

Tatiane Cogo Machado

**SOLUBILIDADE E ESTABILIDADE TERMODINÂMICA
DE COCRISTAIS DE MELOXICAM**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Farmácia da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do Grau de Mestre em Farmácia.

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

Coorientadora: Dr^ª Gislaïne Kuminek.

Florianópolis
2016

Machado, Tatiane Cogo

SOLUBILIDADE E ESTABILIDADE TERMODINÂMICA DE COCRISTAIS DE MELOXICAM / Tatiane Cogo Machado ; orientadora, Simone Golçalves Cardoso ; coorientadora, Gislaine Kuminek. - Florianópolis, SC, 2016.

164 p.

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

Inclui referências

1. Farmácia. 2. Solubilidade. 3. Meloxicam. 4. Cocrystal. 5. Estabilidade. I. Cardoso, Simone Golçalves. II. Kuminek, Gislaine. III. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Farmácia. IV. Título.

SOLUBILIDADE E ESTABILIDADE TERMODINÂMICA DE
COCRISTAIS DE MELOXICAM

por

Tatiane Cogo Machado

Esta Dissertação foi julgada adequada para obtenção do Título de Mestre em Farmácia e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação em Farmácia.

Florianópolis, 31 de março de 2016.

Prof. Dr.^a Tânia Beatriz Creczynski Pasa
Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Farmácia da UFSC

Banca Examinadora:

Prof.^a Dr.^a Simone Gonçalves Cardoso, Orientadora
(UFSC - Membro Titular)

Dr.^a Gislaine Kuminek
Coorientadora
(University of Michigan)

Prof. Dr. Alexandre Luiz Parize
(UFSC - Membro Titular)

Prof.^a Dr.^a Lilian Sibelle Campos Bernardes
(UFSC - Membro Titular)

Prof.^a Dr.^a Silvia Lucia Cuffini
(UNIFESP - Membro Titular)

AGRADECIMENTOS

À minha família, acima de tudo, mesmo estando longe sei que posso contar com eles. Ao meu companheiro de vida, Binho Manenti, por estar sempre ao meu lado, dando o apoio que precisei nessa caminhada.

Simone Cardoso e Gis, como agradecer pessoas tão especiais. Primeiramente agradeço à minha orientadora Simone por todo suporte dado, pela confiança, acolhimento e por permitir que continuemos desenvolvendo os estudos nessa área. Sua alegria, generosidade e profissionalismo servem de inspiração a todos.

Gis, minha coorientadora e amiga, foi difusora dos conhecimentos trazidos da Universidade de Michigan e responsável por apresentar-me aos cocristais. Muito obrigada por estar sempre disponível desde os meus primeiros passos e principalmente por acreditar que eu era capaz.

À professora Naír Rodríguez-Hornedo, que tive o imenso privilégio de conhecer no início do mestrado, pela sua sabedoria e lado humano e por ser a principal responsável pela nossa “aventura” pelo desconhecido, nos trazendo inspiração através da sua paixão pelo que faz.

À minha aluna de iniciação científica Juli, pessoa dedicada e de coração enorme. Obrigada por ser meu braço direito, por dividir comigo os momentos de aflição e dúvidas. Afinal não foram poucas as nossas discussões sobre cocristais, mas que certamente são as responsáveis pela nossa evolução.

Ao professor Marcos Segatto e à professora Hellen Stulzer, pela amizade, bom papo e por serem sempre solícitos.

Aos meus queridos colegas do laboratório: Aline, Amarilis, Ana, Vivi, Roberta, Brenda, Mano, Alanny, Cassi, Cinira, Jéssica, Paola, Rafael, Thiaguinho, Maria, Fabi e Daia pelas boas risadas, convivência e acima de tudo, pela troca de conhecimentos.

Ao professor Adailton Bortoluzzi, pelos ensinamentos e colaboração neste projeto.

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

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

A todos minha enorme gratidão!

"Fechei os olhos e pedi um favor ao vento. Leve tudo que for desnecessário. Ando cansada de bagagens pesadas. Daqui pra frente só o que couber no bolso e no coração".

(Cora Coralina)

RESUMO

Os cocristais apresentam-se como uma estratégia que utiliza a química no estado sólido para modificar as propriedades físico-químicas de fármacos sem a necessidade de mudar sua estrutura molecular. Os cocristais também são conhecidos por apresentarem alta solubilidade aquosa em relação ao fármaco constituinte. Além disso, seu principal benefício está na habilidade em modular a solubilidade. Neste contexto, cocristais compostos de meloxicam, fármaco do tipo zwitteriônico, e *coformers* ácidos (ácido salicílico e ácido maleico) foram produzidos e utilizados como modelo nos estudos de solubilidade e de estabilidade termodinâmica de cocristais. Os resultados das técnicas de caracterização no estado sólido demonstraram que os cocristais de meloxicam foram obtidos com sucesso. Os diagramas de solubilidade de fases apresentados indicam que os cocristais estudados são mais solúveis que o meloxicam. O cocristal meloxicam-ácido salicílico apresentou aumento de solubilidade de 18 a 146 vezes em relação ao meloxicam em uma faixa de pH de 1 a 8, enquanto que o cocristal meloxicam-ácido maleico apresentou aumento de 305 a 41689 vezes na mesma faixa de pH. Atráves dos estudos de solubilização micelar com lauril sulfato de sódio foi possível observar que o meloxicam apresentou dependência linear da concentração de agente solubilizante, enquanto que os cocristais apresentaram dependência não linear. A vantagem de solubilidade do cocristal em relação ao fármaco ($SA = S_{\text{cocristal}}/S_{\text{fármaco}}$) de meloxicam-ácido salicílico foi reduzida a 1 na presença de 104 mM de lauril sulfato de sódio. A presença deste aditivo induziu pontos de transição do cocristal (CSC e S*), acima dos quais a vantagem de solubilidade do cocristal foi eliminada. O cocristal meloxicam-ácido maleico apresentou redução da SA de 305 para 8 na presença de 104 mM de lauril sulfato de sódio. Estes resultados evidenciam a influência dos aditivos micelares na solubilidade e estabilidade destes sistemas. Os estudos de dissolução permitiram observar os estados de supersaturação promovidos pelos cocristais em soluções de pH 1,0 com aumento significativo da concentração de meloxicam em solução. A presença de lauril sulfato de sódio em solução de pH 1,0, garantiu maior concentração de meloxicam por maior período de tempo durante a dissolução de meloxicam-ácido maleico em comparação com a solução sem o agente solubilizante. A utilização de Soluplus[®] prolongou a supersaturação deste mesmo cocristal e diminuiu a cristalização cinética, demonstrando ser um aditivo promissor em formulações farmacêuticas com cocristais. Além disso, os modelos matemáticos desenvolvidos

descrevem a solubilidade do fármaco e dos cocristais em soluções aquosas e micelares com ótimo poder preditivo, confirmado através da comparação dos valores calculados com os resultados experimentais.

Palavras-chave: Meloxicam. Cocrystal. Ponto eutético. Solubilidade. Estabilidade. Agente solubilizante.

THERMODYNAMIC STABILITY AND SOLUBILITY OF MELOXICAM COCRYSTALS

ABSTRACT

Cocrystals have emerged as a useful strategy that uses solid-state chemistry to modify the physicochemical properties of drugs without changing their molecular structure. Aqueous cocrystal solubility can be orders of magnitude higher than that of the constituent drug. Furthermore, their main attribute consists in the ability of fine-tuning the solubility. In this context, cocrystals composed of meloxicam, a zwitterionic drug, and acidic cofomers (salicylic acid and maleic acid) were obtained and used as a model for solubility and thermodynamic stability studies. The results of the solid state characterization techniques demonstrated that meloxicam cocrystals were successfully obtained. The phase solubility diagrams presented indicate that the cocrystals studied are more soluble than meloxicam. The meloxicam-salicylic acid cocrystal was 18 to 146 times more soluble than meloxicam at pH ranges from 1 to 8, whereas meloxicam-maleic acid cocrystal was 305 to 41689 times more soluble in the same pH range. Through micellar solubilization studies with sodium lauryl sulfate it was observed that meloxicam solubility is linearly dependent on solubilizing agent concentration, whereas cocrystal solubility exhibits nonlinear dependence. The cocrystal solubility advantage over drug ($SA = S_{\text{cocrystal}}/S_{\text{drug}}$) for meloxicam-salicylic acid was reduced to 1 in the presence of 104 mM sodium lauryl sulfate. The presence of this additive induced cocrystal transition points (CSC and S^*), above which the cocrystal solubility advantage was eliminated. Meloxicam-maleic acid exhibited a SA reduction from 305 to 8 in the presence of 104 mM sodium lauryl sulfate. These results demonstrated the influence of micellar surfactants on the solubility and stability of these systems. Dissolution studies allowed the observation of the supersaturation generated by cocrystals in pH 1,0 solutions, with a significant increase of meloxicam concentration in solution. The presence of sodium lauryl sulfate in the pH 1,0 solutions assured a higher concentration of meloxicam for a longer period of time during meloxicam-maleic acid dissolution compared to solutions without solubilizing agent. The use of Soluplus[®] sustained the supersaturation of this same cocrystal and decreased the kinetic crystallization, showing to be a promising additive for pharmaceutical formulations with cocrystals. In addition, the mathematical models developed describe drug and cocrystals solubility

in aqueous and micellar solutions with excellent predictive power, confirmed through the comparison of calculated values and experimental results.

Keywords: Meloxicam. Cocrystal. Eutectic point. Solubility. Stability. Solubilizing agent.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Desenho esquemático ilustrando arranjos de estado sólido cristalino incluindo os cocristais e forma amorfa do fármaco. 34
- Figura 2 – Diferentes perfis de solubilidade em função do pH para: a) cocrystal de fármaco neutro com *coformer* ácido diprótico; b) cocrystal de fármaco neutro com *coformer* ácido anfótero; c) cocrystal de fármaco básico com *coformer* ácido diprótico; d) cocrystal de fármaco zwitteriônico com *coformer* ácido diprótico. Os valores de pK_a para fármaco e *coformer* estão descritos em cada gráfico. 37
- Figura 3 - Diagrama de solubilidade de fases de um cocrystal AB e do fármaco A. Assume-se que solubilidade do fármaco A $[A]_T$ é independente da concentração de *coformer* $[B]_T$ em um determinado solvente. Regiões: I - solução supersaturada em relação ao fármaco, o cocrystal pode converter a fármaco; II: solução supersaturada em relação ao fármaco e cocrystal; III - solução abaixo da saturação; IV- solução supersaturada em relação ao cocrystal, o fármaco pode transformar-se em cocrystal. 39
- Figura 4 - Representação da solubilidade por método cinético para cocristais que apresentam conversão lenta e rápida para a forma cristalina do fármaco. 41
- Figura 5 - Fluxograma das etapas envolvidas na determinação das concentrações dos componentes do cocrystal em solução, em equilíbrio, no P_{eu} 44
- Figura 6 - Diagrama de solubilidade de fases contendo dois tipos diferentes de cocristais considerando sua estabilidade e seus respectivos pontos eutéticos (C_{eu}). 46
- Figura 7 - Esquema da dissociação do cocrystal em solução descrito pelo produto da solubilidade (K_{sp}). 47
- Figura 8 - Pontos de transição S^* e CSC para o cocrystal (linha vermelha) e o fármaco constituinte (linha azul) em meios contendo dois agentes solubilizantes diferentes, a e b. O valor de S^* neste caso é uma constante e o CSC varia de acordo com a extensão de solubilização do fármaco pelo agente solubilizante. O fármaco apresenta maior solubilização pelo agente a do que pelo b, logo $CSC_a < CSC_b$. Curvas de predição elaboradas através do software Wolfram Mathematica® 10. ... 51

Figura 9 - Utilização de aditivos como os polímeros e agentes solubilizantes que atuam como " <i>parachutes</i> " prolongando o estado de supersaturação (" <i>spring</i> "), evitando a conversão para a forma cristalina mais estável do fármaco.....	52
Figura 10 - Ilustração do equilíbrio entre o cocrystal e seus componentes no meio aquoso e micelar. Este esquema representa a solubilização micelar do componente hidrofóbico (neste caso o fármaco), deixando o excesso de <i>coformer</i> na fase aquosa, desta forma estabilizando o cocrystal.....	53
Figura 11 – Dependência de $SR_{\text{cocrystal}}$ em $SR_{\text{fármaco}}$ para cocrystalis de estequiometria 1:1 (—) e 2:1 (- - -).	56
Figura 12 - Sistema de Classificação Biofarmacêutica.....	60
Figura 13 - Estrutura molecular do meloxicam - forma 1 enol.....	61
Figura 14 - Desenho esquemático do preparo dos cocrystalis de MLX pelo método de reação de cristalização em solução.....	67
Figura 15 - Difratoograma comparando a amostra de MLX matéria-prima com o padrão de difração calculado para o polimorfo I de MLX.....	69
Figura 16 - Espectros de IV da amostra cocrystalizada (A) e dos componentes individuais SLC (B) e MLX (C).	70
Figura 17 - Espectros de IV da amostra cocrystalizada (A) e dos componentes individuais MLC (B) e MLX (C).....	71
Figura 18 - Resultado das análises por DSC da amostra cocrystalizada (A) do <i>coformer</i> SLC (B) e do MLX (C).	72
Figura 19 - Resultado das análises por DSC da amostra cocrystalizada (A) do <i>coformer</i> MLC (B) e do MLX (C).	72
Figura 20 - Difratoogramas comparando a amostra obtida por cocrystalização com os materiais de partida MLX e SLC e o padrão de difração calculado para MLX-SLC.....	74
Figura 21 - Difratoogramas comparando a amostra obtida por cocrystalização com os materiais de partida MLX e MLC e o DRXP do cocrystal MLX-MLC relatado por Cheney et al. (2010).	75
Figura 22 - Equilíbrio químico para o cocrystal $\bar{A}BH^+HA$, onde $\bar{A}BH^+$ representa um fármaco zwitteriônico e HA representa um <i>coformer</i> ionizável.....	82

Figura 23 - Identificação por DRXP da fase sólida presente no experimento de solubilidade no P_{eu} em água com o cocrystal MLX-SLC.	87
Figura 24 - Identificação por DRXP da fase sólida presente no experimento de solubilidade no P_{eu} em água com o cocrystal MLX-MLC.	87
Figura 25 - Curvas DSC comparando o cocrystal MLX-SLC (A) com a fase sólida coletada em um dos experimentos de solubilidade no P_{eu} (B) e com o MLX (C). É possível observar na curva B a presença dos dois eventos de fusão, que correspondem ao cocrystal em 208 °C e ao MLX em 259°C.	88
Figura 26 - Curvas DSC comparando o cocrystal MLX-MLC (A) com a fase sólida coletada em um dos experimentos de solubilidade no P_{eu} (B) e com o MLX (C). É possível observar na curva B a presença dos dois eventos de fusão, que correspondem ao cocrystal em 195°C e ao MLX em 259°C.	89
Figura 27 - Concentrações de MLX e SLC obtidas no experimento de solubilidade do cocrystal no P_{eu} , em soluções aquosas, em diferentes pHs. As fases sólidas presentes no P_{eu} , avaliadas por meio de DRXP e DSC, foram MLX-SLC e MLX. A K_{eu} está descrita para cada pH. ($K_{eu}=[coformer]_{eu}/[fármaco]_{eu}$).	90
Figura 28 - Concentrações de MLX e MLC obtidas no experimento de solubilidade do cocrystal no P_{eu} , em soluções aquosas, em diferentes pHs. As fases sólidas presentes no P_{eu} , avaliadas por meio de DRXP e DSC, foram MLX-MLC e MLX. A K_{eu} está descrita para cada pH ($K_{eu}=[coformer]_{eu}/[fármaco]_{eu}$).	91
Figura 29 - Diagrama de solubilidade de fases para os cocrystal MLX-SLC, MLX-MLC e para o fármaco MLX. Os símbolos representam as solubilidades avaliadas experimentalmente sob condições de equilíbrio, em triplicata.	93
Figura 30 – Dependência do K_{eu} na SA ($S_{cocrystal}/S_{fármaco}$) para os cocrystal (1:1): MLX-SLC e MLX-MLC. A linha pontilhada foi predita a partir da equação $K_{eu}=(S_{cocrystal}/S_{fármaco})^2$. Os números próximos aos símbolos representam os valores de pH dos experimentos de solubilidade no P_{eu}	95
Figura 31 - Vantagem da solubilidade do cocrystal sobre o fármaco ($S_{cocrystal}/S_{fármaco}$) <i>versus</i> a razão da solubilidade entre <i>coformer</i> e fármaco	

($S_{coformer}/S_{f\u00e1rmaco}$). Meloxicam (MLX), piroxicam (PRX), sacarina (SAC), indometacina (IND), danazol (DNZ), vanilina (VAN), \u00e1cido hidr\u00f3xi-benz\u00f3ico (HBA), carbamazepina (CBZ), \u00e1cido glut\u00e1rico (GTA), nicotinamida (NCT), teofilina (THP), \u00e1cido ox\u00e1lico (OXA), \u00e1cido succ\u00ednico (SUC), cafe\u00edna (CAF), \u00e1cido salic\u00edlico (SLC), nevirapina (NVP), \u00e1cido maleico (MLC)..... 96

Figura 32 – Relat\u00e7\u00e3o entre K_{eu} e $S_{cocrystal}/S_{f\u00e1rmaco}$ para cocristais em solu\u00e7\u00e3o aquosa. Meloxicam (MLX), piroxicam (PRX), sacarina (SAC), indometacina (IND), danazol (DNZ), vanilina (VAN), \u00e1cido hidr\u00f3xi-benz\u00f3ico (HBA), carbamazepina (CBZ), \u00e1cido glut\u00e1rico (GTA), nicotinamida (NCT), teofilina (THP), \u00e1cido ox\u00e1lico (OXA), \u00e1cido succ\u00ednico (SUC), cafe\u00edna (CAF), \u00e1cido salic\u00edlico (SLC), nevirapina (NVP), \u00e1cido maleico (MLC)..... 97

Figura 33 - Equil\u00edbrio qu\u00edmico para um cocrystal RHA de um f\u00e1rmaco n\u00e3o ioniz\u00e1vel (R) e um *coformer* \u00e1cido (HA) em solu\u00e7\u00e3o micelar..... 103

Figura 34 - S_{MLX} em solu\u00e7\u00f5es de HCl 0,1 M contendo os agentes solubilizantes descritos. pH final das solu\u00e7\u00f5es em equil\u00edbrio = 1,0. ... 110

Figura 35 – Solubilidade do MLX em fun\u00e7\u00e3o da concentra\u00e7\u00e3o de LSS. Os s\u00edmbolos representam dados experimentais obtidos a partir das medidas de solubilidade do MLX na aus\u00eancia de *coformer* (vermelho) e no P_{eu} (azul). A curva foi calculada a partir da equa\u00e7\u00e3o (65) utilizando os valores $S_{MLX,aq0} = 0,000751$ mM, $K_{s,MLX} = 17,0$ mM⁻¹, $CMC_{LSS} = 8,0$ mM⁻¹..... 112

Figura 36 – Curvas de predi\u00e7\u00e3o da solubiliza\u00e7\u00e3o micelar do cocrystal MLX-SLC e do MLX *versus* a concentra\u00e7\u00e3o micelar de LSS [M] em solu\u00e7\u00e3o de pH 1,0. O ponto de transi\u00e7\u00e3o \u00e9 caracterizado por (S^*) e pela concentra\u00e7\u00e3o de agente solubilizante (CSC). As curvas foram elaboradas a partir das equa\u00e7\u00f5es (65) e (66)..... 113

Figura 37 – Curvas de predi\u00e7\u00e3o da solubiliza\u00e7\u00e3o micelar do cocrystal MLX-MLC e do MLX *versus* a concentra\u00e7\u00e3o micelar de LSS [M] em solu\u00e7\u00e3o de pH 1,0. O ponto de transi\u00e7\u00e3o \u00e9 caracterizado por (S^*) e pela concentra\u00e7\u00e3o de agente solubilizante (CSC). As curvas foram elaboradas a partir das equa\u00e7\u00f5es (65) e (67)..... 113

Figura 38 - Concentra\u00e7\u00f5es eut\u00e9ticas de MLX e SLC na presen\u00e7a de diferentes concentra\u00e7\u00f5es de LSS. 115

Figura 39 - S_{MLX} e $S_{cocrystal}$ na presen\u00e7a de diferentes concentra\u00e7\u00f5es de LSS no pH 1,0. $S_{cocrystal}$ foi calculado atrav\u00e9s da equa\u00e7\u00e3o (57)..... 116

Figura 40 - Concentrações eutéticas de MLX e MLC na presença de diferentes concentrações de LSS.	117
Figura 41 - S_{MLX} e $S_{cocrystal}$ na presença de diferentes concentrações de LSS no P_{eu} . $S_{cocrystal}$ foi calculado através da equação (57).	118
Figura 42 - Redução da SA ($S_{cocrystal}/S_{MLX}$) em solução de HCl 0,1 M contendo 17 mM de LSS. $S_{cocrystal}$ foi calculado através da equação (57).	119
Figura 43 - Ponto de transição do cocrystal MLX-SLC induzido pela presença de LSS em solução de pH 1,0. O ponto de transição é caracterizado por (S^*) e pela concentração de agente solubilizante (CSC). Os símbolos representam as solubilidades experimentais do MLX (círculo preto) e do cocrystal MLX-SLC (círculo vermelho). As curvas foram elaboradas a partir das equações (65) e (66) utilizando software Wolfram Mathematica [®] 10.	120
Figura 44 - Ponto de transição do cocrystal MLX-MLC induzido pela presença de LSS em solução de pH 1,0. O ponto de transição é caracterizado por (S^*) e pela concentração de agente solubilizante (CSC). Os símbolos representam as solubilidades experimentais do MLX (círculo vermelho) e do cocrystal MLX-MLC (círculo azul). As curvas foram elaboradas a partir das equações (65) e (67) utilizando software Wolfram Mathematica [®] 10.	120
Figura 45 - Dependência de SRcocrystal em SRfármaco para cocrystalis 1:1. A linha pontilhada representa a relação de acordo com a equação (69). Símbolos representam a SR determinada experimentalmente para os cocrystalis MLX-SLC e MLX-MLC em soluções de pH 1,0 com diferentes concentrações de LSS no P_{eu}	121
Figura 46 - Perfil da concentração <i>versus</i> tempo para os constituintes do cocrystal MLX-SLC durante a dissolução em solução de HCl 0,1 M a $25 \pm 0,2$ °C. A linha reta pontilhada refere-se à S_{MLX} em pH 1,0. pH final da solução = 1,0.	128
Figura 47 - Análise por IV da fase sólida final do experimento de supersaturação com o cocrystal MLX-SLC em HCl 0,1 M a $25 \pm 0,2$ °C (A) em comparação com MLX-SLC (B) e MLX (C).	129
Figura 48 - Supersaturação gerada pelo cocrystal MLX-SLC em HCl 0,1M a $25 \pm 0,2$ °C expressa por $[MLX]_T/S_{T,MLX}$. pH final da solução = 1,0.	130

Figura 49 - Perfil da concentração em função do tempo para os constituintes do cocristal MLX-MLC durante a dissolução em solução de HCl 0,1 M a $25 \pm 0,2$ °C. A linha reta pontilhada refere-se à S_{MLX} nestas condições. pH final da solução = 1,0.	131
Figura 50 - Supersaturação gerada pelo cocristal MLX-MLC durante a dissolução em HCl 0,1 M a $25 \pm 0,2$ °C. A linha reta pontilhada refere-se à S_{MLX} nestas condições. pH final da solução = 1,0.	131
Figura 51 - Análise por IV da fase sólida final do experimento de supersaturação com o cocristal MLX-MLC em HCl 0,1 M (A) em comparação com MLX-MLC (B) e MLX (C).	132
Figura 52 - Supersaturação do cocristal MLX-MLC <i>versus</i> tempo durante a dissolução em solução de HCl 0,1 M contendo 69 mM de LSS em comparação com somente HCl 0,1M a $25 \pm 0,2$ °C. pH final da solução = 1,0.	133
Figura 53 - Supersaturação gerada pelo cocristal MLX-MLC em solução de 0,5% (m/v) de Soluplus [®] a $25 \pm 0,2$ °C, expressa por $[MLX]_T/S_{T,MLX}$. pH final da solução = 1,0.	134
Figura 54 - Perfil da $[MLX]_T$ <i>versus</i> tempo para o cocristal MLX-MLC em comparação com MLX puro durante a dissolução em solução de HCl 0,1 M contendo 0,5% de Soluplus [®] a $25 \pm 0,2$ °C. pH final da solução = 1,0.	134
Figura 55 - Difratoograma da fase sólida coletada durante experimento de supersaturação de MLX-MLC em solução de HCl 0,1 M + 0,5% de Soluplus [®] (m/v). A transição de fase é observada por meio da comparação com os difratogramas do MLX e do MLX-MLC.	135

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Cocristais de meloxicam relatados na literatura.	60
Tabela 2 - Concentrações eutéticas ($[MLX]_{eu}$ e $[SLC]_{eu}$) e suas respectivas espécies não ionizadas utilizadas para calcular o K_{sp} . O pH inicial e final da solução está descrito e fase sólida final foi identificada por DRXP e DSC.	92
Tabela 3 - Concentrações eutéticas ($[MLX]_{eu}$ e $[MLC]_{eu}$) e suas respectivas espécies não ionizadas utilizadas para calcular o K_{sp} . O pH inicial e final da solução está descrito e fase sólida final foi identificada por DRXP e DSC.	92
Tabela 4 - Agentes solubilizantes utilizados para avaliar a solubilização micelar do MLX.	104
Tabela 5 - S_{MLX} na presença de diferentes concentrações de LSS em solução de HCl 0,1 M utilizadas para obtenção da K_s . pH final da solução = 1,0.	111
Tabela 6 - Valores de ϵ e de S^* calculado para MLC-SLC.	114
Tabela 7 - Soluções utilizadas para os estudos de supersaturação e quantidades adicionadas de cada cocrystal.	127

LISTA DE ABREVIATURAS, TERMOS E UNIDADES

$[coformer]_{eu}$	Concentração de <i>coformer</i> no ponto eutético
$[fármaco]_{eu}$	Concentração de fármaco no ponto eutético
[M]	Concentração micelar
C_{eu}	Concentrações eutéticas
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
CMC	Concentração micelar crítica
CSC	Concentração de estabilização crítica
CSD	<i>Cambridge Structural Database</i>
DPR	Desvio padrão relativo
DRXP	Difração de raios X de pó
DSC	<i>Differential scanning calorimetry</i> ou calorimetria exploratória diferencial
DSF	Diagrama de solubilidade de fases
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
ICH	<i>International Conference on Harmonisation</i>
IV	Espetroscopia na região do infravermelho
J	Joule
K_a	Constante de ionização ácida
K_{eu}	Constante eutética, $K_{eu} \equiv [coformer]_{eu} / [fármaco]_{eu}$
K_s	Constante de solubilização micelar
K_{sp}	Produto da solubilidade
LD	Limite de detecção
LQ	Limite de quantificação
LSS	Lauril sulfato de sódio
MCR	Método cristalização por reação
MLC	Ácido maleico
MLX	Meloxicam
MLX-MLC	Cocristal de meloxicam com ácido maleico
MLX-SLC	Cocristal de meloxicam com ácido salicílico
P_{eu}	Ponto eutético
S	Solubilidade em equilíbrio
S_0	Solubilidade intrínseca
S^*	Ponto de transição onde a solubilidade do fármaco é igual a do cocristal
SA	Vantagem de solubilidade do cocristal em relação ao fármaco, $SA \equiv S_{cocristal} / S_{fármaco}$
S_{aq}	Solubilidade aquosa em determinado pH ($S_{aq} = S_{n\tilde{a}o} ionizado,aq + S_{ionizado,aq}$)

$S_{\text{cocristal}}$	Solubilidade do cocristal determinada no ponto eutético
$S_{\text{cocristal,aq}}$	Solubilidade do cocristal em meio aquoso
$S_{\text{cocristal,T}}$	Solubilidade do cocristal em meio com agente solubilizante
S_{coformer}	Solubilidade do <i>coformer</i> em equilíbrio
SDDS	<i>Supersaturating Drug Delivery Systems</i>
S_{MLX}	Solubilidade do MLX em equilíbrio
$S_{\text{MLX,aq}}$	Solubilidade do MLX em meio aquoso
$S_{\text{MLX,T}}$	Solubilidade do MLX em meio com agente solubilizante
SLC	Ácido salicílico
SR	Razão de solubilização, $SR = S_T / S_{\text{aq}}$
$SR_{\text{cocristal}}$	Razão de solubilização do cocristal, $(S_T / S_{\text{aq}})_{\text{cocristal}}$
$SR_{\text{fármaco}}$	Razão de solubilização do fármaco, $(S_T / S_{\text{aq}})_{\text{fármaco}}$
S_T	Solubilidade total em meio com agente solubilizante ($S_T = S_{\text{aquoso}} + S_{\text{micelar}}$)

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL	27
1.1 OBJETIVOS	29
1.1.1 Objetivo Geral	29
1.1.2 Objetivos Específicos	29
2 CAPÍTULO I - REVISÃO DE LITERATURA	33
2.1 COCRISTAIS: DEFINIÇÃO E ASPECTOS GERAIS.....	33
2.2 VANTAGENS DOS COCRISTAIS.....	34
2.2.1 Solubilidade	35
2.3 MÉTODOS DE OBTENÇÃO	38
2.4 SOLUBILIDADE E ESTABILIDADE TERMODINÂMICA DE COCRISTAIS	40
2.4.1 Propriedades físico-químicas dos co cristais	42
<i>2.4.1.1 Ponto eutético e constante eutética (K_{eu})</i>	42
<i>2.4.1.2 K_{sp} e a solubilidade dos co cristais</i>	47
<i>2.4.1.3 Pontos de transição</i>	49
2.4.2 Solubilização micelar	51
<i>2.4.2.1 Equações que descrevem a solubilização micelar do fármaco e dos co cristais</i>	53
<i>2.4.2.2 S^* e CSC</i>	57
2.5 MELOXICAM.....	59
2.5.1 Características físico-químicas	61
2.5.2 Farmacodinâmica	62
2.5.3 Aspectos farmacocinéticos	62
3 CAPÍTULO II - COCRISTAIS DE MELOXICAM: OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO	65
3.1 INTRODUÇÃO	65
3.2 METODOLOGIA	66
3.2.1 Materiais	66
3.2.2 Métodos	66
<i>3.2.2.1 Técnica de co cristalização</i>	66
<i>3.2.2.2 Técnicas de caracterização</i>	67
<i>3.2.2.2.1 Difração de raio x de pó (DRXP)</i>	67
<i>3.2.2.2.2 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)</i>	67
<i>3.2.2.2.3 Espectroscopia vibracional na região do infravermelho (IV)</i>	68
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	68
3.4 CONCLUSÕES	75
4 CAPÍTULO III - MECANISMO, PREDIÇÃO E DETERMINAÇÃO DA SOLUBILIDADE DE COCRISTAIS	

COMPOSTOS DE FÁRMACO DO TIPO ZWITERIÔNICO E COFORMERS ÁCIDOS.....	79
4.1 INTRODUÇÃO	79
4.2 METODOLOGIA	80
4.2.1 Materiais	80
4.2.2 Métodos.....	80
4.2.2.1 Modelos matemáticos de predição da solubilidade dos cocristais	80
4.2.2.2 Medida da solubilidade dos cocristais	80
4.2.2.3 Solubilidade do MLX.....	81
4.2.2.4 Instrumentação e condições cromatográficas	81
4.2.2.5 Caracterização dos sólidos no P_{eu}	81
4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	82
4.3.1 Equações de predição da solubilidade dos cocristais.....	82
4.3.2 Solubilidade do MLX e dos cocristais	86
4.4 CONCLUSÕES	97
5 CAPÍTULO IV - IMPACTO DOS AGENTES SOLUBILIZANTES NA SOLUBILIDADE E ESTABILIDADE DOS COCRISTAIS DE MELOXICAM.....	101
5.1 INTRODUÇÃO	101
5.2 METODOLOGIA	102
5.2.1 Materiais	102
5.2.2 Métodos.....	102
5.2.2.1 Modelos matemáticos de predição da solubilidade micelar do MLX e dos cocristais.....	102
5.2.2.2 Solubilização micelar do MLX.....	103
5.2.2.3 Determinação da $K_{s,MLX}$	105
5.2.2.4 Medida da solubilidade dos cocristais na presença de LSS....	106
5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	106
5.3.1 Equações que descrevem a solubilização micelar do fármaco e dos cocristais.....	107
5.3.1 Solubilização micelar do MLX	109
5.3.1.2 $K_{s,MLX}$	110
5.3.2 Solubilidade dos cocristais na presença de LSS e a determinação dos pontos de transição	112
5.4 CONCLUSÕES	122
6 CAPÍTULO V - SUPERSATURAÇÃO DURANTE A DISSOLUÇÃO	125
6.1 INTRODUÇÃO	125
6.2 METODOLOGIA	126
6.2.1 Materiais	126

6.2.2 Métodos	126
<i>6.2.2.1 Estudos de supersaturação</i>	<i>126</i>
6.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	127
6.4 CONCLUSÕES	136
CONSIDERAÇÕES FINAIS	137
REFERÊNCIAS	139
APÊNDICE I - DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE METODOLOGIAS ANALÍTICAS	155

1 INTRODUÇÃO GERAL

Os cocristais farmacêuticos surgiram como uma estratégia promissora nas pesquisas de aprimoramento de moléculas pouco solúveis e, nos últimos anos, têm gerado uma série de conceitos, paradigmas e modelos de estudo, ganhando interesse tanto na área de engenharia de cristais como na farmacêutica (DUGGIRALA et al., 2015; STEED, 2013). O crescimento das pesquisas nesta área surgiu a partir do momento em que se descobriu a possibilidade de realizar modificações drásticas nas propriedades físico-químicas dos fármacos, incluindo o aumento significativo da solubilidade, resultando em melhorias na taxa de dissolução e, conseqüentemente, da biodisponibilidade, sem a necessidade de modificações na estrutura molecular do fármaco (BLAGDEN; COLESB; BERRY, 2014; BRITAIN, 2012).

No entanto, cocristais que apresentam solubilidade maior que o fármaco constituinte são caracterizados pela sua baixa estabilidade termodinâmica em solução, ou seja, estão suscetíveis à conversão para a forma menos solúvel do fármaco quando expostos à solução, e esforços deliberados são necessários para prevenir este efeito (ROY; LIPERT; RODRÍGUEZ-HORNEDO, 2012).

Desta forma os estudos de solubilidade e estabilidade termodinâmica tornam-se um recurso importante e essencial, visto que entender as interações dos cocristais em solução possibilita conhecer as regiões de estabilidade dos mesmos, evitando assim, a obtenção de valores errôneos ou subestimados quando utilizados outros métodos de avaliação dos cocristais, como por exemplo os cinéticos (ROY; LIPERT; RODRÍGUEZ-HORNEDO, 2012; THAKURIA et al., 2013).

Estudos têm demonstrado que um mesmo cocrystal pode apresentar solubilidade maior, igual ou menor que o fármaco constituinte, dependendo de condições como pH, concentração de *coformer* e utilização de agentes solubilizantes. Esta propriedade físico-química que os cocristais apresentam, conhecida como ponto de transição, é extremamente importante para avaliar, por exemplo, se a presença de agentes solubilizantes como aditivos em formulações farmacêuticas podem modificar a solubilidade do cocrystal (HUANG; RODRÍGUEZ-HORNEDO, 2011a; LIPERT; RODRÍGUEZ-HORNEDO, 2015).

Neste contexto, o presente trabalho apresenta estudos de solubilidade e estabilidade termodinâmica de cocristais de meloxicam (MLX) visando avaliar as interações destes em soluções aquosas e na

presença de agentes solubilizantes. Os resultados dos estudos realizados estão apresentados da seguinte forma nesta dissertação: Capítulo I - revisão de literatura; Capítulo II - obtenção e caracterização dos cocristais de MLX; Capítulo III- mecanismo e predição da solubilidade de cocristais utilizando o MLX como fármaco modelo do tipo Zwitteriônico, bem como os resultados de solubilidade e estabilidade aquosa para estes cocristais; Capítulo IV - estudos em relação à solubilização micelar e à influência de agentes solubilizantes nos pontos de transição do cocrystal; Capítulo V - estudos de supersaturação durante a dissolução dos cocristais.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo Geral

Realizar estudos de solubilidade de cocristais, utilizando meloxicam como fármaco modelo, a fim de avaliar a estabilidade termodinâmica em solução.

1.1.2 Objetivos Específicos

- Obter cocristais de meloxicam;
- Caracterizar os cocristais obtidos, fármaco e *coformers* por técnicas térmicas, cristalográficas e espectroscópica;
- Desenvolver e validar metodologias analíticas de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) para quantificação de fármaco e *coformer*;
- Propor modelos matemáticos para predição da solubilidade de cocristais em meio aquoso e em meio micelar;
- Determinar a solubilidade dos cocristais através de métodos de equilíbrio no ponto eutético;
- Determinar regiões termodinamicamente estáveis dos cocristais;
- Avaliar a influência de agentes solubilizantes na solubilidade do fármaco e dos cocristais bem como encontrar pontos de transição do cocrystal;
- Avaliar o poder preditivo dos modelos através da comparação dos valores calculados com os resultados experimentais;
- Observar a supersaturação promovida pelos cocristais durante a dissolução, além das conversões cinéticas e o impacto do uso de agentes solubilizantes nestes experimentos.

CAPÍTULO I
REVISÃO DE LITERATURA

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 COCRISTAIS: DEFINIÇÃO E ASPECTOS GERAIS

O termo cocristal vem sendo estudado há muito tempo pela área de engenharia de cristais. Já a denominação cocristal farmacêutico é relativamente recente, porém dentro das inovações incrementais de fármacos, eles têm ganhado destaque ao longo dos últimos dez anos (DUGGIRALA et al., 2015).

No ano de 2011 o *Food and Drug Administration* (FDA) publicou um guia que classificou os cocristais farmacêuticos como materiais sólidos cristalinos compostos de duas ou mais moléculas na mesma rede cristalina. Este guia gerou grande repercussão dentro da comunidade científica devido à classificação um tanto restritiva, e a partir daí, outras definições surgiram demonstrando preocupação com a definição proposta (AITIPAMULA et al., 2012; BRITAIN, 2012; FDA, 2011; THAKURIA et al., 2013).

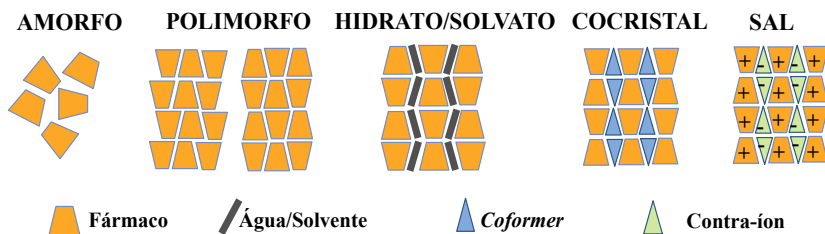
O trabalho de Aitipamula e colaboradores (2012) definiu os cocristais como materiais que apresentam uma única fase cristalina formada por dois ou mais compostos moleculares ou iônicos em proporções estequiométricas e que, isolados, são sólidos em condições ambientes (25°C/1 atm), definição esta considerada mais adequada e compreensível.

No caso de cocristais farmacêuticos, um dos componentes corresponde ao fármaco e o outro ao coformador, conhecido como *coformer* (Figura 1), que não deve ser tóxico quando a intenção é utilizar o cocristal como parte de uma formulação farmacêutica (ALMARSSON; ZAWOROTKO, 2004; FDA, 2011; QIAO et al., 2011). O FDA disponibiliza uma lista de materiais sólidos reconhecidos como seguros, o GRAS, do inglês *Generally Recognized as Safe*. Esta lista é composta de uma centena de produtos, dentre eles aditivos alimentares e outras substâncias já bastante estudadas (FDA, 2011; WOUTERS; ROME; QUERE, 2012).

Para obtenção de um cocristal, o *coformer* é geralmente selecionado com base nas regiões de complementaridade molecular com o fármaco, principalmente a presença de grupos funcionais capazes de formar as ligações de hidrogênio entre as moléculas do fármaco e do *coformer* (BOND, 2012; ETTER, 1991). Uma das principais particularidades dos cocristais está na capacidade de obtenção de novas espécies cristalinas com fármacos neutros, ao passo que a formação de sais ocorre somente com moléculas ionizáveis (BLAGDEN; COLESB;

BERRY, 2014). É importante citar que, ao contrário de formas farmacêuticas amorfas, os cocristais podem apresentar grande estabilidade termodinâmica no estado sólido e, comparado com os polimorfos, os cocristais aumentam a solubilidade em uma escala muito maior (SCHULTHEISS; NEWMAN, 2009).

Figura 1 - Desenho esquemático ilustrando arranjos de estado sólido cristalino incluindo os cocristais e forma amorfa do fármaco.



Fonte: Adaptado de Willians et al. (2013).

Os cocristais apresentam grande popularidade dentro da indústria farmacêutica devido à sua inovação e a vantagem de proteção por meio de patentes (DESIRAJU, 2012; HOFFMAN; JEFREY; LINDEMAN, 2012). Porém, até o momento não se sabe ao certo o número de produtos farmacêuticos cocrystalizados que estão sendo comercializados mundialmente, devido principalmente às implicações e empasses relacionados à classificação e definição dos cocristais e à diferenciação das outras formas sólidas, especialmente dos sais (DUGGIRALA et al., 2015; EMA, 2015 a).

O último avanço em relação a assuntos regulatórios foi o produto Entresto® da Novartis, aprovado no ano de 2015 pelo FDA como cocrystal. Entresto® é um medicamento utilizado nos EUA para insuficiência cardíaca, com estrutura cristalina composta de sacubitril monossódico, valsartana dissódica e água, que assim como o Depakote®, é outro exemplo de produto formado por dois fármacos cocrystalizados (BLAGDEN; COLES; BERRY, 2014; DUGGIRALA et al., 2015; EMA, 2015 b).

2.2 VANTAGENS DOS COCRISTAIS

Os benefícios inerentes à cocrystalização não são limitados apenas às melhorias na solubilidade, mas também ao aprimoramento de outras propriedades como taxa de dissolução, estabilidade química,

higroscopicidade, propriedades mecânicas e biodisponibilidade. (GAO, ZU, ZHANG, 2011; SHAN, ZAWOROTKO, 2008; STEED, 2013).

É possível encontrar centenas de estudos que relatam tais melhorias, entretanto, dentre elas, a solubilidade é a mais investigada pela área farmacêutica, pois o incremento desta está diretamente relacionado à eficácia terapêutica do fármaco (AMIDON et al., 1995; WILLIANS et al., 2013).

2.2.1 Solubilidade

A solubilidade é definida pelo equilíbrio termodinâmico de um soluto entre duas fases, neste contexto, considera-se a fase sólida e a solução. Para este equilíbrio ocorrer, a temperatura, a pressão e a energia livre de cada espécie em cada fase devem ser iguais (HIGUCHI; CONNORS, 1965; HILDEBRAND, 1924).

As características de solubilidade de uma molécula são determinadas por dois fatores: sua hidrofobicidade (solvatação) e energia da rede cristalina, descrita pela energia de Gibbs (ΔG), que é o somatório das energias livres da solução (equação 1):

$$\Delta G_{\text{solução}} = \Delta G_{\text{rede cristalina}} + \Delta G_{\text{solvatação}} \quad (1)$$

Isto demonstra que estratégias para melhorar a solubilidade requerem combinações de tecnologias que influenciam as forças de interação solvente-soluto e soluto-soluto (AVDEEF, 2007; SERAJUDDIN, 2007; STELLA; NTI-ADDAE, 2007). Os cocristais, diferente de outras estratégias, têm a habilidade de influenciar ambos os fatores e em variada extensão. Porém, devido aos *coformers* apresentarem-se na maioria das vezes bastante hidrofílicos, o aumento da solubilidade dos cocristais é atribuída em maior parte à energia de solvatação, a qual desempenha papel decisivo na solubilização de moléculas pouco solúveis. Dependendo da escolha do *coformer*, e de quão solúvel ele é, a razão da solubilidade do cocrystal ($S_{\text{cocrystal}}$) em relação ao fármaco constituinte pode variar de 1 a 100 vezes ou, em alguns casos, até mais (GOOD, RODRÍGUEZ- HORNEDO, 2009; ROY; LIPERT; RODRÍGUEZ-HORNEDO, 2012; THAKURIA et al., 2013; WILLIANS et al., 2013).

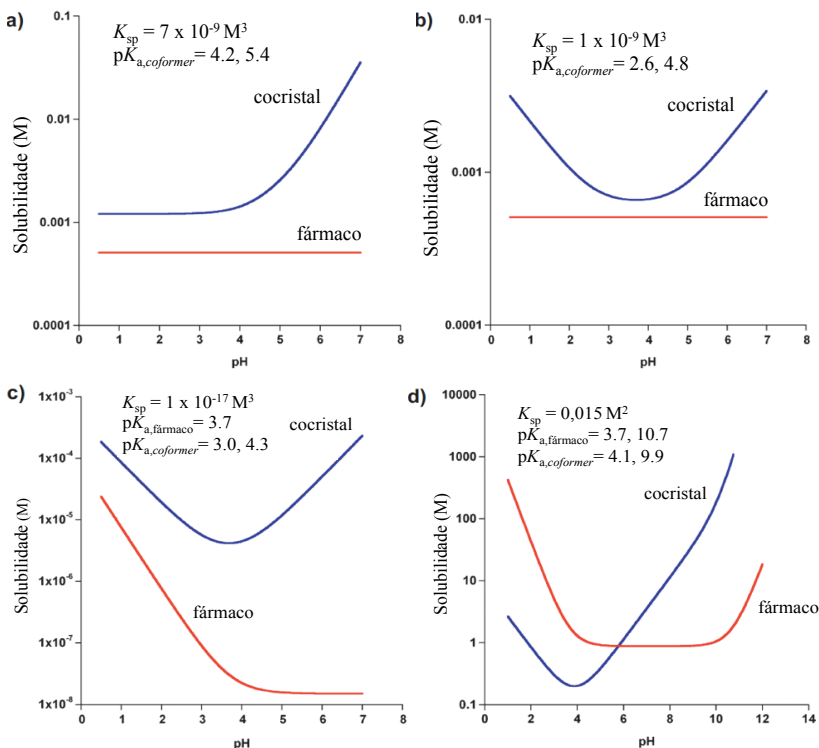
Alguns exemplos ilustram como os cocristais podem proporcionar mudanças significativas no desempenho do fármaco. Um estudo com o cocrystal indometacina-sacarina demonstrou solubilidade

de 13-65 vezes maior que a indometacina na faixa de pH 1-3 (ALHALAWEH; ROY; RODRÍGUEZ-HORNEDO, 2012). Outro exemplo é o cocrystal de danazol-ácido hidroxibenzoico que apresentou solubilidade em torno de 750 vezes maior que o fármaco em meio biorrelevante (*FeSSIF - Fed-state Simulated Intestinal Fluid*) (LIPERT et al., 2015). Weyna e colaboradores (2012) demonstraram que cocrystal de meloxicam-ácido acetilsalicílico apresentaram aumento da biodisponibilidade avaliada através da área sob a curva (AUC) (WEYNA et al., 2012), assim como os cocrystal de quercetina, que apresentaram biodisponibilidade superior ao fármaco, com aumento de 10 vezes na AUC (SMITH, et al., 2011).

Outra importante habilidade dos cocrystal é a sua capacidade de modular a solubilidade. Esta versatilidade não está apenas relacionada com a possibilidade de interação com *coformers* de diferentes comportamentos de ionização, conforme demonstrado na Figura 2, mas também dos processos moleculares de ambos os componentes em solução como: dissociação, complexação, ionização e solubilização micelar (ROY; LIPERT; RODRÍGUEZ-HORNEDO, 2012).

Os exemplos (a) e (b) da Figura 2 permitem observar que cocrystal formados por fármaco neutro e *coformer* ionizável podem exibir um perfil de solubilidade pH-dependente completamente diferente um do outro. Esta característica vai depender das propriedades de ionização do *coformer*. A solubilidade do cocrystal aumentará com o aumento do pH, no caso de cocrystalização com *coformers* ácidos (Figura 2a). Porém, no caso de *coformers* anfotéricos (Figura 2b), o perfil de solubilidade apresentará curvatura em U. Este perfil é similar ao apresentado na Figura 2c, no qual o cocrystal é formado por fármaco básico e *coformer* ácido, sendo que neste caso os grupos ionizáveis estão presentes em ambas as moléculas. O perfil de solubilidade em forma de U também é esperado para um cocrystal formado de fármaco zwitteriônico e *coformer* ácido (Figura 2 d), como é o caso dos cocrystal de meloxicam estudados neste trabalho (BETHUNE et al., 2009).

Figura 2 – Diferentes perfis de solubilidade em função do pH para: a) cocrystal de fármaco neutro com *coformer* ácido diprótico; b) cocrystal de fármaco neutro com *coformer* ácido anfótero; c) cocrystal de fármaco básico com *coformer* ácido diprótico; d) cocrystal de fármaco zwitteriônico com *coformer* ácido diprótico. Os valores de pK_a para fármaco e *coformer* estão descritos em cada gráfico.



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

As curvas de solubilidade mostradas na Figura 2 foram calculadas a partir de equações que descrevem a solubilidade dos cocrystal em função do pH, do produto da solubilidade (K_{sp}) e da constante de ionização ácida (K_a). As reações de equilíbrio químico, assim como as equações para diferentes tipos de cocrystal, estão bem descritas na literatura (BETHUNE et al., 2009; REDDY et al., 2009; ROY; LIPERT; RODRÍGUEZ-HORNEDO, 2012).

Diante dos perfis apresentados na Figura 2 é possível observar

que o pH da solução exerce influência significativa nos resultados de solubilidade destes sistemas. Apesar disso, na literatura ainda se encontram diversos estudos de dissolução e solubilidade de cocristais que desconsideram a importância do pH nestes ensaios (KUMINEK, et al., 2016).

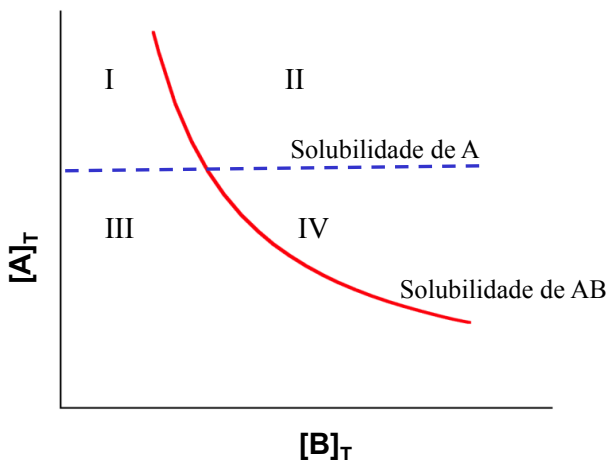
2.3 MÉTODOS DE OBTENÇÃO

Diversos métodos de cocristalização apresentam-se descritos na literatura. Dentre eles destacam-se as reações de cristalização em solução e a moagem, podendo-se citar, também, a exposição à umidade, fluido supercrítico, fusão, micro-ondas e ultrassom (CHILDS 2005; GOOD; MIRANDA; RODRÍGUEZ-HORNEDO, 2011; ISSA, 2012; JAYSANKAR; GOOD; RODRÍGUEZ-HORNEDO, 2007; LU; RODRÍGUEZ-HORNEDO; SURYANARAYANAN, 2008; PADRELA et al., 2009; PAGIRE et al., 2013).

Nesta dissertação, a abordagem principal encontra-se nos métodos de cristalização em solução, mais especificamente no método de cristalização por reação (MCR) (RODRÍGUEZ-HORNEDO et al., 2006), motivo pelo qual este método de obtenção será destacado. O MCR é eficiente na triagem e na obtenção de cocristais, uma vez que permite formar cocristais sem que ocorra a cristalização dos componentes individuais. Apresenta ótimo rendimento, é passível de escalonamento e vários solventes podem ser utilizados, especialmente álcoois e água (CHILDS; HARDCASTLE, 2007; CHILDS et. al., 2008).

O MCR baseia-se na geração de supersaturação da solução em relação ao cocristal, enquanto a solução encontra-se apenas saturada ou insaturada em relação aos componentes do cocristal. O diagrama de solubilidade de fases do cocristal (Figura 3), no qual este método é baseado, demonstra condições de insaturação, saturação e supersaturação com relação ao cocristal e/ou às fases cristalinas individuais. Sabe-se que a cristalização ocorre em condições supersaturadas, enquanto a dissolução ocorrerá em condições de insaturação.

Figura 3 - Diagrama de solubilidade de fases de um cocristal AB e do fármaco A. Assume-se que solubilidade do fármaco A $[A]_T$ é independente da concentração de *coformer* $[B]_T$ em um determinado solvente. Regiões: I - solução supersaturada em relação ao fármaco, o cocristal pode converter a fármaco; II: solução supersaturada em relação ao fármaco e cocristal; III - solução abaixo da saturação; IV- solução supersaturada em relação ao cocristal, o fármaco pode transformar-se em cocristal.



Fonte: Adaptado de Nehm; Rodríguez-Spong e Rodríguez-Hornedo (2006).

Conforme ilustrado na Figura 3, o domínio I é supersaturado com relação ao componente A (fármaco), mas insaturado com respeito ao cocristal (AB). Ambos A e AB estão supersaturados no domínio II, mas insaturados no domínio III. Por fim, o domínio IV é supersaturado com relação à AB, mas insaturado em relação a A.

Logo, para obtenção de um cocristal, deve-se acessar a região de supersaturação relacionada unicamente ao cocristal por meio do preparo de soluções dos reagentes A (fármaco) e B (*coformer*) de tal modo que as concentrações se encontrem na região IV do diagrama. Esta condição pode ser atingida através da mistura de soluções, onde os reagentes estão dissolvidos, ou também dissolvendo-se o(s) reagente(s) sólido(s) A e/ou B no solvente puro ou em soluções já contendo os componentes sólidos. As fases sólidas A e B podem então transformar-se em cocristal (AB) através de reação mediada em solução. Enquanto o cocristal AB é formado, ele consome A e B da solução e mais reagentes dissolvem-se até que o processo atinja o estado de equilíbrio,

determinado pela curva de solubilidade do cocrystal. Importante ressaltar que são os componentes dissolvidos que determinam a supersaturação e não a fase sólida dos mesmos (NEHM; RODRÍGUEZ-SPONG e RODRÍGUEZ-HORNEDO, 2006; RODRÍGUEZ-HORNEDO et al., 2006).

2.4 SOLUBILIDADE E ESTABILIDADE TERMODINÂMICA DE COCRISTAIS

À medida que um novo cocrystal é descoberto, a primeira questão que deve ser respondida é se este cocrystal é mais solúvel que o fármaco, se sim, o quanto mais solúvel. A segunda questão a ser levantada é descobrir se este aumento de solubilidade do cocrystal em relação ao fármaco irá sobreviver frente à adição de agentes solubilizantes ou outros ingredientes de uma formulação. Para responder estas questões adequadamente, é necessário entender como se estabelece a solubilidade dos cocrystal, que depende de alguns parâmetros e propriedades que serão discutidos ao longo deste capítulo.

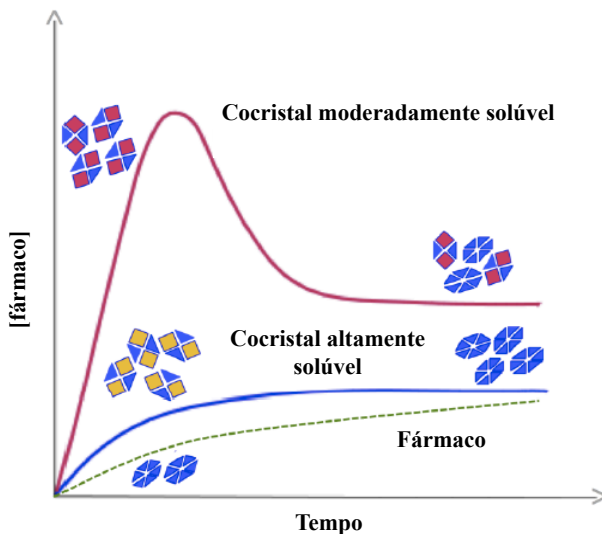
Uma das propriedades que a maioria dos cocrystal apresenta é a alta solubilidade. A razão desta solubilidade em relação ao fármaco constituinte pode ser expressa por $(S_{\text{cocrystal}}/S_{\text{fármaco}})$, denominada pela sigla (SA), do inglês "*solubility advantage over drug*" ou vantagem de solubilidade do cocrystal com relação ao fármaco (KUMINEK et al., 2016; LIPERT; RODRÍGUEZ-HORNEDO, 2015).

No entanto, estes cocrystal altamente solúveis são caracterizados pela rápida conversão para a forma menos solúvel do fármaco quando expostos ao solvente ou à solução, prejudicando assim o seu desempenho e constituindo a principal barreira no desenvolvimento destes sistemas. Diante disso, um cocrystal altamente solúvel nem sempre é o melhor candidato para um novo produto farmacêutico, visto que sua alta solubilidade poderá comprometer sua vantagem de dissolução frente ao fármaco, sendo necessário aplicar estratégias que mantenham uma concordância entre os parâmetros solubilidade e estabilidade termodinâmica em solução (HUANG; RODRÍGUEZ-HORNEDO, 2010; WILLIANS et al., 2013). Estes cocrystal são considerados formas metaestáveis, que assim como os sais e as dispersões sólidas pertencem ao grupo de sistemas que promovem supersaturação, do inglês "*Supersaturating Drug Delivery Systems*" (SDDS), caracterizados pela baixa estabilidade termodinâmica em solução (BROUWERS; BREWSTER; AUGUSTIJNS, 2009; ROY; LIPERT; RODRÍGUEZ-HORNEDO, 2012).

Os experimentos cinéticos são comumente empregados na avaliação da solubilidade de cocrystalis, porém estes métodos devem ser utilizados com cautela em decorrência das características citadas acima. A Figura 4 ilustra os processos que podem ocorrer durante a avaliação por método cinético. A medida que ocorre a dissolução de um cocrystal moderadamente solúvel, este pode atingir um máximo de concentração em solução e em seguida dar início a cristalização do fármaco estável (conversão cinética). No entanto, esta concentração, que corresponde ao pico (C_{max}), não deve ser considerada a solubilidade do cocrystal (MARTIN et al., 2013; THAKURIA et al., 2013; WEYNA et al., 2012).

Por outro lado, no caso dos cocrystalis altamente solúveis, que apresentam o potencial de gerar alta supersaturação em relação ao fármaco, quando submetidos à ensaios de dissolução, a precipitação pode ocorrer de forma imediata. Devido a esta rápida e imediata conversão, a concentração em solução é mantida próxima ou a igual a da $S_{fármaco}$, resultando, algumas vezes, em valores subestimados ou até mesmo errôneos, que não devem ser relacionados à solubilidade termodinâmica (ROY; LIPERT; RODRÍGUEZ-HORNEDO, 2012).

Figura 4 - Representação da solubilidade por método cinético para cocrystalis que apresentam conversão lenta e rápida para a forma cristalina do fármaco.



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

Nesse âmbito, estudos demonstram que o método

termodinâmico, o qual utiliza concentrações eutéticas para a determinação da solubilidade dos cocrystal são mais seguros, confiáveis e simples de serem acessados (GOOD; RODRÍGUEZ-HORNEDO, 2009; 2010; HUANG; RODRÍGUEZ-HORNEDO, 2011a).

Neste trabalho, concentrações eutéticas referem-se às concentrações dos componentes formadores do cocrystal [fármaco]_{eu} e [coformer]_{eu}, determinadas sob condições de equilíbrio em um ponto denominado ponto eutético, que será discutido no próximo item deste capítulo (GOOD; RODRÍGUEZ-HORNEDO, 2009).

Tanto os experimentos cinéticos quanto os termodinâmicos são úteis nos estudos com cocrystal, no entanto, a partir dos experimentos termodinâmicos é possível obter informações a respeito do comportamento e estabilidade dos cocrystal em solução, que são fundamentais para delinear estudos cinéticos com segurança, sem que converções cinéticas influenciem os resultados da solubilidade destes sistemas (ROY; LIPERT; RODRÍGUEZ-HORNEDO, 2012).

2.4.1 Propriedades físico-químicas dos cocrystal

2.4.1.1 Ponto eutético e a constante eutética (K_{eu})

O termo eutético é bastante conhecido dentro da área farmacêutica e geralmente está presente em estudos que envolvem a química do estado sólido, especialmente em relação às misturas eutéticas obtidas pela diferença de temperatura, onde a técnica de Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) é normalmente utilizada para determinar a natureza eutética de sistemas multicomponentes. Diversas definições para eutético podem ser encontradas na literatura. No caso do ponto eutético calorimétrico, é definido como a fusão de dois componentes/materiais em uma mesma temperatura, menor que a temperatura de fusão dos componentes individuais, apresentando neste ponto um equilíbrio entre a fase líquida (fusão) e a fase sólida (BROWN, 1998; CHERUKUVADA; NANGIA, 2014).

Em relação ao ponto eutético (P_{eu}) utilizado neste trabalho, assim como o descrito acima, é um ponto invariável isotérmico, porém neste caso, duas fases sólidas coexistem em equilíbrio com uma solução. A partir deste ponto a solubilidade do cocrystal pode ser acessada, servindo como parâmetro chave na determinação das regiões de estabilidade termodinâmica do cocrystal relativo aos seus componentes (GOOD; RODRÍGUEZ-HORNEDO, 2010).

Vale ressaltar que o cocrystal pode apresentar dois pontos eutéticos que são diferenciados pelas fases que estão em equilíbrio com a solução, podendo ser fármaco e cocrystal ou *coformer* e cocrystal. Em se tratando de cocrystal farmacêuticos, que geralmente são formados de fármaco pouco solúvel e *coformer* hidrofílico, o P_{eu} normalmente utilizado é a partir do equilíbrio de fármaco, cocrystal e solução, devido ao fármaco ser menos solúvel que o *coformer*. Neste caso, este ponto é caracterizado pela intersecção das curvas de solubilidade do fármaco e do cocrystal, ou seja o ponto onde $S_{cocrystal} = S_{fármaco}$ (NEHM; RODRÍGUEZ-SPONG; RODRÍGUEZ-HORNEDO, 2006).

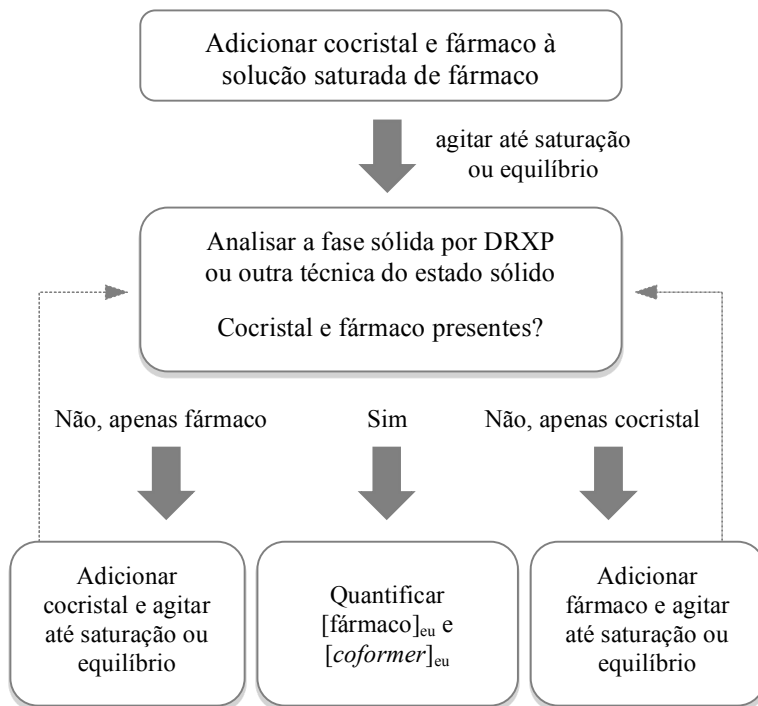
Este ponto pode ser acessado através da medida da concentração de cada componente do cocrystal ($[fármaco]_{eu}$ e $[coformer]_{eu}$) quando a solução está em equilíbrio, ou seja, no ponto onde a solução é duplamente saturada em relação ao fármaco e ao cocrystal. A partir destas concentrações, obtém-se o produto da solubilidade (K_{sp}), que pode ser utilizado para determinar a solubilidade estequiométrica dos cocrystal em soluções com diferentes condições, como valores de pH_s e a presença de agentes solubilizantes.

A avaliação do P_{eu} proporciona também a solubilidade do fármaco sob as condições avaliadas no experimento (pH , $[coformer]$, agentes solubilizantes, etc.). Desse modo, tanto a solubilidade do cocrystal como a do fármaco podem ser obtidas por meio dos experimentos eutéticos (ROY; LIPERT; RODRÍGUEZ-HORNEDO, 2012).

Para execução desta análise são requeridos, apenas, pequenos volumes de amostra do fármaco e do cocrystal, e um pequeno volume da solução de interesse (no pH desejado, com ou sem aditivos), de modo que a solução apresente-se saturada de fármaco e de cocrystal, para que as concentrações de $[fármaco]_{eu}$ e $[coformer]_{eu}$ possam ser medidas em equilíbrio. É importante destacar que a verificação do pH e da temperatura no P_{eu} é uma etapa essencial, juntamente com a confirmação das fases sólidas presentes em equilíbrio (no caso fármaco e cocrystal), que pode ser avaliada por meio de Difração de Raios X de Pó (DRXP) ou DSC. Somente deste modo é possível saber se o sistema está em equilíbrio, isto é, no P_{eu} em questão (GOOD; RODRÍGUEZ-HORNEDO, 2009).

A figura 5 apresenta um fluxograma para auxiliar na determinação das concentrações do fármaco e do *coformer* no P_{eu} que, em alguns trabalhos, também são chamadas de concentrações de transição.

Figura 5 - Fluxograma das etapas envolvidas na determinação das concentrações dos componentes do cocrystal em solução, em equilíbrio, no P_{eu} .



Fonte: Adaptado de Good e Rodríguez-Hornedo (2009).

A partir deste experimento é possível determinar se o cocrystal é mais solúvel que o fármaco quando $[\text{fármaco}]_{eu} < [\text{coformer}]_{eu}$ ou se o cocrystal é menos solúvel que o fármaco quando $[\text{fármaco}]_{eu} > [\text{coformer}]_{eu}$ (BETHUNE et al., 2009).

Utilizando as informações das concentrações $[\text{fármaco}]_{eu}$ e $[\text{coformer}]_{eu}$ é possível acessar a constante eutética (K_{eu}), indicadora da estabilidade do cocrystal e definida pela razão das atividades (a) do *coformer* e do fármaco no P_{eu} . A K_{eu} é derivada de uma série de equações descritas por Good e Rodríguez-Hornedo (2010) baseadas nas reações de equilíbrio do cocrystal em solução, oriundas de estudos com mais de 40 tipos de cocristsais, e pode ser representada pela equação 2:

$$K_{eu} \equiv \frac{a_{coformer,eu}}{a_{fármaco,eu}} \approx \frac{[coformer]_{eu}}{[fármaco]_{eu}} \quad (2)$$

Deste modo, valores de $K_{eu} > 1$ ou $K_{eu} > 0,5$, para cocristais de estequiometria (1:1) e (2:1), respectivamente, indicam que o cocristal é mais solúvel que o fármaco e, conseqüentemente, apresenta baixa estabilidade termodinâmica em solução. Já valores de $K_{eu} < 1$ ou $< 0,5$ indicam que o cocristal é menos solúvel e mais estável em relação ao fármaco (GOOD; RODRÍGUEZ-HORNEDO, 2010).

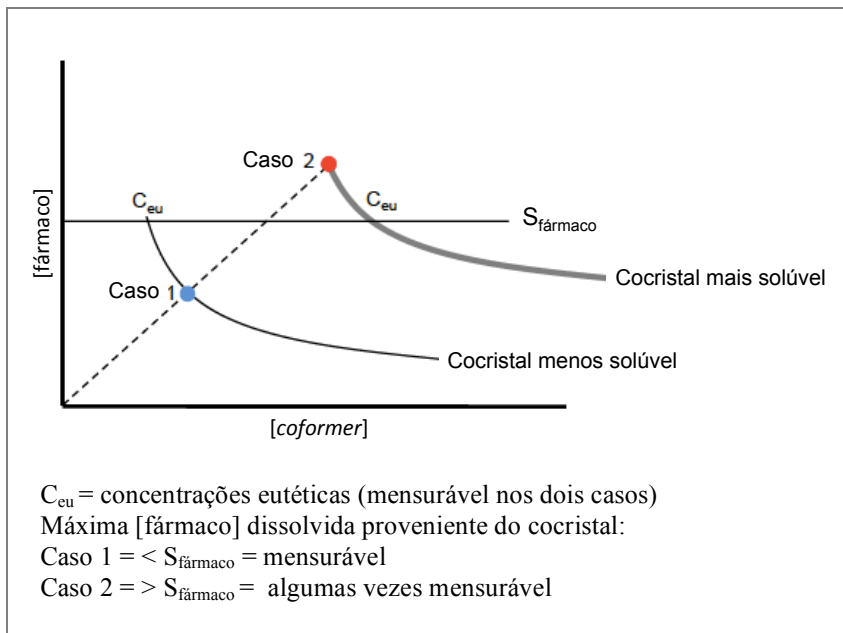
A relação entre as concentrações eutéticas e a vantagem de solubilidade do cocristal (SA) para um cocristal de razão molar 1:1 pode ser estabelecida pela equação 3:

$$K_{eu} \equiv \frac{a_{coformer,eu}}{a_{fármaco,eu}} = \left(\frac{S_{cocristal}}{S_{fármaco}} \right)^2 \quad (3)$$

A equação 3 representa uma relação segura e de ótimo poder preditivo para o estudo do comportamento dos cocristais em solução (GOOD; RODRÍGUEZ-HORNEDO, 2009).

Todos estes conceitos que envolvem o P_{eu} são mais bem apreciados através da observação do diagrama de solubilidade de fases (DSF, Figura 6), descrito por Good e Rodríguez-Hornedo (2009), que é constituído pelas fases sólidas do cocristal e fármaco (ou *coformer*) em equilíbrio com a solução. Neste diagrama é possível observar dois tipos de cocristais com comportamentos diferentes em relação ao fármaco. No caso 1, o cocristal é mais estável em solução, apresentando baixa solubilidade. Já o caso 2 é de um cocristal metaestável que apresenta alta solubilidade. A linha pontilhada do diagrama representa a dissolução das concentrações estequiométricas dos componentes do cocristal em um solvente determinado, e a intersecção (círculos), com as curvas dos cocristais indicam a concentração máxima do fármaco associada à $S_{cocristal}$. Já a linha horizontal representa a solubilidade do fármaco em equilíbrio no solvente em questão, assumindo que a mesma é menor que a solubilidade do *coformer*, que não está demonstrada neste diagrama.

Figura 6 - Diagrama de solubilidade de fases contendo dois tipos diferentes de cocristais considerando sua estabilidade e seus respectivos pontos eutéticos (C_{eu}). A linha pontilhada indica as concentrações estequiométricas dos componentes do cocrystal por meio da dissolução e os círculos representam a solubilidade dos cocristais no solvente puro.



Fonte: Adaptado de Good e Rodríguez-Hornedo (2009).

A solubilidade de um cocrystal metaestável (caso 2) não é tipicamente um equilíbrio mensurável e estes cocristais são denominados incongruentemente saturados. Conforme o cocrystal metastável dissocia-se em solução, ocorre a supersaturação do fármaco (a concentração de fármaco associado ao cocrystal excede a $S_{fármaco}$, linha horizontal) e este pode cristalizar-se. Esta supersaturação é uma condição necessária, mas não suficiente para cristalização. Vale ressaltar que em alguns casos pode ocorrer atraso na cristalização da forma estável do fármaco, permitindo a quantificação da verdadeira solubilidade em equilíbrio. Esta implicação pode estar relacionada à nucleação lenta ou a outros fatores cinéticos que estejam atuando junto com a supersaturação (GOOD; RODRÍGUEZ-HORNEDO, 2009).

A outra possibilidade são os cocristais menos solúveis que o fármaco (caso 1), no qual a dissolução dos componentes do cocrystal

ocorre de maneira proporcional gerando, neste caso, uma saturação congruente, apresentando assim concentração e solubilidade do fármaco menor que a $S_{\text{fármaco}}$ puro (representada pela linha $S_{\text{fármaco}}$). Neste caso a solubilidade do cocristal pode ser mensurada a partir da dissolução do cocristal em equilíbrio com a solução.

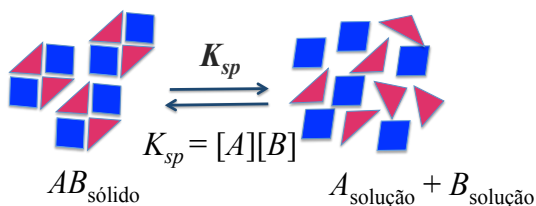
Desta maneira, para ambos os casos (1 e 2) o P_{eu} representa o ponto de intersecção entre as curvas de solubilidade do cocristal e do fármaco e pode ser utilizado para separar as regiões termodinamicamente estáveis do fármaco e do cocristal (GOOD; RODRÍGUEZ-HORNEDO, 2009). Através das concentrações eutéticas (C_{eu}) de fármaco e *coformer* neste ponto é possível obter o valor de K_{sp} , que permite acessar a solubilidade estequiométrica dos cocristais.

2.4.1.2 K_{sp} e a solubilidade dos cocristais

Os modelos matemáticos de predição da solubilidade dos cocristais que serão apresentados neste subitem (2.4.1.2) estão bem descritos na literatura (BETHUNE, 2009; NEHM; RODRÍGUEZ-SPONG; RODRÍGUEZ-HORNEDO, 2006). Eles foram obtidos considerando os conceitos das reações de equilíbrio químico em solução descrito por Henderson-Hasselbach (BUTLER, 1964), juntamente com as propriedades dos cocristais aqui expostas.

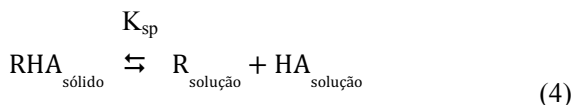
Durante a dissolução, o cocristal dissocia-se em seus componentes e o equilíbrio entre o cocristal sólido e seus componentes em solução é descrito pela constante de equilíbrio denominada produto da solubilidade (K_{sp}) (Figura 7). É importante destacar que o termo dissociação refere-se à reação de equilíbrio do cocristal em solução descrita nesta figura e não a precipitação dos componentes do cocristal (NEHM; RODRÍGUEZ-SPONG; RODRÍGUEZ-HORNEDO, 2006).

Figura 7 - Esquema da dissociação do cocristal em solução descrito pelo produto da solubilidade (K_{sp}).



Desta forma, assumindo que nenhum efeito de complexação ou cristalização ocorra com os componentes do cocristal, o equilíbrio para um cocristal (1:1) RHA composto de fármaco não-ionizável (R) e *coformer* ionizável (HA) pode ser descrito pela dissociação de RHA seguida da ionização de HA.

A reação de equilíbrio e as constantes associadas podem ser representadas pela equação 4:

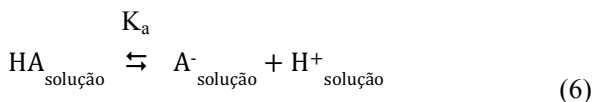


Onde: K_{sp} é o produto da solubilidade do cocristal, definido por (equação 5):

$$K_{\text{sp}} = [\text{R}]_{\text{solução}} [\text{HA}]_{\text{solução}} \quad (5)$$

Desta forma, o K_{sp} é obtido por meio da multiplicação das concentrações das espécies não ionizadas $[\text{R}]$ e $[\text{HA}]$ que podem ser medidas no experimento de solubilidade em equilíbrio, no P_{eu} descrito anteriormente. Analisando a equação (5) é possível perceber que a solubilidade do cocristal diminui com o aumento da concentração de *coformer* em solução.

O próximo passo é a ionização do *coformer* (HA), descrito por (equação 6):



em que K_{a} é a constante ácida de ionização (equação 7):

$$K_{\text{a}} = \frac{[\text{H}^{+}] [\text{A}^{-}]}{[\text{HA}]} \quad (7)$$

À medida que HA ioniza, de acordo com o seu $\text{p}K_{\text{a}}$ e o pH da solução, mais cocristal dissolve para manter o equilíbrio de dissociação, aumentando, deste modo, a concentração de fármaco em solução.

A concentração total analítica de *coformer* $[\text{A}]_{\text{T}}$ é a soma das concentrações das espécies ionizadas e não ionizadas. Para um *coformer* ácido monoprótico, é dada por (equação 8):

$$[\text{A}]_{\text{T}} = [\text{HA}] + [\text{A}^{-}] \quad (8)$$

Enquanto que para um fármaco neutro, é dada por (equação 9):

$$[R]_T = [R] \quad (9)$$

Desta forma, substituindo $[HA] + [A^-]$ pelas equações (5) e (7), respectivamente, a equação (8) é rearranjada como (equação 10):

$$[A]_T = \frac{K_{sp}}{[R]_T} \left(1 + \frac{K_{a,HA}}{[H^+]} \right) \quad (10)$$

Para um cocristal de razão molar 1:1, a solubilidade é igual à concentração total de cada espécie em solução (equação 11),

$$S_{\text{cocristal}} = [R]_T = [A]_T, \quad (11)$$

então a equação (9) pode ser redefinida como (equação 12):

$$S_{\text{cocristal(RHA) 1:1}} = \sqrt{K_{sp} \left(1 + \frac{K_a}{[H^+]} \right)} \quad (12)$$

Interpretando a equação (12) é possível perceber que a solubilidade do cocristal RHA aumenta com o aumento do pH (diminuição da $[H^+]$). Nota-se também que a solubilidade é dependente de duas constantes, K_{sp} e o pK_a do *coformer*, e uma variável, o pH da solução. Diante disto, a solubilidade do cocristal presente em uma solução de $pH \ll pK_a$ do *coformer*, ou $[H^+] \gg K_a$ se aproximará da solubilidade intrínseca $\sqrt{K_{sp}}$.

2.4.1.3 Pontos de transição

Os pontos de transição apresentam-se como uma propriedade físico-química dos cocristais e podem influenciar diretamente estabilidade termodinâmica dos mesmos. Embora ainda pouco relatados, o conhecimento destes pontos representa uma ferramenta útil na modulação da solubilidade destes sistemas (LIPERT, RODRÍGUEZ-HORNEDO, 2015).

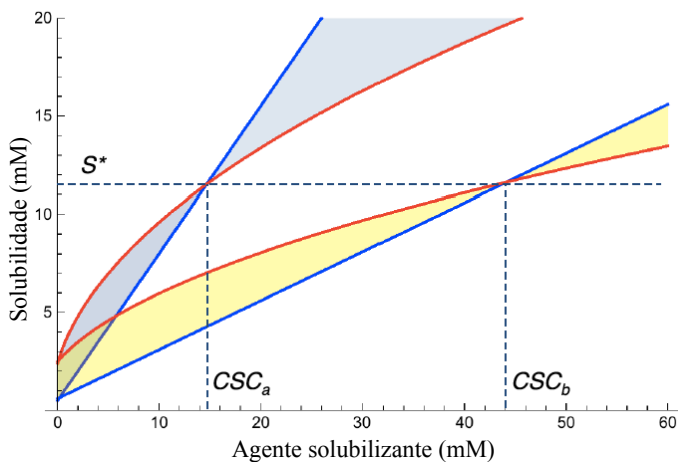
Estudos recentes relatam que a utilização de agentes solubilizantes como os surfactantes, polímeros e lipídios podem induzir pontos de transição nos cocristais (HUANG; RODRÍGUEZ-

HORNEDO, 2010; 2011a; 2011b; LIPERT; RODRÍGUEZ-HORNEDO, 2015).

Nos pontos de transição as solubilidades do fármaco e do cocristal são iguais, e acima deles, o cocristal passa a ser menos solúvel que o fármaco. Os cocristais podem apresentar mais de um ponto de transição, dependendo de fatores como ionização dos componentes do cocristal (pH_{max}) e a presença de aditivos que solubilizam preferencialmente o fármaco. Neste trabalho será abordado somente o ponto de transição caracterizado pela constante S^* e a CSC, que estão relacionados aos agentes solubilizantes (HUANG; RODRÍGUEZ-HORNEDO, 2011b; LIPERT; RODRÍGUEZ-HORNEDO, 2015; ROY, 2013).

A Figura 8, apresenta um ponto de transição obtido pela interseção das curvas de solubilidade do cocristal e do fármaco em solução aquosa contendo um agente solubilizante do fármaco. A concentração de agente solubilizante neste ponto é referido como a concentração de estabilização crítica (CSC) do inglês "*critical stabilization concentration*" e a solubilidade neste ponto é determinada como S^* . Cabe ressaltar que a CSC é uma concentração de agente solubilizante acima da concentração micelar crítica (CMC), a qual será abordada no item 2.4.2 (HUANG; RODRÍGUEZ-HORNEDO, 2010).

Figura 8 - Pontos de transição S^* e CSC para o cocrystal (linha vermelha) e o fármaco constituinte (linha azul) em meios contendo dois agentes solubilizantes diferentes, a e b. O valor de S^* neste caso é uma constante e o CSC varia de acordo com a extensão de solubilização do fármaco pelo agente solubilizante. O fármaco apresenta maior solubilização pelo agente a do que pelo b, logo $CSC_a < CSC_b$. Curvas de predição elaboradas através do software Wolfram Mathematica[®]10.



Fonte: Adaptado de Lipert e Rodríguez-Hornedo (2015).

Para melhor compreensão do mecanismo que induz este ponto de transição, primeiramente faz-se necessário a elucidação de conceitos e de como se estabelece a solubilização micelar do fármaco e do cocrystal.

2.4.2 Solubilização micelar

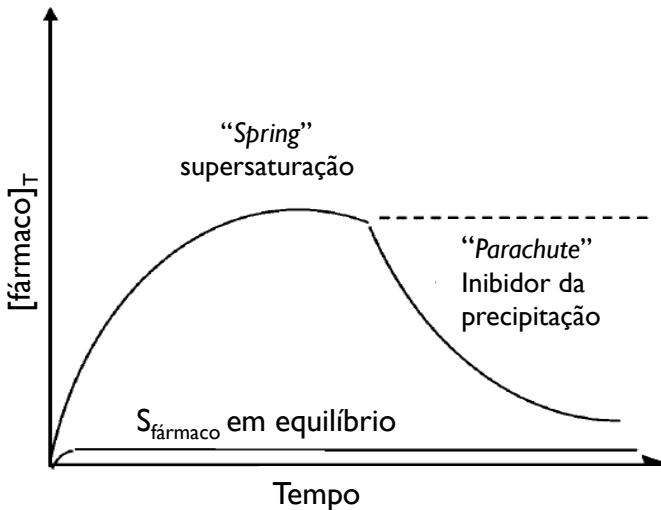
Micelas podem ser definidas como nano ou micro estruturas compostas por um núcleo hidrofóbico e uma superfície hidrofílica. A concentração onde inicia o processo de formação de micelas é chamada concentração micelar crítica (CMC). A CMC é um dado importante e facilmente encontrado na literatura para cada agente solubilizante e é essencial para saber quando inicia o processo de solubilização (MYERS, 2006).

A solubilização micelar tem sido extensivamente estudada, demonstrando influência significativa na solubilização e dissolução de

fármacos ionizáveis pouco solúveis (GRBIC et al., 2009; JINNO et al., 2000; SHENG et al., 2006).

Surfactantes e polímeros são amplamente utilizados na indústria farmacêutica como parte de uma formulação, tanto para aumentar a solubilidade de fármacos poucos solúveis, quanto para estabilizar formas metaestáveis, atuando como inibidores da nucleação e cristalização e mantendo, assim, o estado de supersaturação (Figura 9) (BEVERNAGE, et al., 2013; GUZMÁN et al., 2007).

Figura 9 - Utilização de aditivos como os polímeros e agentes solubilizantes que atuam como "*parachutes*" prolongando o estado de supersaturação ("*spring*"), evitando a conversão para a forma cristalina mais estável do fármaco.



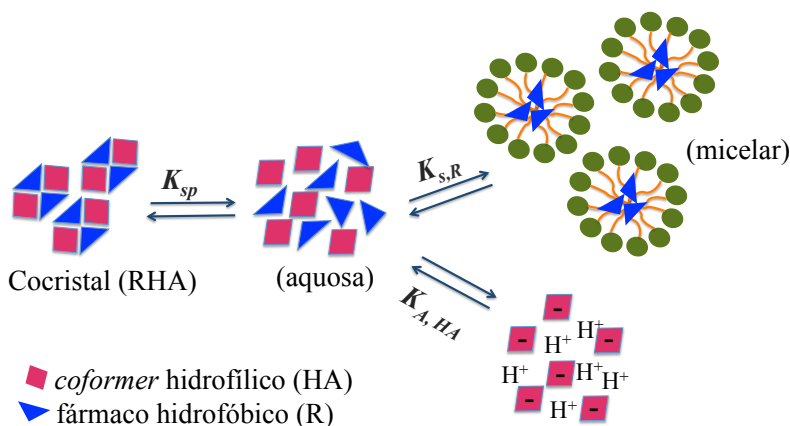
Fonte: Adaptado de Guzmán et al., (2007).

Os termos "*spring*" e "*parachute*" ilustrados na figura 9 são normalmente utilizados para explicar o processo de dissolução de sistemas que geram estado de supersaturação em solução. *Spring* está associado à supersaturação promovida pela forma metaestável do fármaco. Já "*parachutes*" refere-se aos aditivos que podem ser utilizados como inibidores da cristalização em solução através da manutenção do estado de supersaturação (BROUWERS; BREWSTER; AUGUSTIJNS, 2009; GUZMÁN et al., 2007).

Tratando-se de cocristais farmacêuticos, que são frequentemente formados de fármaco hidrofóbico e *coformer* relativamente hidrofílico, espera-se que diferentes afinidades e

solubilizações ocorram com os componentes que formam o cocrystal. Deste modo, considerando os conceitos de solubilização diferencial/preferencial, aplicados até então em misturas oleosas binárias (CHRISTIAN; SCAMEHORN, 1995), descreveu-se o modelo de solubilização diferencial em cocrystal. Neste modelo as micelas interagem preferencialmente com o componente mais hidrofóbico do cocrystal, geralmente o fármaco, deixando o excesso de *coformer*, que por sua vez é o componente hidrofílico na fase aquosa, desta forma estabilizando o cocrystal (Figura 10) (HUANG; RODRÍGUEZ-HORNEDO, 2010).

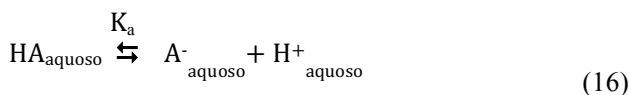
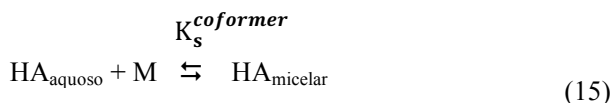
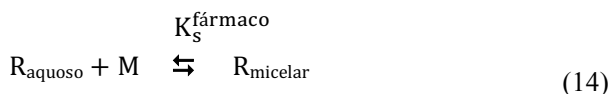
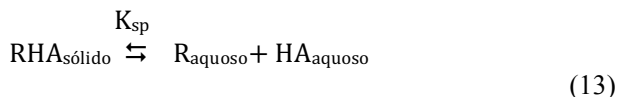
Figura 10 - Ilustração do equilíbrio entre o cocrystal e seus componentes no meio aquoso e micelar. Este esquema representa a solubilização micelar do componente hidrofóbico (neste caso o fármaco), deixando o excesso de *coformer* na fase aquosa, desta forma estabilizando o cocrystal.



Fonte: Adaptado de Huang e Rodríguez-Hornedo (2010).

2.4.2.1 Equações que descrevem a solubilização micelar do fármaco e dos cocrystal

De acordo com o apresentado na Figura 10, o equilíbrio para um cocrystal 1:1 RHA, onde (R) representa um fármaco não-ionizável e (HA) um *coformer* ionizável, e M representa a concentração micelar de surfactante, pode ser descrito pelas equações 13 a 16:



As constantes associadas às reações de equilíbrio acima são descritas pelas equações 17 a 20:

$$K_{\text{sp}} = [\text{R}]_{\text{aq}}[\text{HA}]_{\text{aq}} \quad (17)$$

$$K_{\text{S}}^{\text{R}} = \frac{[\text{R}]_{\text{m}}}{[\text{R}]_{\text{aq}} [\text{M}]} \quad (18)$$

$$K_{\text{S}}^{\text{HA}} = \frac{[\text{HA}]_{\text{m}}}{[\text{HA}]_{\text{aq}} [\text{M}]} \quad (19)$$

$$K_{\text{a}} = \frac{[\text{A}^{-}]_{\text{aq}} [\text{H}^{+}]_{\text{aq}}}{[\text{HA}]_{\text{aq}}} \quad (20)$$

Nas equações apresentadas, o subscrito (aq) refere-se às espécies em meio aquoso (sem micelas) e (m) as espécies em meio micelar. K_{sp} é o produto da solubilidade do cocristal em meio aquoso. K_{S}^{R} e K_{S}^{HA} são as constantes de equilíbrio para a solubilização de R e HA, respectivamente. K_{a} é a constante de ionização para o *coformer* HA e $[\text{M}]$ representa a concentração micelar do agente solubilizante, calculada por meio da concentração total do agente solubilizante

utilizado menos sua concentração micelar crítica (CMC).

Dessa forma, considerando o equilíbrio descrito na equação (14), a solubilidade total do fármaco não ionizável (R) em meio micelar pode ser dada como (equação 21):

$$S_{\text{fármaco},T} = S_{\text{fármaco},\text{aq}} (1 + K_s^{\text{fármaco}} [M]), \quad (21)$$

onde $S_{\text{fármaco},T}$ representa a soma das solubilidades do fármaco em meio aquoso e em meio micelar ($S_{\text{fármaco},T} = S_{\text{fármaco},\text{aq}} + S_{\text{fármaco},\text{m}}$).

Já a solubilidade total do cocristal RHA pode ser dada por (equação 22):

$$S_{\text{RHA},T} = \sqrt{K_{\text{sp}} (1 + K_s^{\text{fármaco}} [M]) \left(1 + K_s^{\text{coformer}} [M] + \frac{K_a}{[H^+]} \right)} \quad (22)$$

$S_{\text{cocristal},\text{RHA},T}$ representa a soma das solubilidade do cocristal em meio aquoso e meio micelar ($S_{\text{cocristal},T} = S_{\text{cocristal},\text{aq}} + S_{\text{cocristal},\text{mic}}$).

Para um cocristal onde somente o fármaco é solubilizado por micelas, ou seja, constante de solubilização micelar (K_s) *coformer* = 0, a equação (22) pode ser simplificada (equação 23):

$$S_{\text{RHA},T} = \sqrt{K_{\text{sp}} (1 + K_s^{\text{fármaco}} [M]) \left(1 + \frac{K_a}{[H^+]} \right)} \quad (23)$$

Estas equações preditivas auxiliam na seleção do surfactante e da concentração necessária para alcançar a solubilização desejada do cocristal. As constantes K_s e K_a são frequentemente encontradas na literatura, desta forma para saber como será o comportamento do cocristal frente a determinado surfactante, faz-se necessário apenas um experimento em determinado pH (meio aquoso). Com esse experimento é obtido o K_{sp} , possibilitando a construção da curva de predição da solubilização micelar do cocristal a partir destas equações apresentadas.

A razão de solubilização (SR), do inglês *Solubilization Ratio*, também é útil na predição da solubilização micelar do cocristal. Esta razão de solubilização é definida por (equação 24):

$$SR \equiv \left(\frac{S_T}{S_{\text{aq}}} \right) \quad (24)$$

Onde SR é a solubilidade total em um meio contendo agente solubilizante (S_T) dividido pela solubilidade aquosa, na ausência de micelas (S_{aq}).

Dessa forma, a solubilização micelar do cocrystal pode ser estimada a partir da solubilização do fármaco, por meio da relação entre a SR do fármaco e do cocrystal.

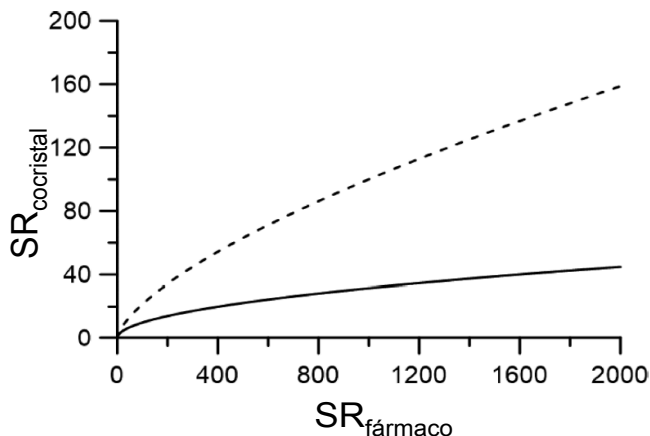
Esta relação pode ser encontrada combinando as equações (21) e (23):

$$\left(\frac{S_T}{S_{aq}}\right)_{\text{cocrystal}} = \sqrt{\left(\frac{S_T}{S_{aq}}\right)_{\text{fármaco}}} \quad (25)$$

Por exemplo, se uma determinada concentração de agente solubilizante aumenta a solubilidade do fármaco em 100 vezes, a partir desta relação é possível estimar um aumento da solubilidade do cocrystal de 10 vezes na presença deste mesmo agente solubilizante.

Dessa maneira, espera-se que $SR_{\text{cocrystal}}$ seja muito menor que $SR_{\text{fármaco}}$, decorrente da solubilização preferencial do fármaco hidrofóbico, conforme ilustrado pelas curvaturas do gráfico (Figura 11).

Figura 11 – Dependência de $SR_{\text{cocrystal}}$ em $SR_{\text{fármaco}}$ para cocrystalis de estequiometria 1:1 (—) e 2:1 (- - -).



Fonte: Adaptado de Lipert e Rodríguez-Hornedo (2015).

2.4.2.2 S^* e CSC

Dados recentes demonstram que o mesmo cocristal pode apresentar solubilidade maior, igual ou menor comparada com o fármaco constituinte, dependendo da natureza e da concentração de agente solubilizante utilizado. Estes pontos de transição são caracterizados por uma constante denominada (S^*) e a concentração de agente solubilizante neste ponto é chamada de concentração de estabilização crítica (CSC) (HUANG et al., 2010; 2011; LIPERT e RODRÍGUEZ-HORNEDO, 2015).

Este comportamento pode ser matematicamente explanado através da equação (21), que demonstra que o fármaco exibe dependência linear de solubilização, enquanto que a equação (23) demonstra a dependência não linear do cocristal (HUANG, RODRÍGUEZ-HORNEDO, 2011a).

S^* é o ponto onde o fármaco e o cocristal apresentam a mesma solubilidade na presença de agentes solubilizantes. O S^* não é o único parâmetro indicativo dos pontos de transição, porém é uma maneira simples de acessá-los. Nos casos em que o *coformer* não é solubilizado por micelas, o S^* pode ser calculado por meio da solubilidade aquosa do fármaco e do cocristal. De acordo com a equação 26 para um cocristal 1:1:

$$S^* = \frac{(S_{\text{cocristal,aq}})^2}{S_{\text{fármaco,aq}}} \quad (26)$$

A equação (26) foi obtida considerando a seguinte relação no ponto de transição:

$$S_{\text{cocristal}} = S_{\text{fármaco}} = S^* \quad (27)$$

A razão de solubilização do cocristal e do fármaco no ponto de transição pode ser reescrita em função de S^* a partir da equação (25):

$$\left(\frac{S^*}{S_{\text{aq}}}\right)_{\text{cocristal}} = \sqrt{\left(\frac{S^*}{S_{\text{aq}}}\right)_{\text{fármaco}}} \quad (28)$$

A equação (26) exprime que o valor de solubilidade no ponto de transição é governado por dois parâmetros fundamentais, a solubilidade aquosa do cocristal e do fármaco. S_{aq} refere-se à solubilidade aquosa

(espécies ionizadas + espécies não ionizadas) tanto para o cocrystal quanto para o fármaco. Uma vez calculado o S^* , o CSC pode ser obtido a partir da concentração de agente solubilizante onde $S_{\text{fármaco}} = S^*$, sem a necessidade de avaliar experimentalmente toda curva de solubilidade do cocrystal, nem utilizar toda equação (23) que descreve a solubilização micelar do cocrystal.

O S^* também pode ser expresso em termos da SA, conforme (equação 29):

$$SA \equiv \left(\frac{S_{\text{cocrystal}}}{S_{\text{fármaco}}} \right) \quad (29)$$

S^* em termos da vantagem de solubilidade do cocrystal, para um cocrystal 1:1: pode ser reescrita como (equação 30):

$$S^* = S_{\text{cocrystal, aq}} (SA_{\text{aq}}) \quad (30)$$

A partir desta relação é possível perceber que quanto menor a SA_{aq} , menor o S^* , ou seja, menor será a concentração de agente solubilizante necessária para que a vantagem de solubilidade do cocrystal em relação ao fármaco seja eliminada.

Em algumas situações a solubilização micelar do *coformer* pode ocorrer, geralmente quando se trata de *coformers* que não são extremamente hidrofílicos. Ou seja, quando $K_{s, \text{coformer}} > 0$, a solubilização micelar do *coformer* deve ser considerada nas equações que descrevem o S^* (HUANG; RODRÍGUEZ-HORNEDO, 2010; LIPERT; RODRÍGUEZ-HORNEDO, 2015).

Substituindo a equação (22) na equação (25), uma nova razão de solubilização do cocrystal pode ser expressa (equação 31):

$$\left(\frac{S_T}{S_{\text{aq}}} \right)_{\text{cocrystal}} = \varepsilon \sqrt{\left(\frac{S_T}{S_{\text{aq}}} \right)_{\text{fármaco}}} \quad (31)$$

E a solubilidade no ponto de transição passa a ser expressa como (equação 32):

$$S^* = \varepsilon \frac{(S_{\text{cocrystal, aq}})^2}{S_{\text{fármaco, aq}}}, \quad (32)$$

onde ε é expresso como (equação 33):

$$\varepsilon = \frac{\left(1 + \frac{K_{a,coformer}}{[H^+]} + K_{s,coformer} [M]\right)}{\left(1 + \frac{K_{a,coformer}}{[H^+]}\right)} \quad (33)$$

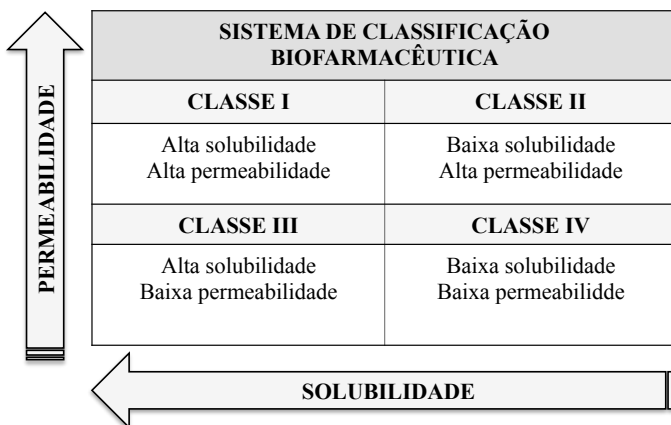
A equação 33 demonstra que, o valor de ε será igual à 1 quando o $K_{s,coformer}$ é igual a 0 ($K_{s,coformer} > 0$ gera $\varepsilon > 1$). Os valores de ε são proporcionais ao $K_{s,coformer}$ e a concentração de agente solubilizante [M].

Desta maneira, o conhecimento dos pontos de transição (S^*) permite modular a vantagem de solubilidade do cocristal em relação ao fármaco através de um simples ajuste do pH e/ou da concentração do agente solubilizante. Deste modo, a supersaturação gerada durante a dissolução do cocristal pode ser modulada, evitando possível cristalização da forma mais estável do fármaco (LIPERT; RODRÍGUEZ-HORNEDO, 2015).

2.5 MELOXICAM

O meloxicam é um anti-inflamatório não-esteroidal (AINE) amplamente utilizado para o tratamento de osteoartrites dolorosas e artrite reumatóide e está disponível na forma sólida oral em doses de 7,5 mg e 15 mg (GOODMAN; GILMAN, 2008; HANFT et al. 2001). Pertence à classe II do Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB) proposto por Amidon et al., (1995), que qualifica os fármacos em quatro classes de acordo com a solubilidade e a permeabilidade intestinal (Figura 12). De acordo com a SCB o MLX apresenta baixa solubilidade e alta permeabilidade. Fármacos pertencentes a esta classe são alvos de estudos em tecnologia farmacêutica justamente por apresentarem problemas de solubilidade, dissolução e, conseqüentemente, de biodisponibilidade (AMIDON et al., 1995; TAKAGI et al., 2006).

Figura 12 - Sistema de Classificação Biofarmacêutica.



Fonte: Adaptado de Kawabata et al. (2011).

Devido à sua baixa solubilidade em condições ácidas (pH de 1 a 5), o meloxicam pode levar mais de 2 horas para alcançar níveis terapêuticos, dificultando sua utilização em casos de dores agudas que necessitam de alívio rápido (DAVIES; SKJODT, 1999). Diante disto, a cocristalização demonstra ser uma ferramenta interessante, visto que a mesma permite a modulação da solubilidade desejada, podendo proporcionar um início de ação mais rápido ao fármaco.

Cocristais de meloxicam com diversos *coformers* estão relatados na literatura, conforme demonstrado na Tabela 1, porém não se encontram até o momento estudos de solubilidade e estabilidade termodinâmica com cocristais de MLX.

Tabela 1 - Cocristais de meloxicam relatados na literatura.

Cocristais (estequiometria MLX: <i>coformer</i>)	
MLX-ácido adípico (2:1) ^a	MLX-MLX cátion - L-ácido málico (1:1:1) ^a
MLX-ácido canfórico (1:1) ^a (3:2) ^a	MLX- DL-ácido málico (2:1) ^a
MLX-ácido glicólico (1:1) ^a	MLX-ácido salicílico (1:1) ^a
MLX-ácido benzóico (1:1) ^a	MLX-ácido fumárico (2:1) ^a
MLX-ácido malônico (1:1) ^a	MLX-ácido succínico (2:1) ^a
MLX-ácido gentísico (1:1) ^a	MLX-ácido maleico (1:1) ^a
MLX-ácido 4-hidroxibenzoico (1:1) ^a	MLX-ácido hidroxicinâmico (1:1) ^a
MLX-ácido 1-hidroxi-1-naftóico (1:1) ^a	MLX-ácido acetilsalicílico (1:1) ^b
MLX-ácido glutárico (1:1) ^a	

^a(CHENEY et al. 2010)

^b(CHENEY et al., 2011)

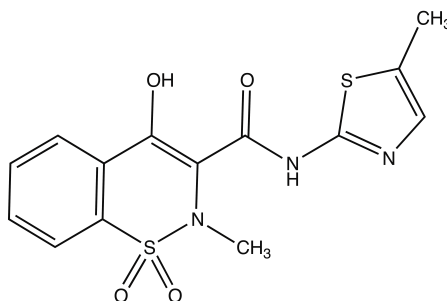
Diante destas características que o MLX apresenta e do grande número de cocristais relatados associados à carência de estudos de solubilidade, este fármaco foi selecionado como fármaco modelo do tipo zwitteriônico para realização dos estudos de solubilidade e estabilidade termodinâmica de cocristais.

2.5.1 Características físico-químicas

O MLX possui fórmula molecular $C_{14}H_{13}N_3O_4S_2$ e apresenta-se fisicamente como um pó amarelo, com massa molar de 351,40 g/mol e estrutura química conforme apresentado na Figura 13. É praticamente insolúvel em água e levemente solúvel em solventes orgânicos (BRITISH PHARMACOPOEIA, 2013; USP, 2008).

Apresenta-se como uma molécula de caráter zwitteriônico de ionização, que de acordo com Luger et al. (1996), possui dois valores de pK_a , 1,09 e 4,18, correspondendo à ionização do anel tiazol e ao grupo OH enólico, respectivamente. Dependendo das condições de polaridade do solvente e do pH da solução em que se encontra, o meloxicam pode apresentar quatro diferentes formas: catiônica, aniônica, enólica e zwitteriônica (CHENEY et al., 2010; LUGER et al., 1996; SEEDHER; BHATIA, 2003; USP, 2008).

Figura 13 - Estrutura molecular do meloxicam - forma 1 enol.



Fonte: Luger et al. (1996).

O meloxicam é um fármaco que possui desejável permeabilidade, baixa solubilidade e uma baixa velocidade de dissolução, fatores limitantes para a sua taxa de absorção. Possui dados relatados de logP de 2,43 (octanol-tampão pH 2) e solubilidade em água de 0,034 mM a 25°C. (PICOT; LOLL; GARAVITO, 1994; SEEDHER;

BHATIA, 2003). Possui cinco formas polimórficas relatadas que estão descritas na patente de número U.S.2003/0109701A1, sendo a forma I a de atividade terapêutica. Os dados cristalográficos de monocristal do polimorfo I estão depositados no *Cambridge Structural Database* (CSD) e foram descritos por Luger et al. (1996) e posteriormente por Fabiola et al. (1998).

2.5.2 Farmacodinâmica

O meloxicam é um AINE da classe dos ácidos enólicos, derivado dos oxicans, que apresenta propriedades anti-inflamatórias, analgésicas e antipiréticas. É um potente inibidor da ciclooxigenase, apresentando preferência e seletividade pela isoenzima COX-2 responsável pelos efeitos terapêuticos dos AINEs, enquanto que a inibição da COX-1 está relacionada com os efeitos colaterais gástricos (BAE et al., 2007; CHURCHILL et al., 1996). Este fármaco demonstra uma incidência menor de eventos adversos gastrintestinais como dispepsia, vômitos, náusea e dor abdominal em comparação com outros fármacos da mesma classe (DISTEL et al., 1996).

2.5.3 Aspectos farmacocinéticos

O MLX é bem absorvido pelo trato gastrintestinal, o que é refletido por uma alta biodisponibilidade (em torno de 90% após administração oral). Seu pico de concentração máximo no plasma é atingido depois de 5-9 h após a administração de uma dose oral sob a forma de comprimido e o tempo médio para o início da ação é de 80 a 90 minutos após a ingestão (DEL TACCA et al., 2013; GOODMAN; GILMAN, 2008).

A taxa de ligação do meloxicam às proteínas plasmáticas é superior a 99% e é extensamente metabolizado, principalmente por oxidação, no seu principal metabólito 5-carboximeloxicam, excretado na urina e nas fezes. Menos do que 5% da dose é excretada sob a forma inalterada nas fezes, enquanto que apenas traços do composto inalterado são excretados na urina. A meia-vida de eliminação varia de 13 a 25 horas após administração oral (SWEETMAN, 2011; AMBRUS et al., 2009).

CAPÍTULO II
COCRISTAIS DE MELOXICAM: OBTENÇÃO E
CARACTERIZAÇÃO

3 COCRISTAIS DE MELOXICAM: OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO

3.1 INTRODUÇÃO

Dentro da área de pesquisa de aprimoramento de moléculas pouco solúveis a cocristalização apresenta-se como uma ferramenta interessante de estudo, visto que dentre as suas propriedades está a possibilidade de modular a solubilidade desejada. Além disto, cocristais podem proporcionar grande diversidade de formas cristalinas do mesmo fármaco, com características físico-químicas diferentes dos componentes cristalinos individuais (BABU; NANGIA, 2011; ELDER; HOLM; DIEGO, 2013).

Em se tratando de cocristais farmacêuticos, a estratégia de cocristalização apresenta-se promissora, especialmente em fármacos pertencentes à classe II do SCB, como é o caso do MLX, que exibe alta permeabilidade e baixa solubilidade. Já com relação às moléculas empregadas como *coformers*, os ácidos carboxílicos estão entre as mais utilizadas na grande maioria das vezes, principalmente devido aos seus grupamentos disponíveis para interagir com o fármaco por meio de ligações de hidrogênio (FÁBIAN; FRIŠČI, 2012; QIAO et al., 2011; STANTON, et al., 2009).

Diversas estratégias para obtenção de cocristais estão descritas na literatura, no entanto neste trabalho foi escolhido reproduzir o método descrito por Cheney et al. (2010) para obtenção de cocristais de MLX com os ácidos carboxílicos, salicílico (SLC) e maleico (MLC). Este método, denominado pelos autores como "*slurry*", pode ser inserido na abordagem do diagrama de solubilidade de fases (DSF), o qual orienta o método de cristalização por reação (MCR) (RODRÍGUEZ-HORNEDO et al., 2006).

Diante do processo de obtenção de um novo material cristalino, a caracterização no estado sólido apresenta extrema importância, principalmente nos estágios iniciais de desenvolvimento. Os cocristais podem ser usualmente caracterizados por meio da combinação de técnicas termoanalíticas, espectroscópicas, e a mais importante dentre elas, a difração de raios X de pó (DRXP). Uma ferramenta útil consiste no banco de dados estruturais da Cambridge (CSD - *Cambridge Structural Database*), que fornece informações essenciais para a caracterização por meio da comparação entre padrões de difração de raios-X da amostra com o padrão de difração calculado, quando existente (QIAO et al., 2011; REUTZEL-EDENS, 2012).

Neste contexto, o presente capítulo apresenta a metodologia de cocristalização utilizada para obtenção dos cocristais MLX-SLC e MLX-MLC e a posterior caracterização no estado sólido dos materiais cristalinos obtidos.

3.2 METODOLOGIA

3.2.1 Materiais

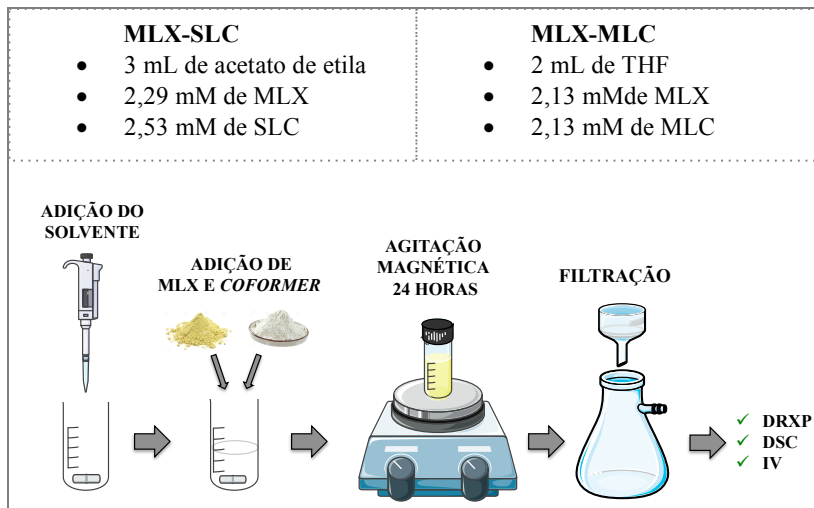
A matéria-prima de MLX foi adquirida de Technodrugs & Intermediates - Índia, lote TDM/ML/002/11/12-13. O *coformer* SLC, lote Y1307011, foi adquirido de Xiamen Fine Chemical, China e o MLC, lote S6625480, de Merck KGaA, Alemanha. Os solventes tetrahidrofurano e acetato de etila apresentavam grau analítico.

3.2.2 Métodos

3.2.2.1 Técnica de cocristalização

Para a obtenção de cocristais do meloxicam foram utilizadas quantidades de reagentes descritas por Cheney e colaboradores (2010). Esta reação de cristalização em solução foi realizada em temperatura ambiente, por meio da adição de quantidades estequiométricas de MLX e *coformer* em um frasco contendo um volume determinado de solvente (Figura 14). MLX-SLC (1:1) foi preparado em acetato de etila, enquanto MLX-MLC (1:1) foi preparado em tetrahidrofurano (THF). As suspensões foram mantidas sob agitação magnética durante 24 horas e, em seguida, filtradas em filtro de papel quantitativo sob vácuo. A identidade das amostras foi confirmada por IV, DSC e DRXP.

Figura 14 - Desenho esquemático do preparo dos cocrystalos de MLX pelo método de reação de cristalização em solução.



3.2.2.2 Técnicas de caracterização

3.2.2.2.1 Difração de raios x de pó (DRXP)

Os difratogramas foram obtidos utilizando-se equipamento θ - θ D2 Phaser (Bruker), com radiação de cobre $K\alpha$ ($\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$), operando em corrente de 10 mA e voltagem de 30 kV, equipado com detector de cintilação unidimensional LINXEYE. As medidas foram realizadas à temperatura ambiente, em porta amostra com cavidade, através de varredura angular a 2θ na faixa de 5° a 35° e com step angular de $0,091^\circ/\text{s}$.

3.2.2.2.2 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

As curvas DSC foram obtidas em célula Shimadzu DSC-50 utilizando cadinhos de alumínio (modelo 201-52943) hermeticamente fechados com aproximadamente 1,5 mg das amostras. A faixa de temperatura analisada foi de 25 a $280 \text{ }^\circ\text{C}$, a uma razão de aquecimento de $10 \text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$ e sob atmosfera dinâmica de N_2 de $100 \text{ mL}/\text{min}$. Os dados obtidos foram processados em software TA-60. O equipamento foi previamente calibrado com índio (ponto de fusão: $156,6 \text{ }^\circ\text{C}$, entalpia de fusão = $28,54 \text{ J/g}$) e zinco (ponto de fusão $419,6 \text{ }^\circ\text{C}$).

3.2.2.2.3 Espectroscopia vibracional na região do infravermelho (FT-IR)

Os espectros IV foram obtidos em equipamento PerkinElmer FT-IR (Frontier Spectrometer), em uma faixa espectral de 600 cm^{-1} a 4000 cm^{-1} .

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

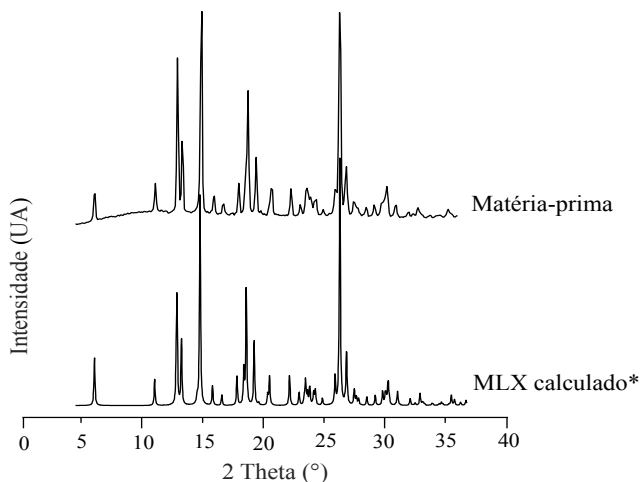
Conforme mencionado anteriormente, a metodologia para obtenção dos cocristais utilizada neste trabalho pode ser inserida na abordagem do diagrama de solubilidade de fases (DSF, página 39, figura 3). Assim, a partir das quantidades de reagentes utilizados no método de cocristalização foi possível acessar a região IV do diagrama de solubilidade de fases, ou seja, durante o experimento a solução encontrava-se saturada de MLX, próxima da saturação de *coformer*, e supersaturada em relação ao cocristal, condições necessárias para formação do cocristal. Dessa maneira, foi possível obter a precipitação/cristalização dos cocristais de MLX, à medida em que a reação ocorria mais reagentes eram consumidos, ou seja, dissolviam-se no solvente utilizado até que o sistema atingisse o equilíbrio.

Esta metodologia de preparo demonstrou ser eficaz, reprodutível e de bom rendimento. O método para preparo de MLX-SLC foi reprodutível em volumes de até 12 mL, com rendimento de 89%, enquanto que para o MLX-MLC foi reprodutível em 10 mL, com rendimento de 92%. O rendimento foi determinado por meio da pesagem do sólido obtido ao final da reação em comparação com o total de reagentes sólidos adicionados.

Existem, até o momento, 5 formas polimórficas de MLX, sendo o polimorfo I a forma utilizada para fins terapêuticos (COPPI; SANMARTI; CLAVO, 2005; LUGER et al., 1996). Diante deste conhecimento, a caracterização da matéria-prima de MLX, a fim de identificar o polimorfo presente neste sólido, demonstrou ser importante.

Inicialmente a matéria-prima de MLX foi caracterizada por DRXP. Observou-se, através da comparação com o padrão de difração calculado de MLX forma I, que a amostra apresentou picos de difração bem definidos, de acordo com o padrão, confirmando, assim, que a amostra compreende o polimorfo I (Figura 15).

Figura 15 - Difratograma comparando a amostra de MLX matéria-prima com o padrão de difração calculado para o polimorfo I de MLX.



* Padrão de difração calculado para MLX polimorfo I relatado por Luger et. al, 1996.

As curvas DSC do MLX, assim como a análise por IV, encontram-se apresentadas nas Figuras 16 e 18, juntamente com a caracterização dos cocristais.

O espectro no IV da amostra de MLX matéria-prima (Figura 16 C) revelou a presença das bandas características de grupamento (N-H), em 3286 cm^{-1} ; (C=O) do grupamento amida, em 1622 cm^{-1} ; (C=C) do anel aromático, em 1456 cm^{-1} , e grupamentos sulfonil (S=O), em 1345 e 1135 cm^{-1} , relacionadas à estrutura molecular deste fármaco (COPPI, SANMARTI, CLAVO, 2005; BRITISH PHARMACOPOEIA, 2011).

Como pode ser verificado na curva DSC, a amostra de MLX matéria-prima (Figura 18C) apresentou um único evento endotérmico, com ponto de fusão em $258,66\text{ °C}$ ($\Delta H=203,77\text{ J/g}$). Estes resultados encontrados estão de acordo com o intervalo de fusão descritos na literatura para este fármaco (BRITISH PHARMACOPOEIA, 2013; POMÁZI et al., 2011; USP, 2008; WU et al., 2014).

Os materiais sólidos obtidos na reação de cocrystalização foram caracterizados inicialmente por meio da técnica de IV e os espectros comparando o material cocrystalizado com os demais componentes do cocrystal estão demonstrados nas Figuras 16 e 17.

De acordo com o demonstrado nos espectros do material cocrystalizado (A), Figuras 16 e 17, foi possível observar a diminuição

da intensidade da banda referente ao grupamento (-NH), em 3286 cm^{-1} . Também ocorreu a diminuição da intensidade e deslocamento da banda em 1622 cm^{-1} , referente à carbonila da amida do MLX (Figura 16 e 17). Além disso, o grupamento ácido carboxílico presente nos *coformers* apresentou estiramento da banda O-H, entre $3200\text{-}2500\text{ cm}^{-1}$, e deslocamento C-O, em 1698 cm^{-1} . Estas modificações são atribuídas às interações de hidrogênio que ocorrem entre o ácido carboxílico e os grupamentos sulfadiazol/NH do MLX na formação do cocrystal. O grupamento carbonila também está envolvido em ligações intermoleculares que ocorrem nas moléculas do fármaco (CHENEY et al., 2010).

Figura 16 - Espectros de IV da amostra cocrystalizada (A) e dos componentes individuais SLC (B) e MLX (C).

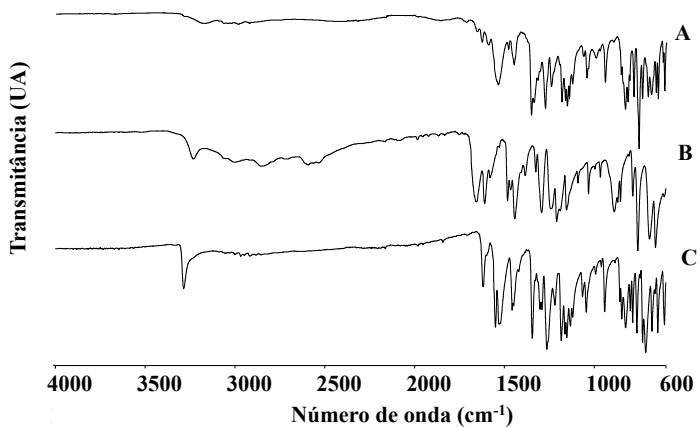
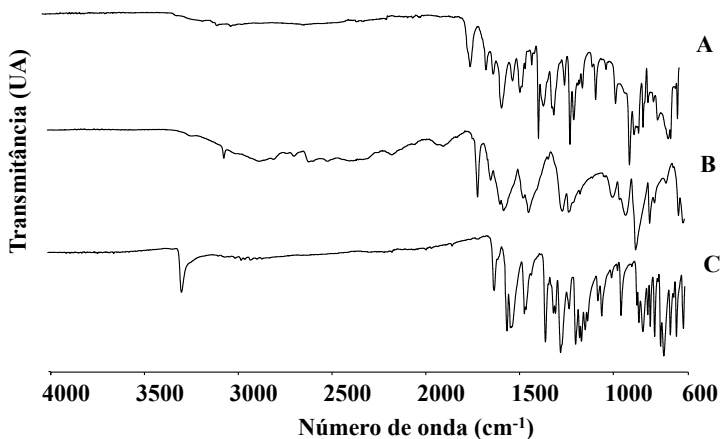
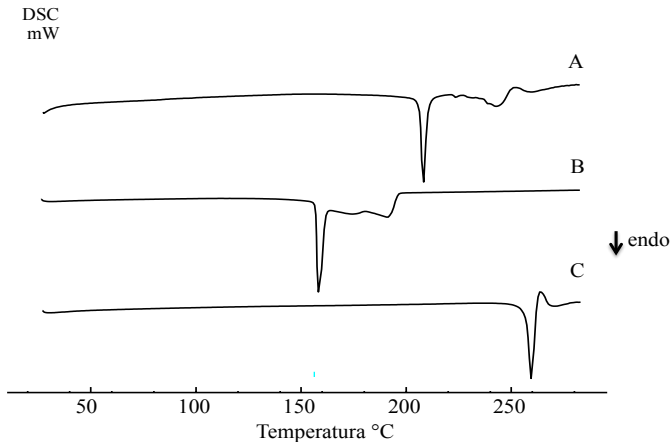


Figura 17 - Espectros de IV da amostra cocrystalizada (A) e dos componentes individuais MLC (B) e MLX (C).



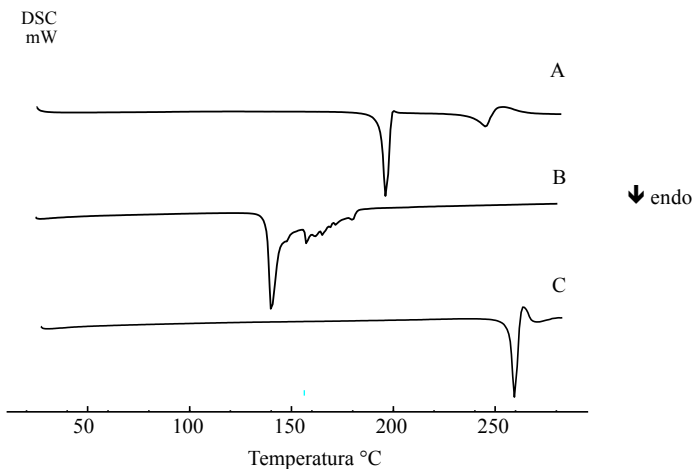
No que se refere ao comportamento termoanalítico das amostras, foi possível observar, por meio das curvas DSC, que a amostra cocrystalizada apresentou um evento endotérmico com ponto de fusão em 209,25°C ($\Delta H = 72,38 \text{ J/g}$) localizado entre os eventos de fusão do *coformer* e do fármaco (Figura 18). Estes dados são correspondentes aos encontrados na literatura para o cocrystal de MLX-SLC, bem como o evento endotérmico do SLC, com ponto de fusão de 156,33°C ($\Delta H = 180,47 \text{ J/g}$) (CHENEY et al., 2010; USP, 2008).

Figura 18 - Resultado das análises por DSC da amostra cocristalizada (A) do *coformer* SLC (B) e do MLX (C).



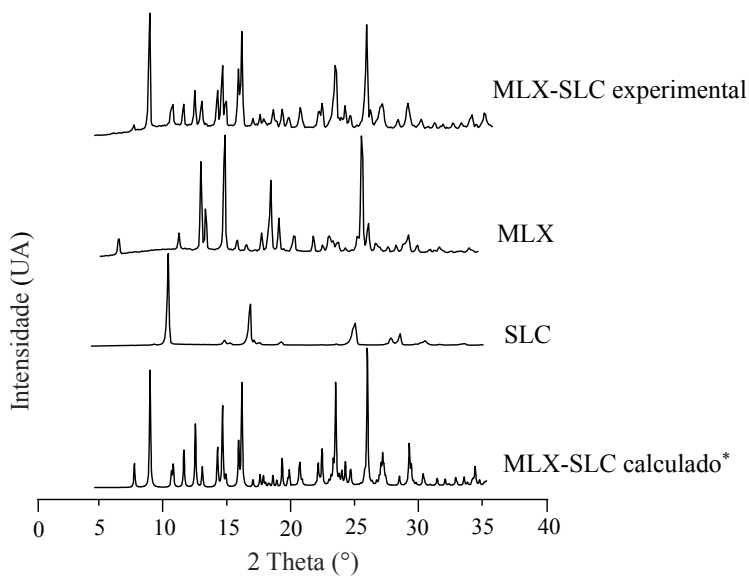
Já a curva DSC da amostra cocristalizada de MLX com MLC apresentou ponto de fusão em $194,34^{\circ}\text{C}$ ($\Delta H=248,44$ J/g), também localizado entre os dois eventos endotérmicos dos componentes do cocristal (Figura 19). Estes dados também estão de acordo com encontrados na literatura para o cocristal de MLX-MLC, bem como o ponto de fusão do MLC em $140,63^{\circ}\text{C}$ ($\Delta H=275,89$ J/g) (CHENEY et al., 2010).

Figura 19 - Resultado das análises por DSC da amostra cocristalizada (A) do *coformer* MLC (B) e do MLX (C).



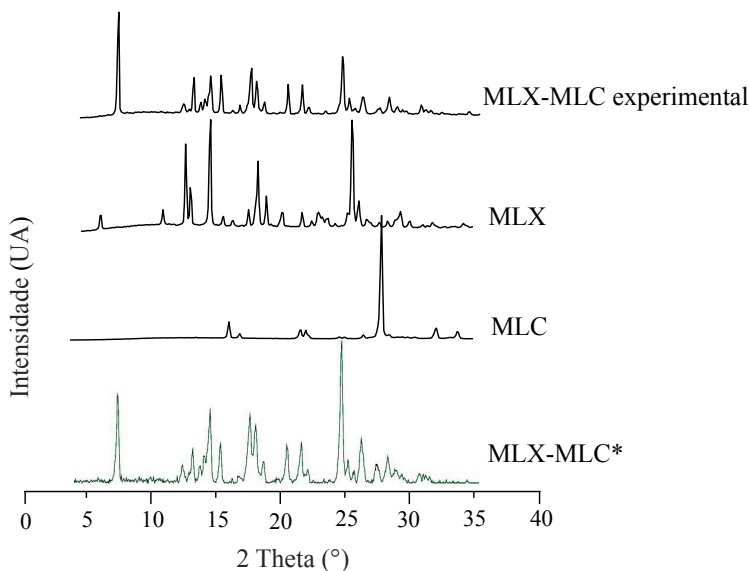
A DRXP é considerada uma técnica fundamental e definitiva na análise de materiais sólidos cristalinos, permitindo a caracterização das amostras de acordo com seus padrões de difração (BRITAIN, 2009). Por meio da análise dos difratogramas das amostras cocristalizadas foi possível observar reflexões bem definidas e com picos de maior intensidade em 9,18; 14,5; 16,10; 23,2; 25,4° para MLX-SLC e 8,0; 15,0; 19,3; 21,2 e 26,8° para MLX-MLC. Comparando o difratograma da amostra MLX-SLC com o padrão de difração calculado desse cocristal (Figura 20), foi possível observar que as reflexões são equivalentes e diferentes dos materiais de partida MLX e SLC. Estes dados, em conjunto com os resultados obtidos por DSC e IV, confirmam a identidade da amostra como cocristal MLX-SLC. A amostra cocristalizada de MLX-MLC foi comparada com a difração de raios X de pó do cocristal, relatado por Cheney et al. 2010 (Figura 21), pois até o momento não há estrutura cristalina resolvida para este cocristal. Pode-se observar que a amostra apresenta o mesmo perfil de difração, com reflexões coincidentes e diferentes dos perfis de difração dos materiais de partida MLX e MLC, indicando a identidade da amostra como sendo o cocristal MLX-MLC. Desta forma, juntamente com as outras técnicas de caracterização no estado sólido pôde-se confirmar que ambos cocristais constituem da mesma fase cristalina daquelas relatadas por este autor.

Figura 20 - Difratomogramas comparando a amostra obtida por cocristalização com os materiais de partida MLX e SLC e o padrão de difração calculado para MLX-SLC.



* Padrão de difração calculado para o cocristal MLX-SLC relatado por Cheney et al., 2010.

Figura 21 - Difragramas comparando a amostra obtida por cocristalização com os materiais de partida MLX e MLC e o DRXP do cocristal MLX-MLC relatado por Cheney et al. (2010).



* Resultado da DRXP do cocristal MLX-MLC relatado por Cheney et al., 2010.

3.4 CONCLUSÕES

O método utilizado para obtenção dos cocristais de MLX foi considerado simples, passível de reprodutibilidade em maiores escalas e apresentou bom rendimento. A partir dos resultados encontrados nas técnicas de caracterização no estado sólido foi possível identificar a matéria-prima de MLX como o polimorfo I. Em relação às amostras cocristalizadas, os eventos de fusão observados para esses materiais estão em concordância com o relatado para os cocristais MLX-MLC e MLX-SLC. A técnica de IV apresentou as bandas características para cada cocristal relatado, indicando as interações que ocorrem na formação do cocristal. As análises de DRXP apresentaram picos de difração bem definidos, diferentes dos insumos de partida e em concordância com padrões de referência. Estes dados são complementares aos obtidos por DSC e em conjunto com os resultados obtidos através da técnica espectroscópica permitiram a confirmação das fases cristalinas dos sólidos obtidos como cocristais MLX-SLC e MLX-MLC.

CAPÍTULO 3

MECANISMO, PREDIÇÃO E DETERMINAÇÃO DA SOLUBILIDADE DE COCRISTAIS COMPOSTOS DE FÁRMACO DO TIPO ZWITERIÔNICO E *COFORMERS* ÁCIDOS

4 MECANISMO, PREDIÇÃO E DETERMINAÇÃO DA SOLUBILIDADE DE COCRISTAIS COMPOSTOS DE FÁRMACO DO TIPO ZWITERIÔNICO E *COFORMERS* ÁCIDOS

4.1 INTRODUÇÃO

Os cocristais são caracterizados por apresentar alta solubilidade em relação ao fármaco e esta propriedade está relacionada à diferente energia de rede do cocrystal, associada ao processo de solubilização, e especialmente das interações dos componentes do cocrystal em solução, a solvatação (BASAVOJU; BOSTRÖM; VELAGA, 2008; GOOD; RODRÍGUEZ-HORNEDO, 2009; ROY; LIPERT; RODRÍGUEZ-HORNEDO, 2012).

Apesar do grande número de publicações que abordam a síntese, resolução de estruturas e caracterização dos cocristais, existe ainda uma carência de estudos em relação à solubilidade destes sistemas, principalmente direcionados à área farmacêutica. Entender as interações dos cocristais em solução bem como os mecanismos envolvidos na determinação da sua solubilidade e estabilidade, é de extrema importância nos estudos envolvendo estes sólidos (CAIRA et al., 2012; CHILDS; HARDCASTLE, 2007; ROY; LIPERT; RODRÍGUEZ-HORNEDO, 2012; WEYNA et al., 2012;).

A solubilidade dos cocristais pode ser acessada por meio de um simples experimento, realizado no P_{eu} , onde cocrystal e fármaco estão em equilíbrio com uma solução. Este experimento proporciona informações úteis na determinação das regiões de estabilidade do cocrystal, estabelece pontos de transição e fornece uma escala da verdadeira solubilidade do cocrystal em relação ao fármaco. Trabalhos que utilizam esta metodologia juntamente com a abordagem de modelos matemáticos de predição da solubilidade de cocristais estão bem descritos na literatura (BETHUNE et al., 2009; GOOD; RODRÍGUEZ-HORNEDO, 2009; 2010).

Para desenvolvimento das equações de predição foi utilizado o MLX como fármaco modelo do tipo zwitteriônico, com dois valores de pK_a , 1,09 e 4,18, e os *coformers*, SLC, molécula ionizável do tipo ácido monoprótico, com um valor de pK_a de 2,97, enquanto que o MLC é do tipo ácido diprótico, apresentando dois valores de pK_a , 1,93 e 6,58 (DAWSON, 1959; LUGER et al., 1996; THE MERCK, 2001; WOUTERS; ROME; QUERE, 2012).

Dentro deste panorama geral, o presente capítulo apresenta o desenvolvimento de equações de predição da solubilidade dos cocristais em termos das constantes de equilíbrio associadas à ionização dos seus componentes em solução e traz também os resultados da determinação da solubilidade dos cocristais por meio de experimentos no P_{eu} .

4.2 METODOLOGIA

4.2.1 Materiais

Foram utilizados reagentes (ácidos, bases, solventes e sais) de grau analítico e grau cromatográfico. A água ultrapura foi obtida a partir de sistema de gradiente Milli-Q (Millipore, Bedford, Estados Unidos).

4.2.2 Métodos

4.2.2.1 Modelos matemáticos de predição da solubilidade dos cocristais

Os modelos matemáticos de predição da solubilidade dos cocristais compostos de fármaco zwitteriônico e *coformers* ácidos foram desenvolvidos com base nos conceitos de equilíbrio químico descritos por Henderson-Hasselbach (BUTLER, 1964) e nas propriedades dos cocristais em solução (BETHUNE et al., 2009; NEHM; RODRÍGUEZ-SPONG; RODRÍGUEZ-HORNEDO, 2006).

4.2.2.2 Medida da solubilidade dos cocristais

Os experimentos de solubilidade no P_{eu} foram realizados em diferentes soluções (água, soluções de HCl 0,08 e 0,1M e tampão acetato de amônio 25 mM pH 6,8). O P_{eu} entre cocristal, fármaco e solução foi acessado por meio da adição de excesso de cocristal (~ 1g) e de MLX (~ 250 mg) em 30 mL de cada solução mencionada. Estas suspensões foram mantidas sob agitação magnética à $25 \pm 0,2^\circ\text{C}$, utilizando um banho termostaticado. Em intervalos de 24 horas, alíquotas de 5 mL foram coletadas e filtradas em membrana de poliamida 0,45 μm , e as concentrações de MLX e *coformer* foram determinadas por CLAE. O pH também foi verificado e a fase sólida coletada e analisada por DRXP e DSC para assegurar que o sistema encontrava-se no P_{eu} (confirmado através da presença de cocristal e MLX sólido). Este procedimento foi realizado a cada 24 horas até que o sistema alcançasse o equilíbrio. Os experimentos foram realizados em

triplicata.

O K_{sp} foi calculado através da média da multiplicação das concentrações não ionizadas de fármaco e *coformer* ($K_{sp} = [\text{fármaco}][\text{coformer}]$) obtidas a partir dos resultados experimentais no P_{eu} , enquanto que a solubilidade experimental dos cocristais foi calculada a partir da equação:

$$S_{\text{cristal (1:1)}} = \sqrt{[\text{fármaco}]_{eu} [\text{coformer}]_{eu}} \quad (34)$$

4.2.2.3 Solubilidade do MLX

A solubilidade do MLX (S_{MLX}) foi determinada a partir da adição de excesso de fármaco em meios aquosos em diferentes pHs. Em seguida, as suspensões foram mantidas sob agitação magnética durante 72 horas à temperatura de $25 \pm 0,2$ °C. Após intervalos de 24, 48 e 72 horas, alíquotas de 5 mL foram coletadas e filtradas em filtros de poliamida 0,45 μm . A fase líquida foi analisada por CLAE e a fase sólida foi verificada por DRXP para garantir que não houve transição de fase durante o ensaio.

4.2.2.4 Instrumentação e condições cromatográficas

Para quantificação do MLX e dos *coformers* por CLAE foram desenvolvidas metodologias baseadas em parâmetros descritos na literatura (BREZOVSKA; JAMPILEK; OPATRILOVA, 2013; STAREK; KRZEK, 2009). Posteriormente ao desenvolvimento dos métodos, os mesmos foram validados de acordo com as normas nacionais e internacionais recomendadas (FDA, 2015; ICH, 2005; BRASIL, 2003). A descrição dos métodos e a validação encontram-se detalhadas no Apêndice I.

4.2.2.5 Caracterização dos sólidos no P_{eu}

As técnicas de DRXP e a DSC foram utilizadas para identificar as fases sólidas que estavam em equilíbrio com a solução no P_{eu} . As metodologias das técnicas estão descritas no Capítulo 2, item 3.2.2.2.

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

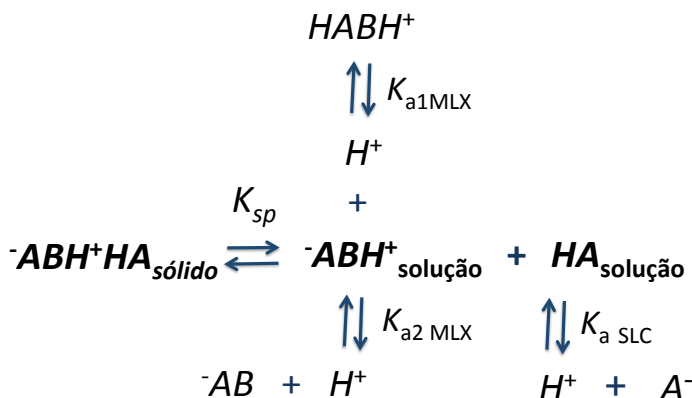
4.3.1 Equações de predição da solubilidade dos cocristais

O equilíbrio químico de um cocristal em solução é descrito pelo produto de solubilidade (K_{sp}). Quando os componentes dos cocristais são ionizáveis o equilíbrio ácido ou base também deve ser considerado (NEHN; RODRÍGUEZ-SPONG; RODRÍGUEZ-HORNEDO, 2006).

Para determinar a solubilidade dos cocristais por meio de equações de predição, é necessário primeiramente descrever as reações de equilíbrio químico envolvidas no sistema em estudo. Vale ressaltar que neste trabalho foram desconsiderados efeitos como de complexação e interações iônicas.

Desta forma, considerando-se um cocristal ${}^{-}\text{ABH}^+\text{HA}$ na estequiometria 1:1 onde ${}^{-}\text{ABH}^+$ representa o MLX, fármaco zwitteriônico e HA representa o ácido salicílico, *coformer* ácido monoprotico, as reações de equilíbrio para a o cocristal MLX-SLC podem ser ilustradas de acordo com a Figura 22.

Figura 22 - Equilíbrio químico para o cocristal ${}^{-}\text{ABH}^+\text{HA}$, onde ${}^{-}\text{ABH}^+$ representa um fármaco zwitteriônico e HA representa um *coformer* ionizável.

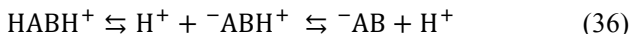


Inicialmente foi considerada a dissociação do cocristal descrita pelo produto da solubilidade (equação 35):

$$K_{sp} = [{}^{-}\text{ABH}^+][\text{HA}] \quad (35)$$

E, posteriormente, a ionização do fármaco e do *coformer* que estão descritas na Figura 22.

De acordo com o comportamento do tipo zwitteriônico de ionização do MLX, as reações de equilíbrio podem ser representadas por:



Resultando em três espécies diferentes que estabelecem o equilíbrio, denominadas como:

${}^-\text{ABH}^+$ = (neutra)

HABH^+ = (ionizada, que corresponde ao $\text{pK}_a 1,09$)

${}^-\text{AB}$ = (ionizada, que corresponde ao $\text{pK}_a 4,18$)

Desta forma, as constantes associadas ao equilíbrio químico do MLX são:

$$K_{a,1}^{-\text{ABH}^+} = \frac{[{}^-\text{ABH}^+][\text{H}^+]}{[\text{HABH}^+]} \Rightarrow [\text{HABH}^+] = \frac{[{}^-\text{ABH}^+][\text{H}^+]}{K_{a,1}^{-\text{ABH}^+}} \quad (37)$$

$$K_{a,2}^{-\text{ABH}^+} = \frac{[{}^-\text{AB}][\text{H}^+]}{[{}^-\text{ABH}^+]} \Rightarrow [{}^-\text{AB}] = \frac{K_{a,2}[{}^-\text{ABH}^+]}{[\text{H}^+]} \quad (38)$$

A concentração total ou analítica do MLX pode ser dada a partir da soma das seguintes espécies em solução (equação 39):

$$[\text{AB}]_T = [{}^-\text{ABH}^+] + [\text{HABH}^+] + [{}^-\text{AB}] \quad (39)$$

Substituindo as equações (37) e (38) em $[\text{HABH}^+] + [{}^-\text{AB}]$ obtem-se (equação 40):

$$S_{\text{MLX},T} = S_0 \left(1 + \frac{[\text{H}^+]}{K_{a1}} + \frac{K_{a2}}{[\text{H}^+]} \right), \quad (40)$$

onde S_0 refere-se à solubilidade intrínseca do MLX.

As reações de equilíbrio e as equações para *coformer* ácido monoprotico HA, que é o caso do SLC, já se encontram descritas no Capítulo I, pelas equações de números (6) a (10). Entretanto, vale lembrar que a constante ácida de ionização para HA é descrita como (equação 41):

$$K_{a,HA} = \frac{[H^+][A^-]}{[HA]} \Rightarrow [A^-] = \frac{[HA] K_{a,HA}}{[H^+]} \quad (41)$$

e que a concentração total analítica de SLC em solução pode ser dada pela soma das concentrações das espécies ionizadas e não ionizadas (equação 42):

$$[A]_T = [HA] + [A^-] \quad (42)$$

Desta forma, substituindo $[HA] + [A^-]$ pelas equações (35) e (41), respectivamente, a equação (42) é rearranjada como (equação 43):

$$[A]_T = \frac{K_{sp}}{[-ABH^+]_0} \left(1 + \frac{K_{a,HA}}{[H^+]} \right) \quad (43)$$

Substituindo a equação (40) na equação (43) e considerando que para um cocristal de razão molar 1:1 a sua solubilidade é igual à concentração total de cada espécie em solução, obtém-se (equação 44):

$$S_{cc(1:1)} = [AB]_T = [A]_T \quad (44)$$

Assim, a equação final de solubilidade do cocristal MLX-SLC 1:1 (ABH^+HA) pode ser dada como (equação 45):

$$S_{cc} = \sqrt{K_{sp} \left(1 + \frac{[H^+]}{K_{a_{1,-}ABH^+}} + \frac{K_{a_{2,-}ABH^+}}{[H^+]} \right) \left(1 + \frac{K_{a_{HA}}}{[H^+]} \right)} \quad (45)$$

Já no caso do cocristal MLX-MLC composto por fármaco zwitteriônico e *coformer* ácido diprotico (ABH^+H_2A) foi considerado o seguinte equilíbrio químico para o *coformer* MLC (equações 46 e 47):



E as constantes associadas são apresentadas como (equações 48 e 49):

$$K_{a1,H_2A} = \frac{[H^+][HA^-]}{[H_2A]} \Rightarrow [HA^-] = \frac{[H_2A]K_{a1,H_2A}}{[H^+]} \quad (48)$$

$$K_{a2,H_2A} = \frac{[H^+][A^{2-}]}{[HA^-]} \Rightarrow [A^{2-}] = \frac{[HA^-]K_{a2,H_2A}}{[H^+]} \quad (49)$$

Já a concentração total analítica de MLC em solução pode ser dada pela soma das concentrações das seguintes espécies (equação 50):

$$[A]_T = [H_2A] + [HA^-] + [A^{2-}] \quad (50)$$

Desta forma, substituindo $[H_2A]$, pela equação (51):

$$K_{sp} = [-ABH^+][H_2A] \quad (51)$$

e $[HA^-]$ e $[A^{2-}]$ pelas equações (48) e (49), respectivamente, a equação (50) é rearranjada como (equação 52):

$$[A]_T = \frac{K_{sp}}{[-ABH^+]_0} \left(1 + \frac{K_{a1,H_2A}}{[H^+]} + \frac{K_{a1,H_2A}K_{a2,H_2A}}{[H^+]^2} \right) \quad (52)$$

Substituindo a equação (40) na equação (52) e considerando que para um cocristal de razão molar 1:1 a sua solubilidade é igual à concentração total de cada espécie em solução, obtém-se (equação 53):

$$S_{cc(1:1)} = [AB]_T = [A]_T, \quad (53)$$

Assim, a equação final de solubilidade do cocristal MLX-MLC 1:1 ($-ABH^+H_2A$) pode ser dada como (equação 54):

$$S_{cc} = \sqrt{K_{sp} \left(1 + \frac{[H^+]}{K_{a1,-ABH^+}} + \frac{K_{a2,-ABH^+}}{[H^+]} \right) \left(1 + \frac{K_{a1,H_2A}}{[H^+]} + \frac{K_{a1,H_2A}K_{a2,H_2A}}{[H^+]^2} \right)} \quad (54)$$

Por meio da análise das equações finais obtidas para MLX-SLC (45) e para MLX-MLC (54), é possível observar que as mesmas permitem prever o aumento da solubilidade dos cocristais com o aumento do pH (diminuição de $[H^+]$), e que são dependentes dos valores

de K_{sp} e dos pK_{as} do fármaco e dos *coformers*. Em um pH \ll que o pK_a do coformer, ou $[H^+] \gg K_a$, a solubilidade do cocrystal aproxima-se da sua solubilidade intrínseca, então a solubilidade será $\sqrt{K_{sp}}$.

Devido ao comportamento ácido de ionização dos *coformers*, quanto mais espécies HA ou H_2A ionizem-se, de acordo com os seus pK_{as} e com o aumento do pH da solução, mais cocrystal dissolve-se para manter o equilíbrio de dissociação.

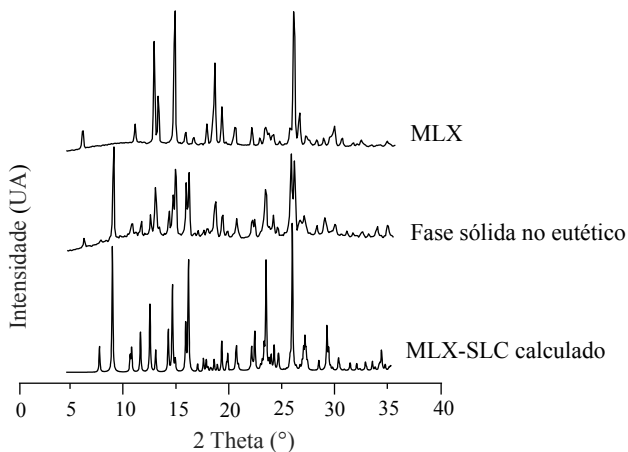
Estas equações que descrevem a solubilidade estequiométrica dos cocrystal indicam que uma vez obtido o K_{sp} , a solubilidade dos cocrystal pode ser calculada em qualquer valor de pH (ROY; LIPERT; RODRÍGUEZ-HORNEDO, 2012).

4.3.2 Solubilidade do MLX e dos cocrystal

Os experimentos de solubilidade no P_{eu} permitiram quantificar a concentração total de fármaco e *coformer* no momento em que a solução encontrava-se em equilíbrio com a fase sólida (cocrystal e fármaco). O pH da solução foi monitorado, visto que a solubilidade deste sistema é dependente do pH e, além disso, a fase sólida presente no P_{eu} foi identificada por DRXP e DSC.

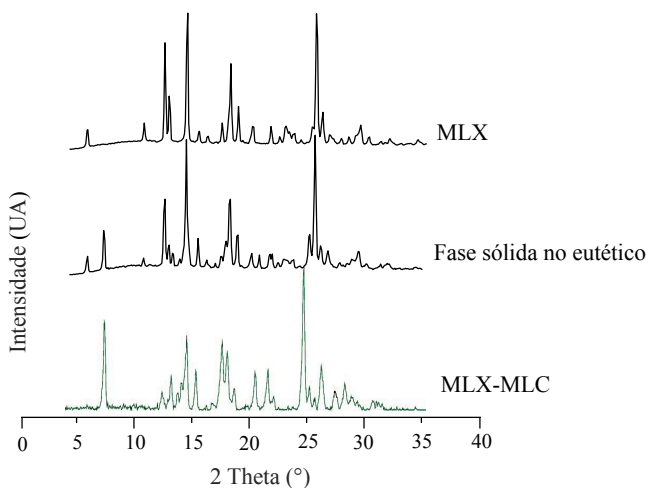
A identificação por DRXP da fase sólida no P_{eu} dos cocrystal MLX-SLC e MLX-MLC foi realizada por meio da análise da presença dos picos de difração característicos de MLX e dos cocrystal nas amostras coletadas. As Figuras 23 e 24 exemplificam como foi realizada esta identificação em um dos experimentos de solubilidade no P_{eu} em água. Conforme demonstrado na Figura 23, foi possível verificar que a amostra presente no P_{eu} constitui-se de MLX e cocrystal MLX-SLC, evidenciada pela presença das reflexões características de cada espécie, como os picos de difração em $6,50^\circ$ referente ao MLX e $9,18^\circ$ referente ao cocrystal MLX-SLC.

Figura 23 - Identificação por DRXP da fase sólida presente no experimento de solubilidade no P_{eu} em água com o cocristal MLX-SLC.



A Figura 24 demonstra a caracterização por DRXP da fase sólida coletada no experimento de solubilidade no P_{eu} em água para o cocristal MLX-MLC. Também foi possível observar picos de difração característicos do MLX em $6,50^\circ$ do cocristal MLX-MLC, em $7,90^\circ$, evidenciando a presença de ambos no P_{eu} .

Figura 24 - Identificação por DRXP da fase sólida presente no experimento de solubilidade no P_{eu} em água com o cocristal MLX-MLC.



A técnica de DSC também permitiu identificar a presença de fármaco e cocristal no P_{eu} . Conforme ilustrado nas Figuras 25 e 26, foi possível a identificação dos eventos de fusão correspondentes ao MLX, em 259°C, e aos cocristais MLX-SLC e MLX-MLC, em 208°C e 195°C, respectivamente.

Figura 25 - Curvas DSC comparando o cocristal MLX-SLC (A) com a fase sólida coletada em um dos experimentos de solubilidade no P_{eu} (B) e com o MLX (C). É possível observar na curva B a presença dos dois eventos de fusão, que correspondem ao cocristal em 208 °C e ao MLX em 259°C.

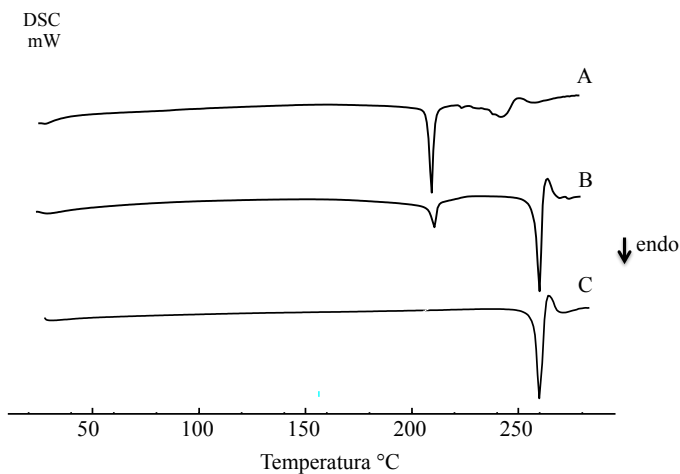
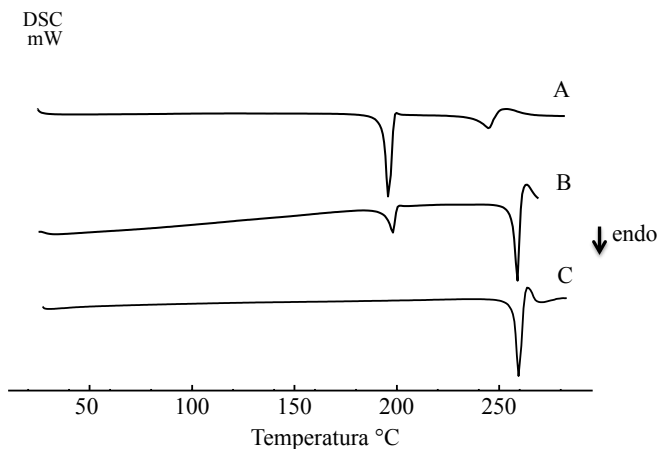


Figura 26 - Curvas DSC comparando o cocristal MLX-MLC (A) com a fase sólida coletada em um dos experimentos de solubilidade no P_{eu} (B) e com o MLX (C). É possível observar na curva B a presença dos dois eventos de fusão, que correspondem ao cocristal em 195°C e ao MLX em 259°C.



As concentrações totais de fármaco e de *coformer* no P_{eu} , quantificadas por CLAE, estão descritas nas Figuras 27 e 28, bem como os valores de K_{eu} para cada experimento. Os valores de pH indicados referem-se àqueles verificados no final do experimento. Nota-se que como os cocristais são formados de *coformers* ácidos carboxílicos, estes ionizam e liberam $[H^+]$, promovendo efeito auto-tamponante, o que leva à diminuição do pH da solução para valores próximos aos valores de pK_a dos *coformers*, tornando, na maioria dos casos, inacessível o experimento em soluções aquosas com pHs mais elevados.

Também com relação aos valores de pK_a dos *coformers*, foi possível observar concentrações maiores de *coformer* em solução com o aumento do pH da solução. No caso do SLC ficou mais evidente o aumento da sua concentração em soluções de pH acima de seu pK_a de 2,97 (Figura 27).

Figura 27 - Concentrações de MLX e SLC obtidas no experimento de solubilidade do cocrystal no P_{eu} , em soluções aquosas, em diferentes pHs. As fases sólidas presentes no P_{eu} , avaliadas por meio de DRXP e DSC, foram MLX-SLC e MLX. A K_{eu} está descrita para cada pH. ($K_{eu} = [coformer]_{eu} / [fármaco]_{eu}$).

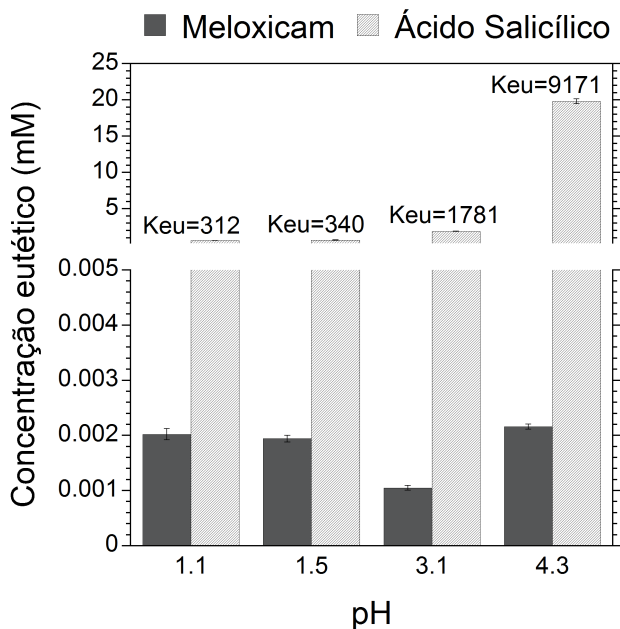
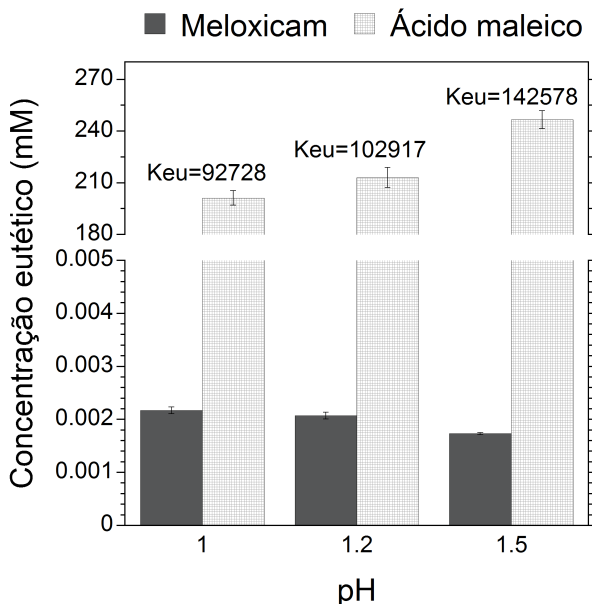


Figura 28 - Concentrações de MLX e MLC obtidas no experimento de solubilidade do cocrystal no P_{eu} , em soluções aquosas, em diferentes pHs. As fases sólidas presentes no P_{eu} , avaliadas por meio de DRXP e DSC, foram MLX-MLC e MLX. A K_{eu} está descrita para cada pH ($K_{eu} = [coformer]_{eu} / [fármaco]_{eu}$).



A K_{eu} é uma constante eutética calculada que representa a razão das atividades de cada componente do cocrystal em solução, no P_{eu} , e é indicativa da estabilidade termodinâmica do cocrystal em relação ao fármaco (GOOD; RODRÍGUEZ-HORNEDO, 2010).

Em uma primeira análise por meio da K_{eu} foi possível verificar que os cocrystalis obtidos apresentam solubilidade maior que a do fármaco, visto que valores de $K_{eu} > 1$ indicam que o cocrystal é a fase metaestável (mais solúvel). A K_{eu} aumentou com o aumento do pH, indicando que os cocrystalis são mais solúveis em pHs mais elevados. Este dado demonstra que excesso de *coformer* em solução será necessário para estabelecer as condições eutéticas, onde o cocrystal é a fase termodinamicamente estável, prevenindo, assim, a conversão para o fármaco.

É importante ressaltar que a solubilidade do MLX no P_{eu} corresponde a mesma S_{MLX} . Por outro lado, as concentrações dos

coformers variam de acordo com a concentração necessária para atingir o P_{eu} (DSF, figura 6, página 46).

As espécies não ionizadas de fármaco e *coformer* no P_{eu} foram calculadas a partir das concentrações das Tabelas 2 e 3, utilizando equações previamente descritas. A partir destas concentrações não ionizadas de fármaco e *coformer* foi calculado o K_{sp} .

Tabela 2 - Concentrações eutéticas ($[MLX]_{eu}$ e $[SLC]_{eu}$) e suas respectivas espécies não ionizadas utilizadas para calcular o K_{sp} . O pH inicial e final da solução está descrito e fase sólida final foi identificada por DRXP e DSC.

pH: inicial - final	$[MLX]_{eu}$ (mM)±DP ^a	$[MLX]_0$ (mM)	$[SLC]_{eu}$ (mM)±DP ^a	$[SLC]_0$ (mM)	K_{sp} (mM ²) ^b
1,1 - 1,1	$2,02 \times 10^{-3} \pm 1,01 \times 10^{-4}$	$1,02 \times 10^{-3}$	$0,63 \pm 0,01$	0,62	$6,31 \times 10^{-04}$
1,3 - 1,5	$1,94 \times 10^{-3} \pm 6,34 \times 10^{-5}$	$1,40 \times 10^{-3}$	$0,66 \pm 0,03$	0,64	$8,91 \times 10^{-04}$
6,3 - 3,1	$1,05 \times 10^{-3} \pm 4,22 \times 10^{-5}$	$9,63 \times 10^{-4}$	$1,87 \pm 0,01$	0,83	$7,99 \times 10^{-04}$
6,8 - 4,3	$2,16 \times 10^{-3} \pm 4,60 \times 10^{-5}$	$9,33 \times 10^{-4}$	$19,81 \pm 0,33$	0,95	$8,82 \times 10^{-04}$
Média K_{sp} :					$8,01 \times 10^{-4}$

^a DP = Desvio Padrão

^b Obtido através da equação (35)

Tabela 3 - Concentrações eutéticas ($[MLX]_{eu}$ e $[MLC]_{eu}$) e suas respectivas espécies não ionizadas utilizadas para calcular o K_{sp} . O pH inicial e final da solução está descrito e fase sólida final foi identificada por DRXP e DSC.

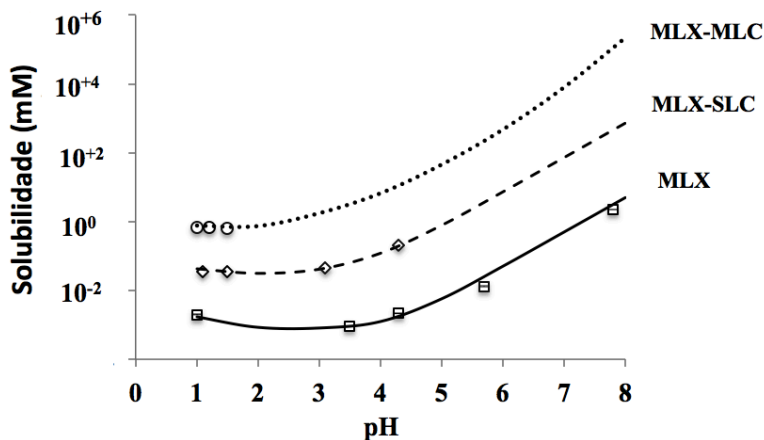
pH: inicia - final	$[MLX]_{eu}$ (mM)±DP ^a	$[MLX]_0$ (mM)	$[MLC]_{eu}$ (mM)±DP ^a	$[MLC]_0$ (mM)	K_{sp} (mM ²) ^b
1,0 - 1,0	$2,17 \times 10^{-3} \pm 6,46 \times 10^{-5}$	$9,73 \times 10^{-4}$	$201,22 \pm 4,22$	180,07	$1,75 \times 10^{-1}$
1,2 - 1,2	$2,07 \times 10^{-3} \pm 6,37 \times 10^{-5}$	$1,16 \times 10^{-3}$	$213,04 \pm 5,83$	179,60	$2,09 \times 10^{-1}$
6,3 - 1,5	$1,74 \times 10^{-03} \pm 2,11 \times 10^{-5}$	$1,12 \times 10^{-3}$	$246,66 \pm 5,22$	179,84	$2,23 \times 10^{-1}$
Média K_{sp} :					$2,02 \times 10^{-1}$

^a DP = Desvio Padrão

^b Obtido através da equação (51)

Uma vez calculado o K_{sp} , as curvas de solubilidade dos cocrystalis podem ser estimadas e comparadas com a curva da $S_{fármaco}$ (Figura 29). A curva de solubilidade do MLX foi construída utilizando a equação (40), enquanto que as curvas de solubilidade dos cocrystalis foram construídas utilizando as equações (45 e 54) aplicando os valores da média do K_{sp} descritos nas Tabelas 2 e 3 ($8,01 \times 10^{-4}$ mM² para MLX-SLC e $2,02 \times 10^{-1}$ mM² para MLX-MLC).

Figura 29 - Diagrama de solubilidade de fases para os cocristais MLX-SLC, MLX-MLC e para o fármaco MLX. Os símbolos representam as solubilidades avaliadas experimentalmente sob condições de equilíbrio, em triplicata.



De acordo com os diagramas de solubilidade de fases exposto é possível observar que as curvas apresentam solubilidade dependente do pH. A curva de predição da solubilidade do MLX apresenta uma discreta forma em U, com solubilidade mais alta próximo do pH 1,0, que decresce e permanece quase constante até valores de pH próximos a 4,0 e a partir deste valor, apresenta um aumento exponencial da solubilidade, decorrente do comportamento zwitteriônico de ionização relacionado aos valores de pK_{a1} 1,09 e pK_{a2} 4,18 (LUGER et al., 1996). Os pontos experimentais de solubilidade do MLX demonstrados pelos símbolos no diagrama estão em concordância com os valores calculados.

Em relação às curvas de solubilidade dos cocristais, a forma da curva permanece a mesma do fármaco, entretanto, estas apresentam um aumento da solubilidade em relação ao fármaco, comportamento decorrente da ionização dos *coformers* que apresentam-se como moléculas ácidas somado ao perfil de ionização do MLX.

Os valores experimentais de solubilidade dos cocristais estão de acordo com os valores calculados através das equações. Diante disso, os modelos aqui apresentados representaram ótimo poder preditivo da solubilidade de cocristais formados por fármaco zwitteriônico e *coformers* ácidos, que além de anteciparem o comportamento destes sistemas em meio aquoso ainda demonstram que a consideração do pH é imprescindível para obtenção de valores de solubilidade destes cocristais.

Conforme observado no diagrama, ambos cocristais apresentam solubilidade maior que o MLX. No pH 1 o cocristal de MLX-SLC apresenta solubilidade 18 vezes maior que o MLX enquanto que o MLC-MLC apresenta solubilidade 305 vezes maior. Estes valores correspondem à SA (*solubility advantage over drug*) que representa a vantagem de solubilização do cocristal em relação ao fármaco ($SA \equiv S_{\text{cocristal}}/S_{\text{fármaco}}$). Para estes cocristais a SA aumenta com o aumento do pH, de modo que o MLX-SLC apresenta-se 18 a 146 vezes mais solúvel que o MLX em uma faixa de pH de 1 a 8 e o MLX-MLC de 305 a 41689 vezes.

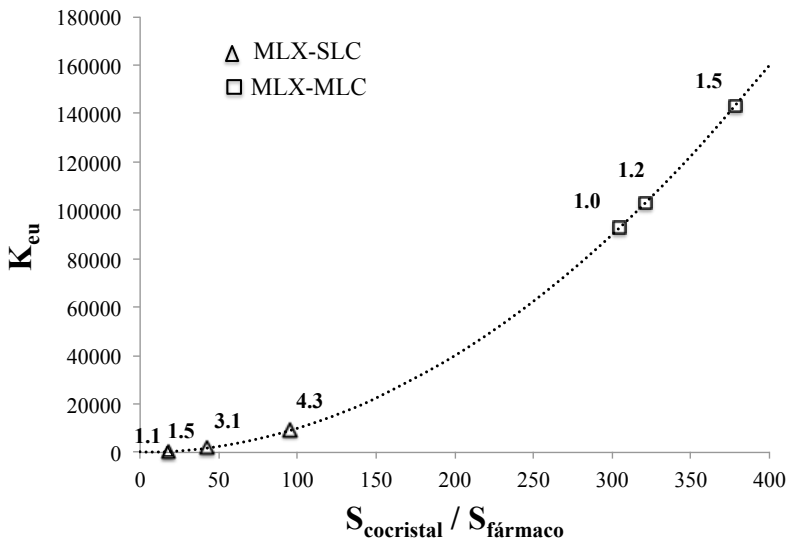
Conhecer esta correlação é extremamente importante, pois ela fornece um índice de estabilidade do cocristal em solução, permitindo conhecer em qual pH o cocristal será mais solúvel e em quais situações deve-se ter cuidado em monitorar possíveis transições de fase (GOOD; RODRÍGUEZ-HORNEDO, 2010).

Outra aplicação da K_{eu} está na correlação com a SA, que para um cocristal 1:1 é obtida por meio de (equação 55):

$$K_{\text{eu}} = \frac{[\text{coformer}]_{\text{eu}}}{[\text{fármaco}]_{\text{eu}}} = \left(\frac{S_{\text{cocristal}}}{S_{\text{fármaco}}} \right)^2 \quad (55)$$

A Figura 30 apresenta esta relação e a influência do pH na K_{eu} . É possível observar que os valores experimentais da dependência do K_{eu} na SA apresentam excelente concordância com os valores preditos. Estes resultados também demonstram que a solubilidade dos cocristais e a SA podem ser moduladas pelo pH da solução.

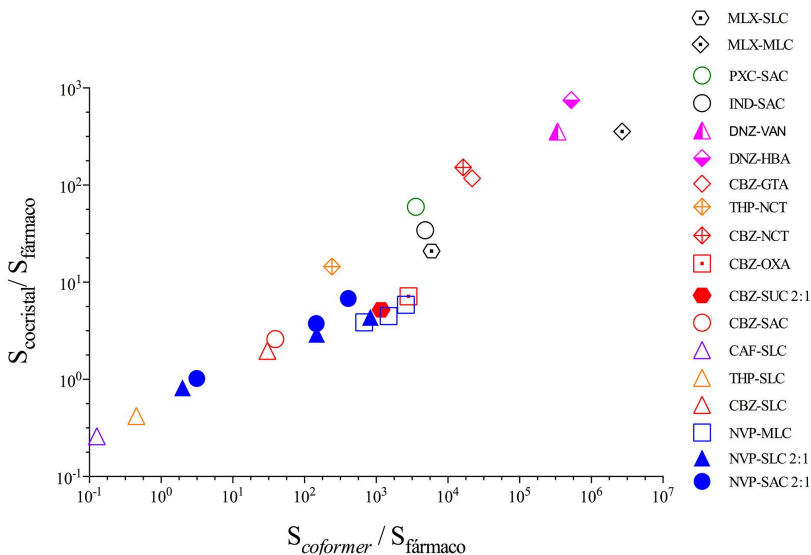
Figura 30 – Dependência do K_{eu} na SA ($S_{cocrystal}/S_{fármaco}$) para os cocristais (1:1): MLX-SLC e MLX-MLC. A linha pontilhada foi predita a partir da equação $K_{eu}=(S_{cocrystal}/S_{fármaco})^2$. Os números próximos aos símbolos representam os valores de pH dos experimentos de solubilidade no P_{eu} .



A relação da SA com a razão $S_{coformer}/S_{fármaco}$ está ilustrada na Figura 31. Este gráfico, bem como a Figura 32 foram elaborados a partir de dados de cocristais obtidos da literatura (KUMINEK et al., 2016). Os pontos experimentais dos cocristais de MLX foram plotados nestes gráficos a fim de observar se os mesmos obedeciam tal comportamento.

A Figura 31 demonstra que a SA parece ser diretamente proporcional à razão $S_{coformer}/S_{fármaco}$ obedecendo a relação estabelecida pela equação (55). Além disto a literatura indica que cocristais formados por *coformers* que sejam pelo menos 10 vezes mais solúveis do que o fármaco terão sua solubilidade aumentada, ou seja, $S_{coformer}/S_{fármaco} > 10$ leva a $S_{cocrystal}/S_{fármaco} > 1$ (GOOD, RODRÍGUEZ-HORNEDO, 2009; KUMINEK et al., 2016).

Figura 31 - Vantagem da solubilidade do cocristal sobre o fármaco ($S_{\text{cocristal}}/S_{\text{fármaco}}$) versus a razão da solubilidade entre *coformer* e fármaco ($S_{\text{coformer}}/S_{\text{fármaco}}$). Os dados experimentais são em solução aquosa em um determinado pH. Meloxicam (MLX), piroxicam (PRX), sacarina (SAC), indometacina (IND), danazol (DNZ), vanilina (VAN), ácido hidróxi-benzóico (HBA), carbamazepina (CBZ), ácido glutárico (GTA), nicotinamida (NCT), teofilina (THP), ácido oxálico (OXA), ácido succínico (SUC), cafeína (CAF), ácido salicílico (SLC), nevirapina (NVP), ácido maleico (MLC).



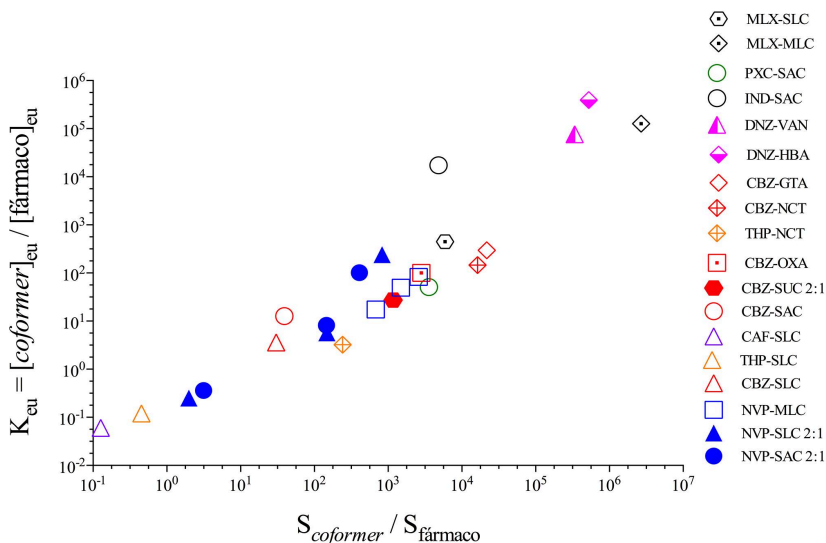
Fonte: Adaptado de Kuminek et al. (2016).

Observou-se, também, que os valores de K_{eu} tendem a ser proporcionais à razão de solubilização do *coformer* em relação ao fármaco (Figura 32). Outro aspecto observado é que cocristais que possuem maior fração molar do componente menos solúvel, apresentarão menor solubilidade e tal resultado pode ser observado para cocristais 2:1 (fármaco:*coformer*) em relação com 1:1 descritos na Figura 31 e 32.

Apesar de alguns autores relatarem pouca correlação entre $S_{\text{cocristal}}$ e S_{coformer} , por meio dos estudos aqui apresentados juntamente com os cocristais demonstrados nas figuras 31 e 32 que apresentam diferentes estequiometrias, ionizações e hidrofobicidade é possível confirmar que a solubilidade dos cocristais está diretamente relacionada à solubilidade dos *coformers* (WEYNA et al., 2012). Também foi

possível observar por meio destes gráficos, que o cocrystal MLX-MLC está entre os cocrystalis que apresentam maior razão $S_{\text{cocrystal}}/S_{\text{fármaco}}$ e maior K_{eu} , evidenciando, mais uma vez, a alta solubilidade deste cocrystal.

Figura 32 – Relação entre K_{eu} e $S_{\text{cocrystal}}/S_{\text{fármaco}}$ para cocrystalis em solução aquosa em um determinado pH. Meloxicam (MLX), piroxicam (PRX), sacarina (SAC), indometacina (IND), danazol (DNZ), vanilina (VAN), ácido hidróxi-benzóico (HBA), carbamazepina (CBZ), ácido glutárico (GTA), nicotinamida (NCT), teofilina (THP), ácido oxálico (OXA), ácido succínico (SUC), cafeína (CAF), ácido salicílico (SLC), nevirapina (NVP), ácido maleico (MLC).



Fonte: Adaptado de Kuminek et al. (2016).

4.4 CONCLUSÕES

Neste capítulo foram desenvolvidas equações matemáticas de predição da solubilidade de cocrystalis formados por fármaco zwitteriônico e *coformers* ácidos. Estes modelos estão baseados nas constantes de ionização relacionadas a cada componente e no K_{sp} , obtidos por meio dos experimentos eutéticos. As solubilidades do fármaco e dos cocrystalis foram obtidas por meio de experimentos em equilíbrio no P_{eu} . Os resultados encontrados permitiram as seguintes conclusões:

(1) as técnicas de caracterização no estado sólido - DRXP e DSC - permitiram determinar, com segurança, a presença de fármaco e de cocristal no P_{eu} ; (2) a solubilidade dos cocristais foi acessada através de um simples experimento, sem a necessidade de grandes volumes de amostra e de solução; (3) as concentrações eutéticas e a K_{eu} obtidas representaram importantes indicadores da solubilidade e estabilidade dos cocristais e proporcionam informações úteis na seleção de cocristais; (4) a solubilidade dos cocristais e do MLX aumenta com o aumento do pH; (5) os cocristais apresentam-se mais solúveis e menos estáveis que o fármaco em toda faixa de pH demonstrada; (6) a solubilidade dos cocristais está relacionada com a solubilidade do *coformer*, visto que quanto maior a razão $S_{coformer}/S_{farmaco}$ maior será a solubilidade do cocristal em relação ao fármaco; (7) os modelos matemáticos baseados na dissociação do cocristal, seguida da ionização dos seus componentes, demonstraram ótimo poder preditivo, verificado através da comparação entre os valores calculados e experimentais.

CAPÍTULO IV

IMPACTO DOS AGENTES SOLUBILIZANTES NA SOLUBILIDADE E ESTABILIDADE DOS COCRISTAIS DE MELOXICAM

5 IMPACTO DOS AGENTES SOLUBILIZANTES NA SOLUBILIDADE E ESTABILIDADE DOS COCRISTAIS DE MELOXICAM

5.1 INTRODUÇÃO

Os cocristais podem apresentar solubilidades diferentes em relação ao fármaco constituinte e esta propriedade está diretamente relacionada às interações moleculares de ambos os componentes do cocrystal em solução. À medida que o cocrystal dissolve, seus componentes dissociam-se e podem interagir com a solução por diferentes processos moleculares, incluindo complexação, ionização e solubilização micelar (ROY; LIPERT; RODRÍGUEZ-HORNEDO, 2012).

Agentes solubilizantes, tais como surfactantes, polímeros, lipídios, entre outros, são utilizados há muito tempo com finalidade de solubilizar e aumentar a molhabilidade de fármacos pouco solúveis durante ensaios de dissolução, além de conferir estabilidade às formulações farmacêuticas metaestáveis (WILLIAMS; PHILLIPS; MYSELS, 1955). Também encontram-se na literatura diversos estudos que descrevem, por meio de modelos matemáticos de equilíbrio químico, a solubilização micelar de fármacos ionizáveis na presença de agentes solubilizantes, como o lauril sulfato de sódio (LSS) e o polissorbat 80 (Tween[®]) (GRBIC et al., 2009; JINNO et al., 2000; SHENG et al., 2006).

Os estudos envolvendo solubilização micelar com cocristais são recentes, porém eles têm sido apontados como uma ferramenta importante de investigação. Estudos demonstraram que aditivos micelares com diferentes capacidades de solubilização dos constituintes do cocrystal podem influenciar significativamente a estabilidade termodinâmica dos cocristais. Dependendo da natureza e concentração do aditivo utilizado, o cocrystal pode ter sua solubilidade diminuída em relação ao fármaco. O ponto onde ocorre uma intersecção das curvas de solubilidade do fármaco e do cocrystal em função da concentração de agente solubilizante, a partir de onde ocorre inversão de solubilidade, é conhecido como ponto de transição (ALHALAWEH; ALI; VELAGA, 2014; HUANG; RODRÍGUEZ-HORNEDO, 2010; 2011a; LIPERT et al., 2015; REMENAR, et al., 2007). Dados recentes da literatura demonstram que este ponto de transição é caracterizado por um valor de solubilidade e de concentração do agente solubilizante. O ponto em que a solubilidade do fármaco e do cocrystal são iguais na presença de um

agente solubilizante é definido como S^* , e a concentração de agente solubilizante neste ponto é chamada de concentração de estabilização crítica (CSC) (LIPERT et al., 2015).

A CSC obedece ao mecanismo da solubilização preferencial e é diretamente proporcional à solubilidade do cocristal, ou seja, quanto maior a solubilidade aquosa de um cocristal, maior será o valor de S^* e de CSC (ROY; LIPERT; RODRÍGUEZ-HORNEDO, 2012).

A relevância destes estudos está no fato que a utilização de agentes solubilizantes em meios de dissolução e como parte de formulações farmacêuticas são extremamente comuns e além disto foi evidenciado que estes aditivos micelares influenciam significativamente o comportamento do cocristal em solução (ROY, 2013).

Diante disso, a proposta deste capítulo foi desenvolver modelos matemáticos de predição da solubilidade do MLX e dos cocristais, baseados na dissociação do cocristal e na ionização de seus constituintes em meio contendo aditivo micelar. Também foi explorado a influência da utilização de agentes solubilizantes na solubilidade dos cocristais, bem como a identificação de pontos de transição na presença destes agentes.

5.2 METODOLOGIA

5.2.1 Materiais

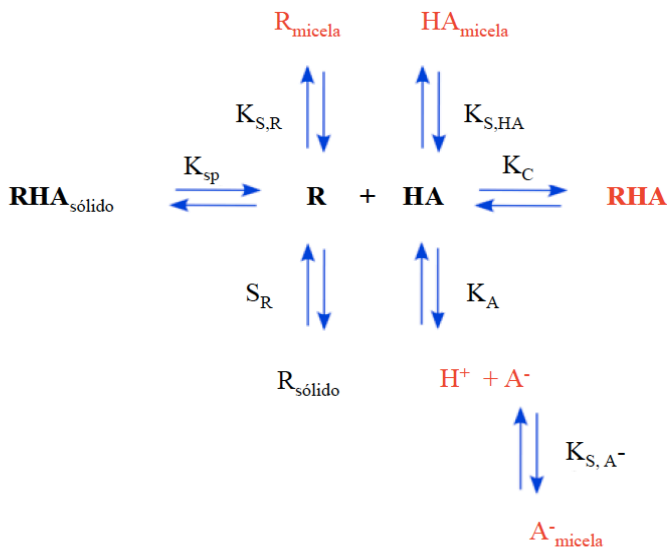
Os seguintes agentes solubilizantes foram utilizados no desenvolvimento deste trabalho: Kolliphor[®]P188, Tween[®]80, Cremophor[®]RH40, LSS e Soluplus[®] (Tabela 4). Foram utilizados também reagentes (ácidos, bases, solventes e sais) de grau analítico e grau cromatográfico. A água ultrapura foi obtida a partir de sistema de gradiente Milli-Q (Millipore, Bedford, Estados Unidos).

5.2.2 Métodos

5.2.2.1 Modelos matemáticos de predição da solubilização micelar do MLX e dos cocristais

Os modelos matemáticos de predição da solubilização micelar do MLX e dos cocristais compostos de fármaco zwitteriônico e *coformers* ácidos foram desenvolvidos baseados no equilíbrio químico descrito na Figura 33 considerando as espécies referentes ao MLX descritas no Capítulo III, equação (36).

Figura 33 - Equilíbrio químico para um cocristal RHA de um fármaco não ionizável (R) e um *coformer* ácido (HA) em solução micelar.



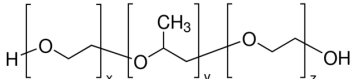
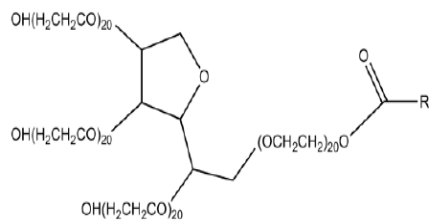
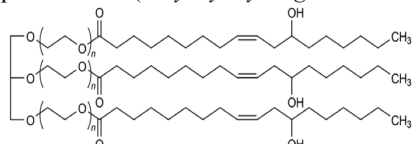
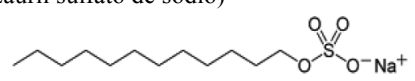
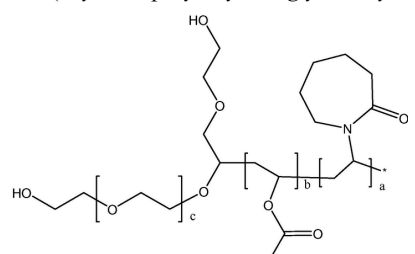
Adaptado de Roy, Lipert e Rodríguez-Hornedo, 2012.

Para a elaboração das curvas de predição da solubilização micelar a partir das equações derivadas foi utilizado o software Wolfram Mathematica[®] 10. A metodologia utilizada para a adaptação das equações neste software foi baseada no livro *Enzyme Kinetics* (ALBERTY, 2011).

5.2.2.2 Solubilização micelar do MLX

Para os estudos de solubilização micelar com os cocristais, primeiramente foi avaliada a solubilização micelar do MLX frente aos aditivos relatados na Tabela 4, a fim de selecionar aquele que apresentou melhores resultados de solubilização.

Tabela 4 - Agentes solubilizantes utilizados para avaliar a solubilização micelar do MLX.

Agente solubilizante	CMC (%)	Fabricante / Lote
Kolliphor [®] P188 (<i>Polyoxyethylene-polyoxypropylene copolymer</i>) 	^a 0,36 - 0,45	BASF/ WPW1625C
Tween [®] 80 (<i>Polyoxyethylene sorbitan monooleate</i>) 	^b 0,0013	Oxiteno / 110916M4751
Cremophor [®] RH40 (<i>Polyoxyl hydrogenated castor oil</i>) 	^c 0,02	BASF/ 44236888Q0
LSS (<i>Lauril sulfato de sódio</i>) 	^d 0,24	Dinâmica / 53327
Soluplus [®] (<i>Glycerol polyethylene glycol oxystearate</i>) 	^e 0,00076	BASF/ 23597797V0

^a BASF, 2011.^b CHATTERJEE et al., 2001; ULLAH; BALOCH; DURRANI, 2011.^c BASF, 2011.^d WILLIAMS; PHILLIPS; MYSELS, 1955; ROWE; SHESKEY; QUINN, 2009.^e BASF, 2010.

Para a realização dos estudos de solubilização micelar elegeu-se o pH 1,0 (HCl 0,1 M) como pH de trabalho. Esta escolha foi realizada levando em consideração o fato de que os cocristais de MLX são menos solúveis neste pH, possibilitando melhor avaliação dos pontos de transição através de menores concentrações de agentes solubilizantes, visto que quanto maior a solubilidade do cocrystal, maior o CSC. Outro motivo da escolha é que este pH refere-se à primeira ionização do MLX quando em contato com o fluido gástrico, o qual apresenta valores de pH típicos médios entre 1 e 2 (MUDIE; AMIDON; AMIDON, 2010).

A S_{MLX} micelar foi determinada a partir da adição de excesso de fármaco em soluções de HCl 0,1 M contendo 0,5% (m/v) de cada agente solubilizante, com exceção de Kolliphor[®]P188, o qual foi utilizado 1,0 % (m/v), de modo que estas concentrações ficassem acima da CMC, a qual está descrita na Tabela 4. Em seguida as suspensões foram mantidas sob agitação magnética em banho termostatizado à temperatura de $25 \pm 0,2^\circ\text{C}$ até atingirem o equilíbrio. Em intervalos de 24 horas o pH foi verificado e alíquotas de 5 mL foram coletadas e filtradas em filtros de poliamida 0,45 μm . A fase líquida foi analisada por CLAE e a fase sólida foi verificada por DRXP para garantir que não houve transição de fase durante o ensaio. Os experimentos foram realizados em triplicata. As metodologias de CLAE encontram-se descritas no Apêndice I e DRXP no Capítulo II.

5.2.2.3 Determinação da $K_{s,MLX}$

Para a construção das curvas de predição da solubilização micelar do MLX e dos cocristais em meio contendo LSS foi necessário, primeiramente, obter a $K_{s,MLX}$ em função de diferentes concentrações de LSS.

Excesso de MLX sólido foi adicionado a diferentes soluções de HCl 0,1 M contendo LSS nas concentrações de 17 mM a 69 mM (0,5% a 2,0 % m/v), valores acima da CMC. Em seguida as suspensões foram mantidas sob agitação magnética, em banho termostatizado, à temperatura de $25 \pm 0,2^\circ\text{C}$ até atingirem o equilíbrio. Em intervalos de 24 horas o pH foi verificado e alíquotas de 5 mL foram coletadas e filtradas em filtros de poliamida 0,45 μm . A fase líquida foi analisada por CLAE e a fase sólida foi verificada por DRXP para garantir que não houve transição de fase durante o ensaio. As metodologias de CLAE encontram-se descritas no Apêndice I e DRXP no Capítulo II.

O K_s foi calculado por meio da regressão linear das S_{MLX} em função das diferentes concentrações de LSS e também pela equação

(56). A metodologia para determinação do K_S encontra-se descrita por Huang (2011).

$$S_{MLX,T} = S_{aq,0} \left(1 + K_S^{HABH^+} \frac{[H^+]}{K_{a,1}^{-} ABH^+} [M] \right) \quad (56)$$

$S_{MLX,T}$ refere-se à solubilidade total do MLX, S_0 é a solubilidade intrínseca do MLX em meio aquoso sem agente solubilizante, $[M]$ é a concentração micelar de surfactante calculada através da concentração total de agente solubilizante utilizado menos a CMC ($[agente\ solubilizante]_T - CMC$). Assume-se que a CMC para LSS seja constante, e, neste trabalho, será utilizado o valor relatado de 8 mM^{-1} (WILLIAMS; PHILLIPS; MYSELS, 1955; ROWE; SHESKEY; QUINN, 2009).

5.2.2.4 Medida da solubilidade dos cocristais na presença de LSS

O P_{eu} entre cocrystal, fármaco e solução foi acessado por meio da adição de excesso de cocrystal ($\sim 1\text{ g}$) e de MLX ($\sim 250\text{ mg}$) em 15 mL de HCl 0,1 M contendo diferentes concentrações de agente solubilizante. Em seguida essas suspensões foram mantidas sob agitação magnética a $25 \pm 0,2\text{ }^\circ\text{C}$, utilizando um banho termostatizado para controle da temperatura. Em intervalos de 24 horas, uma alíquota de 5 mL foi coletada e filtrada em membrana de poliamida $0,45\mu\text{m}$, e as concentrações de MLX e *coformer* analisadas por CLAE. O pH também foi verificado e a fase sólida coletada e analisada por DRXP e DSC para assegurar que o sistema encontrava-se no P_{eu} (confirmado através da presença de cocrystal e MLX sólido). Este procedimento foi realizado a cada 24 horas até que o sistema alcançasse o equilíbrio. Os experimentos foram realizados em triplicata.

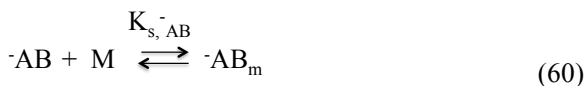
A solubilidade estequiométrica dos cocristais na presença de LSS foi calculada a partir da equação:

$$S_{cocrystal\ (1:1)} = \sqrt{[fármaco]_{eu} [coformer]_{eu}} \quad (57)$$

5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.3.1 Equações que descrevem a solubilização micelar do fármaco e dos cocristais

Para simplificar o desenvolvimento dos modelos matemáticos de solubilização micelar, assume-se que a complexação dos componentes do cocrystal em solução seja insignificante, e por isso é desconsiderada. Dessa forma as expressões envolvidas no equilíbrio químico do MLX em solução micelar são representadas pelas equações 58 a 60:



As constantes relacionadas ao equilíbrio químico em solução micelar descrito pelas equações (58), (59) e (60) são:

$$K_{s}^{\text{}^{-}\text{ABH}^{+}} = \frac{[\text{}^{-}\text{ABH}^{+}]_{\text{m}}}{[\text{}^{-}\text{ABH}^{+}]_{\text{aq}} [\text{M}]} \quad (61)$$

$$K_{s}^{\text{HABH}^{+}} = \frac{[\text{HABH}^{+}]_{\text{m}}}{[\text{HABH}^{+}]_{\text{aq}} [\text{M}]} \quad (62)$$

$$K_{s}^{\text{}^{-}\text{AB}} = \frac{[\text{}^{-}\text{AB}]_{\text{m}}}{[\text{}^{-}\text{AB}]_{\text{aq}} [\text{M}]} \quad (63)$$

Considerando o equilíbrio químico em solução aquosa (equação 36) somado ao equilíbrio químico em meio micelar (equações 58 a 60), a concentração total ou analítica do MLX em meio micelar pode ser dada a partir da soma das seguintes espécies em solução:

$$[\text{MLX}]_{\text{T}} = [\text{}^{-}\text{ABH}^{+}]_{\text{aq}} + [\text{HABH}^{+}]_{\text{aq}} + [\text{}^{-}\text{AB}]_{\text{aq}} + [\text{}^{-}\text{ABH}^{+}]_{\text{m}} + [\text{HABH}^{+}]_{\text{m}} + [\text{}^{-}\text{AB}]_{\text{m}}$$

Substituindo as constantes (37), (38), (61), (62) e (63) nas respectivas espécies, obtém-se a equação de solubilização micelar total do MLX (equação 64):

$$S_T^{MLX} = S_0 \left(1 + \frac{[H^+]}{K_{a,1}^- ABH^+} + \frac{K_{a,2}^- ABH^+}{[H^+]} + K_S^- ABH^+ [M] + K_S^{HABH^+} \frac{[H^+]}{K_{a,1}^- ABH^+} [M] + K_S^- AB \frac{K_{a,2}^- ABH^+}{[H^+]} [M] \right) \quad (64)$$

A equação 64 foi então utilizada para simular curvas da solubilização micelar do MLX com o objetivo de prever o comportamento de solubilização micelar do MLX no pH 1,0, visto que este foi o pH escolhido para os estudos. Observou-se que em solução de pH 1,0 a ionização correspondente ao $pK_{a,2}$ do MLX não exercia efeito significativo nas curvas de predição, podendo ser desconsiderada no decorrer deste trabalho.

A equação de solubilidade do MLX na presença de micelas pôde então ser simplificada considerando somente a ionização do $pK_{a,1}$ e, desse modo, somente o valor de $K_{s,HABH^+}$ foi aplicado.

Dessa forma a solubilidade do MLX em solução micelar de pH 1,0 pode ser expressa pela equação 65:

$$S_{MLX,T} = S_{aq,0} \left(1 + K_S^{HABH^+} \frac{[H^+]}{K_{a,1}^- ABH^+} [M] \right) \quad (65)$$

O equilíbrio químico e as constantes associadas à solubilização micelar de *coformer* do tipo ácido monoprotico HA, como o SLC, encontram-se descritas no Capítulo II, item 2.4.2.1.

Trabalhos relatados na literatura com cocristais de SLC descrevem que este *coformer* apresenta solubilização micelar, com valores de K_s variando de 0,018 a 0,06 mM^{-1} , o qual será considerado nestes modelos matemáticos (HUANG; RÓDRÍGUEZ-HORNEDO, 2010; 2011a).

Desse modo, considerando a metodologia apresentada para derivar as equações em meio aquoso (Capítulo III 4.3.1) somado ao equilíbrio químico das espécies em meio micelar, a equação de solubilidade estequiométrica do cocristal MLX-SLC 1:1 (ABH^+HA) em solução micelar de pH 1,0 pode ser dada pela equação 66:

$$S_{cc} = \sqrt{K_{sp} \left(1 + K_S^{HABH^+} \frac{[H^+]}{K_{a,1}^{-ABH^+}} [M] \right) \left(1 + \frac{K_{a,1}^{HA}}{[H^+]} + K_S^{HA} [M] \right)} \quad (66)$$

Já para o cocrystal MLX-MLC, onde somente o MLX é solubilizado por micelas, ou seja $K_{s,MLC} = 0$, a equação de solubilidade para $(-ABH^+H_2A)$ 1:1 em uma solução micelar de pH 1,0, sob condições estequiométricas pode ser dada pela equação 67:

$$S_{cc} = \sqrt{K_{sp} \left(1 + K_S^{HABH^+} \frac{[H^+]}{K_{a,1}^{-ABH^+}} [M] \right) \left(1 + \frac{K_{a,1}^{H_2A}}{[H^+]} + \frac{K_{a,1}^{H_2A} K_{a,2}^{H_2A}}{[H^+]^2} \right)} \quad (67)$$

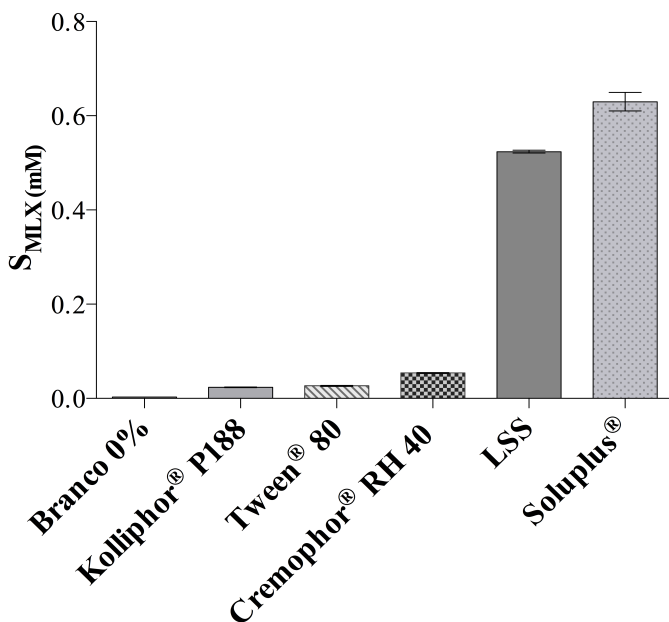
$S_{cc,T}$ representa a soma das solubilidades do cocrystal em meio aquoso e em meio micelar. A partir destas equações nota-se que a solubilidade do MLX aumenta linearmente em soluções de LSS acima do CMC e a solubilidade dos cocristais, em contraste, apresenta-se não linear em respeito à concentração de surfactante, pois os componentes do cocrystal são diferentemente solubilizados pelo aditivo micelar. Este comportamento não linear é dependente da magnitude de $K_{s,coformer}$ e $K_{s,fármaco}$. Consequentemente, a estabilidade termodinâmica do cocrystal em relação ao fármaco é dependente da concentração micelar.

Estas equações derivadas auxiliam na determinação do ponto de transição (S^*), e da CSC. Em concentrações acima do CSC, o cocrystal passa a ser a fase termodinamicamente estável em relação ao fármaco. Desse modo, o mesmo pode persistir em solução sem que ocorra transição de fase.

5.3.1 Solubilização micelar do MLX

Os resultados de S_{MLX} na presença dos agentes solubilizantes testados encontram-se ilustrados na Figura 34. A concentração utilizada de cada agente solubilizante em solução de HCl 0,1M foi 0,5% (m/v) com exceção de Kolliphor[®], utilizado na concentração de 1,0 % (m/v).

Figura 34 - S_{MLX} em soluções de HCl 0,1 M contendo os agentes solubilizantes descritos. pH final das soluções em equilíbrio = 1,0.



A figura 34 apresenta a solubilização micelar do MLX nos diversos aditivos utilizados, em comparação com a solução de HCl 0,1M (sem aditivo/branco 0%). A partir destes resultados, foi definido prosseguir os estudos de solubilização micelar com o agente solubilizantes LSS, pois além de ter apresentado bons resultados de solubilização do MLX, o mesmo é amplamente utilizado em ensaios de dissolução e em formulações.

5.3.1.2 $K_{s,MLX}$

Os resultados da S_{MLX} em diferentes concentrações de LSS em solução de pH 1,0 estão descritos na Tabela 5.

Tabela 5 - S_{MLX} na presença de diferentes concentrações de LSS em solução de HCl 0,1 M utilizadas para obtenção da K_s , pH final da solução = 1,0.

LSS (mM)	S_{MLX} (mM) (\pm DP)
0	0,002 (\pm 0,00003)
17	0,373 (\pm 0,004)
35	0,882 (\pm 0,003)
52	1,378 (\pm 0,002)
69	1,775 (\pm 0,065)

A partir dos resultados apresentados na Tabela 5, o $K_{s,MLX}$ foi calculado de duas maneiras:

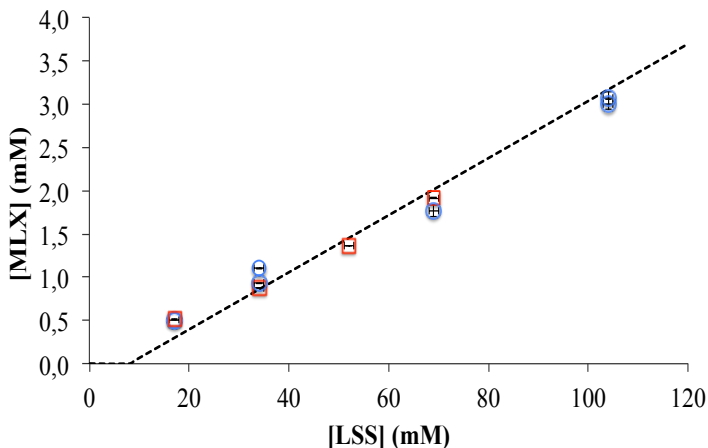
- 1) Através da regressão linear das solubilidades descritas na Tabela 5 em função das concentrações de LSS, resultando em valor de $K_{s,MLX} = 14,5 \text{ mM}^{-1}$.
- 2) Através da equação (56), resultando em valor de $K_{s,MLX} = 17,0 \text{ mM}^{-1}$.

Foi observado boa concordância entre os valores de K_s calculados pelas duas maneiras.

Uma vez determinado o $K_{s,MLX}$, foi possível obter a curva de solubilidade do MLX na presença de diferentes concentrações de LSS. A figura 35 demonstra o aumento linear da solubilidade do MLX em relação à concentração de LSS em pH 1,0. Os valores de solubilidade experimentais apresentam excelente concordância com o predito pela curva.

Ainda, é possível observar que a solubilidade do MLX não é afetada pela presença de *coformer* em solução, visto que os pontos experimentais referentes a $[MLX]_{eu}$ (símbolo azul) estão muito próximos daqueles referentes à S_{MLX} (símbolo vermelho).

Figura 35 – Solubilidade do MLX em função da concentração de LSS. Os símbolos representam dados experimentais obtidos a partir das medidas de solubilidade do MLX na ausência de *coformer* (vermelho) e no P_{eu} (azul). A curva foi calculada a partir da equação (65) utilizando os valores $S_{MLX,aq0} = 0,000751$ mM, $K_{s,MLX} = 17,0$ mM⁻¹, $CMC_{LSS} = 8,0$ mM⁻¹.



5.3.2 Solubilidade dos cocristais na presença de LSS e determinação dos pontos de transição

Predições de solubilização micelar dos cocristais MLX-SLC e MLX-MLC foram realizadas com base nas equações (65), (66) e (67), considerando solução de pH 1,0 e a presença de LSS em diferentes concentrações (Figuras 36 e 37). Considera-se importante conhecer o comportamento dos cocristais frente a agentes solubilizantes, como o LSS, visto que este surfactante aniônico é frequentemente utilizado em ensaios de dissolução e em formulações farmacêuticas (HUANG, 2011; WILLIAMS; PHILLIPS; MYSELS, 1955; ROWE; SHESKEY; QUINN, 2009).

A partir destas curvas de predição foi possível prever os pontos de transição para o cocristal (S^*) bem como as concentrações de LSS necessárias para estabilizar o cocristal sem que a SA seja desperdiçada.

Figura 36 – Curvas de predição da solubilização micelar do cocrystal MLX-SLC e do MLX *versus* a concentração micelar de LSS [M] em solução de pH 1,0. O ponto de transição é caracterizado por (S^*) e pela concentração de agente solubilizante (CSC). As curvas foram elaboradas a partir das equações (65) e (66).

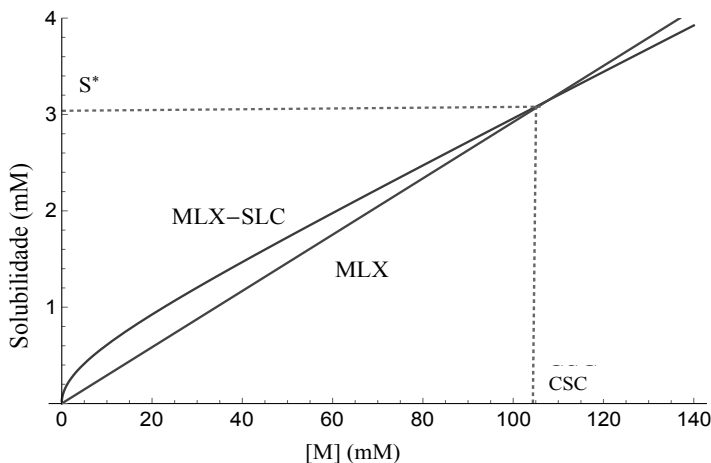
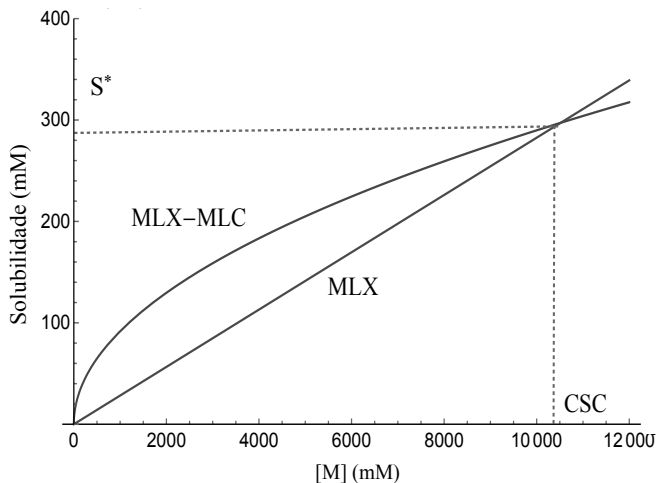


Figura 37 – Curvas de predição da solubilização micelar do cocrystal MLX-MLC e do MLX *versus* a concentração micelar de LSS [M] em solução de pH 1,0. O ponto de transição é caracterizado por (S^*) e pela concentração de agente solubilizante (CSC). As curvas foram elaboradas a partir das equações (65) e (67).



O S^* foi determinado a partir dos resultados experimentais de solubilidade dos cocristais em meio aquoso apresentados no capítulo III, utilizando a equação 68:

$$S^* = \frac{(S_{\text{cocrystal,aq}})^2}{S_{\text{fármaco,aq}}} \quad (68)$$

Através da aplicação da equação (68) nos valores de solubilidade aquosa do cocrystal MLX-MLC e do MLX no pH 1,0, obteve-se o valor de S^* de 220 mM. Diante destas predições e cálculos foi observado que para este cocrystal seriam necessárias quantidades muito grandes de LSS para alcançar o ponto de transição previsto. Desse modo o que pode ser apontado é que o ponto de transição para este cocrystal encontra-se em um valor de CSC inacessível experimentalmente.

O MLX-MLC é um cocrystal altamente solúvel, com SA de aproximadamente 305 vezes em solução aquosa de pH 1,0. É evidente que as concentrações necessárias para estabilizar os cocristais, ou seja, induzir pontos de transição, estão diretamente relacionadas com a $S_{\text{cocrystal}}$. Quanto maior a $S_{\text{cocrystal,aq}}$ maior a CSC necessária para induzir os pontos de transição.

Para o cálculo do S^* do cocrystal MLX-SLC foi considerado o ϵ devido à solubilização micelar do SLC. Para isto foram utilizados os valores de $K_{s,SLC} = 0,06\text{mM}^{-1}$ e $\text{CMC} = 8\text{mM}^{-1}$ (Tabela 6).

Tabela 6 - Valores de ϵ e de S^* calculado para MLC-SLC.

CSC (mM) ^a	ϵ^b (mM)	S^{*c} (mM)	S^{*o} observado ^d (mM)
104	6,70	4,20	3,09

^a Valor de CSC determinado através das curvas de predição apresentadas na Figura 36.

^b Calculado pela equação: $\epsilon = \frac{\left(1 + \frac{K_{a,coformer}}{[H^+]} + K_{s,coformer} [M]\right)}{\left(1 + \frac{K_{a,coformer}}{[H^+]}\right)}$

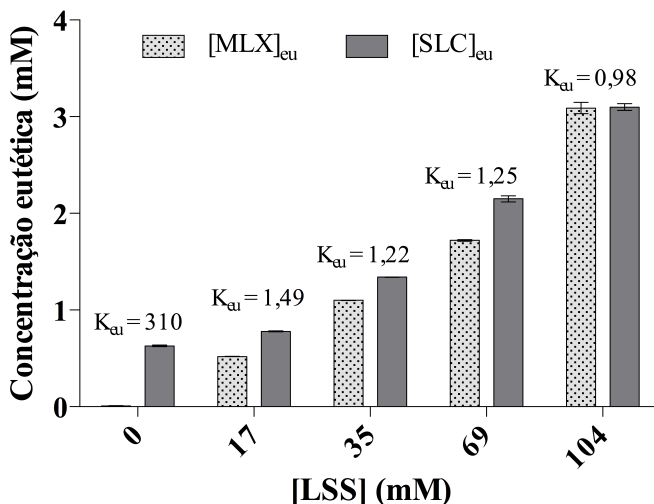
^c Calculado pela equação: $S^* = \epsilon \frac{(S_{\text{cocrystal,aq}})^2}{S_{\text{fármaco,aq}}}$

^d Obtido experimentalmente por meio da solubilidade do cocrystal no ponto eutético ($S^* = S_{\text{cocrystal}} = S_{\text{MLX}}$) (Figura 39).

As concentrações eutéticas obtidas no experimento de solubilidade do cocrystal MLX-SLC no ponto eutético na presença de LSS encontram-se descritos na Figura 38. A fase sólida em equilíbrio

com a solução neste experimento é constituída de MLX-SLC e MLX, determinadas por DRXP. Vale ressaltar que o pH final do experimento manteve-se em 1,0.

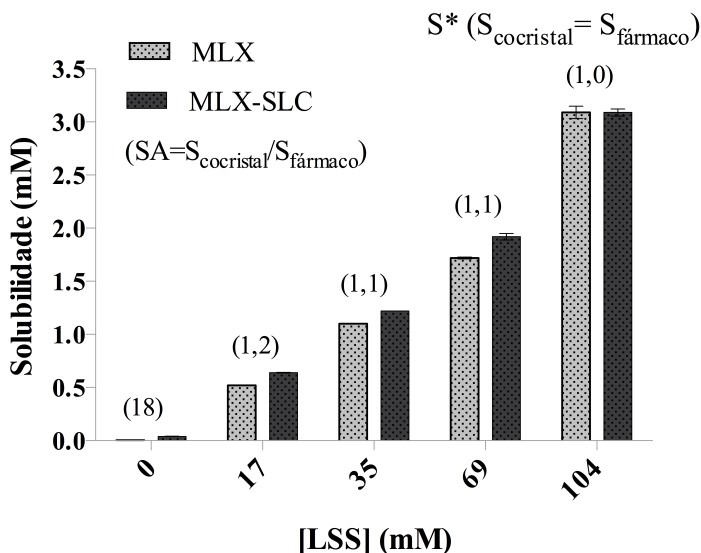
Figura 38 - Concentrações eutéticas de MLX e SLC na presença de diferentes concentrações de LSS. pH final das soluções em equilíbrio = 1,0.



Foi possível observar que as concentrações de MLX e SLC aumentam com o aumento de LSS em solução. A concentração de SLC foi muito maior que MLX na ausência de LSS, indicando que o cocrystal requer grande quantidade de *coformer* em solução para que ocorra o equilíbrio entre cocrystal e MLX. No entanto a razão $[SLC]_{eu}/[MLX]_{eu}$ começou a diminuir com o aumento de LSS em solução. Este efeito, assim como a diminuição da SA, está relacionado ao conceito da solubilização preferencial do fármaco.

A Figura 36 permite observar o ponto referente ao S^* e a concentração de LSS neste ponto, chamada de CSC, neste caso 104 mM. No S^* a solubilidade do MLX é igual à do cocrystal, e acima desse ponto, o cocrystal perde a vantagem de solubilização em relação ao MLX, ou seja, em concentrações acima de 104 mM de LSS, o cocrystal é termodinamicamente estável em relação ao fármaco, portanto menos solúvel.

Figura 39 - S_{MLX} e $S_{cocrystal}$ na presença de diferentes concentrações de LSS. $S_{cocrystal}$ foi calculado através da equação (57). pH final das soluções em equilíbrio = 1,0.



O S^* é um parâmetro calculado que está relacionado ao ponto de transição determinado pelas curvas de predição elaboradas. Diante da observação e comparação dos valores preditos com os experimentais, o ponto de transição para MLX-SLC apresenta S^* de aproximadamente 3,0 mM e CSC de 104 mM (LSS), pois os valores de $S_{cocrystal}/S_{fármaco}$ nesta concentração de LSS são muito próximos de 1,0.

Dados da literatura semelhante a estes foram encontrados para cocrystal de carbamazepina-ácido salicílico, o qual apresentou redução dos valores de K_{eu} de 4,75 em água para 0,56 em 35 mM de LSS, evidenciando que o cocrystal instável em água tornou-se estável em solução com adição de LSS (HUANG; RODRÍGUEZ-HORNEDO, 2010).

As concentrações eutéticas obtidas no experimento de solubilidade do cocrystal MLX-MLC no ponto eutético, na presença de LSS, encontram-se descritos na Figura 40. A fase sólida em equilíbrio com a solução neste experimento é constituída de MLX-MLC e MLX, determinadas por DRXP. O pH final do experimento permaneceu em 1,0.

Foi possível observar que a K_{eu} diminui consideravelmente na presença de LSS assim como a SA (Figuras 40 e 41). Estes resultados corroboram com o conceito de solubilização preferencial do cocrystal, evidenciada a partir da sua solubilização não linear. No caso deste cocrystal, não foi possível atingir experimentalmente o ponto de transição, pois grandes quantidades de LSS seriam necessárias de acordo com a curva de predição apresentada (Figura 37).

Figura 40 - Concentrações eutéticas de MLX e MLC na presença de diferentes concentrações de LSS. pH final das soluções em equilíbrio = 1,0.

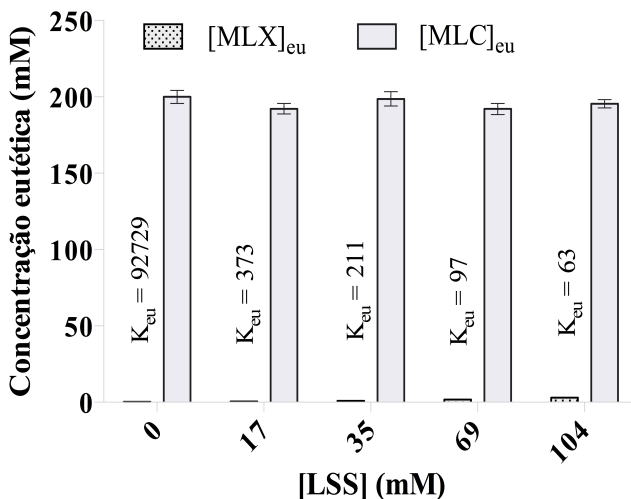
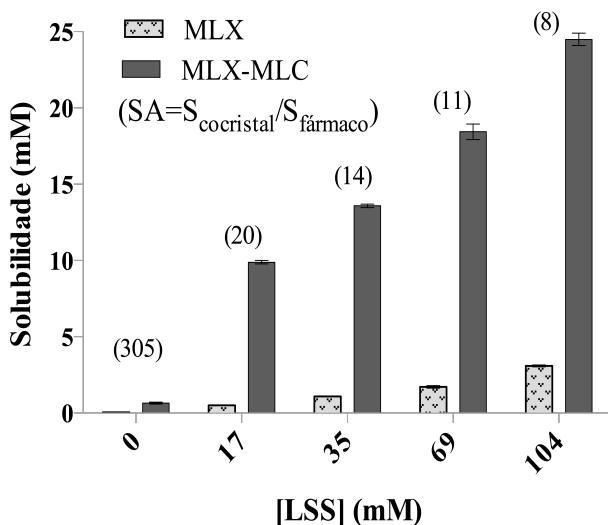
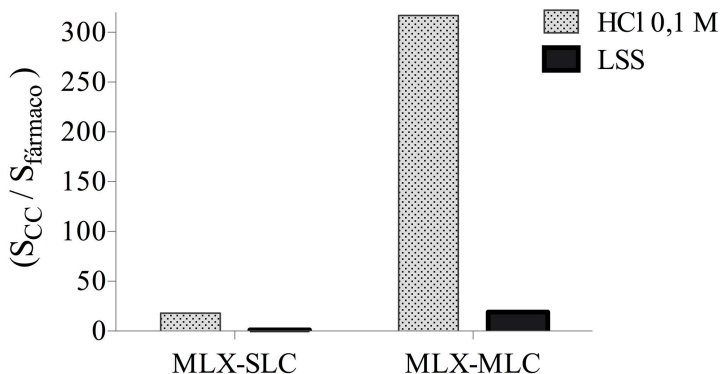


Figura 41 - S_{MLX} e $S_{cocrystal}$ na presença de diferentes concentrações de LSS. $S_{cocrystal}$ foi calculado através da equação (57). pH final das soluções em equilíbrio = 1,0.



A Figura 42 demonstra como a SA pode ser reduzida na presença de apenas 17 mM de LSS (0,5% m/v), concentração usualmente utilizada em formulações e em ensaios de dissolução. Com a redução da SA pode-se diminuir a probabilidade de precipitação do fármaco, pois se diminui a supersaturação do sistema que é a força motriz para cristalização e, assim, a supersaturação pode ser prolongada durante a dissolução. Porém, deve-se ter cuidado para que a vantagem de solubilidade do cocrystal em relação ao fármaco não seja desperdiçada. Desta forma, os estudos apresentados neste capítulo podem ser utilizados como um guia na escolha do agente solubilizante bem como a sua concentração, para que o cocrystal selecionado possa apresentar maior solubilidade sem que ocorra a conversão para o fármaco.

Figura 42 - Redução da SA ($S_{\text{cocristal}}/S_{\text{MLX}}$) em solução de HCl 0,1 M contendo 17 mM de LSS. $S_{\text{cocristal}}$ foi calculado através da equação (57). pH final das soluções em equilíbrio = 1,0.



Os resultados experimentais de solubilidade do MLX e dos cocristais MLX-SLC e MLX-MLC já apresentados nas figuras 39 e 41, respectivamente, foram plotados nas figuras 43 e 44 juntamente com as curvas de predição destas solubilidades, com o objetivo de avaliar o poder preditivo dos modelos matemáticos. É possível observar que os pontos experimentais encontram-se satisfatoriamente em concordância com os valores calculados, demonstrando que os modelos de predição são uma maneira útil e rápida de prever o comportamento destes sistemas na presença de aditivos micelares em uma solução.

Figura 43 - Ponto de transição do cocristal MLX-SLC induzido pela presença de LSS em solução de pH 1,0. O ponto de transição é caracterizado por (S^*) e pela concentração de agente solubilizante (CSC). Os símbolos representam as solubilidades experimentais do MLX (círculo preto) e do cocristal MLX-SLC (círculo vermelho). As curvas foram elaboradas a partir das equações (65) e (66) utilizando software Wolfram Mathematica[®] 10.

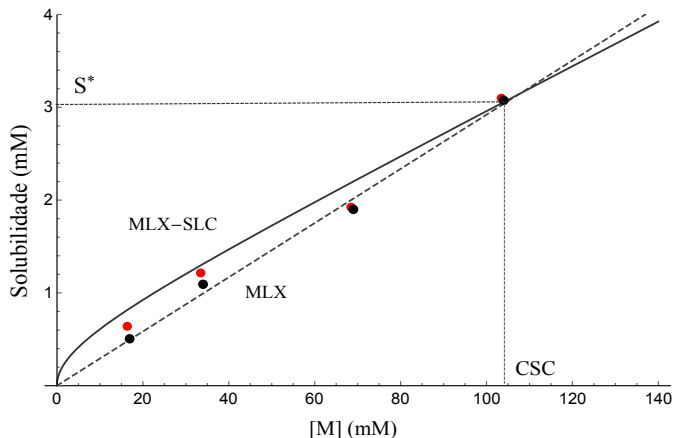
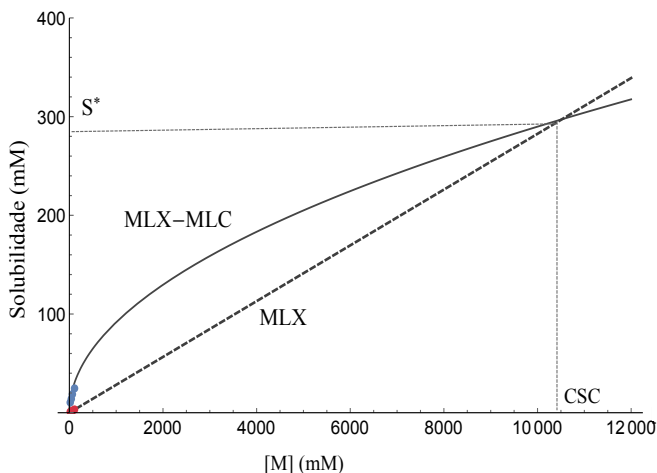


Figura 44 - Ponto de transição do cocristal MLX-MLC induzido pela presença de LSS em solução de pH 1,0. O ponto de transição é caracterizado por (S^*) e pela concentração de agente solubilizante (CSC). Os símbolos representam as solubilidades experimentais do MLX (círculo vermelho) e do cocristal MLX-MLC (círculo azul). As curvas foram elaboradas a partir das equações (65) e (67) utilizando software Wolfram Mathematica[®] 10.



A $SR_{\text{cocristal}}$ pode ser antecipada pelas seguintes relações para cocristais 1:1 (equações 69 e 70):

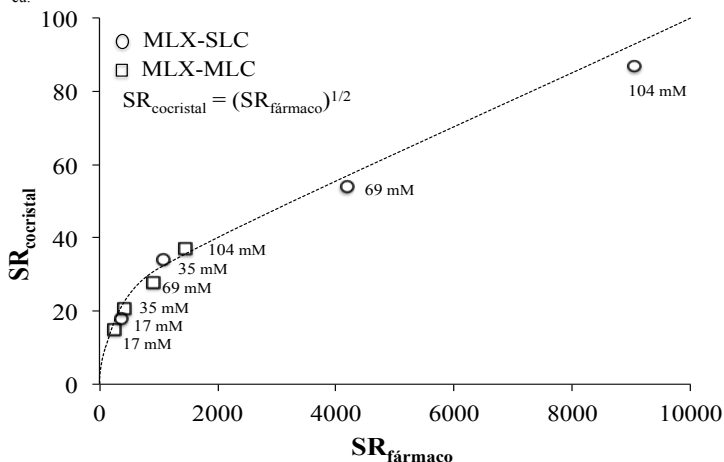
$$\left(\frac{S_T}{S_{\text{aq}}}\right)_{\text{cocristal}} = \sqrt{\left(\frac{S_T}{S_{\text{aq}}}\right)_{\text{fármaco}}} \quad (69)$$

ou,

$$SR_{\text{cocristal}} = \sqrt{SR_{\text{fármaco}}} \quad (70)$$

Vale lembrar que a SR é definida pela solubilidade total em solução contendo agente solubilizante (S_T) dividida pela solubilidade aquosa (S_{aq}). Estas equações foram aplicadas aos cocristais de MLX e estão apresentadas na Figura 45. Os valores de $SR_{\text{cocristal}}$ e $SR_{\text{fármaco}}$ experimentais sobrepõem-se à linha de SR prevista, demonstrando o enorme poder preditivo destas equações. Isto significa que se a $SR_{\text{fármaco}}$ for conhecida, algo que muitas vezes já apresenta-se relatado na literatura, um simples cálculo de raiz quadrada pode prever a SR do cocristal, que também pode ser utilizada para guiar a escolha do cocristal e da concentração de agentes solubilizantes em uma futura formulação farmacêutica.

Figura 45 - Dependência de $SR_{\text{cocristal}}$ em $\sqrt{SR_{\text{fármaco}}}$ para cocristais 1:1. A linha pontilhada representa a relação de acordo com a equação (69). Símbolos representam a SR determinada experimentalmente para os cocristais MLX-SLC e MLX-MLC em soluções de pH 1,0 com diferentes concentrações de LSS no P_{eu} .



5.4 CONCLUSÕES

Neste capítulo foram apresentados modelos matemáticos de predição da solubilidade do MLX e dos cocristais MLX-SLC e MLX-MLC em soluções contendo o agente solubilizante LSS. Também foi determinada a solubilidade do MLX frente a agentes solubilizantes, além da avaliação da solubilização micelar dos cocristais por meio de experimentos em equilíbrio no ponto eutético. Os resultados encontrados permitiram as seguintes conclusões:

(1) os melhores resultados de solubilização micelar do MLX foram observados com os agentes solubilizantes LSS e Soluplus[®]; (2) foi observada boa concordância entre os valores de $K_{s,MLX}$ calculados pela regressão linear e por meio da equação (56); (3) foi demonstrado que S_{MLX} aumenta linearmente em função da concentração de LSS, enquanto que os cocristais apresentam-se com solubilização não linear, decorrente do mecanismo de solubilização preferencial do fármaco hidrofóbico; (4) ambos cocristais exibiram menor vantagem de solubilidade em LSS comparada com a solução de HCl 0,1M; (5) o cocristal MLX-SLC apresentou SA de 1,0 na presença de 104 mM de LSS indicando o ponto de transição experimental (CSC) para este cocristal; (6) O S^* foi facilmente calculado e forneceu informações úteis na correlação entre os dados preditos e os experimentais (7) foi possível compreender que quando o fármaco é preferencialmente solubilizado pelo agente solubilizante a razão $S_{cocristal}/S_{fármaco}$ diminui; (8) esta razão pode ser predita a partir dos modelos matemáticos aqui apresentados, e os valores obtidos podem ser utilizados para antecipar o comportamento dos cocristais durante a dissolução ou em solução de variadas concentrações de agente solubilizante, além de auxiliar na seleção de aditivos para uma formulação farmacêutica.

CAPÍTULO V
SUPERSATURAÇÃO DURANTE A DISSOLUÇÃO

6 SUPERSATURAÇÃO DURANTE A DISSOLUÇÃO

6.1 INTRODUÇÃO

As características de solubilidade e permeabilidade estão diretamente relacionadas à biodisponibilidade de fármacos. No caso daqueles pertencentes à classe II do SCB, como o MLX, que são facilmente permeáveis no trato gastrointestinal, a taxa de dissolução por sua vez é o fator determinante para o bom desempenho do fármaco (AMIDON et al., 1995; LIPINSKI, 1997).

O aumento da taxa de dissolução é uma das grandes vantagens que os cocristais formados de *coformers* hidrofílicos apresentam devido ao aumento da solubilidade do cocrystal em relação ao fármaco. (SCHULTHEISS; NEWMAN, 2009; CHILDS, et al., 2013; JUNG et al., 2010). No entanto, uma vez que a $S_{\text{cocrystal}}$ excede a $S_{\text{fármaco}}$, a supersaturação pode ocorrer durante a dissolução do cocrystal e esta pode tanto ser mantida no período do ensaio como pode ocasionar a precipitação da forma mais estável do fármaco (ROY; LIPERT; RODRÍGUEZ-HORNEDO, 2012).

Os experimentos cinéticos são usualmente os mais utilizados para avaliar os cocristais, no entanto deve-se ter cautela ao utilizá-los, pois a supersaturação é estado cinético que constitui a força motriz para que ocorra a precipitação do fármaco e, muitas vezes, cocristais altamente solúveis convertem-se rapidamente durante a dissolução, levando a uma avaliação subestimada se utilizada para determinar a solubilidade do cocrystal (BEVERNAGE, et al., 2013; MARTIN et al., 2013; THAKURIA et al., 2013; WEYNA et al., 2012).

Inúmeros exemplos de cocristais exibem maior solubilidade e maior taxa de dissolução quando comparados com o fármaco constituinte. No entanto, nem sempre resultam em uma maior biodisponibilidade, o que pode estar associado à rápida conversão para o fármaco quando *in vivo*. Aditivos como surfactantes, polímeros e meios biorrelevantes têm sido utilizados para melhorar o desempenho dos cocristais em solução por meio da inibição da cristalização para a forma mais estável do fármaco e manutenção da supersaturação (ALHALAWEH; ALI; VELAGA, 2014; CHILDS; KANDI; LINGIREDDY, 2013; REMENAR et al., 2007; ROY, 2013).

Entender as interações químicas entre os constituintes do cocrystal e o meio de dissolução e seus aditivos é muito importante, principalmente no que diz respeito aos cocristais que apresentam SA de grande magnitude. Diante disto os estudos termodinâmicos realizados

previamente demonstram relevância, pois através deles é possível determinar e prever a solubilidade e estabilidade dos cocristais em qualquer pH e frente à presença de aditivos que são facilmente encontrados em formulações e em ensaios de dissolução (LIPERT; RODRÍGUEZ-HORNEDO, 2015).

Neste capítulo foi avaliada a supersaturação promovida pelos cocristais durante a dissolução em meio aquoso e a influência de agentes solubilizantes na inibição da conversão e manutenção dos estados de supersaturação.

6.2 METODOLOGIA

6.2.1 Materiais

Foram utilizados reagentes (ácidos, bases, solventes e sais) de grau analítico e grau cromatográfico. A água ultrapura foi obtida a partir de sistema de gradiente Milli-Q (Millipore, Bedford, Estados Unidos). Os agentes solubilizantes utilizados, LSS e Soluplus[®] estão descritos no Capítulo IV.

6.2.2 Métodos

6.2.2.1 Estudos de supersaturação

A supersaturação promovida pelos cocristais foi avaliada em soluções de HCl 0,1 M (pH 1,0) e na presença de agentes solubilizantes. A escolha foi baseada na correlação *in vivo*, pois este pH corresponde à primeira ionização do MLX quando em contato com o fluido gástrico (pH entre 1 e 2) e também para possibilitar a correlação com os estudos termodinâmicos de solubilização micelar realizados neste mesmo pH. A descrição das soluções utilizadas com e sem agente solubilizante, bem como as quantidades de cocristal adicionadas estão descritas na Tabela 7.

A amostra foi previamente passada pelo tamis de malha 1,18 mm, para uniformização do tamanho de partícula, e em seguida foi adicionada lentamente em um frasco contendo 100 mL das soluções mencionadas na Tabela 7, as quais foram mantidas sob agitação magnética (150 rpm) a $25 \pm 0,2$ °C utilizando um banho termostatizado. Em intervalos de tempo pré-determinados uma amostra foi coletada e filtrada com membrana de poliamida 0,45µm. As soluções foram

analisadas por CLAE e a fase sólida final analisada por DRXP, DSC e IV, conforme metodologias descritas no Apêndice I e no Capítulo II.

Tabela 7 - Soluções utilizadas para os estudos de supersaturação e quantidades adicionadas de cada cocrystal.

Solução	Quantidades adicionadas		
	Volume: 100 ml	MLX-SLC (mg)	MLX-MLC (mg)
HCl 0,1 M		8,35 ^a	7,98 ^a
0,5% Soluplus [®] (m/v)		-	800
2% LSS (m/v)		-	800

^aAs quantidades de cocrystal descritas na Tabela 7 foram calculadas considerando a relação da *dose number* (D_0) (equação 71):

$$D_0 = \frac{M_0}{C_s V_0} \quad (71)$$

M_0 refere-se à massa de MLX, neste caso considerou-se 15 mg, pois corresponde à dosagem dos comprimidos comercializados. C_s corresponde a S_{MLX} em pH 1,0 (0,00075 mg/ml) e V_0 ao volume gástrico inicial (≈ 250 ml), considerando o volume de líquido ingerido durante administração do comprimido. Desse modo a concentração de MLX estaria aproximadamente 85 vezes acima da sua solubilidade. As quantidades adicionadas de cocrystal foram calculadas respeitando esta relação.

6.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

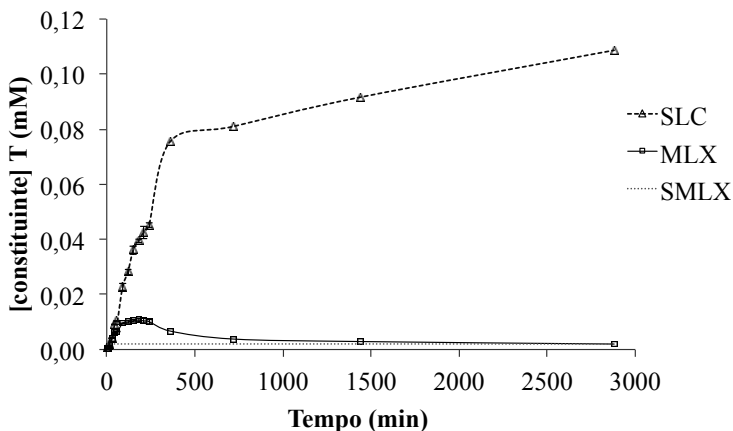
Atualmente os estudos com SDDS encontrados na literatura são geralmente realizados por meio da adaptação de métodos oficiais de dissolução. Estes métodos cinéticos oficiais geralmente trabalham em condições *sink*¹, utilizando grandes volumes de meio. No entanto, para uma avaliação adequada, sugerem-se os estudos em condições não *sink*, pois estes permitem explorar a supersaturação gerada por estes sistemas metaestáveis e a precipitação da forma estável (AUGUSTIJNS; BREWSTER, 2011; BEVERNAGE, et al., 2013).

¹ condição *sink*: pode ser definida como uma quantidade de solvente não inferior a 3 vezes o volume de meio necessário para obter a solução saturada de fármaco (ABDOU, 1989).

Por meios de experimentos em condições não *sink* foi possível observar a supersaturação promovida pelos cocristais de MLX em soluções de HCl 0,1 M e na presença de LSS e Soluplus®. O pH das soluções foi monitorado e ao final do ensaio e estava em 1,0.

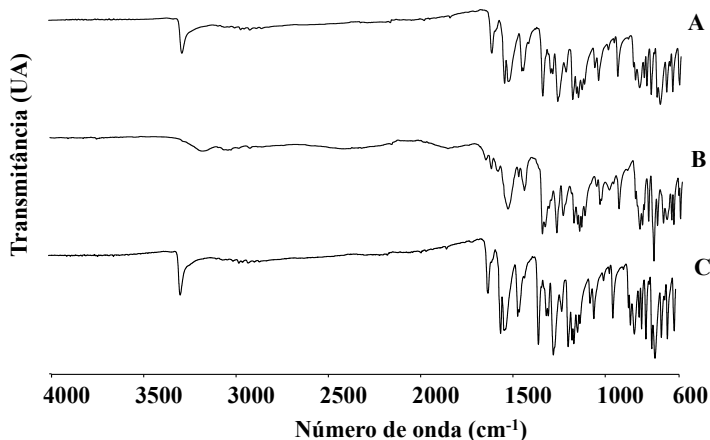
A Figura 46 apresenta a dissolução dos constituintes do cocrystal MLX-SLC em função do tempo. A partir desta figura é possível observar que as concentrações de MLX aumentam até 180 minutos e a partir deste ponto diminuem lentamente, aproximando-se da S_{MLX} em 24 horas. Por outro lado, as concentrações de *coformer* aumentam em solução, alcançando a quantidade molar adicionada, o que não ocorre em nenhum momento para o MLX, indicando que houve conversão do cocrystal para o fármaco durante o ensaio, a qual foi confirmada através da caracterização por IV da fase sólida final do experimento (Figura 47).

Figura 46 - Perfil da concentração *versus* tempo para os constituintes do cocrystal MLX-SLC durante a dissolução em solução de HCl 0,1 M a $25 \pm 0,2$ °C. A linha reta pontilhada refere-se à S_{MLX} em pH 1,0. pH final da solução = 1,0.



Vale ressaltar a importância de avaliar a pureza do cocrystal antes da realização dos estudos de supersaturação. Cocristais que apresentam excesso de *coformer* podem prolongar o estado de supersaturação em solução, devido à diminuição da solubilidade do cocrystal, retardando, assim, a conversão.

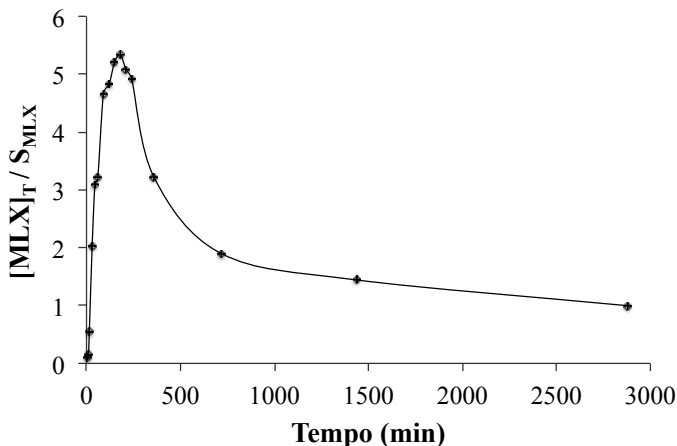
Figura 47 - Análise por IV da fase sólida final do experimento de supersaturação com o cocristal MLX-SLC em HCl 0,1 M a $25 \pm 0,2$ °C (A) em comparação com MLX-SLC (B) e MLX (C).



Os resultados também podem ser expressos pela razão da concentração total de MLX medida durante o experimento em relação à S_{MLX} ($[MLX]_T / S_{MLX}$) (Figura 48), denominada como "*degree of supersaturation*" (DS) ou grau de supersaturação em relação ao fármaco estável (BEVERNAGE, et al., 2013; SUGANO, 2012).

O MLX-SLC apresentou pico de concentração (C_{max}) de 0,011 mM em 180 minutos, o que corresponde a uma concentração 5,5 vezes maior que a S_{MLX} . A supersaturação é mantida por aproximadamente 30 minutos e após esse período a $[MLX]_T$ diminui lentamente até aproximar-se da S_{MLX} , conforme demonstrado na Figura 46 e 48.

Figura 48 - Supersaturação gerada pelo cocrystal MLX-SLC em HCl 0,1M a 25 ± 0,2 °C expressa por $[MLX]_T/S_{MLX}$. pH final da solução = 1,0.



O mesmo comportamento foi observado com o cocrystal MLX-MLC, porém de uma maneira mais rápida. Na Figura 49 é possível observar que as concentrações de MLC aumentam até a solubilização total (que corresponde a concentração molar de MLC adicionada), já o MLX atinge um máximo de concentração em 10 minutos e logo em seguida inicia a diminuição lenta de sua concentração até atingir a S_{MLX} observada após 4 horas de experimento. Este comportamento indicando a conversão do cocrystal para o fármaco durante o ensaio foi confirmado pela análise de IV da fase sólida precipitada (Figura 51).

Embora o MLX-MLC não consiga manter a supersaturação durante todo o ensaio, ele atinge uma concentração de 0,018 mM, aproximadamente 10 vezes em relação à S_{MLX} , e a solução permanece supersaturada por até 4 horas, demonstrando a grande vantagem de solubilidade desse cocrystal.

Os resultados apresentados neste capítulo reforçam mais uma vez a importância dos estudos prévios de solubilidade termodinâmica. Conforme evidenciado, a solubilidade do cocrystal MLX-MLC não pode ser atingida através de métodos cinéticos pois neste caso, seria subestimada.

Embora a conversão de ambos os cocrystalis em solução de pH 1,0 já fossem esperadas, pois os estudos termodinâmicos apresentados no capítulo III haviam indicado que os cocrystalis MLX-SLC e MLX-MLC são mais solúveis que o MLX, a SA neste pH é menor em relação

a valores de pH maiores o que pode prolongar o tempo de supersaturação do fármaco.

Figura 49 - Perfil da concentração em função do tempo para os constituintes do cocristal MLX-MLC durante a dissolução em solução de HCl 0,1 M a $25 \pm 0,2$ °C. A linha reta pontilhada refere-se à S_{MLX} nestas condições. pH final da solução = 1,0.

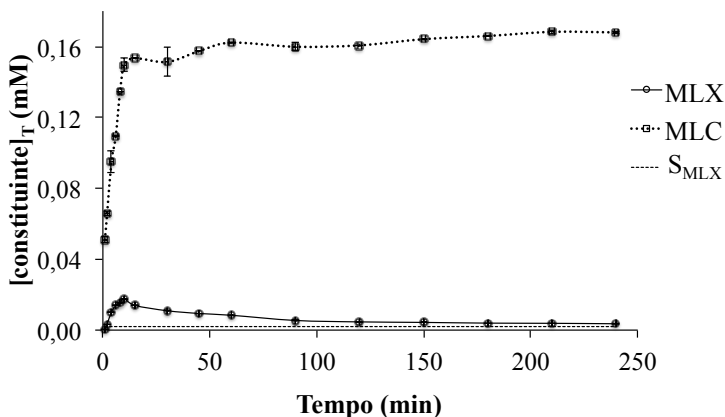


Figura 50 - Supersaturação gerada pelo cocristal MLX-MLC durante a dissolução em HCl 0,1 M a $25 \pm 0,2$ °C. A linha reta pontilhada refere-se à S_{MLX} nestas condições. pH final da solução = 1,0.

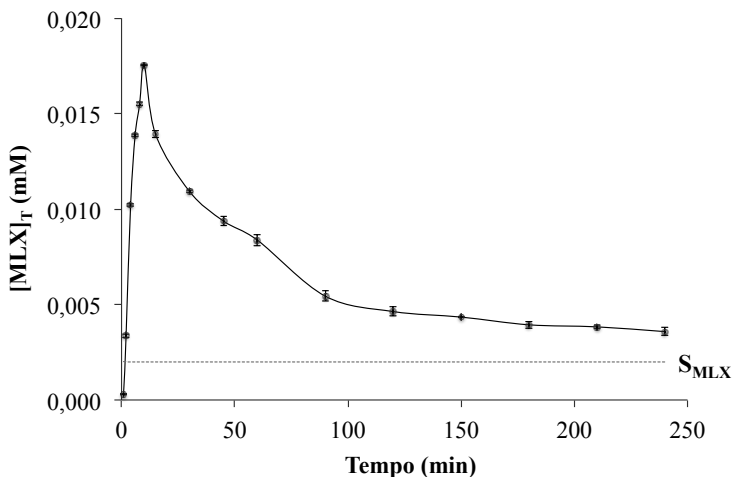
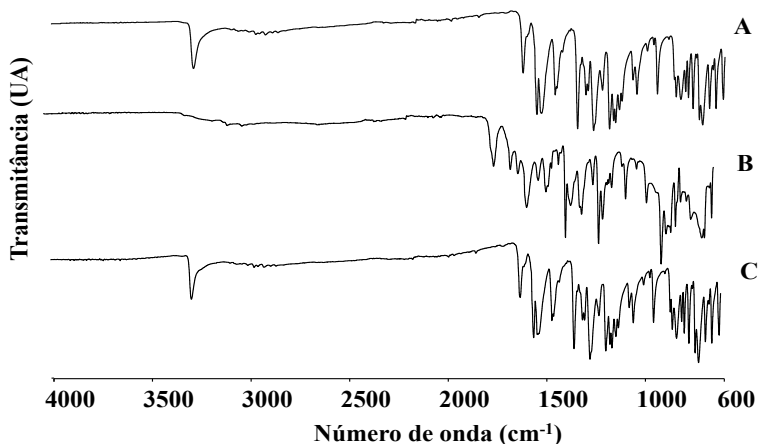


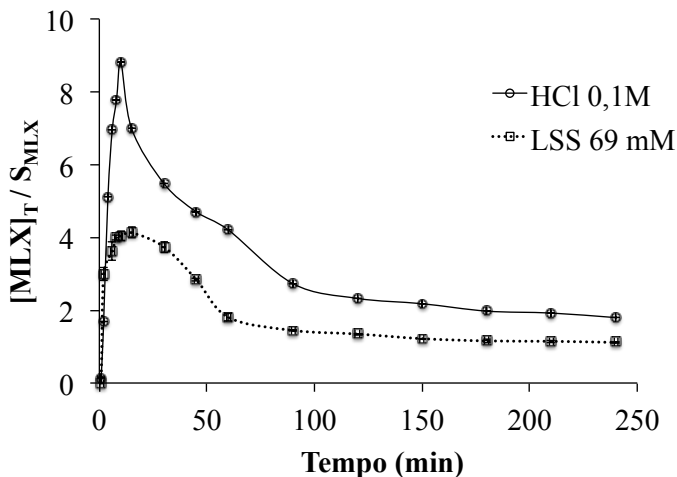
Figura 51 - Análise por IV da fase sólida final do experimento de supersaturação com o cocristal MLX-MLC em HCl 0,1 M (A) em comparação com MLX-MLC (B) e MLX (C).



Nesta dissertação optou-se em avaliar a influência dos agentes solubilizantes LSS e Soluplus[®] apenas na supersaturação de MLX-MLC, pois comparando com MLX-SLC ele apresenta maior SA em relação ao MLX, ou seja apresenta-se menos estável em solução aquosa, demonstrando ser interessante a observação da influência destes aditivos na sua solubilidade.

Um das estratégias para diminuir as taxas de conversão dos cocristais está na diminuição da SA. No capítulo anterior foi demonstrado que a utilização de agentes solubilizantes como o LSS, reduziram significativamente a SA dos cocristais em relação ao MLX. Além disso, na literatura encontram-se alguns estudos, como os apresentados por Alhalaweh, Ali e Velaga (2014), que avaliaram a dissolução do cocristal de indometacina-sacarina na presença de polivilpirrolidona (PVP) e LSS, demonstrando que a supersaturação do cocristal foi mantida por maior tempo, evitando conversões cinéticas.

Figura 52 - Supersaturação do cocristal MLX-MLC *versus* tempo durante a dissolução em solução de HCl 0,1 M contendo 69 mM de LSS em comparação com somente HCl 0,1M a $25 \pm 0,2$ °C. pH final da solução = 1,0.



A Figura 52 apresenta os resultados da supersaturação do cocristal MLX-MLC na presença de 69 mM de LSS em solução de pH 1,0. Cabe lembrar que, como apresentado no capítulo IV, o cocristal MLX-MLC apresentou redução da SA de 305 em HCl 0,1 M, para 11 vezes na presença de 69 mM de LSS.

A presença de LSS proporcionou aumento da C_{\max} e T_{\max} . A C_{\max} de 0,018 mM e T_{\max} de 10 minutos em HCl 0,1M sofreram aumento de 7,15 mM e 15 minutos em solução contendo LSS no pH 1,0.

As Figuras 53 e 54 apresentam os resultados de supersaturação de MLX-MLC em 0,5% de Soluplus[®] (m/v). Observa-se que a razão $[MLX]_T / S_{MLX}$ foi reduzida de 8,8 em HCl 0,1 para 1,6 na presença de Soluplus[®]. A redução do grau de supersaturação observada está relacionada à manutenção do estado de supersaturação e diminuição da cristalização da forma estável de MLX. A caracterização da fase sólida durante o experimento corrobora com este resultado (Figura 55).

Figura 53 - Supersaturação gerada pelo cocristal MLX-MLC em solução de 0,5% (m/v) de Soluplus[®] a $25 \pm 0,2$ °C, expressa por $[MLX]_T/S_{MLX}$. pH final da solução = 1,0.

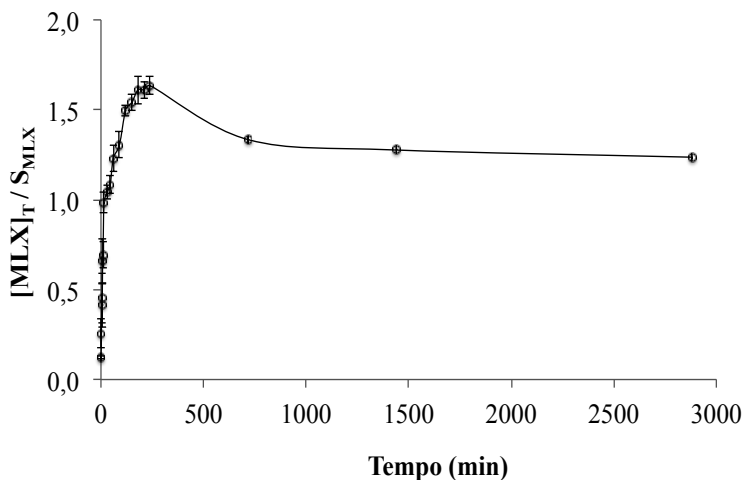
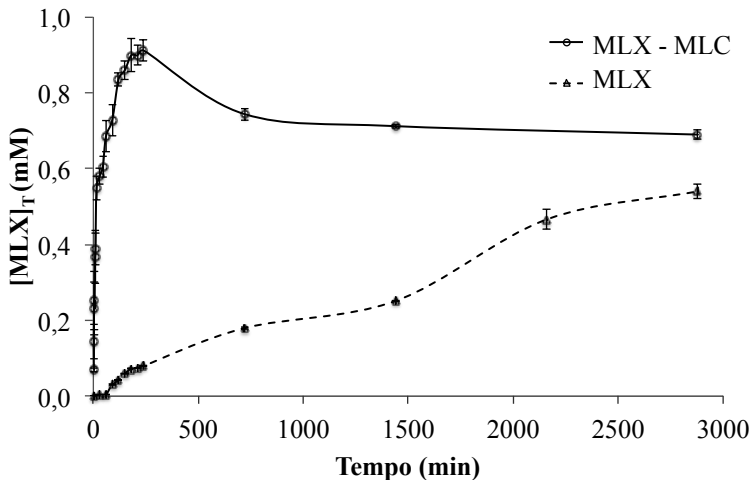


Figura 54 - Perfil da $[MLX]_T$ versus tempo para o cocristal MLX-MLC em comparação com MLX puro durante a dissolução em solução de HCl 0,1 M contendo 0,5% de Soluplus[®] a $25 \pm 0,2$ °C. pH final da solução = 1,0.



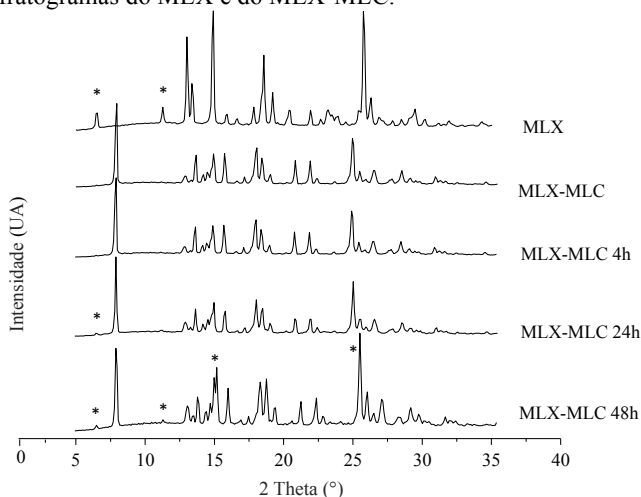
Outra observação importante está na comparação entre a $[MLX]_T$ do cocristal e o MLX puro (Figura 54), Nota-se que o cocristal atinge concentrações maiores em menor tempo, quando comparadas

com o experimento realizado com o MLX puro. Este efeito pode estar relacionado à supersaturação promovida por este cocristal, que está relacionada ao aumento da solvatação na presença do *coformer* extremamente hidrofílico.

O Soluplus[®] é um copolímero solubilizante com estrutura química do tipo anfífilica amplamente utilizado em formulações farmacêuticas. Devido a essa característica, o Soluplus[®] pode atuar como matriz polimérica e também como agente solubilizante de fármacos pouco solúveis em meio aquoso (BASF, 2010; SHAMMA; BASHA, 2013). Estas características podem estar relacionadas ao bom resultado alcançado com Soluplus[®] em comparação com o LSS.

Um estudo interessante utilizou de meios biorrelevantes para controlar a supersaturação gerada pelos cocristais de piroxicam-sacarina (PRX-SAC) e obteve resultados semelhantes aos encontrados com Soluplus[®]. Neste trabalho de Lipert e colaboradores (2015) foi observado a manutenção da supersaturação durante a dissolução de PRX-SAC em *FeSSIF* além da redução da SA, resultado associado solubilização preferencial do fármaco pelas micelas mistas formadas pelo taurocolato de sódio e lecitina presentes no meio *FeSSIF* (LIPERT et al., 2015).

Figura 55 - Difratograma da fase sólida coletada durante experimento de supersaturação de MLX-MLC em solução de HCl 0,1 M + 0,5% de Soluplus[®] (m/v). A transição de fase é observada por meio da comparação com os difratogramas do MLX e do MLX-MLC.



A partir dos difratogramas apresentados na figura 55 é possível notar que em 4 horas de experimento não se observa a presença de MLX, indicando que o cocrystal permaneceu estável nas condições da solução. Porém no período de 24 para 48 horas a conversão do cocrystal começou a ficar evidente, o que pode ser observado pelo surgimento das reflexões características de MLX, destacadas na figura 55. Estes resultados corroboram com os apresentados na Figura 53 e 54.

Diante destes resultados, a utilização de Soluplus[®] com o objetivo de prolongar a supersaturação demonstra ser promissora também pelo fato de que altas concentrações de Soluplus podem ser incorporadas a formulações farmacêuticas, enquanto que o LSS apresenta concentração limite de utilização, em torno de 2%, para a forma farmacêutica comprimidos, de uso oral (ROWE; SHESKEY; QUINN, 2009).

6.4 CONCLUSÕES

Os estudos de supersaturação apresentados neste capítulo permitiram as seguintes conclusões: (1) o cocrystal MLX-SLC apresentou supersaturação de 5,5 vezes em 3 horas de experimento em solução de HCl 0,1 M (pH 1,0) e taxa de conversão lenta; (2) o cocrystal MLX-MLC apresentou supersaturação de 8,8 vezes em solução de HCl 0,1 M em 10 minutos de experimento, após este período iniciou a conversão aproximando-se de S_{MLX} após 4 horas de experimento; (3) o cocrystal MLX-MLC na presença de LSS apresentou maior C_{max} e T_{max} em relação à solução de HCl 0,1 M (4) o cocrystal MLX-MLC exibiu conversão cinética lenta mantendo a supersaturação por maior tempo em solução com 0,5% de Soluplus[®] comparado com a solução sem agente solubilizante, proporcionou também alcançar concentrações maiores de MLX em menor tempo quando comparadas com o MLX puro; (5) o Soluplus[®] apresentou ser um ótimo aditivo podendo ser adicionado em formulações farmacêuticas com o objetivo de estabilizar o cocrystal sem perder a sua vantagem de solubilidade em relação ao fármaco. (6) de maneira geral, os resultados obtidos com os estudos de supersaturação permitiram observar que os cocrystalis de MLX proporcionam grande vantagem de solubilidade em relação ao fármaco. A S_{MLX} é extremamente baixa em pHs ácidos, diante disso as concentrações de MLX alcançadas durante a dissolução do cocrystal podem representar melhorias no desempenho deste fármaco.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O aprimoramento de moléculas pouco solúveis tem sido um dos grandes desafios da indústria farmacêutica, sendo alvo de inúmeras pesquisas na atualidade. Diversas estratégias vêm sendo utilizadas para este fim, destacando-se os cocristais farmacêuticos. A versatilidade dos cocristais no aprimoramento da solubilidade de fármacos pouco solúveis faz desta propriedade uma das suas características físico-químicas mais investigadas, conforme observa-se pelo número crescente de publicações com este tema. Entretanto, as pesquisas que vêm sendo conduzidas com cocristais utilizam métodos que avaliam apenas a resposta cinética destes sólidos frente à uma solução. Além disso, geralmente as condições desta solução, como o pH ou a presença de aditivos, não são consideradas.

Já é conhecido que cocristais altamente solúveis podem sofrer rápida conversão em uma forma menos solúvel do fármaco quando expostos à solução, prejudicando o seu desempenho. Assim, os estudos atuais visam avaliar a solubilidade e a estabilidade termodinâmica dos cocristais, propondo modelos matemáticos para prever a solubilidade destes sistemas frente às variáveis como pH e presença de aditivos micelares. Este tipo de abordagem vem sendo bastante investigada pela Prof^a Dr^a Nair Hornedo e seu grupo, em Michigan (EUA), desde 2001, a qual vem estudando fármacos e cocristais de diversas naturezas. Em nosso grupo no Brasil, esta é a primeira vez que estes estudos estão sendo realizados e, até o momento, não foram encontrados relatos de estudos desta natureza no Brasil, demonstrando o ineditismo da proposta de trabalho.

O fármaco utilizado para a realização dos estudos neste trabalho foi o meloxicam, por ser um composto de solubilidade muito baixa em pHs ácidos e por não haver relatos de estudos de solubilidade e estabilidade termodinâmica para os cocristais já relatados para este fármaco.

Os resultados obtidos permitiram verificar que a solubilidade dos cocristais de meloxicam foi maior que a S_{MLX} em soluções aquosas, em qualquer valor de pH. Os estudos de solubilização micelar permitiram observar que a presença de agentes solubilizantes influenciam a solubilidade e a estabilidade dos cocristais em solução, podendo provocar mudanças significativas na vantagem de solubilidade do cocristal em relação ao fármaco. Também foi possível evidenciar que a predição e determinação do S^* é útil na seleção de aditivos que podem ser utilizados para o desenvolvimento de formulações farmacêuticas, os

quais poderiam garantir estabilidade aos cocristais e ao mesmo tempo auxiliar na manutenção da supersaturação. Além disso, os estudos de supersaturação permitiram conferir que soluções contendo agentes solubilizantes apresentaram o potencial de aumentar e prolongar a supersaturação do MLX por período de tempo significativo para absorção do fármaco no trato gastrointestinal (TGI).

Em suma, os estudos e parâmetros apresentados neste trabalho demonstraram ser extremamente relevantes nessa área, pois fornecem informações fundamentais a respeito da estabilidade dos cocristais, podendo servir de base para estudos futuros com diferentes tipos de cocristais farmacêuticos. A partir destes conhecimentos, estratégias podem ser adotadas com o objetivo de ajustar a solubilidade desejada destes sistemas, melhorar as propriedades de dissolução e dessa forma, otimizar a absorção oral dos fármacos.

REFERÊNCIAS

ABDOU, H. M. **Dissolution, bioavailability and bioequivalence**. Easton: Mack Publishing Company: 1989, 554 p.

AITIPAMULA, S.; BANERJEE, R.; BANSAL, A. K.; BIRADHA, K.; CHENEY, M. L.; CHOUDHURY, A. R.; DESIRAJU, G. R.; DIKUNDWAR, A. G.; DUBEY, R.; DUGGIRALA, N. Polymorphs, salts, and cocrystals: what's in a name? **Crystal Growth & Design**, v. 12, n. 5, p. 2147-2152, 2012.

ALBERTY, R. A. **Enzyme kinetics: rapid-equilibrium applications of mathematica**. First Edition, New Jersey: John Wiley & Sons, 2011, 456p.

ALHALAWEH, A.; ROY, L.; RODRÍGUEZ-HORNEDO, N.; VELAGA, S. P. pH-dependent solubility of indomethacin-saccharin and carbamazepine-saccharin cocrystals in aqueous media. **Molecular Pharmaceutics**, v. 9, p. 2605-2612, 2012.

ALHALAWEH, A.; ALI, H. R. H.; VELAGA, S. P. Effects of polymer and surfactant on the dissolution and transformation profiles of cocrystals in aqueous media. **Crystal Growth & Design**, v.14, n.2, p. 643-648, 2014.

ALMARSSON, O.; ZAWOROTKO, M. J. Crystal engineering of the composition of pharmaceutical phases. Do pharmaceutical co-crystals represent a new path to improved medicines? **Chemical Communications**, v. 7, p. 1889-1896, 2004.

AMBRUS, R.; KOCBEK, P.; KRISTL, J.; SIBANC, R.; RAJKÓ, R.; SZABÓ-REVÉSZ, P. Investigation of preparation parameters to improve the dissolution of poorly water-soluble meloxicam. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 381, p. 153-159, 2009.

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

AUGUSTIJNS, P.; BREWSTER, M. E. Supersaturating drug delivery

systems: fast is not necessarily good enough. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 101, n. 1, p. 7–9, 2011.

AVDEEF, A. Solubility of sparingly-soluble ionizable drugs. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 59, p. 568-590, 2007.

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

BAE, J.; KIM, M.; JANG, C.; LEE, S. Determination of meloxicam in human plasma using a HPLC method with UV detection and its application to a pharmacokinetic study. **Journal of Chromatography**, v. 859, p. 69–73, 2007.

BASAVOJU, S.; BOSTRÖM, D.; VELAGA, S. Indomethacin–saccharin cocrystal: design, synthesis and preliminary pharmaceutical characterization, **Pharmaceutical Research**, v. 25, p. 530-541, 2008.

BASF, the chemical company. **Soluplus® technical information**. Pharma ingredients & services, 2010.

BASF, the chemical company. **Solubility enhancement with BASF pharma polymers**. Solubilizer Compendium. Pharma ingredients & services, 2011.

BERRY, D. J.; SEATON, C. C.; CLEGG, W.; HARRINGTON, R. W.; COLES, S. J.; HORTON, P. N.; HURST- HOUSE, M. B.; STOREY, R.; JONES, W.; FRISCIC, T.; BLAGDEN, N. Applying hot-stage microscopy to co-crystal screening: a study of nicotinamide with seven active pharmaceutical. **Crystal Growth & Design**, v. 8, n. 5, p. 1697-1712, 2008.

BETHUNE, S. J. **Thermodynamic and kinetic parameters that explain crystallization and solubility of pharmaceutical cocrystals**. 2009. 192 p. Doctoral Dissertation - University of Michigan. Disponível em: <<http://deepblue.lib.umich.edu/handle/2027.42/62200>> Acesso em: 02 jan. 2016.

BETHUNE, S. J.; HUANG, N.; JAYASANKAR, A.; RODRÍGUEZ-HORNEDO, N. Understanding and predicting the effect of cocrystal

components and pH on cocrystal solubility. **Crystal Growth & Design**, v. 9, n. 9, p. 3976–3988, 2009.

BEVERNAGE, J.; BROUWERS, J.; BREWSTER, M. E.; AUGUSTIJNS, P. Evaluation of gastrointestinal drug supersaturation and precipitation: Strategies and issues. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 453, n. 1, p. 25–35, 2013.

BLAGDEN, N.; COLESB S. J.; BERRY, D. J. Pharmaceutical co-crystals - are we there yet? **Crystal Engineering Communications**, v. 16, p. 5753-5761, 2014.

BOND, A. D. Fundamental aspects of salts and co-crystals. In: Wouters, J. e Quéré, L. (Ed.). **Pharmaceutical salts and cocrystals**. Cambridge: The Royal Society of Chemistry, 2012, p. 390.

BRASIL. Portaria 899, de 29 de maio de 2003. Disponível em: <portal.anvisa.gov.br>. Acesso em: 05 jan. 2014.

BREZOVSKA, M.; JAMPILEK, J.; OPATRILOVA, R. A Review of HPLC methods used for determining the presence of meloxicam. **Current Pharmaceutical Analysis**, v. 9, p. 69-76, 2013.

BRITISH PHARMACOPOEIA, Medicines & Healthcare products Regulatory Agency. v.5, 2013.

BRITISH PHARMACOPOEIA, Medicines & Healthcare products Regulatory Agency. Meloxicam safety data sheet, 2013, 7 p. Disponível em: <https://www.pharmacopoeia.com/Catalogue/Preview?uri=%2Fcontent%2Ffile%2Fproducts%2Fhealthandsafety%2FCat_629_GB.pdf> Acesso em: 28 dez. 2015.

BRITAIN, H. G. **Polymorphism in pharmaceutical solids**. New York: Informa Healthcare, v.192, 2009, 640 p.

BRITAIN, H. G. Pharmaceutical cocrystals: the coming wave of new drug substances. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 102, n. 2, p. 311-317, 2012.

BROUWERS, J.; BREWSTER, M. E.; AUGUSTIJNS, P.

Supersaturating drug delivery systems: the answer to solubility-limited or oral bioavailability. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 99, n. 10, p. 4215–4227, 2009.

BROWN, M. E. Handbook of thermal analysis and calorimetry: principles and practice. Amsterdam: Elsevier Science, v. 1, 1998, 725p.

BUTLER, J. N. **Ionic equilibrium: a mathematical approach**. 1 ed. Massachusetts: Addison-Wesley, 1964, 547 p.

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

CHATTERJEE, A.; MOULIK, S. P.; SANYAL, S. K.; MISHRA, B. K.; PURI, P. M. Thermodynamics of micelle formation of ionic surfactants: a critical assessment for sodium dodecyl sulfate, cetyl pyridinium chloride and dioctyl sulfosuccinate (Na salt) by microcalorimetric, conductometric, and tensiometric measurements. **Journal of Physical Chemistry B**, v. 105, n. 51, p. 12823-12831, 2001.

CHENEY, M.L.; SHAN, N.; HEALEY, E.R.; HANNA, M.; WOJTAS, L.; ZAWOROTKO, M. J.; SAVA, V.; SONG, S.; SANCHEZ-RAMOS, J.R. Effects of crystal form on solubility and pharmacokinetics: a crystal engineering case study of lamotrigine, **Crystal Growth & Design**, v. 10, p. 394-405, 2010.

CHENEY, M. L.; WEYNA D. R.; SHAN, N.; HANNA, M.; WOJTAS, L.; ZAWOROTKO, M. J. Supramolecular architectures of meloxicam carboxylic acid cocrystals, a crystal engineering case study. **Crystal Growth & Design**, v. 10, p. 4401-4413, 2010.

CHENEY, M. L.; WEYNA, D. R.; SHAN, N. Coformer selection in pharmaceutical cocrystal development: a case study of a meloxicam aspirin cocrystal that exhibits enhanced solubility and pharmacokinetics. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 100, n. 6, p. 2172–81, 2011.

CHERUKUVADA, S.; NANGIA, A. Eutectics as improved pharmaceutical materials: design properties and characterization.

Chemical Communications, v. 50, p. 906-923, 2014.

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

CHILDS, S. L.; KANDI, P.; LINGIREDDY, S. R. Formulation of a danazol cocrystal with controlled supersaturation plays an essential role in improving bioavailability. **Molecular Pharmaceutics**, v. 10, n.8, p. 3112-3127, 2013.

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

CHILDS, S.L., MOUGIN, P., STAHLY, B. **Screening for solid forms by ultrasound crystallization and cocrystallization using ultrasound**. United States Patent, 2005. WO/2005/089375.

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

CHRISTIAN, S. D.; SCAMEHORN, J. F. **Solubilization in surfactant aggregates**. Nova York: Marcel Dekker, Inc.: 1995, v.55, 530 p.

CHURCHILL, L.; GRAHAM, A.G.; SHIH, C-K.; PAULETTI, D.; FARINA, P.R.; GROB, P.M. Selective inhibition of human cyclooxygenase-2 by meloxicam. **Inflammopharmacology**, v.4, p. 125-135. 1996.

COPPI, L.; SANMARTI, M. B.; CLAVO, M. C. **Crystalline forms of meloxicam and processes for their preparation and interconversion**. United States Patent, 2005. US 6.967.248B2, 14 p.

DAVIES, N. M.; SKJODT, N. M. Clinical pharmacokinetics of meloxicam: a cyclo-oxygenase-2 preferential nonsteroidal anti-inflammatory drug. **Clinical Pharmacokinetics**, v. 36, p. 115-126, 1999.

DAWSON, R. M. C. **Data for biochemical research**. Oxford: Clarendon Press, , 1959, 654 p.

DEL TACCA, M.; PASQUALETTI, G.; GORI, G.; PEPE, P.; DI PAOLO, A.; LASTELLA, M.; DE NEGRI, F.; BLANDIZZI, C. Comparative pharmacokinetic and pharmacodynamics evaluation of branded and generic formulations of meloxicam in healthy male volunteers. **Therapeutics and Clinical Risk Management**, v. 9, p.302-311, 2013.

DESIRAJU, G. R. Pharmaceutical Salts and Co-crystals: Retrospect and Prospects. In: Wouters, J. e Quéré, L. (Ed.). **Pharmaceutical Salts and Cocrystals**. Cambridge: The Royal Society of Chemistry, 2012, p. 390.

DISTEL, M.; MUELLER, C.; BLUHMKI, E.; FRIES, J. Safety of meloxicam: a global analysis of clinical trials. **British Journal Of Rheumatology**, v. 35, p. 68–77, 1996.

DUGGIRALA, N. K.; PERRY, M. L.; ALMARSSON, O.; ZAWOROTKO, M. J. Pharmaceutical cocrystals : along the path to improved medicines. **Chemical Communications**, v. 52, p. 640–655, 2015.

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

EMA. European Medicines Agency. **Reflection paper on the use of cocrystals of active substances in medicinal products**. 2015 a, 10 p.

EMA. European Medicines Agency. **Assessment report – Entresto**. 2015 b, 105 p.

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

FÁBIAN, L.; FRIŠČI, T. Shape and Polarity in Co-crystal Formation: Database Analysis as an Experimental Validation. In: Wouters, J. e Quéré, L. (Ed.). **Pharmaceutical Salts and Cocrystals**. Cambridge: The Royal Society of Chemistry, 2012, p. 390.

FABIOLA, G. F.; PATTABHI, V.; MANJUNATHA, S. G.; RAO, G. V.; NAGARAJAN, K. 4-Hydroxy-2-methyl-N-(5-methyl-1,3-thiazol-2-yl)-2H-1, 2-benzothiazine-3-carboxamide 1, 1-dioxide,” **Acta Crystallographica C**, v. 54 p.2001–2003,1998.

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

GAO, Y.; ZU, H.; ZHANG, J. Enhanced dissolution and stability of adefovir dipivoxil by cocrystal formation. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 63, p. 483-490, 2011.

GOOD, D. J.; RODRÍGUEZ-HORNEDO, N. Cocrystal eutectic constants and prediction of solubility behavior. **Crystal Growth & Design**, v. 9, n. 5, p. 1028-1032, 2010.

GOOD, D. J.; RODRÍGUEZ-HORNEDO, N. Solubility advantage of pharmaceutical cocrystals. **Crystal Growth & Design**, v. 10, p. 2252-2264, 2009.

GOOD, D.; MIRANDA, C.; RODRÍGUEZ-HORNEDO, N. Dependence of cocrystal formation and thermodynamic stability on moisture sorption by amorphous polymer. **Crystal Engineering Communications**, v.13, p.1181-1189, 2011.

GOODMAN, L. S; GILMAN, A. **Manual of Pharmacology and Therapeutics**. 11^a ed. New York: Mc Graw Hill Medical, 2008, 1216p.

GRBIC, S.; PAROJCIC, J.; DJURIC, Z.; IBRIC, S. Mathematical modeling of pH-surfactant-mediated solubilization of nimesulide. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 35, n. 7, p. 852–8556, 2009.

GUZMÁN, H. R.; TAWA, M.; ZHANG, Z.;

RATANABANANGKOON, P.; SHAW, P.; GARDNER, C. R.; CHEN, H.; MOREAU, J. P.; ALMARSSON, Ö.; REMENAR, J.; Combined use of crystalline salt forms and precipitation inhibitors to improve oral absorption of celecoxib from solid oral formulations. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 96, n. 10, p. 2686–2702, 2007.

HANFT, D. G.; TURCK, D.; SCHEUERER, S.; SIGMUND, R. Meloxicam oral suspension: a treatment alternative to solid meloxicam formulations. **Inflammation Research**, p. 35-37, 2001.

HILDEBRAND, J. H. **Solubility**. The chemical catalog company. New York Inc., 1924.

HIGUCHI, T.; CONNORS, K. A. Phase solubility techniques. **Advances in analytical chemistry and instrumentation**, Ed. C. Reilley, 1965, v. 4, 2404 p.

HOFFMAN, M.; LINDEMAN, J. A. Co-crystals: Commercial Opportunities and Patent Considerations. In: Wouters, J. e Quéré, L. (Ed.). **Pharmaceutical Salts and Co-crystals**. Cambridge: The Royal Society of Chemistry, 2012, p.390.

HUANG, N. **Engineering cocrystal solubility and stability via ionization and micellar solubilization**. 2011. 260 p. Doctoral Dissertation - University of Michigan. Disponível em: <<https://deepblue.lib.umich.edu/bitstream/handle/2027.42/86431>> Acesso em: 20 jan. 2015

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

HUANG, N.; RODRÍGUEZ-HORNEDO, N. Engineering cocrystal thermodynamic stability and eutectic points by micellar solubilization and ionization. **Crystal Engineering Communications**, v. 13, n. 17, p. 5409, 2011a.

HUANG, N.; RODRÍGUEZ-HORNEDO, N. Engineering cocrystal solubility, stability, and pH(max) by micellar solubilization. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 100, n. 12, p. 5219-5234, 2011b.

- ISSA, N.; BARNETT, S.A.; MOHAMED, S.; BRAUN, D. E.; COPLEY, R. C. B.; TOCHER, D.; PRICE, S. L. Screening for cocrystals of succinic acid and 4-aminobenzoic acid. **Crystal Engineering Communications**, v. 14, p. 2454–2464, 2012.
- JAYASANKAR, A.; GOOD, D. J.; RODRÍGUEZ-HORNEDO, N. Mechanisms by which moisture generates cocrystals. **Molecular Pharmaceutics**, v. 4, n. 3, p. 360-372, 2007.
- JINNO, J.; OH, D-M.; CRISON, J. R.; AMIDON, G. L. Dissolution of ionizable water-insoluble drugs: the combined effect of pH and surfactant. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 89, n. 2, 2000.
- JUNG, M. S.; KIM, J. S.; KIM, M. S.; ALHALAWEH, A.; CHO, W.; HWANG, S. J.; VELAGA, S. P. Bioavailability of indomethacin-saccharin cocrystals. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 62, n. 11, p. 1560-1568, 2010.
- KAWABATA, Y.; WADA, K.; NAKATANI, M.; YAMADA, S.; ONOUE, S. Formulation design for poorly water-soluble drugs based on biopharmaceutics classification system: Basic approaches and practical applications. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 420, p. 1–10, 2011.
- KUMINEK, G.; CAO, F.; ROCHA, A. B. O.; RODRÍGUEZ-HORNEDO, N. Cocrystal to facilitate delivery of poorly soluble compounds beyond-rule-of-5. **Advanced Drug Delivery, Reviews**, 2016, Submitted article.
- LIAN, H. Z.; MAO, L.; YE, X.L.; MIAO, J. Simultaneous determination of oxalic, fumaric, maleic and succinic in tartaric and malic acids for pharmaceutical use by ion-suppression reversed-phase high performance liquid chromatography. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v.19, p. 621-625, 1999.
- LIPINSKI, C. A.; LOMBARDO, F.; DOMINY, B. W.; FEENEY, P. J. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings, **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 23, p. 3–25, 1997.
- LIPERT, M. P.; ROY, L.; CHILDS, S.L.; RODRÍGUEZ-HORNEDO,

N. Cocrystal solubilization in biorelevant media and its prediction from drug solubilization. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, p. 4153-4163, 2015.

LIPERT, M. P.; RODRÍGUEZ-HORNEDO, N. Cocrystal transition points: role of cocrystal solubility, drug solubility, and solubilizing agents. **Molecular Pharmaceutics**, v.12, p. 3535-3546, 2015.

LU, E.; RODRÍGUEZ-HORNEDO, N.; SURYANARAYANAN, R. A rapid thermal method for cocrystal screening. **Crystal Engineering Communications**, v. 10, p. 665–668, 2008.

LUGER, P.; DANECK, K.; ENGEL, W.; TRUMMLITZ, G.; WAGNER, K. Structure and physicochemical properties of meloxicam, a new NSAID. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 4, n.3, p. 175-187, 1996.

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

MUDIE, D. M.; AMIDON, G. L.; AMIDON, G. E. Physiological parameters for oral delivery and in vitro testing. **Molecular Pharmaceutics**, v. 5, p. 1388 – 1406, 2010.

MYERS, D. **Surfactant science and technology**, 3 ed. New Jersey : John Wiley & Sons, Inc, 2006, 400 p.

NEHM, S. J.; RODRÍGUEZ-SPONG, B.; RODRÍGUEZ-HORNEDO, N. Phase solubility diagrams of cocrystals are explained by solubility product and solution complexation. **Crystal Growth & Design**, v. 6, n. 2, p. 592-600, 2006.

PADRELA, L.; RODRIGUES, M.A.; VELAGA, S.P.; MATOS, H.A.; AZEVEDO, E.G. Formation of indomethacin–saccharin cocrystals using supercritical fluid technology. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 38, p. 9–17, 2009.

PAGIRE, S.; KORDE, S.; AMBARDEKAR, R.; DESHMUKH, S.; DASH, R. C.; DHUMAL, R.; PARADKAR, A. Microwave assisted synthesis of caffeine/maleic acid cocrystals: the role of the dielectric and

physicochemical properties of the solvent. **Crystal Engineering Communications**, v.15, p. 3705–3710, 2013.

PICOT, D.; LOLL, P. J.; GARAVITO, R. M. The X-ray crystal structure of the membrane protein prostaglandin H2 synthase-1. **Nature**, v. 20, n. 367, p. 243-249, 1994.

POMÁZI, A.; AMBRUS, R.; SIPOS, P.; SZABÓ-RÉVÉSZ, P. Analysis of co-spray-dried meloxicam–mannitol systems containing crystalline microcomposites. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 56, p. 183-190, 2011.

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

REDDY, L. S.; BETHUNE, S. J.; KAMPF, J. W.; RODRÍGUEZ-HORNEDO, N. Cocrystals and salts of gabapentin: pH dependent cocrystal stability and solubility. **Crystal Growth and Design**, v. 9, n. 1, p. 378–385, 2009.

REMENAR, J. F.; PETERSON, M. L.; STEPHENS, P. W.; ZHANG, Z.; ZIMENKOV, Y.; HICKEY, M. B. Celecoxib: nicotinamide dissociation: using excipients to capture the cocrystal's potential. **Molecular Pharmaceutics**, v. 4, n. 3, p. 386-400, 2007.

REUTZEL-EDENS, S. M. Analytical techniques and strategies for salt/co-crystal characterization. In: Wouters, J. e Quéré, L. (Ed.). **Pharmaceutical salts and co-crystals**. Cambridge: The Royal Society of Chemistry, 2012, 390 p.

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

ROWE, R. C.; SHESKEY, P. J. QUINN, M. E. **Handbook of pharmaceutical excipients**. 6 ed. London: Pharmaceutical Press, 2009, 888 p.

ROY, L. **Engineering cocrystal and cocrystalline salt solubility by**

modulation of solution phase chemistry. 2013. 202 p. Doctoral Dissertation - University of Michigan. Disponível em: Deep Blue. <<http://hdl.handle.net/2027.42/98067>>. Acesso em: 05 jan. 2016.

ROY, L.; LIPERT, M. P.; RODRÍGUEZ-HORNEDO, N. Co-crystal solubility and thermodynamic stability. In: Wouters, J. e Quéré, L. (Ed.). **Pharmaceutical Salts and Cocrystals**. Cambridge: The Royal Society of Chemistry, 2012, p. 390.

SCHULTHEISS, N.; NEWMAN, A pharmaceutical cocrystals and their physicochemical properties. **Crystal Growth & Design**, v. 9, p. 2950-2967, 2009.

SEEDHER, N.; BHATIA, S. Solubility enhancement of Cox-2 inhibitors using various solvent systems. **AAPS PharmSciTech**, v. 4, n. 33, p. 1-9, 2003.

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

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

SHAN, N.; ZAWOROTKO, M. J.; The role of cocrystals in pharmaceutical science. **Drug Discovery Today**, v. 13, p. 440-446, 2008.

SHENG, J. J.; KASIM, N. A.; CHANDRASEKHARAN, R.; AMIDON, G. L. Solubilization and dissolution of insoluble weak acid, ketoprofen: effects of ph combined with surfactant. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.29, p. 306–314, 2006.

SMITH, A. J.; KAVURU, P.; WOJTAS, L.; ZAWOROTKO, M. J.; SHYTLE, R. D. Cocrystals of quercetin with improved solubility and oral bioavailability. **Molecular Pharmaceutics**, v. 8, p. 1867-1876, 2011.

STANTON, M. K.; TUFEKCIC, S.; MORGAN, C.; BAK, A. Drug substance and former structure property relationships in 15 diverse

pharmaceutical co-crystals. **Crystal Growth and Design**, v. 9, n. 3, p. 1344-1352, 2009.

STAREK, M.; KRZEK, J. A review of analytical techniques for determination of oxicams, nimesulide and nabumetone. **Talanta**, v. 77, p. 925-942, 2009.

STEED, J. W. The role of cocrystals in pharmaceutical design. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 34, n. 3, p. 185-193, 2013.

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

SUGANO, K. **Biopharmaceutics modeling and simulations: theory, practice, methods and applications**. First edition. Oxford: John Willey & Sons, 2012, 520 p.

SWEETMAN, S. C. **Martindale: The complete drug reference**. 36^a. Londres: Pharmaceutical press 2011.

TAKAGI, T.; RAMACHANDRAN, C.; BERMEJO, M.; YAMASHITA, S.; YU, L. X.; AMIDON, G. L. A provisional biopharmaceutical classification of the top 200 oral drug products in the United States, Great Britain, Spain, and Japan. **Molecular Pharmaceutics**, v. 3, p. 631-643, 2006.

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

THE MERCK INDEX, **Merck Research Laboratories**, Whitehouse Station, NJ, 13th ed., 2001.

ULLAH, I.; BALOCH, M. K.; DURRANI, G. F. Solubility of nonsteroidal anti-inflammatory drug (NSAIDs) in aqueous solutions of non-ionic surfactants. **Journal of Solution Chemistry**, v. 40, p.1341-1348, 2011.

USP. THE UNITED STATES PHARMACOPOEIA. 32 ed. United

States Pharmacopeial Convention: Rockville, p. 71-3, 2008.

WARREN, D. B.; BENAMEUR, H.; PORTER, C. J.H.; POUTON, C. W. Using polymeric precipitation inhibitors to improve the absorption of poorly water-soluble drugs: A mechanistic basis for utility. **Journal of Drug Targeting**, v. 18, n.10, p. 704–731, 2010.

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

WILLIAMS, R. J.; PHILLIPS, J. N.; MYSELS, K. J. The critical micelle concentration of sodium lauryl sulphate at 25°C. **Transactions of the Faraday Society**, v. 51, p. 728–737, 1955.

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

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

WU, X. Q.; TANG, P. X.; LI, S. S.; ZHANG, L.L.; LIA, H. X-ray powder diffraction data for meloxicam, C₁₄H₁₃N₃O₄S₂. **Powder Diffraction**, v. 29, n.2, 2014.

APÊNDICE I

DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE METODOLOGIAS ANALÍTICAS

1 METODOLOGIA

1.1 MATERIAIS

Utilizaram-se as matérias-primas adquiridas de fornecedores descritas na Tabela 1. Os insumos foram armazenados em dessecadores e protegidos da luz. A substância química referência de MLX (SQR) foi adquirida de *United States Pharmacopeia* - USP (lote H0J100 e teor de 99,99 %), armazenada em geladeira, lacrada e protegida da luz. Para os ensaios por CLAE utilizaram-se solventes de alta pureza (grau cromatográfico).

Tabela 1 – Relação das substâncias utilizadas, com seus respectivos fabricantes e lotes.

Substância	Fabricante	Lote
MLX	Technodrugs & Intermediates	TDM/ML/002/11/12-13
SLC	Xiamen Fine Chemical	Y1307011
MLC	Merck	S6625480

As análises por CLAE foram realizadas em cromatógrafo Shimadzu LC-10A (Kyoto, Japão), equipado com bomba LC-10AD, degaseificador DGU-14A, detector de comprimento de onda (λ) SPD-10AV e unidade controladora de sistema SCL-10AVP. A aquisição dos dados foi realizada por meio do *software* CLASS-VP[®] V 6.14.

1.2 MÉTODOS

1.2.1 Desenvolvimento dos métodos para quantificação de MLX, SLC e MLC

Devido a ausência de métodos por CLAE descritos na literatura para a quantificação de MLX na presença dos *coformers* utilizados, foi necessário o desenvolvimento de metodologias para este fim, que foram baseadas em parâmetros já descritos na literatura para estas substâncias (BREZOVSKA; JAMPILEK; OPATRILOVA, 2013; LIAN, et al., 1999; STAREK; KRZEK, 2009).

Nesta dissertação foram desenvolvidos três métodos de CLAE,

identificados da seguinte maneira:

- Método 1 = para quantificação isolada de MLX;
- Método 2 = para quantificação de MLX e SLC;
- Método 3 = para quantificação de MLC.

As análises foram conduzidas de acordo com os parâmetros descritos nas Tabela 2, 3 e 4. Todas as amostras foram filtradas em membrana de poliamida 0,45 μ m e analisadas em triplicata.

Tabela 2 - Parâmetros utilizados para execução do método 1 para quantificação de MLX.

Parâmetro	Dados
Coluna	Phenomenex [®] Gemini C18 (5 μ 110A, 250 mm x 4,6 mm d.i.)
Fase móvel	Acetonitrila (ACN): tampão acetato de amônio 25 mM pH 6,8 (35:65, v/v)
Modo	Isocrático
Vazão	1,0 mL/min.
Comprimento de onda	360 nm
Volume de injeção	20 μ l
Temperatura	25°C \pm 1°C
Tempo	12 min.

Tabela 3 - Parâmetros utilizados para execução do método 2 para quantificação de MLX e SLC.

Parâmetro	Dados	
Coluna	Phenomenex [®] Gemini C18 (5 μ 110A, 250 mm x 4,6 mm d.i.)	
Fase móvel	- ACN - Solução A: tampão acetato de amônio 25 mM, pH 6,8	
Modo de eluição: Gradiente	Tempo (min.)	(ACN:solução A, v/v) / λ
	0	20:80 / 230 nm
	4	50:50 / 230 nm
	5	80:20/ 360 nm
	8	20:80/ 360nm
	12	20:80/ 230 nm
Vazão	1,0 mL/min.	
Volume de injeção	20 μ l	
Temperatura	25°C \pm 1°C	

Tabela 4 - Parâmetros utilizados para execução do método 3 para quantificação de MLX e MLC.

Parâmetro	Dados	
Coluna	Phenomenex [®] Gemini C18 (5 μ 110A, 250 mm x 4,6 mm d.i.)	
Fase móvel	- ACN - Metanol (MeOH) - Solução A: tampão acetato de amônio 25 mM, pH 2,5	
Modo de eluição: Gradiente	Tempo (min.)	Proporção (v/v) / λ
	0	2:98 (MeOH: Sol. A) / 240 nm
	6	90:10 (ACN: Sol. A) / 240 nm
	14	2:98 (MeOH: Sol. A) / 360 nm
	18	2:98 (MeOH: Sol. A) / 240 nm
Vazão	1,0 mL/min.	
Volume de injeção	20 μ l	
Temperatura	25°C \pm 1°C	

1.2.2 Validação

Os métodos desenvolvidos foram validados de acordo com FDA (2015), BRASIL (2003) e ICH (2005), seguindo os parâmetros: especificidade, linearidade, limites de detecção (LD) e quantificação (LQ), precisão, exatidão e robustez.

1.2.2.1 Especificidade

A especificidade dos métodos foi avaliada através da interferência/coeluição do MLX e dos *coformers* utilizados e também foi avaliada por meio da análise de soluções contendo as mesmas concentrações dos agentes solubilizantes nos estudos de solubilidade, com o objetivo de verificar se estes componentes interfeririam na quantificação das substâncias.

1.2.2.2 Linearidades, limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ)

A linearidade de cada método foi obtida pela análise de 5 concentrações crescentes, em triplicata, em três dias diferentes. Os

resultados foram avaliados pela análise da regressão linear e pela análise da variância (ANOVA) (GraphPad Prism 6.0).

Os LD e LQ foram calculados a partir das equações das retas obtidas, e que correspondem a, respectivamente, $3,3\sigma/S$ e $10\sigma/S$, onde σ é o desvio padrão do intercepto das curvas com o eixo Y e S é a inclinação da curva de calibração.

1.2.2.3 Precisão

A precisão dos métodos foi determinada pela medida da repetibilidade (precisão intradia) em triplicata, no mesmo dia e sob as mesmas condições experimentais. Também foi determinada através da precisão intermediária (precisão interdía), analisada em três dias diferentes e por três analistas diferentes. Todos os resultados foram expressos como desvio padrão relativo (DPR).

1.2.2.4 Exatidão

A exatidão dos métodos foi verificada pelo teste de recuperação de quantidades conhecidas de MLX, SLC e MLC adicionadas às soluções, em três níveis de 80 a 120 %, realizadas em triplicata.

1.2.2.5 Robustez

Foi analisada a partir de pequenas e deliberadas modificações nas condições do método, como o comprimento de onda de detecção, pH da fase móvel, fluxo, temperatura do forno e a proporção de solvente orgânico na fase móvel.

2 RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.1 DESENVOLVIMENTO DAS METODOLOGIAS

Em virtude da grande diferença de solubilidade entre o MLX e os *coformers* foi evidenciado que a quantificação simultânea não seria possível nos casos em que a solubilidade do MLX encontrava-se baixa (soluções de pH 1 a 5, sem agente solubilizante na solução).

Em função disso foi necessário desenvolver um método para quantificação isolada do MLX (método 1) e outros dois métodos (2 e 3) com eluição em gradiente para a quantificação dos *coformers*. Estes métodos garantem a eluição dos *coformers* no método de quantificação

do MLX e a eluição do MLX nos métodos para quantificação dos *coformers* (remoção/eluição de ambas as substâncias durante o procedimento de análise/corrida).

Nos experimentos em que foram utilizados agentes solubilizantes, a S_{MLX} aproximou-se da solubilidade dos *coformers*, permitindo a quantificação simultânea de MLX e SLC pelo método 2. Em relação ao método 3, este foi exclusivamente utilizado para a quantificação de MLC.

2.2 ESPECIFICIDADE

A análise da especificidade permitiu verificar que não houve coeluição de MLX com os *coformers* nos métodos de quantificação. Também não foi observada interferência dos agentes solubilizantes na eluição das substâncias em análise.

Na utilização do método 1 para quantificação de MLX na presença dos *coformers*, foi observado que tanto SLC como MLC não interferem na quantificação do MLX (Figura 1).

As figuras 2 e 3 demonstram que não houve coeluição de MLX com os *coformers* pelos métodos 2 e 3, porém a quantificação de MLX pelo método 3 não demonstrou ser robusta, apresentando variação da área do pico quando o MLX encontrava-se em baixas concentrações analíticas. Desta forma foi determinado utilizar o método 3 somente para quantificação de MLC.

Figura 1 – Cromatograma obtido utilizando o método 1 para quantificação de MLX.

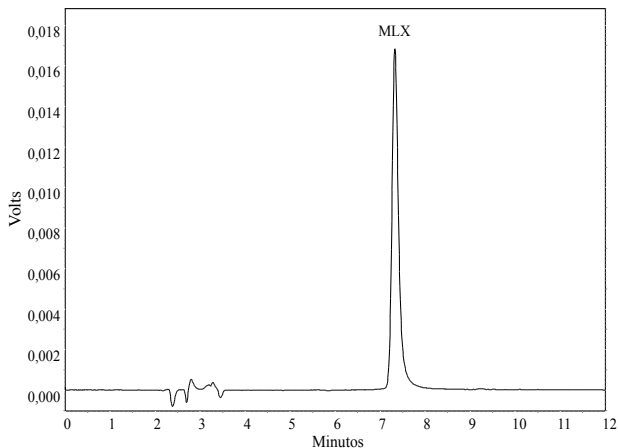


Figura 2 – Cromatograma obtido utilizando o método 2 para quantificação de MLX e SLC.

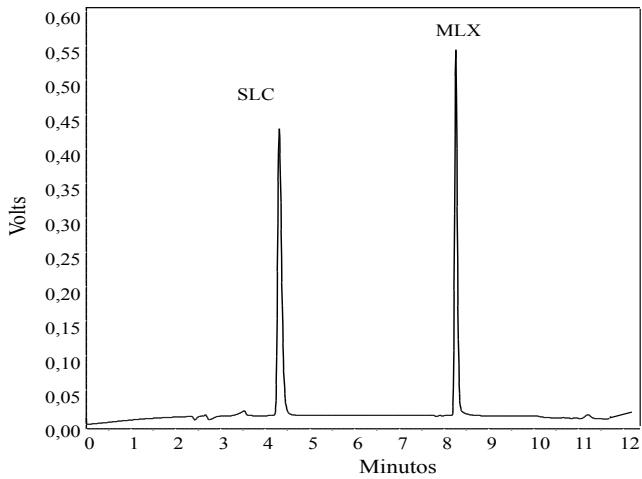
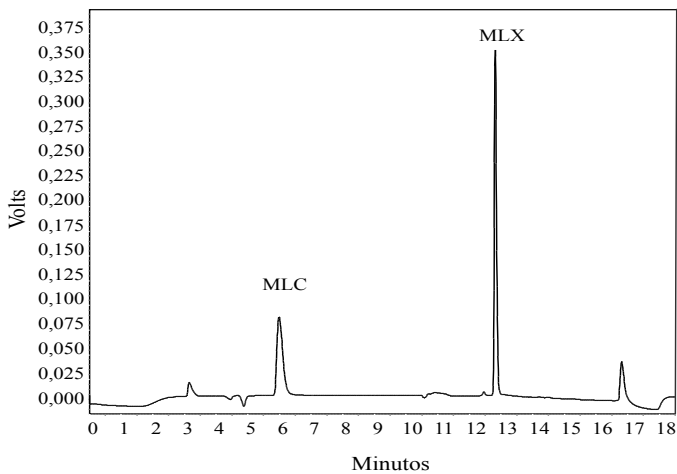


Figura 3 – Cromatograma obtido utilizando o método 3 para quantificação de MLC.



2.3 LINEARIDADES, LQ e LD

O MLX apresenta solubilidade extremamente dependente do pH e baixa em pHs ácidos (1 a 5), não permitindo, em alguns casos, a diluição prévia da amostra, devido à concentração analítica muito baixa. Em função disso houve a necessidade de realizar a avaliação da linearidade em diferentes condições para os casos em que o MLX deveria ser analisado sem a diluição da amostra. Assim para a quantificação de MLX pelo método 1 foram elaboradas 3 curvas de calibração com diferentes faixas de linearidade e diluentes.

Os resultados das curvas de calibração e os LQ e LD calculados encontram-se descritos nas Tabelas 5, 6 e 7. A análise estatística de variância (ANOVA) permitiu observar que a regressão linear foi significativa e o desvio de linearidade não foi significativo ($p < 0,05$) para as linearidades apresentadas, com coeficientes de correlação superiores a 0,99 (BRASIL, 2003).

Tabela 5 – Resultados das curvas analíticas obtidas para o método 1 de quantificação do MLX.

Parâmetro	Curva HCl 0,1M pH 1,0 ^a	Curva Tampão acetato pH 3,5 ^a	Curva MeOH ^a
Faixa ($\mu\text{g}/\text{mL}^{-1}$)	0,075 – 5,0	0,075 – 5,0	2,0 – 75,0
LD ($\mu\text{g}/\text{mL}^{-1}$)	0,005	0,0075	0,15
LQ ($\mu\text{g}/\text{mL}^{-1}$)	0,0160	0,025	0,40
Intercepto (a)	2447,2	141,0	24064
Inclinação (b)	33810	18972	55596
Coefficiente de correlação	0,9995	0,9993	0,9998

^a Refere-se ao diluente utilizado na curva de calibração.

Tabela 6 - Resultados das curvas analíticas obtidas para o método 2 de quantificação do MLX e SLC.

Parâmetro	MLX	SLC
Faixa ($\mu\text{g}/\text{mL}^{-1}$)	10,0 – 100,0	10,0 -100,0
LD ($\mu\text{g}/\text{mL}^{-1}$)	1,00	1,30
LQ ($\mu\text{g}/\text{mL}^{-1}$)	3,35	4,34
Intercepto (a)	32940	26436
Inclinação (b)	46697	52033
Coefficiente de correlação	0,9999	0,9999

Curvas preparadas utilizando tampão acetato de amônio 25 mM pH 6,8:MeOH (50:50 v/v) como diluente.

Tabela 7 – Resultados da curvas analíticas obtidas para o método 3 de quantificação do MLC.

Parâmetro	MLC
Faixa ($\mu\text{g}/\text{mL}^{-1}$)	10,0 – 100,0
LD ($\mu\text{g}/\text{mL}^{-1}$)	2,47
LQ ($\mu\text{g}/\text{mL}^{-1}$)	8,14
Intercepto (a)	6969,3
Inclinação (b)	14418
Coefficiente de correlação	0,9998

Curva preparada utilizando tampão acetato de amônio 25 mM (pH 2,5) como diluente.

2.4 PRECISÃO

A precisão dos métodos foi demonstrada através da repetibilidade (intra-dia, n=6) e precisão intermediária (inter-dia, n=3). Os valores de DPR obtidos para a repetibilidade e para a precisão intermediária foram: $\leq 1,0$ para MLX, SLC e MLC, estando em acordo com o critério de aceitação de 5,0% (BRASIL, 2003).

2.5 EXATIDÃO

A exatidão dos métodos foi calculada pela porcentagem de recuperação, cujos valores compreenderam a faixa de (99,81 – 101,31) % de MLX, (99,98 – 101,02) % de SLC e (100,02 – 101,13) % de MLC, com DPR menor que 2,0 %.

2.6 ROBUSTEZ

Os resultados e a faixa experimental das variáveis avaliadas para cada método estão descritos nas Tabelas 8, 9 e 10.

Os ensaios de robustez demonstraram que a resposta dos métodos não foi influenciada por pequenas e deliberadas modificações avaliadas. Não foram verificadas diferenças significativas nos teores de MLX, SLC e MLC nas condições testadas, com DPR inferior a 1,5%.

Tabela 8 – Condições cromatográficas e faixa investigada durante o teste de robustez do método 1.

Variável	Faixa investigada	Teor (%) ^a	DPR (%) ^b
pH fase móvel	6,7	99,62	1,03
	6,8	99,35	1,09
	6,9	100,04	0,90
Temperatura da coluna (°C)	20	99,61	0,96
	25	99,56	0,81
	30	99,91	0,37
Comprimento de onda (nm)	358	99,79	0,78
	360	99,60	1,33
	362	99,10	1,15

^a Média das três replicatas^b Desvio padrão relativo de cada variável

Tabela 9 – Condições cromatográficas e faixa investigada durante o teste de robustez do método 2.

Variável	Faixa investigada	Teor SLC (%) ^a	DPR (%) ^b	Teor MLX (%) ^a	DPR (%) ^b
pH fase móvel	6,7	99,62	1,03	99,67	1,41
	6,8	99,35	1,09	100,01	1,34
	6,9	100,04	0,90	99,78	0,70
Temperatura da coluna (°C)	20	100,73	0,39	100,02	0,89
	25	99,56	0,81	100,21	0,61
	30	101,41	1,03	99,08	1,33
Fluxo (mL/min)	0,9	99,87	0,78	99,56	1,45
	1,0	99,89	0,98	100,42	0,96
	1,1	100,3	1,01	100,04	1,32

^a Média das três replicatas^b Desvio padrão relativo de cada variável

Tabela 10 – Condições cromatográficas e faixa investigada durante o teste de robustez do método 3.

Variável	Faixa investigada	Teor (%) ^a	DPR (%) ^b
% MeOH	2	100,32	0,91
	4	99,76	0,51
	6	99,57	0,40
Temperatura da coluna (°C)	20	99,76	0,70
	25	100,79	1,34
	30	99,78	0,66
Comprimento de onda (nm)	238	99,95	0,88
	240	100,72	1,58
	242	100,01	0,84

^a Média das três replicatas

^b Desvio padrão relativo de cada variável

3 CONCLUSÃO

Os métodos desenvolvidos e validados mostraram-se adequados para a quantificação de MLX e SLC e MLC nos estudos realizados nesta dissertação.

4 REFERÊNCIAS

BRASIL. Portaria 899, de 29 de maio de 2003. v. n. p. 2003. Disponível em: <portal.anvisa.gov.br>. Acesso em: 05 jan. 2014.

FDA. **Analytical procedures and methods validation for drugs and biologics**. Guidance for Industry. Food and Drug Administration. Silver Spring: US. 2015.

ICH. Q2 (R1). **Validation of analytical procedures: text and methodology**. Harmonised tripartite guideline. International Conference on Harmonisation. Geneva. 2005.