

Sana Siedler

**ESTRATÉGIAS DE CRISTALIZAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO
DE COCRISTAIS E CRISTAIS MODIFICADOS DA
NEVIRAPINA**

Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre ao Programa de Pós-Graduação em Farmácia da Universidade Federal de Santa Catarina.

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

Coorientadora: Prof^ª. Dr^ª. Simone Cardoso

Florianópolis
2015

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Siedler, Sana

Estratégias de cristalização e caracterização de
cocristais e cristais modificados da nevirapina / Sana
Siedler ; orientadora, Sílvia Lucia Cuffini ;
coorientador, Simone Cardoso. - Florianópolis, SC, 2015.
129 p.

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

Inclui referências

1. Farmácia. 2. Nevirapina. 3. Cristal oco. 4.
Cocrystal. 5. Mecanossíntese. I. Cuffini, Sílvia Lucia .
II. Cardoso, Simone. III. Universidade Federal de Santa
Catarina. Programa de Pós-Graduação em Farmácia. IV. Título.

Dedico este trabalho à minha família:
Ana, Helio, Nacha e Flávia.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Ana e Helio, por todo apoio, carinho, conselhos e incentivo por todos esses anos. Às minhas irmãs, Nacha e Flávia, por estarem sempre conectadas comigo mesmo nas maiores distâncias.

À minhas orientadoras, Silvia Cuffini e Simone Cardoso, muito obrigada pela oportunidade, confiança e paciência. Obrigada também por estar sempre presente, pela atenção e sabedoria.

Aos colegas de laboratório, Amarilis, Ana Carolina, Andréa Mayumi, Camila, Cassiana, Daniele, Gabi, Gis, Karol, Manoela, Maria, Tati, Pablo, Paola, Tiago, Rafael e Viviane pelas risadas, convivência e troca de conhecimentos.

À Cinira, por todo ensinamento, paciência, dedicação e toda a ajuda e apoio que, com certeza, foram fundamentais.

Aos meus amigos e amigas Lia, Muriel, Diana, Nathalia, Katia, Patricia, Thayse, Isabel, Daniel e Tenisa, por me darem apoio, me ouvirem e sempre estarem prontos pra me ajudar de alguma maneira.

Ao pós-doutorando Jadel e ao professor Carlos Eduardo Maduro de Campos, pela colaboração neste trabalho.

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

À Farmanguinhos/FIOCRUZ, pela doação da matéria-prima nevirapina.

Aos Laboratórios Multiusuários de Difração de Raios X (LDRX-UFSC) e Central de Microscopia Eletrônica (LCME-UFSC), pela realização das análises de DRX (Difração de raios X) e MEV (Microscopia eletrônica de varredura), respectivamente.

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

“O desejo profundo da humanidade pelo conhecimento é justificativa suficiente para nossa busca contínua.”

(Stephen Hawking)

RESUMO

A nevirapina (NVP) é um fármaco antirretroviral pertencente à classe dos inibidores não nucleosídeos da transcriptase reversa, usado para o tratamento da infecção pelo vírus HIV. Pertence à classe II do Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB), ou seja, é pouco hidrossolúvel com alta permeabilidade. A sua solubilidade intrínseca em água é baixa, o que dá origem a dificuldades na formulação e leva a taxas de dissolução variáveis, com uma resultante diminuição na biodisponibilidade. Portanto, estratégias para melhorar as propriedades de dissolução são relevantes. Algumas delas podem apresentar modificações na química do composto (por ex: cocrystal), na estrutura cristalina (por ex: polimorfo) e/ou na morfologia (por ex: cristal oco). Este trabalho tem como objetivo desenvolver metodologias de cristalização para a preparação de cristais modificados de NVP (cocrystal e cristais ocos), visando aplicações para a indústria farmacêutica. Os cristais modificados morfologicamente, denominados cristais ocos foram obtidos a partir da cristalização antissolvente e a nova morfologia do cristal proporcionou um aumento no perfil de dissolução do fármaco. A partir da classificação dos cristais ocos no SCB, verificou-se correspondência à classe II, com um aumento da eficiência de dissolução em pH 1,2 de 9% quando comparado a matéria-prima. A mecanossíntese foi utilizada como metodologia para preparar cocrystal de NVP em forma pura com possibilidade de aplicação para a indústria farmacêutica. Foram estudados os coformadores: ácido salicílico (AS), cafeína (CAF), sacarina (SAC), ureia (URE) e teofilina (TEO). No processo de mecanossíntese usou-se, como variáveis: diferentes equipamentos de moagem, assistido por solventes ou a seco; modificações na proporção molar e no tempo de moagem. Foram obtidos cocrystal já reportados com os coformadores SAC e AS e também houve a formação de um possível novo polimorfo do cocrystal com o coformador AS ou nova forma cristalina.

Palavras-chave: Nevirapina. Cristais ocos. Cocrystal. Mecanossíntese.

ABSTRACT

Title: Strategies for the crystallization and characterization of Nevirapine cocrystals and modified crystals.

Nevirapine (NVP) is an antiretroviral drug classified as a non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor, and it is used in treatment of HIV infection. It belongs to Class II of the Biopharmaceutics Classification System (BCS), meaning it has high permeability but low solubility. Its low water solubility leads to formulation difficulties and variable dissolution rates, resulting in lower bioavailability. As such, strategies are needed to improve its dissolution properties. Some employ changes to the compound's chemical structure (e.g., cocrystals), to the crystalline structure (e.g., polymorphs), or its morphology (e.g., hollow crystals). This work aims at crystallization methods for creating modified NVP crystals (cocrystals and hollow crystals), with potential uses in the pharmaceutical industry. Morphologically modified crystals, denominated hollow crystals, were obtained through antisolvent crystallization, and the new morphology afforded an increase in the drug's dissolution profile. They conformed with Class II of the classification of hollow crystals on BCS, and the dissolution efficiency increased by 9% at pH 1.2 compared with the unprocessed compound. Mechanochemistry was used as method for producing NVP cocrystals with potential industry applications. Studies were carried with the following cofomers: salicylic acid (AS), saccharin (SAC), urea (URE), and theophylline (TEO). During mechanochemistry the subsequent variables were analysed: different grinding machines; solvent-assisted or dry; modifications in molar proportions and grinding times. We obtained the previously reported cocrystals with cofomers SAC and AS, and achieved a potential new cocrystal polymorph with cofomer AS, or a new crystalline form.

Keywords: Nevirapine. Hollow crystals. Cocrystals. Mechanochemistry.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura química da NVP.	32
Figura 2 Representação da classificação dos sólidos.	35
Figura 3. Fotografia do moinho de bolas.	50
Figura 4. Fotografia do Moinho de Jarros.	50
Figura 5. Padrões de difração de raio X de pó da (A) NVP-MP e (B) calculado da NPV-ANI (PABHIJ).	58
Figura 6. Espectroscopia no IV da NVP-MP.	58
Figura 7. Fotomicrografias MEV da NPV-MP em aumento de (A) 100x e (B) 500x.	59
Figura 8. Análise térmica por DSC e TG/DTG da NVP-MP.	59
Figura 9. Curva de calibração média da NVP-MP obtida por CLAE, com sua respectiva equação da reta e coeficiente de correlação (r).	60
Figura 10. Solubilidade da NVP-MP em função do pH, em 3; 24 e 48h.	61
Figura 11. Perfil de dissolução da nevirapina matéria-prima em meio HCl 0,1N.	62
Figura 12. Perfis de dissolução da NVP-MP conforme parâmetros do SCB (A) pH 1,2, (B) pH 4,5 e (C) pH 6,8.	63
Figura 13. Padrões de difração de raio X de pó da (A) NVP-OC-HEM, (B) calculado da NVP-HEM (TISJAH) (C) NVP-OC-ANI e (D) NVP-MP.	65
Figura 14. Fotomicrografias MEV da NVP-OC-HEM.	66
Figura 15. Fotomicrografias MEV da NVP-OC-ANI.	66
Figura 16. Espectroscopia Raman (1) e IV (2) da (A) NVP-MP, (B) NVP-OC-HEM e (C) NVP-OC-ANI.	67
Figura 17. Sobreposição da molécula da NVP anidra (PABHIJ) com a molécula da NVP hemi-hidrato (TISJAH).	68
Figura 18. Análise térmica por DSC da (A) NVP-MP, (B) NVP-OC-HEM e (C) NVP-OC-ANI.	69
Figura 19. Análise térmica por DSC e TG/DTG da amostra NVP-OC-HEM.	69
Figura 20. Comparação entre os perfis de dissolução da (A) NVP-MP, (B) NVP-OC-HEM e (C) NVP-OC-ANI em meio HCl 0,1 N.	70
Figura 21. Comparação dos perfis de dissolução em pH 1,2 da (A) NVP-MP e (B) NVP-OC-ANI.	71
Figura 22. Comparação dos perfis de dissolução em pH 4,5 da (A) NVP-MP e (B) NVP-OC-ANI.	72
Figura 23. Comparação dos perfis de dissolução em pH 6,8 da (A) NVP-MP e (B) NVP-OC-ANI.	73

Figura 24. Gráfico comparativo da eficiência de dissolução (%) entre (A) NVP-MP e (B) NVP-OC-ANI.....	74
Figura 25. Solubilidade da NVP-OC-ANI em função do pH em diferentes tempos.	75
Figura 26. Solubilidade em função do pH da (A) NVP-MP e (B) NVP-OC-ANI em 24h.....	75
Figura 27. Gráficos da permeabilidade da NVP em sentido bidirecional, em diferentes concentrações.	77
Figura 28. Diagrama de fluxo mostrando o método, suas variáveis e o número de amostras obtidas em cada método.....	79
Figura 29. Padrões de difração de raio X de pó das amostras NVP:AS-SEC-1:1 e NVP:AS-SEC-2:1 comparados com os padrões calculados da nevirapina (NVP), do ácido salicílico (AS) e do cocristalreportado NVP:AS 2:1.	81
Figura 30. DSC das amostras NVP:AS-SEC-1:1 e NVP:AS-SEC-2:1 comparadas com a nevirapina matéria-prima (NVP-MP), o ácido salicílico (AS) e a mistura física NVP:AS.	82
Figura 31. Padrões de difração de raio X de pó das amostras NVP:CAF-SEC-1:1 e NVP:CAF-SEC-2:1 comparados com os padrões calculados da nevirapina (NVP) e da cafeína (CAF).	83
Figura 32. DSC das amostras NVP:CAF-SEC-1:1 e NVP:CAF-SEC-2:1 comparadas com a nevirapina matéria-prima (NVP-MP), a cafeína (CAF) e a mistura física NVP:CAF.	85
Figura 33. Padrões de difração de raio X de pó das amostras NVP:SAC-SEC-1:1 e NVP:SAC-SEC-2:1 comparados com os padrões calculados da nevirapina (NVP), da sacarina (SAC) e do cocristalreportado NVP:SAC 2:1.....	86
Figura 34. DSC das amostras NVP:SAC-SEC-1:1 e NVP:SAC-SEC-2:1 comparadas com a nevirapina matéria-prima (NVP-MP), a sacarina (SAC) e a mistura física NVP:SAC.	87
Figura 35. Padrões de difração de raio X de pó das amostras NVP:URE-SEC-1:1 e NVP:URE-SEC-2:1 comparados com os padrões calculados da nevirapina (NVP) e da ureia (URE).	88
Figura 36. DSC das amostras NVP:URE-SEC-1:1 e NVP:URE-SEC-2:1 comparadas com a nevirapina matéria-prima (NVP-MP), a ureia (URE) e a mistura física NVP:URE.....	89
Figura 37. Padrões de difração de raio X de pó das amostras NVP:AS-MET-1:1-4h e NVP:AS-MET-2:1-4h comparados com os padrões calculados da nevirapina (NVP), da sacarina (SAC) e do cocristalreportado NVP:SAC 2:1.....	93

Figura 38. Padrões de difração de raio X de pó das amostras NVP:AS-CLOR-1:1-24h e NVP:AS-CLOR-2:1-24h comparados com os padrões calculados da nevirapina (NVP), da sacarina (SAC) e do cocristal NVP:SAC 2:1 reportado.....	94
Figura 39. DSC das amostras NVP:AS-MET-1:1-4h24h e NVP:AS-MET-2:1-4h comparadas com a nevirapina matéria-prima (NVP-MP), o ácido salicílico (AS) e a mistura física NVP:AS.....	95
Figura 40. DSC das amostras NVP:AS-CLOR-1:1-24h e NVP:AS-CLOR-2:1-24h comparadas com a nevirapina matéria-prima (NVP-MP), o ácido salicílico (AS) e a mistura física NVP:AS.....	96
Figura 41. Padrões de difração de raio X de pó das amostras NVP:CAF-MET-1:1-24h e NVP:CAF-MET-2:1-24h comparados com os padrões calculados da nevirapina (NVP) e da cafeína (CAF).	97
Figura 42. DSC das amostras NVP:CAF-MET-1:1-24h e NVP:CAF-MET-2:1-24h comparadas com a nevirapina matéria-prima (NVP-MP), a cafeína (CAF) e a mistura física NVP:CAF.	98
Figura 43. Padrões de difração de raio X de pó das amostras NVP:SAC-MET-1:1-4h e NVP:SAC-MET-1:1-4h comparadas com os padrões calculados da nevirapina (NVP), da sacarina (SAC) e do cocristal reportado NVP:SAC 2:1.	99
Figura 44. DSC das amostras NVP:SAC-MET-1:1-4h e NVP:SAC-MET-2:1-4h comparadas com a nevirapina matéria-prima (NVP-MP), a sacarina (SAC) e a mistura física NVP:SAC.	100
Figura 45. Padrões de difração de raio X de pó das amostras NVP:URE-MET-1:1-24h e NVP:URE-MET-2:1-24h comparados com os padrões calculados da nevirapina (NVP) e da ureia (URE).....	101
Figura 46. DSC das amostras NVP:URE-MET-1:1-24h e NVP:URE-MET-2:1-24h comparadas com a nevirapina matéria-prima (NVP-MP), a uréia (URE) e a mistura física NVP:URE.	102
Figura 47. Padrões de difração de raio X de pó das amostras NVP:TEO-MET-1:1-24h e NVP:TEO-MET-2:1-24h comparados com os padrões calculados da nevirapina (NVP) e da teofilina (TEO).....	103
Figura 48. DSC das amostras NVP:TEO-MET-1:1-24h e NVP:TEO-MET-2:1-24h comparadas com a nevirapina matéria-prima (NVP-MP), a teofilina (TEO) e a mistura física NVP:TEO.	104
Figura 49. Demais padrões de DRX das amostras do screening de cocristais usando como coformadores: (A) AS, (B) CAF, (C) SAC, (D) TEO e (E) URE	127

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Doseamento da nevirapina matéria-prima usando como referência o padrão de nevirapina da USP.	61
Tabela 2. Rendimento da cristalização antissolvente da NVP	64
Tabela 3. Eficiência de dissolução (%) com desvio padrão da NVP-MP e da NVP-OC-ANI em pH 1,2; 4,5 e 6,8.	73
Tabela 4. Coeficientes de permeabilidade aparente (P_{app} , $\times 10^{-5}$ cm/s) obtidos em estudos bidirecionais para as concentrações 7,5, 75 e 750 micromolar.	76
Tabela 5. Resumo da avaliação da NVP-MP e a NVP-OC-ANI no SCB comparando com a classe I e II (FDA, 2000).	78
Tabela 6. Relação das amostras obtidas por moagem da NVP/coformador a seco, descrevendo o nome da amostra, o coformador, a proporção molar e o peso fármaco/coformador.	80
Tabela 7. Resumo dos resultados das amostras produzidas a seco pelo moinho de bolas.	90
Tabela 8. Relação das amostras obtidas por moagem da NVP/coformador assistida por solvente, descrevendo o nome da amostra, o coformador, a proporção molar, o solvente e o tempo de moagem.	90
Tabela 9. Resumo dos resultados observados para as amostras moídas assistidas por solvente, usando o moinho de jarros, separadas por coformador.	105
Tabela 10. Comparação entre os resultados obtidos pelos dos diferentes métodos de moagem e suas variáveis.	106

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Dados cristalográficos da NVP-ANI (PABHIJ), da NVP-HEM (TISJAH), do cocristal com SAC e do cocristal com AS reportados no <i>Cambridge Structural Database</i>	33
---	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA	Agencia Nacional de Vigilância Sanitária
AS	Ácido salicílico
CAF	Cafeína
CSD	“ <i>Cambridge Structural Database</i> ”
CERMAT	Núcleo de Pesquisa em Materiais Cerâmicos e Comósitos do Dep.de Engenharia Mecânica da UFSC
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
DRX	Difração de raios-X
DSC	Calorimetria exploratória diferencial
FDA	“ <i>Food and Drug Administration</i> ”
IFA	Insumo farmacêutico ativo
IV	Espectroscopia no infravermelho
LAG	“ <i>Liquid Assisted Grinding</i> ”
m/m	Massa/massa
n/n	Número de mol
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
NVP-ANI	Nevirapina anidra
NVP-HEM	Nevirapina hemi-hidrato
NVP-MP	Nevirapina matéria-prima
NVP-OC-ANI	Nevirapina cristal oco anidro
NVP-OC-HEM	Nevirapina cristal oco hemi-hidrato
pH	Potencial Hidrogeiônico
SAC	Sacarina
SCB	Sistema de Classificação Biofarmacêutica
TG	Termogravimetria
UNAIDS	Programa Conjunto das Nações Unidas
URE	Ureia
USP	“ <i>United States Pharmacopeia</i> ”

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	27
2 REVISÃO DA LITERATURA	29
2.1 HIV/AIDS	29
2.2 Nevirapina (NVP)	30
2.3 Formas cristalinas de IFAs.....	34
2.3.1 Formas cristalinas da NVP	35
2.3.2 Cocristais.....	37
2.3.3 Cristais ocos	39
2.4 Técnicas de caracterização do estado sólido	41
2.4.1 Difração de raios X (DRX)	41
2.4.2 Microscopia Eletrônica de varredura (MEV)	42
2.4.3 Espectroscopias vibracionais Raman e infravermelho (IV)	42
2.4.4 Análise térmica.....	43
2.5 Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB).....	44
3. OBJETIVOS	47
3.1 Objetivo geral.....	47
3.2 Objetivos específicos.....	47
4 MATERIAL E MÉTODOS	49
4.1 Material	49
4.2 Métodos.....	49
4.2.1 Processo de produção dos cristais modificados.....	49
4.2.1.1 Processo de produção dos cristais ocos	49
4.2.1.2 Processo de produção dos cocristais	49
4.2.1.2.1 Moinho de bolas (a seco).....	49
4.2.1.2.2 Moinho de Jarros (assistida por solvente)	50
4.2.2 Técnicas de caracterização do estado sólido	51
4.2.2.1 Difração de raio X de pó (DRX)	51
4.2.2.2 Microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	52

4.2.2.3 Espectroscopia Raman	52
4.2.2.4 Espectroscopia no Infravermelho (IV).....	52
4.2.2.5 Calorimetria exploratória diferencial (DSC).....	52
4.2.2.6 Termogravimetria (TG).....	53
4.2.3 Técnicas de caracterização das propriedades de dissolução	53
4.2.3.1 Dissolução por dispersão	53
4.2.3.2 Estudo de solubilidade	54
4.2.3.3 Permeabilidade.....	54
4.2.3.4 Doseamento da NVP-MP	55
4.2.3.5 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)	55
4.2.3.6 Solução padrão de estoque e soluções tampão.....	56
4.2.3.7 Linearidade	56
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	57
5.1 Nevirapina matéria-prima	57
5.1.1 Caracterização físico-química da NVP-MP	57
5.1.2 Doseamento, solubilidade e dissolução.....	60
5.2 Cristais ocultos	63
5.1.1 Cristalização.....	63
5.1.2 Caracterização do estado sólido.....	64
5.1.3 Dissolução, solubilidade e classificação no SCB.....	70
5.3 Cocrystalos.....	78
5.3.1 Moinho de bolas (moagem à seco).....	80
5.3.2 Moinho de jarros (assistida por solvente)	90
6 CONCLUSÕES	107
7 PERSPECTIVAS FUTURAS	109
REFERÊNCIAS.....	111
APÊNDICE A.....	127

1 INTRODUÇÃO

A nevirapina (NVP) é um antirretroviral da classe dos inibidores não nucleosídeos da transcriptase reversa, usada para o tratamento da infecção pelo HIV. Foi patenteada, em 1994, pelo grupo de Hargrave e colaboradores, do laboratório Boehringer Ingelheim Pharmaceuticals (HARGRAVE et al., 1994). Foi aprovada pelo FDA (*Food and Drug Administration*) em 1996, com o nome comercial de Viramune® (DE CLERCQ, 2009). No Brasil, a NVP tem sido amplamente utilizada como parte do esquema tríplice antirretroviral, durante a gestação, ou em dose única para mãe e recém-nascido, no momento do parto (para gestantes que não realizaram o tratamento com antirretrovirais), como forma de prevenir a transmissão vertical (HORVATH et al., 2010; KONDO et al., 2008).

Este antirretroviral apresenta como principais efeitos adversos as reações cutâneas e a hepatotoxicidade. As irritações cutâneas aparecem dentro das primeiras seis semanas em mais de 35% de indivíduos em tratamento com a NVP. Já a hepatotoxicidade pode ser verificada um pouco mais tarde, em até 12 semanas, com tendência a agravar-se com o tempo (CHEN et al., 2008; MARTÍNEZ et al., 2001; SULKOWSKI et al., 2002).

A NVP pertence à classe II do Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB), ou seja, é pouco hidrossolúvel e altamente permeável (LINDENBERG; KOPP; DRESSMAN, 2004). A sua baixa solubilidade dá origem a dificuldades na formulação e leva a taxas de dissolução variáveis, com uma resultante diminuição na biodisponibilidade (LOKAMATHA; KUMAR; RAO, 2011).

Fármacos de baixa solubilidade aquosa comumente apresentam baixa biodisponibilidade quando administrados por via oral, porque a absorção é uma etapa limitante do processo (SUGIMOTO et al., 1998) e, para que possam ser adequadamente absorvidos, os fármacos precisam primeiramente estar dissolvidos no sítio de absorção (LIU; WANG; HU, 2009; ANSEL; POPOVICH; ALLEN, 2007).

Diversas estratégias podem ser utilizadas para melhorar a solubilidade e/ou taxa de dissolução de fármacos como a NVP. Dentre elas, destacam-se os cristais modificados como: polimorfos (mono ou multicomponentes – solvatos e cocrystalos), cristais ocós e nanocristais. Estas modificações e/ou inovações proporcionam uma maior diversidade de formas sólidas possíveis de serem produzidas pela indústria farmacêutica, além de possibilitar o desenho da estrutura cristalina de interesse através de uma morfologia com propriedades

específicas. A obtenção destes cristais constitui um grande desafio para a indústria farmacêutica. Os métodos alternativos de produção, como a mecanossíntese, livre de solventes ou utilizando uma mínima quantidade dos mesmos, seguindo uma linha mais sustentável, são de grande relevância (RODRÍGUEZ-SPONG et al., 2004; SHAN; ZAWOROTKO, 2008; AAKERÖY; FASULO; DESPER, 2007; PUIGJANER et al., 2009).

Estratégias de cristalização destinadas a modificar o hábito de cristais pode ser uma abordagem promissora para melhorar as propriedades de superfície e, principalmente, a dissolução de fármacos pouco solúveis (PAULINO et al., 2013a). Ainda são poucos os estudos com cristais ocós na área farmacêutica, mas já existem relatos de fármacos com a morfologia oca (EDDLESTON-ULRICH et al. 2013; MALLETT et al. 2004; PAULINO et al., 2013b) e com aumento significativo na taxa de dissolução, como o caso dos cristais ocós do deflazacorte (PAULINO et al., 2013a).

Embora os cristais modificados ofereçam perspectivas no desenvolvimento de medicamentos, devido as alterações nas propriedades físico-químicas dos fármacos como a taxa de dissolução, solubilidade e estabilidade, esta ainda é uma área carente de pesquisa (ZAWOROTKO, 2009). Assim, estudos que permitam popularizar métodos como a mecanossíntese, bem como determinar as relações entre a estrutura cristalina e as características biofarmacêuticas dos fármacos são estratégias promissoras na área farmacêutica.

Finalmente, a NVP é um fármaco envolvido em uma questão de saúde pública no Brasil e no mundo. Desta forma, o desenvolvimento de técnicas para a obtenção de cristais modificados de NVP com melhoria das propriedades de dissolução e de produção são extremamente atraentes. A melhoria da dissolução poderia resultar em aumento da biodisponibilidade, com uma possível vantagem na diminuição da dosagem e, como consequência, dos efeitos colaterais.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 HIV/AIDS

A infecção pelo vírus HIV e a síndrome da imunodeficiência adquirida, referida como HIV/AIDS, constituem-se em doença infecciosa de grande desafio para a saúde pública mundial (OJEWOLE et al., 2008; WIGG, 2008). A infecção progressiva do sistema imunitário por parte do vírus cria uma grande vulnerabilidade a qualquer tipo de infecção oportunista e a certos tumores e cânceros. Sem tratamento, a infecção pelo vírus HIV é fatal em 5 a 10 anos (STODDART; REYES, 2006). Existem atualmente duas espécies conhecidas de HIV, HIV-1 e HIV-2. A infecção pelo HIV-1 é globalmente comum, enquanto a infecção pelo HIV-2 é mais prevalente na África Ocidental (OJEWOLE et al., 2008).

Segundo os dados da UNAIDS (Programa Conjunto das Nações Unidas) existiam no mundo, até o final de 2011, 34 milhões de pessoas portadoras de HIV, e deste total, 3,3 milhões eram crianças ou adolescentes com idade inferior a 15 anos. Neste mesmo ano, 2,5 milhões de pessoas adquiriram a doença e ocorreram 1,7 milhões de óbitos. Ainda de acordo com a UNAIDS, um total de 2,5 milhões de óbitos tem sido evitado em países de baixa e média renda desde 1995 devido à introdução de terapia antirretroviral e devido ao progresso no acesso ao tratamento (UNAIDS, 2012).

Os primeiros casos de AIDS no Brasil foram identificados no início da década de 1980, tendo sido registrados principalmente entre homossexuais adultos, usuários de drogas injetáveis e hemofílicos. Segundo o Departamento de Doenças Sexualmente Transmissíveis, AIDS e Hepatites Virais, até 2014, existiam no Brasil aproximadamente 734 mil pessoas vivendo com HIV/AIDS, correspondendo a uma prevalência de 0,4 %. De 1980 a junho de 2014, foram registrados 491.747 (65,0%) casos de AIDS em homens e 265.251 (35,0%) em mulheres. Em 2013, foram notificados 7.219 casos de HIV em gestantes e ocorreram 12.431 óbitos, com coeficiente bruto de mortalidade de 6,4/100.000 habitantes (BRASIL, 2014).

Os medicamentos antirretrovirais, os quais surgiram na década de 1980, não matam o vírus, mas impedem sua multiplicação no organismo.. Desde 1996 o Brasil distribui gratuitamente o coquetel antirretroviral para todos que necessitam do tratamento. São 313 mil pessoas que recebem, periodicamente, os medicamentos para tratar a doença (BRASIL, 2012).

Atualmente, existem 21 fármacos antirretrovirais, divididos em cinco classes: inibidores nucleosídeos da transcriptase reversa (Abacavir, Didanosina, Estavudina, Lamivudina, Tenofovir, Zidovudina e a combinação Lamivudina/Zidovudina); inibidores não nucleosídeos da transcriptase reversa (Efavirenz, Nevirapina e Etravirina); inibidores de protease (Atazanavir, Darunavir, Fosamprenavir, Indinavir, Lopinavir, Nelfinavir, Ritonavir, Saquinavir e Tipranavir); inibidores de fusão (Enfuvirtida) e inibidores da integrase (Raltegravir) (BRASIL, 2012).

Embora a terapia antirretroviral tenha contribuído significativamente para a sobrevida do paciente, a sua utilização está associada com graves efeitos secundários. Muitos fármacos desta classe sofrem extenso metabolismo de primeira passagem e degradação gastrointestinal, levando a uma baixa biodisponibilidade. A meia-vida de vários destes fármacos é curta e requer a administração em doses frequentes, o que conduz a uma diminuição da adesão do paciente. Além disso, apresentam baixa solubilidade em água, o que pode levar a dificuldades de formulação. Portanto, a busca de estratégias que permitam superar estas limitações é de fundamental importância (OJEWOLE et al., 2008).

2.2 Nevirapina (NVP)

A NVP foi o primeiro fármaco antirretroviral da classe dos inibidores não nucleosídeos da transcriptase reversa a ser aprovado pelo FDA, em 1996, com o nome comercial de Viramune®, (DE CLERCQ, 2009). No Brasil, o Viramune® é o medicamento de referência, e está disponível comercialmente na forma de comprimido simples de 200mg; comprimidos de liberação prolongada de 50 mg, 100 mg e 400 mg ou na forma de suspensão de 10mg/mL. Outros laboratórios possuem registro ativo na ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) para a fabricação da NVP, como a Fundação Oswaldo Cruz, responsável pela produção da Farmanguinhos-Nevirapina, e a Fundação Ezequiel Dias (FUNED), que produz o Nevirax. Ambos produzem somente comprimido simples de 200 mg (BRASIL, 2015).

2.2.1 Propriedades farmacológicas

A NVP está indicada, preferencialmente, para a terapêutica em combinação com pelo menos dois agentes antirretrovirais, especialmente com inibidores nucleosídeos da transcriptase reversa. A monoterapia é

justificada apenas para gestantes e recém-nascidos quando da ocorrência de não tratamento com antirretrovirais durante a gestação. Aos recém-nascidos administra-se apenas uma dose oral durante as primeiras 24 horas de vida de modo a prevenir a transmissão vertical (HORVATH et al., 2010).

No Brasil, a NVP tem sido utilizada amplamente como parte do esquema tríplice antirretroviral durante a gestação. Atinge concentração plasmática três horas após uma dose única de 200 mg e apresenta depuração plasmática relativamente baixa, permitindo sua administração duas vezes ao dia. (KONDO et al., 2008).

O efeito secundário mais comum associado à NVP é a irritação cutânea que ocorre de uma maneira geral, nas primeiras seis semanas de tratamento, em mais de 35% dos indivíduos. Em alguns casos esse efeito adverso apresenta-se severo e/ou fatal, com o desenvolvimento da Síndrome de Stevens-Johnson, da necrose epidermal tóxica e da hipersensibilidade. As irritações cutâneas têm sido descritas desde o início do uso da NVP e de modo a diminuir o risco, o fabricante (Boehringer Ingelheim) aconselha a administração em forma progressiva (CHEN et al., 2008; VIRAMUNE, 2015).

A NVP também está associada à hepatotoxicidade, e embora sua ocorrência não seja verificada no início da terapia, tende a agravar-se com o tempo de tratamento. Portanto, é indispensável o controle rigoroso das enzimas indicadoras da função hepática, e no caso do desenvolvimento de hepatite, a suspensão do tratamento com NVP. A NVP não deve ser administrada a pacientes HIV positivos portadores de hepatite (MARTÍNEZ et al., 2001; SULKOWSKI et al., 2002).

2.2.2 Propriedades farmacocinéticas

A NVP apresenta uma biodisponibilidade absoluta de aproximadamente 90%. É absorvida em todo o trato gastrointestinal com diminuição da taxa de absorção a partir do jejuno para o cólon descendente. A biodisponibilidade relativa do fármaco segue a ordem: jejuno > íleo > cólon ascendente > cólon descendente (MACHA et al., 2009). A administração intravenosa de NVP, marcada radioativamente, em adultos saudáveis, revelou uma ampla distribuição em todos os tecidos, no líquido cefalorraquidiano e amniótico, assim como no leite materno. (RISKA et al., 1999).

A NVP é altamente lipofílica e não ionizável em pH fisiológico. Com uma percentagem de ligação a proteínas de transporte do plasma (por exemplo a albumina) de 50-60%, apresenta um tempo de meia-vida

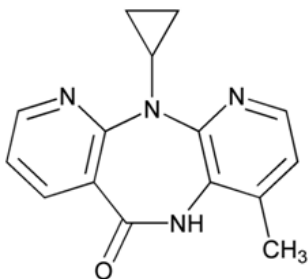
entre 25-30h, sem sofrer alterações significativas com a ingestão de alimentos (WARNKE; BARRETO; TEMESGEN, 2007).

Estudos *in vivo*, em humanos, e *in vitro*, com microsossomos de fígado humano, demonstraram que a NVP é extensamente biotransformada em vários metabólitos hidroxilados por meio de metabolismo oxidativo via citocromo P450. O metabolismo via citocromo P450, a conjugação com glucuronida e a excreção urinária de metabólitos glucuronidados representam a via primária de biotransformação e eliminação da NVP em humanos (VIRAMUNE, 2015).

2.2.3 Propriedades físico-químicas

A NVP (11-Ciclopropil-5,11-dihidro-4-metil-6H-dipirido[3,2-b:2',3'-e][1,4]diazepin-6-ona) – Figura 1 - apresenta-se como pó branco, ligeiramente solúvel em diclorometano e metanol, e praticamente insolúvel em água (BRITISH PHARMACOPEIA, 2009; UNITED STATES PHARMACOPEIA - USP, 2013). Pertence à classe II do Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB), ou seja, é pouco hidrossolúvel e altamente permeável (LINDENBERG; KOPP; DRESSMAN, 2004). É uma base orgânica fraca cujo ácido conjugado tem $pK_a = 2,8$ e, portanto, possui maior solubilidade em soluções com $pH < 3$ (PEREIRA et al., 2007). A baixa solubilidade intrínseca em água (0,06 mg/ mL) gera dificuldades na formulação e taxas de dissolução variáveis, com consequente diminuição na biodisponibilidade (LOKAMATHA; KUMAR; RAO, 2011).

Figura 1. Estrutura química da NVP.



A NVP apresenta diferentes estruturas cristalinas. No banco de dados da Cambridge (*Cambridge Structural Database- CSD*) estão depositadas a estrutura da NVP anidra (MUI et al., 1992; CAIRA et al., 2008); do fármaco hemi-hidrato (CAIRA et al., 2008; PEREIRA et al., 2007) e de dez solvatos: 1-hexanol, 1-heptanol, 1-octanol, 1-butanol, etanol (STIEGER et al., 2010a), n-butanol (DA SILVA et al., 2008), acetato de etila (CAIRA et al., 2008; PEREIRA et al., 2007), diclorometano, tolueno e 1,4 dioxano (CAIRA et al., 2008). Há ainda o depósito de cinco cocrystalis da NVP, com os seguintes coformadores: ácido glutárico, ácido maleico, sacarina, ácido salicílico e ácido tartárico (CAIRA et al., 2012). Os dados cristalográficos da NVP anidra (PABHIJ), do hemi-hidrato (TISJAH), do cocrystal com a SAC (LAQOO) e do cocrystal com o AS (LAQUU) reportados no CSD estão descritos no Quadro 1.

Quadro 1. Dados cristalográficos da NVP-ANI (PABHIJ), da NVP-HEM (TISJAH), do cocrystal com SAC e do cocrystal com AS reportados no *Cambridge Structural Database*.

PABHIJ					
Referencia:	MUI et al. (1992)				
Fórmula:	$C_{15}H_{14}N_4O$				
Sinônimo:	Nevirapina				
Grupo espacial:	P21/c	Cell	a 7.009(2)	b 18.932(6)	c 9.647(3)
Grupo espacial Nº:	14	(Å,°)	α 90.00	β 97.21	γ 90.00
Temp. (K):	295				
Densidade (g/cm ³):	1,393				
TISJAH					
Referencia:	PEREIRA et al. (2007)				
Fórmula:	$C_{15}H_{14}N_4O, 0,5(H_2O)$				
Sinônimo:	Nevirapina hemi-hidrato				
Grupo espacial:	P21/n	Cell	a 8.854(0)	b 32.115(5)	c 10.064(1)
Grupo espacial Nº:	14	(Å,°)	α 90.00	β 104.04(0)	γ 90.00
Temp. (K):	298				
Densidade (g/cm ³):	1,317				
LATQOO					
Referencia:	CAIRA et al. (2012)				
Fórmula:	$C_{15}H_{14}N_4O, 0,5(C_7H_5NO_3S)$				
Sinônimo:	Nevirapina hemi-sacarina				
Grupo espacial:	P-1	Cell	a 9.565(0)	b 13.807(0)	c 13.873(0)
Grupo espacial Nº:	2	(Å,°)	α 64.09(0)	β 79.29(0)	γ 82.69(0)
Temp. (K):	173				
Densidade (g/cm ³):	1,470				

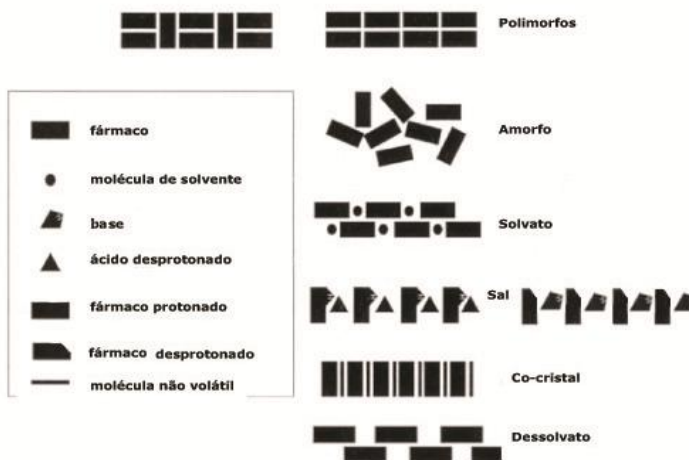
LATQUU					
Referencia:	CAIRA et al. (2012)				
Fórmula:	$C_{15}H_{14}N_4O, 0,5(C_7H_6O_3)$				
Sinônimo:	Nevirapina hemi-ácido salicílico				
Grupo espacial:	P-1	Cell	a 11.155(1)	b 12.619(1)	c 13.464(1)
Grupo espacial Nº:	2	(Å,°)	α 113.37(0)	β 99.13(0)	γ 107.32(0)
Temp. (K):	100				
Densidade (g/cm ³):	1,414				

2.3 Formas cristalinas de IFAs

Os fármacos e as suas matérias-primas também chamados de insumos farmacêuticos ativos (IFAs), como qualquer composto químico, podem apresentar-se como gases, líquidos ou sólidos. Os compostos sólidos podem ser sólidos amorfos (quando não se observa a formação de cristais, devido ao sólido possuir uma desordem em nível molecular) e sólidos cristalinos (quando as suas moléculas formam arranjos ordenados) (CUFFINI; PITALUGA JR; TOMBARI 2009).

Os sólidos amorfos e cristalinos também podem ser classificados como sólidos monocomponentes (quando contém apenas uma substância) ou sólidos multicomponentes (quando contém mais de uma substância). Os monocomponentes são sólidos que contém apenas um fármaco na estrutura cristalina ou, também, aqueles que passaram por um processo de dessolvatação e perderam as moléculas de solvente, mas que conservaram parte do retículo cristalino do solvato precursor. Os multicomponentes podem ser solvatos, sais e cocrystalais. Os solvatos possuem moléculas de solvente e do fármaco incorporadas na estrutura cristalina, quando a molécula de solvente é a água são chamados, comunmente, de hidrato. Os sais são sólidos que contém o fármaco protonado (ou não) e o seu correspondente contra-íon incorporados na estrutura cristalina. Já os cocrystalais são sólidos que possuem moléculas de diferentes fármacos e outro fármaco ou outras substâncias que em seu estado puro são sólidas a temperatura ambiente incorporadas na sua estrutura cristalina. Todos os compostos químicos monocomponentes e multicomponentes podem ter polimorfos. Polimorfismo é a capacidade de uma substância existir em mais de uma estrutura cristalina. Assim, o polimorfismo só ocorre no estado sólido e possui uma conotação cristalográfica (CUFFINI; PITALUGA JR; TOMBARI, 2009).

Figura 2 Representação da classificação dos sólidos.



Fonte: CUFFINI; PITALUGA JR; TOMBARI, 2009.

As mudanças estruturais e/ou morfológicas são alguns dos fatores intrínsecos dos fármacos que têm maior influência na taxa de dissolução dos mesmos. A solubilidade e a taxa de dissolução são aspectos relevantes para a absorção e biodisponibilidade dos fármacos de classe II e IV (CHADHA et al., 2010; PEREIRA et al., 2007).

2.3.1 Formas cristalinas da NVP

Três polimorfos de NVP pura, além de polimorfos de solvatos, têm sido reportados para a NVP, com diferentes métodos de recristalização. As formas I e II foram preparadas por recristalização a partir de diferentes solventes, a forma III foi obtida por refluxo com antissolvente.

A investigação de formas termodinamicamente mais estáveis a temperatura ambiente levou ao aparecimento de diferentes solvatos de NVP, com diferentes estequiometrias, dependendo dos solventes selecionados. O primeiro relato sobre a preparação de diferentes solvatos foi apresentado por Pereira e colaboradores, em 2007. Os pesquisadores relataram a estrutura das duas formas cristalinas solvatadas de NVP, o hemi-hidrato (NEV3) e o hemi-acetato de etila (NEV4). A caracterização física foi avaliada com calorimetria

exploratória diferencial (DSC), termogravimetria (TG), espectroscopia no infravermelho (IV) e difração de raios X (DRX). A forma hemi-hidratada é estável e ordenada, enquanto o hemi-acetato de etila é uma forma metaestável e desordenada em condições ambiente. Este estudo é uma contribuição importante para a compreensão do comportamento dos dois solvatos de NVP, uma vez que revelou uma maior taxa de liberação para a forma de NVP livre de solvente no teste de dissolução (PEREIRA et al., 2007).

CAIRA e colaboradores (2008), também, relatam diferentes solvatos de NVP com os seguintes solventes: acetato de etila, diclorometano, tolueno, água e 1,4-dioxano. A caracterização inicial de todas as formas foi realizada utilizando DSC e TG. Apesar da grande variedade de modos de inclusão de solventes nos cristais de solvatos representativos da NVP reportados no trabalho, assim como a formação de dímeros, a dessolvatação levou a um polimorfo comum da NVP (CAIRA et al., 2008).

SARKAR et al. (2008) caracterizaram a NVP de amostras comerciais e amostras cristalizadas a partir de diferentes solventes sob várias condições. O comportamento no estado sólido das amostras de NVP foi estudado utilizando uma variedade de técnicas complementares, tais como DSC, TG, IV e DRX. A dissolução intrínseca da NVP foi semelhante para ambos os lotes comerciais. As amostras recristalizadas a partir de diferentes sistemas de solventes, com diferentes polaridades, não produziram nova forma polimórfica, mas solvatos fracos com diferentes hábitos cristalinos foram obtidos. As amostras recristalizadas apresentaram valor de taxa de dissolução intrínseca inferior ao valor apresentado pela amostra comercial. Após a compressão, as amostras recristalizadas mostraram difratogramas de raios X semelhantes aos da amostra comercial (SARKAR et al., 2008).

Em 2010 CHADHA et al. exploraram a utilidade dos métodos termoanalíticos na caracterização de estado sólido de várias formas cristalinas da NVP. As diferentes formas obtidas por recristalização da NVP a partir de vários solventes foram identificadas utilizando DSC e TG. O aparecimento do pico de dessolvatação, acompanhada por perda de peso em TG, indicou a formação dos solvatos: hemi-etanolato (Forma I), hemi-acetonitrilato (Forma II), hemi-cloroformato (Forma III), hemi-THF (Forma IV), mistura de hemi-etanolato e hemi-hidrato (Forma V) e hemi-toluenato (Forma IV). Os valores de taxa de solubilidade, dissolução e entalpia de solução apresentaram concordância para todas as formas. A Forma (I), sendo a mais

exotérmica, é também a mais solúvel de todas as formas anteriormente citadas (CHADHA et al., 2010).

Recentemente foi relatado por Jin e colaboradores (2015), a estrutura de três sais de NVP, usando os ácidos orgânicos: ácido tricloroacético, ácido 3,5-dinitrosalicílico e ácido 1,5-naftalenodissulfônico. Os autores relatam a preparação, a estrutura cristalina por DRX, a análise por espectroscopia IV e a análise elementar dos três compostos. As moléculas de NVP estão ligadas, essencialmente, por pontes de hidrogênio N-H...O, formando dímeros centro simétricos. O estudo investigou as interações por pontes de hidrogênio dos sais obtidos. Em todas as estruturas a NVP está protonada, classificando-se como sais orgânicos. Estes sais não são higroscópicos, e não acompanham moléculas de solvente (JIN et al., 2015).

2.3.2 Cocristais

Cocrystal corresponde a um cristal multicomponente, o qual possui uma forma cristalina sólida contendo mais de um composto químico em sua estrutura.. Estes compostos químicos coexistem no cristal seguindo uma razão estequiométrica bem definida entre uma molécula alvo e uma molécula neutra formadora do cocrystal, denominada coformador (SHAN; ZAWOROTKO, 2008; PUIGJANER et al., 2009).

A melhoria das propriedades físico-químicas através dos cocristais farmacêuticos aproximou os campos de engenharia de cristais e ciências farmacêuticas. A tecnologia de preparação de cocristais farmacêuticos vem sendo utilizada para identificar e desenvolver novas formas de propriedades de fármacos prescritos e oferecer uma oportunidade para aumentar o número de formas de um fármaco. Pesquisas demonstraram que a modificação das propriedades físicas de compostos farmacêuticos através da obtenção de cocristais gera fármacos de melhor desempenho com relação à solubilidade e/ ou estabilidade. Portanto, a produção de cocristais é um método confiável para modificar as propriedades físicas dos fármacos, tais como a solubilidade e a taxa de dissolução, sem modificar seu comportamento farmacológico (SEKHON, 2009).

Vários estudos têm apresentado a formação de cocristais como estratégia para a área de desenvolvimento tecnológico farmacêutico. No que se refere ao aprimoramento da solubilidade do fármaco, citam-se como exemplos os estudos com a carbamazepina, a telmisartana, o

cetoconazol, o itraconazol e a gabapentina (CHADHA et al., 2014; CHILDS et al., 2008; HICKEY et al., 2007; MARTIN et al., 2013; MARTÍNEZ et al., 2001; REMENAR et al., 2003; SHAYANFAR; JOUYBAN, 2014; REDDY et al., 2009).

A presença de um grupo amida de conformação rígida na molécula de NVP sugere que a formação de cocrystal com ácido carboxílico ou coformadores de amida em particular, deve ser possível. Isto proporcionaria uma rota para formas sólidas alternativas do fármaco com as solubilidades aquosas potencialmente mais elevadas (CAIRA et al., 2012). CAIRA et al. (2012) foram os primeiros a relatar a síntese e a caracterização físico-química de cocrystal da NVP com coformadores farmacologicamente aceitáveis: sacarina, ácido tartárico, ácido maleico, ácido glutárico e ácido salicílico. A cocrystalização da NVP com ácido maleico levou ao maior aumento (aproximadamente 5 vezes) da solubilidade aquosa do fármaco.

Até o momento, foram relatadas diversas metodologias para a obtenção de cocrystal. Os métodos de formação mais comuns baseiam-se na cristalização por solventes e via moagem (HE et al., 2008). Métodos de solução incluem o método de evaporação, o método de cristalização por reação e a cristalização por resfriamento. Métodos de moagem incluem a moagem a seco, ou seja, livre de solvente e a moagem assistida por solvente. Além de métodos de solução e de moagem, existem também muitos métodos emergentes, como a cocrystalização usando fluido supercrítico (PADRELA et al., 2009, 2010), microscopia *hot-stage* e ultrassom (AHER et al., 2010; QIAO et al., 2011).

O método de moagem a seco consiste em misturar os componentes em proporção estequiométrica podendo ser triturado manualmente, utilizando um grau e um pistilo, ou mecanicamente, utilizando um moinho de bolas ou um moinho vibratório (FRISČIČ; JONES, 2009; QIAO et al., 2011).

A moagem assistida por solvente, conhecida como LAG (*Liquid Assisted Grinding*) apresenta melhorias significativas na cinética de formação de cocrystal com a adição de pequenas quantidades de um solvente adequado (SHAN; TODA; JONES, 2002). É destacada por permitir a obtenção de insumos de alta cristalinidade, apresentando direcionamento da fase sólida produzida, além de rapidez e bom rendimento. A escolha do solvente utilizado na moagem é importante, e um requisito básico é que ele deve ser capaz de dissolver, pelo menos, uma parte dos componentes originais (BRAGA; GREPIONI, 2005;

FRIŠČIĆ, 2012; FRISCIĆ et al., 2006; TRASK; MOTHERWELL; JONES, 2004).

A mecanossíntese, mais especificamente a moagem, é uma das técnicas de maior visibilidade atualmente (FRIŠČIĆ, 2010, 2012; FRIŠČIĆ; DAY, 2011; JAMES et al., 2012). Comparada com a síntese tradicional baseada em solução, a mecanossíntese permite a utilização de reagentes mais simples, reações mais rápidas realizadas à temperatura ambiente com rendimentos quantitativos, e minimização da utilização de solventes e produção de resíduos (FRIŠČIĆ, 2010).

A utilização de solventes no método de cristalização aumenta o custo do processo, a poluição ambiental e pode conduzir a problemas de solubilidade e formação de solvatos indesejados, os quais poderão ocasionar fortes limitações nas etapas de *screening* e síntese de cocristais farmacêuticos. Assim, a cocristalização via mecanossíntese tem promovido grandes melhorias em relação ao uso de solventes em processos farmacêuticos (DELORI; FRIŠČIĆ; JONES, 2012). Um exemplo importante é o do citrato de sildenafil, cujo uso de solvente na sua manufatura foi diminuído significativamente da faixa média de 25–100 kg para apenas 6 kg de solvente por quilo de produto (DUNN; GALVIN; HETTENBACH, 2004).

2.3.3 Cristais ocós

Cristais ocós são formas sólidas que apresentam, em sua morfologia, canais internos que são decorrentes do método de cristalização, e sua formação resulta de um crescimento especial e complexo. Estudos relatam o crescimento dos cristais ocós através de vários métodos, tais como: crescimento reverso do cristal (GREER et al., 2009; YANG et al., 2010; ZHOU, 2010); fusão; sonocristalização (MANISH; HARSHAL; ANANT, 2005); transição de fases (hidrato ou solvato para fase anidra) (DETTE et al., 2007); spray antissolvente (MALLET et al., 2004); difusão limitada (PERRY; UNWIN, 2013; POODT et al., 2009); cristalização por evaporação (EDDIESTON; JONES, 2010) e gradiente térmico (MARTINS et al., 2011).

O interesse por cristais ocós vem aumentando em várias áreas técnicas devido à melhoria de propriedades como aumento na área de superfície específica, e envolvem tanto compostos orgânicos (EDDIESTON; JONES, 2010; MALLET et al., 2004; MARTINS et al., 2011; PAULINO et al., 2013a) quanto compostos inorgânicos (DETTE et al., 2010; SCHUSTER; STELZER; ULRICH, 2011; YANG et al., 2010).

Na área farmacêutica os cristais ocos são ainda pouco explorados (PAULINO et al., 2013a), mas existem alguns relatos para fármacos como o acetato de dexametasona monohidratada, em que os cristais ocos foram obtidos usando a metodologia antissolvente (MALLET et al. (2004). EDDLESTON e JONES (2010) também relatam a formação de cristais ocos dos compostos farmacêuticos cafeína, carbamazepina, carbamazepina di-hidrato e teofilina mono-hidrato, usando como método a cristalização por evaporação. ULRICH et al. (2013) apresentaram a aplicação de cristais ocos como material de revestimento farmacêutico. Os autores demonstram que é possível a inclusão de substâncias nas agulhas cristalinas ocas, diversificando as suas aplicações para a indústria (ULRICH; SCHUSTER; STELZER, 2013).

Estratégias de cristalização destinadas a modificar o hábito de cristais e das partículas pode ser uma abordagem promissora para melhorar as propriedades de superfície e, principalmente, a dissolução de fármacos pouco solúveis (PAULINO et al., 2013a). Com este propósito, PAULINO e colaboradores (2013a) utilizaram o método de cristalização antissolvente para obter cristais ocos de deflazacorte, fármaco com baixa solubilidade aquosa. Diferentes condições de preparação foram avaliadas e as características físico-químicas das matérias-primas micronizada e cristalina e dos cristais obtidos foram associadas com a taxa de dissolução. Os cristais ocos obtidos demonstraram um aumento significativo no perfil de dissolução em comparação a matéria-prima micronizada e cristalina.

A técnica de cristalização antissolvente consiste na utilização de um solvente, em que o fármaco seja solúvel, e um antissolvente, em que o fármaco seja insolúvel. A principal característica do método é que solvente e antissolvente devem ser miscíveis. Ao adicionar o antissolvente em uma solução com o fármaco dissolvido, muda a solubilidade e ocorre a precipitação do fármaco. O efeito do antissolvente, basicamente, é a diminuição da solubilidade do fármaco na solução. É uma técnica simples, rápida e com possibilidades de permitir modificações para aumentar as quantidades de fármaco produzido, permitindo escalonamento do processo, com aplicação vantajosa para a indústria farmacêutica (PAULINO et al., 2013b; VIÇOSA et al., 2012).

Em relação à NVP não foram encontrados, até o momento, relatos de cristais ocos.

2.4 Técnicas de caracterização do estado sólido

Devido às diferentes formas encontradas no estado sólido, uma ampla variedade de técnicas analíticas devem ser utilizadas para os estudos de caracterização e transformação de fármacos (CHIENG; RADES; AALTONEN, 2011), tais como: microscopia eletrônica de varredura (MEV), calorimetria diferencial exploratória (DSC), difração de raio X de pó (DRX), espectroscopia no infravermelho (IV), espectroscopia de Raman e ressonância magnética nuclear (RMN) (TAYLOR; TANNA; SAHOTA, 2010).

Apesar de algumas das técnicas acima serem usadas para detectar polimorfismo, a existência de polimorfos (ou formação de solvato) é definitivamente estabelecida por DRX, pois esta possibilita identificar a fase ou forma cristalina (BRITAIN, 1997; TAYLOR; TANNA; SAHOTA, 2010). Técnicas espectrais e termoanalíticas devem ser consideradas como informações de suporte e auxiliar, não podendo ser individualmente empregadas como prova definitiva da existência de polimorfismo (BRITAIN, 1997).

2.4.1 Difração de raios X (DRX)

A difração de raios X (DRX) é o método de referência para a obtenção e caracterização da estrutura cristalina de um sólido. A difratometria de raios X baseia-se na propriedade intrínseca de cada cristal em desviar, em um ângulo específico, a direção dos raios X. Os ângulos de desvio ou espalhamento da radiação provocam um padrão de difração único para cada forma cristalina e/ou estrutura cristalinica permitindo, assim, uma impressão digital para a sua identificação (DONG; BOYD, 2011). As características de dispersão em materiais não cristalinos resultam em um amplo halo nos padrões de difração característico da fase amorfa (PALERMO; ANDERSON; DRENNEN, 2012).

O padrão de DRX permite o monitoramento da forma cristalina de um fármaco durante os vários estágios de desenvolvimento, pois qualquer mudança no estado sólido devido às interconversões polimórficas, dessolvatação de solvatos, formação de hidratos e mudanças do grau de cristalinidade podem ser detectadas por esta técnica. Além disso, a DRX é uma técnica não destrutiva (KARJALAINEN et al., 2005).

2.4.2 Microscopia Eletrônica de varredura (MEV)

A microscopia eletrônica de varredura é uma ferramenta amplamente utilizada para estudar os aspectos morfológicos, na escala de microns, de matérias-primas e amostras obtidas por diferentes métodos de preparação (BYRN et al., 1999; SHUR; PRICE, 2012). Considerando que os polimorfos podem apresentar diferentes hábitos cristalinos e/ou morfologias, a MEV representa uma ferramenta bastante útil na caracterização deste tipo de sólido, uma vez que a morfologia e/ou o hábito cristalino também podem influenciar nas propriedades como taxa de dissolução, compressibilidade e fluxo dos pós (STEELE, AUSTIN, 2009).

Na MEV, a superfície da amostra é varrida, sob vácuo, por um feixe de elétrons energéticos, que geram, como sinais, elétrons secundários espalhados. Os sinais gerados na superfície da amostra são recebidos e armazenados em *software* específico, que os converte em imagens em tons de cinza representativos do mapeamento e da contagem de elétrons (SKOOG; HOLLER; NIEMAN, 2002). Esta técnica permite resoluções altas, além de possuir um campo de visualização bastante flexível, sendo adequada para tamanhos de partícula entre 0,1 e 1000 μm (SHUR; PRICE, 2012).

2.4.3 Espectroscopias vibracionais Raman e infravermelho (IV)

As técnicas espectroscópicas Raman e infravermelho (IV) estudam as vibrações moleculares fundamentais dos sólidos moleculares (RODRÍGUEZ-SPONG et al., 2004). Estas possibilitam obter informações diretas acerca da estrutura molecular do material, pois são governadas pelas massas dos átomos constituintes e as constantes de força entre eles que afetam os modos vibracionais. Além disso, os modos vibracionais são influenciados pelo estado físico da amostra e pelas ligações inter e intramoleculares existentes, sendo muito significativas as ligações de hidrogênio. Desta forma, estas duas técnicas são úteis para a análise de sólidos e, conseqüentemente, para a determinação de polimorfismo e investigação das interações intermoleculares entre fármacos e excipientes e coformadores (HÉDOUX; GUINET; DESCAMPS, 2011; JUDGE; BROWN; HAMEL, 2008).

Na espectroscopia IV, as moléculas absorvem a radiação e sofrem rotações ou vibrações, ocasionando mudanças no dipolo. Por outro lado, na espectroscopia Raman as moléculas recebem a radiação, permanecem

temporariamente polarizadas para em seguida, reemitir a radiação recebida (HENDRA; JONES; WARNES, 1991). Isto resulta em informações complementares nos espectros Raman e IV (CHALMERS; DENT, 2006; FINDLAY; BUGAY, 1998; YU; REUTZEL; STEPHENSON, 1998).

2.4.4 Análise térmica

A análise térmica mostra-se como uma ferramenta poderosa na área farmacêutica. A técnica pode ser usada no desenvolvimento de formulações farmacêuticas; na avaliação da estabilidade dos fármacos; como ferramenta auxiliar na pesquisa de polimorfos e transições de fase (OLIVEIRA; YOSHIDA; LIMA GOMES, 2011). A análise térmica consiste na medida da transferência de calor de uma substância em função da temperatura e/ou da taxa de variação da temperatura (BYRN et al., 1999). Na área farmacêutica são utilizadas, principalmente, a termogravimetria (TG) e calorimetria exploratória diferencial (DSC).

As curvas de DSC são obtidas como fluxo de aquecimento diferencial *versus* temperatura. A área do pico relativo ao evento de fusão é diretamente proporcional à quantidade de calor absorvida ou liberada na transformação física (em mJ ou kJ/mol) (BRITAIN, 1999; GIRON, 1995).

A DSC é largamente utilizada devido à sua ampla aplicabilidade e vantagens que incluem a sua rapidez e simplicidade de obtenção de dados, gerando informações detalhadas e precisas a respeito das propriedades físicas e energéticas das substâncias (GIRON, 1998; PALERMO; ANDERSON; DRENNEN, 2012; WELLS, 2005). A técnica de DSC demonstra grande aplicabilidade quanto à identificação de transformações de fase, caracterização de hidratos e sistemas solvatados, assim como na previsão da estabilidade de compostos (BRITAIN, 1999).

A TG mede a variação de massa em função da temperatura e/ou tempo, enquanto a amostra é submetida a uma programação controlada de temperatura (FORD; TIMMINS, 1989; BRITAIN, 1999). O resultado da análise é mostrado sob a forma de uma curva termogravimétrica, a qual fornece informações relativas à composição e à estabilidade térmica da amostra, dos produtos intermediários na degradação e do resíduo formado (GIRON, 1995). Esta técnica pode fornecer informações como dessolvatação, cinética de decomposição, desidratação e degradação (BYRN et al., 1999; FORD; TIMMINS, 1989).

2.5 Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB)

A administração de medicamentos por via oral é considerada segura e conveniente, sendo amplamente utilizada. Para exercer o seu efeito terapêutico o fármaco administrado oralmente precisa alcançar a circulação sistêmica, para que alcance o local de ação na concentração e velocidade apropriada, garantindo seu efeito terapêutico (STORPIRTIS, GAI, 2009). A absorção intestinal de um fármaco é controlada por dois fatores, sendo o primeiro a solubilidade e taxa de dissolução e o segundo a permeabilidade. O primeiro fator determina a velocidade na qual o fármaco atinge sua concentração máxima nos fluidos intestinais e o segundo fator está relacionado com a taxa de fármaco dissolvido que atravessa a parede intestinal e entra na circulação portal (AMIDON et al., 1995; BOHETS et al., 2001).

O Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB) criado por AMIDON e colaboradores (1995) foi um dos grandes avanços na área de biofarmácia. O propósito do SCB é fornecer uma ferramenta regulatória para substituir determinados estudos de bioequivalência por testes de dissolução *in vitro*, reduzindo a exposição de voluntários sadios aos fármacos candidatos aos testes de bioequivalência, reduzindo, também custos e tempo necessários para os processos de desenvolvimento de produtos farmacêuticos (LENNERNÄS; ABRAHAMSSON, 2005).

O SCB leva em consideração três fatores importantes que afetam a velocidade e extensão da absorção de formas farmacêuticas sólidas de liberação imediata: solubilidade, permeabilidade e dissolução. Com base nesses parâmetros, o SCB divide os fármacos em quatro classes (AMIDON et al., 1995):

- **Classe I** – fármacos com alta solubilidade e alta permeabilidade. Considera-se que o fármaco é bem absorvido e que o fator limitante para a absorção é a dissolução a partir da forma farmacêutica ou o esvaziamento gástrico, caso a dissolução seja muito rápida.
- **Classe II** – fármacos com baixa solubilidade e alta permeabilidade. A dissolução *in vivo* é o fator que controla a absorção oral, que normalmente é inferior à obtida com fármacos da primeira classe.
- **Classe III** – fármacos com alta solubilidade e baixa permeabilidade. Nesta classe a permeabilidade é o fator

limitante, sendo que o perfil de dissolução apresentado será bem definido e simplificado.

- **Classe IV** – fármacos com baixa solubilidade e baixa permeabilidade, ou seja, fármacos que apresentam problemas significativos para a administração oral.

Segundo o SCB, um fármaco é considerado altamente solúvel quando a quantidade da maior dosagem disponível no mercado é solúvel em 250 mL ou menos de meio aquoso, em uma faixa de pH de 1,0 -7,5 a $37 \pm 1^\circ\text{C}$. A fim de ser enquadrado na classe I, também é necessário que o fármaco apresente 85% de dissolução em 30 min para garantir a sua bioequivalência. Para ser considerada de alta permeabilidade, a absorção o fármaco deve ser de 90% ou mais de uma dose administrada, com base na determinação do balanço de massa ou em comparação com uma dose intravenosa de referência (FDA, 2000).

O FDA lançou, no ano 2000, o guia “Guidance for Industry: Waiver of *in vivo* bioavailability and bioequivalence studies for immediate-release solid oral dosage forms based on biopharmaceutics classification system”, descrevendo os critérios e as análises que devem ser realizadas para se obter a bioisenção, baseado no SCB. Modelos animais ou *in vitro* capazes de prever a extensão da absorção podem ser utilizados, como por exemplo, modelos utilizando culturas de células epiteliais (FDA, 2000). Recentemente o FDA publicou uma revisão desse guia (FDA, 2015).

No caso da NVP, é relevante verificar o aumento da dissolução dos cristais modificados nas condições preconizadas no SCB.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Desenvolver estratégias e metodologias de cristalização na preparação de cocristais e cristais ocos de NVP , visando aplicações para a indústria farmacêutica.

3.2 Objetivos específicos

- Aplicar o método de cristalização antissolvente para obtenção de cristais de NVP com hábito cristalino oco;
- Preparar cocristais farmacêuticos contendo NVP, usando como metodologia a mecanossíntese via moagem a seco e assistida por solvente;
- Realizar a caracterização físico-química da matéria-prima e das formas cristalinas obtidas para a NVP, através de análises térmica, microscópica, cristalográfica e espectroscópica;
- Avaliar as propriedades de dissolução e de solubilidade da NVP matéria-prima e da NVP obtida com o morfologia oca, usando como método de quantificação a cromatografia líquida de alta eficiência;
- Realizar a classificação dos cristais ocos obtidos no Sistema de Classificação Biofarmacêutica, avaliando solubilidade, perfil de dissolução e permeabilidade;
- Realizar a caracterização em estado sólido dos lotes de cocristais obtidos.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Material

A matéria-prima da NVP (NVP-MP) usada neste estudo foi doada pelo Laboratório de Sistemas Farmacêuticos Avançados (LaSiFa) da Farmanguinhos, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brasil. O padrão de referênciada NVP foi proveniente da USP (U.S. Pharmacopeia), lote F0D159 e teor de 99,7%. Todos os solventes e reagentes utilizados nas análises foram de grau analítico.

4.2 Métodos

4.2.1 Processo de produção dos cristais modificados

4.2.1.1 Processo de produção dos cristais ocós

A cristalização foi realizada partindo-se de uma solução saturada do fármaco utilizando a técnica de adição antissolvente. A solução da amostra foi preparada por dissolução sobressaturada com quantidade apropriada de NVP-MP em metanol e aquecimento entre 55 °C e 65°C. A água foi imediatamente adicionada à solução quente. Este método de cristalização é chamado de antissolvente. Neste caso o solvente é metanol e o antissolvente a água. A proporção de metanol: água foi 1:3 (v/v). À temperatura ambiente, o processo de cristalização foi interrompido após 24h, com filtração. As amostras cristalizadas foram retidas em papel filtro quantitativo (28µm de poro) e as amostras foram secas em estufa a 40 °C por 24h. Para a determinação do rendimento, os cristais ocós obtidos foram pesados e correlacionados à massa inicial, em termos de porcentagem (m/m). Foi realizado o cálculo de rendimento de 10 lotes, obtendo-se a média e o desvio padrão.

4.2.1.2 Processo de produção dos cocristais

4.2.1.2.1 Moinho de bolas (a seco)

A moagem foi realizada utilizando-se o moinho de bolas de alta energia Spex Mixer Mill 8000 D do Departamento de Física (UFSC), o qual está demonstrado na Figura 3.

Figura 3. Fotografia do moinho de bolas.



Para a moagem, as amostras foram acondicionadas em recipientes cilíndricos de volume 65 mL, contendo em seu interior 3 bolas de aço inoxidável de 12,7 mm de diâmetro, de modo que a taxa bola:pó (BPR) se manteve em 4,5. A proporção de fármaco/coformador foi variada entre 1:1 e 2:1 (n/n) molar, onde n= número de mol, e a proporção em massa (m/m) fármaco/coformador foi variada dependendo da massa molar dos mesmos, totalizando 2,5g. Os coformadores utilizados foram: ácido salicílico (AS), cafeína (CAF), sacarina (SAC) e ureia (URE), e o tempo de moagem foi de 3 horas. O ensaio foi realizado a seco, sem a utilização de solventes.

4.2.1.2.2 Moinho de Jarros (assistida por solvente)

A moagem foi realizada em parceria com o Núcleo de Pesquisa em Materiais Cerâmicos e Compósitos do Departamento de Engenharia Mecânica da Universidade Federal de Santa Catarina (CERMAT) que concedeu o uso do moinho de Jarros da marca CIENLAB em seu laboratório (Figura 4).

Figura 4. Fotografia do Moinho de Jarros.



Fonte: CERMAT

Essa técnica funciona a partir do movimento contínuo de rotação de jarros contendo o conjunto pós e bolas. A fim de otimizar o processo de moagem e reduzir o desperdício de material, construiu-se um aparato com o diâmetro compatível com o moinho de jarros que comporta cinco tubos falcon. Em cada tubo falcon foi colocado a matéria-prima, o coformador e o solvente com 2/3 do tubo preenchido com bolas de alumina. Os experimentos foram realizados usando os mesmos coformadores da moagem a seco (AS, CAF, SAC e URE) com a inclusão do coformador teofilina (TEO). A proporção de fármaco/coformador foi variada entre 1:1 e 2:1 (n/n) molar e a proporção em massa (m/m) fármaco/coformador foi variada dependendo da massa molar dos mesmos, totalizando 3g. Foi utilizado como solvente metanol e clorofórmio, escolhidos com base no estudo de CAIRA et al. (2012), e foram adicionados 9 mL de solvente em cada tubo. Os tempos de moagem testados foram de 4h e 24h para cada amostra. Após a moagem as amostras foram secas em estufa a 40 °C por 48h.

4.2.2 Técnicas de caracterização do estado sólido

4.2.2.1 Difração de raio X de pó (DRX)

Os padrões de difração foram obtidos no Laboratório de Difração de Raios X do Departamento de Física – UFSC, utilizando um difratômetro de raios X (Xpert Pro Multi-Purpose Diffractometer, Pan Analytical) equipado com tubo de cobre operando com corrente de 40 mA e voltagem de 45 kV, emitindo radiação $K\alpha$ ($\lambda = 1.5418 \text{ \AA}$) sobre a amostra em suporte giratório. A radiação difratada foi coletada em um detector linear (tecnologia *Real Time Multiple Strip* RTMS). As medidas foram realizadas à temperatura ambiente, varredura 2θ a partir de 4° a 50° , com passo 0.033° e tempo de 24,765 s por passo. Os arquivos com a informação cristalográfica, *Crystallographic Information File* (CIF) foram obtidos no *Cambridge Structural Database* (CSB) e foram os seguintes: PABHIJ (MUI et al., 1992), TISJAH (PEREIRA et al., 2007), LATQOO e LATQUU (CAIRA et al., 2012). Esses arquivos CIFs foram usados como referência (padrões de difração calculados) das formas cristalinas já reportadas para a identificação das amostras.

4.2.2.2 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A análise da morfologia das amostras foi avaliada por microscopia eletrônica de varredura em microscópio JEOL JSM103 6390LV do Laboratório Central de Microscopia Eletrônica (LCME) da UFSC. As amostras foram dispersas em fita de dupla face de carbono e o recobrimento foi realizado com filme de ouro sobre todo o *stub* porta-amostra. A voltagem de aceleração do feixe primário foi de 10 kV. As amostras foram analisadas pelo menos em 5 regiões para certificar que a imagem apresentada fosse representativa da amostra. Foram estudados 3 lotes da NVP-OC-HEM e da NVP-OC-ANI.

4.2.2.3 Espectroscopia Raman

Os experimentos Raman foram realizados no Laboratório de Difração de Raios X do Departamento de Física – UFSC, utilizando o equipamento dispersivo Peak Seeker 785 (RAM-PRO-785) com resolução espectral de 6 cm^{-1} , operando com laser diodo de 785 nm e potência de 100 mW na fonte. A luz laser foi focalizada na amostra por uma objetiva de 4x, gerando um campo de análise de $2\text{ }\mu\text{m}$ de diâmetro, e a radiação Raman foi coletada em geometria de retro-espalhada por uma câmera CCD (dispositivo de carga acoplada) refrigerada por efeito termo-elétrico. Todos os espectros foram registrados em temperatura ambiente, numa janela espectral de 180 a 2000 cm^{-1} , com o mesmo tempo de aquisição (10 s). As amostras foram analisadas sobre lâminas de vidro.

4.2.2.4 Espectroscopia no Infravermelho (IV)

Os espectros IV foram obtidos no Laboratório de Controle de Qualidade em temperatura ambiente usando um equipamento Perkin Elmer Frontier FT-IR, em uma faixa espectral de 500 a 4000 cm^{-1} , com uma média de 4 varreduras em resolução espectral de $0,4\text{ cm}^{-1}$.

4.2.2.5 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

As curvas de DSC foram obtidas no Laboratório de Controle de Qualidade em célula DSC-60 Shimadzu utilizando cadinhos de alumínio hermeticamente fechados com aproximadamente 2 mg de amostra. Foram realizados ciclos únicos de aquecimento na faixa de temperatura de $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ a $300\text{ }^{\circ}\text{C}$, sob atmosfera dinâmica de Nitrogênio (50 mL/min) e

razão de aquecimento de 10 °C/min. Um cadinho de alumínio vazio selado foi utilizado como referência. O equipamento foi previamente calibrado com índio (ponto de fusão: 156,6 °C, entalpia de fusão = 28,54 J/g) e zinco (ponto de fusão 419,6 °C). Os dados térmicos obtidos foram processados em software TA-60.

4.2.2.6 Termogravimetria (TG)

As curvas TG foram obtidas no Laboratório de Controle de Qualidade em termobalança modelo TGA-50 da marca Shimadzu, utilizando cadinho de platina aberto. Aproximadamente 2,5mg de amostras foram analisadas na faixa de 30 a 600 °C, à uma taxa de aquecimento de 10 °C/min e sob atmosfera dinâmica de N₂ de 50mL/min. O equipamento foi previamente calibrado com um padrão de oxalato de cálcio, com pureza determinada de 99,99%. Os dados térmicos obtidos foram processados em software TA-60.

4.2.3 Técnicas de caracterização das propriedades de dissolução

4.2.3.1 Dissolução por dispersão

A avaliação dos perfis de dissolução da NVP foi realizada no Laboratório de Controle de Qualidade usando o dissolutor Varian modelo VK7000.

Primeiramente foi realizado o perfil de dissolução usando o Aparato II de dissolução (pá), na velocidade de 100 rpm, temperatura de $37 \pm 0,5$ °C, 100 mg de amostra em 900 mL de meio HCl 0,1 M, realizado em triplicata (SARKAR; PERUMAL; PANCHAGNULA, 2008).

Perfis de dissolução usando os parâmetros do SCB também foram realizados em triplicata, usando o Aparato II de dissolução (pá), na velocidade de 50 rpm, temperatura de $37 \pm 0,5$ °C e 200 mg de amostra. Volume de 900 mL das soluções tampão em pH 1,2, 4,5 e 6,8 foram os meios utilizados.(FDA, 2000).

Para ambos os testes, 5 mL de amostra foram coletados nos tempos de 5, 10, 20, 30, 60, 90, 120 e 180 min, e o volume de meio foi repostado após cada coleta. As alíquotas coletadas foram filtradas em papel filtro quantitativo (tamanho de poro 28um), e analisadas por CLAE.

A eficiência de dissolução (ED) das amostras foi estabelecida calculando-se a área sob a curva de dissolução (método dos

trapezoides), proposta inicialmente por Khan e Rhodes (KHAN; RHODES, 1975). O valor de ED foi determinado pela razão entre a área sob a curva de dissolução compreendida entre 0 e 180 min ($ASC_{0-180\text{ min}}$) e a área total do retângulo (ASC_{TOTAL}), definido pela ordenada (100 % de dissolução) e pela abcissa (180 min), conforme a equação abaixo. As áreas sob a curva foram determinadas através do *software Image Tool* versão 3.0.

$$ED (\%) = ASC_{0-180\text{ min}} \times 100 / ASC_{TOTAL}$$

4.2.3.2 Estudo de solubilidade

A solubilidade foi medida conforme os parâmetros estabelecidos para o SCB, descritos pelo guia para indústria do FDA (2000) nos seguintes pHs: 1,2; 2,8; 4,5; 6,8 e 7,5, e foi determinada a partir da adição de um excesso de fármaco nos meios mantidos sob agitação durante 48 horas à temperatura de $37,0 \pm 0,2$ °C. Após intervalos de 3, 24 e 48 horas, alíquotas de 5mL foram coletadas e filtradas em papel filtro quantitativo com tamanho de poro de 28 μm . E a fase líquida foi analisada por CLAE. A fase sólida foi verificada por DRX e DSC para garantir que não houve transição de fase durante o ensaio.

4.2.3.3 Permeabilidade

Nos estudos in vitro de permeabilidade intestinal foi empregado o modelo de permeabilidade com células Caco-2, previamente padronizado no Laboratório de Virologia Aplicada da UFSC. Para tal, células Caco-2 (ATCC # HTB 37), entre as passagens 114-116, foram cultivadas conforme descrito em detalhes anteriormente (KRATZ et al., 2011).

Para os experimentos de transporte, monocamadas celulares foram cultivadas em insertos com membranas permeáveis de policarbonato a 37°C, em uma atmosfera de 5% de CO_2 , com uma densidade de 100.000 células por inserto ($0,6\text{ cm}^2$), por um período entre 21 e 25 dias para permitir a diferenciação celular. A integridade da monocamada celular foi avaliada através da resistência elétrica transepitelial (TEER) e da permeabilidade ao *Lucifer Yellow* (LY – marcador de integridade). Foram utilizadas apenas monocamadas com valores de $TEER \geq 200\ \Omega\text{cm}^2$ antes e após os experimentos, e valores de permeabilidade para o LY $\leq 5,0 \times 10^{-7}\text{ cm/s}$.

Os experimentos de transporte foram realizados em ambos os sentidos absorptivo (AB, apical-basolateral) e secretório (BA, basolateral-apical), com diferentes concentrações das amostras: 7,5 uM - 75 uM - 750 uM, correspondentes a 0,01 / 0,1 / 1 da concentração teórica obtida com a dissolução de 50 mg do fármaco em 250 mL de fluidos gastrointestinais.

Empregou-se como meio de transporte o tampão aquoso HBSS (pH 6,5 e 7,4 nos compartimentos apical e basolateral, respectivamente, a fim de mimetizar as condições *in vivo*). Durante os 90 minutos de incubação (37°C, 150 rpm), alíquotas foram obtidas e submetidas à análise por CLAE.

Os resultados, expressos como coeficiente de permeabilidade aparente (P_{app}), foram calculados de acordo com a equação: $P_{app} = (\Delta Q/\Delta t) \times 1/AC_o$, onde $\Delta Q/\Delta t$ representa a taxa de permeabilidade (quantidade de amostra permeada por segundo); A é a área de difusão das células (filtro) e C_o é a concentração inicial da amostra (BERGSTRÖM et al., 2003; TAVELIN et al., 2003).

4.2.3.4 Doseamento da NVP-MP

O doseamento da matéria-prima foi realizado usando o padrão USP como referência (lote: F0D159). Em triplicata, 10 mg de NVP-MP foram diluídos em 10 mL de solução solvente (SS) descrita no item 4.2.3.6 (concentração obtida: 0,1 mg/mL). Retirou-se 1,0 mL e realizou-se uma segunda diluição para balão volumétrico de 10 mL, que foi completado com solução SS, obtendo-se uma concentração final de 0,1 mg/mL. O mesmo processo foi realizado para o padrão USP. As amostras foram avaliadas por CLAE utilizando método descrito no item 3.2.3.5, realizando leitura em duplicata. O doseamento foi calculado por meio da correlação da área do pico com a concentração do padrão e da matéria-prima.

4.2.3.5 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)

As análises de CLAE foram realizadas no Laboratório de Controle de Qualidade em cromatógrafo Shimadzu LC-10A (Kyoto, Japão), equipado com bomba LC-10AD, desgaseificador DGU-14A, detector de comprimento de onda variável (fixado em 240 nm) SPD-10AV e unidade controladora de sistema SCL-10AVP. Os experimentos foram conduzidos em coluna cromatográfica de fase reversa Phenomenex (Torrance, Estados Unidos) Luna C18 (250 x 4,6 mm;

5 μ m), com pré-coluna C18, 4,0 x 3,0 mm, mantidas a 25 ± 1 °C. A fase móvel, composta por metanol:tampão fosfato 10mM pH 2,5 (50:50, v/v) foi eluída em modo isocrático, em vazão de 1,2 mL/min. As amostras foram filtradas em papel filtro quantitativo com tamanho de poro de 28 μ m, e um volume de 20 μ L foi injetado em duplicata (WOLLINGER et al., 2012). A aquisição dos dados foi realizada por meio de *software* CLASS-VP® V 6.14.

4.2.3.6 Solução padrão de estoque e soluções tampão

A solução padrão estoque (SE) contendo 1 mg/mL de NVP foi preparada solubilizando 50,0 mg de NVP (previamente pesada) em solução solvente (SS) composta por MeOH:H₂O:HCl na concentração 59,4:39,6:1,0 v/v/v em balão volumétrico de 50 mL. Esta solução foi estável em refrigerador por até 3 meses (WOLLINGER et al., 2012).

As soluções tampão com pH 1,2, 2,8, 4,5, 6,8 e 7,5 usadas como meio para os ensaios de dissolução e solubilidade, foram preparadas de acordo com a Farmacopeia Americana (UNITED STATES PHARMACOPEIA, 2007).

4.2.3.7 Linearidade

Transferiu-se 1,0 mL de NVP (1 mg/mL) para balão volumétrico de 10 mL, completando o volume com HCl 0,1N, obtendo-se solução com concentração de 0,1 mg/mL. Alíquotas desta solução foram transferidas para balões volumétricos de 50 mL e 100 mL para obter soluções nas concentrações de 0,04, 0,08, 0,1, 0,12, 0,14 e 0,16 μ g/mL em HCl 0,1 N. Cada concentração foi avaliada em triplicata. A curva analítica foi obtida por meio da correlação da área do pico com a concentração. A linearidade foi avaliada pela análise da regressão linear, a qual foi calculada pelo método dos mínimos quadrados e pela análise da variância.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Nevirapina matéria-prima

Matérias-primas de origem nacional ou importada são amplamente utilizadas pela indústria farmacêutica, e apesar da sua pureza química ser aceitável, frequentemente apresentam diferenças nas características do estado sólido, como polimorfismo, tamanho de partícula, morfologia e/ou hábito cristalino, entre outros. Estas características devem ser monitoradas e controladas. Desta forma, a caracterização do estado sólido nos fármacos tem se tornado uma área extremamente importante na indústria farmacêutica (BRITAIN, 1997; HUANG; TONG, 2004), sendo uma etapa primordial do controle de qualidade. Devido à correlação dos efeitos biofarmacêuticos com as propriedades físico-químicas dos insumos farmacêuticos, há um grande interesse em sua caracterização, principalmente em ensaios de pré-formulação (CARSTENSEN, 2001).

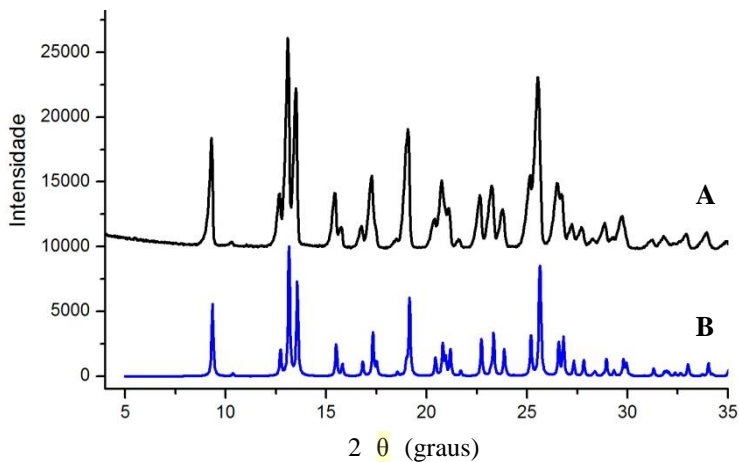
Considerando-se que o objetivo deste trabalho foi a obtenção de cristais modificados da NVP, a caracterização físico-química da matéria-prima constituiu-se em etapa fundamental para a caracterização dos cristais modificados a serem obtidos.

5.1.1 Caracterização físico-química da NVP-MP

DRX é a técnica de referência para o estudo da estrutura cristalina e para a identificação de polimorfos e formas sólidas na amostra (RODRÍGUEZ-SPONG et al., 2004; YU; REUTZEL; STEPHENSON, 1998).

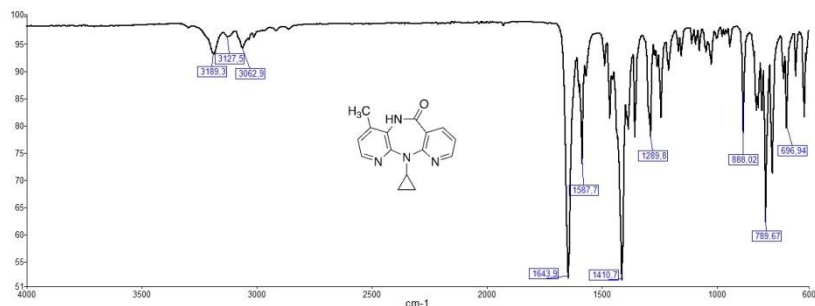
A Figura 5 apresenta o padrão de difração da matéria-prima analisada comparado com o padrão calculado da NVP anidra (PABHJ) reportado no CSB. O padrão de DRX experimental da amostra apresentou as mesmas reflexões correspondentes ao padrão de DRX calculado (PABHJ), o que confirmou a identificação da matéria prima como a forma cristalina anidra da NVP (NVP-ANI).

Figura 5. Padrões de difração de raio X de pó da (A) NVP-MP e (B) calculado da NPV-ANI (PABHIJ).



A análise do espectro de IV (Figura 6) da amostra mostrou a presença de bandas características de CO de amida cíclica na vibração de alongamento a 1644 cm^{-1} , NH e CN estiramento de anel de 7 membros de $3295\text{--}3188\text{ cm}^{-1}$.

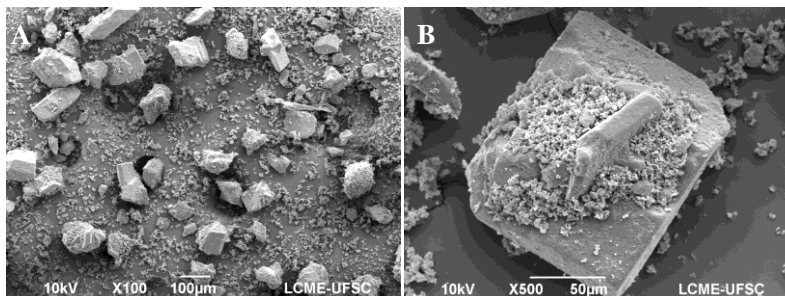
Figura 6. Espectroscopia no IV da NVP-MP.



A Figura 7 apresenta a morfologia da NVP avaliada através de MEV. As fotomicrografias da NVP foram obtidas com uma ampliação de 100x e 500x. Pode-se observar que a NVP-MP apresenta partículas finamente divididas, com variação de tamanho de partícula. Isto seria consequência do processo de moagem dos cristais. Este processo altera a

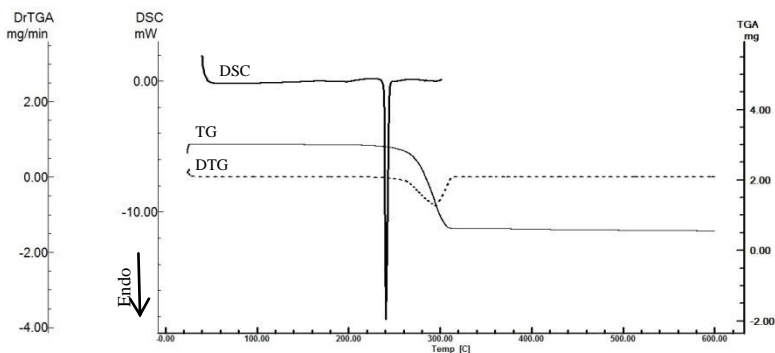
morfologia externa das partículas, tornando difícil a identificação da forma da partícula ou cristal original.

Figura 7. Fotomicrografias MEV da NPV-MP em aumento de (A) 100x e (B) 500x.



O perfil térmico da amostra, caracterizado por DSC e TG/DTG, está apresentado na Figura 8. A curva de DSC mostrou um único pico endotérmico em 240,71 °C que corresponde a um evento de fusão no intervalo entre 238,72 °C e 245,86 °C ($\Delta H = -180,46$ J/g). No que se refere ao comportamento termogravimétrico, a amostra apresentou um evento de perda de massa em T_{onset} 276,03 °C, T_{pico} 289,17 °C e T_{endset} 303,88 °C. Essa perda de massa está relacionada à degradação do composto, tendo início somente após o término da fusão. A complementação entre as curvas de DSC e TG, indicam a ausência de qualquer hidrato ou solvato.

Figura 8. Análise térmica por DSC e TG/DTG da NVP-MP.

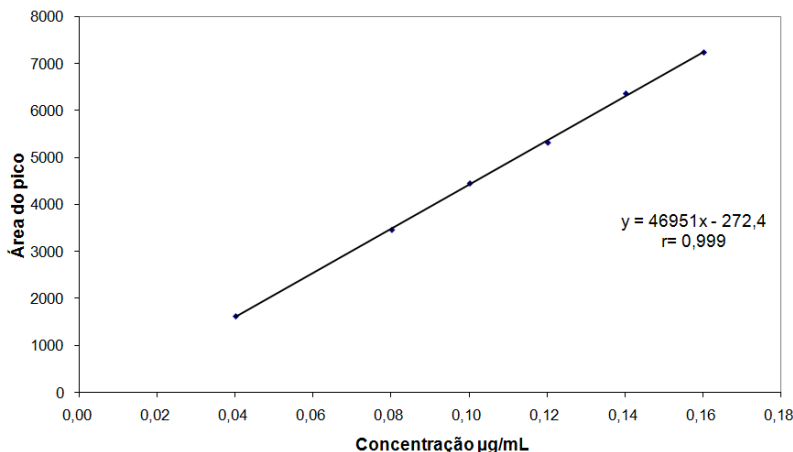


É possível concluir que as técnicas de DRX, MEV, IV, DSC e TG foram complementares e permitiram a identificação e caracterização da NVP-MP como NVP forma anidra.

5.1.2 Doseamento, solubilidade e dissolução

Para a quantificação da NVP utilizou-se a CLAE, empregando as condições previamente desenvolvidas e validadas por WOLLINGER et. al (2012). Apenas as concentrações utilizadas no presente estudo foram diferentes das propostas pelos autores. A avaliação da linearidade demonstrou que a NVP apresentou uma correlação linear na faixa de 0,04 a 0,16 $\mu\text{g/mL}$, com um coeficiente de correlação linear de 0,999 (Figura 9). A equação da reta obtida para o método foi $y = 46951x - 272,4$, onde x refere-se à concentração em $\mu\text{g/mL}$ e y corresponde à área do pico em volts.

Figura 9. Curva de calibração média da NVP-MP obtida por CLAE, com sua respectiva equação da reta e coeficiente de correlação (r).



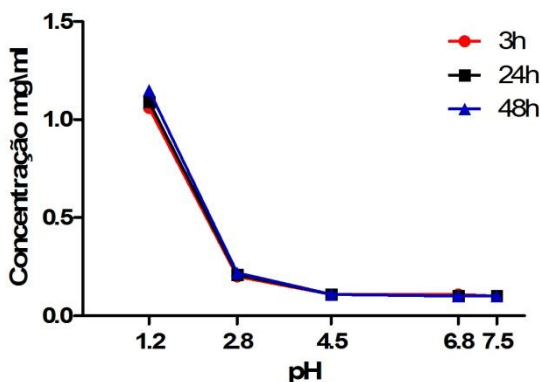
A Tabela 1 apresenta o resultado do teor de NVP-MP, o qual foi de 100,1%. Este teor foi calculado em relação ao padrão, e está em acordo com a especificação da Farmacopeia Americana para a matéria-prima do fármaco, a qual especifica teor de 98,0 a 102,0 %.

Tabela 1. Doseamento da nevirapina matéria-prima usando como referência o padrão de nevirapina da USP.

	Média das áreas do pico	Desvio padrão	CV (%)
NVP-MP	4695262	73156	1,56
NVP-Padrão	4675393	2260	0,05
Teor NVP-Padrão: 99,7%		Teor NVP-MP: 100,1%	

A solubilidade da NVP-MP foi medida em diferentes pHs, conforme indicado no guia para indústria do FDA (2000) que trata da classificação dos fármacos no SCB. Por se tratar de uma base fraca, a NVP tem uma maior solubilidade em soluções com pH menor que 3 (PEREIRA et al., 2007). O gráfico de solubilidade da NVP-MP em pH 1,2; 2,8; 4,5; 6,8 e 7,5, apresentado na Figura 10, mostra a solubilidade da NVP dependente do pH. A curva diminui exponencialmente em função do aumento do pH, até atingir um valor constante. Não houve diferença significativa nos valores da concentração entre os diferentes tempos de coleta da amostra.

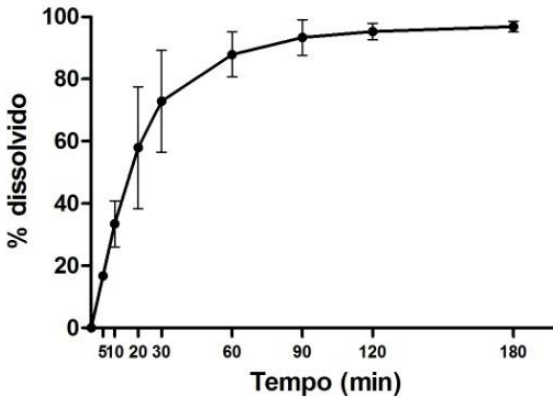
Figura 10. Solubilidade da NVP-MP em função do pH, em 3; 24 e 48h.



Primeiramente, foi realizado o perfil de dissolução da NVP-MP (Figura 11), em HCl 0,1 M, usando os parâmetros descritos por SARKAR, PERUMAL E PANCHAGNULA (2008). Observa-se que a matéria-prima levou mais de 30 min para dissolver 85% do fármaco, sendo que os primeiros pontos do estudo (10, 20 e 30 min) apresentaram CV%

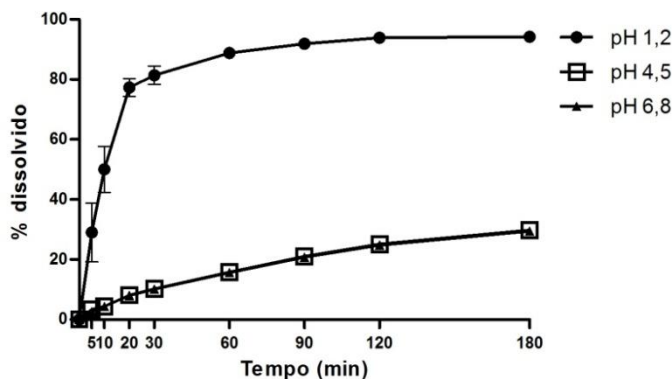
maior que 20%. Acredita-se que esta dispersão ocorreu devido à falta de molhabilidade da matéria-prima, já que o pó ficava flutuando na cuba durante o experimento e era molhado de maneira desigual.

Figura 11. Perfil de dissolução da nevirapina matéria-prima em meio HCl 0,1N.



Na Figura 12 estão apresentados os perfis de dissolução da NVP-MP realizados conforme os parâmetros do SCB, em pH 1,2; 4,5 e 6,8. Comparando-se os perfis, observa-se que as curvas de dissolução em pH 4,5 e 6,8 se sobrepõem e apresentam uma taxa de dissolução baixa, com percentual de dissolução inferior a 40% em 180 minutos. Já em pH 1,2, conforme o esperado (por ter maior solubilidade em pH <3), 94% do fármaco apresentou-se dissolvido em 180 min.

Figura 12. Perfis de dissolução da NVP-MP conforme parâmetros do SCB (A) pH 1,2, (B) pH 4,5 e (C) pH 6,8.



Com base nos resultados, conclui-se que o método para quantificação da NVP por CLAE é linear e o doseamento da matéria-prima está dentro da faixa farmacopeica. Ainda, os ensaios de solubilidade e os perfis de dissolução da NVP-MP mostram a sua baixa solubilidade em pH acima de 3.

5.2 Cristais ocós

A cristalização é um processo utilizado para produzir uma ampla variedade de materiais na indústria farmacêutica e resulta ser a última etapa na síntese de um IFA. O controle do polimorfismo, morfologia e/ou hábito cristalino é muito importante, uma vez que estes fatores podem influenciar as propriedades físicas e químicas do sólido, incluindo a taxa de dissolução e a solubilidade. O processo de cristalização também pode beneficiar a formação de cristais com características que podem levar a um incremento da velocidade de dissolução (CHEN et al., 2011; GARCIA et al., 1999).

Portanto, cristais modificados da NVP que apresentam aumento da solubilidade ou velocidade de dissolução seriam uma alternativa promissora para a melhoria de desempenho deste fármaco.

5.1.1 Cristalização

Na cristalização realizada através do método antissolvente, obteve-se cristais ocós da NVP 24 horas após a adição da água. Os

cristais foram filtrados e secos a 40 °C para a sua completa caracterização. A amostra obtida foi denominada NVP-OC-HEM, por se tratar da forma hemi-hidratada da NVP. Após a amostra ser submetida a um tratamento térmico na estufa a 100 °C por 3h foi obtida a forma anidra, a qual foi denominada NVP-OC-ANI. O rendimento médio obtido para a cristalização de 10 amostras foi de 86,4 % \pm 0,5 (Tabela 2).

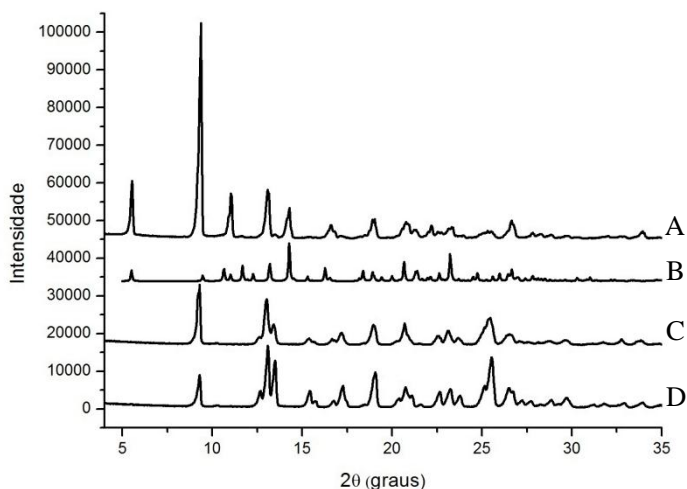
Tabela 2. Rendimento da cristalização antissolvente da NVP .

	MP (mg)	NVP-OC-ANI (mg)	Rendimento (%)
1	600,39	524,48	87,4
2	600,05	519,43	86,6
3	600,52	515,36	85,8
4	600,09	522,92	87,1
5	600,87	517,63	86,2
6	600,43	515,72	85,9
7	600,10	518,23	86,4
8	600,57	516,27	86,0
9	600,35	516,32	86,0
10	601,03	521,45	86,8
Rendimento médio (%)			86,4
Desvio Padrão			\pm 0,5

5.1.2 Caracterização do estado sólido

A identificação dos cristais ocós da NVP foi realizada utilizando DRX e DSC. A comparação entre o padrão de difração calculado da NVP hemi-hidrato (NVP-HEM), o padrão de difração da matéria-prima e os padrões de difração das amostras de cristais ocós estão mostrados na Figura 13. Conclui-se que os cristais ocós obtidos após a cristalização utilizando o método de antissolvente identificam-se com a forma hemi-hidrato (NVP-OC-HEM). Após do aquecimento os cristais apresentam a forma anidra (NVP-OC-ANI), correspondente à mesma forma cristalina ou polimorfo da matéria-prima.

Figura 13. Padrões de difração de raio X de pó da (A) NVP-OC-HEM, (B) calculado da NVP-HEM (TISJAH) (C) NVP-OC-ANI e (D) NVP-MP.



A MEV foi utilizada para analisar a morfologia dos cristais ocós obtidos. As fotomicrografias da amostra NVP-OC-HEM foram obtidas com ampliações de 150x, 200x, 400x e 500x e podem ser observadas na Figura 14. A amostra NVP-OC-ANI tem suas fotomicrografias exibidas na Figura 15 com ampliações de 50x, 200x, 500x e 1000x. Ambas amostras (hemi-hidrato e anidra) apresentam-se como cristais ocós, sendo que o hábito cristalino não foi modificado após o aquecimento da amostra hemi-hidrato para a formação da amostra anidra. Em todas as amostras foi comprovado o mesmo hábito cristalino tipo oco. As Figuras 14 e 15 podem ser consideradas representativas dos hábitos cristalinos observados nas amostras dos diferentes lotes. Estes resultados confirmam que a metodologia de cristalização utilizada para a obtenção deste tipo de cristais é reprodutível.

A formação de cristais ocós de nevirapina é inédita e, seu processo de cristalização simples possibilita a aplicação na indústria farmacêutica, sendo uma alternativa promissora para a melhora do seu perfil de dissolução.

Figura 14. Fotomicrografias MEV da NVP-OC-HEM.

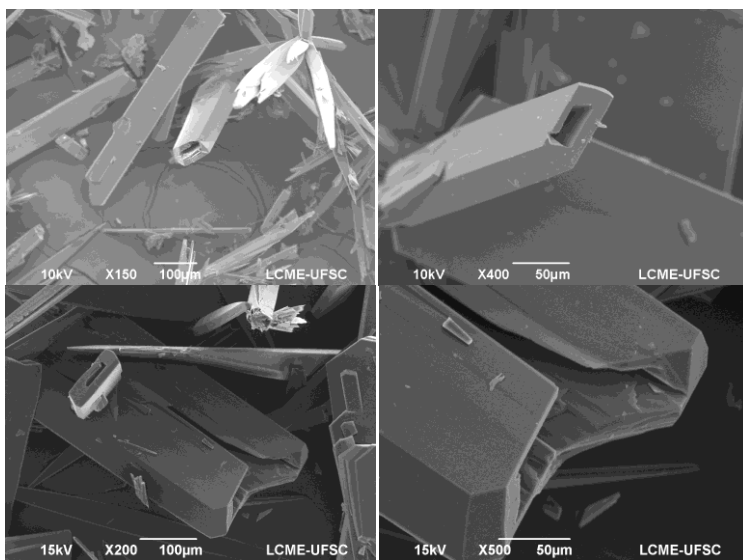
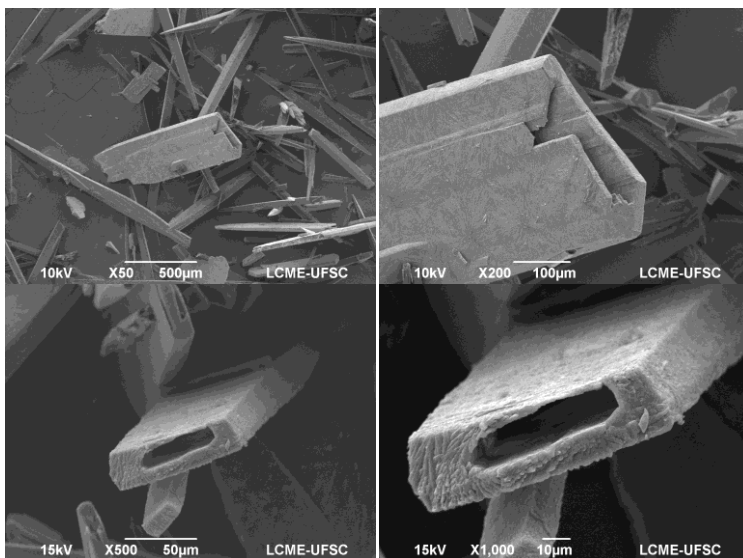
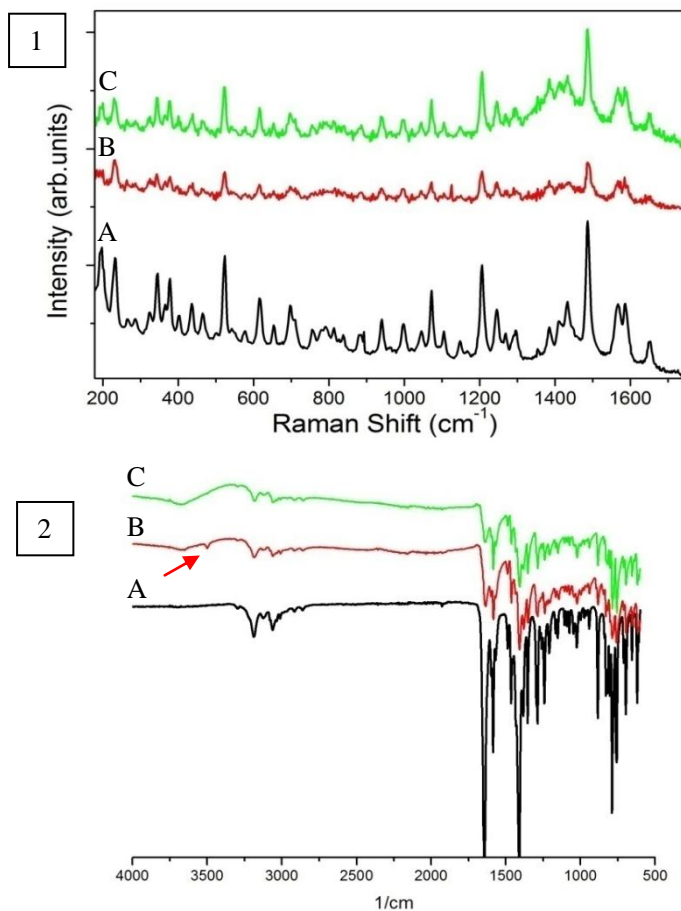


Figura 15. Fotomicrografias MEV da NVP-OC-ANI.



Os espectros de Raman e IV das amostras de NVP-OC-HEM e NPV-OC-ANID, em comparação com a NVP-MP, estão exibidos na Figura 16. Os espectros de Raman não mostram diferenças entre as amostras, indicando não ser uma técnica específica para a distinção destas amostras. Já na análise por IV, o espectro da amostra NVP-OC-HEM se diferencia dos demais por apresentar uma banda fraca em 3500 cm^{-1} . De acordo com a literatura, essa banda é característica da NVP na forma hemi-hidrato (STIEGER et al., 2010b).

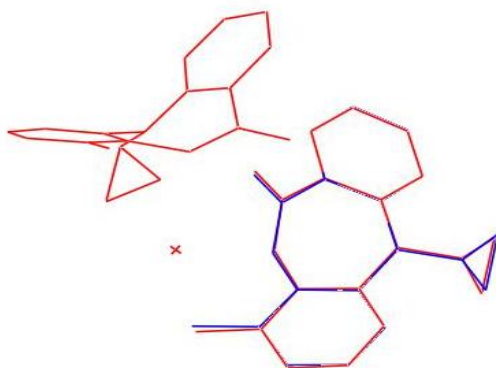
Figura 16. Espectroscopia Raman (1) e IV (2) da (A) NVP-MP, (B) NVP-OC-HEM e (C) NVP-OC-ANI.



A Figura 17 apresenta a sobreposição das moléculas de NVP-ANI e NVP-HEM; ambas apresentam a mesma conformação. A forma anidra apresenta uma única molécula na unidade assimétrica (azul), enquanto a forma hemi-hidrato apresenta duas moléculas (rosa) com altíssima sobreposição. No composto hemi-hidrato, mesmo existindo duas moléculas de NVP para uma de água, as conformações mostraram-se equivalentes à da forma anidra.

A alta sobreposição entre as conformações moleculares da forma anidra e hemi-hidrato justifica semelhança nos espectros de Raman e IV entre as duas formas cristalinas. Os espectros no IV apresentam as mesmas bandas para ambas as amostras, porém na amostra de hemi-hidrato aparece uma banda em 3500 cm^{-1} que corresponde a OH da água, justificado sua ausência na forma anidra.

Figura 17. Sobreposição da molécula da NVP anidra (PABHIJ) com a molécula da NVP hemi-hidrato (TISJAH).



O perfil térmico das amostras foi caracterizado por DSC e TG/DTG. A Figura 18 mostra a comparação das amostras de cristais puros e matéria-prima por DSC. Todas as amostras apresentam um pico endotérmico em $240,71\text{ }^{\circ}\text{C}$, o qual corresponde a um evento de fusão. A amostra B (NVP-OC-HEM) mostra, além do evento de fusão, um evento de perda de solvente em $121,12\text{ }^{\circ}\text{C}$, no intervalo entre $98,60$ e $139,58\text{ }^{\circ}\text{C}$. Na figura 19 está apresentado o TG/DTG e DSC da amostra NVP-OC-HEMI, através da TG/DTG, observa-se perda de massa antes da fusão, referente à dessolvatação da molécula. Estes resultados estão

em acordo com os valores reportados previamente na literatura (STIEGER et al., 2010b) e reforçam os resultados obtidos por DRX, de que a amostra NVP-OC-HEM corresponde à forma de hemi-hidrato.

Figura 18. Análise térmica por DSC da (A) NVP-MP, (B) NVP-OC-HEM e (C) NVP-OC-ANI.

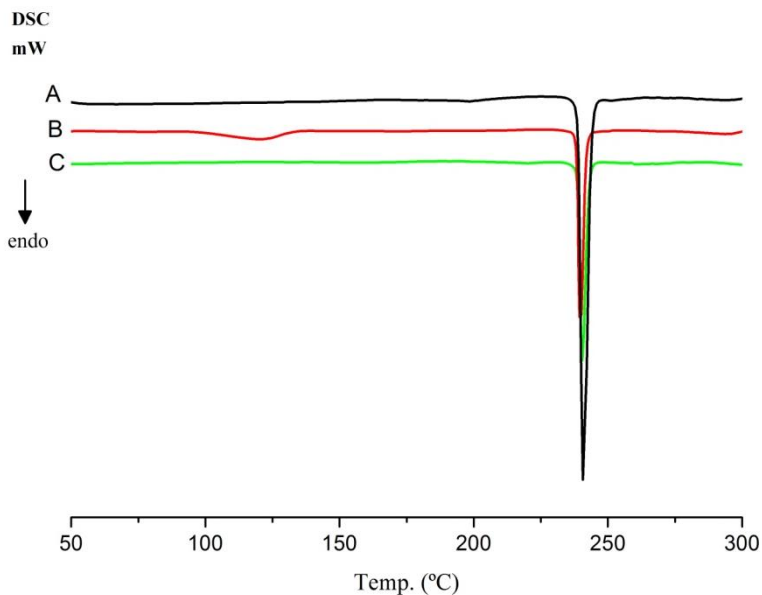
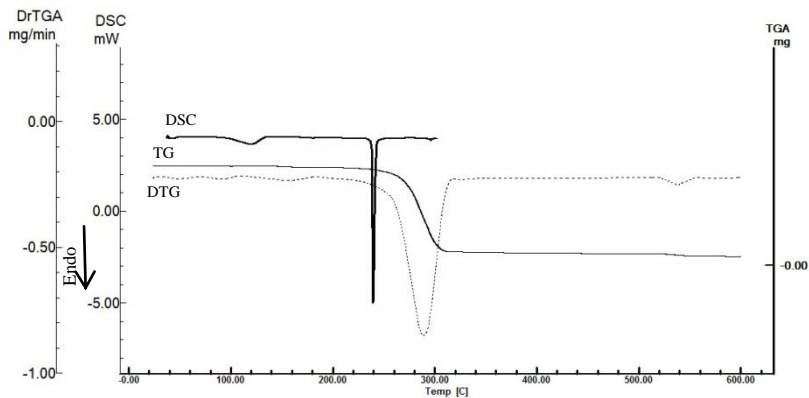


Figura 19. Análise térmica por DSC e TG/DTG da amostra NVP-OC-HEM.

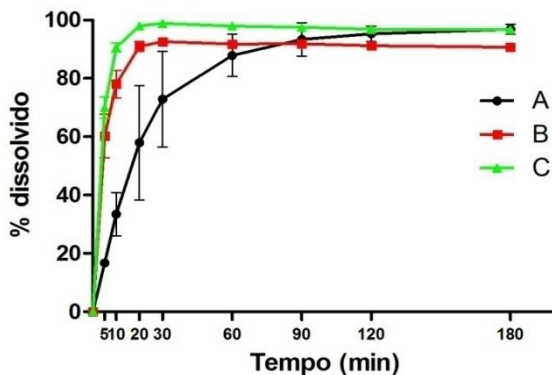


Cristais ocas na forma cristalina hemi-hidrato foram obtidos através do método antissolvente. A desidratação por aquecimento, dos ocas hemi-hidratos produz a forma cristalina anidra mantendo a forma dos cristais. As técnicas de DRX, DSC e TG podem diferenciar claramente a forma hemi-hidrato da forma anidra. Entretanto, as espectroscopias Raman e IV não são específicas para identificar as formas anidra e hemi-hidrato da NVP. As imagens por MEV confirmam a morfologia tipo oca das amostras obtidas.

5.1.3 Dissolução, solubilidade e classificação no SCB

Após caracterização do estado sólido foi realizado o perfil de dissolução das amostras de NVP-OC-HEM e NVP-OC-ANI, em HCl 0,1 M, com o objetivo de investigar se a morfologia destes cristais apresentaria vantagem no perfil de dissolução em relação à matéria-prima (NVP-MP). Na figura 20, observa-se um aumento significativo no perfil de dissolução para os cristais ocas. As amostras NVP-OC-HEM e NVP-OC-ANI apresentaram percentual de dissolução superior a 90% em 30 min, enquanto para a NVP-MP esse percentual foi de 70% no mesmo intervalo de tempo. Ainda é possível verificar que entre as amostras de cristais ocas, a NVP-OC-ANI apresentou um valor percentual dissolvido superior à NVP-OC-HEM.

Figura 20. Comparação entre os perfis de dissolução da (A) NVP-MP, (B) NVP-OC-HEM e (C) NVP-OC-ANI em meio HCl 0,1 N.

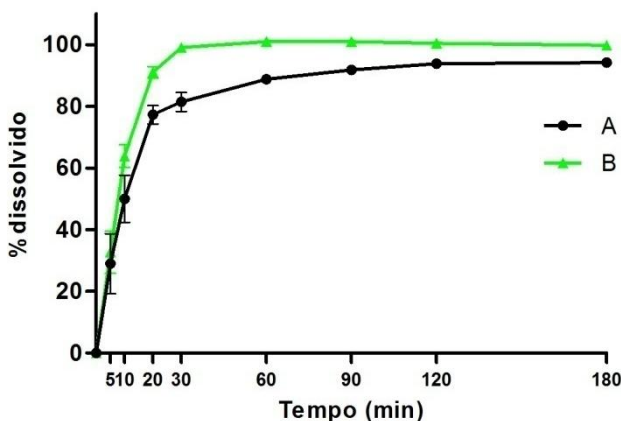


Com base nestes resultados e com a informação de que a NVP-OC-ANI apresenta-se 99% dissolvida em 30 min, considerou-se extremamente relevante classificar os cristais ocós no SCB. Assim foram realizados os experimentos de dissolução, solubilidade e permeabilidade conforme os parâmetros descritos no guia para indústria do FDA (2000), usado para classificar os fármacos no SCB.

De acordo com o SCB, para ser classificado como dissolução rápida, o fármaco deve dissolver não menos de 85% da dose (200 mg para o caso da NVP) em 30 min, e em meios com pH 1,2; pH 4,5 e pH 6,8.

O perfil de dissolução em pH 1,2, comparando a NVP-MP com a amostra NVP-OC-ANI, é mostrado na Figura 21. Observa-se que a amostra NVP-OC-ANI apresentou mudanças significativas no perfil de dissolução em relação à NVP-MP. Em 30 min a matéria-prima apresentou 81,4% de percentual dissolvido, enquanto para a amostra de cristais ocós esse valor foi de 99% no mesmo intervalo de tempo. Através da extrapolação dos pontos no gráfico apresentado na Figura 21, verifica-se que a NVP-OC-ANI apresenta 85% de dissolução em 18 minutos, enquanto que, para a NVP-MP esse valor somente é obtido em torno de 40 minutos. Desta forma, em pH 1,2 a amostra de cristais ocós é classificada como de dissolução rápida no SCB.

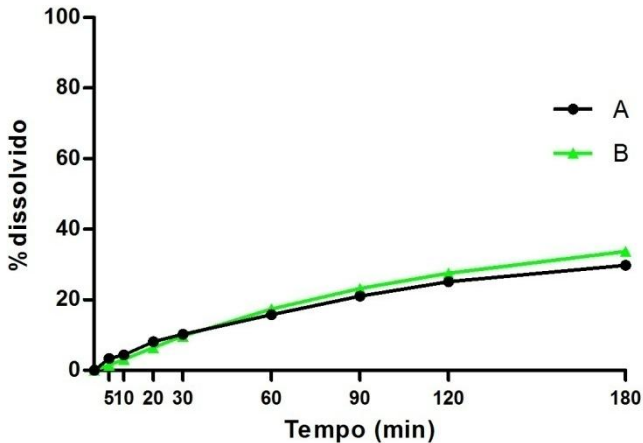
Figura 21. Comparação dos perfis de dissolução em pH 1,2 da (A) NVP-MP e (B) NVP-OC-ANI.



Os perfis de dissolução para a NVP-MP e NVP-OC-ANI em pH 4,5 estão apresentados na Figura 22. Observa-se que ambas as amostras

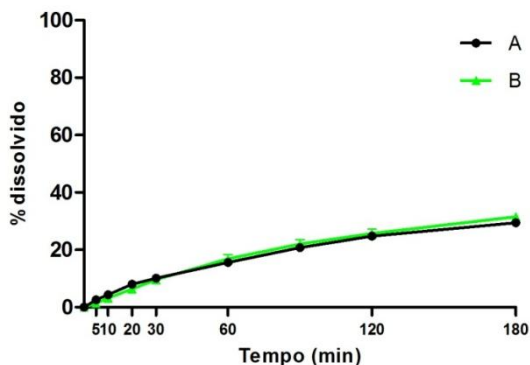
apresentaram baixa solubilidade, com percentual dissolvido inferior a 10% em 30 min. Em pH 4,5 a amostra de cristais ocós não apresentou vantagem com relação à matéria-prima, e não pode ser considerada de dissolução rápida, conforme os critérios do SCB.

Figura 22. Comparação dos perfis de dissolução em pH 4,5 da (A) NVP-MP e (B) NVP-OC-ANI.



Os perfis de dissolução para a NVP-MP e NVP-OC-ANI em pH 6,8 estão apresentados na Figura 23, e são semelhantes aos perfis em pH 4,5. A amostra de cristais ocós também não apresentou vantagem sobre a matéria-prima nesse pH. Assim, em meio pH 6,8 a amostra não atingiu o critério do SCB para a classificação como dissolução rápida.

Figura 23. Comparação dos perfis de dissolução em pH 6,8 da (A) NVP-MP e (B) NVP-OC-ANI.

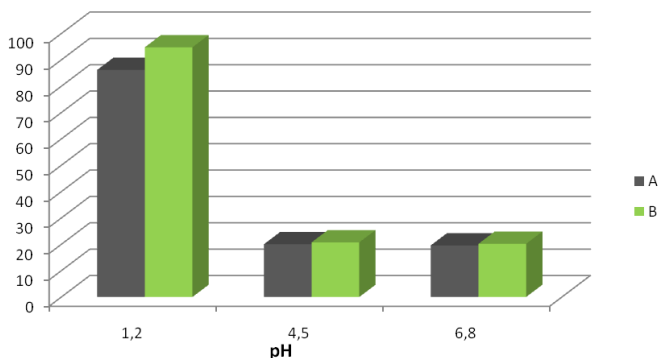


A eficiência de dissolução (ED) das amostras estão apresentadas na Tabela 3. A NVP-OC-ANI apresentou uma melhor ED em relação à NVP-MP em pH 1,2. Já em pH 4,5 e em pH 6,8 não houve diferença significativa na ED (%) entre as amostras. A Figura 24 mostra o gráfico comparativo entre as ED (%) das amostras em diferentes pHs. A NVP é uma base fraca e, portanto, apresenta diminuição da solubilidade com o aumento do pH, o que justifica a baixa ED do fármaco em pHs acima de 3.

Tabela 3. Eficiência de dissolução (%) com desvio padrão da NVP-MP e da NVP-OC-ANI em pH 1,2; 4,5 e 6,8.

Eficiência de dissolução (%)			
pH	1,2	4,5	6,8
NVP-MP	86 ± 2	20 ± 1	20 ± 1
NVP-OC-ANI	95 ± 1	21 ± 1	20 ± 1

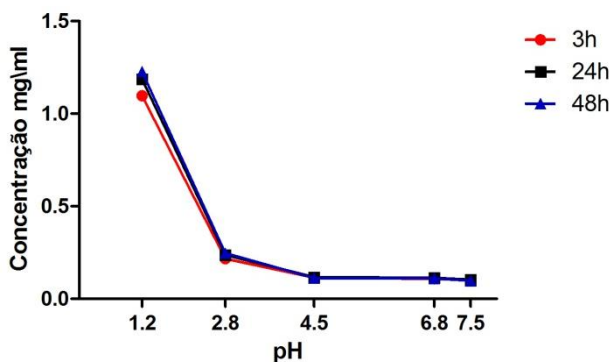
Figura 24. Gráfico comparativo da eficiência de dissolução (%) entre (A) NVP-MP e (B) NVP-OC-ANI.



Após as análises dos perfis de dissolução nos diferentes pHs, conclui-se que a amostra NVP-OC-ANI continuou sendo classificada como pertencente à classe II, devido ao seu baixo desempenho de dissolução em pH 4,5 e em pH 6,8. Entretanto, em pH 1,2, a amostra apresentou um incremento de 9% na ED em relação à matéria-prima. Portanto, conclui-se que a morfologia dos cristais ocós é responsável pelo incremento de dissolução, já que se trata do mesmo polimorfo da matéria-prima (anidro).

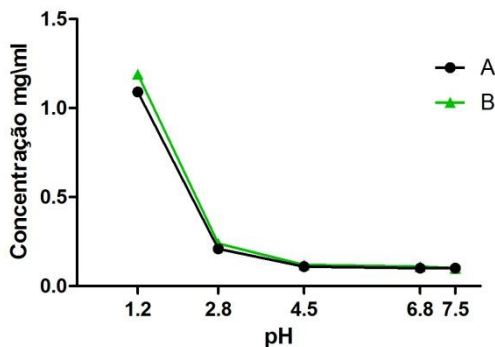
A solubilidade das amostras de NVP-OC-ANI e de NVP-MP em pH 1,2; 2,8; 4,5; 6,8 e 7,5 foram avaliadas para os ensaios do SCB. De acordo com o SCB, para o fármaco ser classificado como alta solubilidade uma dose do fármaco (200 mg para NVP) deve ser solúvel em 250 mL de meio em, pelo menos, cinco diferentes pHs na faixa de pH de 1,2 a 7,5. A Figura 25 mostra o gráfico da solubilidade da NVP-OC-ANI em função de diferentes pHs e tempos de coleta. Não houve diferença significativa nos valores de concentração entre os tempos de 24 e 48h. Assim, o ensaio de solubilidade da NVP-OC-ANI pode ser realizado em 24h.

Figura 25. Solubilidade da NVP-OC-ANI em função do pH em diferentes tempos.



A comparação da solubilidade entre os cristais ocios e a matéria-prima está apresentada na Figura 26. O gráfico mostra que tanto a NVP-MP como os cristais ocios apresentaram solubilidades dependentes do pH; ocorre redução da solubilidade com o aumento do pH. A amostra NVP-OC-ANI apresentou vantagem na solubilidade em relação à NVP-MP em pH ácido. Pelo SCB a amostra deveria ter solubilidade de, no mínimo, 0,8 mg/mL (200 mg de dose / 250mL de meio) em cada pH para ser classificada como de alta solubilidade. Em pH 1,2 obteve-se uma concentração maior que o mínimo, entretanto, nos outros pHs a concentração mínima não foi atingida. Assim a amostra de cristais ocios foi classificada como de classe II segundo o SCB.

Figura 26. Solubilidade em função do pH da (A) NVP-MP e (B) NVP-OC-ANI em 24h.



A forma sólida das amostras após o ensaio de solubilidade foi verificada por DRX e DSC. Nenhuma amostra apresentou alteração no DRX e no DSC, mostrando que não houve transição de fase durante o ensaio.

Em relação à classificação da permeabilidade, segundo os critérios do SCB adotado pelo FDA, um fármaco é considerado com alta permeabilidade se apresentar, no mínimo, 90% de absorção oral da dose administrada. Esse dado pode ser obtido pela determinação direta da transferência de massa através da membrana intestinal humana (perfusão *in vivo*), ou, indiretamente, através da fração da dose absorvida em experimentos de farmacocinética em humanos. Adicionalmente, o guia do FDA indica que é possível aplicar outros métodos, inclusive métodos *in vitro* para determinar a permeabilidade intestinal. Entre eles, encontra-se o modelo de permeabilidade com células Caco-2, empregado neste estudo para avaliação da permeabilidade da amostra NVP-OC-ANI. Durante todo o experimento o fármaco encontra-se em solução, e por isso não há a necessidade da comparação das diferentes formas cristalinas. Os coeficientes de permeabilidade aparente (P_{app} , $\times 10^{-5}$ cm/s) obtidos em estudos bidirecionais estão na Tabela 4.

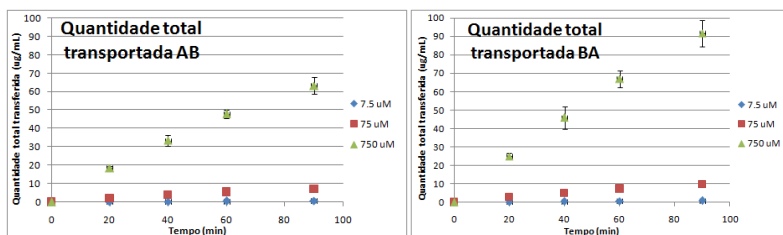
Tabela 4. Coeficientes de permeabilidade aparente (P_{app} , $\times 10^{-5}$ cm/s) obtidos em estudos bidirecionais para as concentrações 7,5, 75 e 750 micromolar.

	7,5 μ M			75 μ M			750 μ M		
	AB	BA	Efluxo	AB	BA	Efluxo	AB	BA	Efluxo
P_{APP}	8,38	8,83	1,05	7,92	8,48	1,07	7,72	8,88	1,15
DP	0,32	0,91		0,59	0,95		0,93	1,10	

Os dados obtidos revelaram um perfil de alta permeabilidade aparente para a NVP, de acordo com valores da literatura e da validação interna deste ensaio para fármacos classe I e II (KRATZ et al., 2011; TAKAGI et al., 2006). Coeficientes de permeabilidade aparente $> 1 \times 10^{-6}$ cm/s estão correlacionados com alta absorção (ARTURSSON; KARLSSON, 1991), possibilitando, assim, a classificação biofarmacêutica (FDA, 2000).

Adicionalmente, o transporte do fármaco através da membrana parece ser passivo, visto que os valores de efluxo ($P_{app\ BA} / P_{app\ AB}$) foram próximos de 1, e a quantidade total de fármaco transportada foi linear segundo a dose (Figura 27).

Figura 27. Gráficos da permeabilidade da NVP em sentido bidirecional, em diferentes concentrações.



Os resultados das análises para a classificação no SCB estão resumidos na Tabela 5, e foram comparados às classes I e II. A amostra NVP-OC-ANI manteve-se na classe II devido à sua baixa solubilidade em pH 2,8, 4,5, 6,8 e 7,5. A permeabilidade dos cristais ocós foi considerada alta, o que vai de encontro à classificação do fármaco. Os perfis de dissolução não alcançaram a classificação de dissolução rápida, por não atenderem aos parâmetros em pH 4,5 e 6,8. Entretanto, em pH 1,2, observou-se que os cristais ocós alcançaram uma dissolução rápida, o que não aconteceu com a matéria-prima. Bases fracas pouco solúveis, como a NVP, apresentam uma velocidade de dissolução muito lenta no intestino e, portanto, é de grande importância que se dissolvam rapidamente no estômago (TSUME et al., 2014).

A amostra de cristais ocós, identificada como classe II de acordo com o SCB, mostrou um significativo aumento no percentual dissolvido em pH 1,2 e por isso pode apresentar características promissoras *in vivo*.

Assim, pode-se concluir que a mudança na morfologia para cristais ocós é responsável pelo incremento na dissolução em relação à matéria-prima em pH 1,2. No entanto, estudos *in vivo* em modelos animais são necessários e poderiam demonstrar se o aumento na velocidade de dissolução em pH ácido impactaria de forma significativa na biodisponibilidade do fármaco.

Tabela 5. Resumo da avaliação da NVP-MP e a NVP-OC-ANI no SCB comparando com a classe I e II (FDA, 2000).

Solubilidade						
Dissolver 1 dose (NVP=200mg) em 250 mL de meio aquoso na faixa de pH de 1 a 7,5						
Classe BCS	pH 1,2	pH 2,8	pH 4,5	pH 6,8	pH 7,5	
I	X	X	X	X	X	<i>Alta solubilidade</i>
II	Não se dissolveu em um ou mais pHs					<i>Baixa solubilidade</i>
NVP-MP	X					<i>Baixa solubilidade</i>
NVP-OC-ANI	X					<i>Baixa solubilidade</i>
Permeabilidade						
90% ou mais da dose administrada deve ser absorvida						
Classe BCS						
I	X					<i>Alta permeabilidade</i>
II	X					<i>Alta permeabilidade</i>
NVP-MP	X (LINDENBERG; KOPP; DRESSMAN, 2004)					<i>Alta permeabilidade</i>
NVP-OC-ANI	X					<i>Alta permeabilidade</i>
Dissolução						
<i>Dissolução rápida</i> : quando não menos que 85% da dose de dissolva dentro de 30 min.						
Em meio aquoso pH: 1,2, 4,5 e 6,8						
Classe BCS	pH 1,2	pH 4,5	pH 6,8			
I	X	X	X			<i>Dissolução rápida</i>
II	Não atingir 85% em 1 ou mais pHs					<i>Não rápida</i>
NVP-MP						<i>Não rápida</i>
NVP-OC-ANI	X					<i>Não rápida</i>

5.3 Cocrystalis

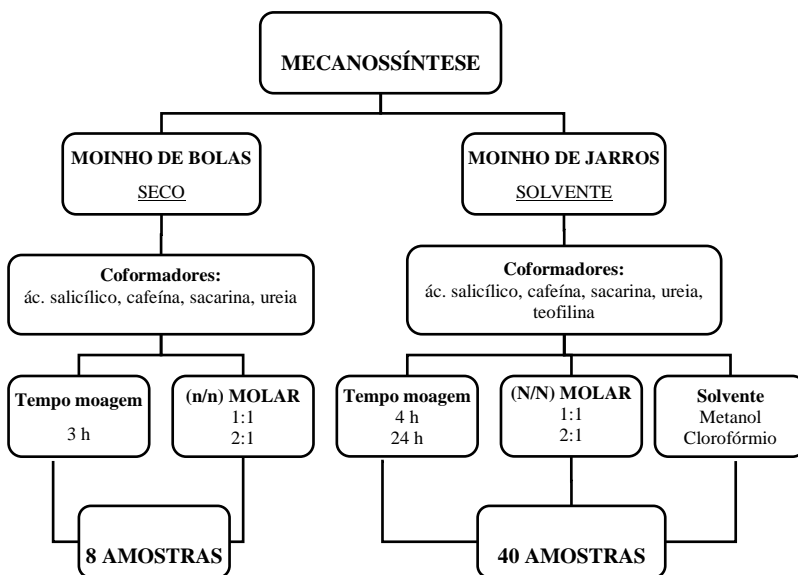
A cocrystalização constitui-se em uma modificação sólida para melhorar as propriedades físico-químicas de fármacos, e pode ser uma alternativa viável para a indústria farmacêutica (RAUBER, 2013). Diversas técnicas podem ser utilizadas para obter cocrystalis farmacêuticos, e a moagem via mecanossíntese apresenta-se como um método promissor. Trata-se de um método eficaz e vantajoso que pode ser aplicado em diversos tipos de síntese, minimizando a atual dependência de solventes da indústria farmacêutica. Apresenta, assim, vantagens ambientais e menores custos, contribuindo com a sustentabilidade do setor (JAMES et al., 2012).

Por essas razões, e por ser uma técnica que possibilita a transposição para a escala industrial, a mecanossíntese foi o método escolhido para a obtenção dos cocrystalis de NVP. O *screening* das condições da moagem foi realizado usando como variáveis o tipo de moinho, o uso em condições a seco ou com solventes, a proporção molar, os coformadores e o tempo de moagem. Entre os coformadores escolhidos estão a sacarina e o ácido salicílico já reportados por CAIRA et al. (2012). Portanto, reproduzir os cocrystalis de NVP com SAC e AS, já reportados por CAIRA et al. (2012), utilizando-se os moinhos de bola e jarros, assim como, avaliar a formação

de cocristais puros e com maior rendimento foram os objetivos propostos. Os demais coformadores (cafeína, ureia e teofilina) foram usados na tentativa de obter novos cocristais da NVP com as metodologias propostas.

A Figura 28 mostra um diagrama de fluxo com as variáveis usadas em cada moinho e a identificação e número de amostras obtidas em cada método. A fim de determinar a formação de cocristais, as amostras obtidas foram analisadas por DRX e DSC, e os resultados foram analisados fazendo uma comparação entre as amostras preparadas e os insumos iniciais (matéria-prima e coformadores). No caso dos cocristais reportados foram calculados os padrões de DRX com os dados das estruturas cristalinas dos cocristais reportados e comparados com os padrões de DRX das amostras obtidas com os diferentes métodos.

Figura 28. Diagrama de fluxo mostrando o método, suas variáveis e o número de amostras obtidas em cada método.



5.3.1 Moinho de bolas (moagem à seco)

A relação das amostras obtidas, descrevendo sua identificação e suas características como o coformador, a proporção molar e o peso em gramas do fármaco/coformador, está demonstrada na Tabela 6. Todas as amostras foram moídas por 3 horas. O tempo de 3 horas foi determinado com base na avaliação da matéria-prima submetida a diversos tempos de moagem. Neste tempo, a amostra (NVP-MP) apresentou um alargamento dos picos quando comparado com a matéria-prima, mas que não se refere a amorfização.

Tabela 6. Relação das amostras obtidas por moagem da NVP/coformador a seco, descrevendo o nome da amostra, o coformador, a proporção molar e o peso fármaco/coformador.

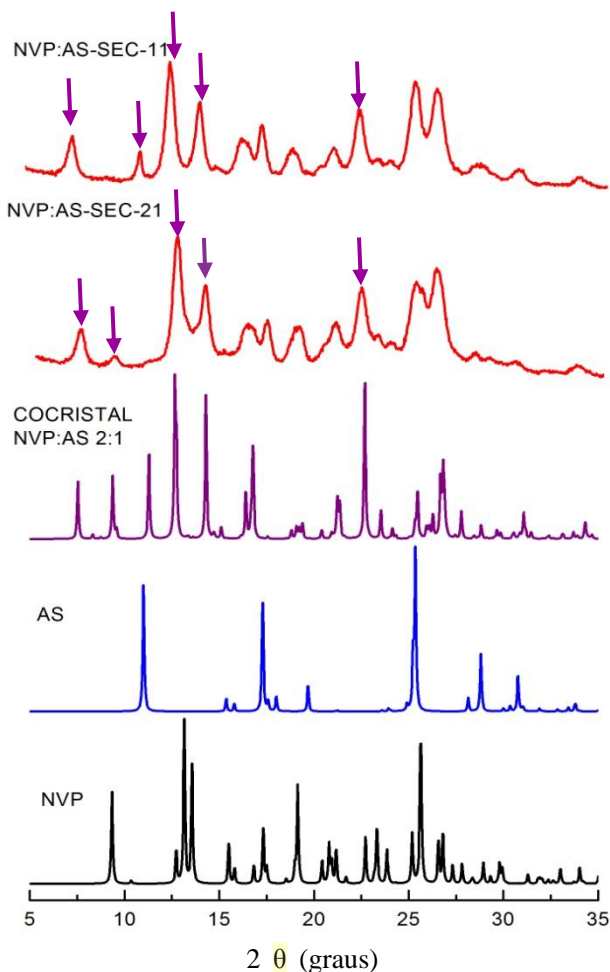
Nome amostra	Coformador	(n/n) Molar	Peso (g) fármaco/ coformador
NVP:AS-SEC-1:1	AS	1:1	1,65 / 0,85
NVP:AS-SEC-2:1	AS	2:1	1,99 / 0,51
NVP:CAF-SEC-1:1	CAF	1:1	1,45 / 1,05
NVP:CAF-SEC-2:1	CAF	2:1	1,83 / 0,67
NVP:SAC-SEC-1:1	SAC	1:1	1,48 / 1,02
NVP:SAC-SEC-2:1	SAC	2:1	1,90 / 0,60
NVP:URE-SEC-1:1	URE	1:1	2,04 / 0,46
NVP:URE-SEC-2:1	URE	2:1	2,25 / 0,25

O DRX e DSC estão apresentados na mesma sequência das amostras indicadas na Tabela 6.

As análises por DRX de pó das amostras mostrou uma diminuição do domínio cristalino, apresentando picos alargados em todas as amostras. Esse alargamento nas reflexões dificulta uma análise precisa dos dados experimentais em comparação com os padrões calculados.

A Figura 29 mostra a comparação dos padrões de DRX de pó das amostras NVP:AS-SEC-1:1 e NVP:AS-SEC-2:1 com o padrão de difração calculado da NVP (MUI et al., 1992), do AS (SUNDARALINGAM; JENSEN, 1965) e do cocristal reportado NVP:AS 2:1 (CAIRA et al., 2012).

Figura 29. Padrões de difração de raio X de pó das amostras NVP:AS-SEC-1:1 e NVP:AS-SEC-2:1 comparados com os padrões calculados da nevirapina (NVP), do ácido salicílico (AS) e do cocristal reportado NVP:AS 2:1.

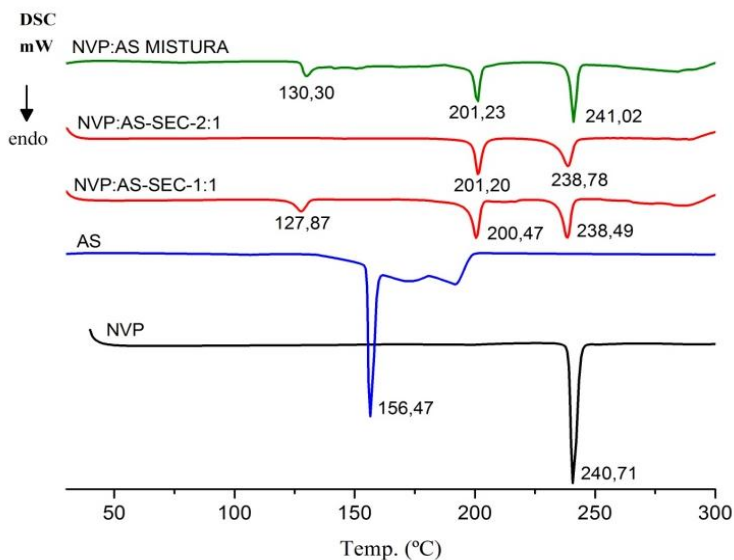


As amostras apresentaram padrões de DRX comparáveis, diferenciando-se por uma única reflexão em cada amostra. Uma reflexão em 12° é observada na amostra de proporção 1:1, enquanto na amostra de proporção 2:1 esta reflexão ocorre em 10° (2θ). Entretanto, as duas reflexões aparecem no cocristal reportado. Devido às reflexões não apresentarem uma boa resolução, não foi possível obter um resultado

conclusivo. No entanto, os resultados apresentados sugerem a formação do cocristal reportado NVP:AS 2:1 para as duas estequiometrias propostas. No caso da estequiometria 1:1, poderia existir um excesso de AS que não pode ser completamente comprovada pela alta sobreposição das reflexões e aumento da largura dos picos.

O DSC das amostras NVP:AS-SEC-1:1 e NVP:AS-SEC-2:1, em comparação com o AS e a NVP-MP, estão apresentados na Figura 30. A amostra de proporção 1:1 apresentou três endotermas, em 127,87 °C, 200,47 °C e 238,49 °C, e a amostra de proporção 2:1 apresentou duas endotermas, em 201,20 °C e 238,78 °C. O cocristal de NVP:AS 2:1 reportado por CAIRA et al. (2012) apresenta ponto de fusão em 203 °C. As duas amostras apresentaram endotermas muito próximas ao cocristal reportado. Assim, pode-se sugerir, pelas análises de DRX e DSC, que houve a formação do cocristal reportado, porém, com coformador e fármaco que não reagiram.

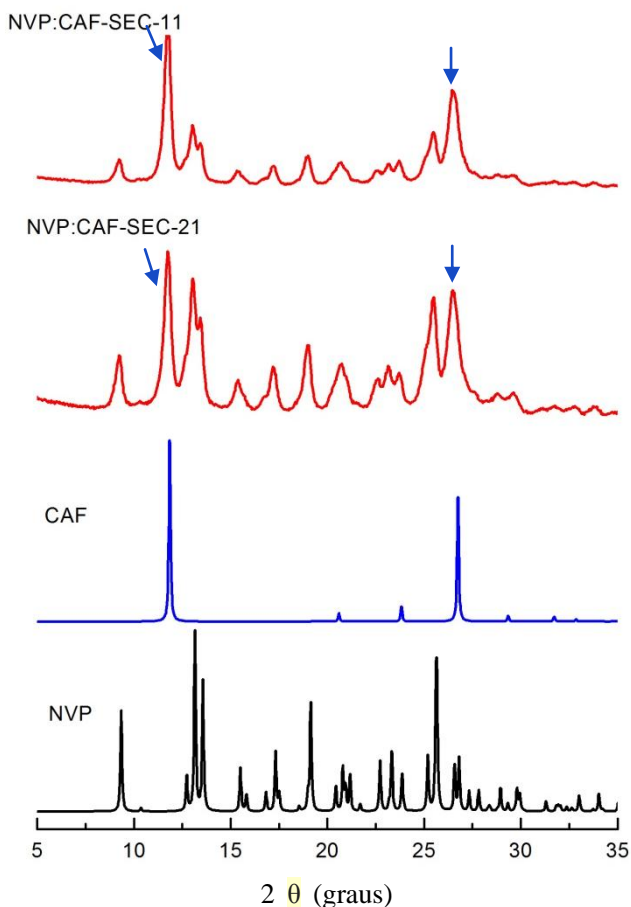
Figura 30. DSC das amostras NVP:AS-SEC-1:1 e NVP:AS-SEC-2:1 comparadas com a nevirapina matéria-prima (NVP-MP), o ácido salicílico (AS) e a mistura física NVP:AS.



Os padrões de DRX de pó das amostras que possuem a CAF como coformador estão apresentados na Figura 31. Observa-se a comparação entre os padrões de DRX de pó das amostras NVP:CAF-

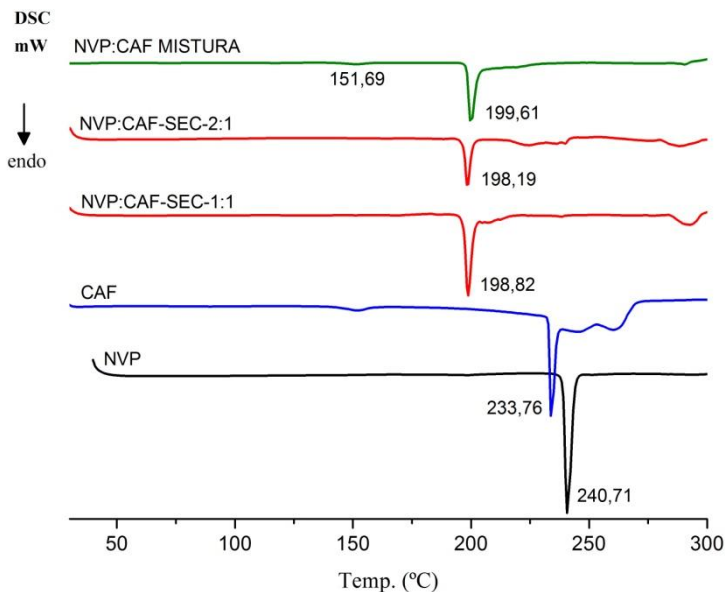
SEC-1:1 e NVP:CAF-SEC-2:1 com o padrão de difração calculado da NVP (MUI et al., 1992) e da CAF (DEROLLEZ et al., 2005). As duas amostras mostraram resultados muito semelhantes, apresentando as reflexões correspondentes a NVP-MP, e as reflexões da CAF, localizadas em 12° e 26° (2θ), principalmente. Conclui-se que não houve a formação de cocrystal para essas amostras.

Figura 31. Padrões de difração de raio X de pó das amostras NVP:CAF-SEC-1:1 e NVP:CAF-SEC-2:1 comparados com os padrões calculados da nevirapina (NVP) e da cafeína (CAF).



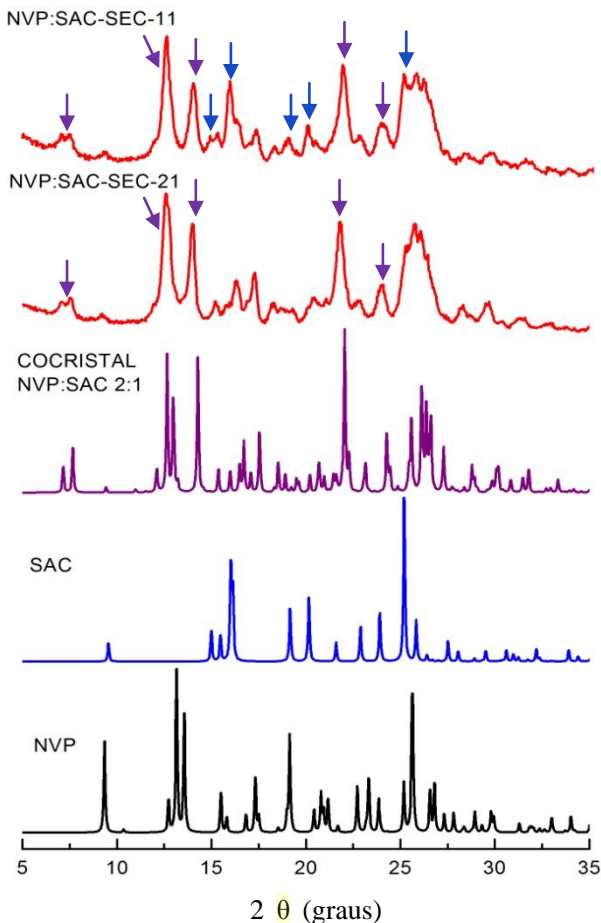
As análises por DSC das amostras foram realizadas e comparadas com a NVP-MP e o coformador CAF e podem ser observadas na Figura 32. As duas amostras mostraram resultados semelhantes, apresentando somente uma endoterma para a amostra de proporção 1:1, em 198,82 °C, e para a amostra de proporção 2:1 a endoterma ocorreu em 198,19 °C. Apesar de se obter apenas uma endoterma em uma temperatura diferente da matéria-prima e do coformador, não pode-se concluir que houve formação de cocrystal através da moagem, pois na análise por DRX foi identificado como uma mistura à temperatura ambiente. Quando apenas uma mistura física da matéria-prima e do coformador foi analisada por DSC, obteve-se uma endoterma em 199,61 °C, muito próxima do valor das amostras. Esses resultados sugerem que a temperatura poderia estar facilitando a formação de uma nova fase ou forma cristalina. Entretanto, estudos futuros serão realizados para verificar o efeito da temperatura na formação do cocrystal.

Figura 32. DSC das amostras NVP:CAF-SEC-1:1 e NVP:CAF-SEC-2:1 comparadas com a nevirapina matéria-prima (NVP-MP), a cafeína (CAF) e a mistura física NVP:CAF.



As amostras que tinham a SAC como coformador apresentaram resultados positivos para a formação de cocristal. A amostra na proporção 1:1 formou cocristal, mas apresentou excesso de coformador, enquanto a amostra na proporção 2:1 formou cocristal puro. Esses resultados podem ser observados pelas análises por DRX, que estão apresentadas na Figura 33, onde se observa a comparação dos padrões de DRX de pó das amostras NVP:SAC-SEC-1:1 e NVP:SAC-SEC-2:1 com o padrão de difração calculado da NVP (MUI et al., 1992), da SAC (BART, 1968) e do cocristal NVP:SAC 2:1 (CAIRA et al., 2012). A amostra na proporção 1:1 apresentou reflexões que correspondem ao cocristal reportado, como as reflexões próximas a 7° , 13° , 14° , 22° e 24° (2theta), e também apresentou reflexões que correspondem à SAC, como as reflexões próximas a 15° , 16° , 19° , 21° e 25° (2theta). Já a amostra de proporção 2:1 apresentou reflexões compatíveis com as reflexões do cocristal reportado, como as reflexões próximas a 7° , 13° , 14° , 22° e 24° (2theta) e não apresentou reflexões referentes à SAC.

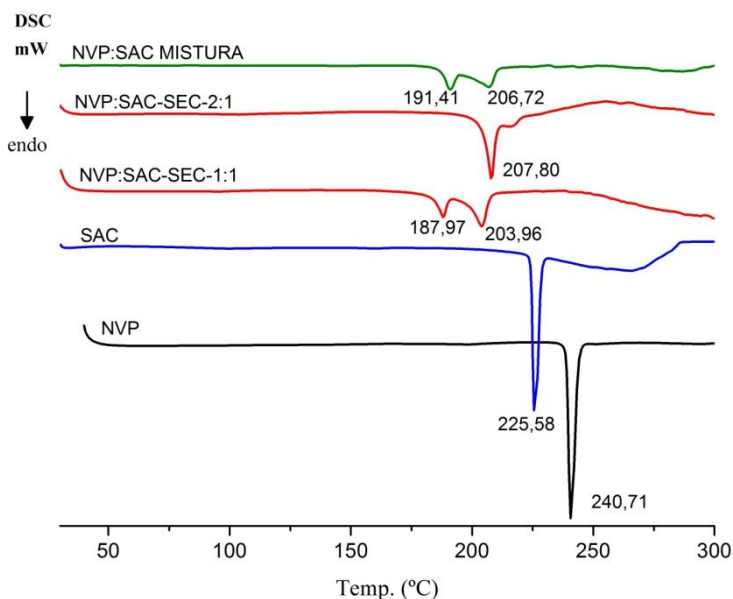
Figura 33. Padrões de difração de raio X de pó das amostras NVP:SAC-SEC-1:1 e NVP:SAC-SEC-2:1 comparados com os padrões calculados da nevirapina (NVP), da sacarina (SAC) e do cocristalreportado NVP:SAC 2:1.



A análise por DSC mostrou diferença entre as amostras: a amostra de proporção 1:1 apresentou duas endotermas, em 187,97 °C e em 203,96 °C, enquanto a amostra 2:1 apresentou apenas uma endoterma em 207,80 °C. A Figura 34 mostra a comparação por DSC das amostras com a NVP-MP, o coformador SAC e a mistura física entre eles. A mistura física apresentou picos muito próximos aos da

amostra 1:1, em 191,41 °C e em 206,72 °C. O fato da amostra 1:1 ter apresentado duas endotermas sugere excesso de coformador na amostra. O cocrystal reportado por CAIRA et al. (2012) (NVP:SAC 2:1) apresentou fusão em 223°. Esse deslocamento da endoterma de fusão das amostras, comparadas ao cocrystal reportado, pode ser devido aos efeitos da moagem provocados na desordem e diminuição dos domínios cristalinos.

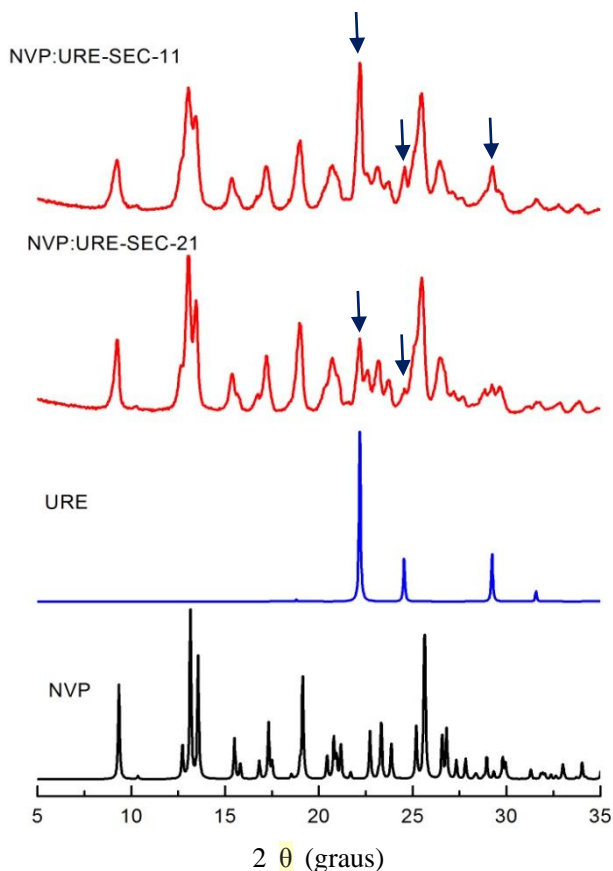
Figura 34. DSC das amostras NVP:SAC-SEC-1:1 e NVP:SAC-SEC-2:1 comparadas com a nevirapina matéria-prima (NVP-MP), a sacarina (SAC) e a mistura física NVP:SAC.



Na Figura 35 está apresentada a comparação dos padrões de difração de raio X de pó das amostras NVP:URE-SEC-1:1 e NVP:URE-SEC-2:1 com o padrão de difração calculado da NVP (MUI et al., 1992) e da URE (SKLAR; SENKO; POST, 1961). As amostras preparadas com URE como coformador resultaram em uma mistura sem formação de cocrystal. A análise por DRX mostrou que as amostras têm um padrão de difração correspondente às reflexões da NVP, incluindo reflexões que correspondem à URE, localizadas próximas a 22°, 24° e 29° (2theta). Na

amostra de proporção 1:1, observa-se maior destaque dessas reflexões na amostra, visto que a amostra contém mais URE que a amostra 2:1.

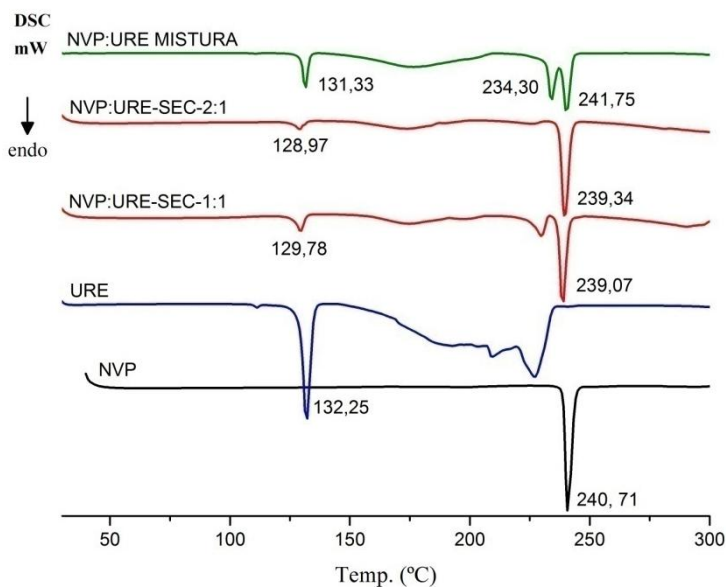
Figura 35. Padrões de difração de raio X de pó das amostras NVP:URE-SEC-1:1 e NVP:URE-SEC-2:1 comparados com os padrões calculados da nevirapina (NVP) e da ureia (URE).



O DSC das amostras contendo URE estão apresentados na Figura 36, onde está demonstrada a comparação por DSC das amostras NVP:URE-SEC-1:1 e NVP:URE-SEC-2:1 com a NVP-MP, a URE e a mistura física da NVP-MP com a URE. A amostra de proporção 1:1 apresentou três endotermas, em 129,78 °C, 229,72 °C e 239,07 °C e a

amostra na proporção 2:1 apresentou duas endotermas em 128,97 °C e 239,34 °C. Comparando esses resultados com as endotermas da NVP-MP, da URE e da mistura física entre eles, observa-se que as endotermas das amostras correspondem as endotermas da NVP-MP (240,71 °C) e da URE (132,25 °C). Assim, tanto o resultado por DRX como o de DSC são coincidentes, indicando que as amostras não apresentam formação de um cocristal.

Figura 36. DSC das amostras NVP:URE-SEC-1:1 e NVP:URE-SEC-2:1 comparadas com a nevirapina matéria-prima (NVP-MP), a ureia (URE) e a mistura física NVP:URE.



Um resumo dos resultados das amostras moídas à seco, usando o moinho de bolas, está apresentado na Tabela 7. As variáveis desse método foram o coformador e a proporção molar. Para os coformadores CAF e URE a variável proporção molar não influenciou nos resultados e as amostras que empregaram esses coformadores não formaram cocristais em nenhuma das proporções. Para as amostras em que se utilizou o AS e a SAC como coformador, verificou-se diferenças conforme a proporção molar. As amostras com AS sugerem a formação do cocristal 2:1, mas pode ser observado um excesso de coformador e de

fármaco que não reagiram. As amostras com SAC formaram cocristal 2:1 e na amostra de proporção molar 1:1 houve um excesso do coformador.

Tabela 7. Resumo dos resultados das amostras produzidas a seco pelo moinho de bolas.

Amostra	DRX	DSC Endotermas °C	Conclusão
NVP:AS-SEC-1:1	Cocristal+coformador + fármaco	127,87, 200,47, 238,49	Cocristal+coformador +fármaco
NVP:AS-SEC-2:1	Cocristal+fármaco	201,20, 238,78	Cocristal+ fármaco
NVP:CAF-SEC-1:1	Mistura	198,82	Mistura física
NVP:CAF-SEC-2:1	Mistura	198,19	Mistura física
NVP:SAC-SEC-1:1	Cocristal+coformador	187,97, 203,96	Cocristal+coformador
NVP:SAC-SEC-2:1	Cocristal	207,80	Cocristal
NVP:URE-SEC-1:1	Mistura	129,78, 229,71, 239,07	mistura física
NVP:URE-SEC-2:1	Mistura	128,97, 239,34	mistura física

5.3.2 Moinho de jarros (assistida por solvente)

Com a variação do coformador, do solvente, da proporção molar e do tempo de moagem, foram obtidas 40 amostras utilizando o método de moagem assistida por solvente no moinho de jarros. Na tabela 8 consta a relação das amostras obtidas por moagem, sua identificação e as variáveis empregadas.

Tabela 8. Relação das amostras obtidas por moagem da NVP/coformador assistida por solvente, descrevendo o nome da amostra, o coformador, a proporção molar, o solvente e o tempo de moagem.

Nome da amostra	Coformador	n/n	Solvente	Tempo(h)
NVP:AS-MET-1:1-4h	AS	1:1	Metanol	4
NVP:AS-MET-1:1-24h	AS	1:1	Metanol	24
NVP:AS-MET-2:1-4h	AS	2:1	Metanol	4
NVP:AS-MET-2:1-24h	AS	2:1	Metanol	24
NVP:AS-CLO-1:1-4h	AS	1:1	Clorofórmio	4
NVP:AS-CLO -1:1-24h	AS	1:1	Clorofórmio	24
NVP:AS-CLO-2:1-4h	AS	2:1	Clorofórmio	4
NVP:AS-CLO-2:1-24h	AS	2:1	Clorofórmio	24
NVP:CAF-MET-1:1-4h	CAF	1:1	Metanol	4
NVP:CAF-MET-1:1-24h	CAF	1:1	Metanol	24
NVP:CAF-MET-2:1-4h	CAF	2:1	Metanol	4
NVP:CAF-MET-2:1-24h	CAF	2:1	Metanol	24
NVP:CAF-CLO-1:1-4h	CAF	1:1	Clorofórmio	4
NVP:CAF-CLO -1:1-24h	CAF	1:1	Clorofórmio	24

NVP:CAF-CLO-2:1-4h	CAF	2:1	Clorofórmio	4
NVP:CAF-CLO-2:1-24h	CAF	2:1	Clorofórmio	24
NVP:SAC-MET-1:1-4h	SAC	1:1	Metanol	4
NVP:SAC-MET-1:1-24h	SAC	1:1	Metanol	24
NVP:SAC-MET-2:1-4h	SAC	2:1	Metanol	4
NVP:SAC-MET-2:1-24h	SAC	2:1	Metanol	24
NVP:SAC-CLO-1:1-4h	SAC	1:1	Clorofórmio	4
NVP:SAC-CLO -1:1-24h	SAC	1:1	Clorofórmio	24
NVP:SAC-CLO-2:1-4h	SAC	2:1	Clorofórmio	4
NVP:SAC-CLO-2:1-24h	SAC	2:1	Clorofórmio	24
NVP:TEO-MET-1:1-4h	TEO	1:1	Metanol	4
NVP:TEO-MET-1:1-24h	TEO	1:1	Metanol	24
NVP:TEO-MET-2:1-4h	TEO	2:1	Metanol	4
NVP:TEO-MET-2:1-24h	TEO	2:1	Metanol	24
NVP:TEO-CLO-1:1-4h	TEO	1:1	Clorofórmio	4
NVP:TEO-CLO -1:1-24h	TEO	1:1	Clorofórmio	24
NVP:TEO-CLO-2:1-4h	TEO	2:1	Clorofórmio	4
NVP:TEO-CLO-2:1-24h	TEO	2:1	Clorofórmio	24
NVP:URE-MET-1:1-4h	URE	1:1	Metanol	4
NVP:URE-MET-1:1-24h	URE	1:1	Metanol	24
NVP:URE-MET-2:1-4h	URE	2:1	Metanol	4
NVP:URE-MET-2:1-24h	URE	2:1	Metanol	24
NVP:URE-CLO-1:1-4h	URE	1:1	Clorofórmio	4
NVP:URE-CLO -1:1-24h	URE	1:1	Clorofórmio	24
NVP:URE-CLO-2:1-4h	URE	2:1	Clorofórmio	4
NVP:URE-CLO-2:1-24h	URE	2:1	Clorofórmio	24

A moagem assistida por solvente influenciou na ordem cristalina das amostras, já que se apresentaram mais cristalinas quando comparadas com as amostras moídas a seco. Cada amostra foi analisada por DRX e DSC, mas para facilitar a compreensão e análise, apenas os principais resultados de cada coformador serão exibidos. Os padrões de DRX das outras amostras podem ser encontrados no Apêndice desta dissertação.

A Figura 37 mostra a comparação dos padrões de DRX de pó das amostras NVP:AS-MET-1:1-4h e NVP:AS-MET-2:1-4h com o padrão de difração calculado da NVP (MUI et al., 1992), do AS (SUNDARALINGAM; JENSEN, 1965) e do cocristal reportado NVP:AS 2:1 (CAIRA et al., 2012).

A análise da amostra de proporção 1:1 apresenta reflexões coincidentes ao cocristal reportado localizadas em 7,5°, 12,5°, 16,5° (2theta), e reflexões coincidentes ao coformador, localizadas em 11° e 17,5° (2theta). Apresenta, também, reflexões que não coincidem com as demais, localizadas em 14°, 15°, 16°, 18,5°, 27,5°, 28,5° (2theta),

sugestivo de uma nova forma cristalina. Entretanto, para maior precisão e confiabilidade, há a necessidade de realização de outras análises, principalmente por difração de raio X de monocristal, que requer, por sua vez, a obtenção de um monocristal para a determinação da estrutura cristalina.

A amostra de proporção 2:1 apresentou reflexões correspondentes ao cocristal reportado, localizadas em $7,5^\circ$, $9,5^\circ$, $12,5^\circ$ (2theta), reflexões coincidentes com a NVP, localizadas em 13° , $13,5^\circ$, 19° , 21° , $25,5^\circ$ (2theta) e reflexões que não coincidentes, localizadas em 12° , 14° , 16° , $22,5^\circ$ (2theta). Essa amostra pode conter uma mistura de uma nova fase cristalina com a NVP-MP. A amostra 2:1, em comparação com a amostra 1:1, apresentou reflexões referentes à NVP, indicando presença de ingredientes iniciais que não reagiram. Como indicado para a amostra anterior, mais análises seriam necessárias para um parecer conclusivo.

O tempo de moagem não influenciou nos resultados, uma vez que o mesmo padrão de DRX foi observado tanto em 4 h quanto em 24 h.

A mudança de solvente gerou diferentes padrões de DRX somente entre as amostras 2:1. A Figura 38 mostra os padrões de DRX das amostras NVP:AS-CLOR-1:1-24h e NVP:AS-CLOR-2:1-24h com o padrão de difração calculado da NVP (MUI et al., 1992), do AS (SUNDARALINGAM; JENSEN, 1965) e do cocristal reportado NVP:AS 2:1 (CAIRA et al., 2012). A amostra NVP:AS-CLOR-1:1-24h apresentou o mesmo padrão de DRX da amostra NVP:AS-MET-1:1-4h, e a descrição do resultado da amostra com metanol é a mesma para àquela amostra, podendo se tratar de uma nova forma cristalina. A amostra NVP:AS-CLOR-2:1-24h apresentou reflexões que coincidem com o cocristal reportado, localizadas em 7° , $12,5^\circ$, $16,5^\circ$, $26,5^\circ$ (2theta), reflexões que coincidem com a NVP, localizadas em 19° , 23° , 24° (2theta) e reflexões não coincidentes, localizadas em 14° , 16° , 20° , $22,5^\circ$ (2theta), sugerindo também tratar-se de uma nova forma cristalina.

As amostras preparadas com AS como coformador podem ter formado um novo polimorfo do cocristal diferente do reportado e/ou um novo cocristal. Nas amostras 2:1, nota-se maior número de reflexões, indicando que há NVP que não reagiu.

Figura 37. Padrões de difração de raio X de pó das amostras NVP:AS-MET-1:1-4h e NVP:AS-MET-2:1-4h comparados com os padrões calculados da nevirapina (NVP), da sacarina (SAC) e do cocristal reportado NVP:SAC 2:1.

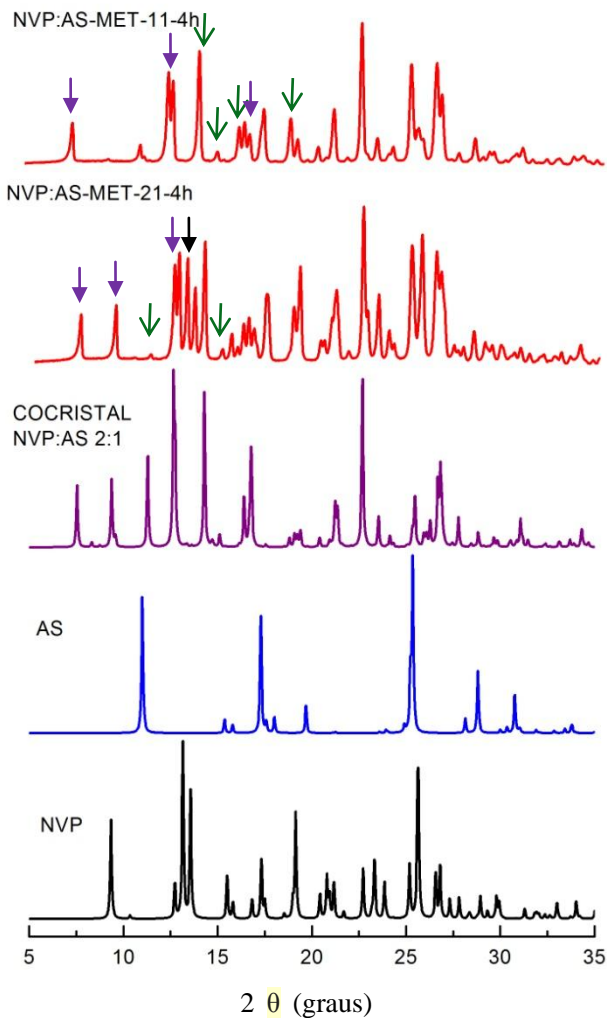
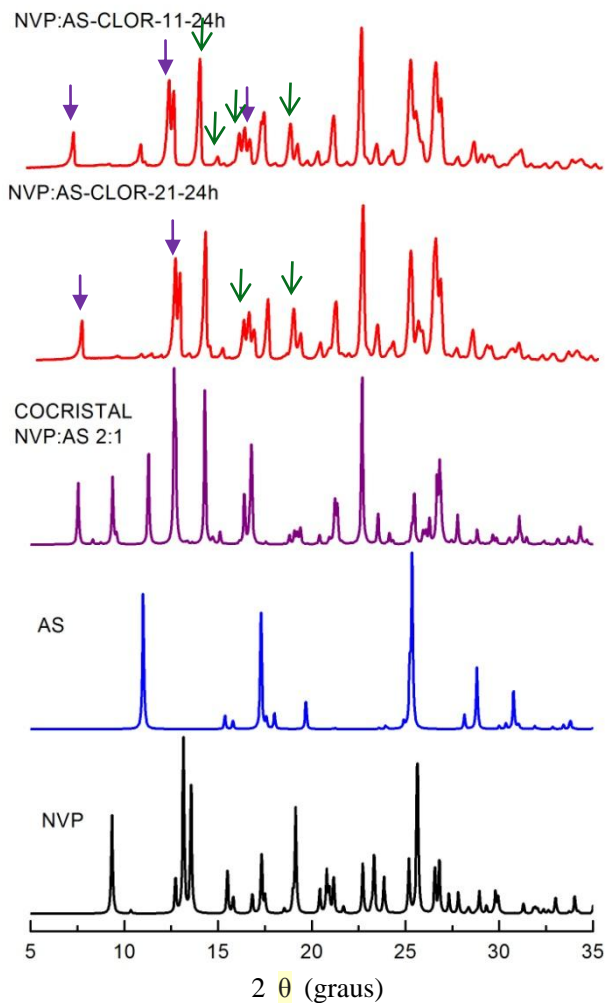


Figura 38. Padrões de difração de raio X de pó das amostras NVP:AS-CLOR-1:1-24h e NVP:AS-CLOR-2:1-24h comparados com os padrões calculados da nevirapina (NVP), da sacarina (SAC) e do cocristal NVP:SAC 2:1 reportado.



A comparação entre os resultados de DSC das amostras NVP:AS-MET-1:1-4h e NVP:AS-MET-2:1-4h, comparadas com a NVP-MP, o AS e a mistura física NVP:AS, estão apresentados na Figura 39. A amostra de proporção 1:1 apresentou três endotermas, em 124,21 °C, 200,65 °C e 235,00 °C, e a amostra de proporção 2:1 apresentou duas

endotermas, em 201,20 °C e 238,74 °C. A amostra 1:1 se diferencia da 2:1 pela endoterma em 124,21°C, sugestivo de uma maior quantidade do coformador na amostra. Por DRX as amostras indicaram a possibilidade de uma nova forma cristalina, mas outras análises são necessárias para uma melhor conclusão. Curvas muito semelhantes foram obtidas por DSC para as amostras NVP:AS-CLOR-1:1-24h e NVP:AS-CLOR-2:1-24 h. A comparação com as curvas obtidas para NVP-MP, AS e mistura física estão apresentadas na figura 40. A amostra 1:1 apresentou três endotermas, em 127,71 °C, 201,65 °C e 240,07 °C, e a amostra 2:1 apresentou duas endotermas, em 200,68 °C e 240,26 °C.

Figura 39. DSC das amostras NVP:AS-MET-1:1-4h/24h e NVP:AS-MET-2:1-4h comparadas com a nevirapina matéria-prima (NVP-MP), o ácido salicílico (AS) e a mistura física NVP:AS.

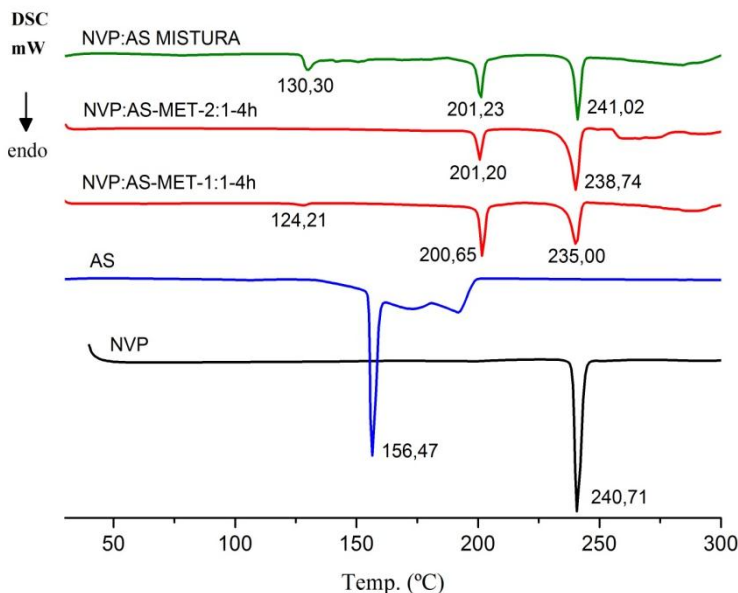
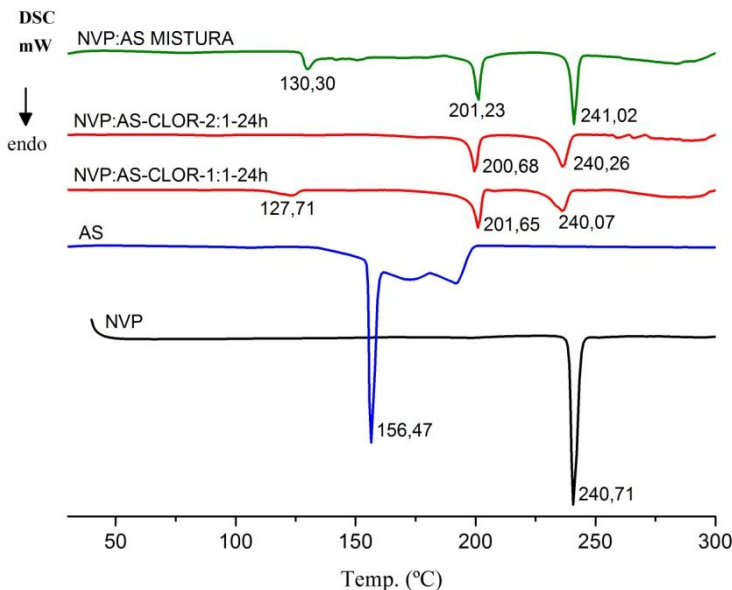
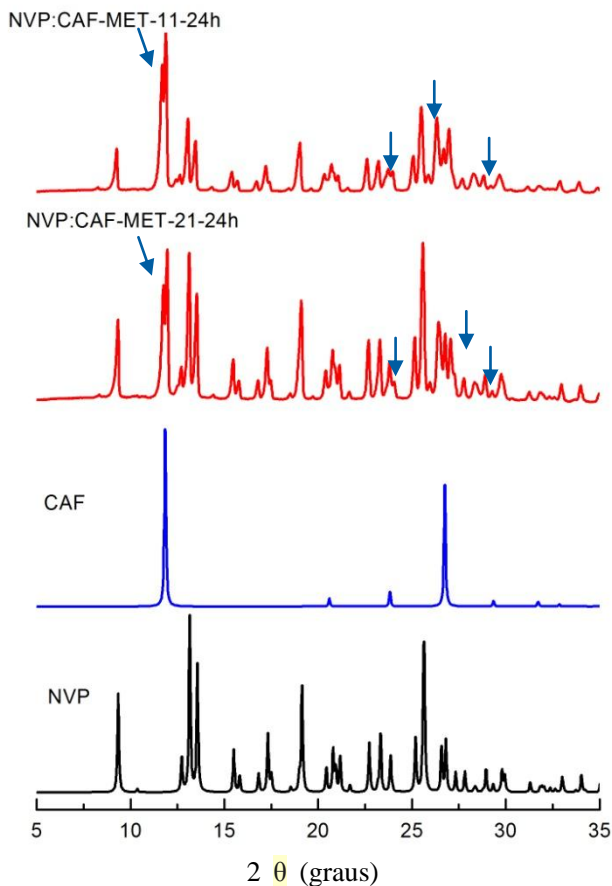


Figura 40. DSC das amostras NVP:AS-CLOR-1:1-24h e NVP:AS-CLOR-2:1-24h comparadas com a nevirapina matéria-prima (NVP-MP), o ácido salicílico (AS) e a mistura física NVP:AS.



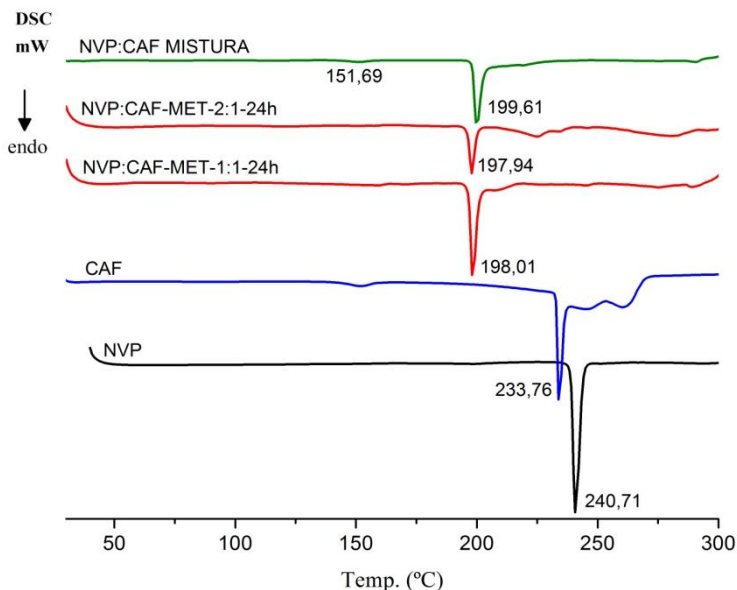
As amostras que foram preparadas com cafeína como coformador não resultaram em cocrystalos. Todas as amostras apresentaram o mesmo resultado nas análises por DRX, e as variáveis tempo, solvente e proporção molar não mostraram resultados diferenciados. Todos resultaram em uma mistura de NVP com CAF. Na Figura 41 observa-se a comparação entre os padrões de difração das amostras NVP:CAF-MET-11-24h e NVP:CAF-MET-21-24h com o padrão calculado da NVP (MUI et al., 1992) e da CAF (DEROLLEZ et al., 2005). Os padrões de difração das duas amostras apresentaram reflexões correspondentes a NVP e reflexões localizadas em 12°, 24°, 26° e 29° (2theta), correspondentes à CAF. Os demais padrões de DRX das amostras com o coformador cafeína encontram-se no Apêndice desta dissertação.

Figura 41. Padrões de difração de raio X de pó das amostras NVP:CAF-MET-1:1-24h e NVP:CAF-MET-2:1-24h comparados com os padrões calculados da nevirapina (NVP) e da cafeína (CAF).



A análise por DSC resultou em uma endoterma em 198,01 °C para a amostra NVP:CAF-MET-11-24h e uma endoterma em 197,94 °C para a amostra NVP:CAF-MET-21-24h. Esses resultados estão demonstrados na Figura 42 em comparação com a NVP-MP, a CAF e a mistura física NVP:CAF. O ponto de fusão das amostras não correspondeu aos pontos de fusão da NVP e CAF, mas foi muito próximo ao ponto de fusão da mistura física NVP:CAF, em 199,61 °C. No entanto, a análise por DRX não evidencia a formação de cocrystal.

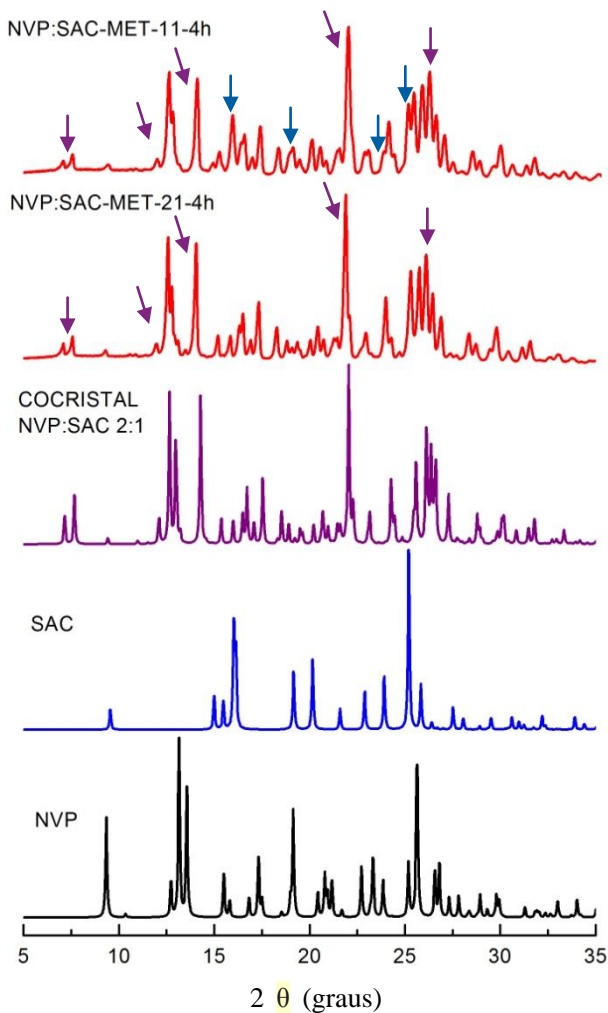
Figura 42. DSC das amostras NVP:CAF-MET-1:1-24h e NVP:CAF-MET-2:1-24h comparadas com a nevirapina matéria-prima (NVP-MP), a cafeína (CAF) e a mistura física NVP:CAF.



Na Figura 43 estão apresentados os padrões de DRX das amostras NVP:SAC-MET-1:1-4h e NVP:SAC-MET-1:1-4h comparadas com o padrão calculado da NVP (MUI et al., 1992), da SAC (BART, 1968) e do cocrystal NVP:SAC 2:1 (CAIRA et al., 2012). As amostras mostraram diferentes padrões de difração. A amostra de proporção 1:1 apresentou as reflexões do cocrystal reportado, localizadas na região próxima a 7°, 12°, 14°, 22° e 26° (2theta), e reflexões do coformador, localizadas próximas a 16°, 19°, 24° e 25° (2theta). Já a amostra de proporção 2:1 apresentou as reflexões do cocrystal e não apresentou reflexões do coformador. Assim, conclui-se que houve a formação do cocrystal 2:1 nas duas amostras, sendo que na amostra de proporção 1:1 além do cocrystal, há um excesso do coformador SAC. Nenhuma diferença foi demonstrada nos resultados com a variação do tempo, indicando que o cocrystal pode ser obtido em 4h. Os solventes utilizados também não influenciaram na obtenção do cocrystal, uma vez que, o mesmo resultado foi obtido com metanol e clorofórmio. Os demais

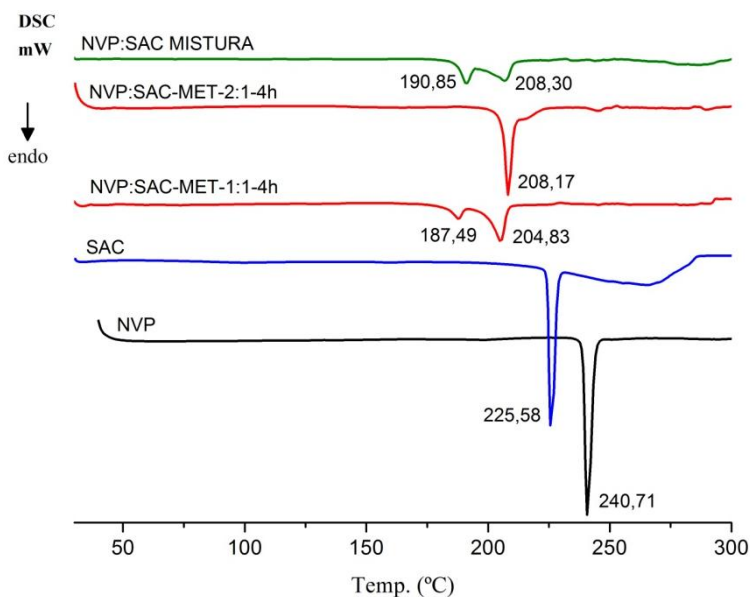
padrões de DRX das amostras com o coformador SAC são encontrados no Apêndice desta dissertação.

Figura 43. Padrões de difração de raio X de pó das amostras NVP:SAC-MET-1:1-4h e NVP:SAC-MET-1:1-4h comparadas com os padrões calculados da nevirapina (NVP), da sacarina (SAC) e do cocristal reportado NVP:SAC 2:1.



A análise por DSC das amostras NVP:SAC-MET-1:1-4h e NVP:SAC-MET-2:1-4h a comparação com a NVP-MP, a SAC e a mistura física NVP:SAC estão apresentadas na Figura 44. A amostra de proporção 1:1 apresentou duas endotermas, em 187,49 °C e 204,83 °C, a primeira endoterma pode indicar o excesso de coformador na amostra, já que a amostra de proporção 2:1 apresentou apenas uma endoterma em 208,17 °C. O cocrystal NVP:SAC 2:1 reportado apresenta fusão em 223 °C (CAIRA et al., 2012). Como já observado anteriormente, a diferença na fusão pode ser justificada devido ao efeito da moagem na cristalinidades amostras.

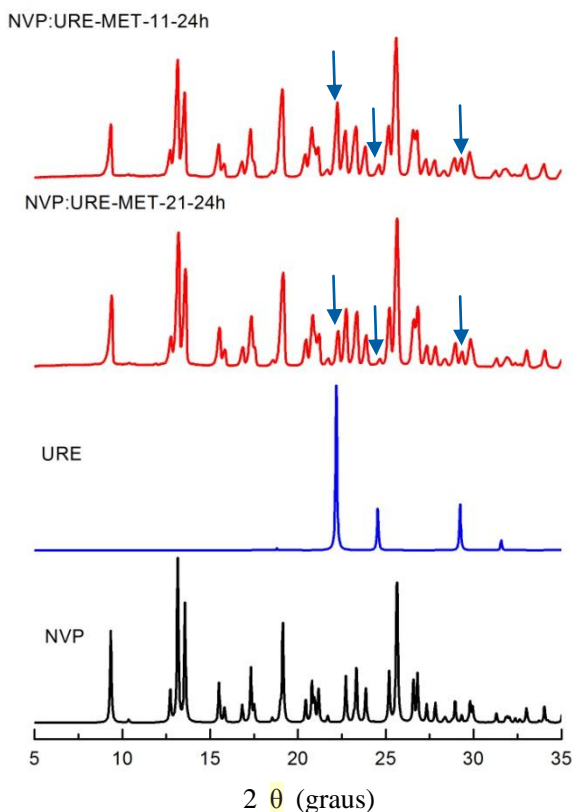
Figura 44. DSC das amostras NVP:SAC-MET-1:1-4h e NVP:SAC-MET-2:1-4h comparadas com a nevirapina matéria-prima (NVP-MP), a sacarina (SAC) e a mistura física NVP:SAC.



O padrão de DRX das amostras NVP:URE-MET-1:1-24h e NVP:URE-MET-2:1-24h, em comparação com o padrão calculado da NVP (MUI et al., 1992) e da URE (SKLAR; SENKO; POST, 1961), estão apresentados na Figura 45. A figura mostra que a diferença da proporção molar não influenciou no resultado, uma vez que as duas

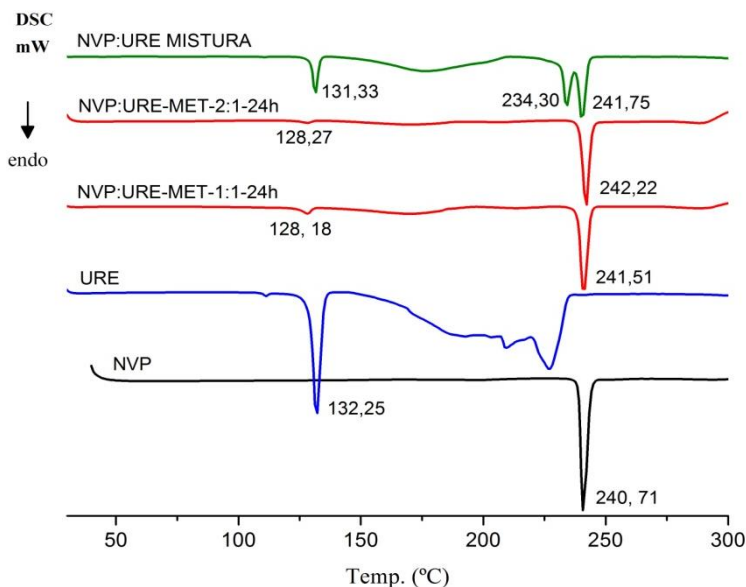
amostras apresentaram o mesmo padrão de difração, com reflexões correspondentes a NVP e reflexões correspondentes à URE localizadas próximas a 22° , 25° e 29° (2theta). Os resultados mostram que não houve a formação de uma nova fase cristalina e que se trata de uma mistura da NVP com a URE. As demais amostras usando a uréia como coformador também não formaram cocristal, observam-se as mesmas reflexões das amostras na Figura 45. Os demais padrões de DRX das amostras com o coformador URE podem ser encontrados no Apêndice desta dissertação.

Figura 45. Padrões de difração de raio X de pó das amostras NVP:URE-MET-1:1-24h e NVP:URE-MET-2:1-24h comparados com os padrões calculados da nevirapina (NVP) e da ureia (URE).



O DSC das amostras NVP:URE-MET-1:1-24h e NVP:URE-MET-2:1-24h por DSC estão apresentadas na Figura 46, sendo comparadas com a NVP-MP, o coformador URE e a mistura física NVP:URE. Ambas as amostras apresentaram duas endotermas com valores muito próximos. A amostra na proporção 1:1 apresentou endotermas em 128,18 °C e em 241,51 °C, e a amostra na proporção 2:1, em 128,27 °C e 242,22 °C, o que corresponde à URE (132,25 °C) e à NVP-MP (240,71 °C), confirmando a não formação de co cristal.

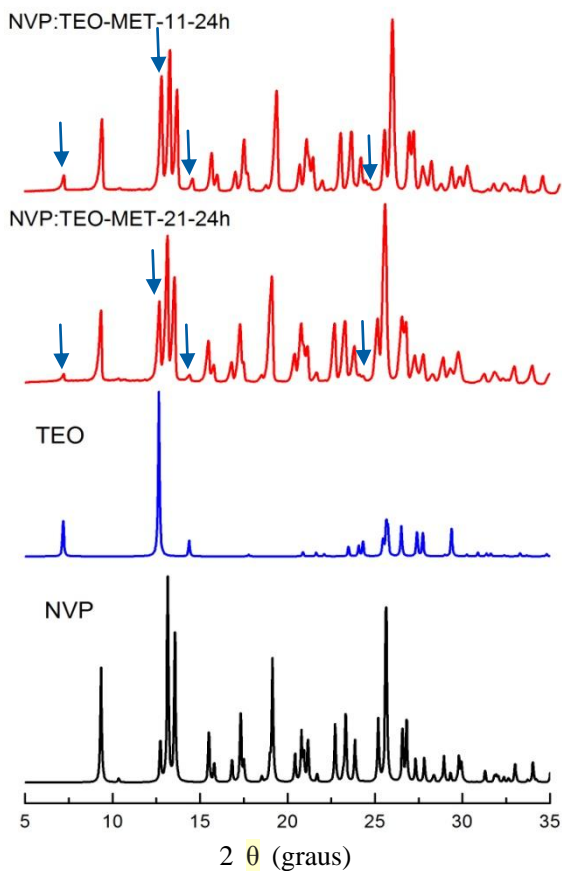
Figura 46. DSC das amostras NVP:URE-MET-1:1-24h e NVP:URE-MET-2:1-24h comparadas com a nevirapina matéria-prima (NVP-MP), a uréia (URE) e a mistura física NVP:URE.



O padrão de DRX das amostras NVP:TEO-MET-1:1-24h e NVP:TEO-MET-2:1-24h, comparados aos padrões de difração calculados da NVP (MUI et al., 1992) e da TEO (EBISUZAKI; BOYLE; SMITH, 1997) estão apresentados na Figura 47. As amostras exibiram o mesmo padrão de difração para as duas proporções, apresentando reflexões que correspondem à NVP e reflexões que correspondem à TEO localizadas próximas a 7°, 13°, 14° e 25° (2theta),

o que indica a não formação do cocristal. As demais amostras usando a TEO não apresentaram resultados diferentes, correspondendo, assim, a uma mistura física da NVP-MP com a TEO. Os demais resultados de DRX desse coformador podem ser encontrados no Apêndice desta dissertação.

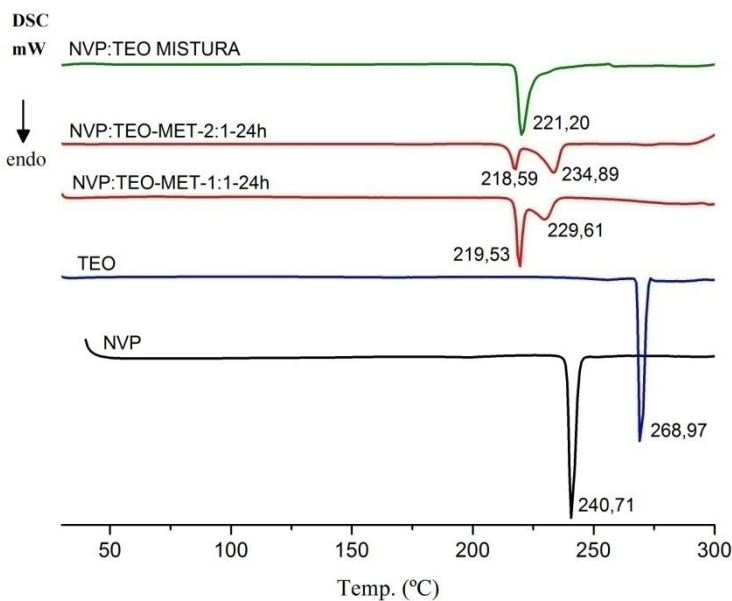
Figura 47. Padrões de difração de raio X de pó das amostras NVP:TEO-MET-1:1-24h e NVP:TEO-MET-2:1-24h comparados com os padrões calculados da nevirapina (NVP) e da teofilina (TEO).



A Figura 48 mostra os resultados obtidos por DSC para as amostras NVP:TEO-MET-1:1-24h e NVP:TEO-MET-2:1-24h em

comparação com as curvas obtidas para a NVP-MP, a TEO e a mistura física NVP:TEO. As amostras apresentaram duas endotermas. A amostra de proporção molar 1:1 apresentou endotermas em 219,53 °C e 229,61 °C, a amostra de proporção molar 2:1, em 218,59 °C e 234,89 °C, e a mistura física apresentou uma endoterma em 221,20 °C. As endotermas não coincidiram com o coformador e o fármaco, mas a primeira endoterma coincide com a mistura física. Assim conclui-se, em conjunto com o resultado de DRX, que não houve a formação do cocristal.

Figura 48. DSC das amostras NVP:TEO-MET-1:1-24h e NVP:TEO-MET-2:1-24h comparadas com a nevirapina matéria-prima (NVP-MP), a teofilina (TEO) e a mistura física NVP:TEO.



A Tabela 9 apresenta um resumo dos resultados obtidos pela moagem assistida por solvente usando o moinho de jarros. As amostras que utilizaram os coformadores CAF, URE e TEO não formaram cocristais à temperatura ambiente. As amostras que empregaram a SAC formaram cocristais de proporção molar 2:1, enquanto as amostras que usaram AS resultaram em uma possível formação de uma nova forma cristalina, diferente do cocristal NVP:AS reportado por CAIRA et al.

(2012). Análise através da difração de monocristal, precisa ser realizada para uma melhor conclusão com relação a este novo cocristal.

Tabela 9. Resumo dos resultados observados para amostras moídas assistidas por solvente, usando o moinho de jarros, separadas por coformador.

Coformador	Forma sólida a temperatura Ambiente
Ác. Salicílico	Formação de um possível novo cocristal
Caféina	Mistura física
Sacarina	Formação de cocristal 2:1
Ureia	Mistura física
Teofilina	Mistura física

Uma comparação entre os resultados dos diferentes tipos de moagem e suas variáveis está apresentado na Tabela 10. A moagem a seco produziu sólidos com baixo grau de pureza cristalina, com alta estática e maior perda no momento de recuperação da amostra, o que dificultaria seu escalonamento industrial. Não houve formação, à temperatura ambiente, de novos cocristais com os coformadores CAF, TEO e URE, mas com SAC e AS houve formação dos cocristais já reportados por CAIRA et al. (2012).

A moagem assistida por solvente mostrou-se mais interessante, já que os produtos foram mais cristalinos, com a possibilidade de formação de novas formas cristalinas. O material obtido por essa técnica possibilitou uma melhor recuperação da amostra, com menor perda e o processo pode ser mais eficiente em escala industrial. As amostras com os coformadores CAF, URE e TEO não formaram cocristais à temperatura ambiente. Com o coformador SAC foi obtido o cocristal reportado, e com o coformador AS, formou-se um possível novo polimorfo do cocristal ou nova forma cristalina. Há a necessidade de outras análises para sua confirmação. Verificou-se que o tempo de moagem não influenciou nos resultados, obtendo-se o mesmo resultado em 4h ou 24h. Em relação à proporção molar, diferentes resultados foram obtidos para as diferentes proporções, com exceção das amostras que não formaram cocristais. O efeito do solvente, metanol e clorofórmio, não foi determinante, já que não influenciou na maioria dos resultados, observou-se diferença somente nas amostras com AS 2:1.

Tabela 10. Comparação entre os resultados obtidos pelos dos diferentes métodos de moagem e suas variáveis.

Moagem a seco	
Variável	Resultado
Coformador	AS e SAC: formação de cocristais já reportados CAF e URE: não houve formação de cocristais
Proporção molar	AS e SAC: formação cocrystal 2:1 CAF e URE: não houve formação de cocrystal
Ordem e pureza cristalina	Baixo, produto menos cristalino e presença de mistura física
Quantidade	2,5 g por lote, material com alta estática e maior perda no momento de recuperação da amostra. Lote homogêneo
Moagem assistida por solvente	
Variável	Resultado
Coformador	AS: possibilidade de um novo polimorfo SAC: formação de cocrystal já reportado CAF, URE e TEO: não houve formação de cocrystal
Proporção molar	AS: diferentes resultados em 1:1 e 2:1 SAC: diferentes resultados em 1:1 e 2:1 CAF, URE e TEO: não houve formação de cocrystal
Tempo moagem	Não influenciou, podendo ser obtido em 4h
Solvente	AS: diferentes resultados para CLOR e MET somente nas amostras 2:1 Demais coformadores: solvente não influenciou
Ordem e pureza cristalina	Alto, produto mais cristalino. Possíveis formas cristalinas novas
Quantidade	3g por lote, produto sem problemas de estática, com uma recuperação com menor perda. Processo mais facilmente escalonável. Lote homogêneo.

6 CONCLUSÕES

- O método de cristalização antissolvente possibilitou a obtenção de cristais ocos de NVP. Estes apresentaram a estrutura cristalina hemi-hidrato. A forma cristalina anidra foi obtida por aquecimento, resultando na mesma forma cristalina da matéria-prima inicial.
- Os cristais ocos de NVP na forma anidra produziram um aumento significativo do perfil e eficiência de dissolução quando comparados à matéria-prima inicial. Estes resultados abrem uma perspectiva de melhoria na biodisponibilidade do fármaco com a morfologia tipo oco.
- Os cristais ocos de NVP mantiveram-se na Classe II no SCB, pois não alcançaram a alta solubilidade requerida em todos os pH, assim como os perfis de dissolução em pH 4,5 e 6,8 também não alcançaram a dissolução rápida. Porém, em pH 1,2, os cristais ocos foram classificados como dissolução rápida, o que não acontece com a matéria-prima.
- Cocristais foram formados com os coformadores AS e SAC. Foram obtidos os cocristais já reportados, na proporção 2:1, e houve a formação de um possível novo polimorfo do cocrystal NVP:AS. Porém, é necessária a realização de outras análises para uma confirmação mais precisa.
- A mecanossíntese via moagem a seco ou assistida por solvente, apresentou-se como um processo viável para a preparação de cocristais. A moagem via úmida apresentou os melhores resultados com respeito ao grau de pureza da forma cristalina formada.
- A metodologia de produção de cocristais via mecanossíntese usando moinhos, tem a vantagem de usar nenhuma ou pequena quantidade de solvente, e mostrou-se promissora para a produção em grande escala e aplicabilidade industrial.

7 PERSPECTIVAS FUTURAS

- Realizar estudos *in vivo* em modelos animais, testando a biodisponibilidade dos cristais ocós de NVP.
- Obter monocristais dos cocrystalos que apresentaram indicativos de formação de uma nova forma cristalina diferente da reportada.

REFERÊNCIAS

- AAKERÖY, C. B.; FASULO, M. E.; DESPER, J. Cocrystal or salt: Does it really matter? **Molecular Pharmaceutics**, v. 4, n. 3, p. 317–322, 2007.
- AHER, S.; DHUMALB, R.; MAHADIKA, K.; PARADKARB, A.; YORKB, P. Ultrasound assisted cocrystallization from solution (USSC) containing a non-congruently soluble cocrystal component pair: Caffeine/maleic acid. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 41, n. 5, p. 597–602, 2010.
- AMIDON, G. L.; LENNERNÄS, 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**, 1995.
- ANSEL, H.C.; POPOVICH, N.G.; ALLEN, L.V.JR. **Formas Farmacêuticas e Sistemas de Liberação de Fármacos**. 8 ed., Artmed: São Paulo, 2007, 775 p.
- ARTURSSON, P.; KARLSSON, J. Correlation between oral drug absorption in humans and apparent drug permeability coefficients in human intestinal epithelial (CACO-2) cells. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 175, n. 3, p. 880–885, 1991.
- BART, J. C. J. The Crystal and Molecular Structure of Saccharin (o-Sulphobenzoic Imide). **J. Chem. Soc. (B)**, n. 376, 1968.
- BERGSTRÖM, C. A. S.; STRAFFORD, M.; LAZOROVA, L.; AVDEEF, A.; LUTHMAN, K.; ARTURSSON, P. Absorption classification of oral drugs based on molecular surface properties. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 46, n. 4, p. 558–570, 2003.
- BOHETS, H. ANNAERT, P.; MANNENS, G.; VAN BEIJSTERVELDT, L.; ANCIAUX, K.; VERBOVEN, P.; MEULDERMANS, W.; LAVRIJSEN, K. Strategies for absorption screening in drug discovery and development. **Current topics in medicinal chemistry**, v. 1, n. 5, p. 367–383, 2001.

BRAGA, D.; GREPIONI, F. Making crystals from crystals: a green route to crystal engineering and polymorphism. **Chemical communications**, n. 29, p. 3635–3645, 2005.

BRASIL. Boletim Epidemiológico AIDS –DST. Brasília: Ministério da saúde. Ano III, n. 1, 2014. Disponível em: <http://www.aids.gov.br/sites/default/files/anexos/publicacao/2014/56677/boletim_2014_1_pdf_60254.pdf>. Acesso em: 18/04/2015.

BRASIL. Ministério da Saúde, Departamento de DST, AIDS e Hepatites Virais. Quais são os antirretrovirais. 2012. Disponível em: <<http://www.aids.gov.br/pagina/quais-sao-os-antirretrovirais>>. Acesso em: 18/04/2015.

BRASIL. Banco de dados - medicamentos registrados. 2015. Disponível em: <http://www7.anvisa.gov.br/datavisa/consulta_produto/Medicamentos/frameConsultaMedicamentos.aspx>. Acesso em: 10/04/2015.

BRITISH PHARMACOPEIA. Volume I e II. London, 2009.

BRITAIN, H. G. Spectral methods for the characterization of polymorphs and solvates. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 86, n. 4, p. 405–412, 1997.

BRITAIN, H. G.; BYRN, S. R. In: Polymorphism in Pharmaceutical Solids. **Structural aspects of polymorphism**. New York: Marcel Dekker, 1999, p. 73-124.

BRITAIN. Polymorphism and solvatomorphism 2007. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 98, n. 5, p. 1617-1642, 2008.

BYRN, S. R.; PFEIFFER, R. R.; TOWELL, J. G. **Solid-State Chemistry of Drugs**. Second ed. USA: [s.n.], 1999. p. 573.

CAIRA, M. R.; STIEGER, N.; LIEBENBERG, W.; VILLIERS, M. M. D.; SAMSODIEN, H. Solvent inclusion by the anti-HIV drug nevirapine: X-ray structures and thermal decomposition of representative solvates. **Crystal Growth and Design**, v. 8, n. 1, p. 17–23, 2008.

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

CARSTENSEN, J. T. **Advanced Pharmaceutical Solids**. New York: Marcel Dekker, Inc., 2001. 518 p.

CHADHA, R.; ARORA, P.; SAINI, A.; JAIN, D. S. Solvated crystalline forms of nevirapine: thermoanalytical and spectroscopic studies. **AAPS PharmSciTech**, v. 11, n. 3, p. 1328–1339, 2010.

CHADHA, R.; BHANDARI, S.; HANEEF, J.; KHULLAR, S.; MANDAL, S. Cocrystals of telmisartan: characterization, structure elucidation, in vivo and toxicity studies. **CrystEngComm**, p. 8375–8389, 2014.

CHALMERS, J. M.; DENT, G. In: HILFIKER, R. Polymorphism in the pharmaceutical industry. **Vibrational spectroscopy methods in pharmaceutical solid-state characterization**. Weinheim: Wiley-VCH, 2006. p. 95-138.

CHEN, J.; MANNARGUDI, B. M.; XU, L.; UETRECHT, J. Demonstration of the metabolic pathway responsible for nevirapine-induced skin rash. **Chemical Research in Toxicology**, v. 21, n. 9, p. 1862–1870, 2008.

CHEN, J.; SARMA, B.; EVANS, J. M. B.; MYERSON, A. S. Pharmaceutical Crystallization Published as part of the Crystal Growth & Design 10th Anniversary Perspective. **Crystal Growth & Design**, v. 11, p. 887–895, 2011.

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

CHILDS, S. L.; 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. **CrystEngComm**, v. 10, n. 7, p. 856, 2008.

CUFFINI, S.L.; FAUDONE, S.; DABBENE, V.; BADINI, R.; RUBIO, M. Polymorphism and pseudopolymorphism in pharmaceutical drugs. In: SARX 2002 (VII SEMINÁRIO LATINO-AMERICANO DE ANÁLISES POR TÉCNICAS DE RAIOS X)", 2002, Nova Friburgo, Rio de Janeiro, Brasil, **Resumos. VIII Seminário Latino-Americano de Análises por Técnicas de Raios X**, 2001, p.75.

CUFFINI, S.; PITALUGA JR., A.; TOMBARI, D. Polimorfismo em Fármacos. **Ciências FarmacêuticasBiofarmacotécnica**. 1. ed., p.21-31. Rio de Janeiro: Editora Guanabara, 2009.

DA SILVA, C. C. P.; CUFFINI, S. L.; FAUDONE, S. N.; AYALA, A. P.; ELLENA, J. Low-temperature study of a new nevirapine pseudopolymorph. **Acta Crystallographica Section E: Structure Reports Online**, v. 64, n. 2005, 2008.

DE CLERCQ, E. Anti-HIV drugs: 25 compounds approved within 25 years after the discovery of HIV. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 33, n. 4, p. 307–320, 2009.

DELORI, A.; FRIŠČIĆ, T.; JONES, W. The role of mechanochemistry and supramolecular design in the development of pharmaceutical materials. **CrystEngComm**, v. 14, n. 7, p. 2350, 2012.

DEROLLEZ, P.; CORREIA, N. T.; DANÈDE, F.; CAPET, F.; AFFOUARD, F.; LEFEBVRE, J.; DESCAMPS, M. Ab initio structure determination of the high-temperature phase of anhydrous caffeine by X-ray powder diffraction. **Acta Crystallographica Section B: Structural Science**, v. 61, n. 3, p. 329–334, 2005.

DETTE, S. S.; STELZER, T.; ROMBACH, E.; JONES, M. J.; ULRICH, J. Controlling the internal diameter of nanotubes by changing the concentration of the antisolvent. **Crystal Growth and Design**, v. 7, n. 9, p. 1615–1617, 2007.

DETTE, S. S.; STELZER, T.; JONES, M. J.; COQUEREL, G.; ULRICH, J. Fascinating control of crystalline microstructures. **Chemical Engineering Research and Design**, v. 88, n. 9, p. 1158–1162, 2010.

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

DUNN, P. J.; GALVIN, S.; HETTENBACH, K. The development of an environmentally benign synthesis of sildenafil citrate (Viagra™) and its assessment by Green Chemistry metrics. **Green Chemistry**, v. 6, n. 1, p. 43-48, 2004.

EBISUZAKI, Y.; BOYLE, P. D.; SMITH, J. A. Methylxanthines. I. Anhydrous Theophylline. **Acta Crystallographica Section C Crystal Structure Communications**, v. 53, n. 6, p. 777–779, 1997.

EDDIESTON, M. D.; JONES, W. Formation of tubular crystals of pharmaceutical compounds. **Crystal Growth and Design**, v. 10, n. 1, p. 365–370, 2010.

FDA. Guidance for Industry, Waiver of in vivo bioavailability and bioequivalence studies for immediate release solid oral dosage forms based on a biopharmaceutics classification system. **Washington DC: US Department of Health and Human Services**, n. August, 2000.

FDA. Guidance for Industry, Waiver of in vivo bioavailability and bioequivalence studies for immediate release solid oral dosage forms based on a biopharmaceutics classification system. **Washington DC: US Department of Health and Human Services**, n. May, 2015.

FINDLAY, W. P.; BUGAY, D. E. Utilization of Fourier transform-Raman spectroscopy for the study of pharmaceutical crystal forms. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 16, n. 6, p. 921–930, 1998.

FORD, J. L.; TIMMINS, P. **Pharmaceutical Thermal Analysis Techniques and Applications**. New York: Ellis Horwood, 1989. p. 313.

FRISCIĆ, T.; FÁBIÁN, L.; BURLEY, J. C.; JONES, W.; MOTHERWELL, W. D. S. Exploring cocrystal-cocrystal reactivity via liquid-assisted grinding: the assembling of racemic and dismantling of enantiomeric cocrystals. **Chemical communications (Cambridge, England)**, n. 48, p. 5009–5011, 2006.

FRIŠČIĆ, T. New opportunities for materials synthesis using mechanochemistry. **Journal of Materials Chemistry**, v. 20, n. 36, p. 7599, 2010.

FRIŠČIĆ, T.; DAY, G. M. Dynamic behaviour in the solid state. **Crystal Engineering Communications**, v. 13, n. 13, p. 4303-4303, 2011.

FRIŠČIĆ, T. Supramolecular concepts and new techniques in mechanochemistry: cocrystals, cages, rotaxanes, open metal–organic frameworks. **Chemical Society Reviews**, v. 41, n. 9, p. 3493, 2012.

FRIŠČIĆ, T.; JONES, W. Recent advances in understanding the mechanism of cocrystal formation via grinding. **Crystal Growth and Design**, v. 9, n. 3, p. 1621–1637, 2009.

GARCIA, E.; VEESLER, S.; BOISTELLE, R.; HOFF, C. Crystallization and dissolution of pharmaceutical compounds an experimental approach. **Journal of Crystal Growth**, v. 198-199, n. pt 2, p. 1360–1364, 1999.

GIRON, D. Thermal analysis and calorimetric methods in the characterisation of polymorphs and solvates. **Thermochimica Acta**, v. 248, n. 94, p. 1–59, 1995.

GIRON, D. Contribution of thermal methods and related techniques to the rational development of pharmaceuticals - Part 2. **Pharmaceutical Science and Technology Today**, v. 1, n. 6, p. 262–268, 1998.

GREER, H.; WHEATLEY, P. S.; ASHBROOK, S. E.; MORRIS, R. E.; ZHOU, W. Early stage reversed crystal growth of zeolite A and its phase transformation to sodalite. **Journal of the American Chemical Society**, v. 131, n. 49, p. 17986–17992, 2009.

HARGRAVE, K.; PROUDFOOT J. R.; ADAMS, J.; GROZINGER K. G.; SCHMIDT G.; ENGEL W.; TRUMMLITZ G.; EBERLEIN W. **5,11-dihydro-6H-dipyrido(3,2-b:2',3'-e)(1,4)diazepines and their use in the prevention or treatment of HIV infection.** *Patente US da Boehringer Ingelheim n° 5 366 972 de 1994.* Disponível em: <<http://v3.espacenet.com/textdoc?DB=EPODOC&IDX=US5366972&F=0>>. Acesso em 20/04/2015.

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

HÉDOUX, A.; GUINET, Y.; DESCAMPS, M. The contribution of Raman spectroscopy to the analysis of phase transformations in pharmaceutical compounds. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 417, n. 1-2, p. 17–31, 2011.

HENDRA, P.; JONES, C.; WARNES, G. **Fourier transform Raman spectroscopy: instrumentation and chemical applications.** New York: Ellis Horwood. 1991, p. 11-43.

HICKEY, M. B.; PETERSON, M. L.; SCOPPETTUOLO, L. A. MORISSETE, S. L.; VETTER, A.; GUZMÁN, H.; REMENAR, J. F.; ZHANG, Z.; TAWA, M. D.; HALEY, S.; ZAWOROTKO, M. J.; ALMARSSON, O. Performance comparison of a co-crystal of carbamazepine with marketed product. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 67, p. 112–119, 2007.

HORVATH, T.; MADI, B. C.; IUPPA, I. M.; KENNEDY, G. E.; RUTHERFORD, G. W.; READ, J. S. Interventions for preventing late postnatal mother-to-child transmission of HIV (Review). **The Cochrane Library**, n. 1, p. 2009–2011, 2010.

HUANG, L.-F.; TONG, W.-Q. Impact of solid state properties on developability assessment of drug candidates. **Advanced drug delivery reviews**, v. 56, n. 3, p. 321–334, 2004.

JAMES, S. L.; ADAMS, C. J.; BOLM, C.; BRAGA, D.; COLLIER, P.; FRISCIC, T.; GREPIONI, F.; HARRIS, K. D. M.; HYETT, G.; JONES, W.; KREBS, A.; MACK, J.; MAINI, L.; ORPEN, A. G.; PARKIN, I. P.; SHEAROUSE, W. C.; STEED, J. W.; WADDELL, D. C.

Mechanochemistry: opportunities for new and cleaner synthesis. **Chem. Soc. Rev.**, v. 41, p. 413–447, 2012.

JIN, S.; ZHANG, H.; XU, K.; YE, X.; FANG, Y.; ZHANG, Y.; JIN, L.; WANG, D. Crystal and Molecular Structures of Three Organic Salts from Nevirapine. **Journal of Chemical Crystallography**, v. 45, n. 5, p. 213–223, 2015.

JUDGE, K.; BROWN, C. W.; HAMEL, L. Sensitivity of infrared spectra to chemical functional groups. **Analytical Chemistry**, v. 80, n. 11, p. 4186–4192, 2008.

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

KHAN, K. A.; RHODES, C. T. The concept of dissolution efficiency. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 27, p. 48-49, 1975.

KONDO, W.; ASTORI, A. A. F.; GOMES, S. E.; FERNANDES, R. B.; SASAKI, M. G.; SBALQUEIRO, R. L. Avaliação dos efeitos colaterais da nevirapina em gestantes HIV positivo em Hospital Universitário do sul do Brasil. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v. 30, n. 1, p. 2–7, 2008.

KRATZ, J. M.; TEIXEIRA, M. R.; KOESTER, L. S.; SIMÕES, C. M. O. An HPLC-UV method for the measurement of permeability of marker drugs in the Caco-2 cell assay. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 44, n. 6, p. 531–537, 2011.

LENNERNÄS, H.; ABRAHAMSSON, B. The use of biopharmaceutic classification of drugs in drug discovery and development: current status and future extension. **The Journal of pharmacy and pharmacology**, v. 57, n. 3, p. 273–285, 2005.

LEUSEN, F. J.; KENDRICK, J. In: *Pharmaceutical Salts and Co-crystals. Polymorph Prediction of Small Organic Molecules, Cocrystals and Salts*. Cambridge: The Royal Society of Chemistry, 2012, p.390.

LINDENBERG, M.; KOPP, S.; DRESSMAN, J. B. Classification of orally administered drugs on the World Health Organization Model list of Essential Medicines according to the biopharmaceutics classification system. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 58, n. 2, p. 265–278, 2004.

LIU, Z.; WANG, S.; HU, M. In: *Developing Solid Oral Dosage Forms Oral. Absorption Basics: Pathways, Physico-chemical and Biological Factors Affecting Absorption*. 1 ed., Elsevier: USA, 2009, 265-288 p.

LOKAMATHA, K. M.; KUMAR, S. M. S.; RAO, N. R. Enhancement of solubility and dissolution rate of nevirapine by solid dispersion technique using dextran: preparation and *in vitro* evaluation. **International Journal of Pharmaceutical Research & Development**, v. 2, p. 1-8, 2011.

MACHA, S.; YONG, C.; MACGREGOR, T.R.; CASTLES, M.; QUINSON, A.; ROUYRRE, N.; WILDING, I. Assessment of nevirapine bioavailability from targeted sites in the human gastrointestinal tract. **Journal of clinical pharmacology**, v. 49, n. 12, p. 1417–1425, 2009.

MALLET, F.; PETIT, S.; LAFONT, S.; BILLOT, P.; LEMARCHAND, D.; COQUEREL, G. Crystal Growth Mechanism in a Solution of Hollow Whiskers of Molecular Compounds. **Crystal Growth and Design**, v. 4, n. 5, p. 965–969, 2004.

MANISH, M.; HARSHAL, J.; ANANT, P. Melt sonocrystallization of ibuprofen: Effect on crystal properties. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 25, n. 1, p. 41–48, 2005.

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

MARTÍNEZ, E.; BLANCO, J. L.; ARNAIZ, J. A.; PÉREZ-CUEVAS, J. B.; MOCROFT, A.; CRUCETA, A.; MARCOS, M. A.; MILINKOVIC, A.; GARCÍA-VIEJO, M. A.; MALLOLAS, J.; CARNÉ, X.; PHILLIPS, A.; GATELL, J. M. Hepatotoxicity in HIV-1-infected patients receiving nevirapine-containing antiretroviral therapy. **AIDS (London, England)**, v. 15, n. 10, p. 1261–1268, 2001.

MARTINS, D.; STELZER, T.; ULRICH, J.; COQUEREL, G. Formation of crystalline hollow whiskers as relics of organic dissipative structures. **Crystal Growth and Design**, v. 11, n. 7, p. 3020–3026, 2011.

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

OJEWOLE, E.; MACKRAJ, I.; NAIDOO, P.; GOVENDER, T. Exploring the use of novel drug delivery systems for antiretroviral drugs. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 70, n. 3, p. 697–710, 2008.

OLIVEIRA, M. A. DE; YOSHIDA, M. I.; LIMA GOMES, E. C. DE. Análise térmica aplicada a fármacos e formulações farmacêuticas na indústria farmacêutica. **Química Nova**, v. 34, n. 7, p. 1224–1230, 2011.

PADRELA, L.; RODRIGUES, M. A.; VELAGA, S. P.; MATOS, H. A.; DE AZEVEDO, E. G. Formation of indomethacin-saccharin cocrystals using supercritical fluid technology. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 38, n. 1, p. 9–17, 2009.

PADRELA, L.; RODRIGUES, M. A.; VELAGA, S. P.; FERNANDES, A. C.; MATOS, H. A.; DE AZEVEDO, E. G. Screening for pharmaceutical cocrystals using the supercritical fluid enhanced atomization process. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 53, n. 1–3, p. 156–164, 2010.

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

PAULINO, A. S.; RAUBER, G.; CAMPOS, C. E. M.; MAURÍCIO, M. H. P.; DE AVILLEZ, R. R.; CAPOBIANCO, G.; CARDOSO, S. G.; CUFFINI, S. L. Dissolution enhancement of Deflazacort using hollow crystals prepared by antisolvent crystallization process. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 49, n. 2, p. 294–301, 2013a.

PAULINO, A. S.; RAUBER, G.; CAMPOS, C. E. M.; MAURÍCIO, M. H. P.; DE AVILLEZ, R. R.; CUFFINI, S. L.; CARDOSO, S. G. Hollow crystal anti-solvent preparation process as a promising technique to improve dissolution of poorly soluble drugs. **Journal of Crystal Growth**, v. 366, p. 76–81, 2013b.

PEREIRA, B. G.; FONTE-BOA, F. D.; RESENDE, J. A. L. C.; PINHEIRO, C. B.; FERNANDES, N. G.; YOSHIDA, M. I.; VIANNA-SOARES, C. D. Pseudopolymorphs and intrinsic dissolution of nevirapine. **Crystal Growth and Design**, v. 7, n. 10, p. 2016–2023, 2007.

PERRY, A. R.; UNWIN, P. R. Quantitative Plane-Resolved Crystal Growth and Dissolution Kinetics by Coupling In Situ Optical Microscopy and Diffusion Models: The Case of Salicylic Acid in Aqueous Solution. **Crystal Growth & Design**, v. 13, p. 614–622, 2013.

POODT, P. W. G.; HEIJNA, M. C. R.; SCHOUTEN, A.; GROS, P.; ENCKEVORT, W. J. P. V.; Vlieg, E. Simple Geometry for Diffusion Limited Protein Crystal Growth : & DESIGN 2009. **Crystal Growth & Design**, v. 9, n. 2, p. 885–888, 2009.

PUIGJANER, C.; BARBAS, R.; PORTELL, A.; PROHENS, R. Cocristales farmacêuticos: El nuevo reto. **El farmacêutico**, n.419, p. 42-54, 2009.

QIAO, N.; LI, M.; SCHLINDWEIN, W.; MALEK, N.; DAVIES, A.; TRAPPITT, G. Pharmaceutical cococrystals: An overview. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 419, n. 1-2, p. 1–11, 2011.

RAUBER, G. S. **Cocristsais farmacêuticos de furosemida: obtenção, caracterização e estudos de estabilidade**. 2013. 235 f. Dissertação (Mestrado em Farmácia) – Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2013.

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.

REGURI, B.R., CHAKKA, R. **Novel crystalline forms of 11-cyclopropyl-5,11-dihydro-4-methyl-6H-dipyrido[3,2-b:2',3'-e][1,4]diazepin-6-one (Nevirapine)**. United States Patent 0059653 A1. 2005.

REGURI, B.R., CHAKKA, R. **Crystalline forms of Nevirapine**. United States Patent 0183738 A1. 2006.

REMENAR, J. F.; MORISSETTE, S. L.; PETERSON, M. L.; MOULTON, B.; MACPHEE, J. M.; GUZMÁN, H. R.; ALMARSSON, O. Crystal Engineering of Novel Cocrystals of a Triazole Drug with 1, 4-Dicarboxylic Acids. **J. AM. CHEM. SOC.**, v. 125, n. 28, p. 8456–8457, 2003.

RISKA, P.; LAMSON, M.; MACGREGOR, T.; SABO, J.; HATTOX, S.; PAV, J.; KEIRNS, J. Disposition and biotransformation of the antiretroviral drug nevirapine in humans. **Drug Metabolism and Disposition**, v. 27, n. 8, p. 895–901, 1999.

RODRÍGUEZ-SPONG, B.; PRICE, C. P.; JAYASANKAR, A.; MATZGER, A. J.; RODRÍGUEZ-HORNEDO, N. General principles of pharmaceutical solid polymorphism: A supramolecular perspective. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 56, n. 3, p. 241–274, 2004.

SARKAR M, PERUMAL O P, PANCHAGNULA R. Solid-state characterization of nevirapine. **Indian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.70, p. 619-630, 2008.

SCHUSTER, A.; STELZER, T.; ULRICH, J. Generation of crystalline hollow needles: New approach by liquid-liquid phase transformation. **Chemical Engineering and Technology**, v. 34, n. 4, p. 599–603, 2011.

SEKHON, B. S. Pharmaceutical co-crystals – a review. **ARS Pharmaceutica**, v. 50, n. 3, p. 99–117, 2009.

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

SHAN, N.; ZAWOROTKO, M. J. The role of cocrystals in pharmaceutical science. **Drug discovery today**, v. 13, n. 9/10, p. 440–446, 2008.

SHAYANFAR, A.; JOUYBAN, A. Physicochemical characterization of a new cocrystal of ketoconazole. **Powder Technology**, v. 262, p. 242–248, 2014.

SHUR, J.; PRICE, R. Advanced microscopy techniques to assess solid-state properties of inhalation medicines. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 64, n. 4, p. 369–382, 2012.

SKLAR, N.; SENKO, M. E.; POST, B. Thermal effects in urea: the crystal structure at -140°C and at room temperature. **Acta Crystallographica**, v. 14, n. 7, p. 716–720, 1961.

SKOOG, A. D.; HOLLER F. J.; NIEMAN, T.A. **Princípios de Análise Instrumental**. 5 ed., Porto alegre: Bookman, 2002, p. 488-492.

STEELE, G. **Pharmaceutical Preformulation and Formulation**. 2. ed. v. 199. New York: Informa Healthcare USA, Inc., 2009, 198-201p.

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

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

STODDART, C. A.; REYES, R. A. Models of HIV-1 disease: A review of current status. **Drug Discovery Today: Disease Models**, v. 3, n. 1, p. 113–119, 2006.

STORPIRTIS, S.; GONÇALVEZ, J.E.; CHIANN, C.; GAI, M.N. (Eds.) **Biofarmacotécnica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2009.

SUGIMOTO, M.; OKAGAKI, T.; NARISAWA, S.; KOIDA, Y.; NAKAJIMA, K. Improvement of dissolution characteristics and bioavailability of poorly water-soluble drugs by novel cogrinding method using water-soluble polymer. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 160, n. 1, p. 11–19, 1998.

SULKOWSKI, M. S.; THOMAS, D. L.; MEHTA, S. H.; CHAISSON, R. E.; MOORE, R. D. Hepatotoxicity associated with nevirapine or efavirenz-containing antiretroviral therapy: Role of hepatitis C and B infections. **Hepatology**, v. 35, n. 1, p. 182–189, 2002.

SUNDARALINGAM, M.; JENSEN, L. H. Refinement of the Structure of Salicylic Acid. **Acta crystallographica**, v. 18, p. 1053–1058, 1965.

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, n. 6, p. 631–643, 2006.

TAVELIN, S.; GRASJO, J.; TAIPALENSUU, J.; OCKLIND, G.; ARTURSSON, P. Applications of epithelial cell culture in studies of drug transport. **Methods Mol. Biol.**, 2002, 233-272 p.

TAYLOR, M. J.; TANNA, S.; SAHOTA, T. In vivo study of a polymeric glucose-sensitive insulin delivery system using a rat model. **Journal of pharmaceutical sciences**, v. 99, n. 10, p. 4215–4227, 2010.

TRASK, A. V.; MOTHERWELL, W. D. S.; JONES, W. Solvent-drop grinding: green polymorph control of cocrystallisation. **Chemical communications (Cambridge, England)**, n. 7, p. 890–891, 2004.

TSUME, Y.; MUDIE, D. M.; LANGGUTH, P.; AMIDON, G. E.; AMIDON, G. L. The Biopharmaceutics Classification System: Subclasses for in vivo predictive dissolution (IPD) methodology and IVIVC. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 57, n. 1, p. 152–163, 2014.

ULRICH, J.; SCHUSTER, A.; STELZER, T. Crystalline coats or hollow crystals as tools for product design in pharmaceutical industry. **Journal of Crystal Growth**, v. 362, n. 1, p. 235–237, 2013.

UNAIDS. Joint United Nations Programme on HIV/AIDS. **UNAIDS REPORT ON THE GLOBAL AIDS EPIDEMIC**, 2012. Disponível em: <http://www.unaids.org.br/sobre_aids/sobre_aids.asp>. Acesso em: 18/04/2015.

UNITED STATES PHARMACOPEIA. **United States Pharmacopeia (USP)**. United States Pharmacopeial Convention, 2007.

UNITED STATES PHARMACOPEIA (USP). Published on USP Medicines 2013. Versão eletrônica. Disponível: <<https://www.usp-mc.org/monographs/nevirapine-1-0>>. Acesso em: 20/05/13.

VIÇOSA, A.; LETOURNEAU, J.; ESPITALIER, F.; RÉ, M. I. An innovative antisolvent precipitation process as a promising technique to prepare ultrafine rifampicin particles. **Journal of Crystal Growth**, v. 342, n. 1, p. 80–87, 2012.

VIRAMUNE: nevirapina. Boehringer Ingelheim. Farm. Resp.: Dímitra Apostolopoulou CRF-SP 08828. Bula de remédio. Disponível em: <<http://www4.anvisa.gov.br/BularioEletronico>>. Acesso em: 20/04/15.

WARNKE, D.; BARRETO, J.; TEMESGEN, Z. Antiretroviral drugs. **Journal of clinical pharmacology**, v. 47, n. 12, p. 1570–1579, 2007.

WELLS, J. In: AULTON, M. E. Delineamento de Formas Farmacêuticas. **Pré-formulação Farmacêutica**. 2 ed. Porto Alegre: Artmed, 2005, p. 125 – 148.

WIGG, M.D. In: Introdução à Virologia Humana. **Vírus da Imunodeficiência Humana**. 2 ed., Guanabara Koogan S.A: Rio de Janeiro, 2008, p. 410-447.

WOLLINGER, W.; LESSA, B. M.; NOBREGA, A. B.; RIENTE, R. R.; LOPES, R. S. C.; LOPES, C. C.; BOECHAT, N.; SLANA, G. B. C. A. Simultaneous determination of assay and related substances in nevirapine suspension by HPLC. **Chromatographia**, v. 75, n. 15-16, p. 893–901, 2012.

YANG, X; FU, J.; JIN, C.; CHEN, J.; LIANG, C.; WU, M.; ZHOU, W. Supporting Information Formation Mechanism of CaTiO₃ Hollow Crystals with Different Microstructures. **J Am Chem Soc**, n. c, p. 110, 2010.

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

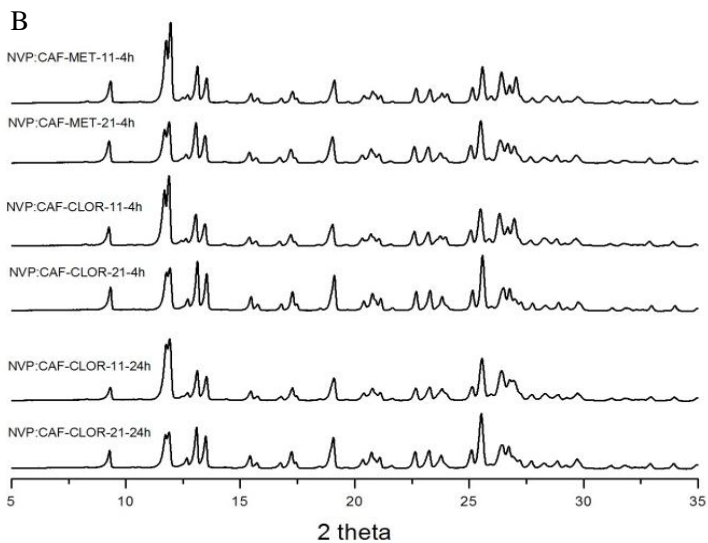
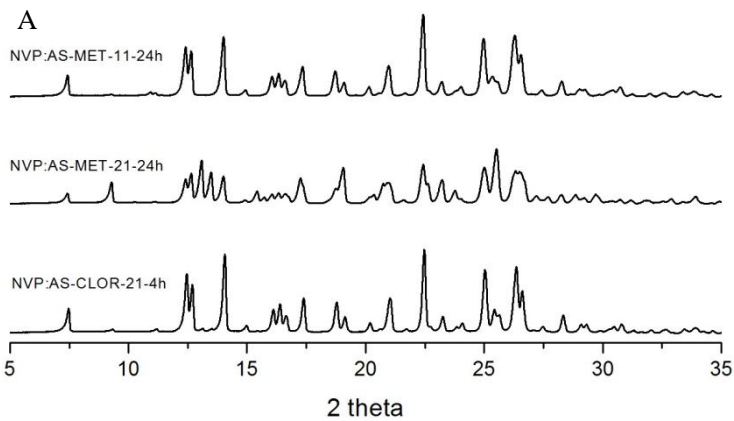
ZAKERI-MILANI, P.; BARZEGAR-JALALI, M.; AZIMI, M.; VALIZADEH, H. Biopharmaceutical classification of drugs using intrinsic dissolution rate (IDR) and rat intestinal permeability. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 73, n. 1, p. 102–106, 2009.

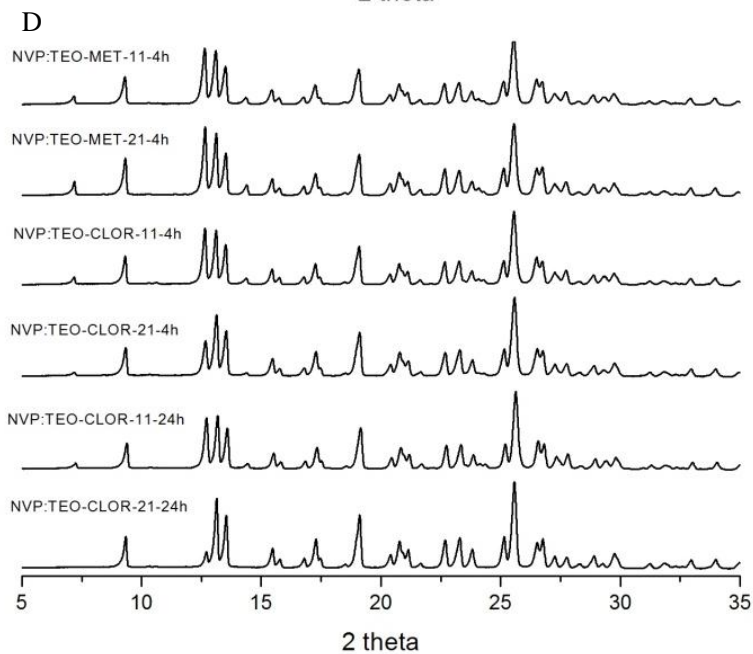
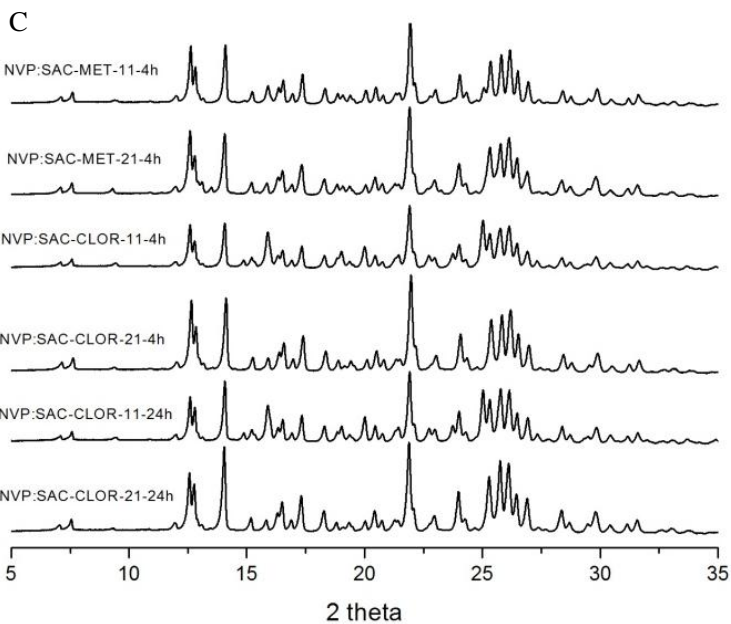
ZAWOROTKO, M. J. Metal-organic materials: A reversible step forward. **Nature Chemistry**, v. 1, n. 4, p. 267-268, 2009.

ZHOU, W. Reversed crystal growth: Implications for crystal engineering. **Advanced Materials**, v. 22, n. 28, p. 3086–3092, 2010.

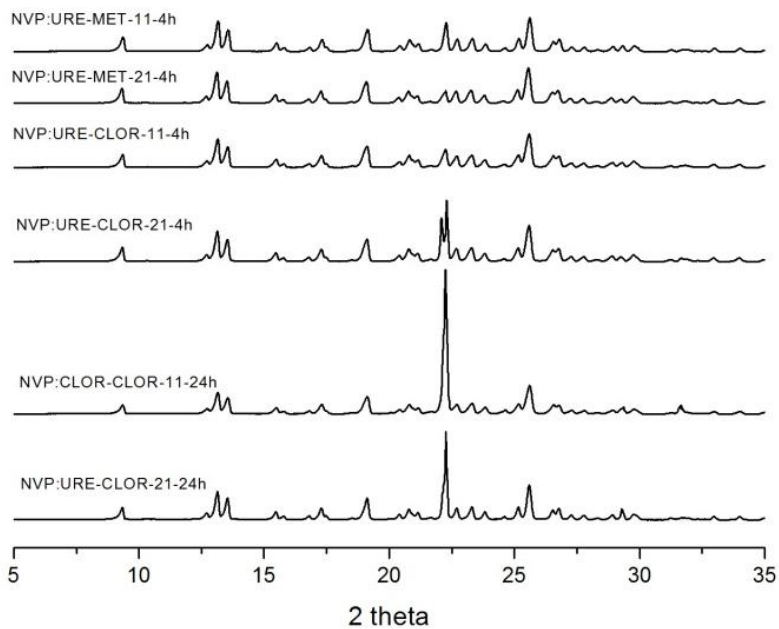
APÊNDICE A

Figura 49. Demais padrões de DRX das amostras do screening de cocristais usando como coformadores: (A) AS, (B) CAF, (C) SAC, (D) TEO e (E) URE





D



Fonte: desenvolvido pelo autor