

Alanny Bahia de Oliveira da Rocha

**COCRISTAIS DE PIROXICAM: ESTUDOS DE SOLUBILIDADE
TERMODINÂMICA, SUPERSATURAÇÃO E ESTABILIDADE**

Tese de Doutorado apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em
Farmácia da Universidade Federal de
Santa Catarina para obtenção do Grau
de Doutor.

Orientador: Dra. Simone Gonçalves
Cardoso.

Co-orientadora: Dra. Nair Rodríguez-
Hornedo.

Florianópolis, SC
2018

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

da Rocha, Alanny Bahia de Oliveira
Cocristais de Piroxicam: estudos de solubilidade
termodinâmica, supersaturação e estabilidade / Alanny
Bahia de Oliveira da Rocha ; orientadora, Simone
Gonçalves Cardoso, coorientadora, Nair Rodriguez
Hornedo, 2018.
163 p.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa
Catarina, Centro de Ciências da Saúde, Programa de
Pós-Graduação em Farmácia, Florianópolis, 2018.

Inclui referências:

1. Farmácia. 2. cocristais de piroxicam. 3.
solubilidade termodinâmica. 4. dissolução e
supersaturação. 5. estabilidade. I. Cardoso, Simone
Gonçalves . II. Rodriguez-Hornedo, Nair . III.
Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de
Pós-Graduação em Farmácia. IV. Título.

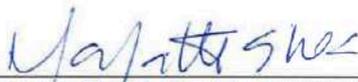
“Cocristais de Piroxicam: Estudos de solubilidade termodinâmica, supersaturação e estabilidade”

POR

Alanny Bahia de Oliveira da Rocha

Tese julgada e aprovada em sua forma final pelo(a) Orientador(a) e membros da Banca Examinadora, composta pelos Professores Doutores:

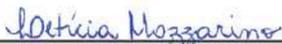
Banca Examinadora:



Prof(a). Dr(a). Marcos Antônio Segatto Silva (UFSC – Membro Titular)



Prof(a). Dr(a). Gislaine Kuminek (UofM – Membro Titular)



Prof(a). Dr(a). Leticia Mazzarino (NanoScoping - Membro Titular)



Prof(a). Dr(a). Simone Gonçalves Cardoso (UFSC – Orientador)



Profa. Dra. Elenara Maria Teixeira Lemos Senna
Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Farmácia da UFSC

Florianópolis, 11 de dezembro de 2018.

Prof. Dr. Marcos Antonio Segatto Silva
- Subcoordenador -

Programa de Pós-Graduação em Farmácia | UFSC

AGRADECIMENTOS

À Deus, por me capacitar a cada dia. Agradeço por me dar sabedoria e paciência. Por sempre me mostrar o melhor caminho a seguir e colocar as pessoas certas e tão especiais para estarem ao meu lado nessa trajetória.

As minhas orientadoras, Simone e Naír. Duas mulheres que são exemplo e inspiração! Simone, agradeço por encarares o desafio de orientar uma pessoa que você nunca havia visto. Por me aceitar de braços abertos. Por acreditar e sempre me apoiar. Sem você eu não estaria aqui! Naír, agradeço por você ter me recebido com tanto carinho e profissionalismo. Pelos ensinamentos, por nos motivar, por compartilhar seus conhecimentos, experiências, lições de vida! À vocês duas, muito obrigada por terem o coração enorme e serem de uma simplicidade descomunal. Sou muito grata por ter tido o privilégio e oportunidade de aprender, trabalhar e conviver com vocês. Guardarei vocês com muito carinho em meu coração.

À UFSC, ao PGFAR, à CAPES e à University of Michigan (UofM), por possibilitarem a realização deste trabalho, através do apoio financeiro e/ou infraestrutura.

Ao meu marido, Argus Neto, por sempre estar ao meu lado! Agradeço por toda ajuda, paciência, carinho e compreensão. Essa conquista também é sua, e só foi possível graças ao seu apoio! Muito obrigada por acreditar e encarar os desafios junto comigo, e tornar a vida mais leve e feliz. Te amo!

Ao meu filhinho, Lucca, que chegou no meio dessa jornada. Agradeço por me ensinar a ver a vida de outra forma, pelos sorrisos mais sinceros e por me permitir amar de uma maneira inimaginável! Muito obrigada por ser a razão de eu não querer desistir, ao mesmo tempo que inúmeras vezes foi a razão de me fazer pensar em desistir! Quero sempre poder ser e te dar o melhor exemplo. Mamãe te ama!

Aos meus pais, Sonir e Eude. Agradeço por todo cuidado e amor. Muito obrigada por serem meu exemplo de fé, perseverança e amor. Por terem se sacrificado e aberto mão dos próprios interesses para estarem comigo. Por cuidarem do Lucca com tanto amor. Amo vocês!

Ao meu irmão, Gláuber. Agradeço por sempre torcer por mim. Por compartilhar as alegrias e tristezas da vida junto comigo, se fazendo sempre presente, mesmo estando geograficamente tão longe. Love u!

Aos meus sogros, Argus Filho e Mariza, e à minha cunhada, Talita. Vocês são a segunda família que Deus escolheu para mim. Obrigada por todo carinho, apoio e momentos felizes. Amo vocês.

As companheiras de laboratório, experimentos e discussões, Gis e Tati. Gis, agradeço por toda paciência, por sempre ser tão disposta a ajudar e por ter me ensinado tanto, sendo praticamente minha terceira orientadora. Tati, agradeço por todas as vezes que me ajudou, dividiu dúvidas e também conhecimentos. Por me “socorrer” nos momentos em que mais precisei. Sem vocês esse trabalho não teria sido o mesmo. Muito obrigada!

Aos colegas de laboratório e aos professores. Agradeço pela convivência agradável e troca diária de conhecimento. Obrigada pelos momentos de ensinamento, discussão, boas risadas e colaboração.

Aos membros da banca, Dr^a Gislaine, Dr^a Letícia, Prof. Dr. Marcos e Prof. Dr. Thiago, que prontamente aceitaram o convite. Agradeço pela colaboração e por compartilharem o conhecimento de vocês comigo, me ajudando na finalização deste trabalho.

A todos, mais uma vez, meu muito obrigada!

“Pois o Senhor é quem dá a sabedoria, de sua boca procedem o conhecimento e o entendimento.”

(Provérbios 2:6)

RESUMO

da ROCHA, A. B. O. **Cocristais de piroxicam: estudos de solubilidade termodinâmica, supersaturação e estabilidade.** Florianópolis; 2019. [Tese de Doutorado – Programa de Pós-graduação em Farmácia da UFSC].

A absorção de um fármaco administrado por via oral é dependente da sua capacidade de se dissolver nos fluidos gastrintestinais e da permeabilidade através da parede intestinal. O piroxicam, classificado como um fármaco de classe II do Sistema de Classificação Biofarmacêutica, possui absorção limitada pela taxa de dissolução, e a solubilidade é uma propriedade físico-química crítica que pode ser alterada visando a melhoria da absorção. Deste modo, os cocristais apresentam-se como uma estratégia, cada vez mais utilizada, para melhorar a solubilidade, a taxa de dissolução *in vitro*, e consequentemente, a biodisponibilidade de fármacos pouco solúveis, apresentando a vantagem de não haver necessidade de mudar a estrutura molecular e/ou a interação farmacológica. O presente trabalho teve como objetivo obter e caracterizar cocristais de piroxicam (PRX) com a sacarina (SAC) e o ácido salicílico (SLC), bem como realizar estudos de solubilidade termodinâmica visando a compreensão do efeito da solubilização dos cocristais por agentes fisiologicamente relevantes e o impacto destes durante sobre a saturação promovida durante a dissolução, além de avaliar a estabilidade dos cocristais frente a diferentes valores de umidade relativa (RH). O método utilizado para a obtenção dos cocristais foi eficiente, além de simples e passível de reprodutibilidade. As técnicas de caracterização confirmaram a identidade e obtenção dos cocristais. Os modelos matemáticos utilizados para a predição da solubilidade do fármaco e seus cocristais foram capazes de prever de maneira eficaz a solubilidade. A solubilidade do cocrystal PRX-SAC variou de 2,0 à 45 vezes a do PRX hidrato (H) na faixa de pH 1,2 à 3,6, enquanto que a do PRX-SLC variou de 1,5 à 25 vezes em uma faixa de pH 1,3 à 4,6, mostrando que a vantagem da solubilidade do cocrystal é altamente dependente do pH. Em FeSSIF (*fed state simulated intestinal fluid*), fármaco e cocrystal são solubilizados em diferentes extensões. O cocrystal PRX-SAC foi 1,3 vezes mais solúvel do que o PRX (H), e o PRX-SLC 1,4 vezes. A vantagem da solubilidade do cocrystal (SA) em relação ao fármaco foi reduzida, onde o PRX-SAC apresentou uma SA de 30 em FeSSIF e 45 em tampão, enquanto que para o PRX-SLC a SA foi de 16 em FeSSIF e 25 em tampão. Os estudos de dissolução evidenciam que o FeSSIF é capaz de promover uma

supersaturação para o PRX-SAC, no entanto, não suficiente para sustentar essa vantagem na solubilidade e impedir a conversão para o fármaco. Já o PRX-SLC alcançou uma maior concentração de fármaco e uma supersaturação que se manteve por mais tempo, quando comparado ao tampão. Os estudos de estabilidade mostraram que a absorção de umidade pode levar a formação dos cocristais em misturas físicas, na presença e ausência de PVP. Diferentes valores de umidade relativa (RH) foram utilizados e as amostras analisadas por até 30 dias. O aumento da RH levou a uma formação mais extensiva do cocrystal PRX-SAC, enquanto que para o cocrystal PRX-SLC observou-se uma formação mais rápida. Na presença de PVP uma formação mais rápida (em 24h) foi observada para o PRX-SAC, enquanto que para o PRX-SLC uma formação mais extensiva foi observada através da presença de picos mais intensos. Os cocristais não se converteram para fármaco nas condições estudadas. O presente estudo mostrou que os cocristais estudados foram mais solúveis do que o fármaco, e a medida que o pH aumenta esta vantagem na solubilidade torna-se mais pronunciada. Quando avaliados em meio biorrelevante, os cocristais apresentaram uma menor vantagem na solubilidade ($S_{\text{cocrystal}}/S_{\text{fármaco}}$) em FeSSIF quando comparado com tampão aquoso. No entanto, cocristais que apresentam uma alta SA podem ter seu potencial para melhorar a dissolução abdicado, enquanto cocristais que apresentam uma menor SA podem ser capazes de alcançar uma maior C_{max} em relação ao fármaco. Ademais, o índice de supersaturação demonstrou ser um valioso indicador do risco de conversão do cocrystal para o fármaco.

Palavras-chave: Cocristais. Piroxicam. Solubilidade. Dissolução. Supersaturação.

ABSTRACT

da ROCHA, A. B. O. **Piroxicam cocrystals: solubility, termodinamics, supersaturation and stability studies.** [Doctoral Thesis - Graduate Program in Pharmacy of UFSC].

The absorption of an orally administered drug will depend on its ability to dissolve into gastrointestinal fluids and their permeability through the intestinal wall. Piroxicam (PRX) is classified as a class II drug of the Biopharmaceutical Classification System and can have their absorption limited by the rate of dissolution. In this way, solubility is a critical physicochemical property that can be altered in order to improve absorption. Thus, cocrystals present an increasingly used strategy to improve solubility, in vitro dissolution rate, and consequently the bioavailability of poorly soluble drugs, with the advantage that there is no need to change the structure molecular and/or pharmaceutical interaction. The aim of the present work was to obtain and characterize PRX cocrystals with saccharin (SAC) and salicylic acid (SLC), as well as to perform thermodynamic solubility studies aiming to understand the effect of the solubilization of cocrystals by physiologically relevant agents and the impacts of these during the saturation promoted during dissolution, besides evaluating the stability of the cocrystals against different relative humidity (RH). The method used to obtain the cocrystals was efficient, being simple and reproducible. The characterization techniques confirmed the identity of cocrystals. The mathematical models used to predict the solubility of drug and its cocrystals were able to predict effectively. The PRX hydrated (H) form was used for solubility studies. The PRX-SAC solubility varied from 2.0 to 45 times the PRX (H) solubility in a range of pH 1.2 to 3.6, whereas that PRX-SLC solubility ranged from 1.5 to 25 times at pH range of 1.3 to 4.6, showing that the solubility advantage of cocrystal is highly dependent on pH. In FeSSIF (Fed State Simulated Intestinal Fluid) drug and cocrystal were solubilized in different extensions. The PRX-SAC cocrystal was 1.3 times more soluble than PRX (H) and PRX-SLC 1.4 times. The solubility advantage (SA) of cocrystal relative to drug was reduced, where PRX-SAC presented a SA of 30 in FeSSIF and 45 in buffer, whereas PRX-SLC SA was 16 in FeSSIF and 25 in buffer. Dissolution studies evidenced that FeSSIF is capable of promoting a supersaturation for PRX-SAC, however, not sufficient to support this advantage in solubility and prevent conversion to drug. PRX-SLC, on the other hand, achieved a higher concentration of drug and supersaturation compared to buffer. Stability studies have shown that

moisture sorption can lead to cocrystal formation in physical mixtures, in the presence and absence of PVP. Desired RH conditions during storage at 25°C was generated in glass desiccators saturated salt and samples were analyzed for up to 30 days. The increase of the RH led to a more extensive cocrystal formation for PRX-SAC, whereas for PRX-SLC a faster formation was observed. In the presence of PVP a faster formation (in 24 hours) was observed for PRX-SAC, while for PRX-SLC a more extensive formation was observed by the presence of higher and intense peaks. Cocrystals didn't convert to drug under the conditions studied. The present study shown that both cocrystals were more soluble than drug, and the increase of pH increases this solubility advantage. Cocrystals shown a lower solubility advantage (SA) in FeSSIF compared with aqueous buffer. However, cocrystal with highest SA negated the cocrystal potential dissolution enhancement, whereas a lower SA achieved higher C_{max} and AUC_{dis} than drug. SA varies with cocrystal as well as solution conditions and can streamline cocrystal development.

Keywords: Cocrystal. Piroxicam. Solubility. Dissolution. Supersaturation.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Eluição gradiente do método por CLAE utilizado para a quantificação dos componentes dos cocristais de PRX-SLC	78
Tabela 2. Concentrações eutéticas do fármaco e coformadores utilizadas para calcular o K_{sp} , e a solubilidade do cocrystal obtida experimentalmente	82
Tabela 3. Comparação entre os valores de solubilidade dos cocristais preditos e medidos experimentalmente	90
Tabela 4. Constantes de solubilização ($K_{S,T}$) em FeSSIF para o fármaco e coformadores.	91
Tabela 5. Concentrações eutéticas do fármaco e coformadores, e a solubilidade do cocrystal obtida experimentalmente em FeSSIF e em tampão	92
Tabela 6. Quantidades adicionadas de cada cocrystal para os estudos de dissolução	101
Tabela 7. Cocrystallization in bulk samples.....	115

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Representação de <i>sythons</i> supramoleculares via ligação de hidrogênio entre ácidos e amidas	30
Figura 2. Diagrama de fases da solubilidade de um cocristal AB e um fármaco A em função da concentração total de coformador $[B]_T$	32
Figura 3. Diagrama de solubilidade de fases indicando o ponto eutético para dois tipos de cocristal	34
Figura 4. Fluxograma das etapas envolvidas na determinação das concentrações em equilíbrio dos componentes do cocristal em solução no ponto eutético	37
Figura 5. Influência do pH (a), agente solubilizante do fármaco (b), e concentração de coformador (c) na solubilidade e estabilidade termodinâmica do cocristal	41
Figura 6. Pontos de transição de S^* e CEC para o mesmo cocristal em meios contendo dois agentes solubilizantes diferentes	43
Figura 7. Representação dos passos envolvidos no processo de solubilização de um cocristal	44
Figura 8. Concentração de fármaco ($[fármaco]$) em função do tempo para cocristais que apresentam diferentes solubilidades	45
Figura 9. Interações entre as fases em solução e respectivo equilíbrio para um cocristal RHA de um fármaco não ionizável (R) e um coformador ácido (HA) em solução micelar.....	47
Figura 10. Perfis de solubilidade em função do pH	50
Figura 11. Estrutura molecular do PRX.....	56
Figura 12. Sistema de Classificação Biofarmacêutica	57
Figura 13. Diagrama de solubilidade de fase esquemático indicando as regiões nas quais o cocristal pode se formar ou dissolver, e uma possível via de formação do cocristal.....	62

Figura 14. Difratogramas comparativos entre (A) matéria-prima utilizada (PRX) e padrão de difração calculado, e (B) PRX (H) e seu padrão de difração calculado.....	64
Figura 15. Difratogramas comparativos de amostras obtidas por MCR e os padrões calculados dos cocristais (A) PRX-SAC, e (B) PRX-SLC...	65
Figura 16. Curva de DSC da matéria-prima utilizada (a) PRX, e (b) PRX (H).	67
Figura 17. Curva de DSC do coformador SAC (a), PRX-SAC (b) e cocristal PRX (c).	68
Figura 18. Curva de DSC do coformador SLC (a), PRX-SAC (b) e cocristal PRX (c).	68
Figura 19. Espectroscopia Raman da matéria-prima PRX. Polimorfo I (A) e PRX (H) (B).....	70
Figura 20. Espectroscopia Raman dos cocristais PRX-SAC (A) e PRX-SLC (B).	71
Figura 21. Obtenção do PRX (H) em água após agitação magnética 24h.....	77
Figura 22. Diagrama de solubilidade de fases para o fármaco PRX (H) e para os cocristais PRX-SAC e PRX-SLC	81
Figura 23. Concentrações de PRX e SAC obtidas no ponto eutético em soluções aquosas em diferentes valores de pH.	83
Figura 24. Concentrações de PRX e SLC obtidas no ponto eutético em soluções aquosas em diferentes valores de pH.	83
Figura 25. Dependência da K_{eu} na SA para os cocristais PRX-SAC e PRX-SLC	85
Figura 26. Vantagem da solubilidade do cocristal sobre o fármaco ($SA = S_{cocristal}/S_{fármaco}$) versus a razão da solubilidade entre coformador e o fármaco ($S_{coformador}/S_{fármaco}$).	85

Figura 27. Relação entre a constante eutética (K_{eu}) e a razão de solubilização entre o coformador e o fármaco ($S_{coformador}/S_{fármaco}$).	86
Figura 28. Solubilidade do fármaco e dos cocristais em FeSSIF e em tampão a 25° C	87
Figura 29. Razão de solubilização para os cocristais e o fármaco em FeSSIF.	91
Figura 30. SA dos cocristais PRX-SAC e PRX-SLC em FeSSIF e tampão.	92
Figura 31. Vantagem da solubilidade do cocrystal em função da solubilização do fármaco	93
Figura 32. Perfil de dissolução do fármaco e cocristais em tampão pH 5,0.	100
Figura 33. Perfil de dissolução do PRX (H) em FeSSIF e em tampão pH 5,0.	101
Figura 34. Perfil de dissolução do fármaco e dos cocristais em FeSSIF. Valor final de pH = 4.9	102
Figura 35. Supersaturação gerada pelos cocristais em FeSSIF. Valor final de pH = 4.9	103
Figure 36. Scheme for bulk samples studies	110
Figure 37. Raman Spectra for PRX-SAC cocrystal formation at 98% RH in bulk sample for binary mixture.....	114
Figure 38. Raman Spectra for PRX-SAC cocrystal formation at all RH in bulk sample for binary mixture at 15 days.....	115
Figure 39. Raman Spectra for PRX-SAC cocrystal formation at all RH in bulk sample for ternary mixture with PVP at 24 h.....	115
Figure 40. Raman Spectra for PRX-SLC cocrystal formation at 75% RH in bulk sample for ternary mixture with PVP at 30 days.....	116
Figure 41. Color change for bulk samples at 98% RH.....	117

Figure 42. Raman spectra for PRX-SAC cocrystal screening by slurry in (A) water and (B) buffer pH 5.0. Final pH is 2.5 and 2.8, respectively.	118
Figure 43. Raman spectra for PRX-SLC cocrystal screening by slurry in (A) water and (B) buffer pH 5.0. Final pH is 3.3 and 4.5, respectively.	119
Figure 44. Raman spectra for PRX-SAC cocrystal conversion in (A) water and (B) buffer pH 5.0. Final pH is 2.4 and 3.6, respectively.	120
Figure 45. Raman spectra for PRX-SLC cocrystal conversion in (A) water and (B) buffer pH 5.0. Final pH is 2.7 and 4.6, respectively.	121
Figure 46. Microscopy studies for PRX-SLC (A) cocrystal formation and (B) cocrystal conversion to drug.	122
Figure 47. Diagram for bulk samples results.	123

LISTA DE TERMOS TÉCNICOS DA ÁREA E SIGLAS

[coformador]_{eu}	Concentração de coformador no ponto eutético
[fármaco]_{eu}	Concentração de fármaco no ponto eutético
[M]	Concentração micelar
[PRX]_T	Concentração total de PRX
C_{eu}	Concentração eutética
Cof	Coformer
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
CMC	Concentração micelar crítica
CSD	<i>Cambridge Structural Database</i>
DRP	Desvio padrão relativo
DRXP	Difração de raios X de pó
	<i>Differential scanning calorimetry</i> ou calorimetria
DSC	exploratória diferencial
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
K_a	Constante de ionização ácida
K_{eu}	Constante eutética
kJ	Kilojoule
K_s	Constante de solubilização micelar
K_{sp}	Produto de solubilidade do cocrystal
MCR	Método de cristalização por reação
PRX	Piroxicam
PRX-SAC	Cocrystal de piroxicam com sacarina
PRX-SLC	Cocrystal de piroxicam com ácido salicílico
S₀	Solubilidade intrínseca
	Ponto de transição onde a solubilidade do fármaco
S*	é igual a do cocrystal
SA	<i>Solubility advantage</i> ou vantagem da solubilidade

	do cocrystal em relação ao fármaco
SAC	Sacarina
S_{aq}	Solubilidade aquosa ($S_{aq} = S_{\text{nãoionizado, aq}} + S_{\text{ionizado, aq}}$)
S_{cc}	Solubilidade do cocrystal
S_{cocrystal, aq}	Solubilidade do cocrystal em meio aquoso
S_{cocrystal, m}	Solubilidade micelar do cocrystal
S_{cocrystal, T}	Solubilidade total do cocrystal em meio contendo agente solubilizante
S_{coformador}	Solubilidade do coformador
S_{fármaco}	Solubilidade do fármaco
SDDS	<i>Supersaturating Drug Delivery Systems</i>
SLC	Ácido salicílico
	<i>Solubilization ratio</i> ou Razão de solubilização
SR	($SR = S_T / S_{aq}$)
	<i>Solubilization ratio</i> ou Razão de solubilização do
SR_{cocrystal}	cocrystal ($SR = S_T / S_{aq}$) _{cocrystal}
	<i>Solubilization ratio</i> ou Razão de solubilização do
SR_{fármaco}	fármaco ($SR = S_T / S_{aq}$) _{fármaco}
S_T	Solubilidade total

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO GERAL.....	25
1.1.	OBJETIVOS.....	27
1.1.1.	Objetivo geral.....	27
1.1.2.	Objetivos específicos.....	27
<i>CAPÍTULO I</i>		
2.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	29
2.1.	DEFINIÇÃO E ASPECTOS GERAIS DOS COCRISTAIS...29	
2.2.	ESTRATÉGIAS DE FORMAÇÃO DE COCRISTAIS.....	31
2.3.	PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DOS COCRISTAIS.34	
2.3.1.	Ponto eutético e a constante eutética (K_{eu}).....	34
2.3.2.	K_{sp} e a solubilidade dos cocristais.....	38
2.3.3.	Pontos de transição.....	40
2.4.	SOLUBILIDADE E ESTABILIDADE TERMODINÂMICA DOS COCRISTAIS.....	43
2.5.	MODULAÇÃO DA SOLUBILIDADE DOS COCRISTAIS POR MEIO DE INTERAÇÕES EM SOLUÇÃO.....	47
2.5.1.	Ionização.....	48
2.5.2.	Agentes solubilizantes.....	52
2.6.	DISSOLUÇÃO E ÍNDICE DE SUPERSATURAÇÃO DOS COCRISTAIS.....	55
2.7.	PIROXICAM.....	55
<i>CAPÍTULO II</i>		
3.	COCRISTAIS DE PIROXICAM: OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO	59
3.1.	INTRODUÇÃO	59
3.2.	METODOLOGIA.....	60
3.2.1.	Materiais.....	60

3.2.2. Métodos.....	60
3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	61
3.3.1. Difração de raios X de pó (DRXP).....	63
3.3.2. Calorimetria exploratória diferencial (DSC).....	66
3.3.3. Espectroscopia Raman	69
3.4. CONCLUSÕES.....	72

CAPÍTULO III

4. DETERMINAÇÃO DA INFLUÊNCIA DO pH NA SOLUBILIDADE AQUOSA E EM MEIO BIORRELEVANTE DE COCRISTAIS COMPOSTOS POR FÁRMACO DO TIPO ZWITERIÔNICO E COFORMADORES ÁCIDOS.....

4.1. INTRODUÇÃO	73
4.2. METODOLOGIA.....	75
4.2.1. Materiais.....	75
4.2.2. Métodos.....	75
4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	78
4.3.1. Solubilidade do PRX e dos cocristais em meio aquoso.....	78
4.3.2. Solubilidade do fármaco e dos cocristais em FeSSIF e tampão acetato pH 5,0	86
4.4. CONCLUSÕES	94

CAPÍTULO IV

5. SUPERSATURAÇÃO E DESEMPENHO DOS COCRISTAIS DE PIROXICAM COM COFORMADORES ÁCIDOS DURANTE A DISSOLUÇÃO EM MEIO AQUOSO E BIORRELEVANTE.....

5.1. INTRODUÇÃO	97
5.2. METODOLOGIA	98
5.2.1. Materiais	98

5.2.2. Métodos	98
5.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	100
5.3.1. Dissolução dos cocristais e supersaturação.....	100
5.4. CONCLUSÕES	105
<i>CAPÍTULO V</i>	
6. INFLUÊNCIA DA UMIDADE NA FORMAÇÃO E ESTABILIDADE DOS COCRISTAIS	107
6.1. INTRODUÇÃO	107
MOISTURE UPTAKE: COCRYSTAL FORMATION AND STABILITY.....	107
6.2. METHODOLOGY	109
6.2.1. Materials.....	109
6.2.2. Methods	110
6.3. RESULTS	112
6.3.1. Cocrystallization in Bulk Samples	112
6.3.2. Slurry Studies	117
6.4. DISCUSSION	122
6.5. CONCLUSION	125
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS	127
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	129
APÊNDICE	151
<i>Derivação das equações de predição da solubilidade do fármaco e cocristais em meio aquoso</i>	<i>151</i>
<i>Derivação das equações de predição da solubilidade do fármaco e cocristais em meio micelar</i>	<i>154</i>
ANEXO A	159

1. INTRODUÇÃO

A absorção de um fármaco administrado por via oral é dependente da sua capacidade de se dissolver nos fluidos gastrintestinais e da permeabilidade através da parede intestinal. A absorção oral pode ser descrita de acordo com o sistema de classificação biofarmacêutica (SCB) o qual agrupa os fármacos com base na sua solubilidade e permeabilidade aquosa (AMIDON et al., 1995). Para os fármacos de classe II do SCB (pouco solúvel, altamente permeável) a absorção é limitada pela taxa de dissolução e a solubilidade é uma propriedade físico-química crítica que pode ser alterada visando a melhoria da absorção (LIPERT, 2015).

Diante disso, a síntese de cocristais surge como uma estratégia, cada vez mais utilizada, no processo de desenvolvimento de fármacos para melhorar a solubilidade, a taxa de dissolução *in vitro*, e consequentemente, a biodisponibilidade de fármacos pouco solúveis, apresentando a vantagem de não haver necessidade de mudar a estrutura molecular e/ou a interação farmacológica (REMENAR et al., 2003; MCNAMARA et al., 2006; HICKEY et al., 2007). Até o momento cinco fármacos foram registrados e são comercializados na forma de cristal, sendo eles: Depakote® (ác. vaproico-valproato de sódio) no ano de 1983, Lexapro® (escitalopram-ácido oxálico) em 2002, Suglat® (ipragliflozin-Lprolina) em 2014, Entresto® (valsartana-scubitril) em 2015 e Steglatro® (ertuglifozin-ácido piroglutâmico) em 2017.

No entanto a avaliação da solubilidade e estabilidade em solução dos cocristais ainda não está bem consolidada. Um levantamento realizado no período de 1999 a 2018, utilizando a base de dados Scopus, considerando as revistas farmacêuticas, químicas, e de engenharia de materiais revelou um crescente número de publicações envolvendo a síntese e caracterização dos cocristais, mas um reduzido número de publicações envolvendo estudos de solubilidade, química em solução, estabilidade e a influência de excipientes, características essenciais no desenvolvimento de formulações contendo cocristais.

Os cocristais tornam-se promissores pois podem ser mais solúveis em diferentes ordens de grandeza apresentando solubilidade inúmeras vezes superior em relação ao fármaco no estado cristalino, ao passo que outras formas sólidas, como polimorfos e solvatos, não são capazes de alcançar tamanha dimensão. No entanto, cocristais que apresentam solubilidade maior que o fármaco constituinte são caracterizados pela sua baixa estabilidade termodinâmica em solução, ou seja, estão suscetíveis à conversão para a forma menos solúvel do fármaco quando expostos à solução (ROY et al., 2012), significando uma limitação para

o desenvolvimento de cocristais. Um cocrystal que apresenta uma alta vantagem de solubilidade poderá ter uma solubilidade maior, igual ou menor a do fármaco, dependendo da natureza e concentração de um aditivo.

Considerando que o ambiente da solução pode ser modulado através da alteração do pH, agentes tensoativos ou agentes complexantes presentes na solução, o emprego de aditivos como polímeros e surfactantes, tem demonstrado melhorar o comportamento de dissolução de cocristais por inibirem a conversão para o fármaco constituinte (CHILDS et al., 2013; ROY, 2013). Ademais, os surfactantes fisiologicamente relevantes encontrados nos meios biorrelevantes podem ter um grande impacto na solubilidade de fármacos pouco solúveis, como os fármacos de classe II e IV (ROY et al., 2010; LIPERT e RODRIGUEZ-HORNEDO, 2013; THAKURIA et al., 2013; LIPERT e RODRIGUEZ-HORNEDO, 2014).

Compreender as interações químicas entre os constituintes do cocrystal e os aditivos presentes nos meios de dissolução é criticamente importante para conhecer o comportamento de solubilidade dos cocristais, a sua vantagem da solubilidade e estabilidade. Os estudos de solubilidade e estabilidade termodinâmica proporcionam conhecimento sobre o comportamento do cocrystal em solução, sua pureza, estabilidade, possibilitando a obtenção da medida correta de sua solubilidade (THAKURIA et al., 2013).

O presente trabalho buscou a obtenção e caracterização de cocristais de piroxicam, avaliando suas interações em soluções aquosas e em meio biorrelevante contendo surfactantes fisiologicamente relevantes. Estudos de solubilidade e dissolução foram realizados visando compreender os mecanismos de solubilização dos cocristais pelos agentes solubilizantes e o impacto destes na solubilidade do cocrystal. Além disso, a influência da umidade na estabilidade dos cocristais foi avaliada em diferentes condições. Ressalta-se que parte deste trabalho foi realizado na University of Michigan (UofM), Ann Arbor, MI, durante o período de doutorado sanduíche.

1.1. OBJETIVOS

1.1.1. Objetivo Geral

Realizar estudos de solubilidade de cocristais de piroxicam de modo a avaliar sua estabilidade termodinâmica em solução, além de estudos de dissolução e supersaturação, bem como avaliar a estabilidade dos cocristais.

1.1.2 Objetivos Específicos

- Obter e caracterizar cocristais de piroxicam, utilizando a sacarina e o ácido salicílico como coformadores;
- Determinar a influência do pH na solubilidade de cocristais de piroxicam com sacarina e ácido salicílico;
- Utilizar modelos matemáticos que descrevem e preveem quantitativamente a solubilidade do cocrystal baseados na dissociação do cocrystal e ionização e solubilização micelar de seus constituintes;
- Compreender o efeito de agentes solubilizantes fisiologicamente relevantes sobre a solubilidade do cocrystal;
- Observar a supersaturação promovida pelos cocristais durante a dissolução, além das conversões cinéticas e o impacto do uso de meio biorrelevante nessas condições;
- Avaliar a formação de cocristais de piroxicam mediante à presença de umidade;
- Avaliar a estabilidade e os efeitos do armazenamento dos cocristais quando expostos à diferentes umidades relativas (RH);

CAPÍTULO I – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. DEFINIÇÕES E ASPECTOS GERAIS DOS COCRISTAIS

Cocristais são materiais cristalinos homogêneos, compostos por dois ou mais compostos em proporção estequiométrica definida e que encontram-se sólidos em condições ambientes (25°C/1 atm) (AITIPAMULA et al., 2012; BLAGDEN et al., 2014).

Cocristais farmacêuticos, por sua vez, são compostos por um ingrediente farmacêutico ativo (IFA) e uma molécula não tóxica, ou outro IFA como coformador. Os coformadores considerados adequados para uso farmacêutico devem apresentar-se seguros em relação à sua toxicidade. Neste sentido, existem mais de uma centena de materiais sólidos reconhecidos como seguros - GRAS (*Generally Recognized as Safe*) pelo FDA (*Food and Drug Administration*). Nesta lista destacam-se aditivos alimentares e outras substâncias já bastante estudadas, entretanto, quantidades subterapêuticas de fármacos, como ácido acetilsalicílico, também podem ser utilizadas como coformadores (FÁBIÁN, 2009; FDA, 2011; WOUTERS et al., 2011).

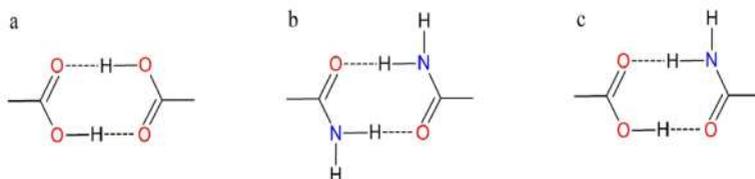
Ligações de hidrogênio entre as moléculas neutras do fármaco e o coformador orientam a formação do cocrystal (GOOD e RODRIGUEZ-HORNEDO, 2009; AITIPAMULA et al., 2012). Assim, na maioria das vezes, os coformadores são selecionados com base nas regiões de complementaridade molecular com o fármaco, especialmente pela presença de grupos funcionais capazes de formar ligações de hidrogênio intermoleculares. Entretanto, as interações não covalentes de Van der Waals, empilhamento π e ligações de halogênio também se demonstram significativas para a formação dos cocristais (DESIRAJU, 1995; CHILDS e HARDCASTLE, 2007).

Eventos de reconhecimento molecular induzem o auto-arranjo supramolecular dos formadores de cocristais, que por sua vez levam à formação de complexos moleculares ambos em estado sólido, a partir de interações não covalentes de geometria favorável (NANGIA, 2010; GADADE e PEKAMWAR, 2016). O reconhecimento molecular a partir de pontes de hidrogênio confere interações direcionais entre os componentes do cocrystal. Com base nas estruturas moleculares caracterizadas as quais apresentam múltiplos grupos funcionais capazes de formar ligações de hidrogênio, três diretrizes foram estabelecidas para prever quais interações de hidrogênio levam ao arranjo molecular: (1) Todos os hidrogênios ácidos serão utilizados nas ligações de hidrogênio na estrutura

crystalina de um composto; (2) todos os bons receptores serão utilizados nas ligações de hidrogênio se houverem doadores suficientes, e; (3) pontes de hidrogênio serão preferencialmente formadas entre o melhor doador e o melhor receptor (FRISCIC et al., 2006).

As interações intermoleculares não covalentes que apresentam geometria específica e ligações padronizadas que se repetem entre as moléculas são denominadas de *synthons*. *Synthons* formados por interações entre dois grupos funcionais iguais são classificados como *homosynthons*, enquanto que as interações entre dois grupos funcionais diferentes são mais favoráveis e caracterizam os *heterosynthons* (Figura 1) (ALMARSSON e ZAWOROTKO, 2004). Os *synthons* supramoleculares podem ser úteis para o *design* e a síntese de cocristais de um determinado fármaco uma vez que eles podem prever se um coformador será eficiente baseado em suas propriedades estruturais (FRISCIC et al., 2006).

Figura 1. Representação de *synthons* supramoleculares via ligação de hidrogênio entre ácidos e amidas: *homosynthon* entre dímeros (a) ácido-ácido e (b) amida-amida; *heterosynthon* entre dímeros (c) ácido-amida.



Além das interações baseadas em complementaridade molecular, cabe ressaltar que outros fenômenos podem estar envolvidos na formação de um cocristal. O empacotamento, a estereoquímica dos componentes e características intrínsecas do fármaco, como a polaridade e o pK_a , também devem ser consideradas durante a seleção do coformador para a síntese do cocristal. O ΔpK_a (pK_a básico - pK_a ácido) entre o fármaco e coformador é um dos parâmetros utilizados. Como regra geral para reações em solução, $\Delta pK_a < 0$ indica a formação de um cocristal, enquanto que $\Delta pK_a > 3$ tende a resultar em um sal. No caso da região de ΔpK_a entre 0 e 3, a habilidade de prever o material resultante é limitada (JOHNSON e RUMON, 1965; BOND, 2011). Desta forma, este critério de avaliação baseado no pK_a é apenas um guia no desenho de cocristais, visto que não é aplicável em todas as situações (e.g. itraconazol:ácido succínico 2:1 (REMENAR et al., 2003) e pode apresentar diferenças de acordo com a temperatura (GROBELNY et al., 2011; CHERUKUVADA e NANGIA, 2012). Esta ressalva também está baseada no fato de que o pK_a é um parâmetro essencialmente definido em

solução e pode não ser integralmente aplicável à predição de interações no estado sólido.

2.2. ESTRATÉGIAS DE FORMAÇÃO DE COCRISTAIS

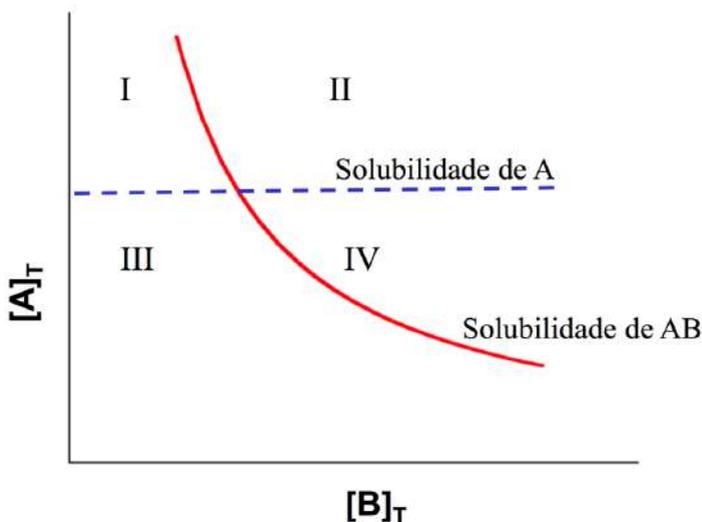
Diversas abordagens são utilizadas nos processos de cocrystalização na área farmacêutica, dentre elas destacam-se a cristalização em solução (CHIARELLA et al., 2007), a moagem (DELORI et al., 2012), a cristalização por fusão (BERRY et al., 2008; LU et al., 2008) e o método de cristalização por reação (MCR) (RODRÍGUEZ-HORNEDO et al., 2006).

Entre os diferentes métodos, a MCR (RODRÍGUEZ-HORNEDO et al., 2006) apresenta grande vantagem na triagem e obtenção de cocrystalis, uma vez que é capaz de formar cocrystalis sem que ocorra a cristalização dos componentes individuais. Além disso, apresenta ótimo rendimento, sendo passível de escalonamento. Este método baseia-se na geração de supersaturação da solução em relação ao complexo molecular a ser formado, no caso o cocrystal, enquanto a solução encontra-se apenas saturada ou não saturada em relação aos componentes do cocrystal.

O diagrama de solubilidade de fases do cocrystal (Figura 2), no qual este método é baseado, demonstra as condições não saturadas, saturadas e supersaturadas com relação ao cocrystal e/ou às fases cristalinas individuais. Enquanto a cristalização ocorre em condições supersaturadas, em condições não saturadas ocorrerá a dissolução. Conforme ilustrado na Figura 2, o domínio I é supersaturado em relação ao componente A (fármaco), podendo o cocrystal converter à fármaco, mas não saturado com respeito ao cocrystal (AB). Ambos, A e AB, estão supersaturados no domínio II, mas não saturados no domínio III. Por fim, o domínio IV é supersaturado com relação à AB mas não saturado com respeito a A (NEHM et al., 2006; RODRÍGUEZ-HORNEDO et al., 2006; GOOD e RODRIGUEZ-HORNEDO, 2009). Portanto, a supersaturação relacionada unicamente ao cocrystal pode ser gerada preparando-se soluções dos reagentes fármaco (A) e coformador (B) de tal modo que as concentrações se encontrem na região IV do diagrama. Esta condição pode ser alcançada através da mistura de soluções, onde os reagentes estão dissolvidos ou dissolvendo-se o(s) reagente(s) sólido(s) A e/ou B no solvente puro ou em soluções contendo os componentes sólidos. As fases sólidas A e B podem então transformar-se em cocrystal (AB) através de reação mediada em solução. Enquanto o cocrystal AB é formado, ele consome A e B da solução e mais reagentes dissolvem-se até que o processo atinja o estado de equilíbrio determinado pela curva de solubilidade do cocrystal (NEHM et al., 2006; RODRÍGUEZ-HORNEDO et al., 2006).

A formação de cocristais pela adsorção de umidade (JAYASANKAR et al., 2007) ou solvente (BRAGA, GIAFFREDA, GREPIONI, et al., 2007; BRAGA, GIAFFREDA, RUBINI, et al., 2007) de misturas físicas dos componentes do cocrystal também é descrita pelo mesmo mecanismo da MCR.

Figura 2. Diagrama de fases da solubilidade de um cocrystal AB e um fármaco A em função da concentração total de coformador $[B]_T$.



Fonte: Adaptado de Nehm et al (2007).

Outros processos de cristalização em solução têm sido utilizados, onde razões estequiométricas dos componentes são dissolvidas em um solvente e, subsequentemente, evaporadas ou aquecidas, para facilitar a dissolução e, em seguida, resfriadas (solvo-térmico). Estes métodos com base empírica apresentam um risco inerente de cristalizar uma ou mais fases indesejáveis incluindo componentes puros, além de exigirem, na maioria dos casos, a triagem de muitos solventes e/ou condições experimentais. Devido à variabilidade de evaporação ou mudanças de temperatura, podem haver dificuldades ao tentar aumentar a escala do processo de cristalização através destes métodos.

Métodos de cristalização em estado sólido via ativação mecânica, através da moagem dos componentes do cocrystal, também são comumente empregados na área farmacêutica (ETTER, 1990; 1991; SHAN et al., 2002; TRASK et al., 2004; 2005; CHILDS et al., 2008; FRISCIC et al., 2009; FRISCIC e JONES, 2009; KARKI et al., 2009). Em alguns casos, fármaco e coformador apresentam uma fase intermediária amorfa (JAYASANKAR et al., 2006). Desta forma, a temperatura de transição vítrea (T_g) e a temperatura de fusão dos componentes são propriedades importantes para qualquer método mecanoquímico que induz transformação de fase e, portanto, devem ser consideradas. A moagem assistida por solvente emprega pequenos volumes de solvente durante a moagem e pode levar à formação do cocrystal por processos mediados por: (1) alteração da mobilidade molecular da fase sólida e/ou (2) interações em solução (SHAN et al., 2002; TRASK et al., 2004).

Além dos métodos mencionados, outro método que tem sido aplicado com sucesso na triagem e processos de obtenção de cocrystal em grande escala é o método de fusão (MCNAMARA et al., 2006; LU et al., 2008). A aplicação de fusão seguida de extrusão parece ser uma alternativa promissora para a formação de cocrystal onde a instabilidade química não é um problema (SEEFELDT et al., 2007).

Para confirmação da formação de um cocrystal e diferenciação em relação a outros cristais multicomponentes, diversas técnicas de caracterização do estado sólido podem ser empregadas, como difração de raios X (DRX) (HARRIS et al., 2001; REUTZEL-EDENS, 2011), análise térmica (DSC *Differential scanning calorimetry* ou calorimetria exploratória diferencial e TGA *Thermogravimetric analysis* ou termogravimetria) (GIRON, 2002; SCHULTHEISS e NEWMAN, 2009; REUTZEL-EDENS, 2011), microscopia (CHADWICK et al., 2007; YU, 2010), espectroscopia vibracional (Raman e Infravermelho)(ALLESO et al., 2008; REUTZEL-EDENS, 2011), espectroscopia do estado sólido (Ressonância magnética nuclear do estado sólido) (BUGAY, 1993; HARRIS, 2004; VOGT et al., 2009; REUTZEL-EDENS, 2011), análise de sorção de umidade (UMPRAYN e MENDES, 1987; ZOGRAFI, G., 1988; BRITAIN et al., 1991; NEWMAN et al., 2008).

2.3. PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DOS COCRISTAIS

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

O ponto eutético, onde as duas fases sólidas encontram-se em equilíbrio com a solução, é caracterizado pelas concentrações de fármaco e coformador ($[fármaco]_{eu}$ e $[coformador]_{eu}$) no ponto onde a solução

encontra-se duplamente saturada em relação ao fármaco e cocrystal. Neste ponto, a solubilidade do fármaco é igual à do cocrystal ($[\text{fármaco}]_{\text{eu}} = [\text{coformador}]_{\text{eu}}$), considerando um cocrystal de razão estequiométrica 1:1 (GOOD e RODRIGUEZ-HORNEDO, 2009; ROY et al., 2012). O ponto eutético é independente da massa de cada fase em equilíbrio, porém é dependente da temperatura, pH, solvente e presença de agentes solubilizantes.

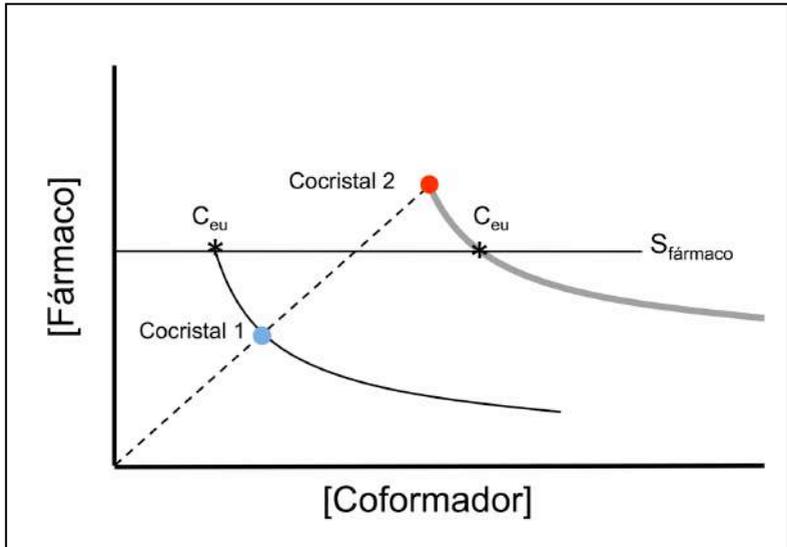
A partir do ponto eutético é possível acessar a solubilidade do cocrystal e, desta forma, determinar as regiões de estabilidade termodinâmica do cocrystal em relação aos seus componentes (GOOD e RODRIGUEZ-HORNEDO, 2010). O cocrystal será mais solúvel do que o fármaco quando a $[\text{fármaco}]_{\text{eu}}$ for menor do que a $[\text{coformador}]_{\text{eu}}$, ou menos solúvel quando a $[\text{fármaco}]_{\text{eu}}$ for maior do que a $[\text{coformador}]_{\text{eu}}$ (BETHUNE et al., 2009).

Cabe ressaltar que existem pelo menos dois pontos eutéticos, os quais são diferenciados pelas fases em equilíbrio: (1) fármaco, cocrystal e solução ou (2) coformador, cocrystal e solução (GOOD e RODRIGUEZ-HORNEDO, 2009). O ponto eutético mencionado acima refere-se ao fármaco e cocrystal. As concentrações de fármaco e coformador no ponto eutético são utilizadas para acessar a solubilidade em equilíbrio do cocrystal em soluções com diferentes condições, como valores de pH e presença de agentes solubilizantes (BETHUNE et al., 2009; HUANG e RODRIGUEZ-HORNEDO, 2009; 2010). Além disso, as concentrações eutéticas dos componentes dos cocrystalis também podem ser utilizadas para avaliar as relações de solubilidade entre o cocrystal e o seu fármaco constituinte, bem como a existência de pontos de transição (KUMINEK et al., 2016a).

O conceito do ponto eutético pode ser melhor apreciado considerando-se os diagramas de solubilidade de fases (Figura 3) que incluem as fases sólidas cocrystal e fármaco (ou coformador) em equilíbrio com as fases da solução. O ponto eutético farmacologicamente relevante envolve normalmente o equilíbrio das fases sólidas de fármaco e cocrystal, visto que o fármaco frequentemente é o componente menos solúvel em água. Assim, conversões entre cocrystal e fármaco sólido são mais relevantes do que conversões entre cocrystal e coformador. O ponto eutético é determinado pela interseção das curvas de solubilidade como mostrado na Figura 3 (GOOD e RODRIGUEZ-HORNEDO, 2009).

Figura 3. Diagrama de solubilidade de fases indicando o ponto eutético para dois tipos de cocrystal. A linha pontilhada representa a dissolução estequiométrica das concentrações dos componentes do cocrystal e os círculos indicam a concentração máxima do fármaco associada a solubilidade do cocrystal. O ponto eutético é

representado pelo ponto de intersecção (*) entre as curvas de solubilidade do fármaco e cocristal, indicado como concentração eutética (C_{eu}).



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

O diagrama apresentado na Figura 3 mostra dois tipos de cocristal, sendo o cocristal 1 estável em solução (menor solubilidade) e o cocristal 2 metaestável (maior solubilidade) com relação ao fármaco puro em um determinado solvente. As curvas representam o produto da solubilidade do cocristal (K_{sp}) com a concentração de fármaco em função da concentração de coformador ($K_{sp} = [\text{fármaco}] [\text{coformador}]$). A linha horizontal representa a solubilidade do fármaco, assumindo que esta é muito menor do que a solubilidade do coformador, que não é mostrada. A linha pontilhada representa a dissolução estequiométrica das concentrações dos componentes do cocristal e a intersecção (círculos) com as curvas do cocristal indica a concentração máxima do fármaco associada à solubilidade do cocristal. O ponto eutético é o ponto de intersecção (*) entre as curvas de solubilidade do fármaco e cocristal, indicado como concentração eutética (C_{eu}).

Para um cocristal metaestável (cocristal 2) a concentração de fármaco associada ao cocristal é superior à solubilidade da forma farmacêutica estável do fármaco (linha horizontal). Sua solubilidade não é tipicamente um equilíbrio mensurável e esses cocristais são atribuídos como incongruentemente saturados. A medida que um cocristal metaestável dissocia-se em solução, ocorre a supersaturação do fármaco o que pode

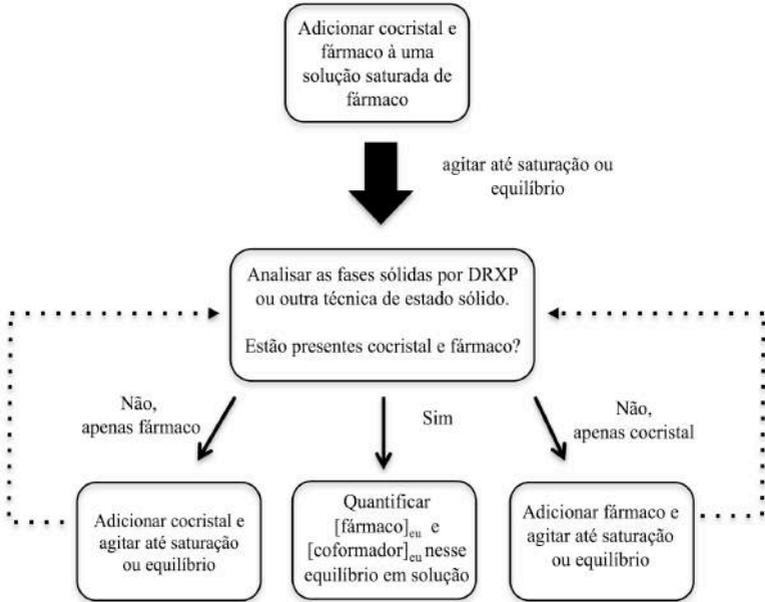
levar a sua cristalização. Tal supersaturação é uma condição necessária, porém não suficiente para a cristalização. Em certos casos, a nucleação lenta ou outros fatores cinéticos podem retardar a cristalização da forma termodinâmica favorecida e permitir a medição da verdadeira solubilidade em equilíbrio.

No caso de cocristais congruentemente saturados (cocrystal 1), a concentração de fármaco associada ao cocrystal é inferior a solubilidade do fármaco puro. A dissolução dos componentes do cocrystal ocorre de maneira proporcional, desta maneira, a solubilidade do cocrystal pode ser mensurada a partir da dissolução do cocrystal em equilíbrio com a solução.

Através do ponto eutético é possível determinar as regiões termodinamicamente estáveis do fármaco e cocrystal. As concentrações eutéticas (C_{eu}) de fármaco e coformador são utilizadas para obter o valor de K_{sp} , e, desta forma, acessar a solubilidade estequiométrica dos cocristais.

O ponto eutético oferece um método experimentalmente acessível para acessar a solubilidade do cocrystal, independentemente da relação de solubilidade entre o cocrystal e seus componentes, uma vez que a uma temperatura e pH constantes, a composição da solução é independente da razão dos componentes sólidos (BETHUNE et al., 2009; GOOD e RODRIGUEZ-HORNEDO, 2009; JAYASANKAR et al., 2009). Os métodos experimentais de medida do ponto eutético encontram-se bem descritos na literatura (GOOD e RODRÍGUEZ-HORNEDO, 2009;2010; HUANG e RODRÍGUEZ-HORNEDO, 2011b; KUMINEK et al., 2016a) e requerem apenas: (1) pequenas quantidades de fármaco e cocrystal em fase sólida suspensas na solução de interesse; (2) que a suspensão atinja saturação ou equilíbrio com relação às duas fases sólidas e à líquida; e (3) a medida das concentrações dos componentes do cocrystal em solução. Devem ser medidos o pH e a temperatura, assim como faz-se necessário confirmar a presença das duas fases sólidas em equilíbrio (KUMINEK et al., 2016a). A Figura 4 apresenta um fluxograma do processo utilizado para determinar as concentrações eutéticas.

Figura 4. Fluxograma das etapas envolvidas na determinação das concentrações em equilíbrio dos componentes do cocristal em solução no ponto eutético.



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

A solubilidade do fármaco ($S_{R,T}$) é igual a concentração de fármaco no ponto eutético $[R]_{eu,T}$, assim:

$$S_{R,T} = [R]_{eu,T} \quad (1)$$

em condições de equilíbrio (pH, temperatura, concentração de coformador, concentração de agente solubilizante, etc.). Desta forma, tanto a solubilidade do cocristal como a do fármaco podem ser obtidas através do ponto eutético.

A constante eutética (K_{eu}) é uma importante indicadora da estabilidade do cocristal e é definida pela razão das atividades (a) do coformador e do fármaco no ponto eutético, as quais podem ser aproximadas à razão das concentrações, conforme equação 2 (GOOD e RODRIGUEZ-HORNEDO, 2010):

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

Analisando através da K_{eu} , valores de $K_{eu} > 1$ ou $K_{eu} > 0,5$, para cocristais 1:1 e 2:1, respectivamente, indicam instabilidade termodinâmica do cocrystal, porém maior solubilidade em relação ao fármaco quando em condições estequiométricas. Valores de K_{eu} abaixo da razão estequiométrica, < 1 ou $< 0,5$ para cocristais 1:1 e 2:1, respectivamente, indicam maior estabilidade termodinâmica (menor solubilidade) do cocrystal em relação ao fármaco (GOOD e RODRIGUEZ-HORNEDO, 2010).

Outra correlação importante que pode ser obtida a partir da K_{eu} é a vantagem da solubilidade do cocrystal com relação ao fármaco, SA, do termo em inglês *Solubility Advantage*, onde a razão desta solubilidade pode ser expressa por $SA = S_{cocrystal}/S_{fármaco}$. Assim, para um cocrystal 1:1 a correlação é dada por:

$$K_{eu} = \frac{[coformador]_{eu}}{[fármaco]_{eu}} = \left(\frac{S_{cocrystal}}{S_{fármaco}} \right)^2 \quad (3)$$

Quanto maior a ionização do coformador, maior será a K_{eu} e a SA do cocrystal. Essa correlação apresenta um excelente poder preditivo da vantagem da solubilidade dos cocristais. A dependência de K_{eu} na SA e no pH foi demonstrada para cocristais de nevirapina. Tais resultados demonstram que a K_{eu} aumenta com o aumento do pH para cocristais 1:1 e tal aumento é ainda maior para cocristais 2:1 (KUMINEK et al., 2016b) de acordo com a equação 4:

$$K_{eu} = \frac{[coformador]_{eu}}{[fármaco]_{eu}} = 0,5 \left(\frac{S_{cocrystal}}{S_{fármaco}} \right)^3 \quad (4)$$

2.3.2. K_{sp} e a solubilidade dos cocristais

Uma propriedade importante dos cocristais é que sua solubilidade depende das atividades ou concentrações dos seus componentes em solução (ROY et al., 2012; THAKURIA et al., 2013). Durante a dissolução, os cocristais dissociam-se em seus constituintes e o equilíbrio entre a fase sólida e seus componentes em solução é descrito como um equilíbrio constante conhecido como o produto da solubilidade, K_{sp} (THAKURIA et al., 2013). É importante lembrar que o termo “dissociação” se refere ao equilíbrio em solução, e não à precipitação dos componentes.

A solubilidade do cocrystal diminui com o aumento da concentração de coformador conforme descrito pelo equilíbrio abaixo para um cocrystal 1:1 RHA de um fármaco não ionizável (R) e um coformador

ionizável (HA), assumindo que nenhum efeito de complexação ou cristalização ocorra:



onde o produto da solubilidade, K_{sp} , é dado pela multiplicação das concentrações das espécies não ionizadas dos constituintes do cocristal [R] e [HA], obtidas em equilíbrio no ponto eutético:

$$K_{sp} = [R]_{\text{aquoso}} [HA]_{\text{aquoso}} \quad (6)$$

A solubilidade estequiométrica do cocristal pode ser obtida a partir das concentrações eutéticas do fármaco e coformador (HUANG e RODRIGUEZ-HORNEDO, 2011b) para um cocristal 1:1 através da correlação abaixo:

$$S_{T,\text{cocristal}(1:1)} = \sqrt{[\text{fármaco}]_{\text{eu},T} [\text{coformador}]_{\text{eu},T}} \quad (7)$$

Onde T subscrito é referente a concentração total (ou concentração analítica) em equilíbrio, e é dado pela soma de todas as espécies de fármaco e coformador em solução. Isto pode incluir as espécies ionizadas e não ionizadas, bem como as aquosas e solubilizadas.

O K_{sp} também pode ser calculado a partir da solubilidade do cocristal. As correlações matemáticas que permitem a determinação do K_{sp} através da $S_{\text{cocristal},T}$ em diferentes condições de solubilização e ionização encontram-se bem descritas na literatura (BETHUNE et al., 2009; HUANG e RODRIGUEZ-HORNEDO, 2010; 2011a).

Um exemplo de cálculo para K_{sp} a partir das medidas obtidas no ponto eutético é demonstrado por Kuminek e colaboradores (2016a). Para o cocristal 1:1 de nevirapina (NVP) e ácido maleico (MLE) (NVP-MLE) as fases sólidas em equilíbrio no ponto eutético são fármaco e cocristal. As concentrações mensuradas de fármaco e coformador em pH 1,3 a 25°C foram $[NVP]_{\text{eu},T} = 0,0036 \text{ M}$ e $[MLE]_{\text{eu},T} = 180,6 \text{ mM}$. De acordo com a equação 6, a solubilidade do cocristal sob condições estequiométricas é $S_{\text{cocristal}, 1:1} = 0,0255 \text{ M}$. A solubilidade do fármaco no ponto eutético é $[NVP]_{\text{eu},T}$ sob condições determinadas de pH, temperatura e concentração de coformador. O K_{sp} do cocristal pode ser então calculado através da resolução de K_{sp} a partir da equação que descreve a solubilidade cocristal em função da ionização dos constituintes do cocristais, um fármaco

fracamente básico (NVP) e um coformador ácido diprótico (MLE), de acordo com:

$$K_{sp} = \frac{(S_{\text{cocristal}}^{1:1})^2}{\left((1+10^{\text{pH}-\text{pK}_{a1,\text{coformador}}}) (1+10^{\text{pH}-\text{pK}_{a2,\text{coformador}}}) \right) \left(1+10^{\text{pK}_{a1,\text{farmaco}}-\text{pH}} \right)} \quad (8)$$

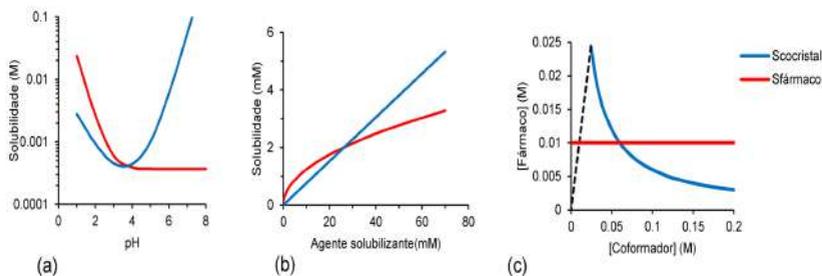
Utilizando o valor de $S_{\text{cocristal}}$ obtido a partir das medidas no ponto eutético (equação 7) em pH 1,3 e os valores das constantes de ionização para NPV e MLE reportados na literatura: $\text{pK}_{a,\text{farmaco}} = 2,8$ (**The Merck index**, 2001) e $\text{pK}_{a1,\text{coformador}} = 1,9$ e $\text{pK}_{a2,\text{coformador}} = 6,6$ (DAWSON, 1959), desta forma o valor de $K_{sp} = 1,7 \times 10^{-5} \text{ M}^2$ (KUMINEK et al., 2016a).

2.3.3. Pontos de transição

Apesar de ainda pouco difundidos na literatura, os pontos de transição são fundamentais para estabelecer as regiões de solubilidade e estabilidade termodinâmica dos cocristais. Trata-se de um ponto de estabilidade mútua entre duas fases sólidas de interesse, fármaco e cocristal, e pode ser a única medida necessária para identificar se o cocristal é mais ou menos solúvel que o fármaco e em qual proporção (KUMINEK et al., 2016a). Um dado cocristal pode exibir maior, igual, ou menor solubilidade do que o fármaco dependendo da composição da solução, tais como concentração de coformador, pH e a presença de agentes solubilizantes do fármaco conforme apresentado na Figura 5 (BETHUNE et al., 2009; GOOD e RODRIGUEZ-HORNEDO, 2009; HUANG e RODRIGUEZ-HORNEDO, 2010; 2011b; a). Como resultado deste fenômeno, os cocristais exibem pontos de transição nos quais as solubilidades do fármaco e cocristal são iguais, e, acima ou abaixo deste ponto, a vantagem da solubilidade do cocristal em relação ao fármaco é eliminada. Estes pontos de transição são caracterizados por (ROY et al., KUMINEK et al., 2016a):

- (1) pH_{max} : originado pela ionização dos componentes do cocristal,
- (2) S^* e CEC (concentração de estabilização crítica): gerados na presença de agentes solubilizantes devido à solubilização preferencial do fármaco em relação ao coformador, e
- (3) K_{eu} : originado por meio da dissolução do coformador em condições não-estequiométricas. Cada cocristal tem o seu K_{eu} característico em solvente ou solução tampão e o seu valor é influenciado pelo pH e pela concentração de agentes solubilizantes.

Figura 5. Influência do pH (a), agente solubilizante do fármaco (b), e concentração de coformador (c) na solubilidade e estabilidade termodinâmica do cocristal. A composição da solução modifica a solubilidade do cocristal em relação a do fármaco e da mesma forma, a estabilidade termodinâmica do cocristal. O cocristal é termodinamicamente estável quando $S_{\text{cocristal}} \leq S_{\text{fármaco}}$. O ponto de transição é a interseção entre a $S_{\text{cocristal}}$ e a $S_{\text{fármaco}}$.



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

2.3.3.1. pH_{max}

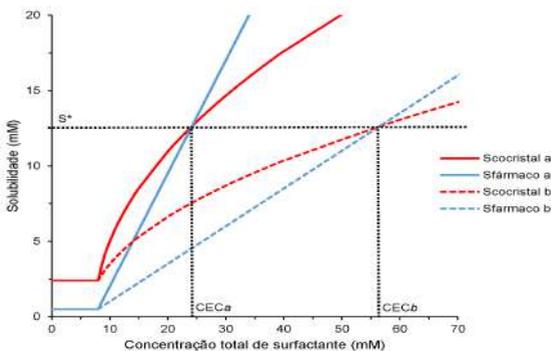
O ponto de transição em função do pH ilustrado na figura 5 (a) demonstra um cocristal hipotético composto por um fármaco básico e um coformador ácido. A intersecção entre as duas curvas de solubilidade representa o ponto de transição deste sistema, o pH_{max} , que é o valor de pH onde a solubilidade do fármaco e do cocristal são iguais (BETHUNE et al., 2009; REDDY et al., 2009; MAHESHWARI et al., 2012). O pH_{max} é dependente do K_{sp} , da solubilidade aquosa do fármaco e dos valores de pK_a dos componentes do cocristal. O cocristal é mais solúvel do que o fármaco em $\text{pH} > \text{pH}_{\text{max}}$, similar ao caso de um cocristal com fármaco neutro e coformador ácido (BETHUNE et al., 2009; REDDY et al., 2009; MAHESHWARI et al., 2012).

Diversos cocristais relatados na literatura apresentam pH_{max} , por exemplo, cocristais dos fármacos itraconazol, gabapentina, piroxicam, lamotrigina, entre outros ((BETHUNE et al., 2009; REDDY et al., 2009; MAHESHWARI, 2012; MAHESHWARI et al., 2012). O pH_{max} é também um parâmetro importante e bem descrito na literatura que identifica regiões de estabilidade de sais farmacêuticos (AVDEEF et al., 2007; SERAJUDDIN, 2007; STAHL et al., 2011).

2.3.3.2. S^* e CEC

Agentes que solubilizam o fármaco tais como polímeros, surfactantes, lipídeos, entre outros, podem induzir pontos de transição (HUANG e RODRIGUEZ-HORNEDO, 2010; ROY et al., 2010; HUANG e RODRIGUEZ-HORNEDO, 2011a; b; ROY, 2013; LIPERT e RODRIGUEZ-HORNEDO, 2015). Dados recentes da literatura demonstram que este ponto de transição é caracterizado por um valor de solubilidade e de concentração do agente solubilizante (LIPERT e RODRIGUEZ-HORNEDO, 2015). O ponto em que, a solubilidade do fármaco e do cocristal são iguais na presença de um agente solubilizante é definido como S^* , e a concentração de agente solubilizante neste ponto é chamada de concentração de estabilização crítica (CEC). Nos casos em que o coformador não interage com o agente solubilizante, o S^* é determinado unicamente pela solubilidade aquosa do fármaco e do cocristal (LIPERT e RODRIGUEZ-HORNEDO, 2015). O CEC obedece a teoria da solubilização preferencial, variando de acordo com a natureza do agente solubilizante (HUANG e RODRIGUEZ-HORNEDO, 2011a; b). Ambos S^* e CEC irão variar de acordo com a solubilidade aquosa do cocristal. Cocristais com maior solubilidade aquosa apresentarão maior valor de S^* e CEC (LIPERT e RODRIGUEZ-HORNEDO, 2015).

Figura 6. Pontos de transição de S^* e CEC para o mesmo cocristal em meios contendo dois agentes solubilizantes diferentes, A e B. O valor de S^* é constante e o CEC varia de acordo com a extensão da solubilização do fármaco pelo agente solubilizante. O fármaco apresenta maior solubilização pelo agente A do que pelo B, logo $CEC_a < CEC_b$.



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

O valor de S^* é independente do agente solubilizante, com a condição de que o coformador não seja solubilizado pelo mesmo, como ilustrado na Figura 6. Entretanto, S^* é dependente de fatores que alteram a solubilidade aquosa do fármaco e do cocristal, tais como pH e ionização dos componentes em solução (LIPERT e RODRIGUEZ-HORNEDO, 2015).

Relações matemáticas podem ser utilizadas para prever S^* e CEC pelo conhecimento da vantagem da solubilidade (na presença ou ausência de agentes solubilizantes) e pela razão de solubilização do fármaco $SR_{\text{fármaco}}$, do inglês *Solubilization Ratio*, e desta forma, apenas um limitado número de experimentos é requerido (KUMINEK et al., 2016a).

O conhecimento sobre os pontos de transição permite modular o aumento de solubilidade do cocristal em relação ao fármaco através de um simples ajuste do pH e/ou da concentração do agente solubilizante. Assim, a supersaturação gerada durante a dissolução do cocristal pode ser modulada e desta forma evitar a conversão de fases de maneira racional.

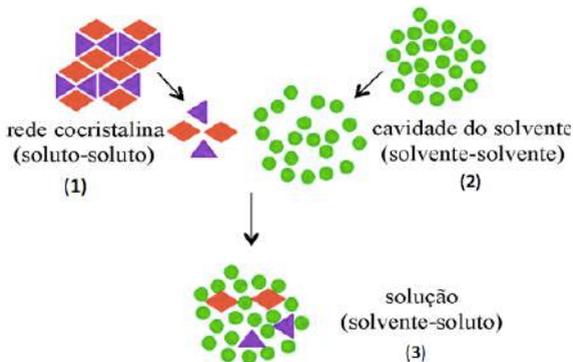
2.4. SOLUBILIDADE E ESTABILIDADE TERMODINÂMICA DOS COCRISTAIS

A versatilidade dos cocristais no aprimoramento da solubilidade de fármacos faz desta propriedade uma das suas características físico-químicas mais investigadas, uma vez que, para ser absorvido o fármaco necessita ser primeiramente dissolvido (SCHÜLTHEISS e NEWMAN, 2009). Aprimorar a solubilidade de um fármaco pode levar ao aumento da sua taxa de dissolução e, conseqüentemente, da sua biodisponibilidade (AMIDON et al., 1995). No entanto esse aumento da solubilidade do cocristal em relação ao fármaco pode ou não se manter frente à adição de agentes solubilizantes ou outros aditivos de uma formulação. Desta maneira, faz-se necessário a compreensão de como a solubilidade dos cocristais é estabelecida.

A solubilidade de um cocristal é determinada por dois fatores independentes: a força da rede cristalina e a solvatação dos componentes do cocristal. Assim, o aumento da solubilidade pode estar relacionado com a diminuição da energia da rede cristalina do cocristal e/ou com uma maior afinidade pelo solvente, oriunda de diferentes características superficiais (THAKURIA et al., 2013). Desta forma, as estratégias utilizadas no aprimoramento da solubilidade envolvem uma combinação de tecnologias que podem influenciar nas forças de interação entre solvente-solvente, solvente-soluto e soluto-soluto. As forças de interação soluto-soluto devem ser superadas para que o soluto possa se dissolver. No caso de soluções ideais, quando as interações solvente-soluto somam-se às interações solvente-solvente, a energia de solubilização é dada pela energia de rede

(ROY et al., 2012). A Figura 7 ilustra os passos envolvidos no processo de solubilização ou dissolução.

Figura 7. Representação dos passos envolvidos no processo de solubilização de um cocrystal. (1) quebra das ligações intermoleculares do sólido (soluto-soluto); (2) quebra das ligações intermoleculares do solvente (solvente-solvente); (3) formação de ligações solvente-soluto.



Fonte: Adaptado de Roy, Lipert e Rodriguez-Hornedo (2012).

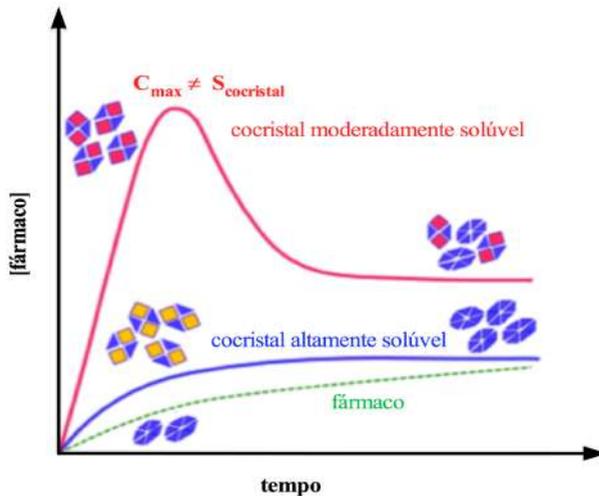
Tem sido demonstrado que cocrystalis formados por coformadores que sejam pelo menos 10 vezes mais solúveis do que o fármaco terão sua solubilidade aumentada (GOOD e RODRIGUEZ-HORNEDO, 2009). Ainda, este aumento parece ser diretamente proporcional à razão das solubilidades do coformador e do fármaco, atuando como um índice de supersaturação, permitindo, assim, orientar a seleção e a formulação do cocrystal (KUMINEK et al., 2016a).

Vale ressaltar, no entanto, que um cocrystal altamente solúvel nem sempre é desejado, uma vez que esta vantagem da solubilidade (SA) pode não ser mantida durante a dissolução do cocrystal. Assim como outros sistemas que geram supersaturação, os cocrystalis são passíveis de conversão à forma sólida mais estável quando em contato com soluções (ROY et al., 2012). Neste caso, a adição de agentes solubilizantes do fármaco para diminuir a vantagem da solubilidade, bem como inibidores de cristalização, podem ser introduzidos ao meio ou à formulação a fim de evitar ou reduzir as conversões (KUMINEK et al., 2016a).

À medida que ocorre a dissolução de um cocrystal moderadamente solúvel, este pode atingir um máximo de concentração em solução e em seguida dar início à cristalização do fármaco estável (conversão cinética). No entanto, esta concentração que corresponde ao pico (C_{max}) não deve ser

considerada a solubilidade do cocrystal. Por outro lado, cocrystalis altamente solúveis, por apresentarem o potencial de gerar uma supersaturação extremamente alta em relação ao fármaco, quando submetidos à ensaios de dissolução ficam susceptíveis à precipitação em fármaco (forma termodinamicamente mais estável e menos solúvel) de forma imediata (Figura 8). Assim, devido a esta rápida conversão, a concentração em solução é mantida próxima ou igual a da solubilidade do fármaco estável, resultando algumas vezes em valores subestimados ou até mesmo errôneos, que não devem ser relacionados à solubilidade termodinâmica (ROY et al., 2012).

Figura 8. Concentração de fármaco ($[fármaco]$) em função do tempo para cocrystalis que apresentam diferentes solubilidades. À medida que o cocrystal dissolve e o fármaco precipita, as concentrações do fármaco podem atingir um máximo no caso de cocrystalis com solubilidade moderada, enquanto que cocrystalis altamente solúveis podem precipitar imediatamente em fármaco e a concentração de fármaco é mantida perto ou na mesma solubilidade do fármaco.



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

Apesar das óbvias falhas de medir a solubilidade do cocrystal desta forma, muitos ainda utilizam o "plateau" ou " C_{max} " da dissolução do

cocristal como a sua solubilidade, não percebendo que a verdadeira solubilidade do cocristal foi desperdiçada.

A solubilidade de um cocristal pode ser investigada através de métodos termodinâmicos e cinéticos. Medidas cinéticas são geralmente o primeiro e mais comum método utilizado (CHENEY et al., 2010; WEYNA et al., 2012; MARTIN et al., 2013; THAKURIA et al., 2013). No entanto, esse método normalmente não consegue captar o verdadeiro perfil de concentração do cocristal, em vez disso, um perfil de concentração do fármaco é revelado como resultado da conversão cinética do cocristal. Como consequência, o poder dos cocristais de aumentar a solubilidade pode ser subestimado através do uso de medições cinéticas (ROY et al., 2012). Se a conversão ocorrer, o cocristal pode não alcançar a sua concentração máxima verdadeira durante a dissolução, desta forma a concentração máxima alcançada a partir da medição cinética pode não necessariamente corresponder a solubilidade termodinâmica (ROY et al., 2012).

As informações obtidas através das medições em equilíbrio (termodinâmicas) proporcionam conhecimento sobre o comportamento do cocristal em solução, que é transferível para outras condições. Através de estudos termodinâmicos é possível delinear os estudos cinéticos (por exemplo, seleção de aditivos e condições de pH). Conhecer a pureza do cocristal e as condições da solução é fundamental para se obter a medida correta da solubilidade do cocristal (THAKURIA et al., 2013). Tanto os conceitos termodinâmicos quanto cinético são importantes para o desenvolvimento de sistemas que promovem a supersaturação de fármacos, como os cocristais.

Outro fator interessante é que a solubilidade dos cocristais pode ser modulada de modo que fique dentro ou fora da região de estabilidade dos cocristais, dependendo da composição do meio como pH (BETHUNE et al., 2009; REDDY et al., 2009; ALHALAWEH et al., 2012; KUMINEK et al., 2016b), presença de aditivos (HUANG e RODRIGUEZ-HORNEDO, 2010; 2011a; LIPERT e RODRIGUEZ-HORNEDO, 2015; LIPERT et al., 2015), concentração de coformador (GOOD, 2008), entre outras.

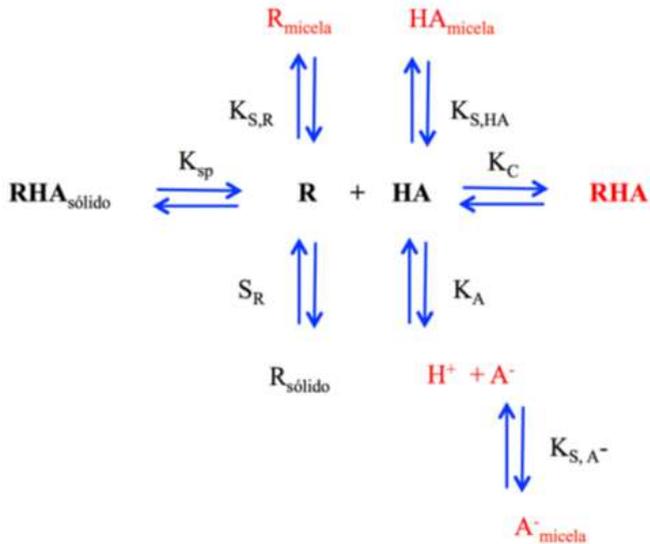
A possibilidade de modulação da solubilidade dos cocristais é atribuída às propriedades físico-químicas dos coformadores, e às interações moleculares dos componentes dos cocristais em solução (complexação, ionização e solubilização micelar) (BASAVOJU et al., 2008; ROY et al., 2012).

2.5. MODULAÇÃO DA SOLUBILIDADE DOS COCRISTAIS POR MEIO DE INTERAÇÕES EM SOLUÇÃO

Como resultado de suas propriedades moleculares diferentes, e por apresentarem múltiplos componentes, as associações moleculares em

solução contribuem de forma importante para a solubilidade dos cocristais, conforme mostra a figura 9 (ROY et al., 2012). À medida que o cocristal dissolve em solução, seus constituintes dissociam-se e podem interagir com a solução por diferentes processos moleculares, incluindo complexação, ionização, bem como a solubilização micelar em meio aquoso e biorrelevante. Essas interações, por sua vez, influenciarão a solubilidade de equilíbrio do cocristal. Não somente a solubilidade do cocristal irá variar com base nas condições em solução, mas também a sua vantagem relativa sobre a solubilidade do fármaco (KUMINEK et al., 2016a).

Figura 9. Interações entre as fases em solução e respectivo equilíbrio para um cocristal RHA de um fármaco não ionizável (R) e um coformador ácido (HA) em solução micelar.



Fonte: Adaptado de Roy, Lipert e Rodriguez-Hornedo (2012).

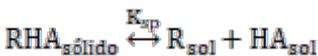
2.5.1. Ionização

Além de aumentar a solubilidade, os cocristais podem modular a solubilidade em função do pH devido às propriedades de ionização dos coformadores que são, por exemplo, moléculas ácidas, básicas, anfotéricas

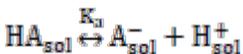
ou zwitteriônicas. A habilidade de prever esse comportamento é importante a fim de conhecer a solubilidade aquosa desejada e então caracterizar a solubilidade dos cocristais dependentes do pH. Estudos com diversos cocristais que demonstram este comportamento encontram-se reportados na literatura (BETHUNE et al., 2009; REDDY et al., 2009; ALHALAWEH et al., 2012; MAHESHWARI et al., 2012).

Para um cocristal com componentes ionizáveis, a solubilidade é governada pelo produto de solubilidade (K_{sp}), constantes de ionização (K_a), e o pH da solução (ROY et al., 2012; THAKURIA et al., 2013). Na maioria dos casos, os valores de K_a são conhecidos e o K_{sp} pode ser calculado a partir da solubilidade do cocristal experimentalmente medida em um determinado pH. Alternativamente, pode-se medir valores de solubilidade e pH, e então calcular os valores de K_a e K_{sp} . As equações que descrevem a dependência da solubilidade do cocristal em $[H^+]$, K_{sp} , e K_a com componentes ácidos, básicos, anfotéricos e zwitteriônicos foram derivadas e estão bem documentadas em literature (BETHUNE et al., 2009). Estas equações aplicam-se a cocristais que estão em equilíbrio com as concentrações em solução de estequiometria diferente ou igual ao cocristal.

A solubilidade de um cocristal 1:1 RHA, onde R é um fármaco não ionizável e HA é um coformador ácido, pode ser determinada considerando o equilíbrio do cocristal em solução. Se este equilíbrio é descrito pela dissociação do cocristal e ionização do coformador, as reações de equilíbrio e suas constantes são dadas pelas equações 9 e 10:



$$K_{sp} = [R]_{\text{aquoso}}[HA]_{\text{aquoso}} \quad (9)$$



$$K_a = \frac{[H^+][A^-]}{[HA]} \quad (10)$$

A análise aqui apresentada assume soluções diluídas, onde as atividades são relativamente constantes e podem ser substituídas por concentrações nas constantes de equilíbrio, sendo uma aproximação para estabelecer tendências gerais. Condições não ideais devido à complexação, interações iônicas e interações solvente-soluto deverão ser consideradas para uma análise mais rigorosa, particularmente em concentrações e forças iônicas elevadas (ROY et al., 2012).

Quando um cocristal está em equilíbrio com soluções de uma estequiometria igual a sua, por exemplo, quando não há excesso de fármaco ou coformador em solução, sua solubilidade é igual à concentração total (soma das espécies ionizadas e não ionizadas) de fármaco ou coformador em solução (equação 11):

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

$$S_{\text{cocristal}} = [R]_{\text{aquoso}} = [HA]_{\text{aquoso}} + [A^-]_{\text{aquoso}} \quad (12)$$

Desta forma, a equação (11) é substituída por:

$$S_{\text{cocristal}} = \sqrt{K_{\text{sp}} \left(1 + \frac{K_{\text{a}}}{[H^+]}\right)} \quad (13)$$

Nessas condições, a solubilidade é reportada como solubilidade estequiométrica.

A equação (13) prediz que a solubilidade do cocristal RHA irá aumentar com a diminuição da $[H^+]$, ou seja, com o aumento do pH. Conforme mencionado anteriormente, a solubilidade do cocristal também é dependente do K_{sp} do cocristal e da K_{a} do coformador. Em um $\text{pH} \ll \text{p}K_{\text{a}}$ do coformador, ou $[H^+] \gg K_{\text{a}}$, a solubilidade do cocristal se aproxima da solubilidade intrínseca $\sqrt{K_{\text{sp}}}$. Em um $\text{pH} = \text{p}K_{\text{a}}$, ou $[H^+] = K_{\text{a}}$, a solubilidade do cocristal é $\sqrt{2K_{\text{sp}}}$ ou 1.4 vezes a solubilidade intrínseca do cocristal. Em um $\text{pH} \gg \text{p}K_{\text{a}}$ do coformador, ou $[H^+] \ll K_{\text{a}}$, a solubilidade do cocristal aumenta exponencialmente. No entanto, a concentração máxima que pode ser obtida experimentalmente é limitada pela solubilidade do fármaco e do coformador (ROY et al., 2012).

Para um cocristal de um fármaco não ionizável e um coformador básico é prevista uma dependência inversa (equação 14):

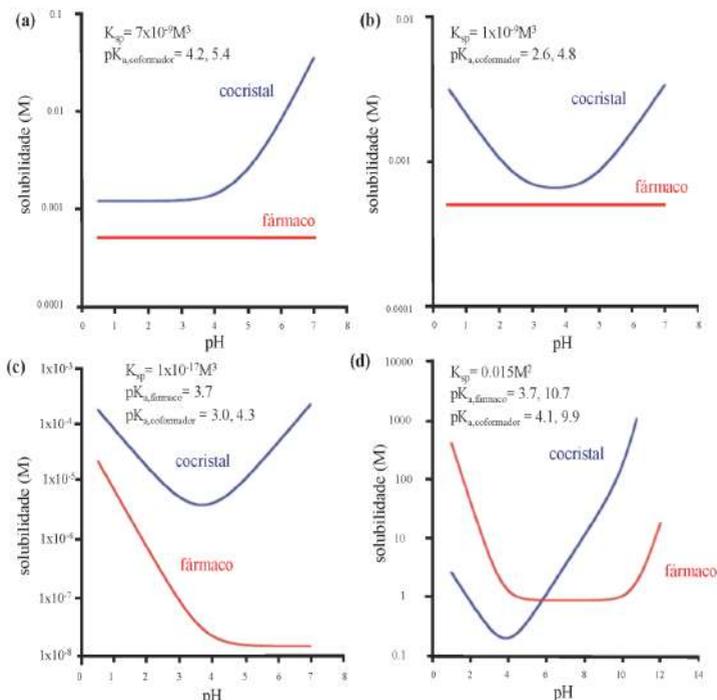
$$S_{\text{cocristal}} = \sqrt{K_{\text{sp}} \left(1 + \frac{[H^+]}{K_{\text{a}}}\right)} \quad (14)$$

onde K_{a} é a constante de ionização do ácido conjugado da base. Neste caso, a solubilidade irá aumentar com o aumento da $[H^+]$, ou seja, diminuição do pH.

Através desta análise é possível intuir que cocristais conferem uma solubilidade pH-dependente à fármacos não ionizáveis quando os

coformadores são ionizáveis. A simples mudança do pH da solução pode ser responsável por manter a estabilidade termodinâmica ou a vantagem da solubilidade do sistema. Como pode ser observado na Figura 10, o comportamento da curva de solubilidade de cocristais formados por coformadores com características variadas difere da curva de solubilidade do fármaco. Em alguns valores de pH os cocristais podem ser até 1000 vezes mais solúveis do que o fármaco, ao passo que em outros valores de pH o cocristal pode apresentar-se menos solúvel (BETHUNE et al., 2009).

Figura 10. Perfis de solubilidade em função do pH para (a) cocristal 2:1 R₂H₂A, fármaco não ionizável (R) e coformador ácido diprótico (H₂A); (b) cocristal 2:1 R₂HAB, fármaco não ionizável (R) e coformador anfotérico (HAB); (c) cocristal 2:1 B₂H₂A, fármaco básico (B) e coformador ácido diprótico (H₂A) e; (d) cocristal 1:1 ⁻ABH⁺H₂X, fármaco zwitteriônico (⁻ABH⁺) e coformador ácido diprótico (H₂X).



Fonte: Adaptado de Bethune et al. (2009).

Conforme demonstrado na figura 10, cocristais de um fármaco não ionizável podem exibir um perfil de solubilidade pH-dependente completamente diferente, dependendo das propriedades de ionização do coformador. Um coformador ácido diprótico irá levar a um aumento da solubilidade com o aumento do pH, assim como um ácido monoprótico.

Um coformador anfotérico irá resultar em um perfil em formato de U com a solubilidade mínima em um pH entre os dois valores de pK_a . Um perfil similar é previsto para um cocristal de um fármaco básico e um coformador ácido, onde os grupos ionizáveis estão presentes em diferentes moléculas. Este perfil também é esperado para um cocristal de um fármaco zwitteriônico e coformador ácido (BETHUNE et al., 2009). Apesar disso, muitos dos estudos de solubilidade e dissolução de cocristais encontrados na literatura desconsideram a enorme alteração que o pH e a presença de aditivos e excipientes podem ocasionar nestes ensaios. Em outros casos, os estudos são realizados em condições que não mimetizam o meio existente *in vivo* e logo, correlações *in vivo/in vitro* são escassas.

Compreender a dependência da solubilidade do cocristal em função do pH e da concentração de coformador é importante para determinar os diagramas de fase e identificar as regiões de estabilidade termodinâmica. A solubilidade do cocristal e as regiões de estabilidade podem ser estimadas através de uma única medição da solubilidade do cocristal e do pH, não sendo necessário determinar experimentalmente todo o diagrama de fase (BETHUNE et al., 2009).

2.5.2. Agentes solubilizantes

Muitos agentes solubilizantes, tais como agentes tensoativos, polímeros e lipídios, são empregados na indústria farmacêutica para melhorar a solubilidade de fármacos pouco solúveis em meio aquoso (BRAGA, GIAFFREDA, GREPIONI, et al., 2007; BRAGA, GIAFFREDA, RUBINI, et al., 2007; JAYASANKAR et al., 2007; BABU et al., 2012; CHADHA et al., 2014; ZEGARAC et al., 2014). O teor lipídico presente nos alimentos e a presença de sais biliares também podem melhorar o desempenho de um fármaco lipofílico/hidrofóbico *in vivo* (MIYAZAKI et al., 1981; BAKATSELOU et al., 1991; NAYLOR et al., 1995; CHARMAN et al., 1997; GALIA et al., 1998). No entanto, o efeito destes agentes de solubilização na solubilidade do cocristal geralmente não é tão simples. Cocristais farmacêuticos são geralmente compostos por um fármaco hidrofóbico e um coformador relativamente hidrofílico. Portanto, espera-se que os constituintes do cocristal apresentem diferentes afinidades pelos agentes solubilizantes, mecanismo conhecido como solubilização preferencial. Dessa forma, dependendo da concentração e da natureza do

agente solubilizante, um cocristal pode exibir solubilidade maior, igual, ou menor do que o fármaco constituinte.

A implicação prática dos fatores que determinam a solubilidade do cocristal em relação ao fármaco constituinte em meios contendo aditivos que solubilizam fármacos pouco solúveis em água necessita ser bem compreendida, uma vez que diversos agentes solubilizantes são frequentemente encontrados em formulações e nos meios de dissolução (*in vivo* e *in vitro*).

A relação entre a razão de solubilização do cocristal e do fármaco pode ser obtida através da junção das equações que descrevem a solubilidade do cocristal e do fármaco na presença de agentes solubilizantes (HUANG e RODRIGUEZ-HORNEDO, 2010; 2011a; b). Para um cocristal 1:1 sob condições não ionizáveis, a sua solubilidade é dada pela equação 15:

$$S_{\text{cocristal,T}} = \sqrt{K_{\text{sp}}(1 + K_{\text{s}}^{\text{fármaco}}[M])(1 + K_{\text{s}}^{\text{coformador}}[M])} \quad (15)$$

Onde, $S_{\text{cocristal,T}}$ representa a soma das solubilidades do cocristal em meio aquoso e micelar, $S_{\text{cocristal,T}} = S_{\text{cocristal,aq}} + S_{\text{cocristal,m}}$. K_{sp} é o produto da solubilidade, $K_{\text{sp}} = (S_{\text{cocristal,aq}})^2$. K_{s} significa constante de solubilização dos constituintes cocristal. $[M]$ representa a concentração micelar do agente solubilizante, calculada pela concentração total do agente solubilizante menos sua concentração micelar crítica (CMC).

Considerando a solubilização preferencial em meio aquoso os agentes solubilizantes tendem a interagir preferencialmente com fármacos, uma vez que os fármacos que constituem o cocristal são geralmente hidrofóbicos, enquanto coformadores são hidrofílicos. Quando o agente solubilizante aumenta a solubilidade do fármaco somente, e não do coformador ($K_{\text{s}}^{\text{coformador}} = 0$), a solubilidade do cocristal (equação 15) é substituída gerando a equação 16:

$$S_{\text{cocristal,T}} = \sqrt{K_{\text{sp}}(1 + K_{\text{s}}^{\text{fármaco}}[M])} \quad (16)$$

Agentes solubilizantes do fármaco influenciam particularmente a vantagem da solubilidade do cocristal em relação ao fármaco. Um cocristal mais solúvel irá apresentar uma maior vantagem da solubilidade na ausência de agente solubilizante, entretanto, a medida que a concentração de agente solubilizante aumenta, esta vantagem da solubilidade diminui. Desta forma, agentes solubilizantes podem induzir pontos de transição

(ALMARSSON e ZAWOROTKO, 2004; HUANG e RODRIGUEZ-HORNEDO, 2010; ROY et al., 2010; HUANG e RODRIGUEZ-HORNEDO, 2011a; ROY, 2013; LIPERT e RODRIGUEZ-HORNEDO, 2015). Um exemplo importante é o cocrystal de indometacina-sacarina (IND-SAC), cuja solubilidade, 26 vezes maior do que a indometacina em pH 2 (ALHALAWEH et al., 2012), é eliminada na presença de lauril sulfato de sódio, Brij 99 ou Tween 80, onde o cocrystal apresenta menor solubilidade (ALHALAWEH et al., 2012; ROY, 2013). Estes dados divergem da ideia tradicional de que agentes solubilizantes aumentam a solubilidade, e esta desvantagem da solubilidade do cocrystal em relação ao fármaco não é esperada. De fato, os agentes solubilizantes podem aumentar a solubilidade de ambos, cocrystal e fármaco, porém a vantagem da solubilidade ($S_{\text{cocrystal}}/S_{\text{fármaco}}$) é variável dependendo da concentração destes agentes.

A razão de solubilização permite estimar a solubilização micelar do cocrystal a partir da solubilização do fármaco, e é dada por:

$$SR \equiv \left(\frac{S_T}{S_{aq}} \right) \quad (17)$$

onde SR é a solubilidade total em um meio contendo agente solubilizante (S_T) dividido pela solubilidade aquosa (S_{aq}).

Para um cocrystal 1:1, a relação entre a razão de solubilização (SR) do cocrystal e do fármaco, é definida pela equação 18:

$$\left(\frac{S_{\text{surfactante}}}{S_{\text{aquosa}}} \right)_{\text{cocrystal}} = \sqrt{\left(\frac{S_{\text{surfactante}}}{S_{\text{aquosa}}} \right)_{\text{fármaco}}} \quad (18)$$

De forma simplificada, a SR do cocrystal 1:1 corresponde à raiz quadrada da SR do fármaco (equação 19):

$$SR_{\text{cocrystal}} = \sqrt{SR_{\text{fármaco}}} \quad (19)$$

Deste modo, a $SR_{\text{cocrystal}}$ em um agente solubilizante do fármaco pode ser estimada uma vez que a $SR_{\text{fármaco}}$ é conhecida nas mesmas condições (concentração do agente solubilizante, pH e temperatura). Exemplificando, se uma determinada concentração de agente solubilizante aumentar a solubilidade do fármaco em 100 vezes, o aumento da solubilidade do cocrystal será de 10 vezes. É esperado que $SR_{\text{cocrystal}}$ seja muito menor do que a $SR_{\text{fármaco}}$ em razão da solubilização preferencial do fármaco hidrofóbico (LIPERT e RODRIGUEZ-HORNEDO, 2015).

Essas equações assumem que a solubilização do coformador por agentes solubilizantes é insignificante e que a solubilização do fármaco não é afetada pela presença de coformador. A suposição de que a solubilização do coformador é insignificante é muitas vezes justificada pelo fato dos cocristais geralmente serem compostos por fármacos hidrofóbicos pouco solúveis em água e coformadores hidrofílicos solúveis. Os coformadores, portanto, interagem em menor grau com agentes solubilizantes do que o fármaco.

2.6. DISSOLUÇÃO E ÍNDICE DE SUPERSATURAÇÃO DOS COCRISTAIS

Embora um cocrystal apresente uma melhora na solubilidade em relação ao fármaco essa vantagem da solubilidade não é constante e pode variar conforme as condições da solução. Um cocrystal pode apresentar uma solubilidade maior, igual ou menor do que o fármaco. Compreender tais condições e o comportamento dos cocristais frente essas mudanças é essencial para guiar a formulação de um cocrystal a fim de que ele alcance o perfil desejado.

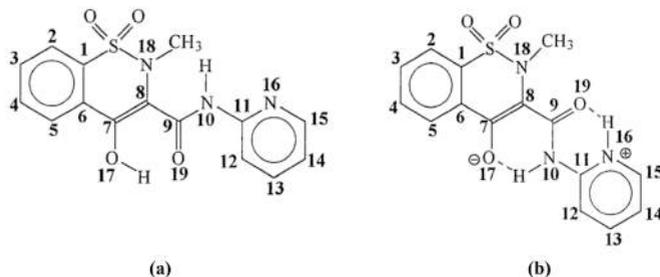
Embora a dissolução seja o método mais comum utilizado para avaliar a solubilidade de um cocrystal, este método apresenta algumas limitações por si só por duas razões principais. A primeira delas é que o perfil de concentração de fármaco vs tempo pode ser resultado da conversão cinética do cocrystal (taxa de dissolução e cristalização) e apresentar uma concentração máxima de fármaco (C_{max}) que não se correlaciona com a solubilidade do cocrystal, que é um valor em equilíbrio (Figura 8) (ROY et al., 2012). Em segundo lugar, os resultados não são transferíveis para outras condições (por exemplo, pH ou agentes solubilizantes), sem que aja necessidade de estudos que considerem caso a caso, para cada condição e que consumam tempo. No entanto, o conhecimento da SA do cocrystal, do índice de supersaturação ou da medida da solubilidade do cocrystal no ponto eutético permite uma simplificação da avaliação da dissolução do cocrystal (GOOD e RODRIGUEZ-HORNEDO, 2009).

Entender o comportamento de dissolução de um cocrystal e se este apresenta uma maior taxa de dissolução em comparação ao fármaco é tão importante quanto o conhecimento da sua solubilidade. A seleção de agentes solubilizantes com base no índice de supersaturação permitirá uma avaliação significativa da cinética de dissolução do cocrystal. Sem esta informação, a busca de aditivos e condições que forneçam níveis aceitáveis de dissolução para um fármaco torna-se um exercício de tentativa e erro (KUMINEK et al., 2016a).

2.7. PIROXICAM

O piroxicam (PRX), também conhecido como 4-hidroxi-2-metil-N-(2-piridil)-2H-1,2-benzotiazina-3-carboxamida-1,1-dioxido ($C_{15}H_{13}N_3O_4S$), representado na Figura 11, é um fármaco anti-inflamatório não-esteroidal (AINE) amplamente utilizado no alívio dos sintomas de doenças reumáticas como artrite reumatóide e osteoartrite (ANDO e LOMBARDINO, 1983; VAN DER WINDT et al., 1995; MOORE et al., 1998). O PRX é conhecido por existir em duas formas tautoméricas no estado sólido, um tautômero não ionizado (Figura 11a) e um tautômero zwitteriônico (Figura 11b) (SCHULTHEISS e NEWMAN, 2009). Possui três formas polimórficas anidras (I, II, III) descritas por Vecrer (1991), sendo a forma I comercializada para fins farmacêuticos, de coloração esbranquiçada, e em presença de água se cristaliza como um monohidrato, de coloração amarela, o qual se apresenta na forma zwitteriônica (Figura 12b) (BORDNER et al., 1984; VREČER et al., 1991; VREČER et al., 2003; SAGANUWAN, 2016).

Figura 11. Estrutura molecular do PRX. (a) Tautômero não ionizado e (b) zwitteriônico.



Fonte: Vecrer (1991).

A forma zwitteriônica (11b) é obtida a partir de (11a) rotações internas em torno das ligações C8-C9 e N10-C11 e por transferência de prótons do grupamento enólico (O17) para grupamento piridina (N16) (BORDNER et al., 1984; BERTOLUZZA et al., 1999; TADDEI et al., 2000). Possui dois valores de pKa, sendo o primeiro valor (1,86) atribuído a base piridina, e o segundo valor (5,46) atribuído ao próton ácido 4-hidroxi (BERNHARD e ZIMMERMAN, 1984; TAKÁCS-NOVÁK et al., 1995).

Apresenta lenta absorção após administração oral, sendo preciso em torno de 3 a 5 horas para alcançar sua concentração máxima no

organismo (LYN et al., 2011). Além disso, o PRX é caracterizado por baixa solubilidade em pH fisiológico, sendo classificado como um insumo farmacêutico ativo de baixa solubilidade e alta permeabilidade, se enquadrando como um fármaco de classe II, de acordo com o sistema de classificação biofarmacêutica – SCB (Figura 12), o qual classifica os fármacos em quatro classes conforme sua solubilidade e permeabilidade intestinal (AMIDON et al., 1995; KAWABATA et al., 2011; LYN et al., 2011).

Figura 12. Sistema de Classificação Biofarmacêutica.



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

Apesar da alta permeabilidade, os fármacos pertencentes à classe II apresentam problemas de solubilidade e, dessa maneira, a dissolução torna-se o fator limitante para a sua absorção. Assim, ferramentas tecnológicas visando à otimização de suas propriedades físico-químicas como solubilidade e taxa de dissolução apresentam-se como formas racionais de otimização da terapêutica, visto que podem impactar positivamente na biodisponibilidade oral destes compostos.

Compostos de classe II podem ser melhorados através da cocristalização do IFA com um coformador. Dessa maneira, a busca por formas alternativas capazes de aumentar sua biodisponibilidade, bem como proporcionar um início de ação mais rápido, têm sido alvo constante de estudos e investigação. Diversas formas sólidas multicomponentes de PRX já foram estudadas. Um estudo realizado por Childs & Hardcastle (2007)

investigou a formação de cocristais de PRX com ácidos carboxílicos que poderiam ser utilizados para melhorar a solubilidade deste fármaco, e por consequência, sua biodisponibilidade. Foram identificados um total de 50 cocristais contendo PRX e um ácido carboxílico como coformador. Foram utilizados 23 ácidos carboxílicos e cada um deles formou, ao menos, um cocrystal com piroxicam, demonstrando a notável habilidade deste IFA em acomodar diversos coformadores em sua forma sólida.

O presente trabalho buscou a obtenção de cocristais de PRX já reportados na literatura e a realização de estudos de solubilidade termodinâmica, de supersaturação e estabilidade que, até então, têm sido pouco abordados na literatura.

CAPÍTULO II – COCRISTAIS DE PIROXICAM: OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO

3. COCRISTAIS DE PIROXICAM: OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO

3.1. INTRODUÇÃO

A triagem para obtenção de cocristais têm sido considerada um exercício empírico o qual requer uma vasta pesquisa experimental. Esta busca têm sido realizada utilizando uma variedade de técnicas tais como a evaporação lenta de solvente (FLEISCHMAN et al., 2003; CHILDS et al., 2004; DAVID R. WEYNA et al., 2009; YU et al., 2010; YU et al., 2011), conversão por *slurry* (ZHANG et al., 2006), moagem do estado sólido (FRISCIC e JONES, 2009; KARKI et al., 2009), moagem com aspersão de solvente (SHAN et al., 2002; TRASK et al., 2004; TRASK e JONES, 2005), fusão e sublimação (MCNAMARA et al., 2006; LU et al., 2008). No entanto, uma das principais limitações dos métodos de triagem atuais é que eles frequentemente conduzem à cristalização de componentes individuais, não sendo transferíveis para a formação de cocristais em maior escala, requerendo grande quantidade de materiais e tempo.

A formação de um cocristal requer que pelo menos dois componentes cristalizem em uma única fase em determinada razão estequiométrica, seguindo a reação:



Onde esta reação descreve a precipitação (da direita para a esquerda) e a dissolução (da esquerda para a direita) do cocristal.

Nesse sentido, a força motriz para a nucleação e o crescimento do cocristal consiste na supersaturação. Por conseguinte, a supersaturação em relação ao cocristal depende da composição da solução. Em outras palavras, a sobressaturação pode ser alcançada através da alteração das concentrações de componentes de cocristal em solução. É importante notar que são os componentes dissolvidos que determinam a supersaturação, e não as fases sólidas dos componentes (KUMINEK et al., 2016a).

Neste âmbito, o presente capítulo apresenta a metodologia utilizada para a obtenção dos cocristais de piroxicam (PRX) e ácido salicílico (SLC) PRX-SLC bem como dos cocristais de piroxicam e sacarina (SAC) PRX-SAC.

3.2. METODOLOGIA

3.2.1. Materiais

3.2.1.1. Constituintes do cocrystal

A matéria-prima do piroxicam (PRX) foi adquirida da MP Biomedicals, LLC (Solon, OH, Estados Unidos) sob o lote de número 7197K. O coformador ácido salicílico (SLC) foi adquirido da Sigma-Aldrich Chemical Company (St. Louis, MO, Estados Unidos) sob o lote de número 09004LH, enquanto que a sacarina (SAC) foi adquirida da Acros organics (Pittsburg, PA, Estados Unidos) sob o lote de número A0356835. Todas as matérias-primas cristalinas foram previamente caracterizadas pela técnica de difração de raios x de pó (DRXP) e calorimetria exploratória diferencial (DSC).

3.2.1.2. Solventes

Todos os materiais utilizados eram de grau analítico. A acetonitrila foi adquirida da Fisher Scientific (Pittsburgh, PA, Estados Unidos).

3.2.2. Métodos

3.2.2.1. Técnica de cocrystalização

Os cocrystalis de PRX foram obtidos através do método de cristalização por reação em solução (MCR), de acordo com Nehm e colaboradores (2006), em temperatura ambiente (25°C). Para o cocrystal 1:1 PRX-SAC foram adicionadas quantidades estequiométricas dos constituintes do cocrystal (PRX e SAC) em uma solução de acetonitrila (ACN) pré-saturada com SAC, obtendo-se um rendimento de 85%. Para o cocrystal 1:1 PRX-SLC o fármaco foi adicionado em uma solução de acetonitrila pré-saturada com SLC, obtendo-se um rendimento de 35%. Tal rendimento pode ser melhorado, a partir do conhecimento do diagrama de fases. Entretanto, não se fez necessário para a realização dos estudos propostos. As suspensões foram preparadas em frascos de vidro de 20 mL com tampa de rosca e mantidas sob agitação magnética por 24h, e logo após filtradas à vácuo em papel filtro quantitativo e armazenadas em dessecador. As amostras foram caracterizadas por DRXP e DSC antes da realização dos experimentos de solubilidade.

3.2.2.2. Técnicas de caracterização

3.2.2.2.1. *Difração de raios x de pó*

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

3.2.2.2.2. *Calorimetria exploratória diferencial (DSC)*

As curvas de DSC foram obtidas em célula TA Instrument (Newark, DE, EUA), utilizando cadinhos de alumínio hermeticamente fechados, contendo em torno de 1,5 mg das amostras. A faixa de temperatura utilizada para análise foi de 25 a 300°C , a uma razão de aquecimento de $10^\circ\text{C}/\text{min}$ e sob atmosfera dinâmica de N_2 de 50 mL/min.

3.2.2.2.3. *Espectroscopia Raman*

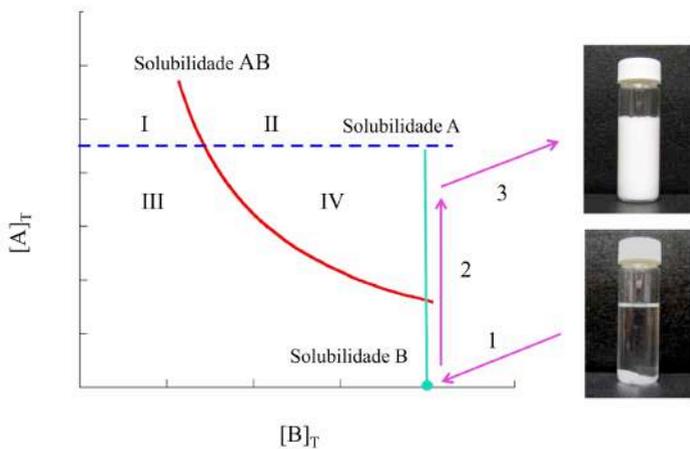
Os espectros Raman das fases sólidas foram obtidos utilizando o espectrômetro RXN1 Raman spectrometer (Kaiser Optical Systems, Ann Arbor, MI, EUA) equipado com laser 785 nm e sonda de fibra óptica. As condições de aquisição foram otimizadas para que os espectros coletados tivessem uma intensidade máxima em torno de 30-40k contagens. Os espectros coletados tiveram uma resolução espectral de 4 cm^{-1} e o intervalo entre 200 e 2000 cm^{-1} . O software HoloReact™ (Kaiser Optical Systems, Ann Arbor, MI, EUA) foi utilizado para visualização e interpretação dos espectros coletados.

3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A supersaturação da solução em relação ao cocrystal é uma condição necessária para a obtenção do cocrystal. A Figura 13 apresenta como a supersaturação é gerada e como os cocrystal são formados simplesmente dissolvendo-se os componentes em solução, $A + B \rightarrow AB_{\text{sólido}}$. A grande vantagem desse método, conhecido como MCR, é que este não apresenta a necessidade de seleção de solventes que correspondam às solubilidades dos reagentes para que esta abordagem tenha êxito. Assim, os cocrystal podem ser obtidos em solventes nos quais são termodinamicamente instáveis (mais solúveis do que o fármaco) através da inversão da estabilidade termodinâmica do cocrystal para o fármaco à

medida que a concentração de coformador aumenta (RODRÍGUEZ-HORNEDO et al., 2006).

Figura 13. Diagrama de solubilidade de fase esquemático indicando as regiões nas quais o cocrystal pode se formar ou dissolver, e uma possível via de formação do cocrystal. As linhas representam as solubilidades do fármaco A, coformador B e cocrystal AB. T subscripto representa as concentrações totais. As setas representam o caminho ao longo do qual o cocrystal é a única fase que pode cristalizar. Região IV: solução supersaturada em relação ao cocrystal. Região I: solução supersaturada com relação ao fármaco. Região II: solução supersaturada com relação ao fármaco e ao cocrystal. Região III: solução abaixo da saturação.



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

Baseando-se neste método, os cocrystal de PRX foram obtidos a partir de uma solução saturada com relação ao coformador, adicionando-se lentamente o PRX e, a medida que ocorria sua dissolução, o cocrystal era formado conforme a via de cristalização demonstrada na Figura 13, onde (1) a solução está saturada em relação ao coformador, (2) ocorre a dissolução do fármaco e (3) o cocrystal é formado.

Ressalta-se que nesta figura as linhas representam as solubilidades do fármaco A, coformador B e cocrystal AB. A solubilidade do cocrystal diminuiu com a concentração de coformador $[B]_T$. T subscripto representa as concentrações analíticas ou totais. As setas representam o caminho ao longo do qual o cocrystal é a única fase que pode cristalizar. Região IV: a solução é supersaturada em relação ao cocrystal, e o fármaco pode se converter em

cocristal. Região I: a solução está supersaturada com relação ao fármaco, e o cocristal pode se converter em fármaco. Região II: a solução está supersaturada com relação ao fármaco e ao cocristal, e ambas podem cristalizar. Região III: a solução está abaixo da saturação, assim fármaco, cocristal e coformador dissolvem-se.

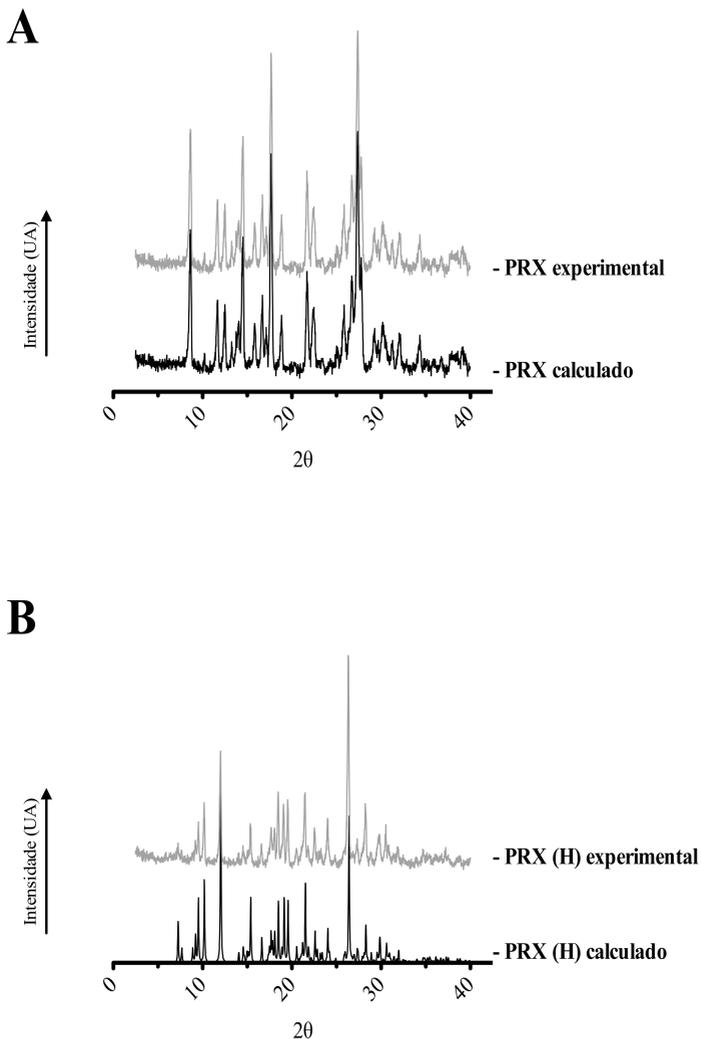
Assim, observa-se que os cocristais de PRX foram obtidos eficazmente, pois os experimentos conduzidos permitiram acessar a região IV do diagrama, alcançando a supersaturação e permitindo a formação do cocristal.

3.3.1. Difração de raios X de pó (DRXP)

A DRXP é uma técnica que permite a identificação de sólidos cristalinos graças aos padrões de difração únicos que estes materiais apresentam. A partir desta técnica é possível determinar as posições médias dos átomos, suas ligações químicas através da medição dos ângulos e intensidade dos feixes difratados, bem como realizar a identificação de um composto através da análise e comparação com padrões já existentes, depositados no banco de dados do *Cambridge Crystallographic Data Centre* (CCDC).

O difratograma obtido para a matéria-prima PRX (Figura 14a) mostrou-se em acordo àquele calculado para forma polimórfica I previamente reportado, sendo, por exemplo, observados picos bem definidos em $2\theta = 8,68; 14,54; 17,7; e 27,4^\circ$. De modo semelhante, em sua forma monohidrato (PRX (H)) podem ser observados, por exemplo, picos em $2\theta = 10,22; 12,04; 21,54; 26,4^\circ$ (Figura 14b), diferindo-o de sua forma polimórfica I, e estando de acordo com o reportado em literatura (VREČER et al., 2003).

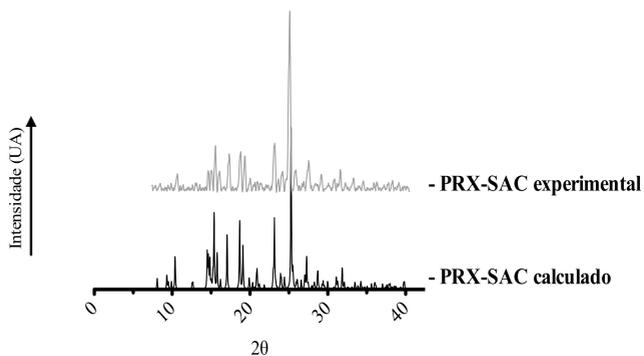
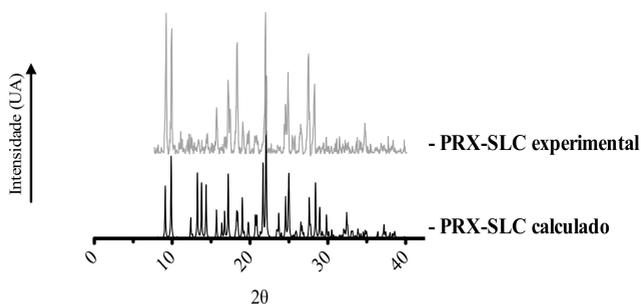
Figura 14. Difratomogramas comparativos entre (A) matéria-prima utilizada (PRX) e padrão de difração calculado, e (B) PRX (H) e seu padrão de difração calculado.



Além disso, as reflexões das amostras PRX-SAC e PRX-SLC obtidas por DRXP (Figura 15) também coincidiram com as reflexões dos

padrões de difração calculados (BHATT et al., 2005; CHILDS e HARDCASTLE, 2007; WALES et al., 2012) para ambos os cocristais.

Figura 15. Difratogramas comparativos de amostras obtidas por MCR e os padrões calculados dos cocristais (A) PRX-SAC, e (B) PRX-SLC.

A**B**

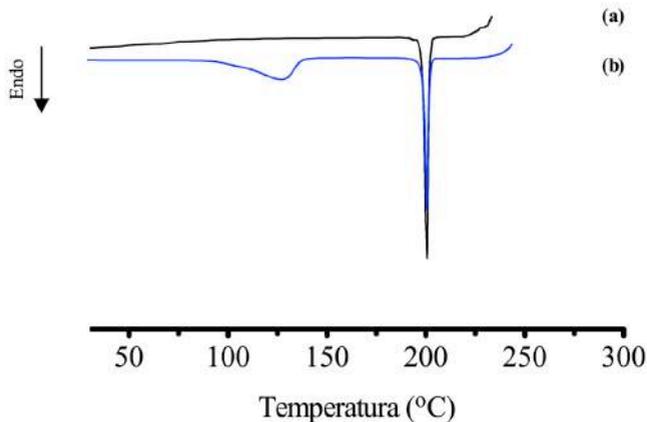
A análise dos difratogramas das amostras cocristalizadas possibilitou a identificação de reflexões bem definidas, com picos de maior intensidade em $2\theta = 15,4; 18,7; 23,16$ e 25° para o cocristal PRX-SAC (Figura 15A) e $2\theta = 9,1; 9,8; 13,8; 17,22; 22,8; 25,2$ e $28,44^\circ$ para o cocristal PRX-SLC (Figura 15B). Devido à orientação preferencial das amostras, nem todas as reflexões são observadas. No entanto, quando comparadas aos padrões calculados, não foram observadas reflexões adicionais, confirmando a estrutura cristalina único presente em cada cocristal de PRX.

3.3.2. Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

O ponto de fusão é uma propriedade física fundamental, determinada pela temperatura à qual a fase sólida está em equilíbrio com a fase líquida, sendo corriqueiramente utilizado como meio de caracterização ou de identificação de pureza de um composto (JAIN et al., 2004). Quando disponível, o DSC é a técnica de primeira escolha para obtenção do ponto de fusão uma vez que dados térmicos adicionais podem ser determinados, como por exemplo a entalpia de fusão.

A curva de DSC para o PRX (Figura 16a) apresentou um único evento endotérmico, com ponto de fusão em $199,79^\circ\text{C}$ ($\Delta H = 32,61$ kJ/mol). Tal resultado corrobora com o intervalo de fusão descrito na literatura para este fármaco (VREČER et al., 1991; VREČER et al., 2003). A curva de DSC para o PRX (H) (Figura 16b) apresentou o mesmo evento endotérmico, no entanto, é possível observar um evento característico de perda de água ($128,72^\circ\text{C}$, $\Delta H = 106,3$ kJ/mol).

Figura 16. Curva de DSC da matéria-prima utilizada (a) PRX, e (b) PRX (H).



A análise do comportamento termoanalítico dos cocristais obtidos possibilitou a identificação dos eventos endotérmicos com ponto de fusão em 223,59°C ($\Delta H= 70,90$ kJ/mol) para o cocristal PRX-SAC (Figura 17) e 190,73°C ($\Delta H= 62,53$ kJ/mol) para o cocristal PRX-SLC (Figura 18). Os coformadores SAC e SLC apresentaram um evento endotérmico com ponto de fusão em 230,48°C ($\Delta H= 63,42$ kJ/mol) e 159,41°C ($\Delta H= 37,03$ kJ/mol), respectivamente. Estes resultados estão de acordo com o intervalo de fusão descrito na literatura tanto para o cocristal PRX-SAC como para os coformadores (BHATT et al., 2005; SCHULTHEISS e NEWMAN, 2009; LIM et al., 2013). No entanto, em relação ao cocristal PRX-SLC, apesar de já ter sido reportado na literatura (CHILDS e HARDCASTLE, 2007), no melhor do nosso conhecimento, nenhuma análise térmica i.e., DSC, encontra-se descrita na literatura.

Figura 17. Curva de DSC do coformador SAC (a), PRX-SAC (b) e co cristal PRX (c).

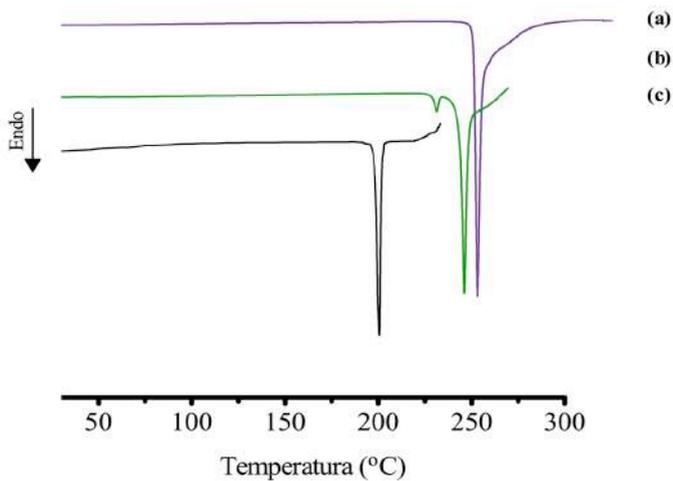
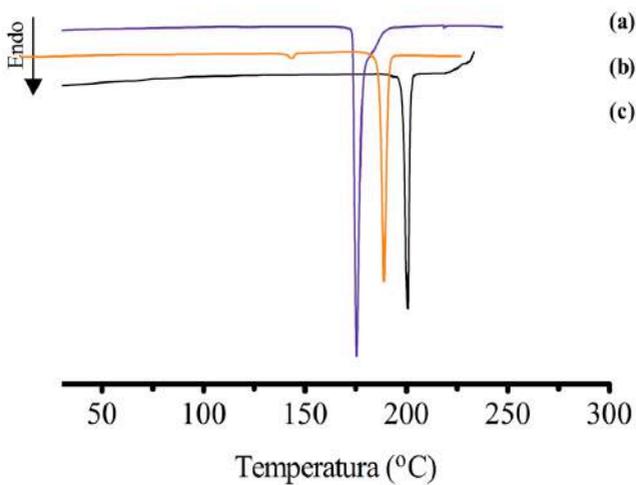


Figura 18. Curva de DSC do coformador SLC (a), PRX-SAC (b) e co cristal PRX (c).



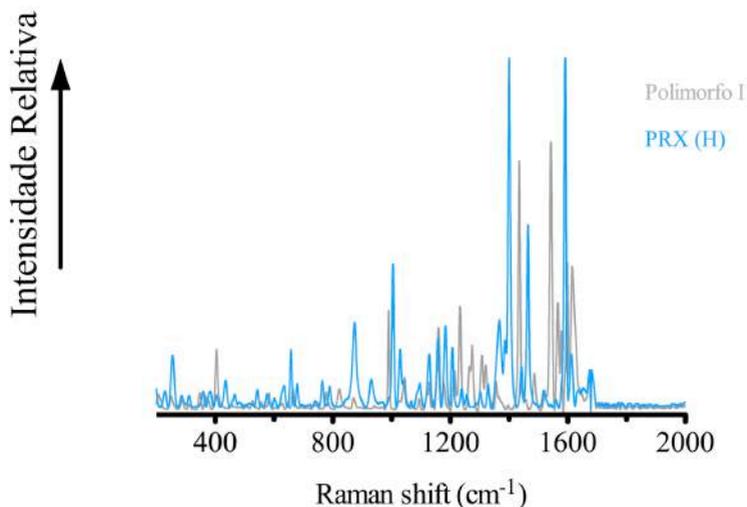
Ambos cocristais apresentaram ponto de fusão entre o ponto de fusão do PRX e seu coformador. A variabilidade do ponto de fusão do cocristal pode ser atribuída à variabilidade do ponto de fusão dos coformadores. Como pode ser observado, quanto maior o ponto de fusão do coformador, maior será o ponto de fusão do cocristal. Tais resultados estão de acordo com a literatura (SCHULTHEISS e NEWMAN, 2009).

3.3.3. Espectroscopia Raman

A espectroscopia Raman é utilizada para fornecer uma impressão digital estrutural através da qual as moléculas e suas formas polimórficas podem ser identificadas (VANKEIRSBILCK et al., 2002), sendo comumente empregada para caracterizar de modo eficaz as formas sólidas do PRX (BERTOLUZZA et al., 1999; TADDEI et al., 2000; VREČER et al., 2003). Deste modo, espectros Raman de todos os sólidos obtidos, bem como do fármaco e coformadores, foram coletados e estes comparados com padrões conhecidos e bem descritos na literatura.

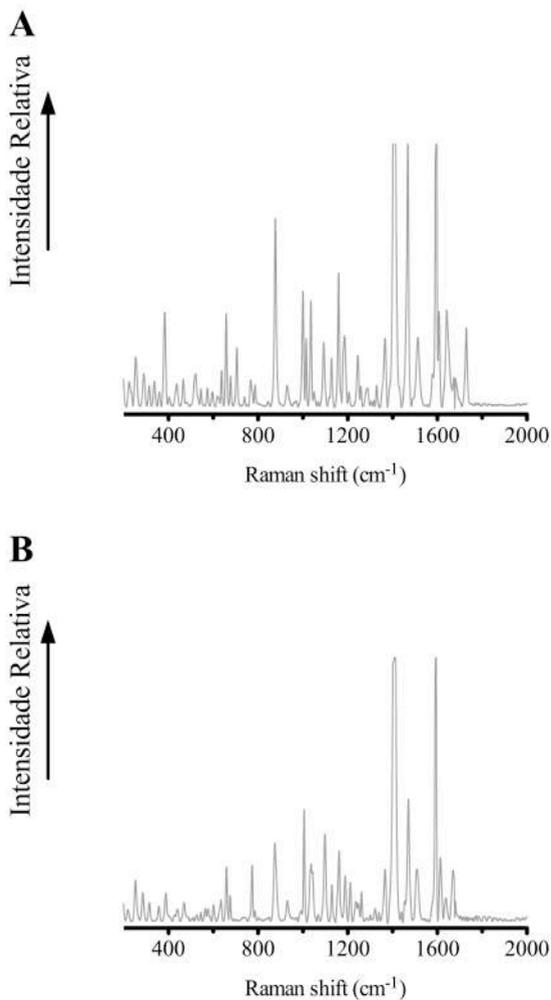
Os espectros de Raman da matéria-prima PRX (polimorfo I) e de sua forma monohidrato são apresentados na Figura 19. Observa-se que as diferentes formas de PRX apresentam espectros bem distintos, visto que o monohidrato contém a forma zwitteriônica em sua estrutura. A presença do tautômero zwitteriônico de piroxicam pode ser facilmente determinada com base na presença de uma banda de Raman característica em $\sim 1401\text{ cm}^{-1}$ (Figura 19b), proveniente do estiramento assimétrico das porções de CO conjugadas (KOGERMANN et al., 2008), e cinco picos que ocorrem na faixa de 1087 a 1205 cm^{-1} , relacionados à torsão de grupamentos HCCC, HCNC e CNCC, e estiramento do grupamento SO. Por outro lado, o polimorfo I (Figura 19a) apresenta uma banda característica em $\sim 1541\text{ cm}^{-1}$, devido à ligação planar HCC, além de picos presentes em ~ 1000 , 1231 , 1272 , e 1433 cm^{-1} , relativos ao estiramento em OC e NC, em CC e à ligação planar HCC, e ao estiramento em NC e ligação planar HCN, estando de acordo com a literatura (SURESH et al., 2015). Observa-se assim, que os espectros obtidos estão de acordo com aqueles observados em literatura, onde têm sido demonstrado que polimorfos do piroxicam e sua forma monohidrato podem ser facilmente distinguidos uns dos outros com base no espectro Raman (BERTOLUZZA et al., 1999; CHILDS e HARDCASTLE, 2007).

Figura 19. Espectroscopia Raman da matéria-prima PRX (Polimorfo I c e PRX (H)).



Por sua vez, no espectro do cocristal PRX-SAC é possível observar picos característicos em $\sim 381, 656, 876, 1401, 1467, 1600 \text{ cm}^{-1}$, relativos, por exemplo, à ligação planar OCN e CNC, ao estiramento em CC e ligação planar HNC, e estiramento em NC, CC e ligação planar HNC, além de seis picos consecutivos na faixa de ~ 1000 a 1200 cm^{-1} , que indicam, dentre outros, o estiramento em CC e ligações planares HCC (Figura 20A). Já no espectro do cocristal PRX-SLC observam-se picos em $\sim 657, 771, 873, 1401, 1470, 1595, 1611$ e 1667 cm^{-1} , relacionados às ligações planares OCN e CNC, e do estiramento em OC e em CC, além de sete picos consecutivos na faixa de ~ 1000 a 1200 cm^{-1} também indicando, dentre outros momentos, o estiramento em CC e ligações planares HCC (Figura 20B). Para ambos cocristais foi possível observar a presença da forma zwitteriônica do PRX, que pode ser vista pela banda característica em ~ 1400 , resultante do estiramento em CC e ligação planar HNC, além da presença de picos consecutivos na mesma faixa daqueles observados no espectro do PRX(H). Tais resultados comprovam a formação de cocristais PRX-SAC e PRX-SLC, apresentando, além dos picos característicos do fármaco e dos coformadores, novos picos resultantes das interações fármaco-coformadores, estando de acordo com a literatura (CHILDS e HARDCASTLE, 2007; SURESH et al., 2014; 2015; TONG et al., 2016).

Figura 20. Espectroscopia Raman dos cocristais PRX-SAC (A) e PRX-SLC (B).



3.4. CONCLUSÕES

O método utilizado para obtenção dos cocristais demonstrou-se eficiente. Os dados obtidos por DRXP, em conjunto com os resultados observados por DSC e espectroscopia Raman, confirmam a identidade do fármaco e dos cocristais PRX-SAC e PRX-SLC. As técnicas utilizadas

demonstraram-se eficazes para as análises realizadas, mostrando que o método utilizado para obtenção dos cocristais além de simples, é passível de reprodutibilidade em maior escala visto que a partir do conhecimento do diagrama de fases é possível controlar o rendimento dos cocristais.

CAPÍTULO III – DETERMINAÇÃO DA INFLUÊNCIA DO pH NA SOLUBILIDADE AQUOSA E EM MEIO BIORRELEVANTE DE COCRISTAIS COMPOSTOS POR FÁRMACO DO TIPO ZWITERIÔNICO E COFORMADORES ÁCIDOS

4. DETERMINAÇÃO DA INFLUÊNCIA DO pH NA SOLUBILIDADE AQUOSA E EM MEIO BIORRELEVANTE DE COCRISTAIS COMPOSTOS POR FÁRMACO DO TIPO ZWITERIÔNICO E COFORMADORES ÁCIDOS

4.1. INTRODUÇÃO

Devido às propriedades de ionização de seus componentes, a solubilidade dos cocristais pode ser modulada em função do pH. Sabe-se que a solubilidade de um cocristal 1:1 RHA (onde R é um fármaco hidrofóbico não ionizável e HA um coformador ácido fraco) pode ser determinada considerando o equilíbrio em solução do fármaco e do coformador. Assim, a solubilidade de RHA será dependente do produto de solubilidade (K_{sp}), da constante de ionização do coformador (K_a) e do pH da solução ($[H^+]$). A capacidade de prever a dependência da solubilidade no pH de um novo cocristal farmacêutico faz-se crucial para conhecer a solubilidade aquosa desejada.

A solubilidade de um cocristal irá aumentar com o aumento do pH quando o coformador for um ácido fraco. Desta forma, pode-se intuir que um coformador ionizável confere ao cocristal uma solubilidade pH-dependente mesmo quando o fármaco não é ionizável.

Uma das principais barreiras no desenvolvimento de cocristais é a conversão para o fármaco constituinte, visto que os cocristais são sistemas de entrega de fármaco supersaturados, SDDS do inglês *Supersaturating Drug Delivery Systems*, caracterizados pela instabilidade termodinâmica. Embora a literatura apresente diversos exemplos de cocristais que proporcionam melhora em sua solubilidade e taxa dissolução com relação ao fármaco (REMENAR et al., 2003; MCNAMARA et al., 2006; BASAVOJU et al., 2008; GOOD e RODRIGUEZ-HORNEDO, 2009; CHENEY et al., 2011; SMITH et al., 2011), tal melhoria nem sempre resulta em uma biodisponibilidade melhorada (HICKEY et al., 2007) devido à rápida conversão ao fármaco constituinte (STANTON e ANNETTE, 2008).

Em contrapartida a utilização de aditivos, tais como polímeros e surfactantes, têm demonstrado inibir ou prolongar a conversão para o fármaco constituinte, melhorando o comportamento de dissolução de cocristais em meios aquosos (CHILDS et al., 2013; ROY, 2013). A

solubilidade de fármacos pouco solúveis é influenciada por agentes tensoativos fisiologicamente relevantes compostos por sais biliares e fosfolipídios (ROY et al., 2010; LIPERT e RODRIGUEZ-HORNEDO, 2013; THAKURIA et al., 2013; LIPERT e RODRIGUEZ-HORNEDO, 2014), no entanto, o efeito destes agentes sobre a solubilidade dos cocristais de fármacos pouco solúveis tem sido pouco abordado na literatura.

As condições da solução, tais como pH e a concentração de agentes solubilizantes, que influenciam a solubilidade de um determinado fármaco, influenciarão de modo diferente a solubilidade de um cocristal deste fármaco (BETHUNE et al., 2009; HUANG e RODRIGUEZ-HORNEDO, 2010; ROY e RODRIGUEZ-HORNEDO, 2010; HUANG e RODRIGUEZ-HORNEDO, 2011b; a; ROY, 2013). Desta maneira, a avaliação da solubilidade dos cocristais em surfactantes fisiologicamente relevantes poderá auxiliar a compreensão do desempenho do cocristal *in vivo*. Assim, a capacidade de prever como a solubilidade e a estabilidade do cocristal são influenciadas por aditivos utilizados em formulações e em condições biorrelevantes proporciona uma ferramenta útil para o desenvolvimento de cocristais.

Os meios biorrelevantes contendo surfactantes biologicamente relevantes foram primeiramente desenvolvidos e padronizados por volta dos anos 90 (NAYLOR et al., 1993a; NAYLOR et al., 1995). Desde então o uso de fluidos gástricos e intestinais simulados passou a fazer parte do desenvolvimento e otimização de formas farmacêuticas de uso oral de maneira significativa (SCHWEBEL et al., 2011), sendo introduzidas composições atualizadas a fim de simular com maior precisão as condições *in vivo* (JANTRATID et al., 2008). Os meios biorrelevantes que modelam os estados alimentados (FeSSIF - *fed state simulated intestinal fluid*) e em jejum (FaSSIF - *fasted state simulated intestinal fluid*) no trato GI são compostos de sais biliares individuais ou em combinação com fosfolipídios, usualmente a lecitina. Os sais biliares, tensoativos naturais presentes no trato GI, têm demonstrado afetar a biodisponibilidade de fármacos pouco solúveis em condições do estado alimentado (BAKATSELOU et al., 1991; NAYLOR et al., 1995; MITHANI et al., 1996; CHARMAN et al., 1997; HORTER e DRESSMAN, 2001).

Visando simular condições *in vivo*, o sal biliar taucorolato de sódio (NaTC) é utilizado em concentrações variadas, geralmente, em combinação com a lecitina fosfolipídica (NAYLOR et al., 1993a; MITHANI et al., 1996). Fármacos mais hidrofóbicos exibem um comportamento de dissolução melhorado devido à solubilização em micelas compostas com sal biliar e lecitina (MIYAZAKI et al., 1981; ROY et al., 2010). Deste modo, o FeSSIF foi escolhido devido à sua concentração relativamente alta de taucorolato de sódio (NaTC) e lecitina, que são conhecidos por formar

micelas compostas em solução e solubilizar significativamente fármacos pouco solúveis (NAYLOR et al., 1993a).

Neste âmbito, tendo em vista que para determinar os diagramas de fase e identificar as regiões de estabilidade termodinâmica é fundamental compreender a dependência da solubilidade do cocrystal em função do pH, este capítulo apresenta estudos que avaliam a dependência da solubilidade de cocrystal de PRX em função do pH baseada em modelos matemáticos que descrevem a solubilidade do fármaco e de seus cocrystal de acordo com a ionização de seus constituintes em solução, baseados em parâmetros termodinâmicos acessados experimentalmente através do ponto eutético. Além disso, buscou-se compreender os mecanismos de solubilização do PRX e de seus cocrystal em meio biorrelevante utilizando modelos matemáticos que preveem e descrevem este comportamento com base na dissociação do cocrystal, ionização e solubilização de seus constituintes.

4.2. METODOLOGIA

4.2.1. Materiais

Os cocrystal utilizados foram obtidos conforme descrito no capítulo II. Os reagentes utilizados (ácidos, bases, sais e solventes) foram de grau analítico. A água utilizada foi filtrada através do sistema deionizado de purificação dupla (Milli Q Plus Water System – Millipore Co., Bedford, MA, EUA).

4.2.2. Métodos

4.2.2.1. Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)

As análises foram realizadas em cromatógrafo líquido de alta eficiência Waters 2690/5 (Milford, MA, EUA) com detector ultravioleta visível. Foi utilizada uma coluna de fase reversa C₁₈ Waters Atlantis (Milford, MA, EUA) (250 mm x 4,6 mm, 5µm) a uma temperatura de 25 ±1°C. Para os cocrystal de PRX-SAC a eluição foi isocrática, com fase móvel composta de metanol e água com 0,3% de ácido fosfórico (70:30). O volume de injeção foi de 20 µL, a um fluxo de 1 mL/min. A absorbância do PRX foi monitorada em 340 nm e da SAC em 240 nm. Para os cocrystal de PRX-SLC a eluição foi gradiente de acordo com a tabela 1, sendo a fase móvel composta por metanol e tampão fosfato 25 mM com pH ajustado para 6,5. O volume de injeção foi de 20 µL, a um fluxo de 1 mL/min. A absorbância do PRX foi monitorada em 340 nm e do SLC em 303 nm.

Tabela 1. Eluição gradiente do método por CLAE utilizado para a quantificação dos componentes dos cocrystalos de PRX-SLC.

Tempo (min)	Metanol (%)	Tampão (%)
0-3	20	80
3-4	50	50
4-8	60	40
8-12	20	80

4.2.2.2. Preparo do FeSSIF e tampão acetato

Os meios foram preparados de acordo com o protocolo descrito por Galia e colaboradores (1998). O tampão acetato foi preparado em temperatura ambiente através da dissolução de 8,08 g de NaOH (pellets), 17,3 g de ácido acético glacial e 23,748 g de NaCl em 2 L de água purificada. O pH foi ajustado com NaOH 1N ou com HCl 1N. O FeSSIF foi preparado dissolvendo-se 0,41 g de NaTC em 12,5 mL de tampão acetato pH 5,0. Posteriormente, adicionou-se 0,148 g de lecitina sob agitação magnética, a 37°C, até completa dissolução. O volume final foi ajustado para 50 mL com tampão acetato.

4.2.2.3. Solubilidade do PRX

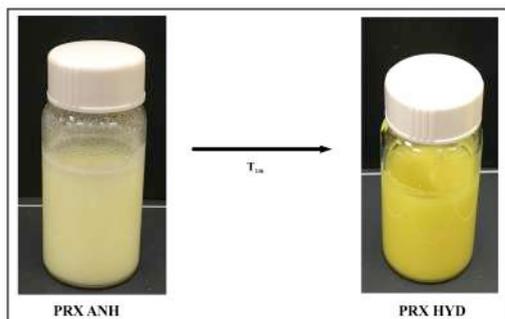
A solubilidade do PRX (H) foi determinada a partir da adição de excesso de fármaco em 3 mL de meio contendo tampão com diferentes valores de pH (1,2; 3,5; 5,0) e em FeSSIF. As soluções foram mantidas sob agitação magnética em até 96 h à temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$. Em intervalos de 24 h, alíquotas de 0,30 mL foram coletadas e centrifugadas em tubos plásticos contendo filtros de acetato de celulose 0,45 μm , durante 4 min, a 10000 rpm. O pH foi verificado, a fase sólida foi analisada por DRXP e DSC, e a fase líquida diluída na fase móvel e analisada por CLAE.

4.2.2.4. Medida da solubilidade dos cocrystalos

A forma cristalina termodinamicamente mais estável do fármaco foi utilizada para os ensaios de determinação da solubilidade. Por ser comercializado na forma anidra (menos estável), foi necessário o preparo do piroxicam hidrato PRX (H). Para isso, o PRX anidro foi suspenso em água e mantido sob agitação magnética por 24 h. O sólido foi filtrado à vácuo em papel filtro quantitativo e armazenado em dessecador. Durante o processo de obtenção da forma hidrato é possível observar a mudança na coloração (Figura 21).

A solubilidade dos cocristais em equilíbrio foi medida em pH 1,2; 3,5 e 5,0 e em FeSSIF. O ponto eutético entre o cocrystal, fármaco e solução foi acessado através da dissolução do cocrystal, onde o cocrystal (~100 mg) e o fármaco (~50 mg) foram suspensos em 3 mL de meio referente a cada pH. As soluções foram mantidas sob agitação magnética a $25 \pm 1^\circ\text{C}$ em banho termostaticado por até 96 h. Em intervalos de 24 h, alíquotas de 0,30 mL foram coletadas e centrifugadas em tubos plásticos contendo filtros de acetato de celulose $0,45 \mu\text{m}$, por 4 min, a 10000 rpm. O pH foi verificado e as fases sólidas analisadas por DSC e DRXP, a fim de confirmar que o sistema se encontrava no ponto eutético (P_{eu}), através da presença de cocrystal e fármaco, e constantes [coformador] e [fármaco] em solução. Após a diluição das soluções filtradas em fase móvel, fármaco e coformador foram analisados por CLAE. Este procedimento foi realizado a cada 24 h até que o sistema estivesse em equilíbrio. As análises foram realizadas em triplicata ($n=3$).

Figura 21. Obtenção do PRX (H) em água após agitação magnética 24h.



O K_{sp} foi calculado através da média da multiplicação das concentrações não ionizadas de fármaco e coformador ($K_{\text{sp}} = [\text{fármaco}][\text{coformador}]$) obtidas a partir dos resultados experimentais no P_{eu} , ao passo que a solubilidade experimental dos cocristais foi calculada a partir da equação (21):

$$S_{T,\text{cocrystal}(1:1)} = \sqrt{[\text{fármaco}]_{\text{eu}}[\text{coformador}]_{\text{eu}}} \quad (21)$$

4.2.2.5. Obtenção das constantes de solubilização ($K_{s,T}$)

As constantes de solubilização total ($K_{s,T}$) foram calculadas a partir da solubilidade de fármaco e coformador mensuradas em FeSSIF e tampão. Para um constituinte ácido fraco HA a solubilidade em FeSSIF é dada por:

$$S_{HA,T} = S_{HA,aq} \left(1 + \frac{K_{aHA}}{[H^+]_{aq}} + K_{S,T}^{HA} [M] \right) \quad (22)$$

Resolvendo para $K_{s,T}^{HA}$,

$$K_{S,T}^{HA} = \frac{\frac{S_T^{HA}}{S_{aq}^{HA}} - 1 - \frac{K_{aHA}}{[H^+]}}{[M]} \quad (23)$$

Para um componente zwitteriônico a solubilidade é dada por:

$$S_T^{-ABH^+} = S_{aq}^{-ABH^+} \left(1 + \frac{[H^+]}{K_{a1}} + \frac{K_{a2}}{[H^+]} + K_{S,T}^{-ABH^+} [M] \right) \quad (24)$$

Resolvendo para $K_{s,T}^{-ABH^+}$,

$$K_{S,T}^{-ABH^+} = \frac{\frac{S_T^{-ABH^+}}{S_{aq}^{-ABH^+}} - 1 - \frac{[H^+]}{K_{a1}} - \frac{K_{a2}}{[H^+]}}{[M]} \quad (25)$$

4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.3.1. Solubilidade do PRX e dos cocristais em meio aquoso

Cocristais formados por coformadores ionizáveis apresentam solubilidade dependente do pH e este fenômeno têm sido demonstrado para uma série de cocristais, incluindo cocristais de estequiometria 1:1 formados por ácidos monoproticos fracos (HUANG e RODRIGUEZ-HORNEDO, 2011a).

A solubilidade estequiométrica dos cocristais foi acessada a partir das concentrações de fármaco e coformador no ponto eutético, onde fármaco, cocristal e a solução coexistem em equilíbrio a uma temperatura e pH constantes. A confirmação do ponto eutético foi realizada através da análise das fases sólidas por DRXP e DSC, sendo constatada a presença de ambas as fases (cocristal e fármaco). A Tabela 2 apresenta as concentrações eutéticas utilizadas para calcular o K_{sp} dos cocristais PRX-SAC e PRX-

SLC, e as suas solubilidades obtidas através da equação 20. Os modelos matemáticos e as derivações das equações utilizadas neste trabalho encontram-se no apêndice.

Tabela 2. Concentrações eutéticas do fármaco e coformadores utilizadas para calcular o K_{sp} , e a solubilidade do cocristal obtida experimentalmente.

	pH inicial	pH final	[Fármaco]_{eu} (mM) ± DP^a	[Coformador]_{eu} (mM) ± DP^a	[Fármaco]_{eu,0} (mM) ± DP^a	[Coformador]_{eu,0} (mM) ± DP^a	K_{sp}^b (mM²) ± DP^a	$S_{cc}^{2,c}$ (mM) ± DP^a
	1,2	1,2	2,10x10 ⁻⁰¹ ±4,02x10 ⁻⁰³	8,03x10 ⁻⁰¹ ±1,87x10 ⁻⁰²	3,77x10 ⁻⁰² ±7,21x10 ⁻⁰⁴	5,75x10 ⁻⁰¹ ±9,47x10 ⁻⁰³	2,17x10 ⁻⁰² ±5,01x10 ⁻⁰⁷	0,41 ±5,05x10 ⁻⁰³
PRX-SAC	3,5	2,9	3,21x10 ⁻⁰² ±2,23x10 ⁻⁰³	14,61 ±5,12x10 ⁻⁰¹	2,91x10 ⁻⁰² ±2,02x10 ⁻⁰³	7,61x10 ⁻⁰¹ ±2,67x10 ⁻⁰²	2,22x10 ⁻⁰² ±2,32x10 ⁻⁰⁶	0,68 ±3,58x10 ⁻⁰²
	5,0	3,6	5,34x10 ⁻⁰² ±1,58x10 ⁻⁰⁴	110,4 ±8,35	5,18x10 ⁻⁰² ±1,53x10 ⁻⁰⁴	9,76x10 ⁻⁰¹ ±7,38x10 ⁻⁰²	5,05x10 ⁻⁰² ±3,79x10 ⁻⁰⁶	2,43 ±9,54x10 ⁻⁰²
Média K_{sp}: 3,15 x 10⁻²								
	1,2	1,3	1,44x10 ⁻⁰¹ ±8,33x10 ⁻⁰³	3,38x10 ⁻⁰¹ ±8,57x10 ⁻⁰³	3,37x10 ⁻⁰² ±1,94x10 ⁻⁰³	3,31x10 ⁻⁰¹ ±8,90x10 ⁻⁰³	1,11x10 ⁻⁰² ±7,00x10 ⁻⁰⁷	0,22 ±9,08x10 ⁻⁰³
PRX-SLC	3,5	3,4	4,72x10 ⁻⁰² ±4,78x10 ⁻⁰³	1,57 ±1,53x10 ⁻⁰¹	4,56x10 ⁻⁰² ±4,54x10 ⁻⁰³	4,22x10 ⁻⁰¹ ±2,50x10 ⁻⁰²	1,92x10 ⁻⁰² ±3,00x10 ⁻⁰⁶	0,27 ±1,58x10 ⁻⁰²
	5,0	4,6	4,43x10 ⁻⁰² ±4,10x10 ⁻⁰³	27,17 ± 1,67	3,92x10 ⁻⁰² ±3,69x10 ⁻⁰³	8,33x10 ⁻⁰¹ ±5,13x10 ⁻⁰²	3,26x10 ⁻⁰² ±2,31x10 ⁻⁰⁶	1,10 ±4,00x10 ⁻⁰²
Média K_{sp}: 2,10 x 10⁻²								

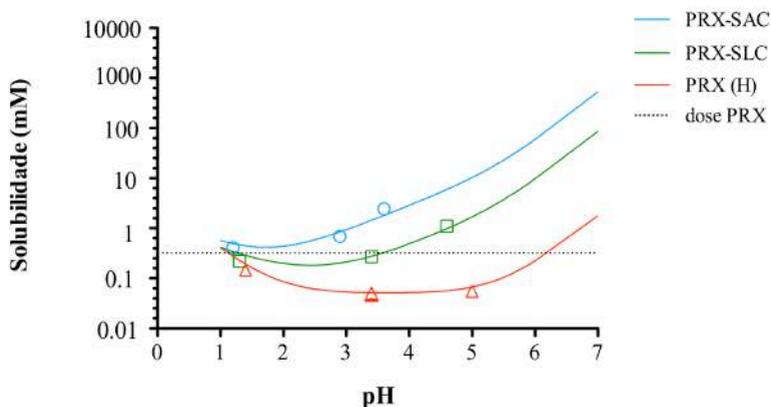
^a DP = Desvio Padrão

^b Obtido através da equação: $K_{sp} = [fármaco]_{eu,0} [coformador]_{eu,0}$

^c Obtido através da equação: $S_{cc} = \sqrt{[fármaco]_{eu} [coformador]_{eu}}$

A solubilidade de um fármaco zwitteriônico, $^{-}ABH^{+}$, apresenta um perfil de pH-dependência na forma de U, onde sua solubilidade apresenta-se mais alta em um pH menor do que o seu primeiro valor de pK_a , atinge um valor mínimo quase constante entre seus valores de pK_a e aumenta exponencialmente a medida que o pH vai se distanciando de seu segundo valor de pK_a (Figura 22). As curvas de solubilidade dos cocristais PRX-SAC e PRX-SLC e sua dependência no pH também estão apresentadas na Figura 22.

Figura 22. Diagrama de solubilidade de fases para o fármaco PRX (H) e para os cocristais PRX-SAC e PRX-SLC. Os símbolos representam as solubilidades avaliadas experimentalmente. Os valores de pK_a utilizados foram: PRX ($pK_{a1} = 1,86$, $pK_{a2} = 5,46$); SAC ($pK_a = 1,6$); SLC ($pK_a = 3,0$). K_{sp} (PRX-SAC = $3,15 \times 10^{-2} \text{ mM}^2$; PRX-SLC = $2,10 \times 10^{-2} \text{ mM}^2$). $S_0 = 4,99 \times 10^{-02}$. As equações utilizadas para prever a solubilidade encontram-se no apêndice. Para os cocristais foi utilizada a equação (12) e para o fármaco a equação (6). Os erros experimentais estão representados na figura.



Para os cocristais PRX-SAC e PRX-SLC é possível observar um aumento da solubilidade em relação ao fármaco. Tal comportamento é decorrente da ionização dos coformadores. A solubilidade de ambos cocristais aumenta exponencialmente em valores de $pH > pK_a$ dos coformadores. Os valores de K_{sp} utilizados estão descritos na tabela 2. Os valores de pK_a foram retirados da literatura. A SAC é um ácido monoprótico fraco com valor de pK_a de 1,6 (NEWTON e KLUZA, 1978) e o SLC, também ácido monoprótico fraco, com valor de pK_a de

3,0 (NEWTON e KLUZA, 1978). Conforme pode ser observado na figura 22, os valores experimentais estão em excelente concordância com o comportamento previsto pelas equações.

A solubilidade do cocristal PRX-SAC variou de 2,0 à 45 vezes a do PRX (H) entre pH 1,2 e 3,6, enquanto que a solubilidade de PRX-SLC variou de 1,5 à 25 vezes entre pH 1,3 e 4,6. Isso mostra que a vantagem da solubilidade (SA) de um cocristal em relação ao fármaco é altamente dependente do pH, onde solubilidades altas do cocristal podem ser alcançadas em ambientes que favorecem altos níveis de ionização de coformadores.

Para que um fármaco possa ser absorvido, o mesmo deve encontrar-se em solução, ou seja, é esperado que sua dose completa seja capaz de se dissolver no TGI, para então ser absorvida. A dose inicial recomendada para o piroxicam é de 20 mg, que ao ser administrada com 250 mL de água terá uma concentração de 0,32 mM. Conforme pode ser visualizado na Figura 22, a dose (linha pontilhada) do PRX não é solúvel tanto em pH gástrico (pH 1-3) como intestinal (pH 5-6), denotando que o fármaco pode não desempenhar o seu efeito de maneira eficaz, além de apresentar grandes variações entre pacientes. Por outro lado, o cocristal PRX-SLC pode ser 0,94 a 2,67 vezes mais solúvel do que a dose do fármaco em uma faixa de pH de 3,5-8, podendo não dissolver completamente sua dose no estômago (pH < 3), mas sendo capaz de solubilizar-se em valores de pH acima de 3,5, como encontrado no intestino. Já o PRX-SAC demonstra-se solúvel em qualquer valor de pH, podendo ser de 1,78 até 16,39 vezes mais solúvel do que a dose do fármaco em uma faixa de pH de 1-8. Nesse sentido, avaliar a dependência da solubilidade no pH pode apresentar uma grande vantagem visto que a partir do conhecimento da solubilidade em função do pH é possível determinar em quais porções do TGI o cocristal será capaz de dissolver a dose do fármaco por completo e permitir sua absorção total.

As concentrações totais de fármaco e coformador quantificadas no ponto eutéico e os valores de K_{eu} estão apresentados nas Figuras 23 e 24 para os cocristais PRX-SAC e PRX-SLC, respectivamente. Os valores de pH indicados são referentes ao final do experimento. A diminuição do pH pode ocorrer devido à ionização e liberação de $[H^+]$ dos coformadores.

Figura 23. Concentrações de PRX e SAC obtidas no ponto eutético em soluções aquosas em diferentes valores de pH.

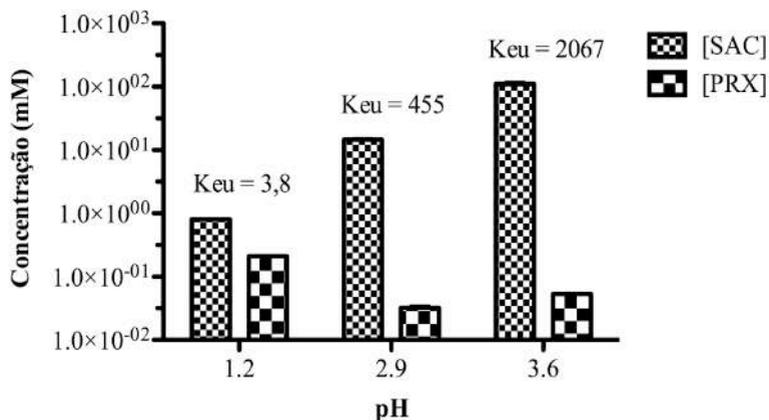
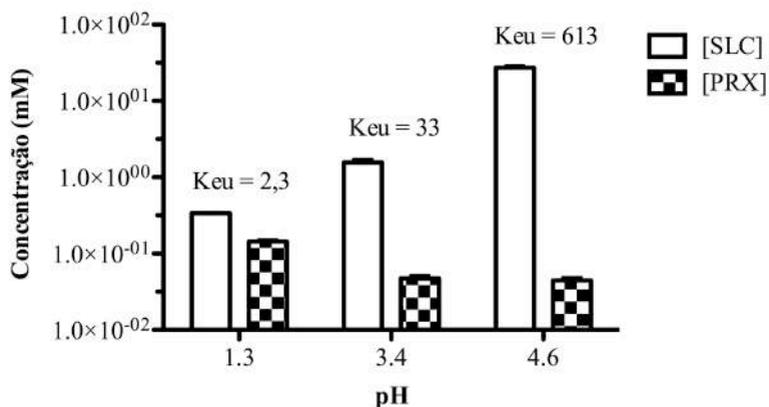


Figura 24. Concentrações de PRX e SLC obtidas no ponto eutético em soluções aquosas em diferentes valores de pH.



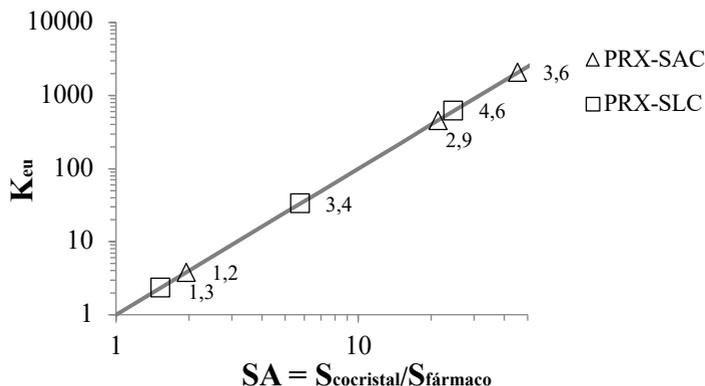
Conforme exibido nas figuras 23 e 24 as concentrações eutéticas de SAC e SLC aumentaram com o aumento do pH. Este perfil

é esperado devido ao aumento da ionização do coformador de acordo com os respectivos valores de pK_a .

A K_{eu} , razão entre as concentrações de fármaco e coformador no ponto eutético, é um indicador chave da solubilidade do cocristal em relação ao fármaco, além de ser um estado de equilíbrio acessível experimentalmente, independente da solubilidade do cocristal em relação aos seus componentes puros (GOOD E RODRÍGUEZ-HORNEDO, 2010; ALHALAWEH et al., 2012; KUMINEK et al., 2016b). Os valores de K_{eu} aumentam à medida que a concentração de coformador em solução aumenta (Figuras 23 e 24). Além disso, a dependência da K_{eu} no pH também pode ser observada, evidenciando que a razão entre a solubilidade do cocristal e do fármaco aumenta à medida que a ionização aumenta, aumentando assim a vantagem da solubilidade do cocristal e tornando-o mais instável termodinamicamente em solução. Deste modo, a K_{eu} apresenta-se como um parâmetro crítico indicativo da estabilidade termodinâmica do cocristal em relação ao fármaco (GOOD e RODRIGUEZ-HORNEDO, 2010). Valores de K_{eu} acima da razão estequiométrica, > 1 para cocristais de estequiometria 1:1, indicam que o cocristal é a fase metaestável (mais solúvel). Portanto, os valores de K_{eu} encontrados demonstram que os cocristais obtidos apresentam maior solubilidade em relação ao fármaco.

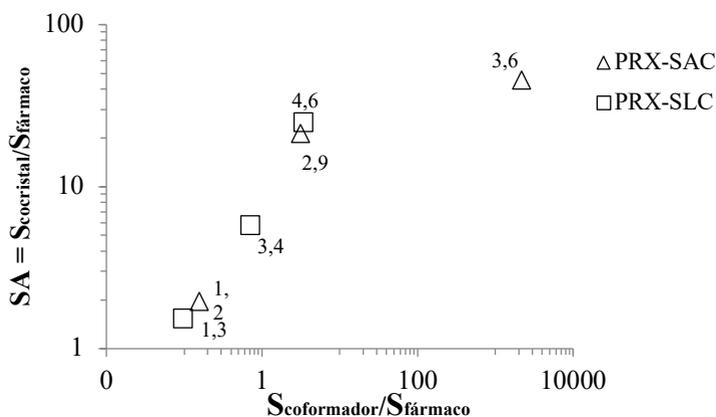
A vantagem da solubilidade do cocristal ($SA = S_{cocristal}/S_{fármaco}$) pode ser estimada a partir da K_{eu} de acordo com a equação 3, ou seja, quanto maior for a K_{eu} , maior será a SA. A dependência experimental e predita da K_{eu} na SA para os cocristais PRX-SAC e PRX-SLC é apresentada na Figura 25. A solubilidade do cocristal e do fármaco foram determinadas experimentalmente a partir das concentrações obtidas no ponto eutético. Os resultados obtidos mostram excelente concordância entre comportamento observado e o previsto de acordo com a equação 3. Além disso, é possível observar a dependência da K_{eu} e da SA no pH evidenciando que esta vantagem da solubilidade do cocristal em relação ao fármaco pode ser modulada através do pH da solução.

Figura 25. Dependência da K_{eu} na SA para os cocristais PRX-SAC e PRX-SLC. A linha pontilhada foi predita a partir da equação 3. Os números próximos aos símbolos representam os valores de pH ao final do experimento de solubilidade no ponto eutético.



A solubilidade aquosa do coformador está correlacionada com a solubilidade do cocristal. Uma tendência na SA com a razão entre a solubilidade do coformador e do fármaco ($S_{coformador}/S_{fármaco}$) têm sido demonstradas para diferentes cocristais (KUMINEK et al., 2016a).

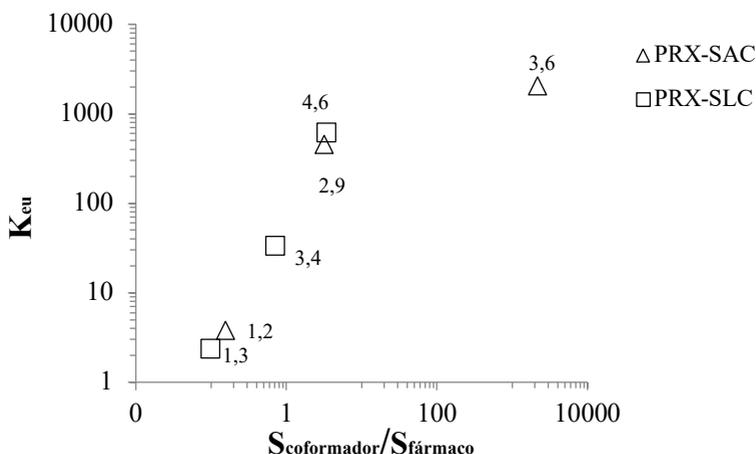
Figura 26. Vantagem da solubilidade do cocristal sobre o fármaco ($SA = S_{cocristal}/S_{fármaco}$) *versus* a razão da solubilidade entre coformador e o fármaco ($S_{coformador}/S_{fármaco}$).



Quanto mais solúvel o coformador for em relação ao fármaco, mais solúvel o cocrystal será em relação ao fármaco. Conforme pode ser observado na Figura 26, a SA demonstra-se ser diretamente proporcional à razão $S_{\text{coformador}}/S_{\text{fármaco}}$.

Assim, outra correlação que pode ser observada está entre a K_{eu} e a razão de solubilização entre o fármaco e o coformador. Os valores de K_{eu} tendem a ser proporcionais à esta razão, conforme demonstra a Figura 27.

Figura 27. Relação entre a constante eutética (K_{eu}) e a razão de solubilização entre o coformador e o fármaco ($S_{\text{coformador}}/S_{\text{fármaco}}$).



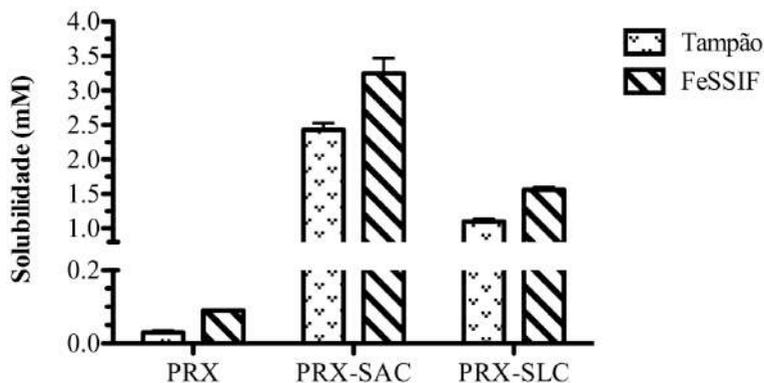
Apesar da correlação entre a solubilidade do cocrystal e do coformador não ser comumente relatada, os gráficos apresentados nas Figuras 25, 26 e 27 confirmam que a solubilidade dos cocrystal está diretamente relacionada à solubilidade dos coformadores.

4.3.2. Solubilidade do fármaco e dos cocrystal em FeSSIF e tampão acetato pH 5,0

As solubilidades do PRX e dos cocrystal em FeSSIF e em tampão estão apresentadas na Figura 28. O PRX apresentou uma solubilidade de 0,03 mM em tampão e 0,09 em FeSSIF. A solubilidade do cocrystal PRX-SAC em tampão foi de 2,43 mM, enquanto que em FeSSIF foi 3,25 mM. Já para o cocrystal PRX-SLC a solubilidade em tampão foi de 1,10 mM e 1,56 mM em FeSSIF. Estes resultados

demonstram que os cocrystalis são mais solúveis do que o fármaco em tampão e que este aumento na solubilidade do cocrystal é mantido em FeSSIF, mas em menor extensão do que no tampão visto que a razão de solubilização entre o cocrystal e o fármaco é menor em FeSSIF.

Figura 28. Solubilidade do fármaco e dos cocrystalis em FeSSIF e em tampão a 25° C. O pH final para cada experimento em FeSSIF e tampão, respectivamente, foi de: PRX (H) = 4,9 e 5,0; PRX-SAC = 3,7 e 3,6; PRX-SLC = 4,6.



O mecanismo de solubilização para os sais biliares e micelas compostas de sal biliar e lecitina é diferente em comparação com surfactantes tradicionais. Devido ao seu complexo mecanismo de agregação onde se auto-associam não-criticamente, os sais biliares não apresentam um CMC distinto (NINOMIYA et al., 2003). Pequenas “micelas primárias” são formadas por agregados de 2-10 monômeros de NaTC através de interações hidrofóbicas, e estas podem então interagir via ligações de hidrogênio e formar “micelas secundárias” em maior concentração de NaTC (CAREY e SMALL, 1972), que são então caracterizadas pelo aumento gradual da solubilização (NINOMIYA et al., 2003). Uma gama de valores de CMC para estes sistemas é relatada na literatura devido à variação em parâmetros experimentais, tais como força iônica, temperatura, etc. (NAYLOR et al., 1993b). No presente trabalho, o valor de CMC de NaTC utilizado foi $2,5 \times 10^{-5}$ M (MITHANI et al., 1995).

A solubilidade estequiométrica de cocrystalis, onde as concentrações de seus constituintes em solução encontram-se em equilíbrio iguais à sua razão molar, é calculada pelas concentrações

totais do ponto eutético conforme a equação (21), onde $[\text{constituente}]_{T,eu}$ é definida como a soma das concentrações de todas as espécies dissolvidas no ponto eutético ($[\text{constituente}]_{T,eu} = [\text{constituente}]_{aq,eu} + [\text{constituente}]_{m,eu}$) na presença de um agente solubilizante. Assim, $[\text{constituente}]_{aq,eu}$ representa a concentração aquosa total em um determinado pH na ausência do agente solubilizante ($[\text{constituente}]_{aq,eu} = [\text{constituente}]_{\text{não-ionizado},aq,eu} + [\text{constituente}]_{\text{ionizado},aq,eu}$), sendo a soma das espécies não ionizadas e ionizadas. A $[\text{constituente}]_{m,eu}$ representa o cocristal solubilizado pelo agente solubilizante ($[\text{constituente}]_{m,eu} = [\text{constituente}]_{\text{não-ionizado},m,eu} + [\text{constituente}]_{\text{ionizado},m,eu}$) e as contribuições das espécies ionizadas, conforme apropriado (BETHUNE et al., 2009; GOOD e RODRIGUEZ-HORNEDO, 2009; HUANG e RODRIGUEZ-HORNEDO, 2010; 2011a; b).

Os valores de solubilidade preditos e os valores obtidos experimentalmente para os cocristais PRX-SAC e PRX-SLC estão apresentados na tabela 3. Tais resultados demonstram estar de acordo entre os valores preditos pela equação 25 (apêndice) e os valores obtidos experimentalmente. No entanto há uma maior variação entre os valores preditos e experimentais para o PRX-SAC, o que pode ser atribuído a uma série de fatores, tais como a redução da solubilização devido à presença de coformador e/ou interações entre os constituintes que são assumidas como insignificantes pelos modelos utilizados. Visto que os cocristais são compostos por coformadores ácidos, o pH no ponto eutético foi menor do que 5,0, especialmente para o cocristal com SAC devido ao seu baixo valor de pKa.

Tabela 3. Comparação entre os valores de solubilidade dos cocristais preditos e medidos experimentalmente. Os valores de pH descritos são referentes àqueles mensurados ao final do experimento.

Cocristal	$S_{\text{cocristal}}$ FeSSIF(mM)			$S_{\text{cocristal}}$ tampão (mM)		
	± DP ^c			± DP ^c		
	Pred ^a	Exp ^b	pH	Pred ^a	Exp ^b	pH
PRX-SAC	3,78	3,25 ± 0,22	3,7	1,92	2,43 ± 0,1	3,6
PRX-SLC	1,58	1,56 ± 0,04	4,6	1,00	1,10 ± 0,04	4,6

^a obtido através da equação (25 apêndice).

^b obtido através da equação (21).

^c DP = Desvio Padrão.

Os modelos matemáticos aqui apresentados possibilitam a predição da solubilidade dos cocristais na presença de agentes solubilizantes, uma vez que os valores de K_{sp} , bem como as K_a e K_s do

fármaco e coformador são conhecidos, assim como as condições de interesse da solução (pH, [M]). O valor de K_{sp} pode ser obtido a partir de uma única medida da solubilidade em tampão aquoso. Deste modo, a influência de agentes solubilizantes na solubilidade do cocristal pode ser avaliada sem a necessidade de realizar diversos experimentos. Os valores das constantes de solubilização total ($K_{s,T}$) foram calculados para os componentes do cocristal a partir das solubilidades previamente mensuradas em FeSSIF e tampão através das equações 36 e 37 e encontram-se descritos na tabela 4. As constantes de solubilização, juntamente com os valores de pK_a reportados na literatura, foram utilizadas para prever a solubilidade dos cocristais em FeSSIF.

Tabela 4. Constantes de solubilização ($K_{s,T}$) em FeSSIF para o fármaco e coformadores.

Componente	$K_{s,T}$ (mM) \pm DP ^a
PRX	0,080 \pm 0,005
SAC	0
SLC	0,043 \pm 0,003

^a DP = Desvio Padrão.

As concentrações eutéticas de fármaco e coformador em FeSSIF e tampão estão apresentadas na tabela 5. Cocristais altamente solúveis requerem alta [coformador]_{eu} para alcançar o ponto eutético. O cocristal PRX-SAC apresentou elevada [SAC]_{eu} em FeSSIF e em tampão, no entanto, concentrações elevadas de coformador no ponto eutético podem levar a condições não ideais de solução, não sendo então justificada a suposição de que as interações do fármaco com agentes solubilizantes não são afetadas pelo coformador. Altas concentrações de coformador podem alterar a solubilidade do fármaco no ponto eutético, reduzindo sua solubilização nestas condições. Entretanto, as concentrações de coformador no ponto eutético não influenciaram significativamente a $SR_{cocristal}$ ou as avaliações da solubilidade dos cocristais estudados.

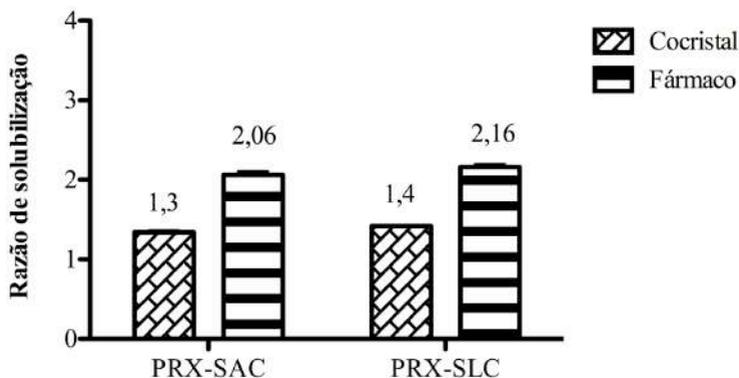
Tabela 5. Concentrações eutéticas do fármaco e coformadores, e a solubilidade do cocristal obtida experimentalmente em FeSSIF e em tampão.

	Cocristal	pH inicial	pH final	[Fárm] _{eu} (mM)±DP ^a	[Coform] _{eu} (mM) ± DP ^a	Scc ² (mM) ± DP ^a
FeSSIF	PRX-SAC	5,0	3,7	1,10x10 ⁻¹ ±4,12x10 ⁻⁰³	96 ±1,66	3,25 ± 2,2x10 ⁻⁰¹
	PRX-SLC	5,0	4,6	9,58x10 ⁻² ±8,26x10 ⁻⁰⁴	25,35 ±1,54	1,56± 4,0x10 ⁻⁰²
Tampão	PRX-SAC	5,0	3,6	5,34x10 ⁻² ±41,58x10 ⁻⁰⁴	110 ±8,35	2,43± 9,5x10 ⁻⁰²
	PRX-SLC	5,0	4,6	4,43x10 ⁻² ±4,10x10 ⁻⁰³	27,17 ±1,67	1,10± 4,0x10 ⁻⁰²

^a DP = Desvio Padrão.

A influência do FeSSIF na solubilização do fármaco e do cocristal é mostrada na Figura 29. Como pode ser observado, cocristal e fármaco são solubilizados em diferentes extensões. O PRX foi em torno de 2 vezes mais solúvel em FeSSIF quando comparado ao tampão. Visto que o PRX não é solubilizado em grande extensão no FeSSIF, a diminuição na $SR_{\text{cocristal}}$ em relação a $SR_{\text{fármaco}}$ não é tão pronunciada. O cocristal PRX-SAC foi 1,3 vezes mais solúvel, enquanto que o cocristal PRX-SLC foi 1,4 vezes mais solúvel do que o PRX. Devido à solubilização preferencial do fármaco sobre o coformador, é esperado que o fármaco seja solubilizado em maior extensão do que os cocristais, como indicado pelos valores experimentais de $SR_{\text{fármaco}}$ maiores do que os de $SR_{\text{cocristal}}$, conforme pode ser predito pela equação $SR_{\text{cocristal}} = \sqrt{SR_{\text{fármaco}}}$. Tal equação prevê uma $SR_{\text{cocristal}}$ de 1,4 para PRX-SAC e 1,5 para PRX-SLC, estando os valores obtidos experimentalmente de acordo com os valores preditos, evidenciando o poder preditivo dos modelos matemáticos.

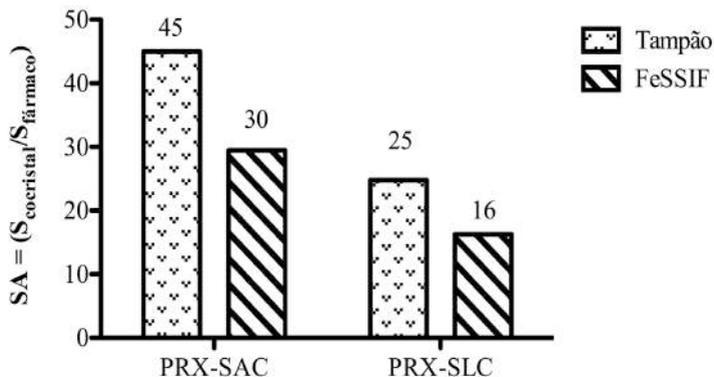
Figura 29. Razão de solubilização para os cocrystalis e o fármaco em FeSSIF.



A vantagem da solubilidade do cocrystalis em relação ao fármaco pode ser reduzida na presença de agentes solubilizantes. A redução da SA diminui a probabilidade de precipitação do fármaco, uma vez que a supersaturação do sistema é reduzida. Conforme pode ser observado na Figura 30, ambos cocrystalis apresentaram uma redução na SA em FeSSIF quando comparado ao tampão. O cocrystalis PRX-SAC apresentou uma SA de 30 em FeSSIF e 45 em tampão, ao passo que para o cocrystalis PRX-SLC a SA foi de 16 em FeSSIF e 25 em tampão.

Ao reduzir a razão de solubilização do cocrystalis em relação ao fármaco, ou seja, a SA, o cocrystalis pode prolongar o tempo de supersaturação permitindo melhor aproveitamento da sua SA sem que ocorra a conversão para o fármaco durante um determinado tempo. Os valores de K_{eu} também diminuíram consideravelmente em FeSSIF quando comparados ao tampão, indicando maior estabilidade do cocrystalis. O cocrystalis PRX-SAC apresentou valores de K_{eu} de 872,8 em FeSSIF e 2067,3 em tampão, enquanto que o cocrystalis PRX-SLC apresentou uma K_{eu} de 264,7 em FeSSIF e 613,5 em tampão.

Figura 30. SA dos cocristais PRX-SAC e PRX-SLC em FeSSIF e tampão.



A solubilidade do cocristal no ponto de transição (S^*) pode ser calculada a partir da solubilidade aquosa do cocristal e do fármaco, conforme a equação $S^* = (S_{\text{cocristal, aq}})^2 / S_{\text{fármaco, aq}}$ para um cocristal de estequiometria 1:1 (LIPERT e RODRIGUEZ-HORNEDO, 2015). No caso dos cocristais estudados, os valores de S^* foram maiores do que as solubilidades mensuradas em FeSSIF. O cocristal PRX-SAC apresentou um valor de S^* de 80,2 mM e o cocristal PRX-SLC apresentou um S^* de 17,2 mM. Assim, ambos cocristais estavam abaixo do seu ponto de transição nas condições estudadas, onde o cocristal PRX-SAC encontrou-se 25 vezes abaixo e o cocristal PRX-SLC 11 vezes, estando de acordo com o aumento da solubilidade do cocristal em relação ao fármaco observado em FeSSIF.

A SA pode ser utilizada como um índice de supersaturação, ou seja, um nível de supersaturação em relação ao fármaco, que determina o risco de precipitação do fármaco. O índice de supersaturação do cocristal que pode ser descrito como SA, varia com a solubilização do fármaco de acordo com a equação (26) para um cocristal 1:1:

$$SA = \frac{SA_{\text{aq}}}{\sqrt{SR_{\text{fármaco}}}} \quad (26)$$

onde SA é a solubilidade total do cocristal na solubilização do fármaco. SA_{aq} é o índice de supersaturação do cocristal na ausência de solubilização do fármaco, e SR é a razão entre as solubilidades do fármaco na presença e ausência de aditivos ($S_{\text{fármaco, T}} / S_{\text{fármaco, aq}}$). Esta relação sugere que o nível de supersaturação do cocristal em relação ao

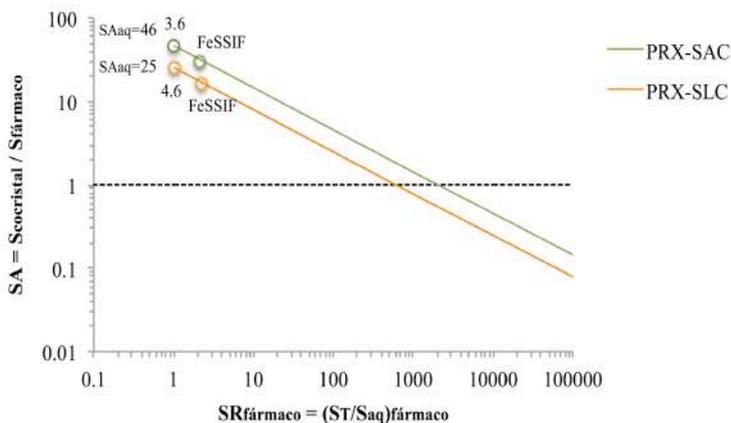
fármaco pode ser modulado para um valor desejado a partir do conhecimento de uma SA em qualquer $SR_{\text{fármaco}}$. Quando $SR_{\text{fármaco}} = 1$, $SA = SA_{\text{aq}}$, assim a supersaturação do cocrystal pode ser modulada através da alteração da solubilização do fármaco através da adição de polímeros, surfactantes, lipídios ou aditivos que solubilizam preferencialmente o fármaco em relação ao coformador.

A Figura 31 apresenta a SA do cocrystal em função da solubilização do fármaco de acordo com a equação logarítmica (27):

$$\log(SA) = \log(SA_{\text{aq}}) - \frac{1}{2} \log(SR_{\text{fármaco}}) \quad (27)$$

O $\log(SA)$ vs $\log(SR_{\text{fármaco}})$ apresentado na figura 31 é caracterizado por (1) linhas com inclinação de $-1/2$ onde a posição de cada linha é determinada pelo valor de SA_{aq} do cocrystal, (2) os pontos de transição do cocrystal, onde $SA=1$, e (3) regiões de solubilização do fármaco sobre as quais o cocrystal é mais, igualmente ou menos solúvel do que o fármaco, $SA > =$ ou < 1 .

Figura 31. Vantagem da solubilidade do cocrystal em função da solubilização do fármaco. As linhas representam a SA predita para cada cocrystal e os círculos a SA obtida experimentalmente em FeSSIF.



Os valores preditos estão em excelente acordo com o comportamento observado pelos cocrystalis na presença de meio

biorelevante. A interseção da linha SA do cocrystal com a linha $SA = 1$ estabelece o valor de $SR_{\text{fármaco}}$ limite abaixo do qual o cocrystal pode gerar supersaturação em relação ao fármaco ou ao ponto de transição. Consequentemente, o nível de supersaturação em relação ao fármaco nesta faixa de $SR_{\text{fármaco}}$ pode ser selecionado a partir do conhecimento da influência de um aditivo na $SR_{\text{fármaco}}$. A SA do cocrystal diminui com o aumento da $SR_{\text{fármaco}}$ de uma maneira previsível que identifica o limite de $SR_{\text{fármaco}}$ acima do qual a SA cocrystal é invertida, ou seja, o ponto de transição.

Conforme pode ser observado na Figura 31, os cocrystal são mais solúveis do que o fármaco na faixa de $SR_{\text{fármaco}}$ onde $SA > 1$, ou seja, onde o cocrystal encontra-se supersaturado com relação ao fármaco, e menos solúvel do que o fármaco na faixa de $SR_{\text{fármaco}}$ onde $SA < 1$, abaixo da saturação ou ponto de transição. Além disso, é possível observar que quanto menor a SA_{aq} do cocrystal, menor será a $SR_{\text{fármaco}}$ no ponto de transição. Ou seja, cocrystal com uma menor vantagem de solubilidade sobre o fármaco são mais suscetíveis a serem menos solúveis do que o fármaco em baixos níveis de solubilização do fármaco.

A relação aqui apresentada fornece a base para avaliar quantitativamente a vantagem da solubilidade do cocrystal ou índice de supersaturação em relação ao fármaco através de uma seleção simplificada de aditivos provendo um desenvolvimento de cocrystal bem-sucedido.

4.4. CONCLUSÕES

Os modelos matemáticos de predição da solubilidade do fármaco e seus cocrystal, baseados na compreensão da dissociação e ionização dos componentes do cocrystal e K_{sp} , foram capazes de prever de maneira eficaz a solubilidade do cocrystal. Os resultados obtidos permitem concluir que o pH se apresenta como uma variável determinante na obtenção da solubilidade do cocrystal, e das condições de solução onde o cocrystal é termodinamicamente estável. Desta forma, podemos intuir que: (1) para estimar a dependência da solubilidade do cocrystal no pH um único experimento pode ser realizado, e então, as condições de pH que favorecem a precipitação ou estabilidade termodinâmica do cocrystal podem ser determinadas; (2) a K_{eu} representa um importante indicador de estabilidade dos cocrystal, e; (3) a solubilidade dos cocrystal está relacionada com a solubilidade do coformador, uma vez que quanto maior a razão $S_{\text{coformador}}/S_{\text{fármaco}}$ maior será a solubilidade do cocrystal em relação ao fármaco.

Os resultados aqui apresentados demonstram que o comportamento de solubilização do cocrystal em FeSSIF é diferente daquele apresentado pelo fármaco. Tal efeito pode ser observado visto que os cocristais apresentaram uma $SR_{\text{cocrystal}}$ menor do que a $SR_{\text{fármaco}}$, e este resultado é em decorrência da solubilização preferencial do fármaco constituinte. No entanto, para cocristais de fármacos hidrofóbicos que não são altamente solubilizados esta redução na SA não é tão pronunciada. A solubilização preferencial do fármaco constituinte por FeSSIF pode resultar em menores picos de supersaturação, de forma a sustentar as concentrações supersaturadas de fármaco e, deste modo, prevenir ou delongar a conversão para o fármaco durante a dissolução. A compreensão das interações específicas dos cocristais com surfactantes fisiologicamente relevantes possibilita a predição da solubilidade do cocrystal na presença desses surfactantes, auxiliando tanto a avaliação *in vivo*, bem como no desenvolvimento de novas formulações.

CAPÍTULO IV – SUPERSATURAÇÃO E DESEMPENHO DOS COCRISTAIS DE PIROXICAM COM COFORMADORES ÁCIDOS DURANTE A DISSOLUÇÃO EM MEIO AQUOSO E BIORRELEVANTE

5. Supersaturação e desempenho dos cocristais de piroxicam com coformadores ácidos durante a dissolução em meio aquoso e biorrelevante

5.1. INTRODUÇÃO

Uma das principais motivações para o desenvolvimento de cocristais é a melhora na solubilidade que estes materiais podem gerar, sendo a cocrystalização uma das estratégias mais poderosas utilizadas no desenvolvimento farmacêutico para melhorar a solubilidade aquosa de fármacos inerentemente insolúveis (MCNAMARA et al., 2006; BETHUNE et al., 2009; ALHALAWEH et al., 2012; CHILDS et al., 2013). Como uma forma sólida nova e diferente, as propriedades físico-químicas do cocrystal necessitam ser avaliadas visando o desenvolvimento de uma formulação viável. Dentre essas propriedades, a solubilidade e a dissolução são de interesse particular devido à sua importância na determinação da absorção oral de fármacos (AMIDON et al., 1995).

A cocrystalização de fármacos hidrofóbicos com coformadores hidrofílicos tem demonstrado melhorar a solubilidade, melhorando consequentemente a taxa de dissolução e, por fim, a absorção oral e a biodisponibilidade de fármacos pouco solúveis (MCNAMARA et al., 2006; SCHULTHEISS e NEWMAN, 2009; CHENEY et al., 2011; SMITH et al., 2011; CHILDS et al., 2013). No entanto, cocristais mais solúveis do que o fármaco são propensos a transformarem-se para a forma menos solúvel do fármaco durante a dissolução em meios aquosos, negligenciando qualquer melhoria da solubilidade (WEYNA et al., 2012; THAKURIA et al., 2013).

A taxa de conversão de um cocrystal para o fármaco constituinte depende de diversos fatores, incluindo a solubilidade do cocrystal e do fármaco, a supersaturação em relação ao fármaco, a taxa de dissolução do cocrystal e a taxa de cristalização do fármaco (ROY et al., 2012). A utilização de aditivos como surfactantes, polímeros e meios fisiologicamente relevantes têm demonstrado melhor o desempenho dos cocristais em solução por inibirem a cristalização para a forma mais estável e menos solúvel do fármaco, além de manterem a supersaturação em relação ao fármaco (HICKEY et al., 2007; ALHALAWEH et al.,

2012; ROY, 2013). Esta redução na taxa de conversão pode ser alcançada através de uma redução na SA do cocrystal, ou seja, a solubilidade do cocrystal aumenta com o aumento da concentração de agente solubilizante em solução, ao passo que a SA em relação ao fármaco ($S_{\text{cocrystal}}/S_{\text{fármaco}}$) diminui (HUANG e RODRIGUEZ-HORNEDO, 2010; 2011b; a). Tal comportamento é explicado pela solubilização preferencial do agente solubilizante pelo fármaco constituinte em relação ao coformador.

Surfactantes fisiologicamente relevantes podem afetar o índice de supersaturação e , conseqüentemente, a dissolução do cocrystal. Assim, compreender a supersaturação promovida pelos cocrystal durante a dissolução e a influência de agentes solubilizantes na inibição da cristalização do fármaco é muito importante, principalmente para cocrystal que apresentam uma SA de grande magnitude.

Os estudos apresentados neste capítulo tiveram como objetivo avaliar a relação entre a $S_{\text{cocrystal}}/S_{\text{fármaco}}$ e o comportamento do cocrystal durante a dissolução. O impacto na redução da $S_{\text{cocrystal}}/S_{\text{fármaco}}$ devido à solubilização preferencial foi avaliado particularmente em meio fisiologicamente relevante que modela o estado alimentado (FeSSIF) visto que o FeSSIF é rotineiramente utilizado durante testes de dissolução, e contém concentrações relativamente altas de NaTC e lecitina, que são conhecidos por formarem micelas que solubilizam fármacos hidrofóbicos.

5.2. METODOLOGIA

5.2.1. Materiais

Os cocrystal utilizados foram obtidos conforme descrito no capítulo II. Os reagentes utilizados (ácidos, bases, sais e solventes) foram de grau analítico. A água utilizada foi filtrada através do sistema deionizado de purificação dupla (Milli Q Plus Water System – Millipore Co., Bedford, MA, EUA).

5.2.2. Métodos

5.2.2.1. Estudos de dissolução dos cocrystal

A supersaturação promovida pelos cocrystal foi avaliada em tampão pH 5,0 e em FeSSIF. Os meios foram preparados conforme descrito no capítulo III. Previamente aos ensaios de dissolução as amostras de fármaco e cocrystal foram padronizadas em relação ao

tamanho de partícula por tamis de malha 1,18 mm. Foram adicionados 10 mg de fármaco e o equivalente a esta quantidade para cada cocristal (tabela 6) em 50 mL de cada meio. Os estudos foram conduzidos sob agitação magnética de 150 rpm a $25.0 \pm 0.2^\circ\text{C}$ em banho termostatizado. Aliquotas foram retiradas em intervalos de tempo pré-determinados e filtradas com membrana de poliamida $0,45 \mu\text{m}$. As soluções foram analisadas por CLAE, conforme metodologia descrita no capítulo III, e a fase sólida foi analisada por infravermelho (IV).

Tabela 6. Quantidades adicionadas de cada cocristal para os estudos de dissolução

Quantidades adicionadas ^a	
PRX-SAC (mg)	PRX-SLC
(mg)	
15,5	14,2

^a As quantidades descritas foram calculadas considerando a relação da *dose number* (D_0), descrita pela equação 28:

$$D_0 = \frac{M_0}{C_s V_0} \quad (28)$$

onde M_0 é referente à massa de PRX, neste caso considerou-se a dosagem dos comprimidos comercializados que é de 20 mg. Portanto, $20 \text{ mg}/250 \text{ mL} = 80 \mu\text{g}/\text{mL}$ multiplicado pela quantidade de meio utilizado (50 mL) = 4 mg. No entanto, foram utilizados 10 mg de PRX. Desta forma, o valor de M_0 considerado foi $0,2 \text{ mg}/\text{mL}$ ($10 \text{ mg}/50 \text{ mL}$). C_s corresponde a S_{PRX} em pH 5,0 ($0,016 \text{ mg}/\text{mL}$) e V_0 é o volume gástrico inicial (250 mL). Deste modo, garantiu-se que a concentração de PRX estivesse acima de sua solubilidade (12,5 vezes).

Os ensaios foram conduzidos em condições não *sink*¹, sem a utilização de grandes volumes de meio permitindo uma melhor avaliação da supersaturação gerada pelos sistemas metaestáveis estudados, bem como da precipitação da forma mais estável.

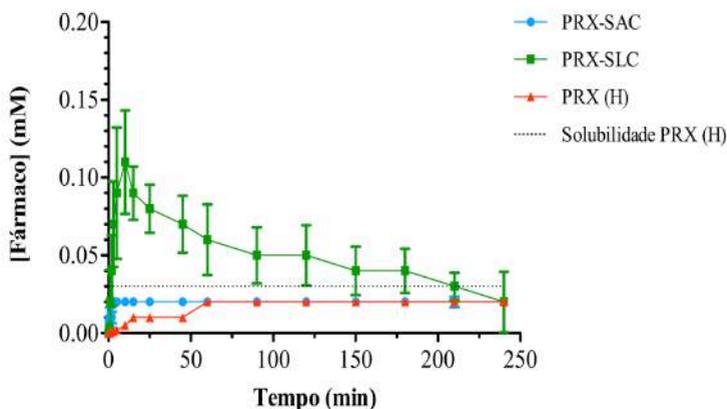
¹ condição *sink*: pode ser definida como uma quantidade de solvente não inferior a três vezes o volume de meio necessário para obter uma solução saturada do fármaco (ABDOU, 1989).

5.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.3.1. Dissolução dos cocristais e supersaturação

Conforme observado nos estudos de solubilidade, ambos cocristais obtiveram uma maior concentração de fármaco em FeSSIF quando comparado com o tampão (tabela 5), corroborando a solubilização preferencial do fármaco pelo meio biorrelevante. O cocrystal PRX-SAC apresentou uma redução na $S_{\text{cocrystal}}/S_{\text{fármaco}}$ de 1,5 vezes em FeSSIF (SA= 30) quando comparado com tampão (SA= 46). O mesmo foi observado para o cocrystal PRX-SLC que apresentou uma SA= 16 em FeSSIF e SA= 25 em tampão. A redução na SA do cocrystal diminui a força motriz para a transformação de fase e, consequentemente, diminui a cinética de cristalização do fármaco prolongando a supersaturação durante a dissolução. Deste modo não se prevê que haja uma grande diferença no perfil de dissolução em FeSSIF em comparação com o tampão aquoso para ambos os cocristais visto que a supersaturação é relativamente inalterada (1,5 vezes).

Figura 32. Perfil de dissolução do fármaco e cocristais em tampão pH 5,0.

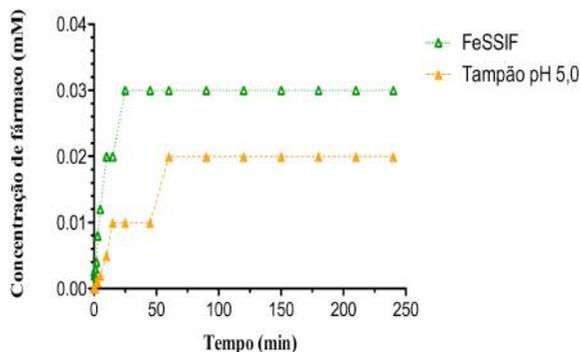


A Figura 32 apresenta a dissolução em função do tempo para o PRX (H) e cocristais em tampão pH 5,0. É possível notar um aumento das concentrações do PRX até 120 min que atinge uma concentração de 0,02 mM, que é aproximadamente o valor de solubilidade do PRX (H) em tampão pH 5,0 (0,03 mM).

Para os cocristais, podemos observar que o PRX-SAC atingiu uma concentração de 0,01 mM no primeiro minuto, obtendo uma concentração de 0,02 ao final do experimento, o que é muito abaixo da solubilidade de prevista para o cocrystal em tampão (3,78 mM) indicando que o cocrystal converteu-se para o fármaco antes do primeiro minuto, impossibilitando a detecção de sua C_{max} . O PRX-SLC atingiu uma $C_{max} = 0,10$ mM após 10 min e manteve suas concentrações de fármaco elevadas durante quase todo o período de dissolução. Ao final do experimento a fase sólida observada por IV foi PRX(H) (dados não mostrados), confirmando a conversão para ambos cocristais. O pH final foi de 4,8 para o PRX-SAC e de 4,9 para o PRX-SLC. Tais resultados sugerem que o nível de supersaturação gerado durante a dissolução está diretamente relacionado à SA. A este respeito, cocristais que apresentam uma SA elevada podem não serem capazes de manter a sua vantagem da solubilidade, ou perderem a sua vantagem da solubilidade durante a dissolução, como observado para o PRX-SAC.

O perfil do PRX (H) observado em FeSSIF apresentou uma concentração de fármaco elevada em relação ao tampão (Figura 33). Este perfil é esperado devido a solubilização preferencial do fármaco pelo FeSSIF.

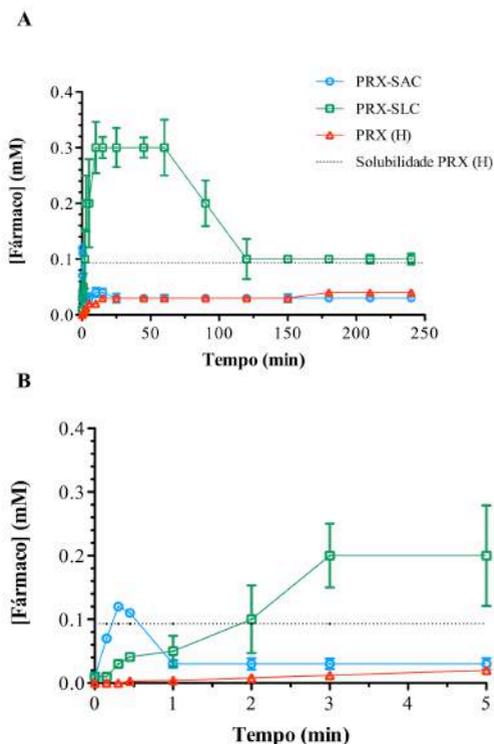
Figura 33. Perfil de dissolução do PRX (H) em FeSSIF e em tampão pH 5,0.



O perfil de dissolução para o fármaco e os cocristais em FeSSIF encontra-se na Figura 34. O PRX (H) atinge uma concentração de 0,02 mM em 15 min que se mantém até 4h. O cocrystal PRX-SAC atingiu uma $C_{max} = 0,10$ mM em 0,3 min, no entanto a supersaturação se manteve somente até 0,45 min (Figura 34 B) enquanto que o PRX-SLC atingiu uma $C_{max} = 0,32$ mM em 25 min sendo capaz de manter a

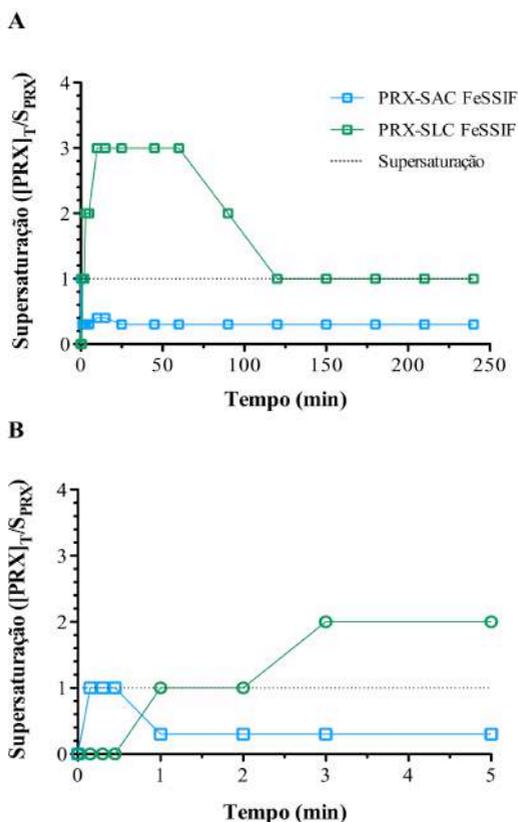
supersaturação até o final do experimento em 240 min (Figura 34 A). Acredita-se que a diferença entre as concentrações obtidas no experimento de solubilidade e dissolução, principalmente em FeSSIF, seja devido a presença de alguma impureza e decomposição do fármaco. No entanto, a realização de estudos complementares se faz necessária afim de avaliar e identificar tais compostos. Ao final do experimento a fase sólida por IV foi PRX(H) (dados não mostrados), confirmando a conversão de ambos cocristais e o pH final foi de 4,9. Os cocristais apresentaram uma maior C_{max} em FeSSIF em relação ao tampão, gerando uma supersaturação (Figura 35), no entanto, somente o PRX-SLC apresentou um perfil de supersaturação prolongado.

Figura 34. Perfil de dissolução do fármaco e dos cocristais em FeSSIF. Valor final de pH = 4.9. A figura A apresenta o perfil de dissolução durante todo o experimento (250 min). A figura B apresenta os primeiros 5 minutos, possibilitando a visualização da supersaturação gerada pelo PRX-SAC.



Conforme pode ser observado na Figura 32, o PRX-SAC converteu-se rapidamente para fármaco em tampão, não sendo possível observar a supersaturação durante a dissolução. Em FeSSIF atingiu pico de supersaturação de 1 observado antes do primeiro minuto, que imediatamente diminui à medida que o cocristal se converte em fármaco (Figura 35 B). Para o PRX-SLC uma supersaturação de 3 pode ser observada e mantém até 60 min, e, após esse período decai aproximando-se das concentrações do fármaco à medida que ocorre a conversão, no entanto, a supersaturação é mantida durante todo o experimento de dissolução (Figura 35 A).

Figura 35. Supersaturação gerada pelos cocristais em FeSSIF. Valor final de pH = 4.9. A figura A apresenta o perfil de dissolução durante todo o experimento (250 min). A figura B apresenta os primeiros 5 minutos, possibilitando a visualização da supersaturação gerada pelo PRX-SAC.



Os resultados apresentados evidenciam que em FeSSIF o cocrystal PRX-SAC é capaz de promover uma supersaturação, no entanto, não suficiente para sustentar essa vantagem na solubilidade e impedir a conversão mesmo em meio aos componentes do FeSSIF, que são capazes de inibir a nucleação ou o crescimento dos cristais de PRX. Esta precipitação de fármaco pode ser devido à elevada força motriz para a conversão, uma vez que o PRX-SAC apresenta uma maior SA. Já o PRX-SLC alcançou uma maior concentração de fármaco e uma supersaturação que foi capaz de manter-se em FeSSIF quando comparado com o tampão. O fato de não haver uma supersaturação sustentada pode ser devido ao PRX que mesmo sendo solubilizado pelo FeSSIF, justificando a maior C_{max} e a supersaturação, não é solubilizado em uma alta extensão por este meio.

5.4. CONCLUSÕES

Os resultados aqui apresentados demonstram que o índice de supersaturação (SA) se apresenta como um valioso indicador do risco de conversão do cocrystal para o fármaco. Além disso, cocrystalis que apresentam uma alta SA podem ter seu potencial para melhorar a dissolução abdicado, enquanto que uma menor SA pode ser capaz de alcançar uma maior C_{max} e AUC em relação ao fármaco. O perfil de dissolução do cocrystal PRX-SLC em FeSSIF demonstrou-se promissor por manter a supersaturação e, conseqüentemente, as concentrações de fármaco necessárias durante o tempo de absorção do PRX.

Os complexos de inclusão formados entre as β -CD e os OEs de palmarosa e anis estrelado inibiram o crescimento e desenvolvimento de *P. expansum in vitro* nas primeiras 48h, liberando os OEs ao *headspace*. Após este período, um pequeno crescimento das colônias do fungo foi observado, no entanto, devido ao aumento das concentrações dos compostos ativos, o crescimento foi inibido e o fungo inativado. Adicionados às embalagens de fundo duplo, os ICs também afetaram o desenvolvimento do bolor azul em frutos de maçãs cv. Red Delicious, mantendo os níveis de etileno próximos àqueles observados em frutos não inoculados, e também mantendo algumas propriedades físico-químicas dos frutos, tais como, massa, SST, AT, pH e FF.

Neste sentido, conclui-se que as embalagens de fundo duplo feitas de PET associadas aos ICs de palmarosa e anis estrelado podem ser alternativas comerciais viáveis ao armazenamento de frutos de maçã no pós-colheita, propiciando um aumento no tempo de prateleira dos frutos e reduzindo a podridão pelo fungo. No entanto, uma análise

sensorial faz-se necessária para detectar se os OEs modificam o sabor dos frutos.

CAPÍTULO V – INFLUÊNCIA DA UMIDADE NA FORMAÇÃO E ESTABILIDADE DOS COCRISTAIS

6. Influência da umidade na formação e estabilidade dos cocristais

6.1. INTRODUÇÃO

A presença de água e sua interação com os fármacos é criticamente importante para a estabilidade, eficácia e segurança das diferentes formas farmacêuticas. Os produtos farmacêuticos podem entrar em contato com a água durante a produção e formulação, ou em qualquer momento através da exposição à ambientes apresentem condições de umidade. A água pode interagir com os materiais cristalinos através da adsorção na superfície das partículas, absorção ou capilaridade, formação de hidrato e deliquescência. A estrutura, forma, composição e propriedades da fase cristalina contribuem para a natureza higroscópica de um cristal (GOOD et al., 2011).

Fármacos que incorporam materiais contendo água possuem o potencial de transferi-la para outros componentes os quais a estabilidade é afetada pela água (ZOGRAFI, G. G., G.; KONTNY, M.J.; MENDENHALL, D.W., 1988). Transformações de fase de produtos farmacêuticos sólidos que demonstram ser dependentes da umidade incluem as transformações anidra para hidrato, polimórficas, e amorfas para cristalina (KANENIWA, 1984; OTSUKA, 1994; PIRTTIMAKI, 1994; KESAVAN, 1996; ANDRONIS, 1997; YOSHINARI, 2002; TONG, 2004; SALAMEH, 2006). Essas transformações podem trazer problemas significativos para os produtos farmacêuticos durante o processamento e armazenamento se não forem previstas antecipadamente.

O presente capítulo traz estudos de estabilidade e formação de cocristais avaliados em diferentes condições de umidade relativa, combinados ou não com aditivo higroscópico, sendo elaborado na forma de artigo, visando a submissão à *“Molecular Pharmaceutics”*.

MOISTURE UPTAKE: COCRYSTAL FORMATION AND STABILITY

One of the main concerns during the development of pharmaceutical products is the effect of moisture on drug stability. Pharmaceutical drug products may come into contact with water during production and formulation or at any point through exposure to humid

environmental conditions, and water can compromise product safety and bioavailability by causing chemical instability and solid phase transformations. Phase transformations of pharmaceutical solids that have been shown to depend on relative humidity include anhydrous to hydrate, polymorphic, and amorphous to crystalline transformations (KANENIWA, 1984; OTSUKA, 1994; PIRTTIMAKI, 1994; KESAVAN, 1996; ANDRONIS, 1997; YOSHINARI, 2002; TONG, 2004; SALAMEH, 2006).

Solid phase transformations present significant problems for pharmaceutical drug products when not anticipated during processing and storage. Hydrate formation is a common issue in the selection of solid-state drug forms and cocrystals also have the potential to form hydrates. Hydrate formation is associated with a critical water activity that defines the activity limit below which the anhydrous form is thermodynamically stable (GOOD et al., 2011).

Moisture sorption by hygroscopic materials used in pharmaceutical formulations such as sugars, organic and inorganic salts, and polymers have been shown to form cocrystal (JAYASANKAR et al., 2007). Although cocrystals have been shown to prevent formation of hydrated API during storage at high RH (TRASK et al., 2005; TRASK, 2006). The process by which hygroscopic materials can lead to deliquescence refers to the formation of an aqueous solution by the absorption of water vapor at a characteristic relative humidity or deliquescent relative humidity (DRH) (CAMPEN, 1983). DRH is a function of the chemistry of a solid, solid phase composition, and temperature (KONTNY, 1985; CARROLL, 2002; SALAMEH, 2005). In this way, identifying the mechanisms for cocrystal formation and stability is highly important if cocrystals are to be developed as pharmaceutical products.

Since cocrystal solubility and thermodynamic stability are dependent on solution chemistry, deliquescence can lead to cocrystal nucleation and growth. Cocrystal solubility is a function of the cocrystal components in solution, meaning that cocrystal solubility decreases as the liquid becomes richer in one of the cocrystal components (NEHM et al., 2006; RODRÍGUEZ-HORNEDO et al., 2006). Considering that supersaturation is the driving force for cocrystal formation, this mechanism can generate supersaturation with respect to cocrystal by dissolving non-equivalent amounts of its components. If the required supersaturation for cocrystal nucleation is attained, then cocrystals are formed. Evidence has been presented to show increase in cocrystal formation rates with increasing solution concentration of the more

soluble reactant (JAYASANKAR et al., 2006; RODRÍGUEZ-HORNEDO et al., 2006).

The thermodynamic stability of a cocrystal relative to pure drug crystal has been shown to vary with the concentration of components in solution (NEHM et al., 2006). Solvents in which cocrystal is more soluble than pure drug exhibit a eutectic point where the cocrystal solubility is equal to the solubility of the pure drug (for 1:1 cocrystal). Above the eutectic concentration cocrystal is the thermodynamically stable form. Rapid transformation of a component to cocrystal has been shown in aqueous media for components that readily transforms to a hydrate in pure water e.g., carbamazepine (CBZ) to carbamazepine-nicotinamide (CBZ-NTC) cocrystal (RODRÍGUEZ-HORNEDO et al., 2006).

PRX has two tautomeric forms at solid state, one is a non-ionized and the other one is a zwitterionic tautomer (SCHULTHEISS e NEWMAN, 2009). Exists in three anhydrous polymorphic forms (I, II, III), being the form I commercialized for pharmaceutical use. In the presence of water crystallizes, forming a monohydrate that has a yellow coloration and zwitterionic form (BORDNER et al., 1984; VREČER et al., 1991; VREČER et al., 2003; SAGANUWAN, 2016).

Many additives are hygroscopic and sorb some level of moisture, but only certain crystalline materials exhibit deliquescence and have a DRH above which they equilibrate to form solutions that are saturated with respect to the deliquescent substance. The present study seeks to evaluate if piroxicam (PRX) cocrystals formation occurs when cocrystal components are exposed to different relative humidity (RH), combined or not with hygroscopic additive, since dissolution of cocrystal reactants in the sorbed moisture can generate the supersaturation necessary for nucleation and growth of cocrystals.

6.2. METHODOLOGY

6.2.1. Materials

All chemicals were obtained from Sigma Chemical Company (St. Louis, MO) and were of USP grade. All samples were sieved to collect particle size fractions of 45-63 μm and 106-125 μm and were characterized prior to use by X-ray powder diffraction (XRPD) and checked with the Cambridge Structural Database (CSD) simulated XRPD pattern. These fractions were used in preparing samples to study deliquescence cocrystal formation in bulk samples at constant RH. PVP K-30 was used as a deliquescent additive and the weight used was 50%.

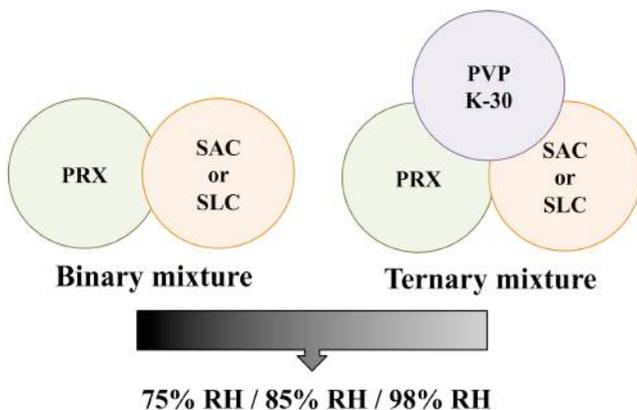
Constant RH and temperature were maintained over the course of 30 days to see if the sample reached an equilibrium moisture sorption level.

6.2.2. Methods

6.2.2.1. Bulk samples studies in RH chambers

The effects of storage RH, and the presence of deliquescent material on the rate of cocrystal formation were studied using binary mixtures of PRX (I) with saccharin (SAC) or salicylic acid (SLC) and ternary mixtures adding PVP K-30 (Figure 36). Also, cocrystal conversion to drug was evaluated using cocrystal samples in the presence and absence of PVP K-30.

Figure 36. Scheme for bulk samples studies



In these studies, the cocrystal reactant ratio in the solid phases was held constant at equimolar concentrations. Desired RH conditions during storage at 25°C were generated in glass desiccators with appropriate saturated salt solution: NaCl for 75%, KCl for 85% and K₂SO₄ for 98% (O'BRIEN, 1948). An aluminum plate with holes was suspended above the solution to hold samples, and a 1/8 in thick quartz glass lid was used to seal the chamber.

Raman spectroscopy was used to monitoring cocrystal formation and cocrystal stability. A noncontact fiber optic probe was used to collect Raman spectra through the quartz chamber lid. Spectra were collected (24h, 7, 15 and 30 days) over random areas of the sample. A time course of the change in spectral features was used to

monitor cocrystal formation through HoloReact software, from Kaiser Optical Systems (Ann Arbor, MI). The analysis region for PRX-SAC systems was $\sim 705, 1018, 1404, 1700 \text{ cm}^{-1}$ and PRX-SLC was $\sim 388, 775, 1005, 1405, 1470, 1507 \text{ cm}^{-1}$. Samples were promptly analyzed by XRPD and DSC once removed from the chambers.

6.2.2.2. Slurry studies

Slurry studies for cocrystal screening was carried out according to methods published earlier (NEHM et al., 2006; RODRÍGUEZ-HORNEDO et al., 2006). Cocrystal reactants were added to aqueous solution such that stoichiometric reactant concentrations would favor cocrystal formation. Cocrystal stability was also observed placing cocrystals into aqueous solution. The slurries suspensions were magnetic stirred continuously at room temperature (25°C). Raman spectroscopy was used to monitoring cocrystal formation and cocrystal stability with a contact probe placed into solution up to 7 days. By the end of the experiment the slurries samples were dried by vacuum filtration and promptly analyzed by XRPD and DSC.

6.2.2.3. Raman Spectroscopy

Raman spectra of solid phases were collected with an RXN1 Raman spectrometer equipped with a 785 nm laser from Kaiser Optical Systems, Inc. (Ann Arbor, MI). Crystallization in bulk samples was monitored in situ with a fiber optic noncontact probe. For slurries studies samples were monitored with a fiber optic contact probe. Acquisition conditions were optimized so that the spectra collected for bulk studies had maximum intensity around 30-40k counts. The spectra collected had a spectral resolution of 4 cm^{-1} and were collected between 100 and 3200 cm^{-1} .

6.2.2.4. Microscopy

Samples were placed into a 96-well plate. Cocrystal and cocrystal components were added into a buffer pH 5.0. Cocrystal formation and stability (conversion to drug) were monitored with a Leica DMi8 inverted microscope.

6.3. RESULTS

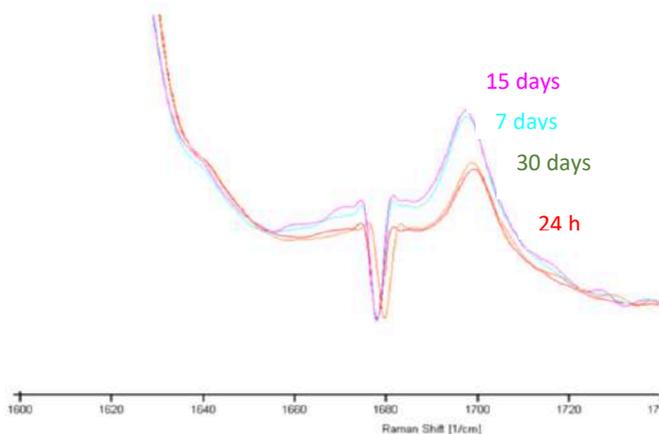
6.3.1. Cocrystallization in bulk samples

As shown in table 7 cocrystal formation was observed for binary and ternary mixtures in bulk samples. Cocrystals samples did not convert to drug at the conditions studied.

For binary blends, “PRX+SAC” mixture cocrystal formation was observed 24h at 75% RH, and cocrystal peaks were more intense after 7 days, decreasing after at 15 days and stabilizing after 30 days. At 85% RH the Raman peaks were more intense after 7 and 15 days, indicating that more cocrystals were formed. However, after 30 days, the peaks of the formed cocrystal had the same intensity as observed after 24h. At 98% RH cocrystal formation increases as time goes by, having higher peaks at 15 days that decreases at 30 days (Figure 37). At all RH is possible observe cocrystal formation by color change. A comparison between all RH shows that cocrystal formation increases as RH and days increases. However, cocrystal formation reaches a plateau that decreases by the end of 30 days. More cocrystal formation was observed within 15 days at higher RH (98%), as shown in figure 37.

For “PRX + SLC” samples, cocrystal formation was observed from 7 days on at 75% and 85% RH. At 98% RH cocrystal formation occurred 24h. Cocrystal formation was observed to be more extensive as RH increases. Besides, all RH shows an increasing in cocrystal formation as time goes by, being cocrystals peaks more intense at 30 days. Cocrystal formation is also observed by color change.

Figure 37. Raman Spectra for PRX-SAC cocrystal formation at 98% RH in bulk sample for binary mixture.



The ternary blend “PRX+SAC+PVP” showed a high cocrystal peaks intensity at 7 days, after that peaks were higher than 24h and lower than 7 days at 75% RH. Cocrystal formation was observed at 85% RH, however cocrystal peaks were very low and a decrease in peak

intensity for cocrystal peaks is observed as time goes by. At 98% RH the higher intensity of cocrystal peaks was at 15. Comparing all RH, at 24h cocrystal peaks was higher at 98% RH, showing a faster cocrystal formation as RH increases (Figure 39). Color change occurred at all RH, showing cocrystal formation.

Figure 38. Raman Spectra for PRX-SAC cocrystal formation at all RH in bulk sample for binary mixture at 15 days.

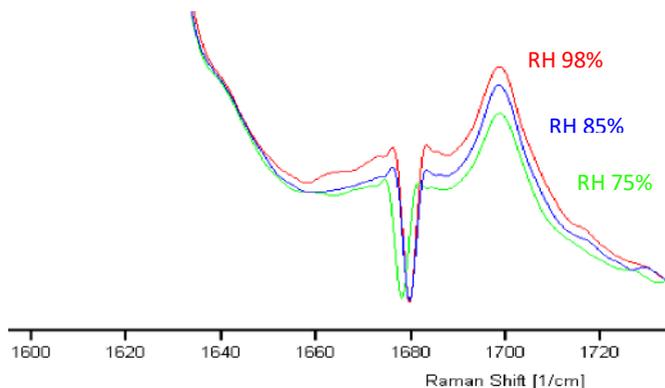
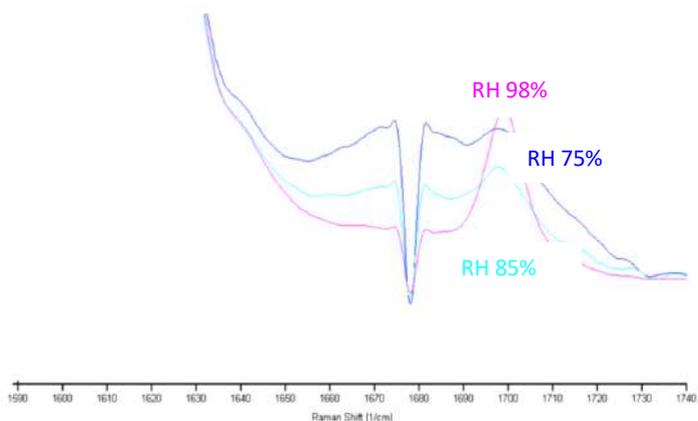


Figure 39. Raman Spectra for PRX-SAC cocrystal formation at all RH in bulk sample for ternary mixture with PVP at 24 h.



For “PRX+SLC+PVP” blend a decrease for characteristic drug peaks occurs at 30 days (dashed arrows Figure 40), however no cocrystal peaks were observed at 75% RH. At 85% RH cocrystal peaks are observed only at 15 days and had a very low intensity. Characteristic drug peaks start to get lower from 7 days on at 98% RH and cocrystal peaks are also observed. The intensity of cocrystal peaks is equal at 30 days. Color change is also observed.

Figure 40. Raman Spectra for PRX-SLC cocrystal formation at 75% RH in bulk sample for ternary mixture with PVP at 30 days.

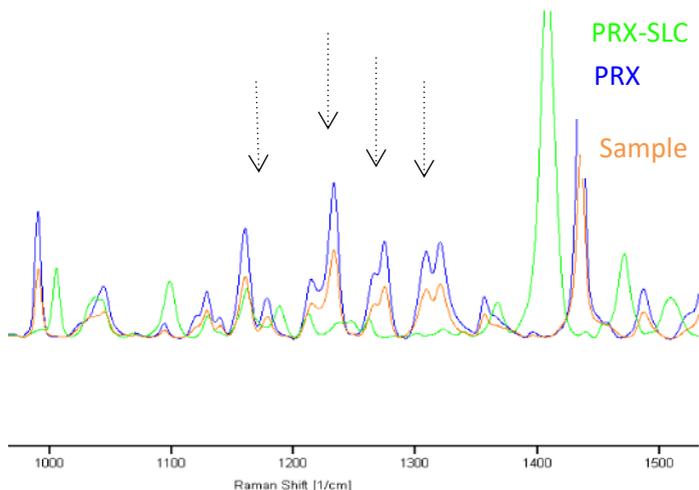
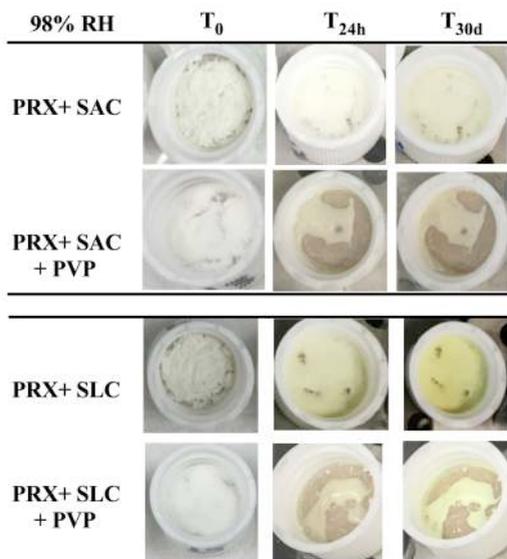


Figure 41 shows binary and ternary mixtures at 98% RH. The color change occurs due to the conversion of PRX, that is an off-white/light yellow powder, for PRX H that is yellow. Once cocrystal has the zwitterionic form, that is preventive from hydrate form, is possible to observe this change of color when cocrystal formation is happening.

Figure 41. Color change for bulk samples at 98% RH.



6.3.2. Slurry studies

Cocrystal formation was evaluated in water and buffer pH 5.0. PRX-SAC cocrystal was observed 15 and 5 min after the beginning of the experiment in water and buffer, respectively. As Figure 42 A shows, drug peaks (blue dashed circles) have same intensity 15 and 30 min and are no longer observed in 7 days, while cocrystals peaks (red dashed arrows) are observed within 7 days, showing cocrystal formation. In buffer after 5 min is possible to note cocrystal formation by the same Raman spectra for sample and pattern (Figure 42 B).

Raman spectra for PRX-SLC cocrystal screening in water (Figure 43 A) doesn't show cocrystal characteristic peaks, however, at the region of 1200 – 1650 cm⁻¹ is possible observe PRX hydrate (PRX H) formation (blue dashed arrow) after 1h and a decrease in characteristic anhydrous peaks (blue dashed circles) between 30 min and 1h, that are no longer observed at 7 days. In buffer (Figure 43 B), PRX H (blue dashed arrow) and cocrystal characteristic peaks (red dashed arrows) are observed at the region ~ 1003,1408, 1470-1510 cm⁻¹ after 5

min that increases as time goes by, while anhydrous drug peaks decrease (blue dashed circles) and are no longer observed at 7 days.

Figure 42. Raman spectra for PRX-SAC cocrystal screening by slurry in (A) water and (B) buffer pH 5.0. Final pH is 2.5 and 2.8, respectively.

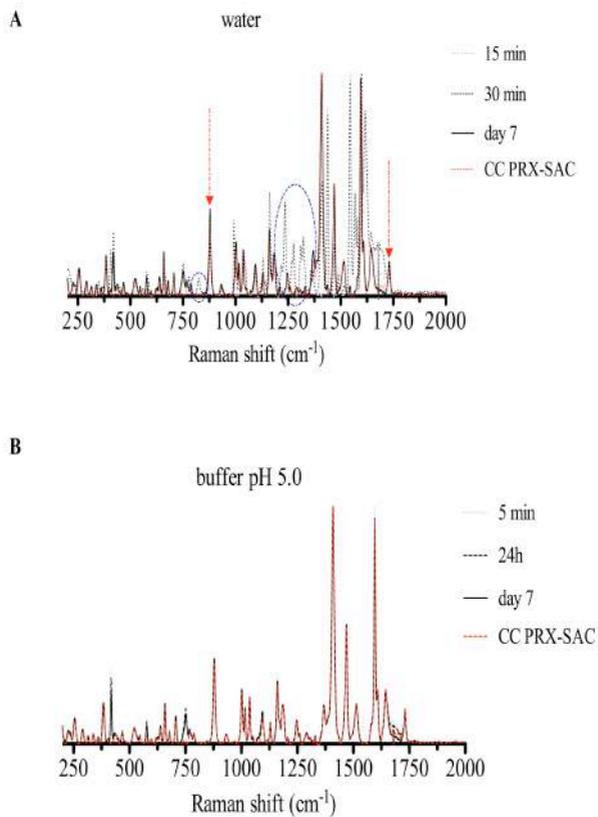
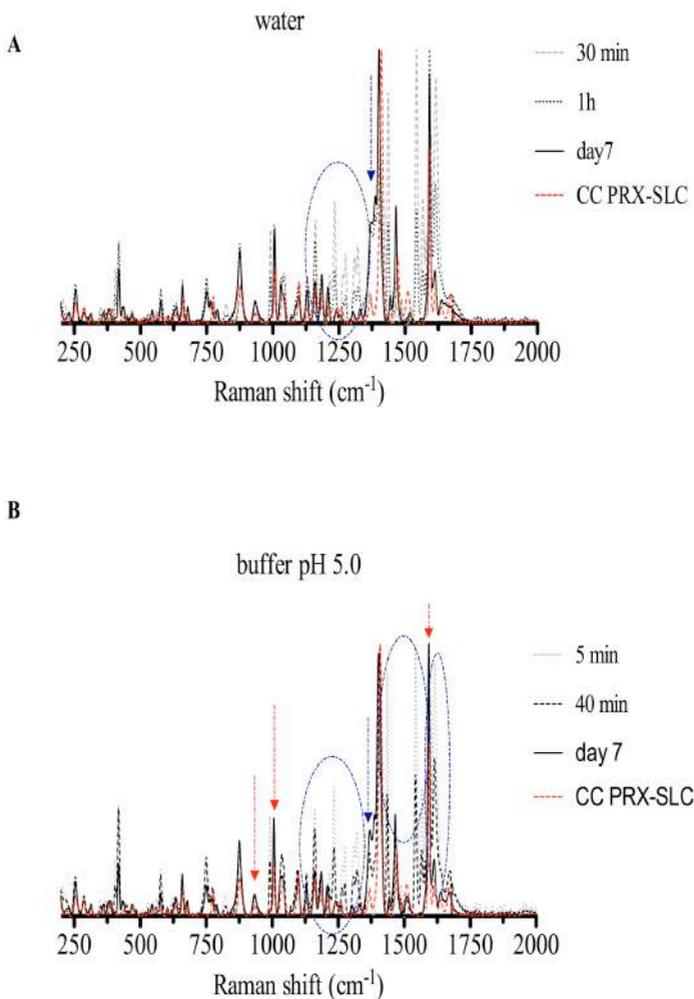


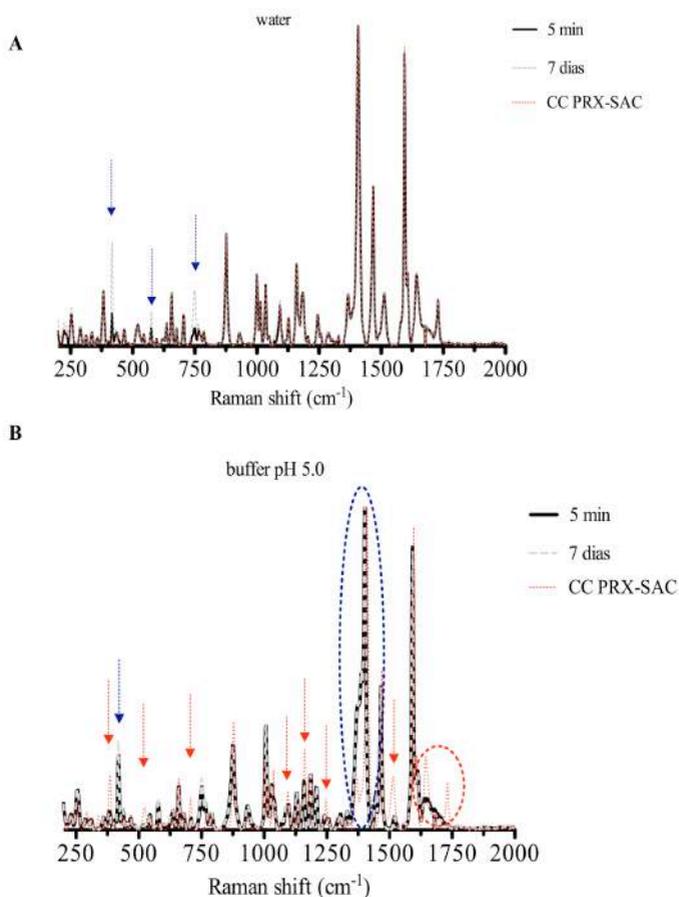
Figure 43. Raman spectra for PRX-SLC cocrystal screening by slurry in (A) water and (B) buffer pH 5.0. Final pH is 3.3 and 4.5, respectively.



Cocrystal stability was also evaluated at the same conditions used for cocrystal screening. Conversion to drug was analyzed and PRX-SAC does not convert completely to drug in water. Raman spectra show only a few polymorphic drug peaks that increases at 7 days, but

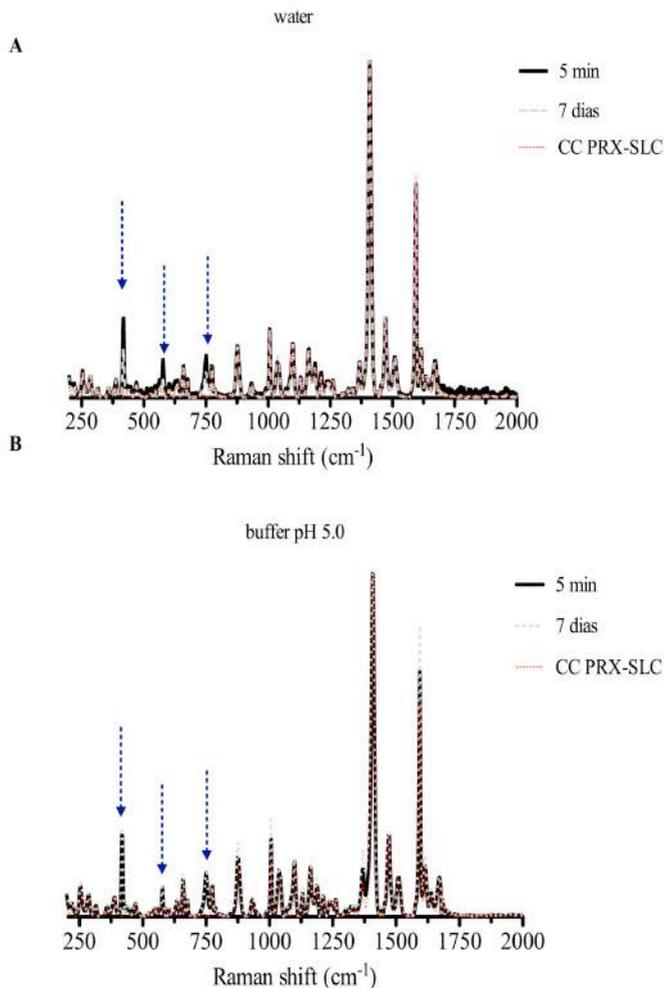
the sample spectra are pretty the same as the cocrystal spectra (Figure 44 A). But as shown in Figure 44 B at pH 5.0 is possible observing conversion to drug 5 min after the beginning of the experiment characterized by hydrate formation (blue circle), anhydrous peaks (blue arrows), a decrease (red arrows) and absence of characteristic cocrystal peaks (red circle).

Figure 44. Raman spectra for PRX-SAC cocrystal conversion in (A) water and (B) buffer pH 5.0. Final pH is 2.4 and 3.6, respectively.



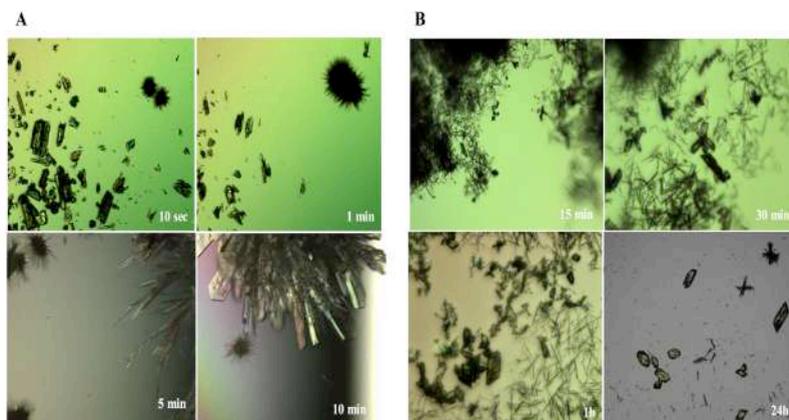
Raman spectra for PRX-SLC cocrystal conversion in water shows polymorphic drug peaks, however, these peaks decrease at 7 days, as can be observed in Figure 45 A. The same profile is observed in pH 5.0 (Figure 45 B), but drug peaks are more intense at 7 days. Both conditions showed that cocrystal does not convert completely.

Figure 45. Raman spectra for PRX-SLC cocrystal conversion in (A) water and (B) buffer pH 5.0. Final pH is 2.7 and 4.6, respectively.



Microscopy studies for PRX-SLC cocrystal formation and conversion in buffer pH 5.0 are shown in Figure 46 (A). These studies shown that cocrystal formation start very fast (10 seconds) and increase as the cocrystal components are consumed. First the unstable form, that has a needle form, is formed and then transforms to the second and stable form that is a crystalline cubic form. Cocrystal conversion to drug is showed in Figure 46 (B). After 15 min is possible see conversion is happening, however cocrystal is the predominant form. At 24h drug is the major form observed. For PRX-SAC cocrystal formation and conversion to drug is also observed, however, at the conditions studied, the growth of crystals is slower than for PRX-SLC (data no shown).

Figure 46. Microscopy studies for PRX-SLC (A) cocrystal formation and (B) cocrystal conversion to drug.



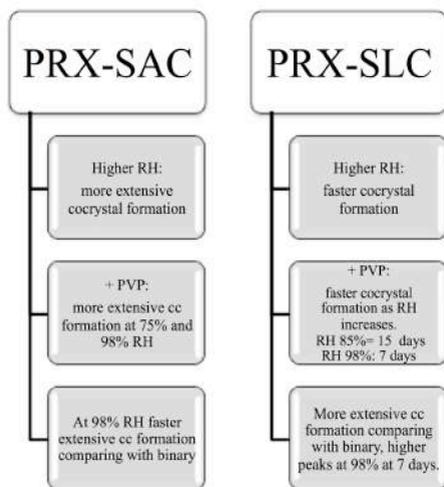
6.4. DISCUSSION

The results found shown cocrystal formation by interaction with water for binary and ternary mixtures, even with an API that readily form hydrate during storage or by slurry conversion in water. Previous studies have shown cocrystal formation by moisture sorption of solid mixtures containing cocrystal reactants (JAYASANKAR et al., 2007). They are formed by a similar mechanism of reaction crystallization. The mechanism involves: moisture uptake, dissolution, cocrystal nucleation and growth. Amorphous polymers such as polyvinylpyrrolidone (PVP) has also been shown to form cocrystal (GOOD et al., 2011). PVP sorbs moisture across a wide range of RH conditions. The underlying

mechanism for this process is the increased mobility of water and PVP leading to more effective dissolution of components and higher supersaturation with respect to cocrystal.

For PRX-SAC cocrystals the increase in RH resulted in a more extensive cocrystal formation. However, only after 15 days was possible to observe higher peaks at higher RH (98%). The presence of deliquescent component resulted in a faster and more extensive cocrystal formation. At 24h at higher RH (98%) cocrystal peaks of ternary mixtures were higher than those from binary mixtures. But at 7 days samples with PVP at lower RH (75%) showed a higher cocrystal peak, while for 85% and 98% cocrystal peaks decreases. For PRX-SLC cocrystals, the increase in RH showed a faster cocrystal formation. At 24h at higher RH (98%) cocrystal formation is observed while at 85 and 75% RH cocrystal formation occurs only after 7 days. For ternary mixture with PVP is possible observe a faster cocrystal formation as RH increases. At lower RH (75%) cocrystal formation is observed only at 30 days, while at 98% occurs at 7 days. Also, a more extensive cocrystal formation can be observed by the presence of higher peaks intensity. Comparing with binary mixtures, the presence of deliquescent resulted in a more extensive, but not faster cocrystal formation. Peaks were higher at higher RH (98%), but cocrystal formation is observed after 7 days, while for binary mixtures were at 24h. Figure 47 shows a simplified diagram with the bulk samples results.

Figure 47. Diagram for bulk samples results.



The ability of a deliquescent material to generate cocrystals depends on its potency for moisture uptake and on its ability to modify the mode and rate of nucleation. Generally, one expects the amount of moisture uptake to control the transformation rate based on its temporal and spatial distribution. Low levels of deliquescent additive and low moisture uptake will have the effect of reducing the regions of deliquescence. Consequently, small domains of supersaturation can develop in a liquid phase that is not uniformly distributed throughout the sample leading to isolated regions of cocrystal formation. In this case high supersaturations are initially achieved and transformation rate to cocrystal is initially fast, but the rate will slow or even level off before extensive conversion. This mechanism explains the cocrystal formation for both systems at lower RH 75%.

High levels of moisture sorption allow for greater exposure of reactants to the crystallization medium and to larger extent of cocrystal formation during initial time period, provided the kinetics and distribution of moisture sorption maintain adequate supersaturation for cocrystal formation. At higher RH (98%) this behavior is observed, and a faster and more extensive conversion occurs.

These results indicate that for low RH the transformation is occurring at relatively low moisture uptakes where solute transport tends to be limited to small domains of liquid phase. When high amounts of moisture uptake lead to low supersaturation, saturation, or undersaturation with respect to cocrystal, consequently slow, prevent, or reverse the transformation to cocrystal. High moisture uptake levels are associated with the hygroscopic nature of the blend components, the amount of hygroscopic or deliquescent additive, and high RH values above DRH. SLC is hygroscopic, while SAC is not. This can explain the decreases of PRX-SAC cocrystals peaks for ternary mixtures at 85% and 98% RH.

The cocrystal formation observed during storage at RH studied indicates that cocrystal nucleation and growth rates were faster than the rate of hydrate formation under the conditions here evaluated. The stability of cocrystal is also confirmed by the lack of transformation to single components or hydrates thereof.

Cocrystal formation during deliquescence is also dependent on the properties of cocrystal reactants, cocrystal, and solution chemistry. Reactant properties that increase solution concentrations in the sorbed moisture such as dissolution rate and solubility are expected to increase the rate of transformation to cocrystal as shown by the PRX-SAC cocrystal formation rate relative to PRX-SLC.

Slurries studies shown that slurring the reactants in aqueous solutions can form piroxicam cocrystals with SAC and SLC. However, at higher water contents, or lower solubility advantage, lower supersaturation levels will lead to slower cocrystal formation, as observed for PRX-SAC and PRX-SLC cocrystals. At even higher water content, the cocrystal can transform to drug. However, in buffer pH 5.0, here cocrystal solubility advantage is higher, cocrystal formation occurs faster than in water. When cocrystal solubility is higher than the drug solubility and solution concentrations of reactants reach values below the transition point, cocrystal can transform to single component crystal or hydrate of reactant. Both system studies are more soluble than pure drug, and even they can convert to drug in water they can be formed in water at high concentrations of cofomer relative to drug. The highly soluble cocrystal requires a higher cofomer concentration to generate supersaturation with respect to cocrystal at stoichiometric conditions.

6.5. CONCLUSION

This work demonstrates that moisture sorption can lead to the formation of cocrystal in physical mixtures. The presence of PVP contributes to the formation of cocrystal. Piroxicam hydrate was not observed under the conditions studied. Cocrystal solubility dependence on aqueous solution composition and chemistry are good predictors of cocrystal formation and stability during deliquescence. Also, these findings have an important implication to design formulation, the selection of additives and predict conditions that will preserve cocrystals.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente trabalho buscou compreender a influência do pH na solubilidade dos cocrystalis de piroxicam, bem como a solubilização dos cocrystalis por agentes fisiologicamente relevantes baseado no equilíbrio que descreve as interações dos constituintes do cocrystal em solução. Modelos matemáticos que consideram as constantes de equilíbrio relevantes para o cocrystal, fármaco e coformador foram derivados visando prever a solubilidade do cocrystal em meio aquoso e em FeSSIF a partir do K_{sp} medido em tampão aquoso, ionização (K_a) e solubilização micelar (K_s) dos componentes do cocrystal em diferentes valores de pH. Estes modelos possibilitaram a predição da solubilidade do cocrystal ($S_{cocrystal}$) nos meios avaliados, bem como a razão de solubilização ($SR_{cocrystal}$) em FeSSIF a partir do conhecimento da solubilização do fármaco. Os modelos utilizados apresentaram um excelente poder preditivo visto que os valores encontrados experimentalmente estavam de acordo com os preditos.

Os resultados aqui obtidos demonstram que o pH se apresenta como uma variável determinante na obtenção da solubilidade do cocrystal e das condições de solução onde o cocrystal é termodinamicamente estável. Os cocrystalis foram mais solúveis do que o fármaco, e a medida que o pH aumenta esta vantagem na solubilidade torna-se mais pronunciada. Quando avaliados em meio biorrelevante, os cocrystalis apresentaram uma menor vantagem na solubilidade ($S_{cocrystal}/S_{fármaco}$) em FeSSIF quando comparado com tampão aquoso. No entanto, cocrystalis que apresentam uma alta SA podem ter seu potencial para melhorar a dissolução abdicado, enquanto cocrystalis que apresentam uma menor SA podem ser capazes de alcançar uma maior C_{max} em relação ao fármaco. Ainda, o índice de supersaturação demonstrou ser um valioso indicador do risco de conversão do cocrystal para o fármaco.

Uma compreensão completa dos mecanismos de solubilidade e dissolução dos cocrystalis não só ajuda no desenvolvimento da formulação, mas também fornece uma melhor perspectiva da absorção oral de fármacos a partir dos sólidos cocrystalinos. Além disso, embora seja esperado que não aja alteração na permeabilidade de um fármaco disponibilizado como cocrystal a presença do coformador pode influenciar, sendo necessário uma maior compreensão. Assim, a realização de trabalhos adicionais se faz necessária a fim de compreender plenamente o potencial destes cocrystalis de melhorar a absorção oral e biodisponibilidade dos fármacos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

AITIPAMULA, S. et al. Polymorphs, Salts, and Cocrystals: What's in a Name? **Crystal Growth & Design**, v. 12, n. 5, p. 2147-2152, 2012.

ALHALAWEH, A.; ROY, L.; RODRIGUEZ-HORNEDO, N.; VELAGA, S. P. pH-Dependent Solubility of Indomethacin-Saccharin and Carbamazepine-Saccharin Cocrystals in Aqueous Media. **Molecular Pharmaceutics**, v. 9, n. 9, p. 2605-2612, 2012.

ALLESO, M.; VELAGA, S.; ALHALAWEH, A.; CORNETT, C.; RASMUSSEN, M. A.; VAN DEN BERG, F.; DE DIEGO, H. L.; RANTANEN, J. Near-infrared spectroscopy for cocrystal screening. A comparative study with Raman spectroscopy. **Analytical Chemistry**, v. 80, n. 20, p. 7755-7764, 2008.

ALMARSSON, O.; ZAWOROTKO, M. J. Crystal engineering of the composition of pharmaceutical phases. Do pharmaceutical co-crystals represent a new path to improved medicines? **Chemical Communications**, n. 17, p. 1889-1896, 2004.

AMIDON, G. L.; LENNERNAS, H.; SHAH, V. P.; CRISON, J. R. A Theoretical Basis for a Biopharmaceutic Drug Classification: The Correlation of *in Vitro* Drug Product Dissolution and *in Vivo* Bioavailability. **Pharmaceutical Research**, v. 12, n. 3, p. 413-420, 1995.

ANDO, G. A.; LOMBARDINO, J. G. Piroxicam--a literature review of new results from laboratory and clinical studies. **European journal of rheumatology and inflammation**, v. 6, n. 1, p. 3-23, 1983.

ANDRONIS, V. Y., M.; Zografi, G. Effects of Sorbed Water on the Crystallization of Indomethacin from the Amorphous State. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 86, p. 346-351, 1997.

AVDEEF, A.; VOLOBOY, D.; FOREMAN, A. 5.17 - Dissolution and Solubility. In: TRIGGLE, J. B. T. J. (Ed.). **Comprehensive Medicinal Chemistry II**. Oxford: Elsevier, 2007. p.399-423.

BABU, N. J.; SANPHUI, P.; NANGIA, A. Crystal Engineering of Stable Temozolomide Cocrystals. **Chemistry-an Asian Journal**, v. 7, n. 10, p. 2274-2285, 2012.

BAKATSELOU, V.; OPPENHEIM, R. C.; DRESSMAN, J. B. Solubilization and Wetting Effects of Bile-Salts on the Dissolution of Steroids. **Pharmaceutical Research**, v. 8, n. 12, p. 1461-1469, 1991.

BASAVOJU, S.; BOSTRÖM, D.; VELAGA, S. Indomethacin–Saccharin Cocrystal: Design, Synthesis and Preliminary Pharmaceutical Characterization. **Pharmaceutical Research**, v. 25, n. 3, p. 530-541, 2008.

BERNHARD, E.; ZIMMERMAN, F. Contribution to the understanding of oxicam ionization constants. **Arzneimittel-Forschung/Drug Research**, v. 34, n. 6, p. 647-648, 1984.

BERRY, D. J. et al. Applying hot-stage microscopy to co-crystal screening: A study of nicotinamide with seven active pharmaceutical ingredients. **Crystal Growth & Design**, v. 8, n. 5, p. 1697-1712, 2008.

BERTOLUZZA, A.; ROSSI, M.; TADDEI, P.; REDENTI, E.; ZANOL, M.; VENTURA, P. FT-Raman and FT-IR studies of 1-2.5 piroxicam- β -cyclodextrin inclusion compound. **Journal of Molecular Structure**, v. 480-481, p. 535-539, 1999.

BETHUNE, S. J.; HUANG, N.; JAYASANKAR, A.; RODRIGUEZ-HORNEDO, N. Understanding and Predicting the Effect of Cocrystal Components and pH on Cocrystal Solubility. **Crystal Growth & Design**, v. 9, n. 9, p. 3976-3988, 2009.

BHATT, P. M.; RAVINDRA, N. V.; BANERJEE, R.; DESIRAJU, G. R. Saccharin as a salt former. Enhanced solubilities of saccharinates of active pharmaceutical ingredients. **Chemical Communications**, n. 8, p. 1073-1075, 2005.

BLAGDEN, N.; COLESB, S. J.; BERRY, D. J. Pharmaceutical co-crystals - are we there yet? **Crystengcomm**, v. 16, n. 26, p. 5753-5761, 2014.

BOND, A. D. Fundamental Aspects of Salts and Co-crystals. **Pharmaceutical Salts and Co-Crystals**, n. 16, p. 9-28, 2011.

BORDNER, J.; RICHARDS, A.; WEEKS, P.; WHIPPLE, E. B. Piroxicam Monohydrate: a Zwitterionic Form C₁₅H₁₃N₃O₄S.H₂O. **Acta Crystallographica Section C-Structural Chemistry**, v. C40, p. 989-990, 1984.

BRAGA, D.; GIAFFREDA, S. L.; GREPIONI, F.; CHIEROTTI, M. R.; GOBETTO, R.; PALLADINO, G.; POLITO, M. Solvent effect in a "solvent free" reaction. **Crystengcomm**, v. 9, n. 10, p. 879-881, 2007.

BRAGA, D.; GIAFFREDA, S. L.; RUBINI, K.; GREPIONI, F.; CHIEROTTI, M. R.; GOBETTO, R. Making crystals from crystals: three solvent-free routes to the hydrogen bonded co-crystal between 1,1'-di-pyridyl-ferrocene and anthranilic acid. **Crystengcomm**, v. 9, n. 1, p. 39-45, 2007.

BRITAIN, H. G.; BOGDANOWICH, S. J.; BUGAY, D. E.; DEVINCENTIS, J.; LEWEN, G.; NEWMAN, A. W. Physical Characterization of Pharmaceutical Solids. **Pharmaceutical Research**, v. 8, n. 8, p. 963-973, 1991.

BUGAY, D. E. Solid-State Nuclear-Magnetic-Resonance Spectroscopy - Theory and Pharmaceutical Applications. **Pharmaceutical Research**, v. 10, n. 3, p. 317-327, 1993.

CAMPEN, L. A., G.L.; Zografi, G. Moisture Sorption Kinetics for Water-Soluble Substances I: Theoretical Considerations of Heat Transport Control. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 72, p. 1381-1388, 1983.

CAREY, M. C.; SMALL, D. M. Micelle Formation by Bile Salts Physical-Chemical and Thermodynamic Considerations. **Archives of Internal Medicine**, v. 130, n. 4, p. 506-527, 1972.

CARROLL, S. C., L.; Wolery, T. J. Deliquescence of NaCl-NaNO₃, KNO₃-NaNO₃, and NaCl-KNO₃ Salt Mixtures from 90 to 120 Degrees C. **Geochemical Transactions**, v. 6, p. 19-30, 2002.

CHADHA, R.; BHANDARI, S.; HANEEF, J.; KHULLAR, S.; MANDAL, S. Cocrystals of telmisartan: characterization, structure elucidation, in vivo and toxicity studies. **Crystengcomm**, v. 16, n. 36, p. 8375-8389, 2014.

CHADWICK, K.; DAVEY, R.; CROSS, W. How does grinding produce co-crystals? Insights from the case of benzophenone and diphenylamine. **Crystengcomm**, v. 9, n. 9, p. 732-734, 2007.

CHARMAN, W. N.; PORTER, C. J. H.; MITHANI, S.; DRESSMAN, J. B. Physicochemical and physiological mechanisms for the effects of food on drug absorption: The role of lipids and pH. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 86, n. 3, p. 269-282, 1997.

CHENEY, M. L.; SHAN, N.; HEALEY, E. R.; HANNA, M.; WOJTAS, L.; ZAWOROTKO, M. J.; SAVA, V.; SONG, S.; SANCHEZ-RAMOS, J. R. Effects of Crystal Form on Solubility and Pharmacokinetics: A

Crystal Engineering Case Study of Lamotrigine. **Crystal Growth & Design**, v. 10, p. 394-405, 2010.

CHENEY, M. L.; WEYNA, D. R.; SHAN, N.; HANNA, M.; WOJTAS, L.; ZAWOROTKO, M. J. Coformer selection in pharmaceutical cocrystal development: A case study of a meloxicam aspirin cocrystal that exhibits enhanced solubility and pharmacokinetics. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 100, n. 6, p. 2172-2181, 2011.

CHERUKUVADA, S.; NANGIA, A. Polymorphism in an API ionic liquid: ethambutol dibenzoate trimorphs. **Crystengcomm**, v. 14, n. 23, p. 7840-7843, 2012.

CHIARELLA, R. A.; DAVEY, R. J.; PETERSON, M. L. Making Co-Crystals The Utility of Ternary Phase Diagrams. **Crystal Growth & Design**, v. 7, n. 7, p. 1223-1226, 2007.

CHILDS, S. L.; CHYALL, L. J.; DUNLAP, J. T.; SMOLENSKAYA, V. N.; STAHLY, B. C.; STAHLY, G. P. Crystal Engineering Approach to Forming Cocrystals of Amine Hydrochlorides with Organic Acids. Molecular Complexes of Fluoxetine Hydrochloride with Benzoic, Succinic, and Fumaric Acids. **Journal of American Chemical Society**, v. 126, p. 13335-13342, 2004.

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

CHILDS, S. L.; KANDI, P.; LINGIREDDY, S. R. Formulation of a Danazol Cocrystal with Controlled Supersaturation Plays an Essential Role in Improving Bioavailability. **Molecular Pharmaceutics**, v. 10, n. 8, p. 3112-3127, 2013.

CHILDS, S. L.; RODRIGUEZ-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. 856-864, 2008.

DAVID R. WEYNA; TANISE SHATTOCK; PEDDY VISHWESHWAR; ZAWOROTKO, M. J. Synthesis and Structural Characterization of Cocrystals and Pharmaceutical Cocrystals: Mechanochemistry vs Slow Evaporation from Solution **Crystal Growth & Design**, v. 9, n. 2, p. 1106-1123, 2009.

DAWSON, R. M. C. **Data for biochemical research**. Oxford: Clarendon Press, 1959. 299 p.

DELORI, A.; FRISCIC, T.; JONES, W. The role of mechanochemistry and supramolecular design in the development of pharmaceutical materials. **Crystengcomm**, v. 14, n. 7, p. 2350-2362, 2012.

DESIRAJU, G. R. Supramolecular Synthons in Crystal Engineering - a New Organic-Synthesis. **Angewandte Chemie-International Edition in English**, v. 34, n. 21, p. 2311-2327, 1995.

ETTER, M. C. Encoding and decoding hydrogen-bond patterns of organic compounds. **Accounts of Chemical Research**, v. 23, n. 4, p. 120-126, 1990.

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

FÁBIÁN, L. s. Cambridge Structural Database Analysis of Molecular Complementarity in Cocrystals. **Crystal Growth & Design**, v. 9, n. 3, p. 1436-1443, 2009.

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

FLEISCHMAN, S. G.; KUDUVA, S. S.; MCMAHON, J. A.; MOULTON, B.; BAILEY WALSH, R. D.; RODRÍGUEZ-HORNEDO, N.; ZAWOROTKO, M. J. Crystal Engineering of the Composition of Pharmaceutical Phases: Multiple-Component Crystalline Solids Involving Carbamazepine. **Crystal Growth & Design**, v. 3, n. 6, p. 909-919, 2003.

FRISCIC, T.; CHILDS, S. L.; RIZVI, S. A. A.; JONES, W. The role of solvent in mechanochemical and sonochemical cocrystal formation: a solubility-based approach for predicting cocrystallisation outcome. **Crystengcomm**, v. 11, n. 3, p. 418-426, 2009.

FRISCIC, T.; JONES, W. Recent Advances in Understanding the Mechanism of Cocrystal Formation via Grinding. **Crystal Growth & Design**, v. 9, n. 3, p. 1621-1637, 2009.

FRISCIC, T.; TRASK, A. V.; JONES, W.; MOTHERWELL, W. D. Screening for inclusion compounds and systematic construction of three-component solids by liquid-assisted grinding. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 45, n. 45, p. 7546-7550, 2006.

GADADE, D. D.; PEKAMWAR, S. S. Pharmaceutical Cocrystals-Regulatory and Strategic Aspects, Design and Development. **Advanced Pharmaceutical Bulletin**, v. 6, n. 4, p. 479-494, 2016.

GALIA, E.; NICOLAIDES, E.; HORTER, D.; LOBENBERG, R.; REPPAS, C.; DRESSMAN, J. B. Evaluation of various dissolution media for predicting in vivo performance of class I and II drugs. **Pharmaceutical Research**, v. 15, n. 5, p. 698-705, 1998.

GIRON, D. Applications of thermal analysis and coupled techniques in pharmaceutical industry. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 68, n. 2, p. 335-357, 2002.

GOOD, D. Solubility Advantage of Pharmaceutical Cocrystals. **Crystal Growth & Design**, 2008.

GOOD, D.; MIRANDA, C.; RODRIGUEZ-HORNEDO, N. Dependence of cocrystal formation and thermodynamic stability on moisture sorption by amorphous polymer. **Crystengcomm**, v. 13, n. 4, p. 1181-1189, 2011.

GOOD, D. J.; RODRIGUEZ-HORNEDO, N. Solubility Advantage of Pharmaceutical Cocrystals. **Crystal Growth & Design**, v. 9, n. 5, p. 2252-2264, 2009.

GOOD, D. J.; RODRIGUEZ-HORNEDO, N. Cocrystal Eutectic Constants and Prediction of Solubility Behavior. **Crystal Growth & Design**, v. 10, n. 3, p. 1028-1032, 2010.

GROBELNY, P.; MUKHERJEE, A.; DESIRAJU, G. R. Drug-drug cocrystals: Temperature-dependent proton mobility in the molecular complex of isoniazid with 4-aminosalicylic acid. **Crystengcomm**, v. 13, n. 13, p. 4358-4364, 2011.

HARRIS, K. D. M.; TREMAYNE, M.; KARIUKI, B. M. Contemporary advances in the use of powder X-ray diffraction for structure determination. **Angewandte Chemie-International Edition**, v. 40, n. 9, p. 1626-1651, 2001.

HARRIS, R. K. NMR crystallography: the use of chemical shifts. **Solid State Sciences**, v. 6, n. 10, p. 1025-1037, 2004.

HICKEY, M. B. et al. Performance comparison of a co-crystal of carbamazepine with marketed product. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 67, n. 1, p. 112-119, 2007.

HORTER, D.; DRESSMAN, J. B. Influence of physicochemical properties on dissolution of drugs q in the gastrointestinal tract. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 46, p. 75-87, 2001.

HUANG, N.; RODRIGUEZ-HORNEDO, N. pH and Micellar Solubilization Effects on Cocystal Behavior. **Poster presentation at the 2009 AAPS Annual Meeting and Exposition**, v. Los Angeles, CA, n. November 8-12, p. Poster T3327, 2009.

HUANG, N.; RODRIGUEZ-HORNEDO, N. Effect of Micelliar Solubilization on Cocystal Solubility and Stability. **Crystal Growth & Design**, v. 10, n. 5, p. 2050-2053, 2010.

HUANG, N.; RODRIGUEZ-HORNEDO, N. Engineering Cocystal Solubility, Stability, and pH(max) by Micellar Solubilization. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 100, n. 12, p. 5219-5234, 2011a.

HUANG, N.; RODRIGUEZ-HORNEDO, N. Engineering cocystal thermodynamic stability and eutectic points by micellar solubilization and ionization. **Crystengcomm**, v. 13, n. 17, p. 5409-5422, 2011b.

JAIN, A.; YANG, G.; YALKOWSKY, S. H. Estimation of Melting Points of Organic Compounds. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 43, p. 7618-7621, 2004.

JANTRATID, E.; JANSSEN, N.; REPPAS, C.; DRESSMAN, J. B. Dissolution media simulating conditions in the proximal human gastrointestinal tract: an update. **Pharmaceutical Research**, v. 25, n. 7, p. 1663-1676, 2008.

JAYASANKAR, A.; GOOD, D. J.; RODRIGUEZ-HORNEDO, N. Mechanisms by which moisture generates cocrystals. **Molecular Pharmaceutics**, v. 4, n. 3, p. 360-372, 2007.

JAYASANKAR, A.; REDDY, L. S.; BETHUNE, S. J.; RODRIGUEZ-HORNEDO, N. Role of Cocrystal and Solution Chemistry on the Formation and Stability of Cocrystals with Different Stoichiometry. **Crystal Growth & Design**, v. 9, n. 2, p. 889-897, 2009.

JAYASANKAR, A.; SOMWANGTHANAROJ, A.; SHAO, Z. J.; RODRIGUEZ-HORNEDO, N. Cocrystal formation during cogrinding and storage is mediated by amorphous phase. **Pharmaceutical Research**, v. 23, n. 10, p. 2381-2392, 2006.

JOHNSON, S. L.; RUMON, K. A. Infrared Spectra of Solid 1-1 Pyridine-Benzoic Acid Complexes Nature of Hydrogen Bond as a Function of Acid-Base Levels in Complex. **Journal of Physical Chemistry**, v. 69, n. 1, p. 74-&, 1965.

KANENIWA, N. Y., T.; Watari, N.; Otsuka, M. Hygroscopicity of Carbamazepine Crystalline Powders. **Yakugaku Zasshi**, v. 104, p. 184-190, 1984.

KARKI, S.; FRISCIC, T.; JONES, W. Control and interconversion of cocrystal stoichiometry in grinding: stepwise mechanism for the formation of a hydrogen-bonded cocrystal. **Crystengcomm**, v. 11, n. 3, p. 470-481, 2009.

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

KESAVAN, J. G. P., G.E. Solid-State Stability of Theophylline Anhydrous in Theophylline Anhydrous-Polyvinylpyrrolidone Physical

Mixtures. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 22, p. 189-199, 1996.

KOGERMANN, K.; AALTONEN, J.; STRACHAN, C. J.; POLLANEN, K.; HEINAMAKI, J.; YLIRUUSI, J.; RANTANEN, J. Establishing quantitative in-line analysis of multiple solid-state transformations during dehydration. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 97, n. 11, p. 4983-4999, 2008.

KONTNY, M. J. Z., G. Moisture Sorption Kinetics for Water-Soluble Substances IV: Studies with Mixtures of Solids. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 74, p. 124-127, 1985.

KUMINEK, G.; CAO, F.; ROCHA, A. B. O.; CARDOSO, S. G.; RODRIGUEZ-HOMEDO, N. Cocrystals to facilitate delivery of poorly soluble compounds beyond-rule-of-5. **Advanced Drug Delivery Reviews**, 2016a.

KUMINEK, G.; RODRIGUEZ-HORNEDO, N.; SIEDLER, S.; ROCHA, H. V. A.; CUFFINI, S. L.; CARDOSO, S. G. How cocrystals of weakly basic drugs and acidic cofomers might modulate solubility and stability. **Chemical Communications**, 2016b.

LIM, J.; JANG, S.; CHO, H. K.; SHIN, M. S.; KIM, H. Solubility of salicylic acid in pure alcohols at different temperatures. **The Journal of Chemical Thermodynamics**, v. 57, p. 295-300, 2013.

LIPERT, M. P. Predicting the Influence of Drug Solubilizing Agents on Cocrystal Solubility, Stability, and Transition Points (Doctoral Dissertation). **University of Michigan**, 2015.

LIPERT, M. P.; RODRIGUEZ-HORNEDO, N. Strategies to Predict and Control Cocrystal Solubility and Supersaturation in Surfactant Solutions. **Poster presentation at the 2013 AAPS Annual Meeting and Exposition**, v. San Antonio, TX, n. November 10-14, 2013, p. Poster W5148, 2013.

LIPERT, M. P.; RODRIGUEZ-HORNEDO, N. Cocrystal Solubilization and Shifting Transition Points in the Presence of Drug Solubilizers.

Poster presentation at the 2014 AAPS Annual Meeting and Exposition, v. San Diego, CA, n. November 2-6, 2014, p. Poster W4108, 2014.

LIPERT, M. P.; RODRIGUEZ-HORNEDO, N. Cocrystal Transition Points: Role of Cocrystal Solubility, Drug Solubility, and Solubilizing Agents. **Molecular Pharmaceutics**, v. 12, n. 10, p. 3535-3546, 2015.

LIPERT, M. P.; ROY, L.; CHILDS, S. L.; RODRIGUEZ-HORNEDO, N. Cocrystal Solubilization in Biorelevant Media and its Prediction from Drug Solubilization. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, 2015.

LU, E.; RODRIGUEZ-HORNEDO, N.; SURYANARAYANAN, R. A rapid thermal method for cocrystal screening. **Crystengcomm**, v. 10, n. 6, p. 665-668, 2008.

LYN, L. Y.; SZE, H. W.; RAJENDRAN, A.; ADINARAYANA, G.; DUA, K.; GARG, S. Crystal modifications and dissolution rate of piroxicam. **Acta Pharmaceutica**, v. 61, n. 4, p. 391-402, 2011.

MAHESHWARI, C. **Understanding the solution phase chemistry and solid state thermodynamic behavior of pharmaceutical cocrystals**: 221 p. p. 2012.

MAHESHWARI, C.; ANDRE, V.; REDDY, S.; ROY, L.; DUARTE, T.; RODRIGUEZ-HORNEDO, N. Tailoring aqueous solubility of a highly soluble compound via cocrystallization: effect of cofomer ionization, pH(max) and solute-solvent interactions. **Crystengcomm**, v. 14, n. 14, p. 4801-4811, 2012.

MARTIN, F. A.; POP, M. M.; BORODI, G.; FILIP, X.; KACSO, I. Ketoconazole Salt and Co-crystals with Enhanced Aqueous Solubility. **Crystal Growth & Design**, v. 13, n. 10, p. 4295-4304, 2013.

MCNAMARA, D. P.; CHILDS, S. L.; GIORDANO, J.; IARRICCIO, A.; CASSIDY, J.; SHET, M. S.; MANNION, R.; O'DONNELL, E.; PARK, A. Use of a glutaric acid cocrystal to improve oral bioavailability of a low solubility API. **Pharmaceutical Research**, v. 23, n. 8, p. 1888-1897, 2006.

The Merck index. 13th. Whitehouse Station, NJ: Merck Research Laboratories, 2001.

MITHANI, S. D.; BAKATSELOU, V.; TENHOOR, C. N.; DRESSMAN, J. B. Estimation of the Increase in Solubility of Drugs as a Function of Bile Salt Concentration. **Pharmaceutical Research**, v. 13, n. 1, p. 163-167, 1995.

MITHANI, S. D.; BAKATSELOU, V.; TENHOOR, C. N.; DRESSMAN, J. B. Estimation of the increase in solubility of drugs as a function of bile salt concentration. **Pharmaceutical Research**, v. 13, n. 1, p. 163-167, 1996.

MIYAZAKI, S.; YAMAHIRA, T.; MORIMOTO, Y.; NADAI, T. Micellar Interaction of Indomethacin and Phenylbutazone with Bile-Salts. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 8, n. 4, p. 303-310, 1981.

MOORE, R. A.; TRAMÈR, M. R.; CARROLL, D.; WIFFEN, P. J.; MCQUAY, H. J. Quantitive systematic review of topically applied non-steroidal anti-inflammatory drugs. **BMJ**, v. 316, n. 7128, p. 333, 1998.

NANGIA, A. Supramolecular chemistry and crystal engineering. **Journal of Chemical Sciences**, v. 122, n. 3, p. 295-310, 2010.

NAYLOR, L. J.; BAKATSELOU, V.; DRESSMAN, J. B. Comparison of the Mechanism of Dissolution of Hydrocortisone in Simple and Mixed Micelle Systems. **Pharmaceutical Research**, v. 10, n. 6, p. 865-870, 1993a.

NAYLOR, L. J.; BAKATSELOU, V.; DRESSMAN, J. B. Comparison of the Mechanism of Dissolution of Hydrocortisone in Simple and Mixed Micelle Systems. **Pharmaceutical Research**, v. 10, n. 6, p. 865-870, 1993b.

NAYLOR, L. J.; BAKATSELOU, V.; RODRIGUEZHORNEDO, N.; WEINER, N. D.; DRESSMAN, J. B. Dissolution of steroids in bile salt solutions is modified by the presence of lecithin. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 41, n. 6, p. 346-353, 1995.

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

NEWMAN, A. W.; REUTZEL-EDENS, S. M.; ZOGRAFI, G. Characterization of the "Hygroscopic" properties of active pharmaceutical ingredients. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 97, n. 3, p. 1047-1059, 2008.

NEWTON, D. W.; KLUZA, R. B. pK values of medicinal compounds in pharmacy practice. **Drug Intelligence & Clinical Pharmacy**, v. 12, n. 9, p. 546-554, 1978.

NINOMIYA, R.; MATSUOKA, K.; MOROI, Y. Micelle formation of sodium chenodeoxycholate and solubilization into the micelles: comparison with other unconjugated bile salts. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids**, v. 1634, n. 3, p. 116-125, 2003.

O'BRIEN, F. E. M. The control of humidity by saturated salt solutions. **Journal of Scientific Instruments**, v. 25, p. 73-76, 1948.

OTSUKA, M. M., Y. The Effect of Humidity on Hydration Kinetics of Mixtures of Nitrofurantoin Anhydride and Diluents. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, v. 42, p. 156-159, 1994.

PIRTTIMAKI, J. L., E. The Transformation of Anhydrate and Hydrate Forms of Caffeine at 100-percent RH and 0-percent RH. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 1, p. 203-208, 1994.

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

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

REUTZEL-EDENS, S. M. Analytical Techniques and Strategies for Salt/Co-crystal Characterization. **Pharmaceutical Salts and Co-Crystals**, n. 16, p. 212-246, 2011.

RODRÍGUEZ-HORNEDO, N.; NEHM, S. J.; SEEFELDT, K. F.; PAGÁN-TORRES, Y.; FALKIEWICZ, C. J. Reaction Crystallization of Pharmaceutical Molecular Complexes. **Molecular Pharmaceutics**, v. 3, n. 3, p. 362-367, 2006.

ROY, L. Engineering Cocrystal and Cocrystalline Salt Solubility by Modulation of Solution Phase Chemistry. **University of Michigan (Doctoral Dissertation)**, v. Retrieved from Deep Blue. (<http://hdl.handle.net/2027.42/98067>), 2013.

ROY, L.; LIPERT, M. P.; HUANG, N.; RODRIGUEZ-HORNEDO, N. Understanding and Predicting Cocrystal Solubility in Biorelevant Media. **Poster presentation at the 2010 AAPS Annual Meeting and**

Exposition, v. New Orleans, LA, n. November 14-18, 2010, p. Poster T3112, 2010.

ROY, L.; LIPERT, M. P.; RODRIGUEZ-HORNEDO, N. Co-crystal Solubility and Thermodynamic Stability. In: (Ed.). **Pharmaceutical Salts and Co-Crystals**: Royal Society of Chemistry, 2012. p.247-279.

ROY, L.; RODRIGUEZ-HORNEDO, N. A Rational Approach for Surfactant Selection to Modulate Cocrystal Solubility and Stability. **Poster presentation at the 2010 AAPS Annual Meeting and Exposition**, v. New Orleans, LA, n. November 14-18, 2010, p. Poster R6072, 2010.

SAGANUWAN, S. A. Physicochemical and structure-activity properties of piroxicam—a mini review. **Comparative Clinical Pathology**, v. 25, n. 5, p. 941-945, 2016.

SALAMEH, A. K. T., L.S. Deliquescence in Binary Mixtures. **Pharmaceutical Research**, v. 22, p. 318-324, 2005.

SALAMEH, A. K. T., L.S. Physical Stability of Crystal Hydrates and their Anhydrates in the Presence of Excipients. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 95, p. 446-461, 2006.

SCHULTHEISS, N.; NEWMAN, A. Pharmaceutical Cocrystals and Their Physicochemical Properties. **Crystal Growth & Design**, v. 9, n. 6, p. 2950-2967, 2009.

SCHWEBEL, H. J.; VAN HOOGEVEST, P.; LEIGH, M. L.; KUENTZ, M. The apparent solubilizing capacity of simulated intestinal fluids for poorly water-soluble drugs. **Pharmaceutical Development and Technology**, v. 16, n. 3, p. 278-286, 2011.

SEEFELDT, K.; MILLER, J.; ALVAREZ-NUNEZ, F.; RODRIGUEZ-HORNEDO, N. Crystallization pathways and kinetics of

carbamazepine-nicotinamide cocrystals from the amorphous state by in situ thermomicroscopy, spectroscopy and calorimetry studies. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 96, n. 5, p. 1147-1158, 2007.

SERAJUDDIN, A. T. Salt formation to improve drug solubility. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 59, n. 7, p. 603-616, 2007.

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

SMITH, A. J.; KAVURU, P.; WOJTAS, L.; ZAWOROTKO, M. J.; SHYTLE, R. D. Cocrystals of Quercetin with Improved Solubility and Oral Bioavailability. **Molecular Pharmaceutics**, v. 8, n. 5, p. 1867-1876, 2011.

STAHL, P. H.; WERMUTH, C. G.; INTERNATIONAL UNION OF PURE AND APPLIED CHEMISTRY. **Handbook of pharmaceutical salts : properties, selection, and use**. 2nd rev. Weinheim: Wiley-VCH, 2011. xvi, 446 p.

STANTON, M. K.; ANNETTE, B. Physicochemical Properties of Pharmaceutical Co-Crystals- A Case Study of Ten AMG 517 Co-Crystals. **Crystal Growth & Design**, v. 8, n. 10, p. 3856-3862, 2008.

SURESH, S.; GUNASEKARAN, S.; SRINIVASAN, S. Spectroscopic (FT-IR, FT-Raman, NMR and UV-Visible) and quantum chemical studies of molecular geometry, Frontier molecular orbital, NLO, NBO and thermodynamic properties of salicylic acid. **Spectrochimica Acta A Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 132, p. 130-141, 2014.

SURESH, S.; GUNASEKARAN, S.; SRINIVASAN, S. Vibrational spectra (FT-IR, FT-Raman), frontier molecular orbital, first hyperpolarizability, NBO analysis and thermodynamics properties of Piroxicam by HF and DFT methods. **Spectrochimica Acta A Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 138, p. 447-459, 2015.

TADDEI, P.; TORREGGIANI, A.; SIMONI, R. Influence of environment on piroxicam polymorphism- Vibrational spectroscopic study. **Biopolymers (Biospectroscopy)**, v. 62, p. 68-78, 2000.

TAKÁCS-NOVÁK, K.; KOKOSI, J.; PODÁNYI, B.; NOSZÁL, B.; TSAI, R.-S.; LISA, G.; CARRUPT, P.-A.; TESTA, B. Microscopic Protonation:Deprotonation Equilibria of the Anti-inflammatory Agent Piroxicam. **Helvetica Chimica Acta**, v. 78, p. 553-562, 1995.

THAKURIA, R.; DELORI, A.; JONES, W.; LIPERT, M. P.; ROY, L.; RODRIGUEZ-HORNEDO, N. Pharmaceutical cocrystals and poorly soluble drugs. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 453, n. 1, p. 101-125, 2013.

TONG, P. Z., G. Effects of Water Vapor Absorption on the Physical and Chemical Stability of Amorphous Sodium Indomethacin. **Aaps Journal**, v. 5, n. Art No. 26, 2004.

TONG, Y.; ZHANG, P.; DANG, L.; WEI, H. Monitoring of cocrystallization of ethenzamide-saccharin: Insight into kinetic process by in situ Raman spectroscopy. **Chemical Engineering Research and Design**, v. 109, p. 249-257, 2016.

TRASK, A. V.; JONES, W. Crystal engineering of organic cocrystals by the solid-state grinding approach. **Organic Solid State Reactions**, v. 254, p. 41-70, 2005.

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

TRASK, A. V.; MOTHERWELL, W. D. S.; JONES, W. Pharmaceutical cocrystallization: Engineering a remedy for caffeine hydration. **Crystal Growth & Design**, v. 5, n. 3, p. 1013-1021, 2005.

TRASK, A. V. M., W.D.S.; Jones, W. Physical Stability Enhancement of Theophylline via Cocrystallization. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 320, p. 114-123, 2006.

UMPRAYN, K.; MENDES, R. W. Hygroscopicity and Moisture Adsorption-Kinetics of Pharmaceutical Solids - a Review. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 13, n. 4-5, p. 653-693, 1987.

VAN DER WINDT, D. A. W. M.; VAN DER HEIJDEN, G. J. M. G.; SCHOLTEN, R. J. P. M.; KOES, B. W.; BOUTER, L. M. The efficacy of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDS) for shoulder complaints. A systematic review. **Journal of Clinical Epidemiology**, v. 48, n. 5, p. 691-704, 1995.

VANKEIRSBILCK, T.; VERCAUTEREN, A.; BAEYENS, W.; VAN DER WEKEN, G. Applications of Raman spectroscopy in pharmaceutical analysis. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 21, n. 12, p. 869-877, 2002.

VOGT, F. G.; CLAWSON, J. S.; STROHMEIER, M.; EDWARDS, A. J.; PHAM, T. N.; WATSON, S. A. Solid-State NMR Analysis of Organic Cocrystals and Complexes. **Crystal Growth & Design**, v. 9, n. 2, p. 921-937, 2009.

VREČER, F.; SRCIC, S.; SMID-KORBAR. Investigation of piroxicam polymorphism. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 68, p. 35-41, 1991.

VREČER, F.; VRBINC, M.; MEDEN, A. Characterization of piroxicam crystal modifications. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 256, n. 1-2, p. 3-15, 2003.

WALES, C.; THOMAS, L. H.; WILSON, C. C. Tautomerisation and polymorphism in molecular complexes of piroxicam with mono-substituted benzoic acids. **Crystengcomm**, v. 14, n. 21, p. 7264, 2012.

WEYNA, D. R.; CHENEY, M. L.; SHAN, N.; HANNA, M.; ZAWOROTKO, M. J.; SAVA, V.; SONG, S.; SANCHEZ-RAMOS, J. R. Improving Solubility and Pharmacokinetics of Meloxicam via Multiple-Component Crystal Formation. **Molecular Pharmaceutics**, v. 9, n. 7, p. 2094-2102, 2012.

WOUTERS, J.; ROME, S.; QUERE, L. Monographs of most Frequent Co-Crystal Formers. **Pharmaceutical Salts and Co-Crystals**, n. 16, p. 338-382, 2011.

YOSHINARI, Y. F., R.T.; YORK, P.; Kawashima, Y. Moisture Induced Polymorphic Transition of Mannitol and Its Morphological Transformation. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 247, p. 69-77, 2002.

YU, L. A. Polymorphism in Molecular Solids: An Extraordinary System of Red, Orange, and Yellow Crystals. **Accounts of Chemical Research**, v. 43, n. 9, p. 1257-1266, 2010.

YU, Z. Q.; CHOW, P. S.; TAN, R. B. H. Operating Regions in Cooling Cocrystallization of Caffeine and Glutaric Acid in Acetonitrile. **Crystal Growth & Design**, v. 10, n. 5, p. 2382-2387, 2010.

YU, Z. Q.; CHOW, P. S.; TAN, R. B. H.; ANG, W. H. Supersaturation Control in Cooling Polymorphic Co-Crystallization of Caffeine and Glutaric Acid. **Crystal Growth & Design**, v. 11, n. 10, p. 4525-4532, 2011.

ZEGARAC, M.; LEKSIC, E.; SKET, P.; PLAVEC, J.; BOGDANOVIC, M. D.; BUCAR, D. K.; DUMIC, M.; MESTROVIC, E. A sildenafil cocrystal based on acetylsalicylic acid exhibits an enhanced intrinsic dissolution rate. **Crystengcomm**, v. 16, n. 1, p. 32-35, 2014.

ZHANG, G. G. Z.; HENRY, R. F.; BORCHARDT, T. B.; LOU, X. Efficient Co-crystal Screening Using Solution-Mediated Phase Transformation. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 96, n. 5, p. 990-995, 2006.

ZOGRAFI, G. States of Water Associated with Solids. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 14, n. 14, p. 1905-1926, 1988.

ZOGRAFI, G. G., G.; Kontny, M.J.; Mendenhall, D.W. Prediction of moisture transfer in mixtures of solids: Transfer via the vapor phase. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 42, p. 77-88, 1988.

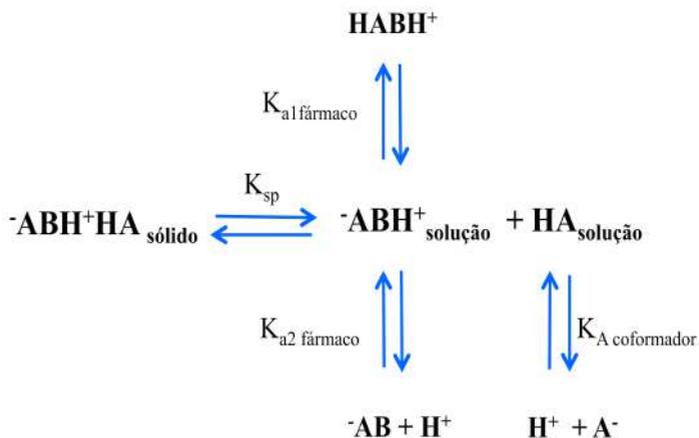
APÊNDICE

Derivação das equações de predição da solubilidade do fármaco e cocristais em meio aquoso

O equilíbrio químico de um cocrystal em solução é descrito pelo produto de solubilidade (K_{sp}). Se o cocrystal apresenta um ou mais componentes ionizáveis, o equilíbrio ácido ou base também deve ser levado em consideração (NEHM et al., 2006). Desta forma, para avaliar a termodinâmica do processo e determinar a solubilidade dos cocristais por meio de equações de predição, é preciso descrever as reações de equilíbrio químico envolvidas.

Assim, para um cocrystal de fármaco zwitteriônico ${}^{-}\text{ABH}^{+}\text{HA}$ de estequiometria 1:1, onde ${}^{-}\text{ABH}^{+}$ é o fármaco e HA o coformador ácido monoprótico, as reações de equilíbrio podem ser ilustradas conforme a figura 1.

Figura 1. Equilíbrio químico para o cocrystal ${}^{-}\text{ABH}^{+}\text{HA}$, onde ${}^{-}\text{ABH}^{+}$ representa um fármaco zwitteriônico e HA representa um coformador ácido monoprótico.

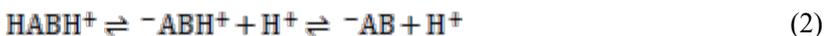


Para prever a solubilidade dos cocristais, tendo como base os conceitos de equilíbrio químico em solução, o primeiro efeito a ser considerado é a dissociação do cocrystal seguido da ionização dos seus componentes, conforme o pKa de cada espécie. Desta maneira, a dissociação do cocrystal descrita pelo K_{sp} foi primeiramente considerada

conforme a equação 1, e, posteriormente, a ionização do fármaco e do coformador.

$$K_{sp} = [-ABH^+] [HA] \quad (1)$$

Por apresentar um comportamento de ionização do tipo zwitteriônico as reações de equilíbrio do PRX podem ser representadas por:



Resultando em três espécies diferentes que estabelecem o equilíbrio, sendo elas: neutra ($^-ABH^+$); ionizada, correspondente ao pK_{a1} ($HABH^+$); ionizada, correspondente ao pK_{a2} (^-AB). Desse modo, as constantes de ionização ácida (K_a) associadas ao equilíbrio químico do PRX são:

$$K_{a,1}^{-ABH^+} = \frac{[-ABH^+][H^+]}{[HABH^+]} \rightarrow [HABH^+] = \frac{[-ABH^+][H^+]}{K_{a,1}^{-ABH^+}} \quad (3)$$

$$K_{a,2}^{-ABH^+} = \frac{[-AB][H^+]}{[ABH^+]} \rightarrow [-AB] = \frac{K_{a,2}^{-ABH^+}[ABH^+]}{[H^+]} \quad (4)$$

A concentração total do PRX pode ser obtida a partir da soma das concentrações de todas as espécies em solução, conforme a equação (5):

$$[PRX]_T = [-ABH^+] + [HABH^+] + [-AB] \quad (5)$$

Assim, substituindo as equações (3) e (4) na equação (5):

$$S_{PRX,T} = S_0 \left(1 + \frac{[H^+]}{K_{a1}} + \frac{K_{a2}}{[H^+]} \right) \quad (6)$$

onde S_0 refere-se à solubilidade do fármaco não ionizado.

Para um coformador ácido monoprotico (HA), que é o caso de ambos os coformadores utilizados neste trabalho SLC e SAC, a ionização é descrita por:



Onde a constante de ionização ácida é dada por:

$$K_a = \frac{[\text{H}^+][\text{A}^-]}{[\text{HA}]} \rightarrow [\text{A}^-] = \frac{[\text{HA}]K_{a,HA}}{[\text{H}^+]} \quad (8)$$

A concentração total de coformador é dada pela soma das concentrações das espécies ionizadas e não ionizadas em solução, sendo:

$$[\text{A}]_T = [\text{HA}] + [\text{A}^-] \quad (9)$$

Desta forma, substituindo a equação (9) pela equação (8) temos:

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

Considerando que para um cocrystal de razão molar 1:1 a sua solubilidade é igual a concentração total de cada constituinte em solução, obtemos a equação:

$$S_{\text{cocrystal}(1:1)} = [\text{PRX}]_T = [\text{HA}]_T \quad (11)$$

Assim, a equação final de solubilidade do cocrystal 1:1 de PRX com coformador monoprotico ($-\text{ABH}^+\text{HA}$) é dada por:

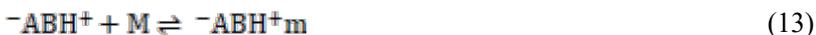
$$S_{\text{cc}} = \sqrt{K_{\text{sp}} \left(1 + \frac{[\text{H}^+]}{K_{a_1}^{-\text{ABH}^+}} + \frac{K_{a_2}^{-\text{ABH}^+}}{[\text{H}^+]} \right) \left(1 + \frac{K_{a,HA}}{[\text{H}^+]} \right)} \quad (12)$$

Por meio da equação (12) é possível prever o aumento da solubilidade dos cocrystals com o aumento do pH (diminuição da $[\text{H}^+]$) e sua dependência dos valores de K_{sp} e pKa do coformador. Desta maneira, ao se obter o valor de K_{sp} é possível calcular a solubilidade do cocrystal em qualquer pH, assim como, ao se obter a solubilidade do cocrystal em um determinado pH, o K_{sp} pode ser então calculado. A medida que as espécies HA se ionizam, de acordo com seus valores de

pKa, mais cocristal se dissolve afim de manter o equilíbrio de dissociação.

Derivação das equações de predição da solubilidade do fármaco e cocristais em meio micelar

Visando simplificar o desenvolvimento dos modelos matemáticos de solubilização micelar, a complexação dos componentes do cocristal em solução é desconsiderada assumindo-se que a mesma seja insignificante. Assim, o equilíbrio químico para um fármaco zwitteriônico em solução micelar e suas respectivas constantes é dado por:



$$K_{s}^{-ABH^{+}} = \frac{[^{-}ABH^{+}]_{m}}{[^{-}ABH^{+}]_{aq}[M]} \quad (14)$$



$$K_{s}^{HABH^{+}} = \frac{[HABH^{+}]_{m}}{[HABH^{+}]_{aq}[M]} \quad (16)$$



$$K_{s}^{-AB} = \frac{[^{-}AB]_{m}}{[^{-}AB]_{aq}[M]} \quad (18)$$

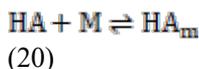
Considerando o equilíbrio químico em meio aquoso para o PRX (equação 2) somado ao equilíbrio químico em meio micelar descrito pelas equações (13), (15), (17), a concentração total do PRX em meio micelar pode ser dada a partir da soma de todas as espécies em solução:

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

Desta forma ao substituir as constantes (3), (4), (14), (16) e (18) nas respectivas espécies, obtém-se a equação de solubilização micelar total do PRX:

$$S_{T}^{PRX} = S_{aq} \left(1 + \frac{[H^{+}]}{K_{a2}} + \frac{K_{a2}}{[H^{+}]} + K_{s}^{-ABH^{+}}[M] + K_{s}^{HABH^{+}} \frac{[H^{+}]}{K_{a2}} [M] + K_{s}^{-AB} \frac{K_{a2}}{[H^{+}]} [M] \right) \quad (19)$$

O equilíbrio químico e as constantes associadas para um coformador ácido monoprótico (HA) em meio micelar por ser descrito por:



$$K_S^{\text{HA}} = \frac{[\text{HA}]_m}{[\text{HA}]_{\text{aq}}[\text{M}]} \rightarrow [\text{HA}]_m = K_S^{\text{HA}}[\text{HA}]_{\text{aq}}[\text{M}] \quad (21)$$



$$K_S^{\text{A}^-} = \frac{[\text{A}^-]_m}{[\text{A}^-]_{\text{aq}}[\text{M}]} \rightarrow [\text{A}^-]_m = K_S^{\text{A}^-}[\text{A}^-]_{\text{aq}}[\text{M}] \quad (23)$$

Considerando o equilíbrio químico em meio aquoso para o coformador (equação 7) somado ao equilíbrio químico em meio micelar descrito pelas equações (20) e (22) a concentração total do coformador em meio micelar pode ser dada a partir da soma de todas as espécies em solução:

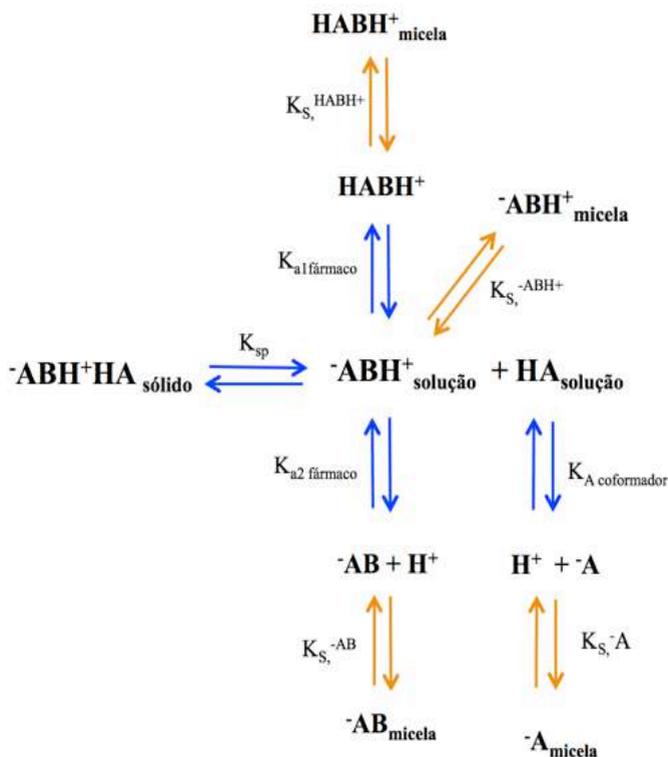
$$S_{\text{HA,T}} = [\text{HA}]_{\text{aq}} + [\text{A}^-]_{\text{aq}} + [\text{HA}]_m + [\text{A}^-]_m$$

Assim, ao substituir as constantes (8), (21) e (23) nas respectivas espécies, a equação de solubilização micelar total do coformador é dada por:

$$S_{\text{HA,T}} = [\text{HA}]_{\text{aq}} \left(1 + \frac{K_{\text{aHA}}}{[\text{H}^+]_{\text{aq}}} + K_{S,T}^{\text{HA}} [\text{M}] \right) \quad (24)$$

Para um cocristal de fármaco zwitteriônico ${}^-\text{ABH}^+\text{HA}$ de estequiometria 1:1, onde ${}^-\text{ABH}^+$ é o fármaco e HA o coformador ácido monoprótico, as reações de equilíbrio químico em meio micelar podem ser ilustradas conforme a figura 2.

Figura 48. Equilíbrio químico micelar para o cocristal ${}^{-}\text{ABH}^+\text{HA}$, onde ${}^{-}\text{ABH}^+$ representa um fármaco zwitteriônico e HA representa um coformador ácido mnoprotóico.



Deste modo, considerando a metodologia apresentada para derivar as equações em meio aquoso somado ao equilíbrio químico das espécies em meio micelar, a equação final de solubilidade estequiométrica do cocristal 1:1 de PRX com coformador monoprotóico (${}^{-}\text{ABH}^+\text{HA}$) em meio micelar é dada por:

$$S_{CC} = \frac{K_{sp}}{\sqrt{K_{sp} \left(1 + \frac{[\text{H}^+]}{K_{a1} {}^{-}\text{ABH}^+} + \frac{K_{a2} {}^{-}\text{ABH}^+}{[\text{H}^+]} + K_{s, {}^{-}\text{ABH}^+} [\text{M}] \right) \left(1 + \frac{K_{a\text{HA}}}{[\text{H}^+]_{\text{aq}}} + K_{s, \text{HA}} [\text{M}] \right)}} \quad (25)$$

onde K_{sp} é o produto da solubilidade do cocrystal, K_s representa as constantes de solubilização micelar dos constituintes do cocrystal e $[M]$ é a concentração de agente solubilizante. Para o caso de um surfactante micelar, $[M]$ é a concentração total de surfactante menos a concentração micelar crítica (CMC). K_a representa a constante de dissociação do fármaco e do coformador.

ANEXO A

<http://dx.doi.org/10.21577/0100-4042.20160139>

Quim. Nova, Vol. 39, No. 9, 1112-1125, 2016

Revisão

COCRISTAIS: UMA ESTRATÉGIA PROMISSORA NA ÁREA FARMACÊUTICA

<http://dx.doi.org/10.21577/0100-4042.20160139>

Alanny B. O. Rocha^a, Gislaine Kuminek^a, Tatiane C. Machado^a, Juliana Rosa^a, Gabriela S. Rauber^{b,c}, Paola A. A. Borba^a, Sana Siedler^a, Hellen K. Stulzer^a, Sílvia Lucia Cuffini^a, Nair Rodriguez-Hornedo^{a,*} e Simone G. Cardoso^{a,b}

^aDepartamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Santa Catarina, 88040-970 Florianópolis – SC, Brasil

^bInstituto de Ciências e Tecnologia, Universidade Federal de São Paulo, 12231-280 São José dos Campos – SP, Brasil

^cDepartment of Pharmaceutical Sciences, University of Michigan, 48109 Ann Arbor – MI, United States

^dDepartment of Chemistry, University of Cambridge, CB2 1EW Cambridge – Cambridgeshire, United Kingdom

^eCAPEs, Ministério da Educação, 70040-020 Brasília – DF, Brasil

Recebido em 05/02/2016; aceito em 12/05/2016; publicado na web em 05/08/2016

COCRISTALS: A PROMISING STRATEGY IN PHARMACEUTICAL SCIENCES. Pharmaceutical cocrystals have emerged as a useful strategy to improve the aqueous solubility of poorly water soluble drugs by aiming to enhance their oral absorption and bioavailability. Aqueous cocrystal solubility can be orders of magnitude higher than that of the constituent drug and this solubility advantage can be fine-tuned based on environmental conditions such as pH and the presence of drug solubilizing agents. This review presents a brief overview of pharmaceutical cocrystals regarding cocrystal design, obtainment methods, with particular focus on cocrystal solubility, and the solubility modulation by solution phase chemistry.

Keywords: cocrystals; drug; solubility; transition point; thermodynamic stability.

Advanced Drug Delivery Reviews 101 (2016) 143–166



Contents lists available at ScienceDirect

Advanced Drug Delivery Reviews

journal homepage: www.elsevier.com/locate/addr



Cocrystals to facilitate delivery of poorly soluble compounds beyond-rule-of-5[☆]



Gislaine Kuminek^a, Fengjuan Cao^a, Alanny Bahia de Oliveira da Rocha^b, Simone Gonçalves Cardoso^b, Nair Rodriguez-Hornedo^{a,*}

^a Department of Pharmaceutical Sciences, University of Michigan, Ann Arbor 48109-1065, MI, USA

^b Programa de Pós-Graduação em Farmácia, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis 88040-900, SC, Brazil

ARTICLE INFO

Article history:

Received 1 December 2015

Received in revised form 11 April 2016

Accepted 20 April 2016

Available online 25 April 2016

Keywords:

Cocrystal
Co-crystal
Enhancing solubility
Supersaturation
Solubilizing agent
Transition point
Formulation
Borelevant media

ABSTRACT

Besides enhancing aqueous solubilities, cocrystals have the ability to fine-tune solubility advantage over drug, supersaturation index, and bioavailability. This review presents important facts about cocrystals that set them apart from other solid-state forms of drugs, and a quantitative set of rules for the selection of additives and solution/formulation conditions that predict cocrystal solubility, supersaturation index, and transition points. Cocrystal eutectic constants are shown to be the most important cocrystal property that can be measured once a cocrystal is discovered, and simple relationships are presented that allow for prediction of cocrystal behavior as a function of pH and drug solubilizing agents. Cocrystal eutectic constant is a stability or supersaturation index that: (a) reflects how close or far from equilibrium a cocrystal is, (b) establishes transition points, and (c) provides a quantitative scale of cocrystal true solubility changes over drug. The benefit of this strategy is that a single measurement, that requires little material and time, provides a principled basis to tailor cocrystal supersaturation index by the rational selection of cocrystal formulation, dissolution, and processing conditions.

© 2016 Elsevier B.V. All rights reserved.