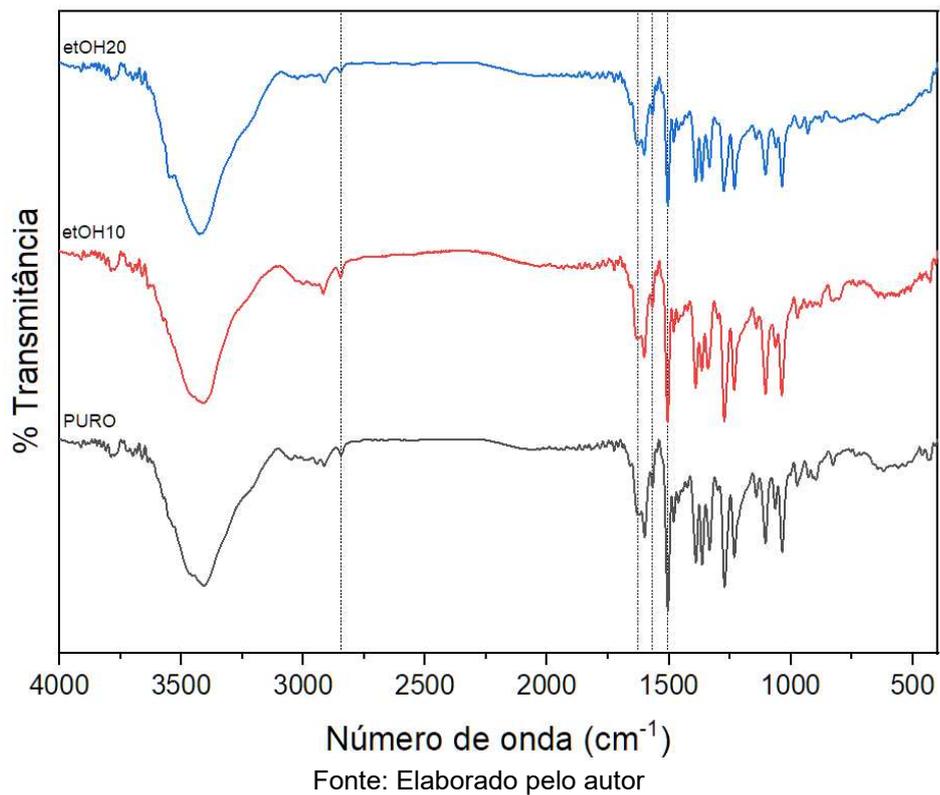
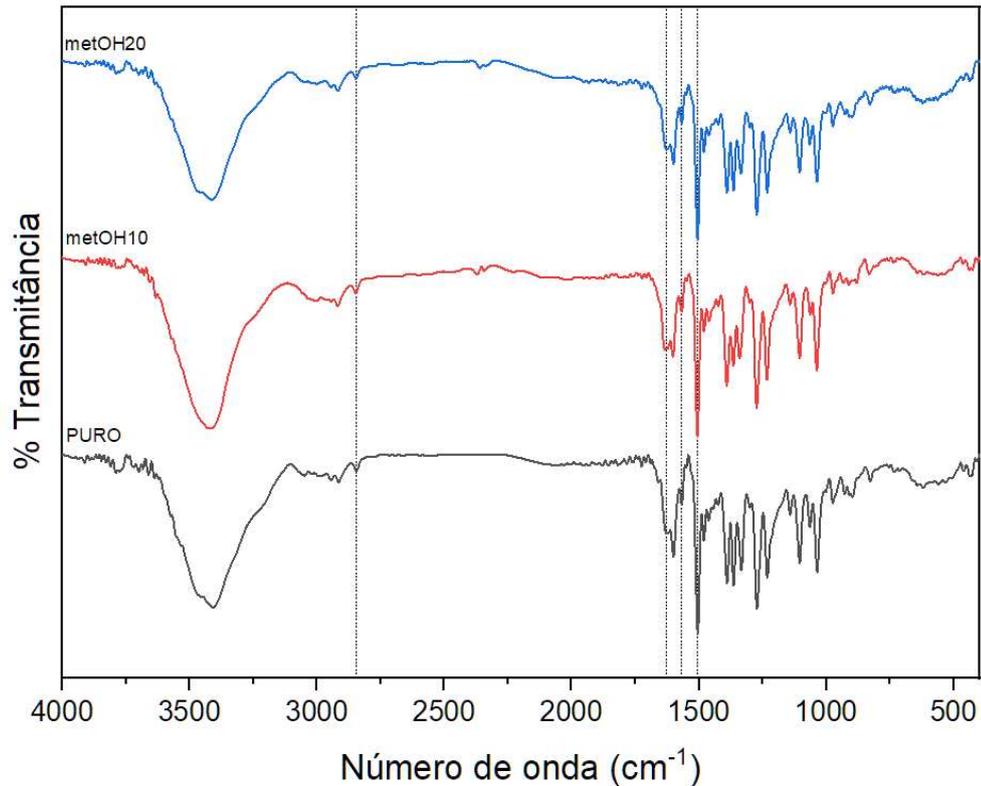


Figura 30 – Espectro Infravermelho (FTIR) das amostras produzidas com metanol



Fonte: Elaborado pelo autor

Tabela 6 – Comprimentos de ondas e ligações característicos da berberina

Modo vibracional	Número de onda (cm <sup>-1</sup> )	Grupamento
I	2844	Metoxil
II	1635	Cátion imínio (C=N <sup>+</sup> )
III	1569	Vibração C=C

Fonte: Elaborado pelo autor

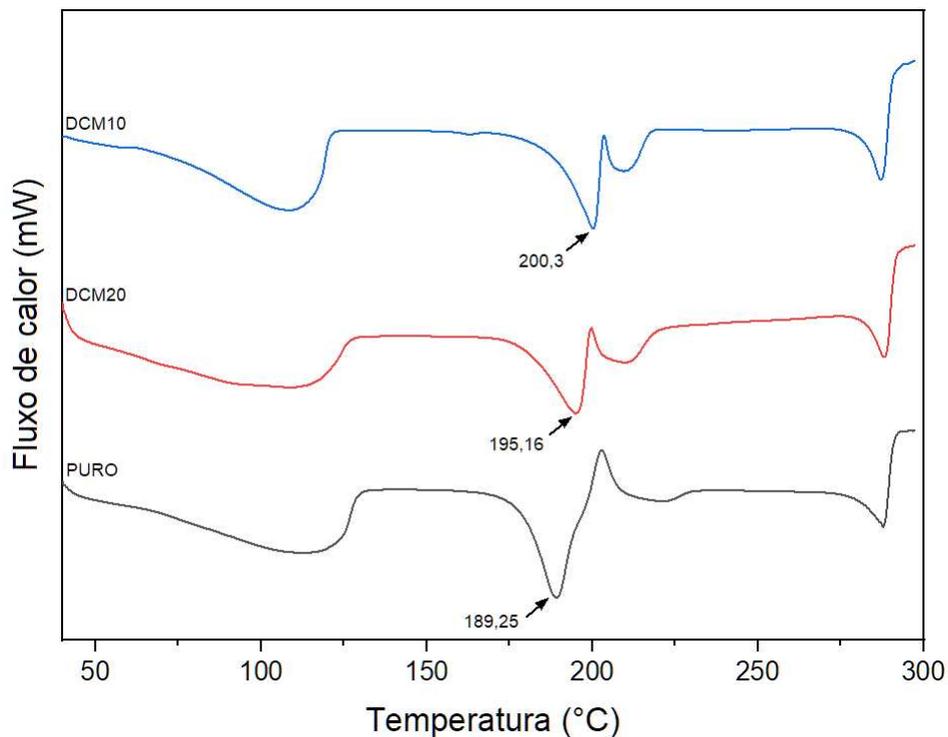
A berberina pura e as amostras apresentam as absorções características presentes em 2844 cm<sup>-1</sup> correspondente ao grupo metoxil (R – O – CH<sub>3</sub>) (Sharma *et al.*, 2004), em 1635 cm<sup>-1</sup> o cátion imínio (alongamento C=N<sup>+</sup>) (Page *et al.*, 2004), em 1569 o estiramento da ligação C=C aromático (Yan; Sun; Lv, 2022). Além das absorções características, estão presentes também os picos na faixa de 1100 a 1272 cm<sup>-1</sup> referentes ao estiramento da ligação C–O e ao estiramento C–N (Khemani; Sharon; Sharon, 2012) e em 1035 cm<sup>-1</sup> vibração C–H (Lam *et al.*, 2012).

Os espectros demonstram que não houve alterações estruturais nas partículas processadas, devido a presença dos picos característicos da amostra pura em todos as partículas processadas.

#### 4.2.2 DSC

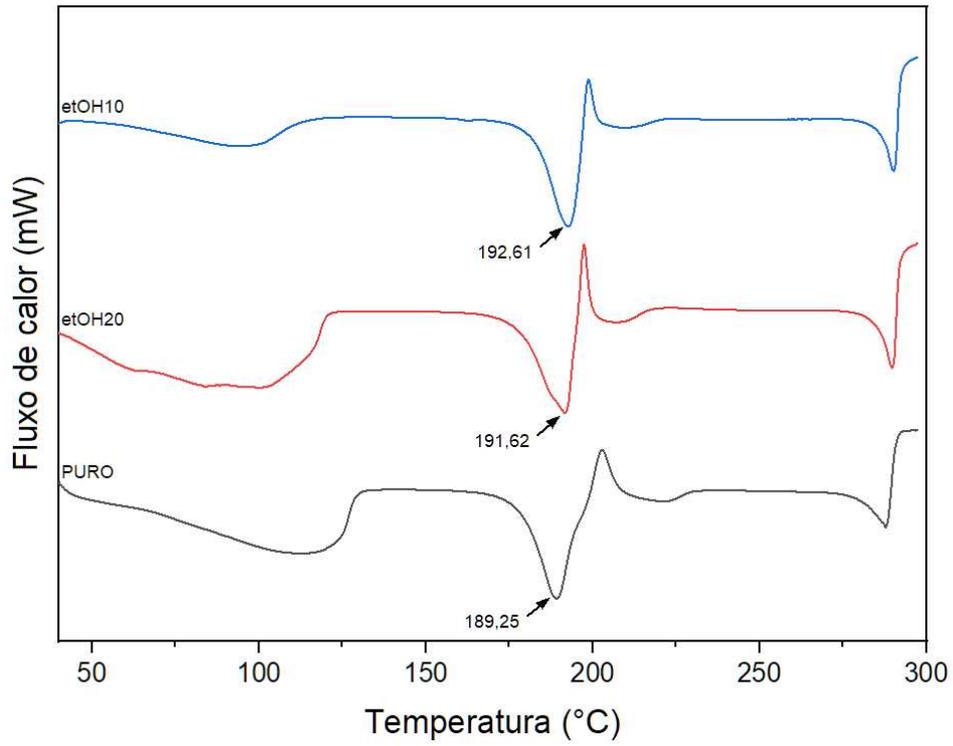
O cloreto de berberina apresenta seu ponto de transição da fase sólida para líquido na temperatura de 189 °C (Torky *et al.*, 2018; Zhaojie *et al.*, 2014) com  $\Delta H_{\text{fusão}} = 112,35 \text{ J/g}$  (ZHANG *et al.*, 2013) e um pico endotérmico entre 95 a 130 °C que pode ser atribuído a desidratação da berberina (Li; Xu, 2010; Li *et al.*, 2020) As curvas do DSC para as amostras estudadas são apresentadas nas Figuras 31, 32 e 33 e os dados de temperatura de fusão, temperatura *on set* e  $\Delta H_{\text{fusão}}$  são apresentados na Tabela 7.

Figura 31 – Calorimetria diferencial de varredura (DSC) das amostras com DCM



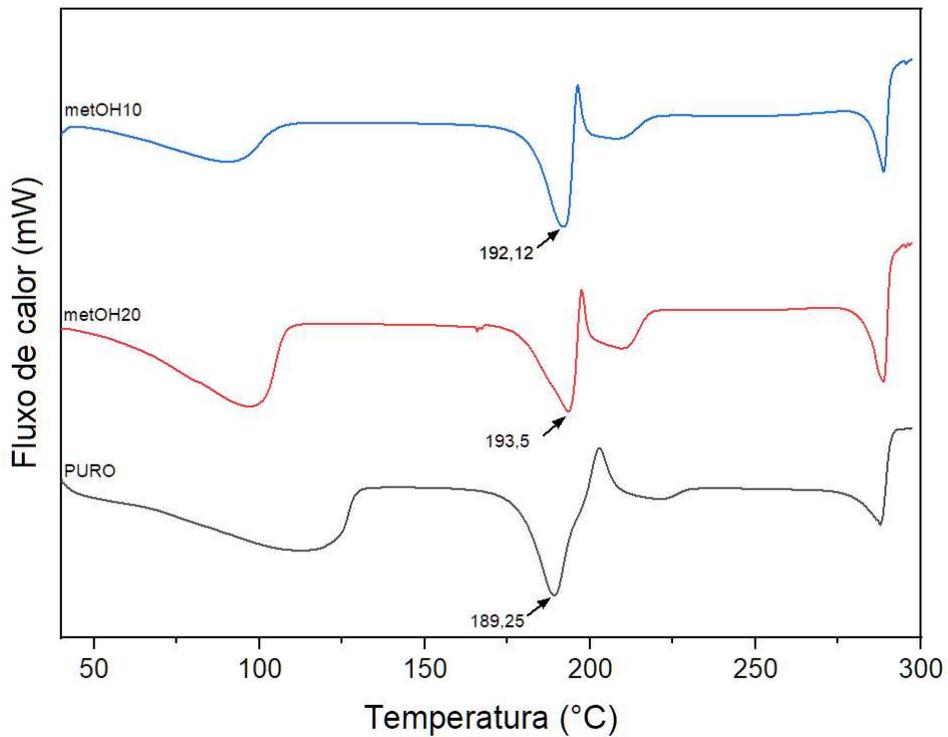
Fonte: Elaborado pelo autor

Figura 32 – Calorimetria diferencial de varredura (DSC) das amostras com etanol



Fonte: Elaborado pelo autor

Figura 33 – Calorimetria diferencial de varredura (DSC) das amostras com metanol



Fonte: Elaborado pelo autor

Tabela 7 – Dados de fusão e entalpia de fusão das amostras

<b>Amostra</b>	<b>T<sub>Fusão</sub></b>	<b>T<sub>on set</sub></b>	<b><math>\Delta H_{\text{fusão}}</math> (J/g)</b>
DCM10	200,30	188,91	88,13
DCM20	195,16	180,17	71,93
etOH10	192,61	182,37	124,72
etOH20	191,62	177,89	108,89
metOH10	192,12	181,70	104,28
metOH20	193,50	178,48	76,82
PURO	189,25	178,75	110,19

Fonte: Elaborado pelo autor

É possível observar alterações nas propriedades térmicas do composto, um aumento na temperatura de fusão foi acompanhando de uma redução no  $\Delta H_{\text{fusão}}$  das amostras. Essas alterações podem ser explicadas por uma possível alteração na estrutura cristalina das partículas micronizadas, que podem alterar algumas propriedades como temperatura de fusão, taxa de dissolução e solubilidade, entre outras propriedades (Aguiar *et al.*, 2017; Martín *et al.*, 2009).

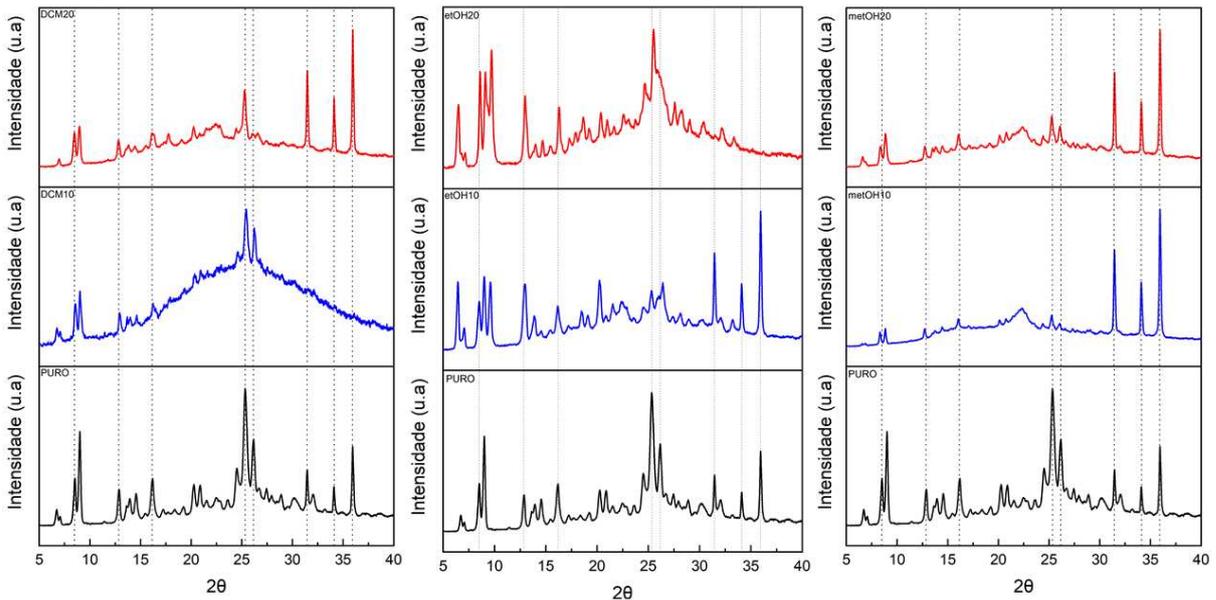
Entretanto os valores de temperatura de fusão obtidos pelas amostras variaram entre 191,62 a 200,3 °C, já foram relatados na literatura e apresentado como ponto de fusão do composto como no caso de Kohli *et al.* (2021) que relataram ponto de fusão com pico em 191,58 °C e Deng *et al.* (2018) que reportaram pico em 201,9 °C entre outros estudos que reportaram valores intermediários (Jia *et al.*, 2018; Lu *et al.*, 2019; Wang *et al.*, 2021; Yang *et al.*, 2020).

Assim o DSC das amostras aponta possíveis diferenças na estrutura cristalina das partículas, tal fato apontado como deslocamento da temperatura de fusão das partículas micronizadas em comparação com o composto comercial.

#### 4.2.3 DRX

A análise sobre a estrutura cristalina pela análise de difração de raio x de pó das amostras está apresentado na Figura 34.

Figura 34 – Difração de raio-x das amostras produzidas e do composto puro



Fonte: Elaborado pelo autor

O cloreto de berberina apresenta picos característicos de cristalinidade para valores de  $2\theta$  de  $8,5^\circ$ ,  $12,86^\circ$ ,  $16,2^\circ$ ,  $25,35^\circ$  e  $26,16^\circ$  conforme já reportado na literatura (Kim; Lee; Cho, 2018; Lu *et al.*, 2019). Foram ainda observados picos característicos em valores de  $31,44^\circ$ ,  $34,12^\circ$  e  $35,92^\circ$  no composto puro.

Para a amostra com DCM uma partícula com estrutura mais amorfa que o composto puro foi obtido, devido à presença do halo de elevação presente no difratograma, mais presente nas amostras de 10 mL/min. Na amostra de 20 mL/min, houve a preservação de grande parte dos picos cristalinos, porém com redução na intensidade, já na vazão de 10 mL/min apenas a preservação dos picos característicos abaixo de  $10^\circ$ , dos picos de  $25,35^\circ$  e  $26,16^\circ$ .

As partículas com etanol apresentam deslocamentos de picos em ambas as vazões de  $\text{CO}_2$ , na vazão de 10 mL/min houve o deslocamento do pico de  $6,74^\circ$  para  $6,44^\circ$  e a formação de um novo plano cristalino em  $9,6^\circ$ . A vazão de 20 mL/min também apresentou deslocamento e aparecimento de novos picos, como no caso do deslocamento de  $6,74^\circ$  para  $6,50^\circ$ , em  $25,35^\circ$  para  $25,50^\circ$  e o aparecimento de um novo pico em  $9,71^\circ$ .

A amostra com metanol com 10 mL/min e 20 mL/min demonstraram as mesmas características com o deslocamento dos picos de  $8,5^\circ$ ,  $9^\circ$  e  $16,2^\circ$  para  $8,3^\circ$ ,  $8,8^\circ$  e  $16,04^\circ$  respectivamente e o desaparecimento do pico de  $32,03^\circ$ .

Alterações na intensidade das reflexões, assim como deslocamento nas reflexões do composto puro para as amostras pode indicar mudanças na forma cristalina do composto, o que pode lhe atribuir novas funcionalidades (Decui *et al.*, 2020). A intensidade relativa dos picos pode ser analisada como uma consequência do tamanho do cristal, isto é, partículas com intensidade reduzida podem ser efeito de uma diminuição da cristalinidade ou no tamanho de partícula (Kayrak; Akman; Hortaçsu, 2003). O aparecimento de novo picos de reflexão ou o desaparecimento das reflexões pode ser considerado um indicativo da formação de uma nova forma polimérica do sólido (Aguiar *et al.*, 2017).

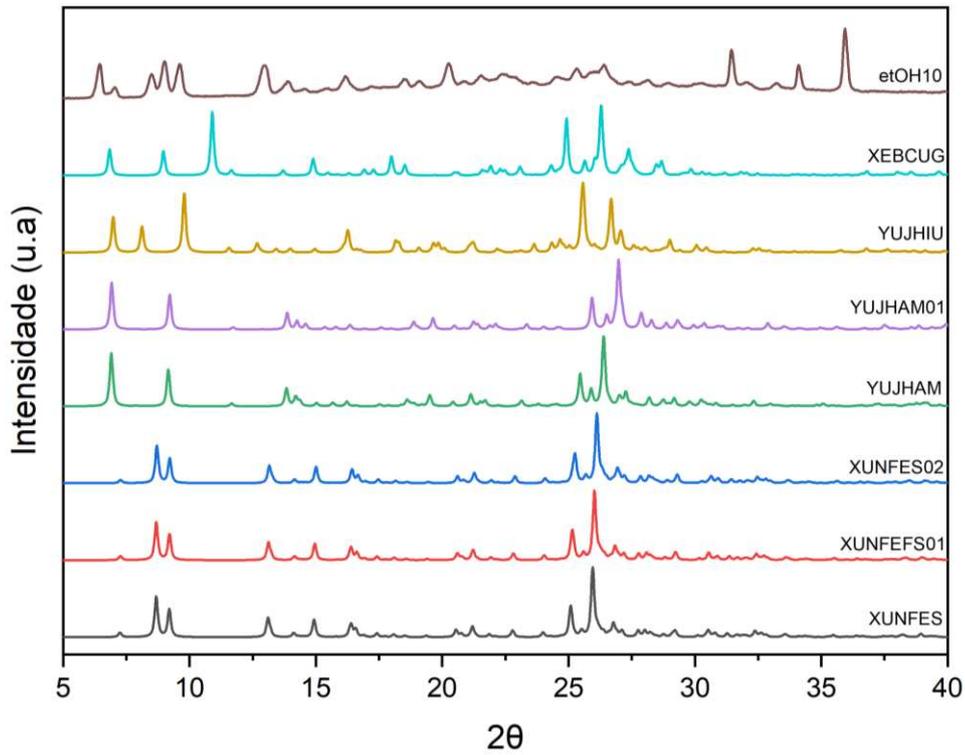
A fim de observar as diferenças na estrutura cristalina das partículas produzidas com etanol, os difratogramas dessas amostras foram comparados com o difratograma simulado de polimorfos disponíveis na literatura. O banco de dados Cambridge Structural Database (CSD) (Groom *et al.*, 2016) apresenta várias estruturas cristalinas para a berberina, conforme a Quadro 1. Assim, foram retirados dados cristalográficos das estruturas e comparadas com os difratogramas das partículas produzidas com etanol, apresentado na Figura 35 e 36.

Quadro 1 – Dados das estruturas de polimorfos da berberina

<b>Estrutura</b>	<b>Código CSD</b>	<b>Referência</b>
Berberina dihidratada	XUNFES	Tong et al. (2010)
Berberina dihidratada	XUNFES01	Singh et al. (2018)
Berberina dihidratada	XUNFES02	Fronczek (2019)
Berberina tetrahidratada	YUJHAM	Kariuki e Jones (1995)
Berberina tetrahidratada	YUJHAM01	Singh et al. (2018)
Solvato etanólico de cloreto berberina	YUJHIU	Kariuki e Jones (1995)
Solvato metanólico de cloreto de berberina	XEBCUG	Kornilova et al. (2022)

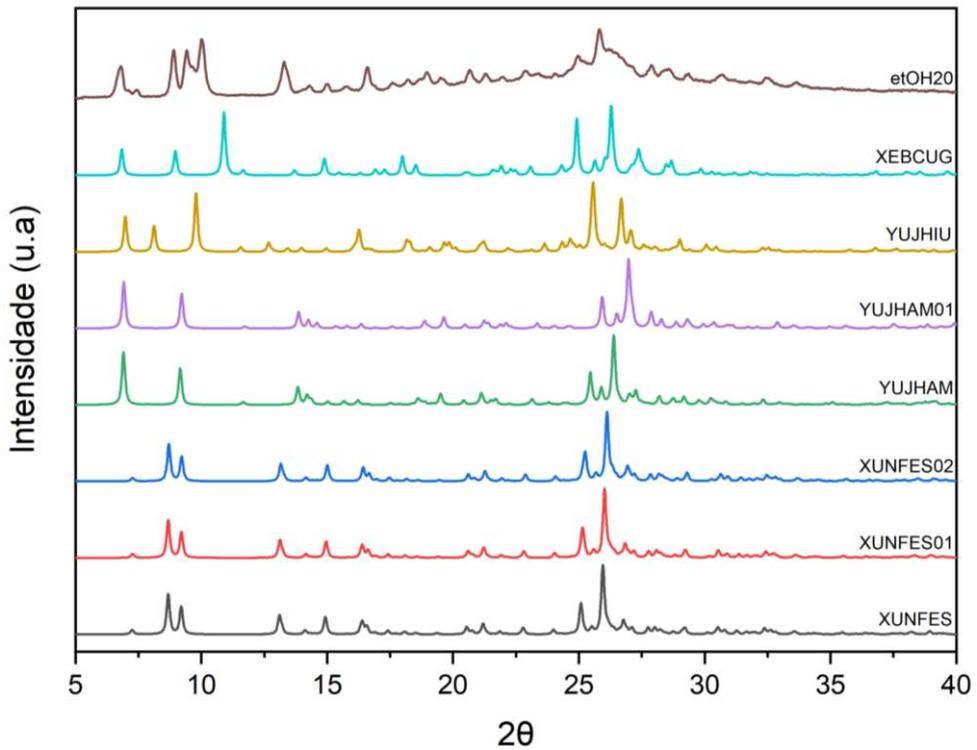
Fonte: Elaborado pelo autor

Figura 35 – Difratoograma das estruturas cristalinas da berberina com amostra etOH10



Fonte: Elaborado pelo autor

Figura 36 – Difratoograma das estruturas cristalinas da berberina com amostra etOH20



Fonte: Elaborado pelo autor

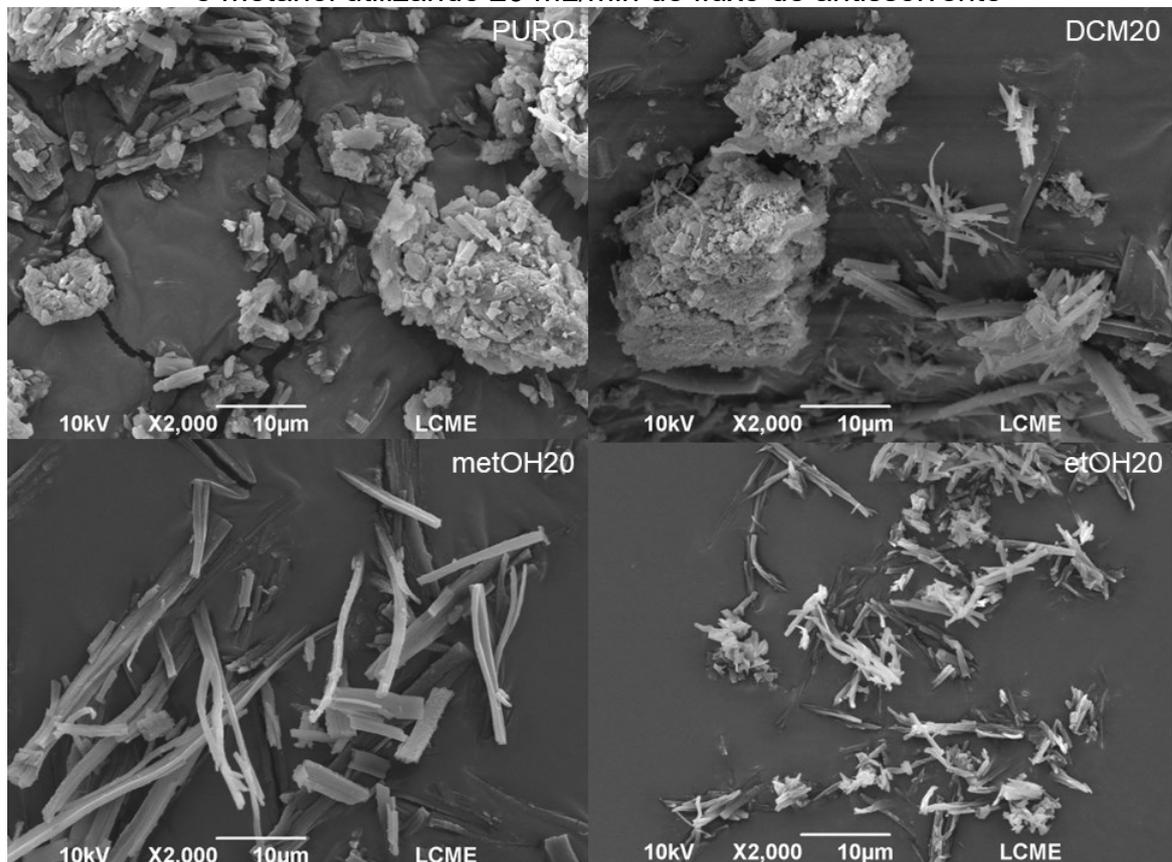
É possível observar que não há coerência de picos entre a amostra etOH10 e etOH20 com os polimorfos já publicados, indicando que os planos cristalinos presentes na amostra ainda não foram descobertos.

As variações térmicas nas análises de DSC juntamente com essa diferença entre os planos cristalinos nos DRXP corroboram assim com a provável formação de uma possível nova forma polimérica do cloreto de berberina para as amostras produzidas com etanol em vazão de 10 e 20 mL/min.

#### 4.2.4 TAMANHO MÉDIO DE PARTÍCULA

O tamanho das partículas e a morfologia obtida antes e depois do processo GAS antissolvente foram examinadas pelo MEV e as micrografias estão apresentadas na Figura 37.

Figura 37 – MEV da berberina comercial e micronizada produzidas com DCM, etanol e metanol utilizando 20 mL/min de fluxo de antissolvente



Fonte: Elaborado pelo autor

O composto puro apresenta partículas com morfologia irregular e tamanhos variados, as mesmas características são observadas nas partículas formadas com DCM com vários formatos e tamanhos. As partículas formadas com etanol e metanol exibem morfologias semelhantes com características de agulha, apresentando um estreito tamanho na largura e uma medida maior no comprimento.

Essas diferenças podem ser explicadas pela provável diferença na precipitação das partículas, conforme observado na Figura 27 a redução na solubilidade do composto em DCM se apresenta de uma forma muito menos intensa o que possibilita a aglomeração das partículas.

A solubilidade do composto em etanol e metanol apresentam um perfil semelhante, onde em uma determinada pressão ocorre uma queda intensa na solubilidade causando uma rápida precipitação das partículas. Esse perfil semelhante pode explicar a semelhança nas morfologias entre os solventes.

Assim como apresentado no estudo da abordagem da redução do volume parcial molar, partículas produzidas com etanol e metanol eram esperadas com menor tamanho se comparado com as partículas com DCM.

As medidas de comprimento e largura da berberina comercial e micronizada estão apresentados na Tabela 9.

Tabela 8 – Tamanho de partículas da berberina comercial e das amostras utilizando DCM, etanol e metanol em diferentes vazões de antissolvente (10 e 20 mL/min)

Amostras	Comprimento ( $\mu\text{m}$ )	Largura ( $\mu\text{m}$ )
DCM10	16,01 <sup>d</sup> $\pm$ 8,77	9,05 <sup>d</sup> $\pm$ 5,24
DCM20	13,20 <sup>a</sup> $\pm$ 10,70	5,62 <sup>b</sup> $\pm$ 5,10
etOH10	13,31 <sup>a</sup> $\pm$ 7,69	1,75 <sup>a</sup> $\pm$ 0,74
etOH20	9,88 <sup>b</sup> $\pm$ 6,06	1,51 <sup>a</sup> $\pm$ 0,71
metOH10	11,70 <sup>ab</sup> $\pm$ 7,83	1,33 <sup>a</sup> $\pm$ 0,66
metOH20	6,34 <sup>c</sup> $\pm$ 3,87	1,03 <sup>a</sup> $\pm$ 0,46
Puro	13,24 <sup>a</sup> $\pm$ 8,66	6,39 <sup>c</sup> $\pm$ 5,39

Fonte: Elaborado pelo autor

É possível observar uma redução nas amostras micronizadas em comparação com a berberina comercial, essa redução é observada tanto para medidas de

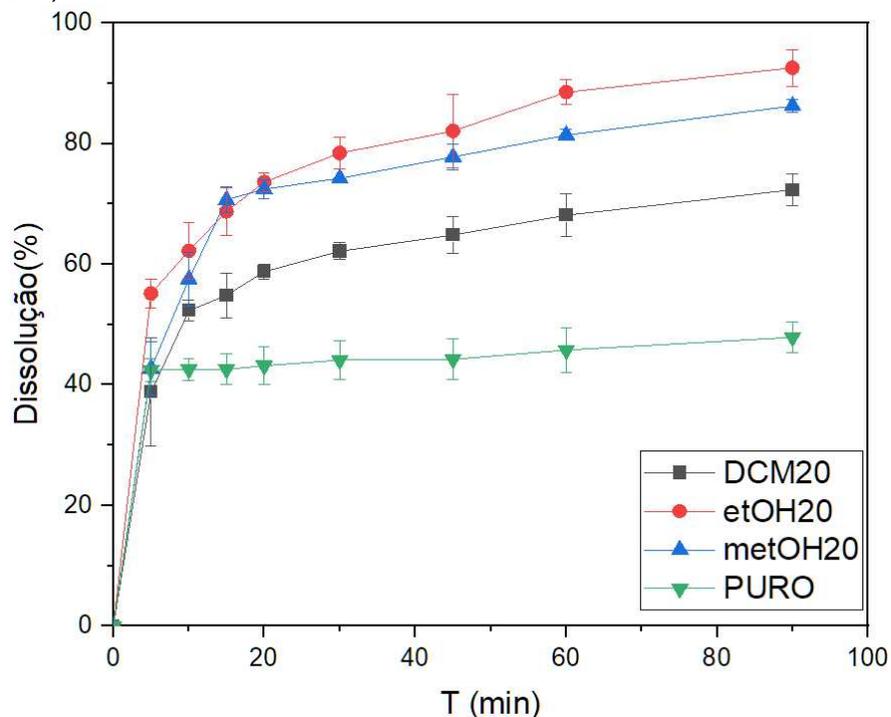
comprimento quanto para as medidas de largura. Um menor valor obtido para amostras com maior vazão de CO<sub>2</sub> já era esperado.

A berberina comercial apresenta partículas com tamanho médio de comprimento e largura de 13,24 µm e 6,39 µm. Em comparação, partículas produzidas com metanol com taxa de antissolvente mais alta conseguiram reduzir o tamanho das partículas para 6,34 µm e 1,03 µm de comprimento e largura respectivamente. Logo, é possível observar que a técnica foi capaz de reduzir em 2 vezes a medida no comprimento e até 6 vezes na largura.

#### 4.2.5 DISSOLUÇÃO

O principal objetivo da micronização é aumentar a taxa de dissolução dos compostos em água. Os menores tamanhos de amostra foram analisados para cada solvente para investigar a dissolução cumulativa. Especificamente, este estudo utilizou as amostras produzidas com a vazão de CO<sub>2</sub> de 20 mL/min devido ao menor tamanho de partícula obtido por esta condição. O perfil de dissolução é mostrado na Figura 38.

Figura 38 – Taxa de dissolução da berberina comercial e micronizada produzidas com DCM, etanol e metanol utilizando vazão de antissolvente de 20 mL/min



Fonte: Elaborado pelo autor

O gráfico mostra a evolução temporal da dissolução e é evidente que as amostras que apresentam o menor tamanho de partícula, conforme indicado pela equação de Noyes-Whitney, demonstram as maiores taxas de dissolução (Noyes; Whitney, 1897).

É demonstrado pelo perfil de dissolução a variação nas quantidades em relação ao tempo, com a melhor dissolução até os 15 min atribuída às partículas de produzidas com metanol. A partir dos 20 min é observado uma inversão na amostra mais diluída no meio, tendo as partículas de etanol ao final dos 90 min uma liberação aproximadamente 6,35% maior que as partículas de metanol. Como esperado partículas de DCM que apresentaram maior tamanho de partícula apresentam a menor quantidade liberada em 90 min tendo uma quantidade aproximadamente 28% menor que o etanol. Em comparação com a amostra sem processamento esse aumento chegou quase 50% em 90 min.

Essas diferenças podem ser atribuídas a alteração na estrutura cristalina do composto, assim como a alteração no formato e tamanho das partículas. Sendo que todos esses fatores influenciam na dissolução das partículas no meio.

Além disso, partículas micronizadas de luteolina, produzidas usando a mesma técnica, exibem um aumento notável na dissolução cumulativa, afirmando a eficácia do método de micronização no aumento das taxas de dissolução (Santos *et al.*, 2022). O fenômeno de maior taxa de dissolução resultante de uma redução no tamanho das partículas e o subsequente aumento na área superficial foi observado não apenas na micronização da berberina, mas também em outros compostos como trans-resveratrol (Aguiar *et al.*, 2018), curcumina (Bertoncello *et al.*, 2018), timol (Martello *et al.*, 2019), n-acetilcisteína (Aguiar *et al.*, 2017).

### 4.3 ESTUDO DOS COFORMADORES

Neste capítulo serão apresentados os resultados obtidos no estudo sobre a formação de cocristais de cloreto de berberina com os coformadores, apresentando desde o estudo inicial até a caracterização das amostras finais.

Primeiramente a técnica LAG foi utilizada visando identificar a formação ou não de novas fases cristalinas em sistemas de berberina com os coformadores. As amostras que apresentaram eventos endotérmicos diferentes daqueles dos compostos puros podem indicar a formação de nova fase cristalina (Vasisht *et al.*, 2016). Já na análise de DRX, as fases cristalinas foram comparadas observando-se o deslocamento ou mudança nos padrões de difração (Ferreira *et al.*, 2019).

O método LAG foi utilizado no estudo preliminar sobre possíveis cocristais produzidos entre berberina e os coformadores apresentados na Tabela 4. O comportamento das amostras produzidas em comparação ao comportamento dos componentes estão apresentados nas Figuras 39-44.

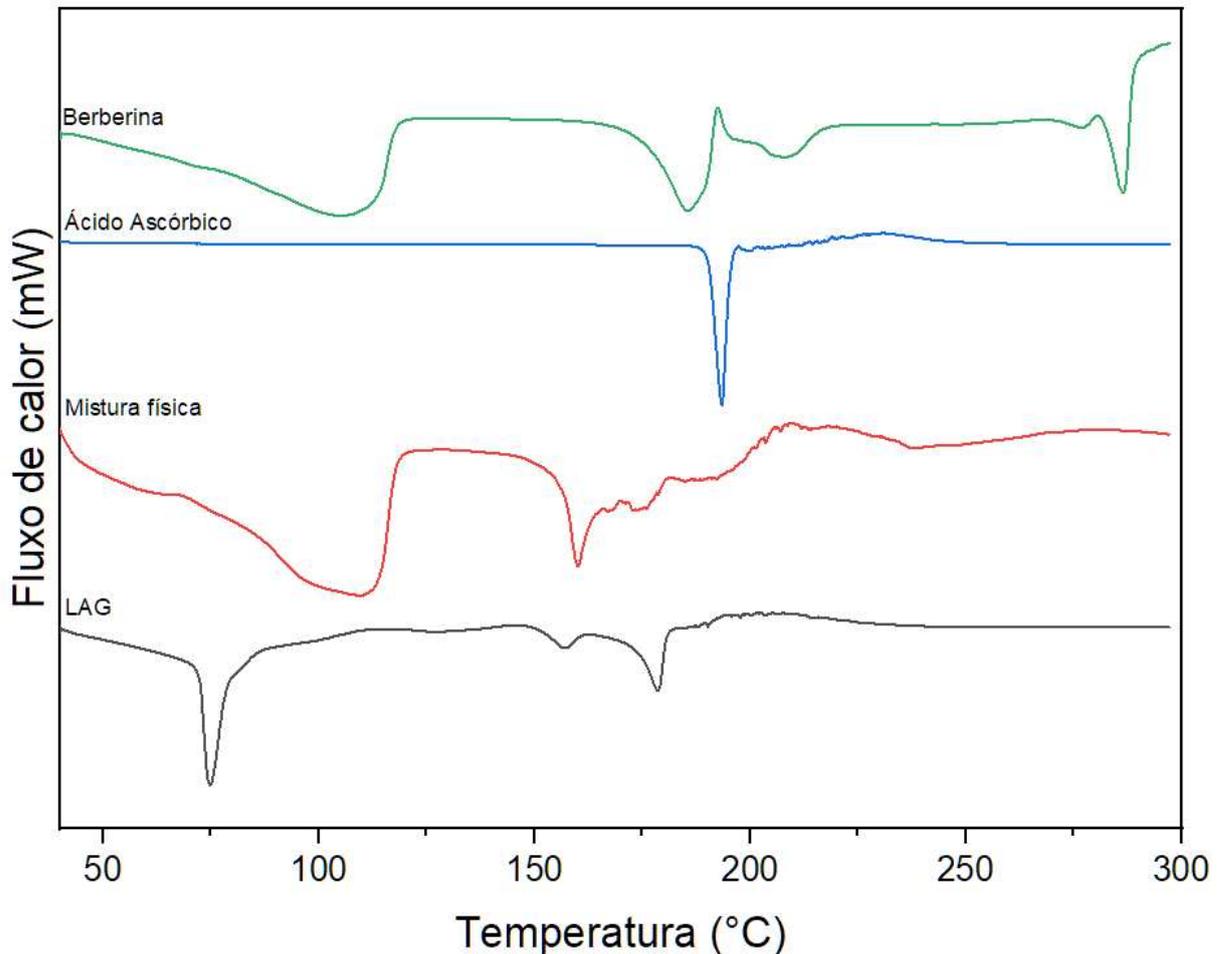
#### 4.3.1 Ácido ascórbico

As curvas de DSC da berberina, ácido ascórbico, mistura física e a amostra produzida pela técnica LAG estão apresentados na Figura 39. O ácido ascórbico apresenta um evento endotérmico na temperatura de 193,93 °C (Garnero; Longhi, 2007) característico do seu ponto de fusão e a berberina na temperatura de 189,25 °C.

A mistura física apresenta um primeiro evento que pode ser atribuído a desidratação da berberina devido a características do evento endotérmico com o comportamento da berberina pura, um segundo evento na temperatura de 160 °C que se deve a temperatura eutética da mistura.

A amostra produzida por LAG apresenta um pequeno evento endotérmico na temperatura de 157 °C atribuído a mistura eutética e um segundo evento na temperatura de 178 °C atribuído a temperatura de fusão do cocrystal.

Figura 39 – Comportamento térmico da mistura física, cocristais LAG da berberina e ácido ascórbico



#### 4.3.2 Ácido Nicotínico

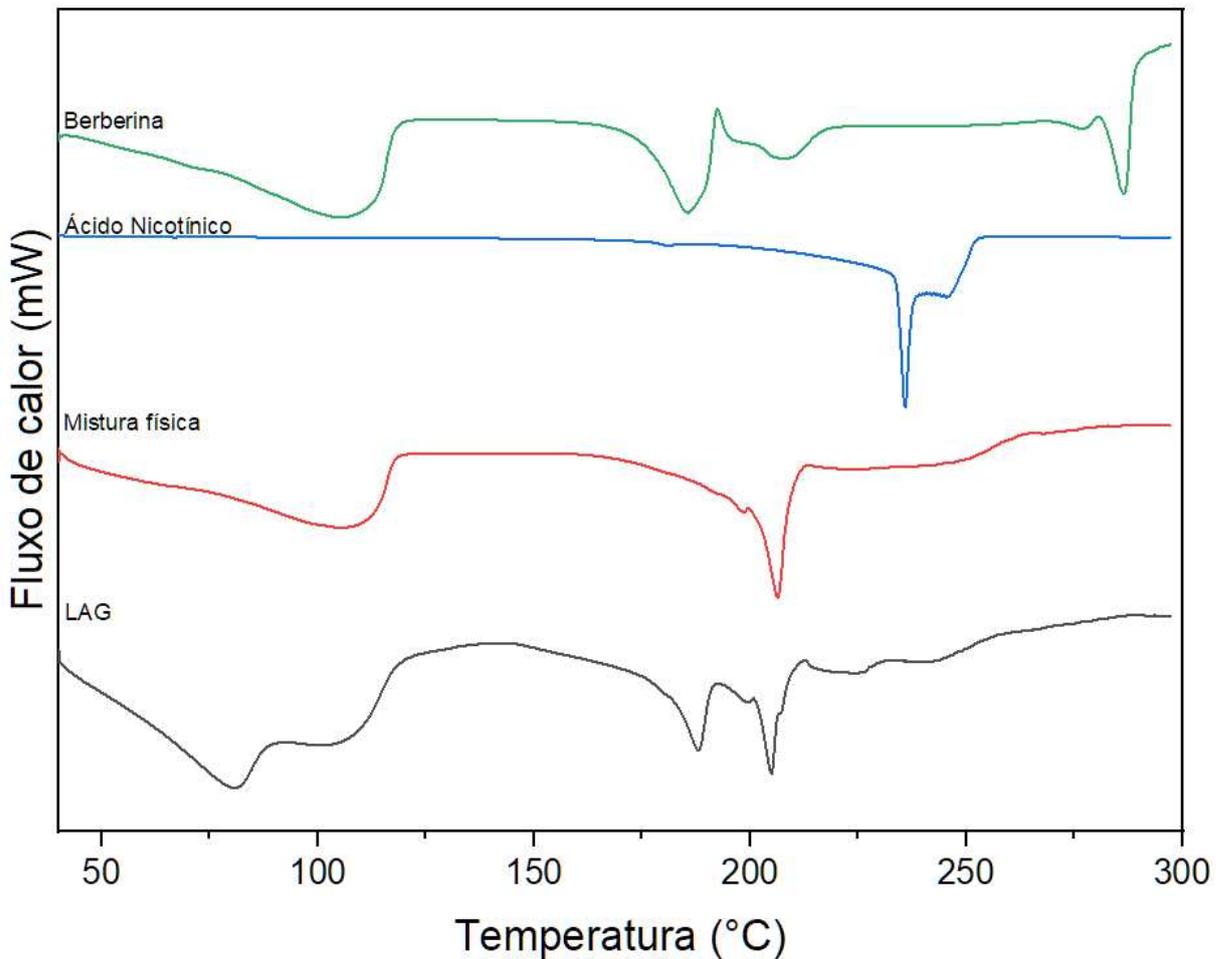
A Figura 40 apresenta o comportamento térmico do ácido nicotínico, que apresenta seu ponto de fusão na temperatura de 236,18 °C (Ferreira *et al.*, 2020).

A mistura física apresenta o mesmo evento endotérmico da berberina comercial, que é descrita como a desidratação da molécula da berberina e um evento endotérmico na temperatura de 206,34 °C como temperatura eutética da mistura.

A amostra produzida por LAG em seu termograma apresenta um grande evento endotérmico assim como a mistura física e a berberina compatível com a desidratação da molécula de berberina e mais dois eventos endotérmicos nas temperaturas de 188,9 °C e 204,90 °C, sendo o primeiro uma temperatura próxima a fusão da berberina podendo indicar a presença de berberina que não formou cocrystal

e o segundo ponto próximo ao evento da mistura física possivelmente referente a temperatura eutética da mistura.

Figura 40 – Comportamento térmico da mistura física, cocrystal LAG da berberina e ácido nicotínico

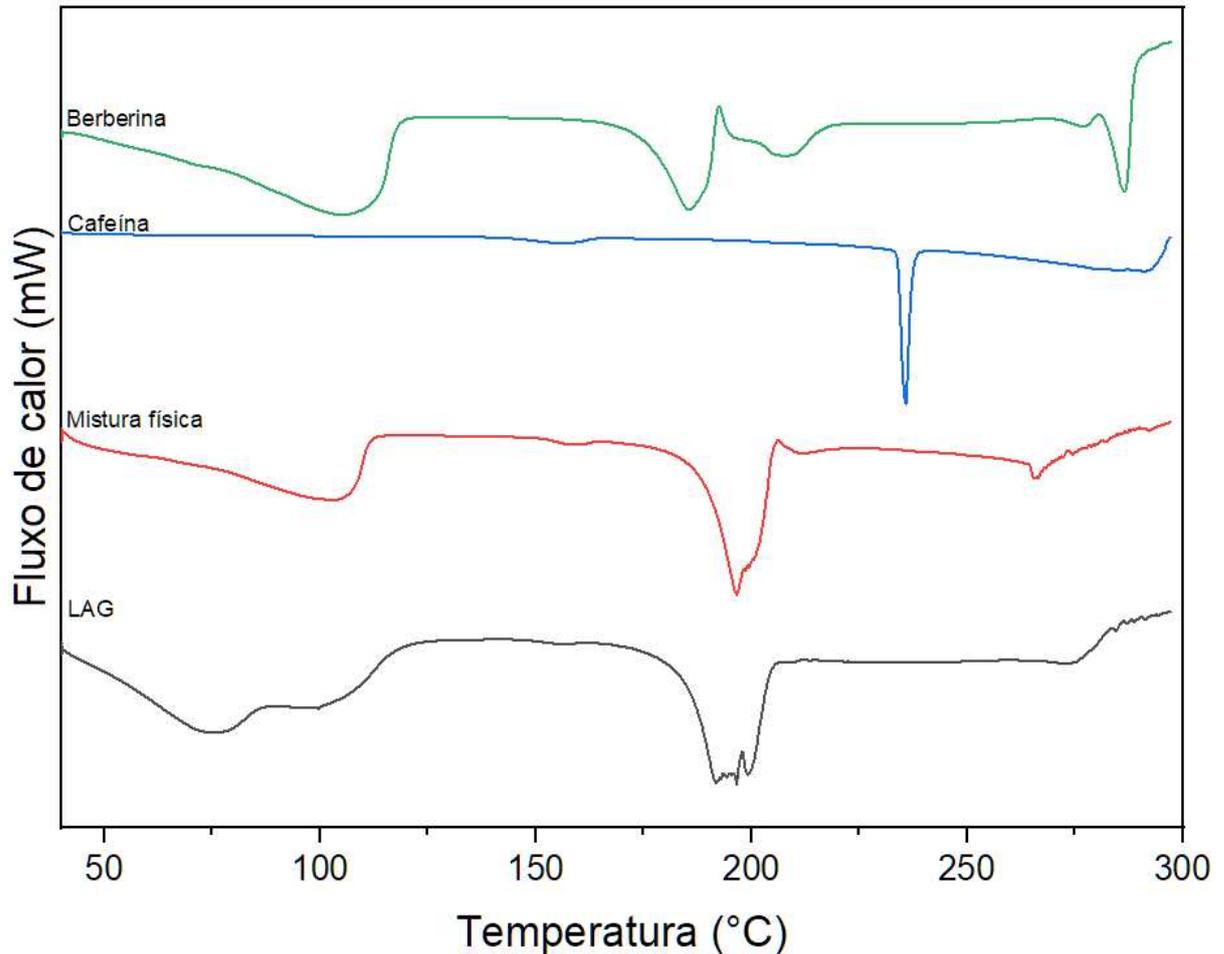


#### 4.3.3 Cafeína

O termograma da mistura física, cocrystal produzido por LAG e os compostos puros estão apresentados na Figura 41. A cafeína exibe apenas um evento endotérmico na temperatura de 235,7 °C (Klímová; Leitner, 2012).

O perfil exibido pelas amostras produzidas pela mistura física e pelas amostras produzidas pela técnica LAG, apresenta um evento em temperatura compatível com a desidratação da molécula e eventos endotérmicos em temperaturas de 193 °C e 196 °C.

Figura 41 – Comportamento térmico da mistura física, cocrystal LAG da berberina e cafeína

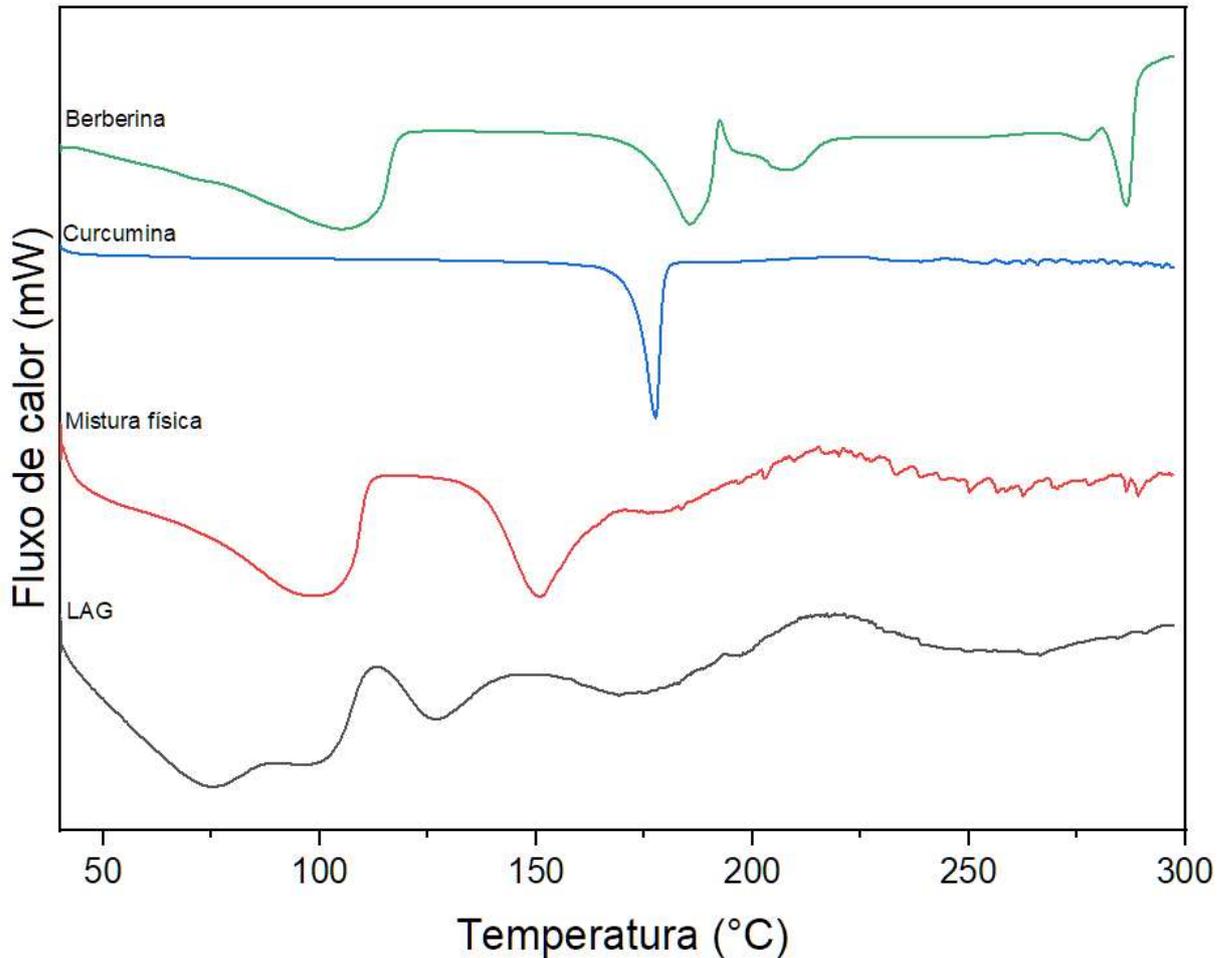


#### 4.3.4 Curcumina

A curcumina apresenta um único evento endotérmico no termograma presente na temperatura de 177,27 °C (Darandale; Vavia, 2013), conforme demonstrado na Figura 42.

Um evento próximo a temperatura de desidratação da berberina está presente na mistura física e amostra LAG. Um segundo evento na temperatura de 150,97 °C pode representar a temperatura eutética da mistura, já o termograma da amostra produzida por LAG não apresenta eventos endotérmicos bem definidos, podendo indicar que não houve formação de estruturas cristalinas na amostra apresentando apenas característica de amostras amorfas (Naqvi *et al.*, 2020).

Figura 42 – Comportamento térmico da mistura física, cocrystal LAG da berberina e curcumina

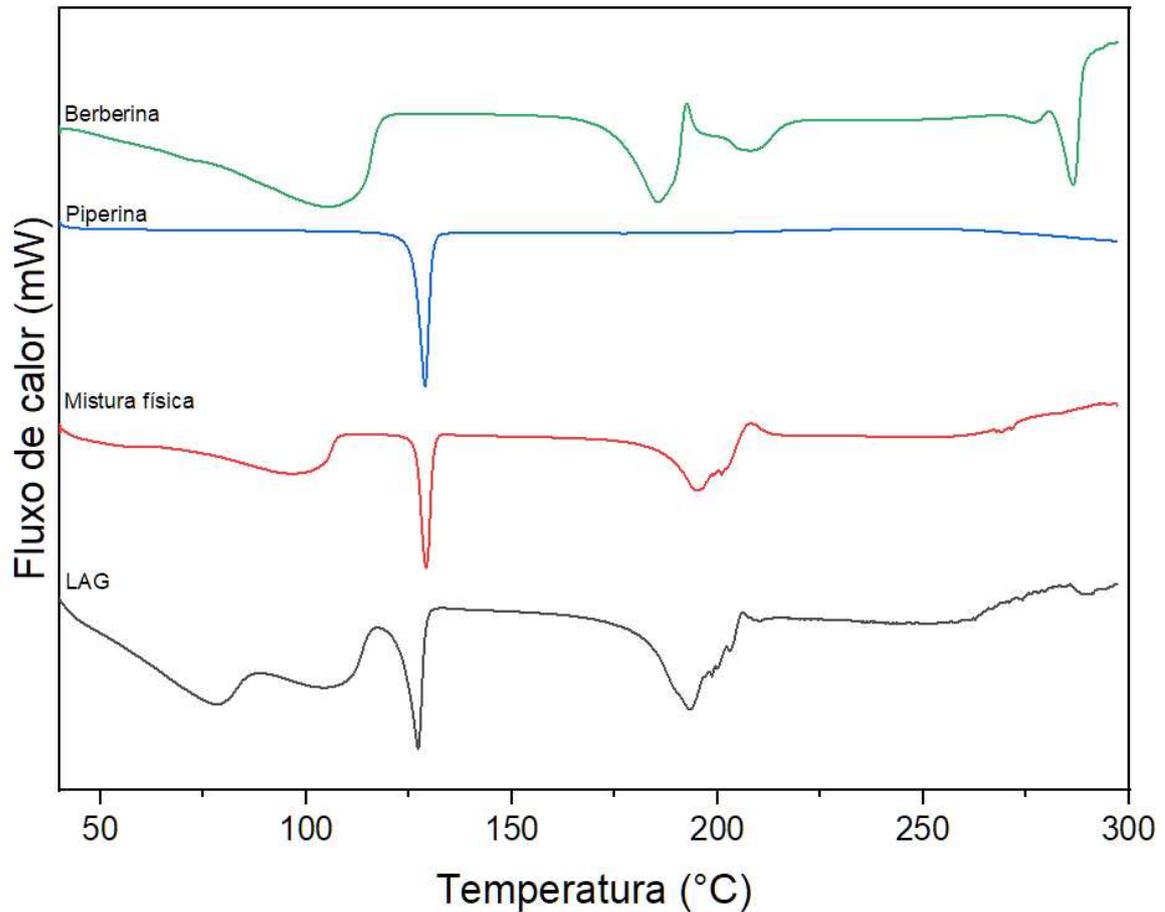


#### 4.3.5 Piperina

A piperina exibe seu ponto de fusão na temperatura de 129,2 °C (Kanaki *et al.*, 2008) como demonstrado na Figura 43.

As amostras produzidas pela mistura física e produzidas por LAG apresentam o mesmo perfil, com um primeiro evento endotérmico característico da desidratação da berberina, um evento endotérmico na temperatura de fusão da piperina e outro próximo a temperatura de fusão da berberina.

Figura 43 – Comportamento térmico da mistura física, cocristais LAG da berberina e piperina



Fonte: Elaborado pelo autor

#### 4.3.6 Resveratrol

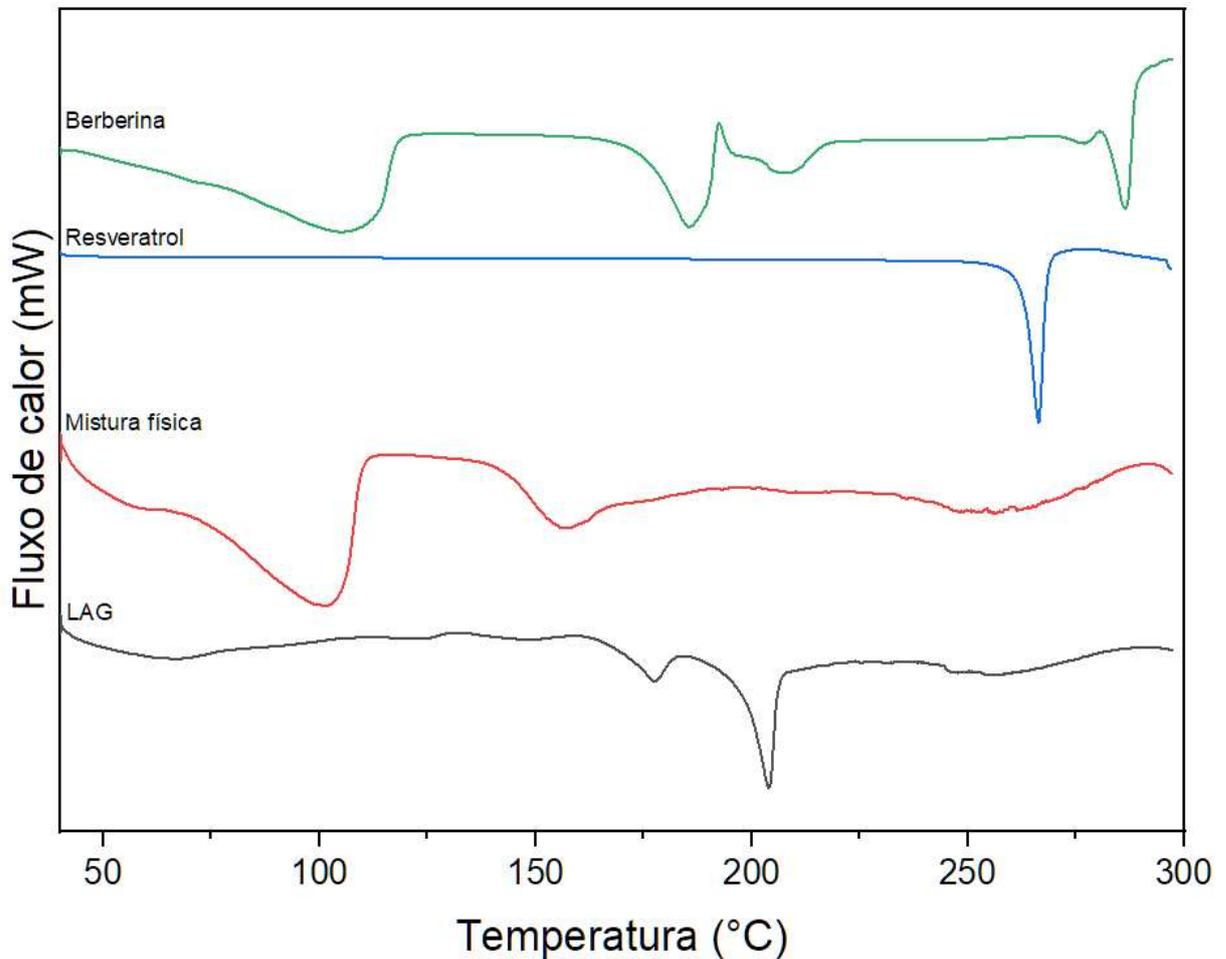
Um evento endotérmico presente no termograma do resveratrol na temperatura de 266,26 °C, segundo Isailović *et al.* (2013) corresponde a fusão da estrutura cristalina do composto.

Entre a temperatura de 40 a 120 °C, tanto a mistura física quanto a berberina pura apresentam um evento endotérmico, característico da perda de água da rede cristalina.

A mistura física apresenta um evento endotérmico na temperatura de 101,82 °C e outro na temperatura de 155,71 °C, sendo atribuídos a desidratação da berberina e a temperatura eutética da mistura respectivamente.

A amostra formada pela técnica LAG apresenta um evento endotérmico na temperatura de 204,70 °C, sendo atribuído a fusão do cocrystal formado.

Figura 44 – Termograma de DSC da mistura física, cocristais LAG da berberina e resveratrol



Fonte: Elaborado pelo autor

#### 4.4 PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO COCRISTAIS

Nestes tópicos serão discutidas as análises de caracterização dos possíveis cocristais produzidos pela técnica GAS antissolvente com ácido ascórbico e resveratrol. Coformadores selecionados baseados na análise de DSC apresentada no tópico anterior. Foram feitos estudos sobre o perfil térmico, estrutura cristalina, tamanho de partícula, análise dos grupos funcionais e taxa de dissolução.

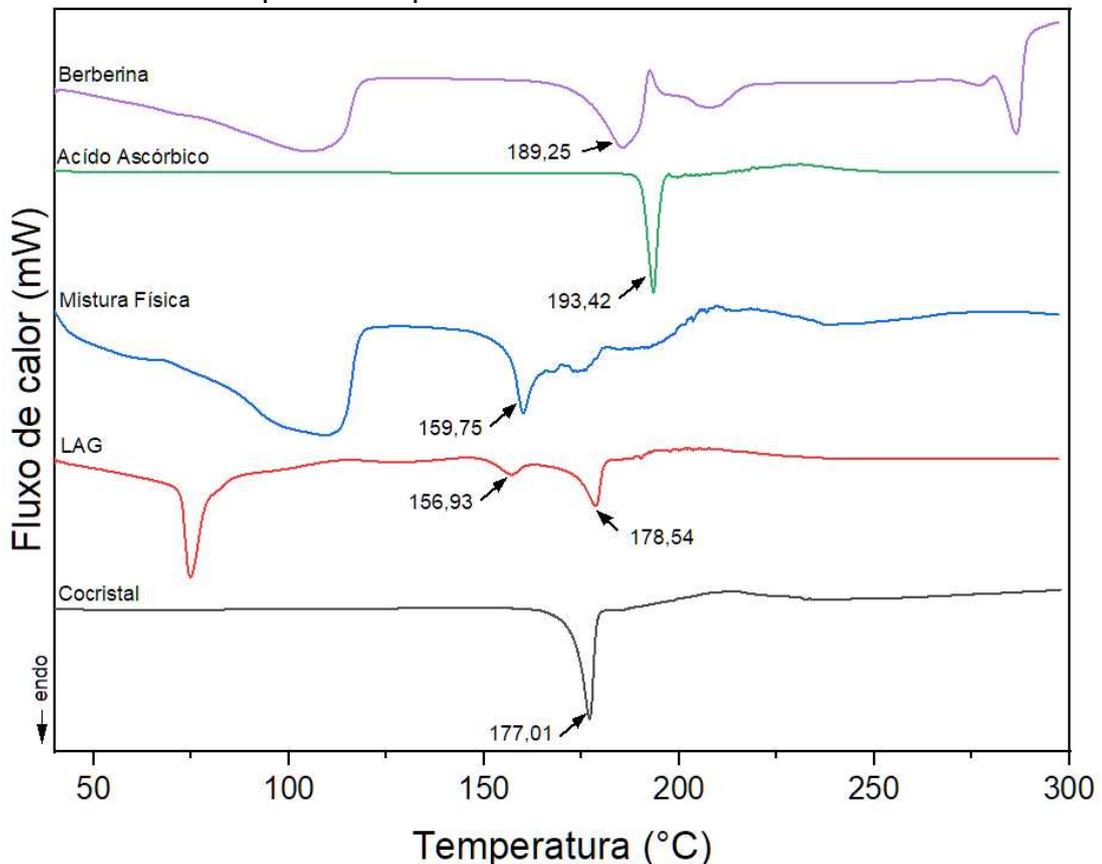
#### 4.4.1 DSC

A análise térmica é empregada para investigar o processo de formação de novas fases sólidas devido à manifestação de distinções no comportamento térmico das substâncias precursoras em comparação com a estrutura recém-cristalizada (Dal Magro *et al.*, 2021; Paulazzi *et al.*, 2022).

O perfil térmico dos componentes puros, mistura física e cocrystal produzidos pela técnica GAS antissolvente são apresentados nas Figuras 45 e 46.

A berberina apresenta um primeiro evento térmico entre 95-130 °C é característico da desidratação da molécula, já o segundo evento endotérmico na temperatura de 189,25 °C é atribuída a fusão da molécula (Torky *et al.*, 2018; Zhang *et al.*, 2013; Zhaojie *et al.*, 2014). O perfil térmico do ácido ascórbico apresenta um único evento endotérmico na temperatura de 193,42 °C que representa o ponto de fusão do componente (Garnero; Longhi, 2007).

Figura 45 – Termograma de DSC da berberina, ácido ascórbico e do cocrystal produzido pela técnica GAS antissolvente



Fonte: Elaborado pelo autor

A mistura física dos compostos apresenta em seu termograma um primeiro evento endotérmico que pode ser também atribuído a desidratação da berberina, entretanto o segundo evento endotérmico na temperatura de 159,75 °C que difere da temperatura de fusão dos componentes puros que pode ser atribuído a temperatura eutética da mistura.

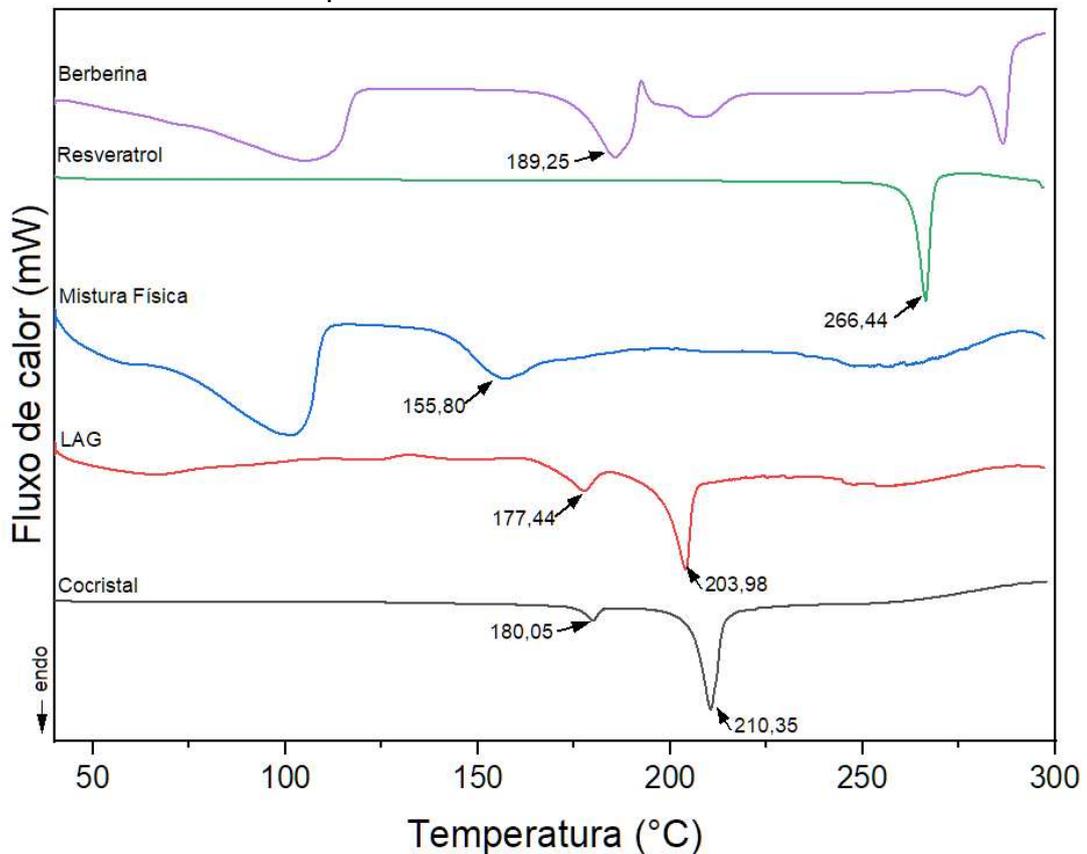
O método LAG utilizado como estudo preliminar da formação de cocristais apresenta em seu perfil eventos endotérmicos na temperatura de 156,86 °C e 178,55 °C, o primeiro evento pode ser atribuído a temperatura de fusão da mistura eutética e outro evento possivelmente atribuído a temperatura de fusão do cocrystal formado.

O termograma do cocrystal produzido pela técnica antissolvente apresenta em seu termograma apenas um evento endotérmico na temperatura de 177,01 °C indicando a possível formação do cocrystal sem a presença de componentes não cristalizados (Pessoa *et al.*, 2019). O aparecimento de apenas um único evento endotérmico no termograma indica a formação de um novo cristal com alta cristalinidade e pureza (Lu *et al.*, 2023).

Uma temperatura de fusão menor para o cocrystal em relação a temperatura dos componentes puros pode ocorrer em aproximadamente 39% dos cocristais formados devido a presença de uma estrutura cristalina mais fraca (Schultheiss; Newman, 2009), como no caso de cocristais entre curcumina-nac (Paulazzi *et al.*, 2022; Ribas *et al.*, 2019), ezetimibina-metilparabeno (Sugandha *et al.*, 2014).

O resveratrol apresenta apenas um evento endotérmico atribuído a sua temperatura de fusão presente em 266,44 °C (Isailović *et al.*, 2013) e está apresentado na Figura 46.

Figura 46 – Termograma de DSC da berberina, resveratrol e do cocrystal produzido pela técnica GAS antissolvente



Fonte: Elaborado pelo autor

Um primeiro evento endotérmico na mistura física característica da desidratação da berberina também está presente no termograma da mistura física de resveratrol-berberina assim como na mistura de ácido ascórbico-berberina, seguindo de um evento na temperatura de 155,8 °C que pode indicar a temperatura de fusão da mistura eutética.

O evento presente na temperatura de 180,5 °C pode representar a temperatura de fusão da mistura não cocrystalizada também presente no cocrystal formado por LAG. A temperatura de 210,35 °C difere tanto da temperatura dos compostos quanto da mistura física o que indica a formação de uma fase cristalina com valor intermediário entre o ponto de fusão dos componentes puros, fato que ocorre em 51% dos cocrystalis (Schultheiss; Newman, 2009).

Dado que a modificação no ponto de fusão sugere uma alteração na estrutura cristalina, a confirmação da formação do cocrystal foi estabelecida por meio da identificação de um evento endotérmico com temperatura diferente daquelas referentes aos pontos de fusão das substâncias em estado puro (RIBAS *et al.*, 2019).

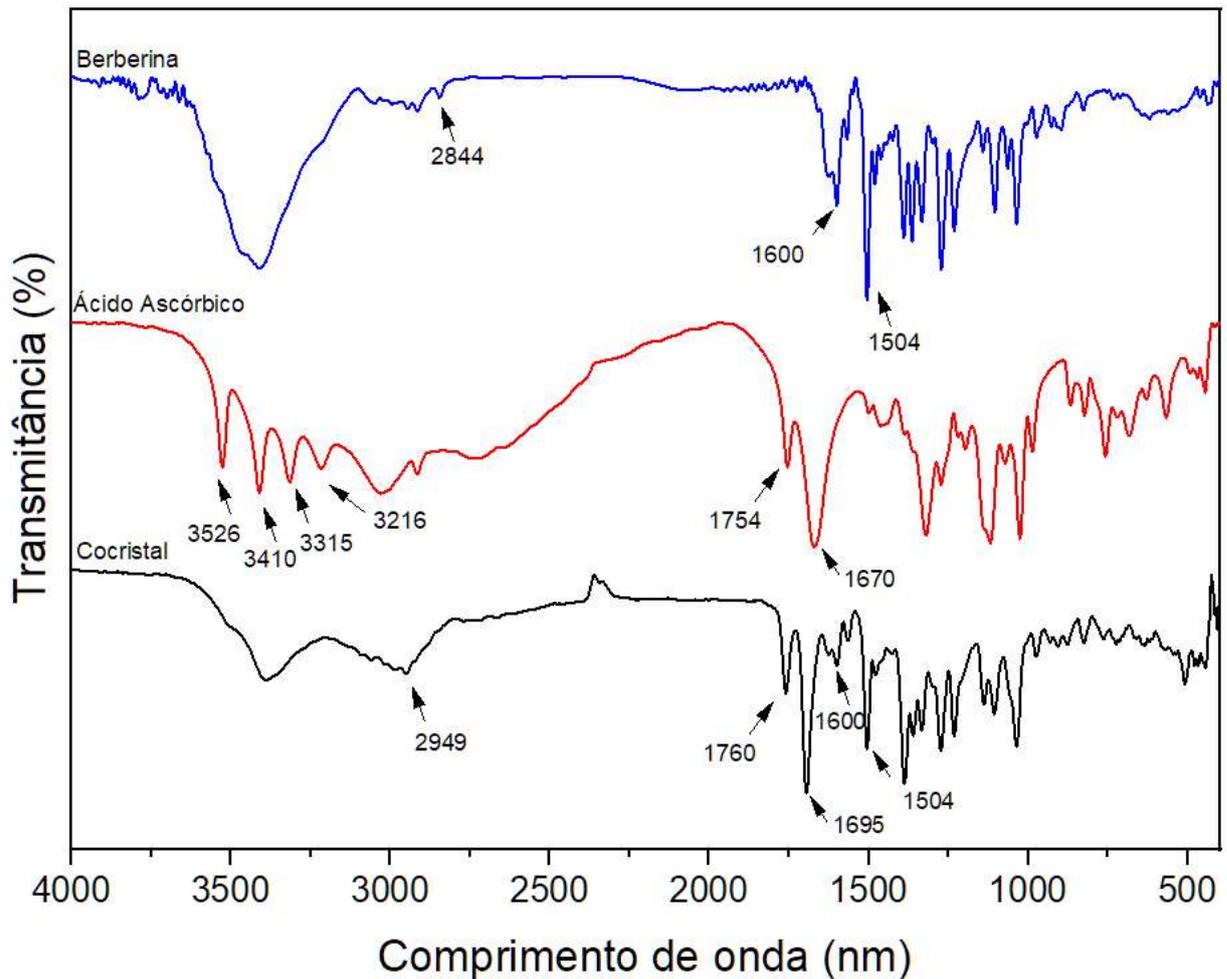
#### 4.4.2 FTIR

A espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier representa uma metodologia simples e confiável que é amplamente empregada para a análise e caracterização de cocrystalis. Esta técnica tem a capacidade inerente de identificar a presença de interações de ligações de hidrogênio, sejam elas de natureza intramolecular ou intermolecular, o que frequentemente se traduz em manifestações sob a forma de deslocamentos nas frequências vibracionais observadas nos espectros (Zhou *et al.*, 2016).

A berberina apresenta picos característicos do grupo metoxilo em  $2844\text{ cm}^{-1}$ , do grupo imínio ( $\text{C}=\text{N}^+$ ) em  $1600\text{ cm}^{-1}$  e no comprimento de  $1504\text{ cm}^{-1}$  a vibração aromática do  $\text{C}=\text{C}$  (Kohli *et al.*, 2021; Lu; Yan; Sun, 2023). O ácido ascórbico em seu espectro apresenta os quatro picos característicos do alongamento do grupo hidroxila ( $\text{O}-\text{H}$ ) em  $3526\text{ cm}^{-1}$ ,  $3410\text{ cm}^{-1}$ ,  $3315\text{ cm}^{-1}$  e  $3216\text{ cm}^{-1}$  e em  $1754\text{ cm}^{-1}$  e  $1671\text{ cm}^{-1}$  o estiramento do grupo carbonila ( $\text{C}=\text{O}$ ) e o estiramento da  $\text{C}=\text{C}$  (Yohannan Panicker; Tresa Varghese; Philip, 2006; Zhang *et al.*, 2022).

Os espectros para o cocrystal, berberina e ácido ascórbico estão apresentados na Figura 47.

Figura 47 – Espectros FTIR da berberina, ácido ascórbico e cocrystal produzido por GAS antissolvente

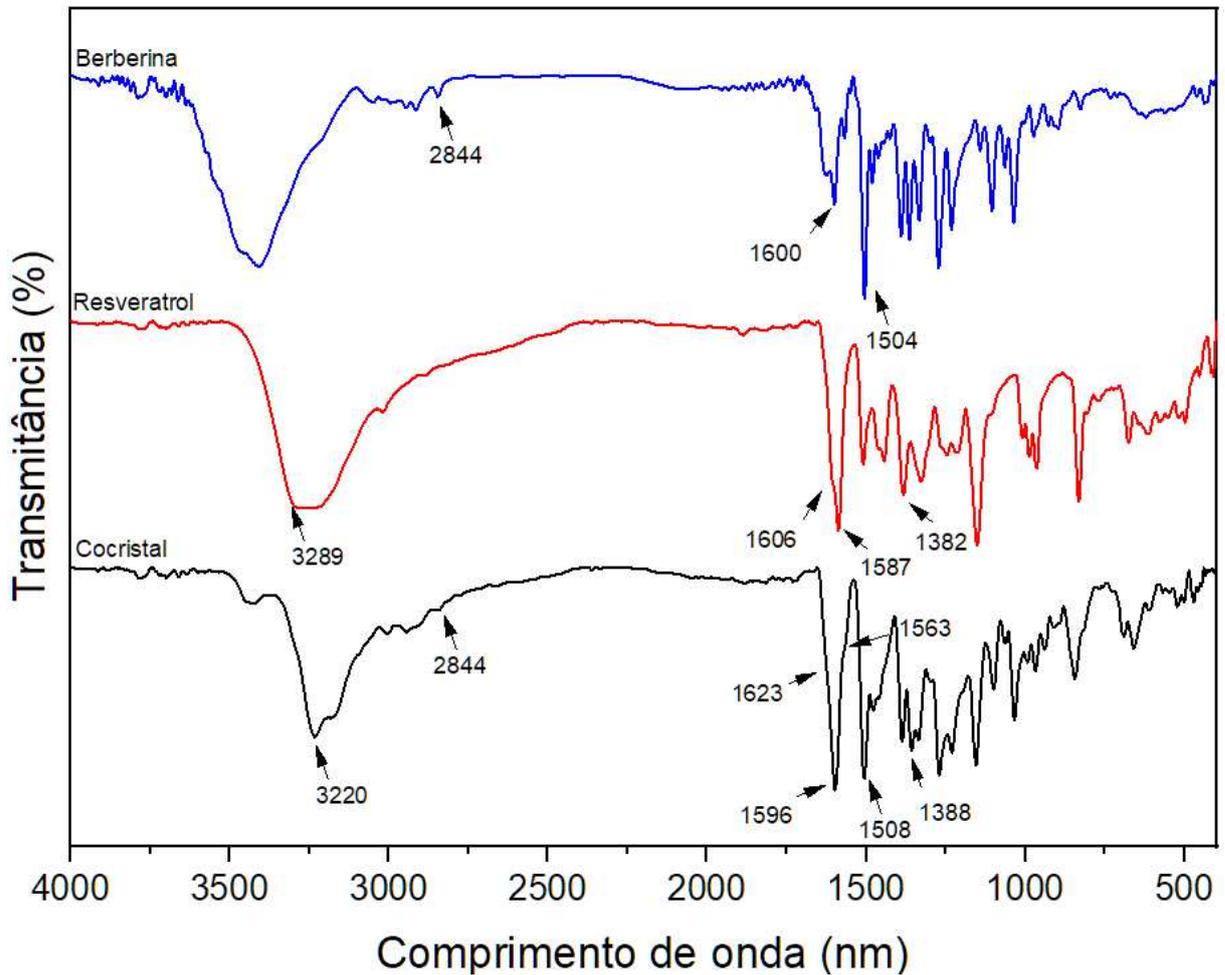


Fonte: Elaborado pelo autor

O grupo metoxil característico da berberina no espectro do cocrystal apresenta um deslocamento de  $2844\text{ cm}^{-1}$  para  $2949\text{ cm}^{-1}$  e o estiramento do grupo carbonila (C=O) característico do ácido ascórbico exibe deslocamento de  $1754\text{ cm}^{-1}$  para  $1760\text{ cm}^{-1}$  e o estiramento C=C  $1670\text{ cm}^{-1}$  para  $1695\text{ cm}^{-1}$ .

O resveratrol apresenta o alongamento das ligações C=C aromático, estiramento da ligação C=C olefínico e estiramento da ligação C-C nos comprimentos de onda de  $1606\text{ cm}^{-1}$ ,  $1587\text{ cm}^{-1}$  e  $1382\text{ cm}^{-1}$ , a banda típica do trans em  $964\text{ cm}^{-1}$  e o estiramento da ligação O-H no comprimento de  $3289\text{ cm}^{-1}$  (Agarwal; Kharb; Saharan, 2014; Dal Magro *et al.*, 2021) como demonstrado na Figura 48.

Figura 48 – Espectros FTIR da berberina, resveratrol e cocrystal produzido por GAS antissolvente



Fonte: Elaborado pelo autor

Por meio da análise do espectro FTIR da amostra produzida a alta pressão em comparação com os padrões exibidos pelos componentes, constatamos o deslocamento do grupo imínio ( $C=N^+$ ) da berberina de  $1600\text{ cm}^{-1}$  para  $1596\text{ cm}^{-1}$ , a vibração aromática do  $C=C$  no comprimento de  $1504\text{ cm}^{-1}$  para  $1508\text{ cm}^{-1}$ . Para o resveratrol o estiramento  $O-H$  foi de  $3289\text{ cm}^{-1}$  para  $3220\text{ cm}^{-1}$ , o estiramento da  $C=C$  aromático deslocou-se de  $1606\text{ cm}^{-1}$  para  $1623\text{ cm}^{-1}$ , o estiramento  $C=C$  olefínico foi observado em  $1587\text{ cm}^{-1}$  para  $1563\text{ cm}^{-1}$  e estiramento da ligação  $C-C$  em  $1382\text{ cm}^{-1}$  para  $1388\text{ cm}^{-1}$ .

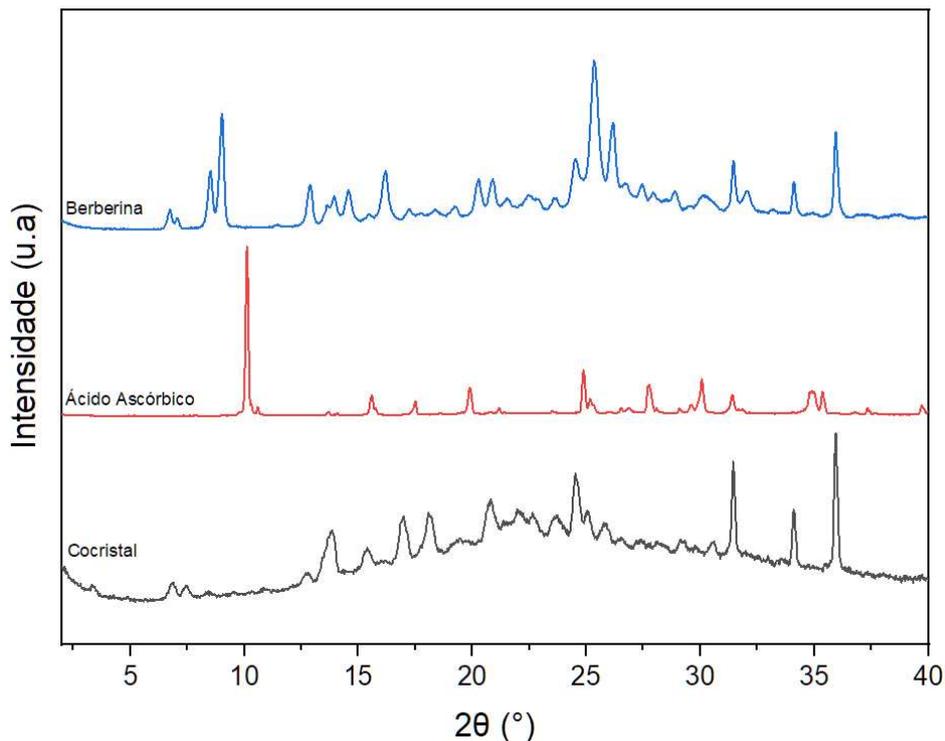
Sendo assim, podemos concluir com as variações dos comprimentos de onda das ligações e alteração do formato dos picos característicos que existe uma variação na estrutura química dos cocrystal formados pela interação entre berberina e os coformadores.

#### 4.4.3 DRXP

A análise de Difração de Raios-X (PDRX) revela os padrões característicos de difração dos compostos puros e do cocrystal formado, os quais estão documentados de forma detalhada nas Figuras 49 e 50 do presente estudo.

A berberina, por exemplo, exibe picos de difração em ângulos  $2\theta$  de  $7,14^\circ$ ,  $9,02^\circ$ ,  $13,38^\circ$ ,  $25,34^\circ$ ,  $26,18^\circ$ ,  $31,46^\circ$ ,  $34,08^\circ$  e  $35,94^\circ$ . Esses ângulos são consistentes com os valores previamente reportados na literatura científica (Wang, Z. *et al.*, 2022). Por outro lado, o ácido ascórbico apresenta uma reflexão significativa em  $10^\circ$ , juntamente com picos menores em ângulos de  $15,58^\circ$ ,  $17,5^\circ$ ,  $19,92^\circ$ ,  $24,9^\circ$  e  $27,7^\circ$ , conforme descrito em estudos anteriores (Nicolov *et al.*, 2019; Zhang *et al.*, 2022)..

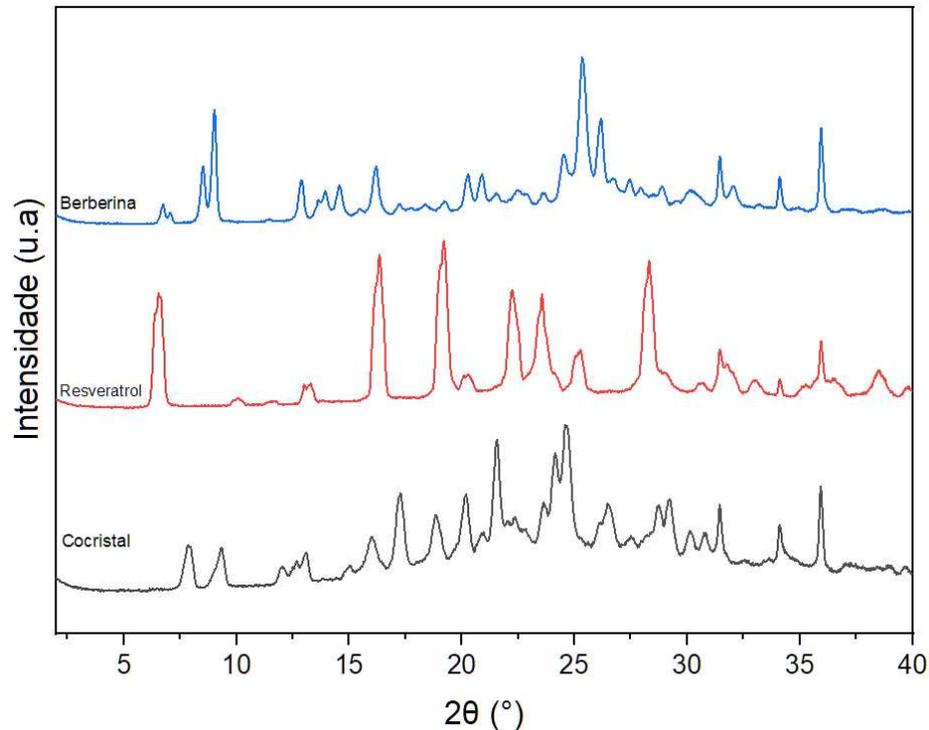
Figura 49 – DRXP da berberina, ácido ascórbico e cocrystal produzido pela técnica GAS antissolvente



Fonte: Elaborado pelo autor

O composto resveratrol exibe reflexões distintivas a ângulos de  $2\theta$  de  $6,54^\circ$ ,  $16,34^\circ$ ,  $19,21^\circ$ ,  $22,22^\circ$ ,  $23,56^\circ$  e  $28,3^\circ$ . Estes valores de ângulo  $2\theta$  são consistentes com os achados previamente documentados na literatura científica (Dal Magro *et al.*, 2017; Pessoa *et al.*, 2019)

Figura 50 – DRXP da berberina, resveratrol e cocristal produzido pela técnica GAS antissolvente



Fonte: Elaborado pelo autor

Os picos de reflexão a  $31,46^\circ$ ,  $34,12^\circ$  e  $35,91^\circ$ , que são distintivos da berberina, constituem as únicas reflexões identificadas nos cocristais obtidos a partir de ácido ascórbico, assim como nos cocristais produzidos com resveratrol. De igual forma, o pico mais proeminente da berberina a um ângulo  $2\theta$  de  $25,34^\circ$  não é observado nos cocristais, e o pico mais acentuado do ácido ascórbico a um ângulo  $2\theta$  de  $10^\circ$  também está ausente. Novas reflexões emergem nos ângulos de  $13,78^\circ$ ,  $16,98^\circ$ ,  $18,08^\circ$  e  $25,84^\circ$ , evidenciando alterações na estrutura cristalina dos cocristais.

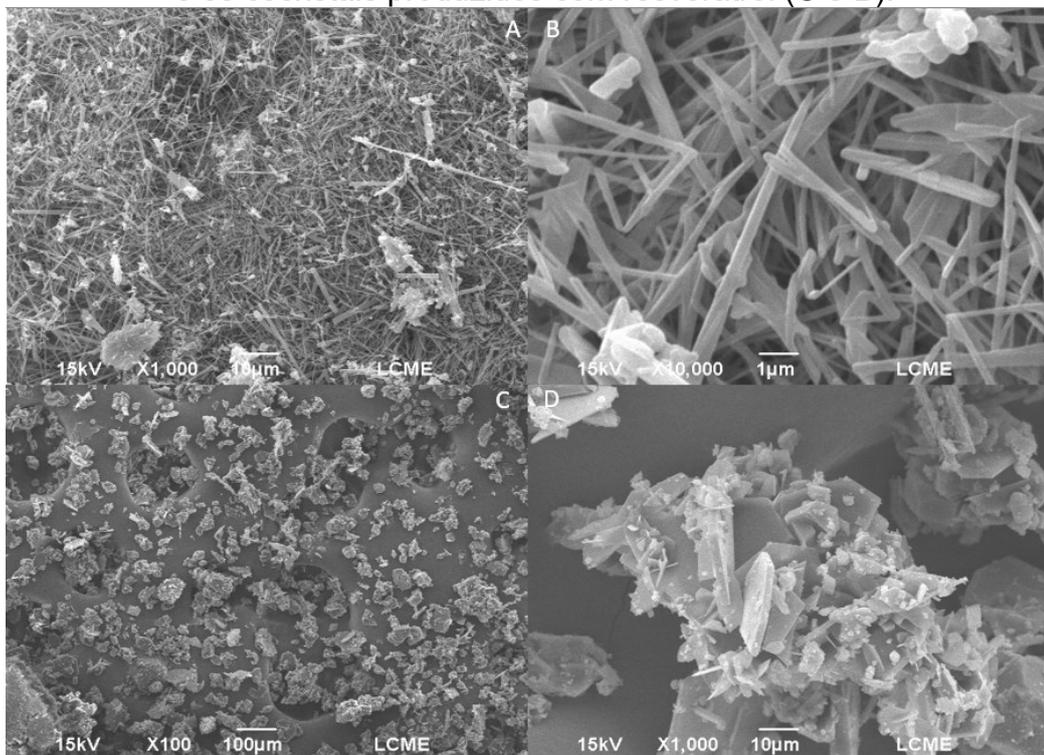
No que diz respeito ao cocristal produzido com resveratrol, apenas a reflexão a  $35,95^\circ$ , característica do resveratrol, é claramente identificada. Adicionalmente, um conjunto substancial de reflexões se manifesta nos cocristais, as quais não estão presentes nos componentes puros, observando-se ângulos  $2\theta$  de  $7,82^\circ$ ,  $9,14^\circ$ ,  $17,26^\circ$ ,  $18,86^\circ$ ,  $20,18^\circ$ ,  $21,56^\circ$ ,  $24,12^\circ$ ,  $26,46^\circ$  e  $29,18^\circ$ .

Conseqüentemente, em ambos os tipos de amostras produzidas, observam-se diferenças discerníveis na estrutura cristalina dos cocristais gerados com ácido ascórbico e resveratrol. Esses resultados reforçam as constatações obtidas em análises anteriores, corroborando assim a hipótese da formação dos cocristais.

#### 4.4.4 Tamanho médio de partícula

Os cocristais gerados mediante a aplicação da técnica GAS antissolvente foram submetidos a análise por meio de microscopia eletrônica de varredura, a fim de investigar os impactos desse procedimento na morfologia e nas dimensões das partículas. Os resultados desta análise estão ilustrados na Figura 51 e na Tabela 10.

Figura 51 – Imagens de MEV dos cocristais produzidos com ácido ascórbico (A e B) e os cocristais produzidos com resveratrol (C e D).



Fonte: Elaborado pelo autor

Pode-se notar variações significativas na morfologia das partículas, dependendo do coformador empregado. Os cocristais que contêm ácido ascórbico exibem uma forma mais alongada, assemelhando-se a agulhas, com o comprimento como dimensão predominante, e uma alta à aglomeração, com um tamanho médio das partículas de 3,40  $\mu\text{m}$ . Em contrapartida, as amostras produzidas com resveratrol apresentam uma distribuição heterogênea de tamanhos e uma morfologia diversificada nas partículas, com um tamanho médio das partículas de 40,52  $\mu\text{m}$ .

Tabela 9 – Dados de tamanho de partícula dos cocristais produzidos pela técnica GAS antissolvente.

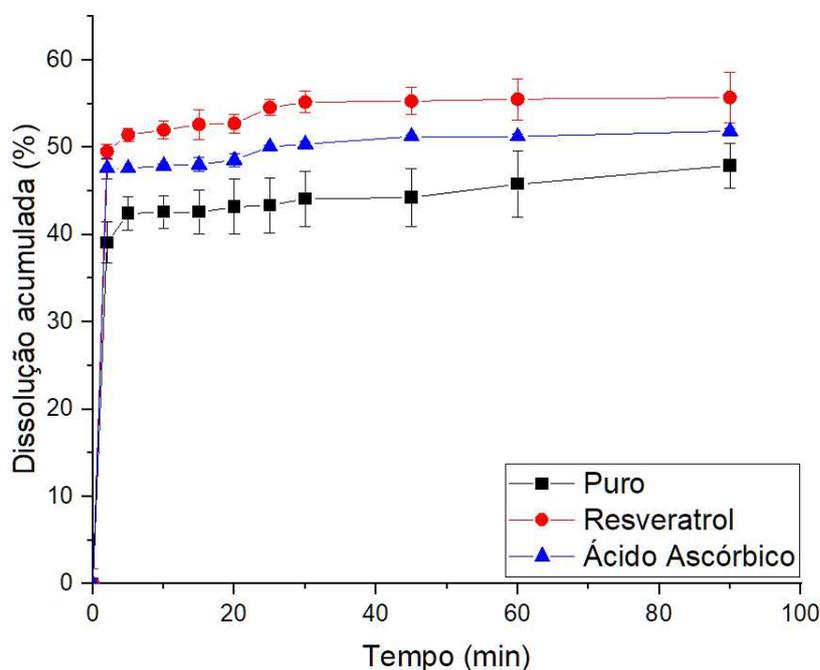
Cocrystal	Tamanho ( $\mu\text{m}$ )
Ácido Ascórbico	$3,40 \pm 1,75$
Resveratrol	$40,52 \pm 19,15$

Fonte: Elaborado pelo autor

#### 4.4.5 Dissolução

A avaliação do perfil de dissolução da berberina, assim como dos cocristais BRB-AA e BRB-RSV obtidos por meios da técnica de antissolvente, foi conduzida a uma temperatura de 37 °C, utilizando água destilada como meio de dissolução. O intuito desta investigação consistiu em analisar o impacto da formação dos cocristais sobre a cinética de dissolução, em comparação com o composto comercial. Os resultados dessas análises podem ser visualizados na Figura 52.

Figura 52 – Perfil de dissolução da berberina e cocristais formados (BRB-AA e BRB-RSV) em água a 37 °C



Fonte: Elaborado pelo autor

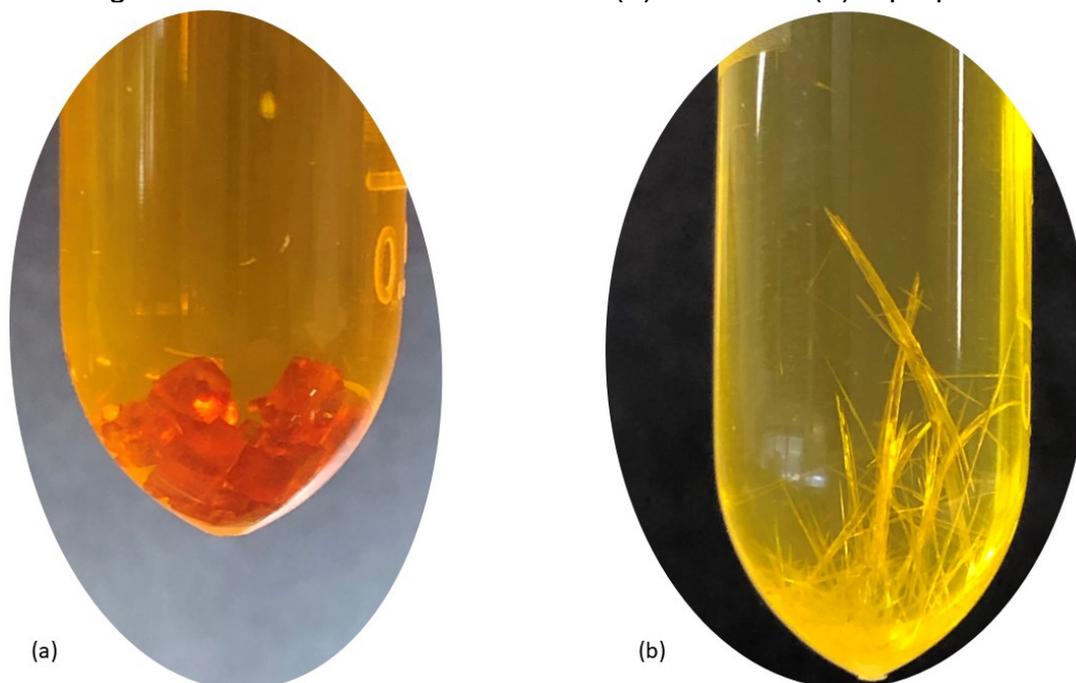
Os cocristais produzidos a partir do ácido ascórbico e do resveratrol apresentaram notáveis melhorias na taxa de dissolução em comparação à amostra comercial. Especificamente, o cocrystal contendo resveratrol demonstrou uma taxa de

liberação de 50% em apenas 5 min, enquanto o cocrystal com ácido ascórbico atingiu o mesmo nível em 25 min. Por outro lado, a amostra comercial, mesmo após 90 min de análise, liberou apenas 48% de seu conteúdo. Vale ressaltar que, ao final do período de 90 min, o cocrystal de ácido ascórbico alcançou uma taxa de liberação de 51%, enquanto a amostra que continha resveratrol, evidenciando seu maior potencial de dissolução atingiu 55%. Esses resultados indicam claramente a vantagem dos cocrystal na melhoria da solubilidade dos compostos em questão.

#### 4.5 PRODUÇÃO DE MONOCRISTAIS

A Figura 53 apresenta os monocristais de cloreto de berberina que foram obtidos com metanol e 1-propanol.

Figura 53 – Cristais de berberina em (a) metanol e (b) 1-propanol



Fonte: Elaborado pelo autor

A análise do monocristal obtidos com 1-propanol apontou uma estrutura monoclnica e a mesma se encontra catalogada no banco de dados do CSD sobre o identificador XUNFES (Tong *et al.*, 2010). Entretanto, o monocristal catalogado é obtido por meio de uma cristalização em água ao invés de 1-propanol.

Já a amostra obtida com metanol apontou também uma estrutura monoclnica como a amostra com 1-propanol, porém esse monocristal apresenta solvente na sua

estrutura. Essa estrutura possivelmente trata-se da estrutura catalogada no CSD com o identificador XEBCUG (Kornilova *et al.*, 2022) que foi obtida pela cocristalização de cloreto de berberina com ácido malônico a partir de metanol.

## 5 CONCLUSÃO

A modelagem do equilíbrio líquido-vapor, utilizando a abordagem da redução do volume molar parcial relativo, demonstrou que a temperatura de 35 °C foi mais efetiva para o processo de micronização. O perfil do sistema ternário demonstra um melhor potencial na produção das partículas em solventes que apresentam uma rápida queda na concentração devido a variação no volume parcial molar.

As partículas micronizadas em todos os solventes não apresentaram mudanças nos seus grupos funcionais, devido a presença dos picos característicos do composto puro nas amostras. As análises térmicas demonstram diferenças entre o composto puro e as amostras, onde foram observadas variações no ponto de fusão das amostras junto com variações na entalpia.

Os difratogramas da análise de DRXP indica possíveis alterações estruturais nas amostras produzidas com etanol, devido a presença de novos picos indicando novos planos cristalinos diferentes de difratogramas já encontrados na literatura, indicando possível uma possível nova forma polimórfica da berberina.

Observou-se a redução nas dimensões das partículas e alterações no formato após a utilização da técnica GAS antissolvente. Os tamanhos, como previsto, foram menores nos solventes que apresentaram redução da solubilidade mais rápida como no caso do metanol em comparação com as partículas produzidas com DCM, que apresentou a redução de solubilidade numa velocidade mais lenta.

Essas alterações causadas na amostra como a redução do tamanho da partícula juntamente com a alteração da estrutura cristalina foram capazes de aumentar a taxa de dissolução de maneira aumentar em quase 50 % a taxa de dissolução em um período de 90 min.

Na etapa de escolha dos possíveis coformadores para os cocristais, resveratrol e ácido ascórbico demonstram a capacidade de formar cocristais com a berberina. Foi observado a variação no ponto de fusão dos novos cocristais coerentes com uma nova fase cristalina. Análise de infravermelho aponta interações entre os componentes devido ao deslocamento das bandas características dos grupos funcionais. Por meio do DRX observou-se a formação de novos planos cristalinos, não característicos dos compostos puros. E essa variação na estrutura cristalina, como observado, influenciou na taxa de dissolução das novas partículas, em que ambas as amostras tiveram uma liberação maior que o composto sem tratamento.

## REFERÊNCIAS

AGARWAL, Apoorva; KHARB, Vandana; SAHARAN, Vikas Anand. Process optimisation, characterisation and evaluation of resveratrol-phospholipid complexes using Box-Behnken statistical design. **International Current Pharmaceutical Journal**, [s. l.], v. 3, n. 7, p. 301–308, 2014.

AGUIAR, Gean P.S. *et al.* Co-precipitation of anthocyanin in PHBV by the SEDS technique. **Journal of Food Science and Technology**, [s. l.], v. 58, n. 11, p. 4217–4224, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04895-4>.

AGUIAR, Gean Pablo S. *et al.* Micronization of N-acetylcysteine by supercritical fluid: Evaluation of in vitro and in vivo biological activity. **Journal of Supercritical Fluids**, [s. l.], v. 130, n. April, p. 282–291, 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.supflu.2017.06.010>.

AGUIAR, Gean Pablo S. *et al.* Micronization of trans-resveratrol by supercritical fluid: Dissolution, solubility and in vitro antioxidant activity. **Industrial Crops and Products**, [s. l.], v. 112, n. October 2017, p. 1–5, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.11.008>. Acesso em: 16 jan. 2019.

AGUIAR, Gean Pablo S. *et al.* Trans-resveratrol micronization by SEDS technique. **Industrial Crops and Products**, [s. l.], v. 89, p. 350–355, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.04.047>.

ALMEIDA, Emilia Rodrigues *et al.* Micronized Resveratrol Shows Anticonvulsant Properties in Pentylene-tetrazole-Induced Seizure Model in Adult Zebrafish. **Neurochemical Research**, [s. l.], v. 46, n. 2, p. 241–251, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11064-020-03158-0>.

AMANI, Mitra; SAADATI ARDESTANI, Nedasadat; MAJD, Navid Yeganeh. Utilization of supercritical CO<sub>2</sub> gas antisolvent (GAS) for production of Capecitabine nanoparticles as anti-cancer drug: Analysis and optimization of the process conditions. **Journal of CO<sub>2</sub> Utilization**, [s. l.], v. 46, n. February, 2021.

ANDOLA, Harish C. *et al.* Analysis of Berberine Content using HPTLC Fingerprinting of Root and Bark of Three Himalayan Berberis Species. **Asian Journal of Biotechnology**, Malasya, v. 2, n. 4, p. 239–245, 2010. Disponível em: <http://www.scialert.net/abstract/?doi=ajbkr.2010.239.245>.

ANDRADE, Kátia S. *et al.* Encapsulation of pink pepper extract by SEDS technique: Phase behavior data and process parameters. **Journal of Supercritical Fluids**, [s. l.], v. 161, 2020.

ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Dispõe sobre a aprovação da Farmacopeia Brasileira, 6ª edição - RDC nº 298, de 12 de agosto de 2019**. 2019.

AREDO, Victor *et al.* Formation of edible oil-loaded beeswax microparticles using PGSS – Particles from Gas-Saturated Solutions. **Journal of Supercritical Fluids**, [s. l.], v. 169, 2021.

BABU, V Rajesh; AREEFULLA, S. H.; MALLIKARJUN, V. Solubility and Dissolution Enhancement : An overview. **Journal of Pharmacy Research**, [s. l.], v. 3, n. 1, p. 141–145, 2010.

BAGHERI, Hamidreza *et al.* Particle size design of acetaminophen using supercritical carbon dioxide to improve drug delivery: Experimental and modeling. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, [s. l.], v. 9, n. 6, p. 106384, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jece.2021.106384>.

BAHRAMI, Masoud; RANJBARIAN, Sima. Production of micro- and nano-composite particles by supercritical carbon dioxide. **Journal of Supercritical Fluids**,

[s. l.], v. 40, n. 2, p. 263–283, 2007.

BALBINOT FILHO, Clóvis A. *et al.* Precipitation of quercetin and nicotinamide in carbon dioxide + ethanol systems at high pressures: Phase equilibrium data for antisolvent processes. **Fluid Phase Equilibria**, [s. l.], v. 533, 2021.

BANDARU, Ravi Kumar *et al.* Recent Advances in Pharmaceutical Cocrystals: From Bench to Market. **Frontiers in Pharmacology**, [s. l.], v. 12, n. November, p. 1–16, 2021.

BATTU, Sunil Kumar *et al.* Physicochemical characterization of berberine chloride: A perspective in the development of a solution dosage form for oral delivery. **AAPS PharmSciTech**, [s. l.], v. 11, n. 3, p. 1466–1475, 2010. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1208/s12249-010-9520-y>. Acesso em: 28 mar. 2022.

BENTLEY, Kenneth Walter. The Berberine and Tetrahydroberberine Alkaloids. *In*: THE ISOQUINOLINE ALKALOIDS: A COURSE IN ORGANIC CHEMISTRY. [S. l.]: Pergamon, 1965. p. 155–166. *E-book*. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780080106595500123>.

BERNSTEIN, Joel. **Polymorphism in Molecular Crystals**. [S. l.]: Oxford University Press, 2007. *E-book*. Disponível em: <https://oxford.universitypressscholarship.com/view/10.1093/acprof:oso/9780199236565.001.0001/acprof-9780199236565>.

BERTONCELLO, Kanandra Taisa *et al.* Micronization potentiates curcumin's anti-seizure effect and brings an important advance in epilepsy treatment. **Scientific Reports**, [s. l.], v. 8, n. 1, p. 1–9, 2018. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-018-20897-x>.

BILIADERIS, Costas G. Differential scanning calorimetry in food research-A review. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 10, n. 4, p. 239–265, 1983.

BISRAT, Mikael; NYSTRÖM, Christer. Physicochemical aspects of drug release. VIII. The relation between particle size and surface specific dissolution rate in agitated suspensions. **International Journal of Pharmaceutics**, [s. l.], v. 47, n. 1–3, p. 223–231, 1988.

BLAKEMORE, J. S. **Solid State Physics**. 2nd. ed. [S. l.]: Cambridge University Press, 1985.

BRITAIN, Harry G. **Polymorphism in Pharmaceutical Solids**. 2 eded. [S. l.]: Crc Press Inc, 2009.

BRUNNER, Erich. Reaktionsgeschwindigkeit in heterogenen Systemen. **Zeitschrift für Physikalische Chemie**, [s. l.], v. 47U, n. 1, p. 56–102, 1904. Disponível em: <https://www.degruyter.com/document/doi/10.1515/zpch-1904-4705/html>.

BRUNNER, Gerd. Supercritical fluids: technology and application to food processing. **Journal of Food Engineering**, [s. l.], v. 67, n. 1–2, p. 21–33, 2005. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0260877404003383#fig1>. Acesso em: 16 jan. 2019.

BUNACIU, Andrei A.; ABOUL-ENEIN, Hassan Y.; FLESCHEIN, Serban. Recent applications of fourier transform infrared spectrophotometry in herbal medicine analysis. **Applied Spectroscopy Reviews**, [s. l.], v. 46, n. 4, p. 251–260, 2011.

BUNACIU, Andrei A.; UDRIȘTIOIU, Elena gabriela; ABOUL-ENEIN, Hassan Y. X-Ray Diffraction: Instrumentation and Applications. **Critical Reviews in Analytical Chemistry**, [s. l.], v. 45, n. 4, p. 289–299, 2015.

CALLISTER, William D.; RETHWISCH, David G. **Ciência e Engenharia de Materiais: Uma Introdução**. [S. l.]: LTC - Livros Técnicos e Científicos Editora Ltda., 2012.

CERNAKOVA, M.; KOŠŤÁLOVÁ, D. Antimicrobial activity of berberine - A constituent of *Mahonia aquifolium*. **Folia Microbiologica**, [s. l.], v. 47, n. 4, p. 375–378, 2002.

CHANG, Chiehming J; CHIU, Kou-Lung; DAY, Chang-Yih. A new apparatus for the determination of P–x–y diagrams and Henry's constants in high pressure alcohols with critical carbon dioxide. **The Journal of Supercritical Fluids**, [s. l.], v. 12, n. 3, p. 223–237, 1998. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S089684469800076X>.

CHANG, Chiehming J.; RANDOLPH, Alan D. Solvent expansion and solute solubility predictions in gas-expanded liquids. **AIChE Journal**, [s. l.], v. 36, n. 6, p. 939–942, 1990.

CHAROENCHAITRAKOOL, M. *et al.* Micronization by rapid expansion of supercritical solutions to enhance the dissolution rates of poorly water-soluble pharmaceuticals. **Industrial and Engineering Chemistry Research**, [s. l.], v. 39, n. 12, p. 4794–4802, 2000.

CHAROENCHAITRAKOOL, Manop; ROUBROUM, Tungrat; SUDSAKORN, Kandis. Processing of a novel mefenamic acid-paracetamol-nicotinamide cocrystal using gas anti-solvent process. **Journal of CO2 Utilization**, [s. l.], v. 62, n. February, p. 102080, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jcou.2022.102080>.

CHEMBURKAR, Sanjay R. *et al.* Dealing with the impact of ritonavir polymorphs on the late stages of bulk drug process development. **Organic Process Research and Development**, [s. l.], v. 4, n. 5, p. 413–417, 2000.

CHIENG, Norman; RADES, Thomas; AALTONEN, Jaakko. An overview of recent studies on the analysis of pharmaceutical polymorphs. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, [s. l.], v. 55, n. 4, p. 618–644, 2011.

CHIU, Hung Yu; LEE, Ming Jer; LIN, Ho Mu. Vapor-liquid phase boundaries of binary mixtures of carbon dioxide with ethanol and acetone. **Journal of Chemical and Engineering Data**, [s. l.], v. 53, n. 10, p. 2393–2402, 2008.

CLAS, Sophie Dorothée; DALTON, Chad R.; HANCOCK, Bruno C. Differential scanning calorimetry: Applications in drug development. **Pharmaceutical Science and Technology Today**, [s. l.], v. 2, n. 8, p. 311–320, 1999.

COOPER, Andrew I. Polymer synthesis and processing using supercritical carbon dioxide. **Journal of Materials Chemistry**, [s. l.], v. 10, n. 2, p. 207–234, 2000.

COSTA, P.; SOUSA LOBO, J. M. Modeling and comparison of dissolution profiles. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, [s. l.], v. 13, n. 2, p. 123–133, 2001.

CUADRA, Isaac A. *et al.* Pharmaceutical co-crystals of the anti-inflammatory drug diflunisal and nicotinamide obtained using supercritical CO<sub>2</sub> as an antisolvent. **Journal of CO2 Utilization**, [s. l.], v. 13, p. 29–37, 2016.

CULLITY, B. D.; STOCK, S. R. **Elements of X-Ray Diffraction**. 3rd. ed. [S. l.]: Pearson, 2001.

DA FONSECA ANTUNES, André B. *et al.* Solvent-free drug crystal engineering for drug nano- and micro suspensions. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, [s. l.], v. 48, n. 1–2, p. 121–129, 2013.

DAL MAGRO, Camila *et al.* Co-precipitation of trans-resveratrol in PHBV using Solution Enhanced Dispersion by Supercritical Fluids technique. **Journal of**

**Supercritical Fluids**, [s. l.], v. 127, p. 182–190, 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0896844617301109>. Acesso em: 16 jan. 2019.

DAL MAGRO, Camila *et al.* Production of curcumin-resveratrol cocrystal using cocrystallization with supercritical solvent. **Journal of Supercritical Fluids**, [s. l.], v. 171, n. February, p. 105190, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2021.105190>.

DARANDALE, S. S.; VAVIA, P. R. Cyclodextrin-based nanosponges of curcumin: Formulation and physicochemical characterization. **Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry**, [s. l.], v. 75, n. 3–4, p. 315–322, 2013.

DE LA FUENTE BADILLA, J.C.; PETERS, C.J.; DE SWAAN ARONS, J. Volume expansion in relation to the gas–antisolvent process. **The Journal of Supercritical Fluids**, [s. l.], v. 17, n. 1, p. 13–23, 2000. Disponível em: [www.elsevier.com/locate/supflu](http://www.elsevier.com/locate/supflu). Acesso em: 4 dez. 2018.

DE LA FUENTE, Juan C.; SHARIATI, Alireza; PETERS, Cor J. On the selection of optimum thermodynamic conditions for the GAS process. **Journal of Supercritical Fluids**, [s. l.], v. 32, n. 1–3, p. 55–61, 2004.

DE OLIVEIRA, Patricia Viera *et al.* Micronization of naringenin in supercritical fluid medium: In vitro and in vivo assays. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, [s. l.], v. 82, n. March, p. 104382, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2023.104382>.

DEGUI, Laura *et al.* Micronized resveratrol shows promising effects in a seizure model in zebrafish and signalizes an important advance in epilepsy treatment. **Epilepsy Research**, [s. l.], v. 159, n. November 2019, p. 106243, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2019.106243>.

DENG, Yanping *et al.* Preparation, Crystal Structures, and Oral Bioavailability of Two Cocrystals of Emodin with Berberine Chloride. **Crystal Growth and Design**, [s. l.], v. 18, n. 12, p. 7481–7488, 2018.

DEVEOGLU, Ozan *et al.* Examination of Dyeing Properties of the Dyed Cotton Fabrics with Barberry (*Berberis vulgaris* L.). **Journal of Natural Fibers**, [s. l.], v. 17, n. 8, p. 1089–1098, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/15440478.2018.1558143>.

DHIMAN, Atul; PRABHAKAR, Pramod K. Micronization in food processing: A comprehensive review of mechanistic approach, physicochemical, functional properties and self-stability of micronized food materials. **Journal of Food Engineering**, [s. l.], v. 292, n. April 2020, p. 110248, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2020.110248>.

DIAS, Jônatas L. *et al.* Production of quercetin-nicotinamide cocrystals by gas antisolvent (GAS) process. **Journal of Supercritical Fluids**, [s. l.], v. 188, n. June, 2022.

DODDS, Shawn; WOOD, Jeffery A.; CHARPENTIER, Paul A. Modeling of the Gas-Antisolvent (GAS) process for crystallization of beclomethasone dipropionate using carbon dioxide. **Industrial and Engineering Chemistry Research**, [s. l.], v. 46, n. 24, p. 8009–8017, 2007.

DOKOUMETZIDIS, Aristides; MACHERAS, Panos. A century of dissolution research: From Noyes and Whitney to the Biopharmaceutics Classification System. **International Journal of Pharmaceutics**, [s. l.], v. 321, n. 1–2, p. 1–11, 2006.

DUGGIRALA, Naga K. *et al.* Pharmaceutical cocrystals: along the path to improved medicines. **Chemical Communications**, [s. l.], v. 52, n. 4, p. 640–655, 2016.

DUTTA, Aastha. Chapter 4 - Fourier Transform Infrared Spectroscopy. *In*: THOMAS, Sabu *et al.* (org.). **Micro and Nano Technologies**. [S. l.]: Elsevier, 2017. p. 73–93. *E-book*. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780323461405000042>.

ECKHARDT, Katrin *et al.* Berberinchlorid aus Berberitzenrinde. **Chemie in Unserer Zeit**, [s. l.], v. 51, n. 5, p. 344–356, 2017. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/ciuz.201700791>.

ELSHEIKH, Manal A. *et al.* Novel cremochylomicrons for improved oral bioavailability of the antineoplastic phytochemistry berberine chloride: Optimization and pharmacokinetics. **International Journal of Pharmaceutics**, [s. l.], v. 535, n. 1–2, p. 316–324, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2017.11.023>.

ERCICEK, Fatma *et al.* Naproxen-bipyridine cocrystallization assisted by pressurized carbon dioxide. **The Journal of Supercritical Fluids**, [s. l.], v. 200, n. May, p. 105976, 2023. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0896844623001407>.

ESFANDIARI, Nadia; GHOREISHI, Seyyed M. Optimal thermodynamic conditions for ternary system (CO<sub>2</sub>, DMSO, ampicillin) in supercritical CO<sub>2</sub> antisolvent process. **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**, [s. l.], v. 50, p. 31–36, 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jtice.2014.12.015>.

FAHIM, T. K. *et al.* Particle formation and micronization using non-conventional techniques- review. **Chemical Engineering and Processing: Process Intensification**, [s. l.], v. 86, p. 47–52, 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cep.2014.10.009>. Acesso em: 4 dez. 2018.

FERREIRA, Patricia Osorio *et al.* A norfloxacin-nicotinic acid cocrystal: Mechanochemical synthesis, thermal and structural characterization and solubility assays. **Thermochimica Acta**, [s. l.], v. 694, n. September, 2020.

FERREIRA, Laura Teófilo *et al.* Investigation and characterization by TG/DTG–DTA and DSC of the fusion of Riboflavin, and its interaction with the antibiotic norfloxacin in the screening of cocrystal. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, [s. l.], v. 136, n. 2, p. 581–588, 2019.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. Regulatory classification of pharmaceutical co-crystals, guidance for industry. **U.S. Department of Health and Human Services**, [s. l.], n. February, p. 1–4, 2018.

FRANCESCHI, Elton *et al.* Precipitation of  $\beta$ -carotene and PHBV and co-precipitation from SEDS technique using supercritical CO<sub>2</sub>. **Journal of Supercritical Fluids**, [s. l.], v. 47, n. 2, p. 259–269, 2008. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0896844608002428>. Acesso em: 12 dez. 2018.

FRIŠČIĆ, Tomislav; JONES, William. Benefits of cocrystallisation in pharmaceutical materials science: An update. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, [s. l.], v. 62, n. 11, p. 1547–1559, 2010.

FRONCZEK, Frank R. CCDC 1959713: Experimental Crystal Structure Determination. **CCDC**, [s. l.], 2019.

GALLAGHER, P M *et al.* Gas Antisolvent Recrystallization : New Process To Recrystallize Compounds Insoluble in Supercritical Fluids. **Supercritical Fluid Science and Technology; Johnston, K., et al.; ACS Symposium Series; American Chemical Society: Washington, DC, 406**, [s. l.], p. 334–354, 1989.

GARNERO, Claudia; LONGHI, Marcela. Study of ascorbic acid interaction with hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin and triethanolamine, separately and in combination. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, [s. l.], v. 45, n.

4, p. 536–545, 2007.

GEHENOT, A. *et al.* Value of thermal analysis in the critical evaluation of classical methods of melting point determination. **International Journal of Pharmaceutics**, [s. l.], v. 45, n. 1–2, p. 13–17, 1988.

GIRON, D. Thermal analysis and calorimetric methods in the characterisation of polymorphs and solvates. **Thermochimica Acta**, [s. l.], v. 248, n. C, p. 1–59, 1995.

GOUD, N. Rajesh *et al.* Fast dissolving eutectic compositions of curcumin. **International Journal of Pharmaceutics**, [s. l.], v. 439, n. 1–2, p. 63–72, 2012. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpharm.2012.09.045>.

GROOM, Colin R. *et al.* The Cambridge Structural Database. **Acta Crystallographica Section B Structural Science, Crystal Engineering and Materials**, [s. l.], v. 72, n. 2, p. 171–179, 2016. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S002235491630510X>.

GROTHER, E. *et al.* Solvates, Salts, and Cocrystals: A Proposal for a Feasible Classification System. **Crystal Growth and Design**, [s. l.], v. 16, n. 6, p. 3237–3243, 2016.

GRYCOVÁ, Lenka; DOSTÁL, Jiří; MAREK, Radek. Quaternary protoberberine alkaloids. **Phytochemistry**, [s. l.], v. 68, n. 2, p. 150–175, 2007. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0031942206006261>.

GU, Yan *et al.* Effect of traditional Chinese medicine berberine on type 2 diabetes based on comprehensive metabonomics. **Talanta**, [s. l.], v. 81, n. 3, p. 766–772, 2010. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2010.01.015>.

GUERAIN, Mathieu. A Review on High Pressure Experiments for Study of Crystallographic Behavior and Polymorphism of Pharmaceutical Materials. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, [s. l.], v. 109, n. 9, p. 2640–2653, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.xphs.2020.05.021>.

GUHA, Rajarshi; VINJAMUR, Madhu; MUKHOPADHYAY, Mamata. Demonstration of mechanisms for coprecipitation and encapsulation by supercritical antisolvent process. **Industrial and Engineering Chemistry Research**, [s. l.], v. 50, n. 2, p. 1079–1088, 2011.

GUO, Minshan *et al.* Pharmaceutical cocrystals: A review of preparations, physicochemical properties and applications. **Acta Pharmaceutica Sinica B**, [s. l.], v. 11, n. 8, p. 2537–2564, 2021.

HAKUTA, Yukiya; HAYASHI, Hiromichi; ARAI, Kunio. Fine particle formation using supercritical fluids. **Current Opinion in Solid State and Materials Science**, [s. l.], v. 7, n. 4–5, p. 341–351, 2003.

HANNAY, J. B.; HOGARTH, James. VI. On the solubility of solids in gases. **Proceedings of the Royal Society of London**, [s. l.], v. 29, n. 196–199, p. 324–326, 1879. Disponível em: <https://royalsocietypublishing.org/doi/10.1098/rspl.1879.0054>.

HEFTER, G. T.; TOMKINS, R. P. T. The experimental Determination of Solubilities. *In*: [S. l.]: Wiley, 2003. v. 6, p. 660.

HERRERO, Miguel *et al.* Supercritical fluid extraction: Recent advances and applications. **Journal of Chromatography A**, [s. l.], v. 1217, n. 16, p. 2495–2511, 2010.

HILDEN, Lori R.; MORRIS, Kenneth R. Physics of amorphous solids. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, [s. l.], v. 93, n. 1, p. 3–12, 2004. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022354916313855>.

HUANG, Kee Chang. **The Pharmacology of Chinese Herbs**. 2. ed. New York, USA: CRC Press Inc, 1999.

IMCHALEE, Rawin; CHAROENCHAITRAKOOL, Manop. Gas anti-solvent processing of a new sulfamethoxazole-l-malic acid cocrystal. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, [s. l.], v. 25, p. 12–15, 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jiec.2014.11.009>.

ISAILOVIĆ, Bojana D. *et al.* Resveratrol loaded liposomes produced by different techniques. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, [s. l.], v. 19, p. 181–189, 2013.

ISMAIL, Ashraf A; VAN DE VOORT, Frederick R; SEDMAN, Jacqueline. Chapter 4 Fourier transform infrared spectroscopy: Principles and applications. *In*: PARÉ, J R J; BÉLANGER, J M R B T - Techniques and Instrumentation in Analytical Chemistry (org.). **Instrumental Methods in Food Analysis**. [S. l.]: Elsevier, 1997. v. 18, p. 93–139. *E-book*. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0167924497800133>.

JAFARI, Dariush *et al.* Gas-antisolvent (GAS) crystallization of aspirin using supercritical carbon dioxide: Experimental study and characterization. **Industrial and Engineering Chemistry Research**, [s. l.], v. 54, n. 14, p. 3685–3696, 2015.

JAVED IQBAL, Muhammad *et al.* Nanotechnology-Based Strategies for Berberine Delivery System in Cancer Treatment: Pulling Strings to Keep Berberine in Power. **Frontiers in Molecular Biosciences**, [s. l.], v. 7, n. January, p. 1–12, 2021.

Jl, Hong Fang; SHEN, Liang. Berberine: A potential multipotent natural product to combat Alzheimer's disease. **Molecules**, [s. l.], v. 16, n. 8, p. 6732–6740, 2011.

JIA, Jingfu *et al.* Precise dissolution control and bioavailability evaluation for insoluble drug berberine via a polymeric particle prepared using supercritical CO<sub>2</sub>. **Polymers**, [s. l.], v. 10, n. 11, p. 1–16, 2018.

JIAN-LING, Jin *et al.* Antibacterial Mechanisms of Berberine and Reasons for Little Resistance of Bacteria. **Chinese Herbal Medicines**, [s. l.], v. 3, n. 1, p. 27–35, 2010.

JOSHI, J.T. A Review on Micronization Techniques. **Journal of Pharmaceutical Science and Technology**, [s. l.], v. 3, n. 7, p. 651–681, 2011. Disponível em: <https://www.yumpu.com/en/document/view/12266567/a-review-on-micronization-techniques-journal-of-pharmaceutical->

JUNG, Jennifer; PERRUT, Michel. Particle design using supercritical fluids: Literature and patent survey. **Journal of Supercritical Fluids**, [s. l.], v. 20, n. 3, p. 179–219, 2001. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S089684460100064X>. Acesso em: 4 dez. 2018.

JUNIOR, Francisco R S M *et al.* Encapsulation of astaxanthin from *Haematococcus pluvialis* in PHBV by means of SEDS technique using supercritical CO<sub>2</sub>. **Industrial Crops and Products**, [s. l.], v. 54, p. 17–21, 2014.

KALANI, Mahshid; YUNUS, Robiah. Application of supercritical antisolvent method in drug encapsulation: a review. **International journal of nanomedicine**, [s. l.], v. 6, p. 1429–1442, 2011. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.2147/IJN.S19021>. Acesso em: 4 abr. 2019.

KANAKI, Niranjan *et al.* A rapid method for isolation of piperine from the fruits of *Piper nigrum* Linn. **Journal of Natural Medicines**, [s. l.], v. 62, n. 3, p. 281–283, 2008.

KAPOOR, Devesh *et al.* **Fundamentals of diffusion and dissolution: Dissolution testing of pharmaceuticals**. [S. l.]: Elsevier Inc., 2019. *E-book*. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-814487-9.00001-6>.

KARIMI-JAFARI, Maryam *et al.* Creating cocrystals: A review of pharmaceutical cocrystal preparation routes and applications. **Crystal Growth and Design**, [s. l.], v. 18, n. 10, p. 6370–6387, 2018.

KARIUKI, B. M.; JONES, W. Five Salts of Berberine. **Acta Crystallographica Section C Crystal Structure Communications**, [s. l.], v. 51, n. 6, p. 1234–1240, 1995.

KAVANAGH, Oisín N. *et al.* Pharmaceutical cocrystals: from serendipity to design to application. **Drug Discovery Today**, [s. l.], v. 24, n. 3, p. 796–804, 2019.

KAYRAK, Defne; AKMAN, Uğur; HORTAÇSU, Öner. Micronization of Ibuprofen by RESS. *In*: , 2003. **Journal of Supercritical Fluids**. [S. l.: s. n.], 2003. p. 17–31.

KHADKA, Prakash *et al.* Pharmaceutical particle technologies : An approach to improve drug solubility , dissolution and bioavailability. **Asian Journal of Pharmaceutical Sciences**, [s. l.], v. 9, n. 6, p. 304–316, 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ajps.2014.05.005>.

KHEMANI, Manisha; SHARON, Maheshwar; SHARON, Madhuri. Encapsulation of Berberine in Nano-Sized PLGA Synthesized by Emulsification Method. **ISRN Nanotechnology**, [s. l.], v. 2012, p. 187354, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.5402/2012/187354>.

KIEN, Le Anh. Empirical and mathematical model of rapid expansion of supercritical solution (RESS) process of acetaminophen. **AIP Conference Proceedings**, [s. l.], v. 1878, 2017.

KIM, Joo Won *et al.* Anti-biofilm activity of N-Mannich bases of berberine linking piperazine against *Listeria monocytogenes*. **Food Control**, [s. l.], v. 121, n. October 2020, p. 107668, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107668>.

KIM, Min Soo *et al.* Micronization of cilostazol using supercritical antisolvent (SAS) process: Effect of process parameters. **Powder Technology**, [s. l.], v. 177, n. 2, p. 64–70, 2007.

KIM, Sungyun; LEE, Song Yi; CHO, Hyun Jong. Berberine and zinc oxide-based nanoparticles for the chemo-photothermal therapy of lung adenocarcinoma. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, [s. l.], v. 501, n. 3, p. 765–770, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2018.05.063>.

KIM, Jong Hyun; PAXTON, Thomas E.; TOMASKO, David L. Microencapsulation of naproxen using rapid expansion of supercritical solutions. **Biotechnology Progress**, [s. l.], v. 12, n. 5, p. 650–661, 1996.

KITTEL, Charles. **Introdução a Física do Estado Sólido**. 5. ed. Rio de Janeiro: [s. n.], 1978.

KLETTENHAMMER, Stefan *et al.* Microencapsulation of linseed oil enriched with carrot pomace extracts using Particles from Gas Saturated Solutions (PGSS) process. **Journal of Food Engineering**, [s. l.], v. 312, n. February 2021, p. 110746, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2021.110746>.

KLÍMOVÁ, K.; LEITNER, J. DSC study and phase diagrams calculation of binary systems of paracetamol. **Thermochimica Acta**, [s. l.], v. 550, n. 2, p. 59–64, 2012. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tca.2012.09.024>.

KNEZ *et al.* Industrial applications of supercritical fluids: A review. **Energy**, [s. l.], v. 77, p. 235–243, 2014. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0360544214008664#bib6>. Acesso em: 16 jan. 2019.

KNEZ, Zeljko; WEIDNER, Eckhard. Particles formation and particle design

using supercritical fluids. **Current Opinion in Solid State and Materials Science**, [s. l.], v. 7, n. 4–5, p. 353–361, 2003. Disponível em: [https://ac.els-cdn.com/S1359028603000974/1-s2.0-S1359028603000974-main.pdf?\\_tid=4145e5f6-98f9-4947-964c-ef9d85493c77&acdnat=1543926886\\_9515f1e1e7cdd5767c4a2ab0a4db8f79](https://ac.els-cdn.com/S1359028603000974/1-s2.0-S1359028603000974-main.pdf?_tid=4145e5f6-98f9-4947-964c-ef9d85493c77&acdnat=1543926886_9515f1e1e7cdd5767c4a2ab0a4db8f79). Acesso em: 4 dez. 2018.

KOHLI, Kanchan *et al.* Development of natural polysaccharide-based nanoparticles of berberine to enhance oral bioavailability: Formulation, optimization, ex vivo, and in vivo assessment. **Polymers**, [s. l.], v. 13, n. 21, p. 1–14, 2021.

KONG, Weijia *et al.* Berberine is a novel cholesterol-lowering drug working through a unique mechanism distinct from statins. **Nature Medicine**, [s. l.], v. 10, n. 12, p. 1344–1351, 2004.

KORDIKOWSKI, A. *et al.* Volume expansions and vapor-liquid equilibria of binary mixtures of a variety of polar solvents and certain near-critical solvents. **The Journal of Supercritical Fluids**, [s. l.], v. 8, n. 3, p. 205–216, 1995.

KORNILOVA, Tatiana *et al.* A new pseudopolymorph of berberine chloride: crystal structure and Hirshfeld surface analysis. **Acta Crystallographica Section E: Crystallographic Communications**, [s. l.], v. 78, p. 468–472, 2022.

KÖRÖSI, Márton *et al.* Gas antisolvent fractionation: A new method to obtain enantiopure compounds, a case study on mandelic acid. **Periodica Polytechnica Chemical Engineering**, [s. l.], v. 63, n. 1, p. 130–137, 2019.

KULKARNI, S. K.; DHIR, Ashish. Berberine: a plant alkaloid with therapeutic potential for central nervous system disorders. **Phytotherapy Research**, [s. l.], v. 24, n. 3, p. 317–324, 2010. Disponível em: <http://www3.interscience.wiley.com/journal/117934759/abstract>. Acesso em: 28 mar. 2022.

KUMAR, K. Arjun *et al.* Modeling of precipitation of ultra-fine particles by pressure reduction over CO<sub>2</sub>-expanded liquids. **Journal of Supercritical Fluids**, [s. l.], v. 79, p. 227–235, 2013. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.supflu.2013.03.009>.

KUMAR, Rahul *et al.* Particle Size Reduction Techniques of Pharmaceutical Compounds for the Enhancement of Their Dissolution Rate and Bioavailability. **Journal of Pharmaceutical Innovation**, [s. l.], v. 17, n. 2, p. 333–352, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s12247-020-09530-5>.

LAM, Pik Ling *et al.* Development of formaldehyde-free agar/gelatin microcapsules containing berberine HCl and gallic acid and their topical and oral applications. **Soft Matter**, [s. l.], v. 8, n. 18, p. 5027–5037, 2012.

LAO, Lixing; XU, Ling; XU, Shifen. Traditional Chinese Medicine. **Integrative Pediatric Oncology**, Berlin, Heidelberg, p. 125–135, 2012. Disponível em: [https://doi.org/10.1007/978-3-642-04201-0\\_9](https://doi.org/10.1007/978-3-642-04201-0_9).

LI, Ying *et al.* Effect of process parameters on the recrystallization and size control of puerarin using the supercritical fluid antisolvent process. **Asian Journal of Pharmaceutical Sciences**, [s. l.], v. 11, n. 2, p. 281–291, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ajps.2015.12.001>.

LI, Peizhe *et al.* Two Cocrystals of Berberine Chloride with Myricetin and Dihyromyricetin: Crystal Structures, Characterization, and Antitumor Activities. **Crystal Growth and Design**, [s. l.], v. 20, n. 1, p. 157–166, 2020.

LI, Ning; XU, Liang. Thermal analysis of  $\beta$ -cyclodextrin/Berberine chloride inclusion compounds. **Thermochimica Acta**, [s. l.], v. 499, n. 1–2, p. 166–170, 2010.

LIU, Chang Shun *et al.* Research progress on berberine with a special focus

on its oral bioavailability. **Fitoterapia**, [s. l.], v. 109, p. 274–282, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fitote.2016.02.001>.

LIU, Xue Feng; XIA, Yong Mei; FANG, Yun. Effect of metal ions on the interaction between bovine serum albumin and berberine chloride extracted from a traditional Chinese Herb *Coptis chinensis* Franch. **Journal of Inorganic Biochemistry**, [s. l.], v. 99, n. 7, p. 1449–1457, 2005. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2005.02.025>.

LONG, Barry *et al.* Generation and physicochemical characterization of posaconazole cocrystals using Gas Antisolvent (GAS) and Supercritical Solvent (CSS) methods. **Journal of Supercritical Fluids**, [s. l.], v. 170, n. May 2020, p. 105134, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2020.105134>.

LÓPEZ-IGLESIAS, Clara *et al.* Lidocaine-loaded solid lipid microparticles (SLMPS) produced from gas-saturated solutions for wound applications. **Pharmaceutics**, [s. l.], v. 12, n. 9, p. 1–16, 2020.

LU, Zhongyu *et al.* Cocrystal of phloretin with isoniazid: preparation, characterization, and evaluation. **RSC Advances**, [s. l.], v. 13, n. 16, p. 10914–10922, 2023.

LU, Qi *et al.* Improving solid-state properties of berberine chloride through forming a salt cocrystal with citric acid. **International Journal of Pharmaceutics**, [s. l.], v. 554, n. August 2018, p. 14–20, 2019.

LU, Huanhuan; YAN, Zhenning; SUN, Meng. Studies on synthesis, physicochemical properties, biological activities of two novel berberine-based salts with DL-mandelate and cinnamate anions. **Journal of Molecular Structure**, [s. l.], v. 1294, n. P1, p. 136359, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2023.136359>.

MAÇAIRA, José *et al.* Biodiesel production using supercritical methanol/carbon dioxide mixtures in a continuous reactor. **Fuel**, [s. l.], v. 90, n. 6, p. 2280–2288, 2011.

MACEACHERN, L. *et al.* Cocrystal formation of niclosamide and urea in supercritical CO<sub>2</sub> and impact of cosolvent. **The Journal of Supercritical Fluids**, [s. l.], v. 201, n. June, p. 106029, 2023.

MAHARANA, Abhishek; SARKAR, Debasis. Solubility measurements and thermodynamic modeling of pyrazinamide in five different solvent-antisolvent mixtures. **Fluid Phase Equilibria**, [s. l.], v. 497, p. 33–54, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fluid.2019.06.004>.

MARTELLO, Rafael Henrique *et al.* Micronization of thymol by RESS and its larvicidal activity against *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae). **Industrial Crops and Products**, [s. l.], v. 139, n. February, p. 111495, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111495>.

MARTÍN, Ángel *et al.* Production of polymorphs of ibuprofen sodium by supercritical antisolvent (SAS) precipitation. **Crystal Growth and Design**, [s. l.], v. 9, n. 5, p. 2504–2511, 2009.

MARTÍN, A.; COCERO, M. J. Micronization processes with supercritical fluids: Fundamentals and mechanisms. **Advanced Drug Delivery Reviews**, [s. l.], v. 60, n. 3, p. 339–350, 2008. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0169409X07002578>. Acesso em: 19 jan. 2019.

MARTÍN, A.; COCERO, M. J. Precipitation processes with supercritical fluids: Patents review. **Recent Patents on Engineering**, [s. l.], v. 2, n. 1, p. 9–20, 2008.

MAZZUTTI, Simone *et al.* Green-based methods to obtain bioactive extracts

from *Plantago major* and *Plantago lanceolata*. **Journal of Supercritical Fluids**, [s. l.], v. 119, p. 211–220, 2017.

MEHTANI, Disha *et al.* Dissolution Profile Consideration in Pharmaceutical Product Development. *In: DOSAGE FORM DESIGN CONSIDERATIONS: VOLUME I*. [S. l.]: Academic Press, 2018. p. 287–336.

MENDIOLA, José A. *et al.* Use of compressed fluids for sample preparation: Food applications. **Journal of Chromatography A**, [s. l.], v. 1152, n. 1–2, p. 234–246, 2007.

MENG, Fan Cheng *et al.* Coptidis rhizoma and its main bioactive components: Recent advances in chemical investigation, quality evaluation and pharmacological activity. **Chinese Medicine (United Kingdom)**, [s. l.], v. 13, n. 1, p. 1–18, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s13020-018-0171-3>.

MIDDLETON, John C.; TIPTON, Arthur J. Synthetic biodegradable polymers as orthopedic devices. **Biomaterials**, [s. l.], v. 21, n. 23, p. 2335–2346, 2000. Disponível em: <http://xlink.rsc.org/?DOI=c3ay40784e>. Acesso em: 5 fev. 2019.

MISHIMA, Kenji. Biodegradable particle formation for drug and gene delivery using supercritical fluid and dense gas. **Advanced Drug Delivery Reviews**, [s. l.], v. 60, n. 3, p. 411–432, 2008.

MOMBEINI, Mohammad Amin *et al.* Protective effects of berberine as a natural antioxidant and anti-inflammatory agent against nephrotoxicity induced by cyclophosphamide in mice. **Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology**, [s. l.], p. 187–194, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00210-021-02182-3>.

MORIBE, Kunikazu; TOZUKA, Yuichi; YAMAMOTO, Keiji. **Supercritical carbon dioxide processing of active pharmaceutical ingredients for polymorphic control and for complex formation**. [S. l.: s. n.], 2008.

MOSHARRAF, Mitra; NYSTRÖM, Christer. The effect of particle size and shape on the surface specific dissolution rate of microsized practically insoluble drugs. **International Journal of Pharmaceutics**, [s. l.], v. 122, n. 1–2, p. 35–47, 1995.

MUHRER, Gerhard; LIN, Cheng; MAZZOTTI, Marco. Modeling the gas antisolvent recrystallization process. **Industrial and Engineering Chemistry Research**, [s. l.], v. 41, n. 15, p. 3566–3579, 2002.

MUKHOPADHYAY, Mamata. Partial molar volume reduction of solvent for solute crystallization using carbon dioxide as antisolvent. **Journal of Supercritical Fluids**, [s. l.], v. 25, n. 3, p. 213–223, 2003.

MUKHOPADHYAY, Mamata; DALVI, Sameer V. Partial molar volume fraction of solvent in binary (CO<sub>2</sub>-solvent) solution for solid solubility predictions. **Journal of Supercritical Fluids**, [s. l.], v. 29, n. 3, p. 221–230, 2004.

MYERS, H. P. **Introductory Solid State Physics**. 2 eded. [S. l.: s. n.], 2009.

NALAWADE, Sameer P.; PICCHIONI, Francesco; JANSSEN, L. P.B.M. Supercritical carbon dioxide as a green solvent for processing polymer melts: Processing aspects and applications. **Progress in Polymer Science (Oxford)**, [s. l.], v. 31, n. 1, p. 19–43, 2006.

NAQVI, Afreen *et al.* Preparation and evaluation of pharmaceutical co-crystals for solubility enhancement of atorvastatin calcium. **Polymer Bulletin**, [s. l.], v. 77, n. 12, p. 6191–6211, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00289-019-02997-4>.

NERNST, W. Theorie der Reaktionsgeschwindigkeit in heterogenen Systemen. **Zeitschrift für Physikalische Chemie**, [s. l.], v. 47U, n. 1, p. 52–55, 1904. Disponível em: <https://www.degruyter.com/document/doi/10.1515/zpch-1904->

4704/html.

NEUROHR, C. *et al.* Naproxen-nicotinamide cocrystals produced by CO<sub>2</sub> antisolvent. **Journal of Supercritical Fluids**, [s. l.], v. 83, p. 78–85, 2013.

NICOLOV, Mirela *et al.* Cocrystal formation of betulinic acid and ascorbic acid: Synthesis, physico-chemical assessment, antioxidant, and antiproliferative activity. **Frontiers in Chemistry**, [s. l.], v. 7, n. FEB, p. 1–11, 2019.

NOYES, Arthur A.; WHITNEY, Willis R. The rate of solution of solid substances in their own solutions. **Journal of the American Chemical Society**, [s. l.], v. 19, n. 12, p. 930–934, 1897.

OBER, Courtney A.; GUPTA, Ram B. Formation of itraconazole-succinic acid cocrystals by gas antisolvent cocrystallization. **AAPS PharmSciTech**, [s. l.], v. 13, n. 4, p. 1396–1406, 2012.

OBER, Courtney A.; MONTGOMERY, Stephen E.; GUPTA, Ram B. Formation of itraconazole/L-malic acid cocrystals by gas antisolvent cocrystallization. **Powder Technology**, [s. l.], v. 236, p. 122–131, 2013.

ONG, Eng-Shi; WOO, Soo-On; YONG, Yuk-Lin. Pressurized liquid extraction of berberine and aristolochic acids in medicinal plants. **Journal of Chromatography A**, [s. l.], v. 904, n. 1, p. 57–64, 2000. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021967300009146>.

PADRELA, Luis *et al.* Formation of indomethacin-saccharin cocrystals using supercritical fluid technology. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, [s. l.], v. 38, n. 1, p. 9–17, 2009.

PAGE, Philip C Bulman *et al.* Organocatalysis of Asymmetric Epoxidation Mediated by Iminium Salts under Nonaqueous Conditions. **The Journal of Organic Chemistry**, [s. l.], v. 69, n. 10, p. 3595–3597, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/jo035820j>.

PAN, Yu Jing *et al.* Supercritical antisolvent process-assisted fabrication of chrysin-polyvinylpyrrolidone sub-microparticles for improved anticancer efficiency. **Journal of Supercritical Fluids**, [s. l.], v. 162, p. 104847, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2020.104847>.

PANG, Yuesheng *et al.* Mechanism of berberine hydrochloride interfering with biofilm formation of *Hafnia alvei*. **Archives of Microbiology**, [s. l.], v. 204, n. 2, p. 1–9, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00203-021-02617-8>.

PASQUALI, Irene; BETTINI, Ruggero; GIORDANO, Ferdinando. Solid-state chemistry and particle engineering with supercritical fluids in pharmaceuticals. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, [s. l.], v. 27, n. 4, p. 299–310, 2006.

PAULAZZI, Alessandro R. *et al.* Curcumin and n-acetylcysteine cocrystal produced with supercritical solvent: characterization, solubility, and preclinical evaluation of antinociceptive and anti-inflammatory activities. **Inflammopharmacology**, [s. l.], v. 30, n. 1, p. 327–341, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10787-021-00917-5>.

PENG, Wen Huang *et al.* Anxiolytic effect of berberine on exploratory activity of the mouse in two experimental anxiety models: Interaction with drugs acting at 5-HT receptors. **Life Sciences**, [s. l.], v. 75, n. 20, p. 2451–2462, 2004.

PENG, Ding-yu; ROBINSON, Donald B. A New Two-Constant Equation of State. **Industrial & Engineering Chemistry Fundamentals**, [s. l.], v. 15, n. 1, p. 59–64, 1976. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/i160057a011>.

PERKIN, W. H. XII.—On berberine. (Part I.). **Journal of the Chemical Society, Transactions**, [s. l.], v. 55, n. 0, p. 63–90, 1889. Disponível em:

<http://xlink.rsc.org/?DOI=CT8895500063>.

PERRINS, J. Dyson. On berberine - Contributions to its history and revision of its formula. **Journal of the Chemical Society**, [s. l.], v. 15, n. 0, p. 339–356, 1862.

PERRUT, M.; JUNG, J.; LEBOEUF, F. Enhancement of dissolution rate of poorly-soluble active ingredients by supercritical fluid processes: Part I: Micronization of neat particles. **International Journal of Pharmaceutics**, [s. l.], v. 288, n. 1, p. 3–10, 2005.

PESSOA, Alcidênio S. *et al.* Precipitation of resveratrol-isoniazid and resveratrol-nicotinamide cocrystals by gas antisolvent. **Journal of Supercritical Fluids**, [s. l.], v. 145, p. 93–102, 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0896844617301109>. Acesso em: 20 nov. 2018.

PETRUCCI, Ralph H. *et al.* **General Chemistry: Principles and Modern Applications**. 11 eded. Toronto: Pearson, 2017.

PHILLIPS, Elaine M.; STELLA, Valentino J. **Rapid expansion from supercritical solutions: application to pharmaceutical processes**. [S. l.]: Elsevier, 1993.

PIRILLO, Angela; CATAPANO, Alberico Luigi. Berberine, a plant alkaloid with lipid- and glucose-lowering properties: From in vitro evidence to clinical studies. **Atherosclerosis**, [s. l.], v. 243, n. 2, p. 449–461, 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2015.09.032>.

PRASAD, Rupanjali; PATSARIYA, Rahul; DALVI, Sameer V. Precipitation of curcumin by pressure reduction of CO<sub>2</sub>-expanded acetone. **Powder Technology**, [s. l.], v. 310, p. 143–153, 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.powtec.2016.12.042>.

PRAUSNITZ, John M.; LICHTENTHALER, Ruediger N.; AZEVEDO, Edmundo Gomes de. **Molecular thermodynamics of fluid-phase equilibria**. 2 ed.ed. New Jersey: Prentice-Hall, 1986.

RAJU, Marina *et al.* Berberine loaded nanostructured lipid carrier for Alzheimer's disease: Design, statistical optimization and enhanced in vivo performance. **Life Sciences**, [s. l.], v. 285, n. September, p. 119990, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2021.119990>.

RAJU, Marina; KULKARNI, Yogesh A.; WAIRKAR, Sarika. Therapeutic potential and recent delivery systems of berberine: A wonder molecule. **Journal of Functional Foods**, [s. l.], v. 61, n. June, p. 103517, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.103517>.

RASENACK, Norbert; MÜLLER, Bernd W. Micron-Size Drug Particles: Common and Novel Micronization Techniques. **Pharmaceutical Development and Technology**, [s. l.], v. 9, n. 1, p. 1–13, 2004.

RAW, Andre S. *et al.* Regulatory considerations of pharmaceutical solid polymorphism in Abbreviated New Drug Applications (ANDAs). **Advanced Drug Delivery Reviews**, [s. l.], v. 56, n. 3, p. 397–414, 2004.

REMIRO, Paula de Freitas Rosa; ROSA, Paulo de Tarso Vieira e.; MORAES, Ângela Maria. Effect of process variables on imiquimod micronization using a supercritical antisolvent (SAS) precipitation technique. **Journal of Supercritical Fluids**, [s. l.], v. 181, n. November 2021, 2022.

REVERCHON, Ernesto. Supercritical antisolvent precipitation of micro- and nano-particles. **Journal of Supercritical Fluids**, [s. l.], v. 15, p. 1–21, 1999.

RIBAS, Marcela M. *et al.* Curcumin cocrystals using supercritical fluid technology. **Journal of Supercritical Fluids**, [s. l.], v. 152, p. 104564, 2019.

Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0896844619301032>. Acesso em: 27 set. 2019.

ROSTAMIAN, Hossein; LOTFOLLAHI, Mohammad Nader. Production and characterization of ultrafine aspirin particles by rapid expansion of supercritical solution with solid co-solvent (RESS-SC): expansion parameters effects. **Particulate Science and Technology**, [s. l.], v. 38, n. 5, p. 617–625, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/02726351.2019.1573865>.

SACHETT, Adrieli *et al.* Curcumin micronization by supercritical fluid: In vitro and in vivo biological relevance. **Industrial Crops and Products**, [s. l.], v. 177, n. July 2021, p. 114501, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.114501>.

SAKABE, Junichi; UCHIDA, Hirohisa. Nanoparticle size control of theophylline using rapid expansion of supercritical solutions (RESS) technique. **Advanced Powder Technology**, [s. l.], v. 33, n. 1, p. 103413, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.apt.2021.103413>.

SAKATA, Guilherme S.B. *et al.* Encapsulation of trans-resveratrol in poly( $\epsilon$ -caprolactone) by GAS antisolvent. **Journal of Supercritical Fluids**, [s. l.], v. 171, n. March 2020, p. 105164, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2021.105164>.

SANPHUI, Palash *et al.* Fast dissolving curcumin cocrystals. **Crystal Growth and Design**, [s. l.], v. 11, n. 9, p. 4135–4145, 2011.

SANTOS, Aline Elias dos *et al.* Micronization of luteolin using supercritical carbon dioxide: Characterization of particles and biological activity in vitro. **Journal of Supercritical Fluids**, [s. l.], v. 181, n. November 2021, 2022.

SCHULTHEISS, Nate; NEWMAN, Ann. Pharmaceutical cocrystals and their physicochemical properties. **Crystal Growth & Design**, [s. l.], v. 9, n. 6, p. 2950–2967, 2009. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/cg900129f>.

SCHULZ, E. R. Berberine in the common barberry ( *Berberis vulgaris* L.). **Journal of the Chemical Society**, [s. l.], v. 15, n. 1, p. 33–39, 1926.

SHAMMA, Maurice; MONIOT, Jerome L. The Protoberberines and Retroprotoberberines. *In*: ISOQUINOLINE ALKALOIDS RESEARCH 1972–1977. Boston, MA: Springer US, 1978. v. 3, p. 209–259. *E-book*. Disponível em: <http://repositorio.unan.edu.ni/2986/1/5624.pdf>.

SHARIATI, A.; PETERS, C. J. Measurements and modeling of the phase behavior of ternary systems of interest for the GAS process: I. The system carbon dioxide + 1-propanol + salicylic acid. **Journal of Supercritical Fluids**, [s. l.], v. 23, n. 3, p. 195–208, 2002.

SHARMA, Ramesh K. *et al.* Characterization of chars from pyrolysis of lignin. **Fuel**, [s. l.], v. 83, n. 11–12, p. 1469–1482, 2004. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0016236104000559>.

SINGH, Manjeet *et al.* Observation of bending, cracking and jumping phenomena on cooling and heating of tetrahydrate berberine chloride crystals. **CrystEngComm**, [s. l.], v. 20, n. 16, p. 2253–2257, 2018.

SINGH, Inder Pal; MAHAJAN, Shivani. Berberine and its derivatives: A patent review (2009-2012). **Expert Opinion on Therapeutic Patents**, [s. l.], v. 23, n. 2, p. 215–231, 2013.

SMITH, J. M.; VAN NESS, H. C.; ABBOTT, M. M. **Introdução a termodinâmica da engenharia química**. 7 ed.ed. Rio de Janeiro: LTC - Livros Técnicos e Científicos Editora, 2007.

SNIDER, Daniel A.; ADDICKS, William; OWENS, Walter. Polymorphism in generic drug product development. **Advanced Drug Delivery Reviews**, [s. l.], v. 56, n. 3, p. 391–395, 2004.

SOKAL, Agnieszka; PINDELSKA, Edyta. Pharmaceutical Cocrystals as an Opportunity to Modify Drug Properties: From the Idea to Application: A Review. **Current Pharmaceutical Design**, [s. l.], v. 24, n. 13, p. 1357–1365, 2017.

SU, Chie Shaan. Prediction of solubilities of solid solutes in carbon dioxide-expanded organic solvents using the predictive Soave-Redlich-Kwong (PSRK) equation of state. **Chemical Engineering Research and Design**, [s. l.], v. 91, n. 6, p. 1163–1169, 2013. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cherd.2012.12.004>.

SUGANDHA, Kumari *et al.* Solubility enhancement of ezetimibe by a cocrystal engineering technique. **Crystal Growth and Design**, [s. l.], v. 14, n. 9, p. 4475–4486, 2014.

SUN, Yue *et al.* Phellodendri Cortex: A Phytochemical, Pharmacological, and Pharmacokinetic Review. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**, [s. l.], v. 2019, 2019.

TAN, Wen *et al.* Berberine hydrochloride: anticancer activity and nanoparticulate delivery system. **International journal of nanomedicine**, [s. l.], v. 6, p. 1773–1777, 2011.

TANDYA, Andrian; DEHGhani, Fariba; FOSTER, Neil R. Micronization of cyclosporine using dense gas techniques. **Journal of Supercritical Fluids**, [s. l.], v. 37, n. 3, p. 272–278, 2006.

TANG, Jin Ling; LIU, Bao Yan; MA, Kan Wen. Traditional Chinese medicine. **The Lancet**, [s. l.], v. 372, n. 9654, p. 1938–1940, 2008. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0140673608613549>.

TONG, Jinjin *et al.* A berberine hydrochloride-carboxymethyl chitosan hydrogel protects against *Staphylococcus aureus* infection in a rat mastitis model. **Carbohydrate Polymers**, [s. l.], v. 278, p. 118910, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.118910>.

TONG, Henry H.Y. *et al.* **CCDC 735616: Experimental Crystal Structure Determination**. [S. l.], 2010.

TONG, Henry H.Y. *et al.* Process-Induced Phase Transformation of Berberine Chloride Hydrates. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, [s. l.], v. 99, n. 4, p. 1942–1954, 2009. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S002235491630510X>.

TORKY, Abrar S. *et al.* Novel skin penetrating berberine oleate complex capitalizing on hydrophobic ion pairing approach. **International Journal of Pharmaceutics**, [s. l.], v. 549, n. 1–2, p. 76–86, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2018.07.051>.

TSIVINTZELIS, I *et al.* Phase compositions and saturated densities for the binary systems of carbon dioxide with ethanol and dichloromethane. **Fluid Phase Equilibria**, [s. l.], v. 224, n. 1, p. 89–96, 2004.

TÜRK, Michael. Manufacture of submicron drug particles with enhanced dissolution behaviour by rapid expansion processes. **Journal of Supercritical Fluids**, [s. l.], v. 47, n. 3, p. 537–545, 2009.

TÜRK, Michael. Particle synthesis by rapid expansion of supercritical solutions (RESS): Current state, further perspectives and needs. **Journal of Aerosol Science**, [s. l.], v. 161, n. December 2021, 2022.

VAN VLACK, Lawrence W. **Princípio de ciência dos materiais**. São Paulo: Edgard Blucher LTDA, 2000.

VANDANA, K.R. *et al.* An overview on in situ micronization technique – An emerging novel concept in advanced drug delivery. **Saudi Pharmaceutical Journal**, [s. l.], v. 22, n. 4, p. 283–289, 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jsps.2013.05.004>.

VASISHT, Karan *et al.* Enhancing biopharmaceutical parameters of bioflavonoid quercetin by cocrystallization. **CrystEngComm**, [s. l.], v. 18, n. 8, p. 1403–1415, 2016.

VIPPAGUNTA, Sudha R.; BRITAIN, Harry G.; GRANT, David J.W. Crystalline solids. **Advanced Drug Delivery Reviews**, [s. l.], v. 48, n. 1, p. 3–26, 2001.

VOROBEL, A. M.; PARENAGO, O. O. Using Supercritical Fluid Technologies to Prepare Micro- and Nanoparticles. **Russian Journal of Physical Chemistry A**, [s. l.], v. 95, n. 3, p. 407–417, 2021.

VUDDANDA, Parameswara Rao; CHAKRABORTY, Subhashis; SINGH, Sanjay. Berberine: A potential phytochemical with multispectrum therapeutic activities. **Expert Opinion on Investigational Drugs**, [s. l.], v. 19, n. 10, p. 1297–1307, 2010.

WANG, Lili *et al.* Novel Salt-Cocrystals of Berberine Hydrochloride with Aliphatic Dicarboxylic Acids: Odd-Even Alternation in Physicochemical Properties. **Molecular Pharmaceutics**, [s. l.], v. 18, n. 4, p. 1758–1767, 2021.

WANG, Zhe *et al.* Platensimycin-berberine chloride co-amorphous drug system: Sustained release and prolonged half-life. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, [s. l.], v. 179, n. June, p. 126–136, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2022.09.002>.

WANG, Qi *et al.* Regulation of the kynurenine/serotonin pathway by berberine and the underlying effect in the hippocampus of the chronic unpredictable mild stress mice. **Behavioural Brain Research**, [s. l.], v. 422, n. June 2021, p. 113764, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2022.113764>.

WANG, Bo Cheng; SU, Chie Shaan. Solid solubility measurement of ipriflavone in supercritical carbon dioxide and microparticle production through the rapid expansion of supercritical solutions process. **Journal of CO2 Utilization**, [s. l.], v. 37, n. February 2019, p. 285–294, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jcou.2019.12.012>.

WARREN, B. E. X-Ray Diffraction Methods. **Journal of Applied Physics**, [s. l.], v. 12, n. 5, p. 375–384, 1941. Disponível em: <http://aip.scitation.org/doi/10.1063/1.1712915>.

WARWICK, Barry *et al.* Micronization of copper indomethacin using gas antisolvent processes. **Industrial and Engineering Chemistry Research**, [s. l.], v. 41, n. 8, p. 1993–2004, 2002.

WICHIANPHONG, Napada; CHAROENCHAITRAKOOL, Manop. Application of Box-Behnken design for processing of mefenamic acid-paracetamol cocrystals using gas anti-solvent (GAS) process. **Journal of CO2 Utilization**, [s. l.], v. 26, n. February, p. 212–220, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jcou.2018.05.011>.

WOJTYCZKA, Robert D. *et al.* Berberine enhances the antibacterial activity of selected antibiotics against coagulase-negative staphylococcus strains in vitro. **Molecules**, [s. l.], v. 19, n. 5, p. 6583–6596, 2014.

WU, Wenju; NANCOLLAS, George H. A new understanding of the relationship between solubility and particle size. **Journal of Solution Chemistry**, [s. l.], v. 27, n. 6, p. 521–531, 1998.

YAN, Tingxuan *et al.* Preparation, characterization and evaluation of the antioxidant capacity and antitumor activity of myricetin microparticles formed by supercritical antisolvent technology. **Journal of Supercritical Fluids**, [s. l.], v. 175, n. April, p. 105290, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2021.105290>.

YAN, Zhenning; SUN, Meng; LV, Yamin. Novel berberine-based pharmaceutical salts with fatty acid anions: Synthesis, characterization, physicochemical properties. **Journal of Molecular Liquids**, [s. l.], v. 360, p. 119397, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2022.119397>.

YANG, Dezhi *et al.* Solubility and Stability Advantages of a New Cocrystal of Berberine Chloride with Fumaric Acid. **ACS Omega**, [s. l.], v. 5, n. 14, p. 8283–8292, 2020. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/full/10.1021/acsomega.0c00692>. Acesso em: 12 set. 2022.

YEO, Sang-Do; KIRAN, Erdogan. Formation of polymer particles with supercritical fluids: A review. **The Journal of Supercritical Fluids**, [s. l.], v. 34, n. 3, p. 287–308, 2005. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0896844604002566#bib9>. Acesso em: 22 nov. 2018.

YESIL-CELIK TAS, Ozlem; CETIN-UYANIKGIL, Emel Oyku. In vitro release kinetics of polycaprolactone encapsulated plant extract fabricated by supercritical antisolvent process and solvent evaporation method. **Journal of Supercritical Fluids**, [s. l.], v. 62, p. 219–225, 2012. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.supflu.2011.11.005>.

YOHANNAN PANICKER, C.; TRESA VARGHESE, Hema; PHILIP, Daizy. FT-IR, FT-Raman and SERS spectra of Vitamin C. **Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, [s. l.], v. 65, n. 3–4, p. 802–804, 2006.

YU, Lian *et al.* Yu et al - (1998) - Physical characterization of vpolymorphic drugs an integrated characterization strategy. [s. l.], v. 1, n. 3, p. 118–127, 1998.

ZHANG, Dongliang *et al.* Berberine inhibits intestinal epithelial barrier dysfunction in colon caused by peritoneal dialysis fluid by improving cell migration. **Journal of Ethnopharmacology**, [s. l.], v. 264, n. April 2020, p. 113206, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.113206>.

ZHANG, Ye *et al.* Effects of  $\beta$ -cyclodextrin on the intestinal absorption of berberine hydrochloride, a P-glycoprotein substrate. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s. l.], v. 59, p. 363–371, 2013. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2013.04.074>.

ZHANG, Jian *et al.* Formation, characterization, and fate of inhaled drug nanoparticles. **Advanced Drug Delivery Reviews**, [s. l.], v. 63, n. 6, p. 441–455, 2011. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.addr.2010.11.002>.

ZHANG, Hui *et al.* Novel Ascorbic Acid Co-Crystal Formulations for Improved Stability. **Molecules**, [s. l.], v. 27, n. 22, 2022.

ZHAOJIE, Meng *et al.* Amorphous solid dispersion of berberine with absorption enhancer demonstrates a remarkable hypoglycemic effect via improving its bioavailability. **International Journal of Pharmaceutics**, [s. l.], v. 467, n. 1–2, p. 50–59, 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpharm.2014.03.017>.

ZHOU, Zhengzheng *et al.* Resveratrol cocrystals with enhanced solubility and tableability. **International Journal of Pharmaceutics**, [s. l.], v. 509, n. 1–2, p. 391–399, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpharm.2016.06.006>.

ZHU, Jia Xiao *et al.* Development of self-microemulsifying drug delivery system for oral bioavailability enhancement of berberine hydrochloride. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, [s. l.], v. 39, n. 3, p. 499–506, 2013.

Disponível em:

<https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.3109/03639045.2012.683875>. Acesso em:  
28 mar. 2022.

## APÊNDICE A – CÓDIGO DA OTIMIZAÇÃO

```

def AB(T, tc, pc, omega):
    R=8.314
    k=[]
    ac=[]
    alfa=[]
    b=[]
    a=[]
    for i in range(len(tc)):
        k.append(0)
        ac.append(0)
        alfa.append(0)
        b.append(0)
        a.append(0)
    for i in range(len(tc)):
        k[i]=0.37464+(1.54226*omega[i])-(0.2699*(omega[i]**2))
        ac[i]=0.45724*((R**2)*(tc[i]**2))/pc[i]
        alfa[i]=(1+k[i]*(1-((T/tc[i])**0.5)))**2
        b[i]=0.0778*(R*tc[i])/pc[i]
        a[i]=ac[i]*alfa[i]
    return a,b

def VDW(T, x, a, b, k, l):
    n=len(a)
    am=0
    bm=0
    aij=[[0,0],[0,0]]
    bij=[[0,0],[0,0]]
    for i in range(len(x)):
        for j in range(len(x)):
            aij[i][j]=((a[i]*a[j])**0.5)*(1-(k[i][j]))
    for i in range(len(x)):
        for j in range(len(x)):

```

```

        bij[i][j]=((b[i]+b[j])/2)*(1-(l[i][j]))
for i in range(n):
    for j in range(n):
        am+=(x[i]*(x[j]))*(aij[j][i])
for i in range(n):
    bm+=x[i]*b[i]
return aij, am, bm

def FUG(b, bm, z, B, a):
    P1=[]
    P2=log(z-B)
    P3=[]
    P4=log((z+(2.414*B))/(z-(0.414*B)))
    fi=[]
    for i in range(len(b)):
        P1.append(0)
        P3.append(0)
        fi.append(0)
    for i in range(len(b)):
        P1[i]=(b[i]/bm)*(z-1)
        P3[i]=a[i]/(2*(2**0.5))
    for i in range(len(b)):
        fi[i]=exp(P1[i]-P2-(P3[i]*P4))
    return fi

def PR_PURO(P, T, a, b):
    R=8.314
    A=(a*P)/((R**2)*(T**2))
    B=(b*P)/(R*T)
    C1=1
    C2=(-1)*(1-B)
    C3=A-(3*(B**2))-(2*B)
    C4=(-1)*((A*B)-(B**2)-(B**3))
    coeff= [C1, C2, C3, C4]

```

```

np.roots(coeff)
z=min(np.roots(coeff))
z=z.real
v=(z*R*T)/P
return v

def PR_CUBICA(P, T, alfa, b, e):
    R=8.31446261815324
    A=(alfa*P)/((R**2)*(T**2))
    B=(b*P)/(R*T)
    C1=1
    C2=(-1)*(1-B)
    C3=A-(3*(B**2))-(2*B)
    C4=(-1)*((A*B)-(B**2)-(B**3))
    coeff= [C1, C2, C3, C4]
    t=np.roots(coeff)
    tam=len(t)
    if tam==3:
        if e==1:
            z=min(t)
            z=z.real
        if e==2:
            z=max(t)
            z=z.real
    else:
        npArray = [i.real for i in np.roots(coeff) if abs(i.imag) < 0.000001][0]
        z=npArray
    v=(z*R*T)/P
    return v, z, B, A

import pandas as pd
import matplotlib.pyplot as plt
from AB import AB
from MIX import VDW

```

```

from FUG import FUG_VDW
from EOS import PR_CUBICA, PR_PURO
P=P #MPa
T=T #K
tc= [tc1 , tc2] #K
pc= [ pc1 , pc2] #MPa
omega=[w1 , w2]
kij=kij
lij=kij
k=[[0,kij],[kij,0]]
l=[[0,lij],[lij,0]]
x=[0.1, 0.9]
y=[0.9, 0.1]
erro=1
xantes=1
vlantes=0
xant=0
n=0
ke=[]
resultados=[]
trs=[]
dv=0
coefang=0
vantes=0
passo=0.001
vmol=0
dx=0
for i in range(len(x)):
    ke.append(0)
a, b=AB(T, tc, pc, omega)
vpuro=PR_PURO(P, T, a[1], b[1])
while P<=15:
    while erro>0.0000000000001:
        aij, am, bm=VDW(T, x, a, b, k, l)

```

```

vl, zl, B, A=PR_CUBICA(P, T, am, bm, 1)
FUG_L=FUG_VDW(T, A, B, am, b, bm, aij, x, zl)
aij, am, bm=VDW(T, y, a, b, k, l)
vv, zv, B, A=PR_CUBICA(P, T, am, bm, 2)
FUG_V=FUG_VDW(T, A, B, am, b, bm, aij, y, zv)
for i in range(len(x)):
    ke[i]=FUG_L[i]/FUG_V[i]
x1=(ke[1]-1)/(ke[1]-ke[0])
x2=1-x1
y1=x1*ke[0]
y2=x2*ke[1]
x=[x1, x2]
y=[y1, y2]
erro=xantes-x1
xantes=x1
parar=y1-x1
if x2<0:
    break
if parar<0.0001:
    break
if erro<0:
    erro=erro*(-1)
if x2<0:
    break
if parar<0.0001:
    break
deltav=vl-vpuro
#volume molar
dv=vl-vantes
dx=x1-xant
coefang=dv/dx
vmol=vl-(coefang*x1)
vantes=vl
xant=x1

```

```
resultados.append([x1, x2, P, vl, vmol, deltav])
P=P+passo
erro=1
n=0
lista = pd.DataFrame(resultados, columns=['x1', 'x2', 'P', 'v', 'vmol', '% V'])
lista.to_excel('SOLVENTE-TEMPERATURA'
```