



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMÁCIA

Tatiane Cogo Machado

TESE DE DOUTORADO

**COCRISTAIS FARMACÊUTICOS: ESTUDO DOS MECANISMOS DE  
MODULAÇÃO DA SOLUBILIDADE E SUPERSATURAÇÃO**

Florianópolis

2020

Tatiane Cogo Machado

**COCRISTAIS FARMACÊUTICOS: ESTUDO DOS MECANISMOS DE  
MODULAÇÃO DA SOLUBILIDADE E SUPERSATURAÇÃO**

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em  
Farmácia da Universidade Federal de Santa Catarina  
para a obtenção do título de Doutora em Farmácia.  
Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Simone Gonçalves Cardoso.  
Coorientadora: Dr<sup>a</sup> Nair Rodríguez-Hornedo  
(Universidade de Michigan)

Florianópolis

2020

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

Cogo Machado, Tatiane

Cocristais Farmacêuticos: Estudo dos Mecanismos de Modulação da Solubilidade e Supersaturação / Tatiane Cogo Machado ; orientadora, Simone Gonçalves Cardoso, coorientador, Naír Rodríguez-Hornedo, 2020.

169 p.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós Graduação em Farmácia, Florianópolis, 2020.

Inclui referências.

1. Farmácia. 2. cocristal . 3. supersaturação. 4. precipitação. 5. dissolução. I. Gonçalves Cardoso, Simone. II. Rodríguez-Hornedo, Naír . III. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Farmácia. IV. Título.

**Cocristais farmacêuticos: estudo dos mecanismos de modulação da solubilidade e supersaturação**

por

Tatiane Cogo Machado

O presente trabalho em nível de doutorado foi avaliado e aprovado por banca examinadora composta pelos seguintes membros:

---

Prof. Dr. Paulo Renato Oliveira  
Unicentro – Membro Titular

---

Prof<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup> Hellen Karine Stulzer  
UFSC – Membro Titular

---

Dr.<sup>a</sup> Gabriela Schneider Rauber  
UFSC – Membro Titular

Certificamos que esta é a versão original e final do trabalho de conclusão que foi julgado adequado para obtenção do título de doutor em farmácia pelo Programa de Pós-Graduação em Farmácia.

---

Prof<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup> Elenara Maria Teixeira Lemos  
Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Farmácia pela UFSC

---

Prof<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup> Simone Gonçalves Cardoso  
Orientadora (UFSC)

---

Prof<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup> Naír Rodríguez-Hornedo  
Coorientadora (Universidade de Michigan)

Florianópolis, 31 de agosto de 2020

## AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer primeiramente minha orientadora Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Simone Gonçalves Cardoso, por ter me permitido ingressar nesse universo acadêmico, depositando em mim confiança e acolhimento. Também pelo seu papel no fortalecimento do vínculo estabelecido entre o nosso grupo de pesquisa (LabCq – UFSC) e o grupo da Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Naír Rodríguez-Hornedo da Universidade de Michigan, sendo fundamental para que a linha de pesquisa com cocristais farmacêuticos fosse consolidada no Brasil.

À Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Naír Rodríguez-Hornedo, coorientadora deste trabalho, minha eterna gratidão. Seus constantes incentivos para ver além do que está aos nossos olhos foram desafiadores e fundamentais no desenvolvimento das minhas habilidades como pesquisadora. Seu conhecimento e entusiasmo com a ciência foi e continuará sendo inspirador para mim. Também agradeço o seu grupo de pesquisa, pelo acolhimento e compartilhamento de conhecimento. Em especial, agradeço à Gislaine Kuminek, quem esteve sempre presente, desde 2014, sua paciência em ensinar e amizade foram essenciais nessa jornada.

Aqueles que estão sempre na torcida: familiares, amigos e especialmente o meu eterno companheiro de vida Binho Manenti, pela sua paciência e seu olhar otimista nas horas mais difíceis, que foram muito importantes para que eu pudesse concluir esse capítulo da minha vida.

Aos professores do LabCQ, Marcos Segatto e Hellen Stulzer, pelo apoio e exemplo de profissionalismo.

À todos os queridos colegas que passaram pelo LabCq, pelas discussões enriquecedoras e pela amizade. Cito em especial a Roberta Ramos e Maria Terezinha França, amigas de todas as horas, seja para discutir ciência ou para falar sobre a vida durante aqueles minutos revigorantes na salinha do café. Não poderia deixar de mencionar os alunos de iniciação científica que colaboraram para a realização desse trabalho, Taynara Scherer e André Gonçalves. Suas dúvidas e entusiasmo em aprender foram muito importantes no desenvolvimento das minhas habilidades de ensino.

Aos professores e servidores de laboratórios parceiros, que permitiram a utilização de recursos que foram fundamentais para o desenvolvimento desse trabalho, em especial o Prof. Dr. Adailton Bortoluzzi do laboratório de difração de raios X do departamento de química desta universidade.

Ao Conselho de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo financiamento do estágio sanduíche na Universidade de Michigan por meio de bolsa modalidade SWE, e à UFSC, ao PGFAR e à CAPES por possibilitarem a realização deste trabalho por meio do apoio financeiro e/ou infraestrutura.

Por fim, agradeço pela oportunidade de ter encontrado pessoas tão especiais nessa grande jornada de desenvolvimento profissional e pessoal.

“Tenho a impressão de ter sido uma criança brincando à beira-mar, divertindo-me em descobrir uma pedrinha mais lisa ou uma concha mais bonita que as outras, enquanto o imenso oceano da verdade continua misterioso diante de meus olhos”

Isaac Newton

## RESUMO

Este trabalho buscou investigar como a dissolução de cocristais e supersaturação e precipitação do fármaco (DSP) relaciona-se com a vantagem de solubilidade do cocrystal pela solubilidade do fármaco ( $SA = S_{\text{cocrystal}}/S_{\text{fármaco}}$ ) e o *dose number* ( $Do = C_{\text{dose}}/S_{\text{fármaco}}$ ). SA e Do são modulados pela presença de aditivos e mudanças de pH. Ambos parâmetros representam a supersaturação máxima que o sistema pode atingir e o potencial de conversão do cocrystal para o fármaco. Valores de SA e o produto da solubilidade  $K_{sp}$  para cocristais meloxicam-ácido salicílico (MLX-SLC) e meloxicam-ácido maleico (MLX-MLE) foram determinados no ponto eutético. Ambos cocristais aumentam a SA (20 a 100 vezes para MLX-SLC e mais de 300 vezes para MLX-MLE) na faixa de pH de 1,6 a 6,5. Durante a dissolução estes cocristais regularam o pH interfacial para valores em torno de 1,6 para MLX-MLE e 4,5 para MLX-SLC, diminuindo assim, a dependência do pH do meio. Valores de  $Do_{(\text{fármaco})}$  variaram de 2 (pH 6,5) a 410 (pH 1,6) devido a variação da  $S_{\text{fármaco}}$  com o pH. Perfis de liberação do MLX demonstraram que a supersaturação máxima ( $\sigma_{\text{max}} = C_{\text{max}}/S_{\text{fármaco}}$ ) e AUC aumentaram com o aumento do Do e a diminuição do pH. Quando  $Do \gg SA$ , a  $S_{\text{cocrystal}}$  não é suficiente para dissolver a dose. Sugere-se um estado de equilíbrio entre dissolução-precipitação que foi capaz de sustentar a supersaturação até o final do experimento. Quando  $Do \ll SA$ , a  $S_{\text{cocrystal}}$  é mais que suficiente para dissolver a dose. Do limitou a supersaturação nas dissoluções no pH 6,5 onde valores de  $\sigma_{\text{max}}$  (1,7 e 1,5) são próximos dos valores de Do (2,3 e 2,4). Dois diferentes mecanismos de conversão dos cocristais e precipitação do MLX foram observados: (1) nucleação do MLX IV (forma metaestável) na superfície do cocrystal seguido da precipitação do MLX I (estável) no meio de dissolução na ausência de aditivos e (2) nucleação no meio do MLX I na presença de FeSSIF, PVP K30 e Cremophor RH40. A utilização do retardador polimérico PVP K30 recuperou a supersaturação e aumentou valores de AUC em comparação com o meio contendo apenas o aditivo solubilizante Cremophor. Visando ampliar os estudos desta tese, cocrystal de estequiometria 2:1 composto de naproxeno-nicotinamida (NPX-NIC) foi sintetizado. NPX-NIC apresentou valores de SA (7 a 21) na faixa de pH de 5,9 a 4,2. O mesmo incremento de solubilidade não foi observado nos estudos de dissolução, onde níveis supersaturados do NPX foram somente observados com a redução da SA para 14 (pH 5,0) e na presença de PVP K30, resultando em um aumento de 2x na AUC em relação ao fármaco. A microscopia óptica revelou a rápida cinética de dissolução do NPX-NIC e precipitação do fármaco no meio, que foi melhor observada na presença de



PVP K30 que atuou reduzindo a cinética de precipitação. Estudos da literatura corroboram com os resultados encontrados para NPX-NIC, sugerindo que a tendência do NPX em precipitar sob baixa supersaturação é um fenômeno intrínseco ao fármaco. Estes resultados demonstram que a correlação entre SA, Do e os mecanismos de precipitação proporciona uma base sólida para a interpretação e entendimento do comportamento de DSP de cocristais.

**Palavras-Chave:** cocrystal; supersaturação; precipitação; *dose number*; dissolução

## ABSTRACT

The present study aims to investigate how cocrystal solubility advantage over drug ( $SA=S_{\text{cocrystal}}/S_{\text{drug}}$ ) and the dose number ( $Do=C_{\text{dose}}/S_{\text{drug}}$ ) affect cocrystal dissolution-drug supersaturation and precipitation (DSP) behavior. SA and Do are modulated by pH changes and by the presence of additives. Both parameters can describe maximum achievable supersaturation and represent the cocrystal potential for conversion to the less soluble drug. SA and  $K_{sp}$  values of 1:1 cocrystals of meloxicam-salicylic acid (MLX-SLC) and meloxicam-maleic acid (MLX-MLE) were determined at cocrystal/drug eutectic points. Both cocrystals enhance SA by orders of magnitude (20 to 100 times for the SLC and over 300 times for the MLE cocrystal) in the pH range of 1.6 to 6.5. It is shown that during dissolution, cocrystals regulate the interfacial pH ( $pH_{\text{int}}$ ) to 1.6 for MLX-MLE and 4.5 for MLX-SLC, therefore diminishing the cocrystal dissolution rate dependence on bulk pH. Do values ranged from 2 (pH 6.5) to 410 (pH 1.6) and were mostly determined by the drug solubility dependence on pH. Drug release profiles show that maximum supersaturation ( $\sigma_{\text{max}}=C_{\text{max}}/S_{\text{drug}}$ ) and AUC increased with increasing Do as pH decreased. When  $Do \gg SA$ , the cocrystal solubility is not sufficient to dissolve the dose so that a dissolution-precipitation quasi-equilibrium state is able to sustain supersaturation for the extent of the experiment (24 hours). When  $Do \ll SA$ , cocrystal solubility is more than adequate to dissolve the dose. Low  $\sigma_{\text{max}}$  values (1,7 and 1,5) near the value of Do (2,3 and 2.4) were observed, where a large fraction of the cocrystal added is dissolved to reach  $\sigma_{\text{max}}$ . Two different cocrystal to drug conversion pathways were observed: (1) surface nucleation of the metastable MLX IV on the dissolving cocrystal preceded formation of the stable MLX I in bulk solution (in all conditions without additives), and (2) bulk nucleation of the stable MLX polymorph (in FeSSIF, PVP K30 and Cremophor RH40). The presence of PVP K30 as a precipitation inhibitor increase supersaturation and AUC values compared to the Cremophor RH40 media. Aiming to study a cocrystal with different stoichiometry, a 2:1 cocrystal composed of naproxen:nicotinamide (NPX-NIC) was synthesized. SA values from solubility studies of NPX-NIC ranged from 7 to 21 in the pH range of 5.9 to 4.2. However, this increased cocrystal solubility was not translated into improved dissolution. The supersaturation of NPX, was only observed by SA reduction (from 21 at pH 1.6 to 14 at pH 5.0) and, in the presence of PVP K30, which increase  $AUC_{\text{cocrystal}}/AUC_{\text{drug}}$  by 2 times. NPX-NIC dissolution was observed by inverted microscope,

showing rapid drug precipitation, which was slowed by the presence of the polymer PVP K30. Studies from the literature are consistent with the results for NPX-NIC in terms of drug supersaturation. They suggest the NPX tendency to crystallize under low supersaturation is a phenomenon inherent to the drug. The results in the present thesis represent an interplay between cocrystal SA, Do, and drug precipitation pathways and provide a framework to interpret and understand the DSP behavior of cocrystals.

**KEYWORDS:** cocrystal; supersaturation; precipitation; dose number; dissolution

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Desenho esquemático ilustrando arranjos de estado sólido de fármacos. ....29
- Figura 2 - Número de artigos sobre o tema cocristais publicados durante o período de 2005 a 2019. Pesquisa obtida a partir da base de dados Science Direct utilizando as palavras chave: “*cocrystal + formation, solubility, dissolution and formulation*”. ....30
- Figura 3 - Diagrama de solubilidade de fases de um cocristal AB e do fármaco A. Assume-se que solubilidade do fármaco A é independente da concentração de coformador  $[B]_T$  em um determinado solvente. Regiões: I - solução supersaturada em relação ao fármaco; II - solução supersaturada em relação ao fármaco e cocristal; III - solução abaixo da saturação para cocristal e fármaco; IV- solução supersaturada em relação ao cocristal. ....33
- Figura 4 - Diferentes perfis de solubilidade em função do pH para: a) cocristal de fármaco neutro com coformador ácido diprótico; b) cocristal de fármaco neutro com coformador ácido anfótero; c) cocristal de fármaco básico com coformador ácido diprótico; d) cocristal de fármaco zwitteriônico com coformador ácido diprótico. Os valores de  $pK_a$  para fármaco e coformador estão descritos em cada gráfico.....36
- Figura 5 - Diagrama de solubilidade de fases contendo dois tipos diferentes de cocristais considerando sua estabilidade e seus respectivos pontos eutéticos (ponto de intersecção com a  $S_{\text{fármaco}}$ ). A linha pontilhada indica as concentrações estequiométricas dos componentes do cocristal por meio da dissolução e os círculos representam a solubilidade dos cocristais no solvente puro.....39
- Figura 6 – Fluxograma representativo do método utilizado para determinar as concentrações eutéticas dos componentes do cocristal. Neste exemplo, as fases sólidas em equilíbrio com a solução são cocristal e fármaco. ....41
- Figura 7 - Ilustração do equilíbrio entre o cocristal e seus componentes no meio aquoso e micelar. Este esquema representa a solubilização micelar do componente hidrofóbico (neste caso o fármaco).....43
- Figura 8 – Influência de agentes solubilizantes na  $S_{\text{cocristal}}$ , para danazol (DNZ) e seus cocristais com ácido 4-hidroxibenzóico (HBA) e vanilina (VAN) e do fármaco pterostilbeno (PTB) e seus cocristais com cafeína (CAF) e piperazina (PIP). Tween 80<sup>®</sup> (150 mM pH 5,0) foi utilizado para DNZ e uma formulação lipídica (Captex 355 / Capmul:Cremophor EL) para PTB. Os números representam a SA em tampão com e sem a presença de agente solubilizante ( $S_T$  e  $S_{aq}$ , respectivamente).....44
- Figura 9 – Dependência de  $SP_{\text{cocristal}}$  em  $SP_{\text{fármaco}}$  para cocristais de estequiometria 1:1 (—) e 2:1 (- - -).....45
- Figura 10 – Diferentes cenários de dissolução para um sal ou cocristal e a influência dos mecanismos de nucleação nas concentrações de fármaco.....48

Figura 11 - Dissolução do cocrystal IND-SAC em FeSSIF (vermelho) e em tampão (azul). (a) $[INZ]_T$ vs tempo e (b) supersaturação ( $[INZ]_T/S_{\text{fármaco}}$ ) gerada pelo cocrystal durante a dissolução. ....	50
Figura 12 – Dissolução <i>in vitro</i> (a) e <i>in vivo</i> (concentração plasmática) (b) para cocristais de danazol e polimorfo do fármaco sem e com a presença de E-TPGS e HPC. ....	51
Figura 13 - Estrutura molecular do meloxicam - forma 1 enol. ....	54
Figura 14 - Estrutura molecular dos coformadores ácido salicílico (a) e ácido maleico (b). ...	55
Figura 15 - Estrutura molecular do naproxeno (a) e nicotinamida (b). ....	57
Figura 16 - Desenho esquemático do preparo dos cocristais de MLX pelo método de reação de cristalização em solução. ....	62
Figura 17 - Concentrações eutéticas de fármaco e coformador medidas no ponto eutético. As concentrações de fármaco correspondem a $S_{\text{fármaco}}$ uma vez que a solução está saturada em relação ao fármaco. As concentrações eutéticas aumentam com o aumento do pH e na presença de FeSSIF. ....	70
Figura 18 - Relação entre $K_{eu}$ e SA para cocristais de MLX. A linha foi gerada a partir da forma logarítmica da equação 18. Os números próximos dos pontos experimentais indicam os valores de pH final dos experimentos de solubilidade. Os símbolos representam valores de SA e $K_{eu}$ do MLX-MLE (símbolos verdes) e MLX-SLX (símbolos vermelhos). Símbolos preenchidos correspondem aos dados em FeSSIF e no tampão pH 5,0 (sem FeSSIF). $K_{eu}$ e SA aumentam com o aumento do pH e diminuem em FeSSIF em comparação com tampão pH 5,0. ....	71
Figura 19 – Solubilidades do fármaco e dos cocristais aumentam com o pH e na presença de FeSSIF. As solubilidades dos cocristais foram determinadas no ponto eutético e a partir da equação 12. Valores de $S_{\text{cocrystal}}$ são maiores que $S_{\text{fármaco}}$ em todas as condições estudadas. A solubilização em FeSSIF é consistente com a relação $SP_{\text{cocrystal}} = SP_{\text{fármaco}}$ . Números em parênteses representam a força de solubilização ( $SP = S_{\text{FeSSIF}}/S_{\text{tampão pH 5,0}}$ ). $S_{\text{FeSSIF}}$ é a soma das concentrações de todas as espécies dissolvidas de fármaco e cocrystal (aquosa e micelar) nos experimentos de solubilidade em FeSSIF. $S_{\text{tampão pH 5,0}}$ representa a solubilidade do fármaco e dos cocristais no tampão pH 5,0 na ausência de agente solubilizante. ....	72
Figura 20 – Valores de pH inicial e do equilíbrio dos experimentos de solubilidade do fármaco e do ponto eutético dos cocristais. pH inicial representa o pH do meio ( $pH_{\text{bulk}}$ ) e o pH do equilíbrio representa o pH do microambiente ou interfacial ( $pH_{\text{int}}$ ). Os cocristais diminuíram o $pH_{\text{int}}$ em comparação com o $pH_{\text{bulk}}$ como resultado da ionização dos coformadores. $pH_{\text{int}}$ foi modulado em torno de 1,6 para MLX-MLE e em torno de 4,5 para MLX-SLC. ....	75
Figura 21 – Solubilidade do fármaco e dos cocristais em função do pH. Os símbolos preenchidos representam as solubilidades em FeSSIF. Curvas foram geradas a partir das equações (19), (20) e (21). Valores de pH correspondem ao pH do equilíbrio. A concentração	

( $C_{\text{dose,humanos}}$ ) correspondente a dose em humanos (0,17 mM) e a  $C_{\text{dose,in vitro}}$  correspondente a concentração nos estudos de dissolução (0,57 mM) estão representadas pelas linhas tracejadas. X representa a  $C_{\text{dose}}$  dos estudos de dissolução de Weyna et al., 2012. A razão da  $C_{\text{dose}}/\text{solubilidade}$  do fármaco ou *dose number* (Do) nos tampões de pH 1,6, 5,0, 6,5 e em FeSSIF pH 5,0 estão indicados pelas setas e foram calculados pela equação 16..... 78

Figura 22 – Perfis de dissolução do fármaco e cocristais em tampão pH 1,6, 5,0, 6,5 e FeSSIF pH 5,0. Os cocristais atingiram concentrações de fármaco maiores que aquelas atingidas na dissolução do fármaco puro. As mudanças entre o pH inicial e final das dissoluções não foram estatisticamente significantes ( $p > 0,05$ ). As concentrações em tampão pH 6,5 foram obtidas de Weyna et al., 2012. pH final das dissoluções em pH inicial 6,5 não foram relatados..... 80

Figura 23 – Perfis de supersaturação para MLX-SLC e MLX-MLE em tampão pH 6,5, 5,0, 6,5 e FeSSIF pH 5,0 nas primeiras 4 h de dissolução e em 24 h. Valores de Do para todas as condições de dissolução estão indicados. Níveis de supersaturação em tampão pH 6,5 foram calculados a partir dos dados relatados por Weyna et al., 2012. .... 81

Figura 24 – Dose number para o fármaco ( $Do = C_{\text{dose}}/S_{\text{fármaco}}$ ) e a vantagem de solubilidade do cocrystal ( $SA = S_{\text{cocrystal}}/S_{\text{fármaco}}$ ) para MLX-SLC e MLX-MLE nos meios de dissolução estudados. SA é maior para MLX-MLE e seu SA interfacial é reduzido significativamente para valor constante. Do e SA influenciam a curva de liberação do fármaco,  $\sigma_{\text{max}}$  e RAUC. . 82

Figura 25 - Imagem das gotas e ângulo de contato das amostras MLX, MLX-SLC e MLX-MLE em tampão pH 5,0 e FeSSIF pH 5,0..... 84

Figura 26 - Imagens microscópicas do comportamento de dissolução dos cocristais e precipitação do MLX nos valores de pH 1,6, pH 5,0 e 6,5 e FeSSF pH 5,0. As amostras foram coletadas durante a dissolução em diferentes tempos (1 - 60 minutos). A primeira coluna apresenta a nucleação na superfície e a segunda coluna mostra a nucleação no meio. Setas indicam MLX forma I e IV caracterizadas por Raman. A barra de escala representa 50  $\mu\text{m}$ . 85

Figura 27 – Espectros Raman da fase sólida precipitada no meio de dissolução (A) e das agulhas precipitadas na superfície de (B) MLX-MLE e (C) MLX-SLC. Os cristais com morfologia de agulhas estão demonstrados nas imagens microscópicas. .... 87

Figura 28 – Espectros Raman dos polimorfos de MLX relatado por Coppi L., Sanmarti B., 2005. Principais picos dos polimorfo IV estão indicados. .... 87

Figura 29 – Espectros Raman dos sólidos em pó: (a) MLX, (B) MLXSLC e (C) MLX-MLE. .... 88

Figura 30 - Valores diferentes de DS para MLX e o seu comportamento de precipitação na presença de FeSSIF. A primeira coluna apresenta as imagens obtidas em 1 minuto e a segunda coluna em 24 horas. Cristais circulares ou irregulares correspondem a forma estável do MLX e aumentam com a diminuição do DS. A barra de escala representa 10  $\mu\text{m}$ . .... 90

Figura 31 - Valores diferentes de DS para MLX e o seu comportamento de precipitação na ausência de FeSSIF. A primeira coluna apresenta as imagens obtidas em 1 minuto e a segunda

coluna em 24 horas. Cristais com morfologia de dendrítica/agulha foram observados na faixa de DS de 30 a 1200. A barra de escala representa 50  $\mu\text{m}$ . ..... 91

Figura - 32 Concentrações de fármaco e coformador das dissoluções de MLX-SLC e MLX-MLE até 24 h no (a) pH 1,6, (b) pH 5,0 e (c) FeSSIF pH 5,0. A concentração teórica máxima do componente corresponde à massa molar inicial adicionada no meio de dissolução. .... 93

Figura 33 Porcentagem de MLX-SLC e MLX-MLE dissolvida durante dissolução em tampão (pH 1,6 e 5,0) e FeSSIF (pH 5,0)..... 95

Figura 34 - Importância da  $C_{\text{dose}}$  e do ponto eutético nas concentrações de fármaco e coformador durante a dissolução dos cocristais no pH 1,6. (a) A  $C_{\text{dose}}$  do MLX-SLC é próxima da  $[\text{SLC}]_{\text{eu}}$ . Dissolução do cocrystal promove supersaturação em relação ao fármaco e aproxima-se da saturação em relação à fase sólida de cocrystal e fármaco no eutético. Conversão de cocrystal à fármaco é retardada à medida que se aproxima do eutético, resultando na dissolução incompleta do MLX-SLC. (b) A  $C_{\text{dose}}$  do MLX-MLE é muito menor que a  $[\text{MLE}]_{\text{eu}}$  e a conversão de cocrystal à fármaco ocorre em sua totalidade. Os pontos representam as concentrações de fármaco e coformador durante às dissoluções. A solubilidade do cocrystal (linha azul) foi obtida a partir da determinação do  $K_{\text{sp}}$  de acordo com as equações 14 e 15. A solubilidade do fármaco (linha tracejada) foi experimentalmente medida no ponto eutético..... 97

Figura 35 - Concentrações eutéticas de fármaco e coformador medidas no ponto eutético. As concentrações eutéticas de MLX e SLC aumentam na presença de Cremophor e Cremophor + PVP em comparação com o tampão, enquanto o MLE não é solubilizado pelos aditivos..... 104

Figura 36 - Relação entre  $K_{\text{eu}}$  e SA para cocristais de MLX no tampão pH 1,6 e na presença dos aditivos Cremophor e Cremophor + PVP. A linha foi gerada a partir da forma logarítmica da equação 18. Os símbolos representam valores de SA e  $K_{\text{eu}}$  do MLX-MLE (símbolos verdes) e MLX-SLX (símbolos vermelhos).  $K_{\text{eu}}$  e SA diminuem em Cremophor e Cremophor + PVP em comparação com tampão pH 1,6..... 104

Figura 37 –  $S_{\text{cocrystal}}$  e  $S_{\text{fármaco}}$  aumentam na presença de Cremophor e Cremophor + PVP. As solubilidades dos cocristais foram determinadas no ponto eutético e a partir da equação 12. Valores de  $S_{\text{cocrystal}}$  são maiores que  $S_{\text{fármaco}}$  em todas as condições estudadas. Números em parênteses representam a força de solubilização ( $SP_{\text{experimental}} = S_{\text{aditivo}}/S_{\text{tampão pH 1,6}}$ ).  $S_{\text{aditivo}}$  é a soma das concentrações de todas as espécies dissolvidas de fármaco e cocrystal (aquosa e micelar) nos experimentos de solubilidade em Cremophor e Cremophor + PVP.  $S_{\text{tampão pH 1,6}}$  representa a solubilidade do fármaco e dos cocristais no tampão pH 1,6 na ausência de aditivos. SP é menor para os cocristais do que para o fármaco como resultado da solubilização preferencial do fármaco pelo aditivo. .... 105

Figura 38 – Perfis de dissolução do fármaco e cocristais em tampão pH 1,6 (sem aditivos) e em tampão pH 1,6 contendo Cremophor e Cremophor + PVP. Os cocristais atingiram concentrações de fármaco maiores que aquelas atingidas na dissolução do fármaco puro.... 106

Figura 39 – Perfis de supersaturação para MLX-SLC e MLX-MLE em tampão pH 1,6 (sem aditivos) e em tampão pH 1,6 contendo Cremophor e Cremophor + PVP. .... 107

- Figura 40 - Concentrações de fármaco e coformador das dissoluções de MLX-SLC e MLX-MLE até 4 h no (a) tampão pH 1,6 e com a adição de (b) Cremophor e (c) Cremophor + PVP. A concentração teórica máxima do componente corresponde à massa molar inicial adicionada no meio de dissolução..... 110
- Figura 41 – Imagens microscópicas do comportamento de dissolução dos cocristais MLX-SLC e MLX-MLE e precipitação do fármaco no tampão pH 1,6 contendo Cremophor. As amostras foram coletadas durante a dissolução em diferentes tempos (1 min a 4h), Aumento 20x. Setas indicam o fármaco e cocrystal. A barra de escala representa 50  $\mu$ m..... 112
- Figura 42 – Imagens microscópicas do comportamento de dissolução dos cocristais MLX-SLC e MLX-MLE e precipitação do fármaco no tampão pH 1,6 contendo Cremophor + PVP. As amostras foram coletadas durante a dissolução em diferentes tempos (1 min a 4 h), Aumento 20x. Setas indicam o fármaco e os cocrystal. A barra de escala representa 50  $\mu$ m. 113
- Figura 43 – Dose Number para o fármaco ( $Do = C_{dose}/S_{fármaco}$ ) e a vantagem de solubilidade do cocrystal ( $SA = S_{cocrystal}/S_{fármaco}$ ) para MLX-SLC e MLX-MLE nos meios: tampão pH 1,6, Cremophor e Cremophor + PVP. SA é maior para MLX-MLE e diminui para ambos cocristais na presença dos aditivos.  $\sigma_{max}$  e RAUC aumentam na presença de Cremophor + PVP em comparação com Cremophor..... 116
- Figura 44 - Resultado das análises por DSC do coformador NIC, da mistura física, da amostra cocrystalizada e do fármaco NPX. .... 126
- Figura 45 - Difractogramas da amostra de NPX matéria-prima e do padrão de difração calculado para NPX polimorfo I relatado por Ravikumar et al., 1985..... 127
- Figura 46 - Difractogramas da amostra obtida por cocrystalização e do padrão de difração calculado para NPX-NIC..... 128
- Figura 47 - Espectros de FT-IR das amostras de NIC, de NPX e da amostra cocrystalizada NPX-NIC..... 129
- Figura 48 - Concentrações eutéticas de fármaco e coformador medidas no ponto eutético. As concentrações eutéticas de NPX aumentam com o aumento do pH enquanto NIC não apresenta mudança significativa ( $p > 0,05$ )...... 130
- Figura 49 - Relação entre  $K_{eu}$  e SA para NPX-NIC. A linha foi gerada a partir da forma logarítmica da equação 25. Os números próximos dos pontos experimentais indicam os valores de pH final dos experimentos de solubilidade.  $K_{eu}$  e SA aumentam com a diminuição do pH devido à ionização do coformador tipo base. .... 131
- Figura 50 - Solubilidades do fármaco, coformador e do cocrystal em função do pH. Símbolos representam dados experimentais de solubilidade. As curvas foram geradas a partir das equações 26, 27 e 28. Valores de pH correspondem ao pH do equilíbrio. A concentração ( $C_{dose}$ ) correspondente à concentração utilizada nos experimentos de dissolução (8,68 mM) está indicada pela linha tracejada. O dose number ( $Do_{fármaco}$ ) nos tampões de pH 1,6, 5,0, e na



presença de Tween 80 e PVPK 30 estão indicados pelas setas e foram calculados pela equação 16. ....	134
Figura 51 - Concentração de fármaco vs tempo para as dissoluções do NPX e do cocristal NPX-NIC no pH 1,6. A linha tracejada representa a solubilidade do fármaco no pH final da dissolução ( $pH_{final} = 1,80$ ). ....	135
Figura 52 - Concentração de fármaco vs tempo para as dissoluções do NPX e do cocristal NPX-NIC no pH 5,0. A linha tracejada representa a solubilidade do fármaco no pH final da dissolução ( $pH_{final} = 5,00$ ). ....	136
Figura 53 – Solubilidade experimental para NPX e NPX-NIC em Tween 80 e PVP K30. Números acima das colunas indicam a $SP_{experimental}$ ( $SP = S_{aditivo}/S_{tampão}$ ). A relação $SP_{cocristal} = (SP_{fármaco})^{2/3}$ é observada. ....	137
Figura 54 - Concentração de fármaco vs tempo para as dissoluções do NPX e do cocristal NPX-NIC na presença de Tween 80 e PVP K30. A linha tracejada representa a $S_{fármaco}$ no pH final da dissolução na presença do aditivo ( $pH_{final} = 1,77$ em Tween e $pH_{final} = 1,82$ em PVP). ....	138
Figura 55 - Concentrações de fármaco e coformador das dissoluções de NPX-NIC nos tampões pH 1,6 (a) e pH 5,0 (b) e no tampão pH 1,6 com adição de Tween 80 (c) e PVP K30 (d). A concentração teórica máxima do coformador corresponde à massa molar inicial adicionada ao meio de dissolução. ....	140
Figura 56 – Imagens microscópicas de NPX e NPX-NIC no estado sólido. Aumento 20x... 140	140
Figura 57 - Imagens obtidas em microscópio invertido durante a dissolução de NPX-NIC no tampão pH 1,6, pH 5,0 e tampão pH 1,6 + Tween 80. Aumento 20x. ....	141
Figura 58 - Imagens obtidas em microscópio invertido durante a dissolução de NPX-NIC no tampão pH 1,6 + PVP K30. Aumento 20x. Os números indicam os minutos. Setas indicam o cocristal NPX-NIC. ....	143
Figura 59 – Supersaturação ( $[NPX]_T/S_{fármaco}$ ) durante a dissolução do cocristal NPX-NIC no pH 1,6 e 5,0 e sob a influência dos aditivos Tween 80 e PVP K30. Números próximos das curvas correspondem ao $SA_{bulk}$ nos valores de pH final das dissoluções. ....	145

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Exemplos de produtos contendo cocristais disponíveis no mercado e em fase de teste clínico.....	31
Tabela 2 - Cocristais de meloxicam relatados na literatura.....	53
Tabela 3 - Cocristais de naproxeno relatados na literatura.....	56
Tabela 4 - Condições cromatográficas utilizadas para quantificação de MLX, SLC e MLE. .	67
Tabela 5 – Valores de pH inicial e final dos experimentos de solubilidade do fármaco e cocristais. ....	73
Tabela 6 - Valores de $pK_a$ dos componentes dos cocristais.....	76
Tabela 7 - $K_{sp}$ , $pK_{sp}$ , solubilidade intrínseca e vantagem de solubilidade dos cocristais de MLX. Valores altos de $K_{sp}$ implicam em valores maiores de solubilidade intrínseca. ....	76
Tabela 8 - Dose de MLX, $C_{dose}$ e o <i>dose number</i> (Do) em diferentes condições de dissolução. ....	79
Tabela 9 - Valores de pH inicial e final dos experimentos de dissolução do fármaco e dos cocristais. ....	80
Tabela 10 - Parâmetros chave na avaliação do comportamento de dissolução dos cocristais de meloxicam. ....	82
Tabela 11- Medida dos ângulos de contato para o fármaco e cocristais. ....	84
Tabela 12 - Cristalização do MLX durante a dissolução dos cocristais.....	89
Tabela 13 - Percentual de cocristal e de fármaco dissolvidos provenientes das dissoluções de cada fase sólida nos tampões de $pH_{bulk}$ 1,6, 5,0 e 6,5.....	95
Tabela 14 - Aditivos utilizados nos estudos de solubilidade e dissolução dos cocristais de meloxicam. ....	102
Tabela 15 - Valores de pH inicial e final dos experimentos de dissolução do fármaco e dos cocristais. ....	106
Tabela 16 - Meios de dissolução, supersaturação máxima, RAUC, Do e a vantagem de solubilidade interfacial e no meio.....	108
Tabela 17 - Porcentagem de cocristal dissolvido durante as dissoluções no tampão pH 1,6, e no tampão pH 1,6 com adição de Cremophor e Cremophor + PVP.....	109

Tabela 18 - Aditivos utilizados nos estudos de solubilidade e dissolução. ....	121
Tabela 19 - Condições cromatográficas utilizadas para quantificação de NPX e NIC. ....	124
Tabela 20 - Concentrações eutéticas de fármaco e coformador, pH inicial e final, solubilidade do cocristal e do fármaco e a vantagem de solubilidade do cocristal em relação ao fármaco SA. ....	132
Tabela 21 - $K_{sp}$ , $pK_{sp}$ , $pK_a$ e solubilidade intrínseca do cocristal e seus componentes a 25°C. ....	133
Tabela 22 – Valores de pH inicial e do equilíbrio, $S_{cocristal}$ e a SA em tampão pH 1,6, Tween 80 e PVPK 30. ....	137
Tabela 23 - Porcentagem do cocristal NPX-NIC dissolvido durante as dissoluções no tampão pH 1,6, pH 5,0 e na presença de Tween 80 e PVP K30. ....	139
Tabela 24 - Resumo dos parâmetros obtidos nas dissoluções do NPX-NIC nos tampões pH 1,6, 5,0 e na presença de Tween 80 e PVP K30. ....	146

## LISTA DE ABREVIATURAS E TERMOS

$[\text{coformador}]_{\text{eu}}$	Concentração de coformador no ponto eutético
$[\text{fármaco}]_{\text{eu}}$	Concentração de fármaco no ponto eutético
AUC	Área sob a curva
$C_{\text{dose}}$	Razão da dose do fármaco pelo volume ( $M_0/V_0$ )
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
CSD	<i>Cambridge Structural Database</i>
Do	<i>Dose number</i> ou razão da $C_{\text{dose}}/S_{\text{fármaco}}$
DRXP	Difração de raios X de pó
DSC	<i>Differential scanning calorimetry</i>
DSF	Diagrama de solubilidade de fases
DSP	Dissolução-supersaturação-precipitação
$K_a$	Constante de ionização ácida
$K_{\text{eu}}$	Constante eutética, $K_{\text{eu}} \equiv [\text{coformador}]_{\text{eu}} / [\text{fármaco}]_{\text{eu}}$
$K_{\text{sp}}$	Produto da solubilidade
MCR	Método cristalização por reação
MLE	Ácido maleico
MLX	Meloxicam
MLX-MLE	Cocrystal de meloxicam com ácido maleico
MLX-SLC	Cocrystal de meloxicam com ácido salicílico
NPX-NIC	Cocrystal de naproxeno com nicotinamida
NPX	Naproxeno
NIC	Nicotinamida
$\text{pH}_{\text{eq}}$	pH final dos experimentos de solubilidade
RAUC	$AUC_{\text{cocrystal}}/AUC_{\text{fármaco}}$
S	Solubilidade em equilíbrio
$S_0$	Solubilidade intrínseca
SA	Vantagem de solubilidade do cocrystal em relação ao fármaco, $SA = (S_{\text{cocrystal}}/S_{\text{fármaco}})$
$S_{\text{aq}}$	Solubilidade em meio aquoso sem a presença de aditivo solubilizante

SDDS	<i>Supersaturating drug delivery systems</i>
SLC	Ácido salicílico
SP	Razão de solubilização, $SP = S_T / S_{aq}$
$SP_{\text{cocrystal}}$	Razão de solubilização do cocrystal, $(S_T / S_{aq})_{\text{cocrystal}}$
$SP_{\text{fármaco}}$	Razão de solubilização do fármaco, $(S_T / S_{aq})_{\text{fármaco}}$
$S_T$	Solubilidade total em meio com agente solubilizante ( $S_T = S_{\text{aquoso}} + S_{\text{aditivo}}$ )
$\sigma_{\text{max}}$	Supersaturação máxima = $(C_{\text{max}} / S_{\text{fármaco}})$

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>25</b>
1.1	OBJETIVOS.....	26
<b>1.1.1</b>	<b>Objetivo geral.....</b>	<b>26</b>
<b>1.1.2</b>	<b>Objetivos específicos.....</b>	<b>26</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>28</b>
2.1	COCRISTAIS: DEFINIÇÃO E ASPECTOS GERAIS .....	28
2.2	OBTENÇÃO DE COCRISTAIS .....	31
2.3	SOLUBILIDADE DOS COCRISTAIS E PARÂMETROS TERMODINÂMICOS 34	
<b>2.3.1</b>	<b>Solubilidade, solvatação e energia de rede cristalina .....</b>	<b>34</b>
<b>2.3.2</b>	<b>Vantagem de solubilidade do cocrystal e ionização.....</b>	<b>35</b>
<b>2.3.3</b>	<b>Ponto eutético, produto da solubilidade do cocrystal (<math>K_{sp}</math>) e constante eutética (<math>K_{eu}</math>)</b>	<b>38</b>
<b>2.3.4</b>	<b>Influência de agentes solubilizantes na solubilidade do fármaco e dos cocrystalis</b>	<b>42</b>
<i>2.3.4.1</i>	<i>Solubilização do cocrystal vs solubilização do fármaco .....</i>	<i>44</i>
2.4	DISSOLUÇÃO DOS COCRISTAIS .....	45
<b>2.4.1</b>	<b>Dose number (Do).....</b>	<b>46</b>
<b>2.4.2</b>	<b>Mecanismos de nucleação .....</b>	<b>47</b>
<b>2.4.3</b>	<b>Surfactantes naturalmente presentes no TGI.....</b>	<b>49</b>
<b>2.4.4</b>	<b>Surfactantes sintéticos e polímeros .....</b>	<b>50</b>
2.5	FÁRMACOS .....	52
<b>2.5.1</b>	<b>Meloxicam .....</b>	<b>52</b>
<b>2.5.2</b>	<b>Naproxeno .....</b>	<b>55</b>
<b>3</b>	<b>COCRISTAIS DE MELOXICAM: PAPEL DO PH E DO MEIO BIORRELEVANTE FESSIF NA DISSOLUÇÃO DO COCRISTAL E SUPERSATURAÇÃO-PRECIPITAÇÃO DO FÁRMACO.....</b>	<b>59</b>
3.1	INTRODUÇÃO.....	59
3.2	METODOLOGIA.....	60
<b>3.2.1</b>	<b>Materiais.....</b>	<b>60</b>
<i>3.2.1.1</i>	<i>Componentes dos cocrystalis .....</i>	<i>60</i>
<i>3.2.1.2</i>	<i>Solventes e tampões .....</i>	<i>61</i>
<b>3.2.2</b>	<b>Métodos.....</b>	<b>61</b>
<i>3.2.2.1</i>	<i>Preparo dos cocrystalis.....</i>	<i>61</i>

3.2.2.2	<i>Difração de raios X (DRXP)</i> .....	62
3.2.2.3	<i>Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)</i> .....	62
3.2.2.4	<i>Espectroscopia vibracional na região do infravermelho (FT-IR)</i> .....	62
3.2.2.5	<i>Preparo dos meios de dissolução e solubilidade</i> .....	63
3.2.2.6	<i>Solubilidade do MLX</i> .....	63
3.2.2.7	<i>Solubilidade do cocristal</i> .....	64
3.2.2.8	<i>Dissolução do fármaco e dos cocristais</i> .....	65
3.2.2.9	<i>Dose number (Do)</i> .....	66
3.2.2.10	<i>Instrumentação e condições cromatográficas</i> .....	66
3.2.2.11	<i>Microscopia óptica</i> .....	67
3.2.2.11.1	Avaliação da cinética de dissolução dos cocristais .....	67
3.2.2.11.2	Avaliação da precipitação do MLX.....	68
3.2.2.12	<i>Avaliação da molhabilidade</i> .....	68
3.2.2.13	<i>Espectroscopia Raman com microscópio acoplado</i> .....	69
3.3	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	69
3.3.1	<b><math>K_{eu}</math>, SA e solubilidade</b> .....	69
3.3.2	<b>Os cocristais modulam o pH microambiente</b> .....	73
3.3.3	<b>Dependência da solubilidade do fármaco e dos cocristais ao pH</b> .....	75
3.3.4	<b>Importância do dose number (Do)</b> .....	78
3.3.5	<b>Perfil de concentração e supersaturação de fármaco vs tempo</b> .....	79
3.3.6	<b>Molhabilidade dos cocristais e do fármaco</b> .....	83
3.3.7	<b>Avaliação da precipitação do fármaco</b> .....	84
3.3.8	<b>O que a concentração de coformador pode informar sobre a DSP dos cocristais?</b> 92	
3.4	<b>CONCLUSÃO</b> .....	97
4	<b>COCRISTAIS DE MELOXICAM: INFLUÊNCIA DE ADITIVOS NA CINÉTICA DE DISSOLUÇÃO DOS COCRISTAIS E SUPERSATURAÇÃO DO FÁRMACO</b> .....	100
4.1	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	100
4.2	<b>METODOLOGIA</b> .....	101
4.2.1	<b>Materiais</b> .....	101
4.2.1.1	<i>Componentes dos cocristais</i> .....	101
4.2.1.2	<i>Aditivos, solventes e tampões</i> .....	101
4.2.2	<b>Métodos</b> .....	101
4.2.2.1	<i>Preparo dos cocristais</i> .....	101

4.2.2.2	<i>Solubilidade e dissolução do fármaco e dos cocristais na presença de Cremophor 102</i>	
4.2.2.3	<i>Microscopia óptica</i> .....	103
4.2.2.3.1	Avaliação da cinética de dissolução dos cocristais .....	103
4.1	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	103
4.1.1	<b>Solubilização do fármaco e dos cocristais</b> .....	103
4.1.2	<b>Perfil de concentração e supersaturação de fármaco vs tempo</b> .....	106
4.1.1	<b>Taxa de dissolução do cocrystal</b> .....	108
4.1.1	<b>Utilização da microscopia invertida na avaliação da dissolução dos cocristais e precipitação do fármaco</b> .....	111
4.1.2	<b>Influência dos aditivos na modulação do Do, da SA e o comportamento de dissolução dos cocristais de meloxicam</b> .....	113
4.2	<b>CONCLUSÃO</b> .....	116
<b>5</b>	<b>NAPROXENO-NICOTINAMIDA: ACESSANDO A SUPERSATURACÃO E O COMPORTAMENTO DE PRECIPITAÇÃO DO FÁRMACO</b> .....	<b>118</b>
5.1	<b>METODOLOGIA</b> .....	119
5.1.1	<b>Materiais</b> .....	119
5.1.2	<b>Métodos</b> .....	119
5.1.2.1	<i>Síntese do cocrystal</i> .....	119
5.1.2.2	<i>Técnicas de caracterização</i> .....	120
5.1.2.3	<i>Preparo dos meios de dissolução e solubilidade</i> .....	120
5.1.2.4	<i>Solubilidade do MLX</i> .....	121
5.1.2.5	<i>Solubilidade do cocrystal</i> .....	121
5.1.2.6	<i>Dissolução do fármaco e dos cocristais</i> .....	122
5.1.2.7	<i>Instrumentação e condições cromatográficas</i> .....	123
5.1.2.8	<i>Microscopia óptica</i> .....	124
5.1.2.8.1	Avaliação da cinética de dissolução do cocrystal e precipitação do fármaco .....	124
5.2	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	125
5.2.1	<b>Caracterização do cocrystal e seus componentes</b> .....	125
5.2.2	<b><math>K_{eu}</math>, SA e solubilidade em função do pH</b> .....	129
5.2.3	<b>Dependência da solubilidade do fármaco e dos cocristais no pH</b> .....	132
5.2.4	<b>Perfil de concentração de fármaco vs tempo no pH 1,6 e 5,0</b> .....	134
5.2.5	<b>Solubilização e perfil de concentração de fármaco vs tempo na presença de Tween 80<sup>®</sup> e PVP K30<sup>®</sup></b> .....	136
5.2.6	<b>% de cocrystal dissolvido</b> .....	138
5.2.7	<b>Avaliação do comportamento de dissolução do cocrystal e precipitação do fármaco por meio de microscopia óptica invertida</b> .....	140



<b>5.2.8 Comportamento de DSP do NPX-NIC e correlação com os parâmetros SA e Do</b>	<b>144</b>
<b>5.3 CONCLUSÕES .....</b>	<b>148</b>
<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>149</b>
<b>APÊNDICE .....</b>	<b>151</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>156</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Limitações de solubilidade aquosa e absorção de fármacos são as características mais desafiadoras no desenvolvimento de novas formulações farmacêuticas (GANESAN; COOTE; BARAKAT, 2017). Visando aumentar a inserção de medicamentos mais efetivos no mercado, modificações na estrutura sólida capazes de modular propriedades físico-químicas de fármacos têm sido amplamente utilizadas pela indústria farmacêutica (KALE; ZODE; BANSAL, 2016). Dentre elas, os cocristais surgiram como uma estratégia promissora e, nos últimos anos, têm gerado uma série de modelos de estudo, ganhando interesse tanto na área de engenharia de cristais como na área farmacêutica (DUGGIRALA *et al.*, 2020). Cocristais farmacêuticos são sólidos multicomponentes, assim como os sais e os solvatos. São geralmente formados por um fármaco e outra molécula não tóxica e neutra, conhecida como coformador, que interagem preferencialmente por ligações de hidrogênio (THAKURIA *et al.*, 2013). A principal vantagem dos cocristais está na habilidade em modular a sua solubilidade e supersaturação, de acordo com as características do coformador e das condições do meio/solução em que se encontram. Estratégias como formação de sais, cocristais e amorfos podem gerar soluções supersaturadas, em que a concentração de fármaco excede o seu valor de solubilidade no meio de dissolução. Esses sistemas têm demonstrado solucionar problemas de biodisponibilidade de fármacos poucos solúveis, no entanto, devido à sua natureza metaestável, tendem a sofrer conversão mediada por solução. Alterações de pH, aditivos como polímeros, surfactantes e até mesmo os fluídos biológicos podem alterar a solubilidade do cocrystal e os mecanismos de nucleação e cristalização do fármaco (CHEN; RODRÍGUEZ-HORNEDO, 2018; CHILDS; KANDI; LINGIREDDY, 2013). Diante disso, o comportamento dos cocristais em solução não deve ser generalizado à simples estudos de dissolução e medida de concentração do fármaco *versus* tempo. Estes estudos possuem limitações podendo levar a uma avaliação imprecisa do desempenho dos cocristais. Neste contexto, o presente trabalho tem como propósito determinar os mecanismos pelos quais cocristais de meloxicam e naproxeno aumentam a solubilidade, supersaturação e dissolução sob a influência de variáveis, como o pH e presença de aditivos. Os parâmetros: *dose number* ( $Do = C_{dose}/S_{fármaco}$ ) e a vantagem de solubilidade do cocrystal pelo fármaco ( $SA = S_{cocrystal}/S_{fármaco}$ ) foram utilizados com a finalidade de elucidar os processos de dissolução-supersaturação-precipitação destes cocristais. Os resultados desta tese estão apresentados da

seguinte forma: Capítulo I - Revisão de literatura; Capítulo II – Cocristais de meloxicam: papel do pH e do meio biorrelevante FeSSIF na dissolução do cocrystal e supersaturação-precipitação do fármaco; Capítulo III – Cocristais de meloxicam: influência de aditivos na cinética de dissolução dos cocristais e precipitação do fármaco; Capítulo IV – Naproxeno – nicotinamida: acessando a supersaturação e o comportamento de dissolução do cocrystal e precipitação do fármaco

## 1.1 OBJETIVOS

### 1.1.1 Objetivo geral

Investigar os mecanismos pelos quais os cocristais aumentam a solubilidade, a dissolução e supersaturação do fármaco.

### 1.1.2 Objetivos específicos

- Obter e caracterizar os cocristais farmacêuticos;
- Aplicar equações para predição da solubilidade de cocristais em função do pH e na presença de aditivos que solubilizam o fármaco;
- Determinar a solubilidade dos cocristais no ponto eutético em soluções aquosas em diversos valores de pH e na presença de diferentes aditivos, tais como: surfactantes, polímeros e meio biorrelevante;
- Determinar os parâmetros: produto da solubilidade ( $K_{sp}$ ), constante eutética ( $K_{eu}$ ), vantagem de solubilidade (SA) e o *dose number* (Do) e, avaliar como estes parâmetros são influenciados pelas mudanças de pH e pela presença de aditivos solubilizantes.
- Realizar estudos de dissolução dos cocristais e fármacos em diferentes meios;
- Utilizar a microscopia óptica invertida para avaliar mecanismo de dissolução dos cocristais e precipitação do fármaco.
- Aplicar os parâmetros Do e SA na compreensão da cinética de dissolução dos cocristais.

**CAPÍTULO I**  
**REVISÃO DE LITERATURA**

---

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 COCRISTAIS: DEFINIÇÃO E ASPECTOS GERAIS

Grande parte dos fármacos disponíveis no mercado, bem como aqueles que vêm sendo descobertos, apresentam limitações de solubilidade aquosa e velocidade de dissolução (AMIDON *et al.*, 1995; TAYLOR; ZHANG, 2016). Diversas estratégias tecnológicas que permitem melhorar essas características vêm sendo desenvolvidas, dentre elas, encontra-se a formação de cocristais (DUGGIRALA *et al.*, 2020; HEALY *et al.*, 2017).

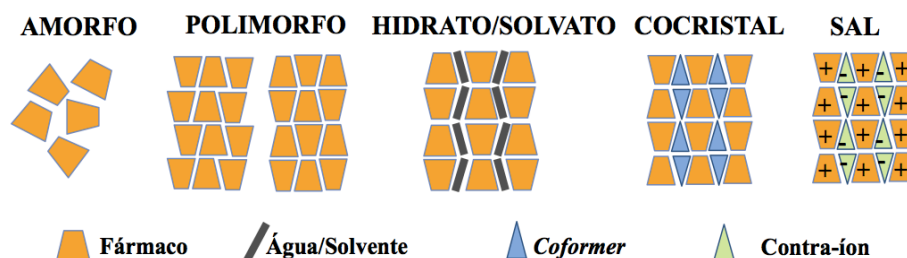
Apesar dos cocristais serem considerados uma abordagem atual, existem relatos da obtenção destes complexos há muitas décadas. Em 1844, Wöhler sintetizou um complexo molecular formado por quinona e hidroquinona: a quinidrona, que, posteriormente, tornou-se o primeiro cocrystal depositado no banco de dados de estruturas cristalinas da Cambridge (CSD- *Cambridge Structural Database*) (NANGIA, 2010). No entanto, a popularização do termo cocrystal ganhou destaque somente a partir da década de 90, quando Margaret C. Etter estudou extensivamente o papel das interações de hidrogênio na obtenção de cristais multicomponentes (ETTER, 1991; ETTER; FRANKENBACH, 1989). Deste então, as pesquisas nesta área vêm ganhando espaço em diversas áreas, como a engenharia de materiais, de alimentos, química e a farmacêutica.

A definição de cocrystal foi consolidada no ano de 2011 com o lançamento pelo órgão *Food and Drug Administration* (FDA) do primeiro guia sobre o assunto, o qual impulsionou a comunidade científica a posicionar-se a respeito. Logo, com o objetivo de aprimorar a definição publicada pela FDA, Aitipamula e colaboradores (2012) definiram os cocristais como materiais que apresentam uma única fase cristalina formada por dois ou mais compostos moleculares ou iônicos em proporções estequiométricas e que, isolados, são sólidos em condições ambientes (25°C/1 atm) (AITIPAMULA *et al.*, 2012; FDA, 2011, 2018).

A Figura 1 apresenta diferentes sólidos multicomponentes (sais, hidratos, solvatos e cocristais) e do polimorfo e forma amorfa do fármaco. No caso de cocristais farmacêuticos, um dos componentes corresponde ao fármaco e o outro ao coformador. O coformador geralmente compreende moléculas sem atividade farmacológica e não tóxicas ou pode ser outra substância ativa, no caso de uma associação em dose fixa combinada. Estas moléculas

são normalmente selecionadas com base nas regiões de complementaridade molecular com o fármaco e na presença de grupos funcionais capazes de formar as ligações de hidrogênio entre ambos (FDA, 2018; BOND, 2012; ETTER, 1991).

Figura 1 - Desenho esquemático ilustrando arranjos de estado sólido de fármacos.



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

Do ponto de vista regulatório, para o FDA, um cocrystal farmacêutico é classificado de forma semelhante a um polimorfo do fármaco, não sendo considerado como um novo fármaco. No caso de cocrystal compostos por dois ou mais fármacos, classificam-se como um produto de dose fixa combinada. Nesse contexto, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) publicou pela primeira vez em 2017, uma nota técnica similar ao documento emitido pela FDA sobre aspectos relacionados ao registro de produtos farmacêuticos contendo cocrystal (ANVISA, 2017; FDA, 2018).

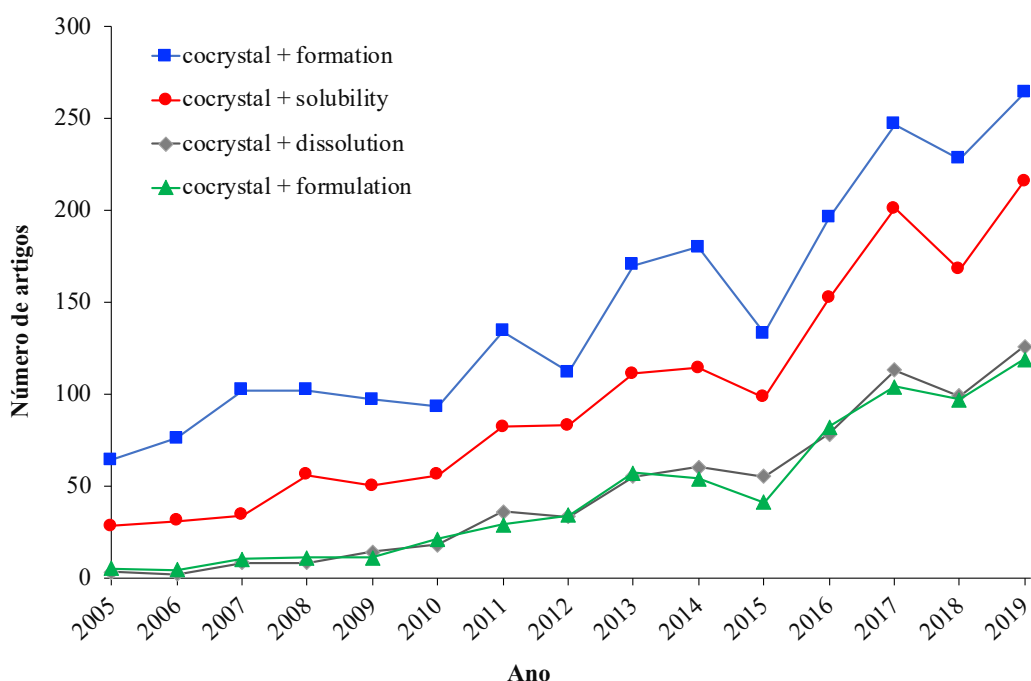
É importante citar que cocrystal, ao contrário de sais, possibilitam a obtenção de novas espécies cristalinas com fármacos neutros e não somente com moléculas ionizáveis. Além disso, os cocrystal podem apresentar grande estabilidade termodinâmica no estado sólido, diferente dos sólidos amorfos que tendem a converter para fármaco durante o armazenamento, e, apresentam solubilidade em maior escala quando comparados aos polimorfos (BLAGDEN; COLES; BERRY, 2014; SCHULTHEISS; HENCK, 2012).

A formação de cocrystal tem sido extensivamente relatada como uma estratégia passível de aprimorar diversas propriedades físico-químicas dos fármacos, como higroscopicidade, propriedades de fluxo, permeabilidade, estabilidade e, em sua grande maioria, solubilidade, sem comprometer a atividade terapêutica da molécula (AITIPAMULA *et al.*, 2012; BOLLA; NANGIA, 2016; BRITAIN, 2013; MACHADO *et al.*, 2018; SMITH *et al.*, 2011).

Em comparação com outras tecnologias farmacêuticas, a cocrystalização tem apresentado crescimento acelerado nas pesquisas. Entretanto, uma revisão sobre o tema

demonstrou que a maioria dos trabalhos com cocrystal concentra-se na obtenção e caracterização dos mesmos e que estudos avaliando solubilidade, dissolução e outros aspectos essenciais para o desenvolvimento de formulações estão em menor número (ROCHA *et al.*, 2016). A Figura 2 apresenta dados atualizados do número de trabalhos envolvendo cocrystal e indica que a tendência segue a mesma daquela apresentada por Rocha e colaboradores (2016).

Figura 2 - Número de artigos sobre o tema cocrystal publicados durante o período de 2005 a 2019. Pesquisa obtida a partir da base de dados Science Direct utilizando as palavras chave: “*cocrystal + formation, solubility, dissolution and formulation*”.



Fonte: Adaptado de Rocha *et al.*, 2016 com dados atualizados.

Tendo em vista este cenário, a indústria farmacêutica vem aderindo a esta tecnologia, demonstrando grande interesse principalmente pela possibilidade de inovação e proteção por meio de patentes que a cocrystalização oferece. Contudo, devido às implicações relacionadas à regulamentação, à classificação e à diferenciação de outras formas sólidas as quais não estavam bem definidas, muitos produtos farmacêuticos contendo cocrystal foram no passado inicialmente registrados como sais (DUGGIRALA *et al.*, 2015; HOFFMAN; JEFREY; LINDEMAN, 2012).

Uma publicação recente traz dados atualizados de cocrystal comercializados e produtos em fase de desenvolvimento. Alguns exemplos estão apresentados na Tabela 1

(KAVANAGH *et al.*, 2019). Destaca-se que a obtenção de cocrystalis fármaco-fármaco, como os encontrados no Entresto® e Depakene®, apresentam benefícios como redução de dose devido ao aumento da solubilidade, ação sinérgica, diminuição de efeitos adversos, dentre outros (HANEED; CHADHA, 2017; PUTRA *et al.*, 2016; THIPPARABOINA *et al.*, 2016).

Tabela 1- Exemplos de produtos contendo cocrystalis disponíveis no mercado e em fase de teste clínico.

Cocrystal (componente)	Ano de lançamento ou estágio de desenvolvimento	Companhia Farmacêutica
Depakote® (ácido valpróico e valproato de sódio)	1983	Abbott
Cafcit® (cafeína e ácido cítrico)	1999	Bedfort Labs
Lexapro® (oxalato de escitalopram e ácido oxálico)	2002	Lundbeck
Suglat® (ipraglifozina e L-prolina)	2014	Astellas
Odomzo® (sonidegib e ácido fosfórico)	2015	Novartis
Entresto® (valsartana e sacubitril)	2015	Novartis
Steglatro® (ertuglifozina e L-ácido piroglutâmico)	2017	Merck & Co
E-58425 (tramadol e celecoxibe)	III	Esteve
CC-31244 (inibidor não nucleosídeo de polimerase)	II	Cocrystal Pharma
TAK-020 (TAK-020 e ácido gentísico)	I	Takeda

Fonte: Adaptado de (KAVANAGH *et al.*, 2019).

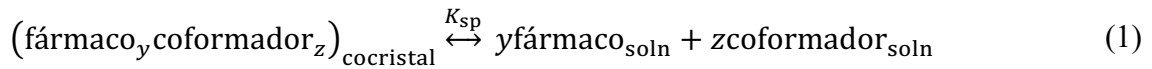
## 2.2 OBTENÇÃO DE COCRISTAIS

A obtenção de cocrystalis pode ser realizada por uma variedade de métodos em solução e no estado sólido, como por exemplo as moagens (a seco ou com adição de solvente), evaporação lenta do solvente, fusão, fluido supercrítico, micro-ondas e ultrassom, dentre outros (CHENEY *et al.*, 2011; CHILDS; STAHLY; PARK, 2007; JAYASANKAR; GOOD; RODRÍGUEZ-HORNEDO, 2007; LU; RODRÍGUEZ-HORNEDO; SURYANARAYANAN, 2008; PAGIRE *et al.*, 2013).

Neste trabalho, a abordagem principal encontra-se no método de cristalização em solução, mais especificamente no método de cristalização por reação (MCR) (RODRÍGUEZ-HORNEDO *et al.*, 2006). O MCR baseia-se na geração de supersaturação da solução em relação ao cocrystal, enquanto a solução encontra-se apenas saturada ou insaturada em relação aos componentes do cocrystal. A formação do cocrystal requer que dois ou mais diferentes componentes moleculares cristalizem em uma única fase homogênea e de estequiometria bem



definida, de acordo com a reação:



Onde  $y$  e  $z$  representam os coeficientes estequiométricos de fármaco e coformador, respectivamente. Essa reação descreve a precipitação do cocrystal (direita para esquerda) e a dissolução (esquerda para direita), e o seu produto de solubilidade é a constante de equilíbrio ( $K_{sp}$ ) descrita como:

$$K_{sp}=[A]^y[B]^z \quad (2)$$

Em que  $[A]$  e  $[B]$  representam as concentrações de cada componente do cocrystal. Importante mencionar que o  $K_{sp}$  se refere às concentrações neutras de cada constituinte e não inclui outras espécies em solução (KUMINEK *et al.*, 2019).

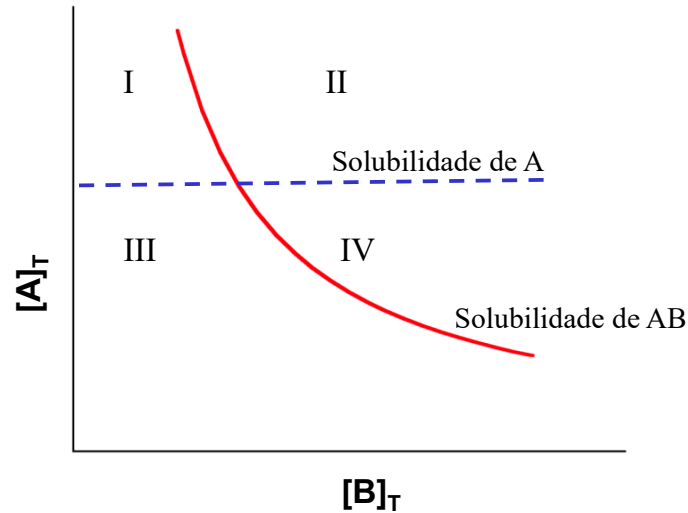
A força motriz para a nucleação e crescimento de cristais é a supersaturação ( $\sigma$ ), e para cocrystal é expressa em termos do produto da concentração:

$$\sigma = \left( \frac{\alpha_A \alpha_B}{K_{sp,a}} \right)^{1/2} \cong \left( \frac{[A][B]}{K_{sp}} \right)^{1/2} \quad (3)$$

Esta equação demonstra que a supersaturação em relação ao cocrystal é dependente da composição da solução e aumenta por meio do aumento das concentrações de cada componente acima do  $K_{sp}$ .

O diagrama de solubilidade de fases do cocrystal (Figura 3), no qual este método é fundamentado, demonstra condições de insaturação, saturação e supersaturação com relação ao cocrystal e/ou às fases cristalinas individuais.

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



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

Logo, para obtenção de um cocristal, é necessário acessar a região de supersaturação relacionada ao cocristal por meio do preparo de soluções dos reagentes A (fármaco) e B (coformador) de tal modo que as concentrações se encontrem na região IV do diagrama. Esta condição pode ser atingida através da mistura de soluções, onde os reagentes estão dissolvidos, ou também dissolvendo-se o(s) reagente(s) sólido(s) A e/ou B no solvente puro ou em soluções já contendo os componentes sólidos. As fases sólidas A e B podem então precipitar em cocristal (AB) através de reação mediada em solução onde o deslocamento do equilíbrio da equação (1) ocorre da direita para a esquerda. Enquanto o cocristal AB precipita, mais dos componentes A e B da solução são consumidos, e mais soluto dissolve até que o processo atinja o estado de equilíbrio, determinado pela curva de solubilidade do cocristal. É importante ressaltar que são os componentes dissolvidos que determinam a supersaturação e não a fase sólida dos mesmos (NEHM; RODRÍGUEZ-SPONG e RODRÍGUEZ-HORNEDO, 2006; RODRÍGUEZ-HORNEDO et al., 2006).

O MCR é eficiente na triagem e na obtenção de cocristais, uma vez que permite formar cocristais sem que ocorra a cristalização dos componentes individuais, devido à possibilidade de acessar unicamente a região de supersaturação em relação ao cocristal. Apresenta ótimo rendimento, é passível de escalonamento e vários solventes podem ser

utilizados, especialmente álcoois e água (CHILDS; HARDCASTLE, 2007; CHILDS et. al., 2008).

## 2.3 SOLUBILIDADE DOS COCRISTAIS E PARÂMETROS TERMODINÂMICOS

Os cocristais são sólidos versáteis, capazes de modular a solubilidade e supersaturação do fármaco de acordo com o coformador selecionado e fenômenos como dissociação, complexação, ionização e solubilização micelar do fármaco e do coformador em solução. Em função disso, a solubilidade dos cocristais é considerada um mecanismo complexo e não apenas um número e é dependente de diversos fatores, como o pH da solução, a concentração de coformador e a presença de agentes solubilizantes, que muitas vezes estão presentes em ensaios de dissolução, formulações e até mesmo nos fluidos biológicos (BHARDWAJ; LIPERT; BAK, 2017; HUANG; RODRÍGUEZ-HORNEDO, 2010, 2011). Esta versatilidade está relacionada principalmente às propriedades intrínsecas aos cocristais, apresentadas nos próximos itens desta revisão.

### 2.3.1 Solubilidade, solvatação e energia de rede cristalina

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

A característica de solubilidade de uma molécula é determinada por dois fatores: sua hidrofobicidade (energia de solvatação) e a energia da rede cristalina, descrita pela energia de Gibbs ( $\Delta G$ ), que é o somatório das energias livres da solução (equação 4):

$$\Delta G_{\text{solução}} = \Delta G_{\text{rede cristalina}} + \Delta G_{\text{solvatação}} \quad (4)$$

A energia de rede cristalina refere-se às forças intermoleculares do soluto, enquanto a energia de solvatação refere-se às interações entre as moléculas do soluto e solvente. O mecanismo de solubilização de um sólido cristalino envolve a quebra das ligações intermoleculares e a formação de novas interações entre moléculas do soluto e do solvente.

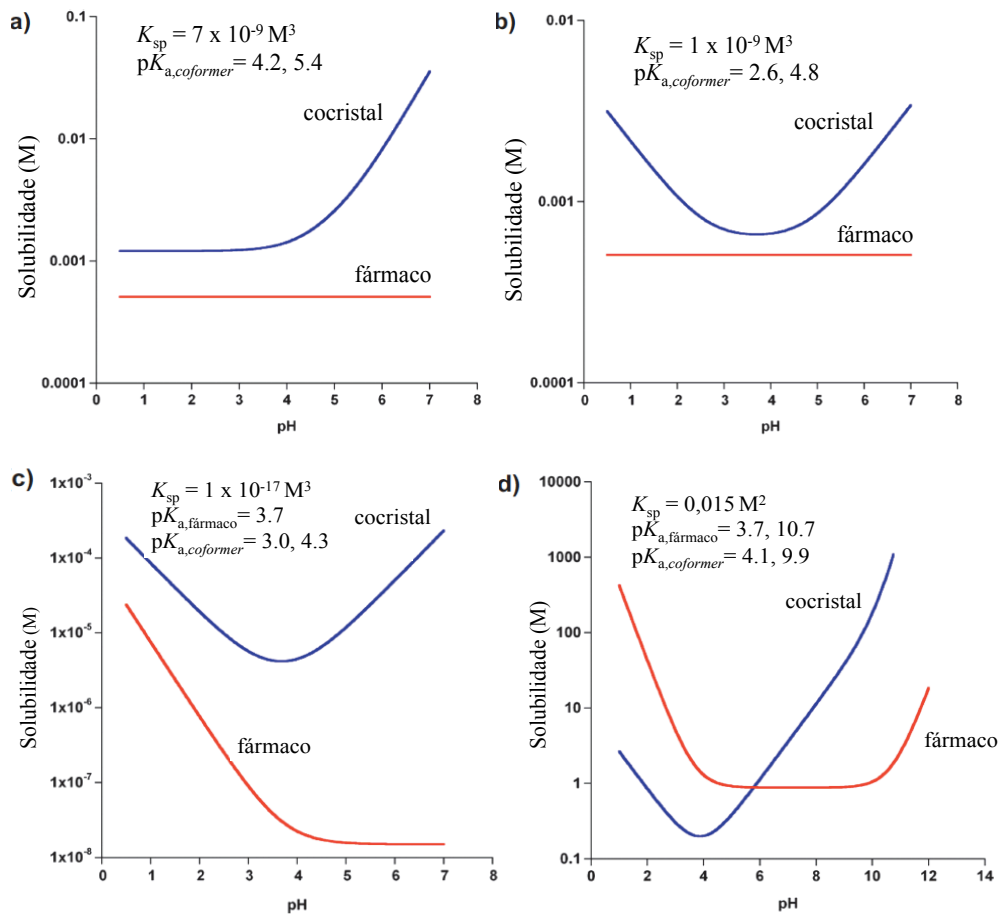
Isto demonstra que estratégias para melhorar a solubilidade requerem combinações de tecnologias que influenciem as forças de interação solvente-soluto e soluto-soluto, tais como formação de sistemas amorfos, sais, polimorfos e cocristais (AVDEEF, 2007; SERAJUDDIN, 2007; STELLA; NTI-ADDAE, 2007).

Estudos têm demonstrado que a principal barreira para a solubilização dos cocristais é a energia de solvatação, devido à natureza hidrofóbica do fármaco. Conseqüentemente, a solubilidade aquosa do cocrystal pode ser modulada por meio da seleção do coformador, o qual pode reduzir a barreira de solvatação em uma extensão proporcional à sua solubilidade. Dependendo de quão solúvel o coformador é, a razão da solubilidade do cocrystal em relação ao fármaco constituinte pode variar de 1 a 100 vezes ou, em alguns casos, até mais (GOOD, RODRÍGUEZ- HORNEDO, 2009; 2012; THAKURIA et al., 2013).

### **2.3.2 Vantagem de solubilidade do cocrystal e ionização**

Os cocristais são formas sólidas em que pelo menos um dos seus componentes (fármaco ou coformador) tem a capacidade de ionizar em solução. Desta forma, o pH da solução pode exercer influência significativa na solubilidade do cocrystal. Os perfis apresentados na Figura 4 demonstram o impacto do pH na solubilidade destes sistemas. Apesar disso, na literatura ainda é possível encontrar diversos estudos de dissolução e solubilidade de cocristais que desconsideram o pH (KUMINEK, et al., 2016).

Figura 4 - Diferentes perfis de solubilidade em função do pH para: a) cocristal de fármaco neutro com coformador ácido diprótico; b) cocristal de fármaco neutro com coformador ácido anfótero; c) cocristal de fármaco básico com coformador ácido diprótico; d) cocristal de fármaco zwitteriônico com coformador ácido diprótico. Os valores de  $pK_a$  para fármaco e coformador estão descritos em cada gráfico.



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

As curvas de solubilidade mostradas na Figura 4 foram calculadas a partir de equações que descrevem a solubilidade dos cocristais em função do pH, do produto da solubilidade ( $K_{sp}$ ) e da constante de ionização ácida ( $K_a$ ). As reações de equilíbrio químico, assim como as equações para diferentes tipos de cocristais, estão bem descritas na literatura (BETHUNE et al., 2009; REDDY et al., 2009).

Uma das propriedades que a maioria dos cocristais apresenta é a alta solubilidade. A razão da solubilidade do cocristal ( $S_{cocristal}$ ) em relação à solubilidade do fármaco constituinte ( $S_{fármaco}$ ) pode ser expressa pela sigla SA ( $SA = S_{cocristal}/S_{fármaco}$ ), do inglês "*solubility advantage over drug*" ou vantagem de solubilidade do cocristal em relação ao fármaco. Visto que a solubilidade do cocristal ( $S_{cocristal}$ ) está relacionada com a solubilidade do coformador ( $S_{coformador}$ ), o cocristal pode ser desenhado considerando-se as características do coformador,

que pode apresentar diferentes perfis de ionização (ROY; LIPERT; RODRÍGUEZ-HORNEDO, 2012; THAKURIA et al., 2013).

Os exemplos (a) e (b) da Figura 4 permitem observar que cocristais formados por fármaco neutro e coformador ionizável podem exibir um perfil de solubilidade pH-dependente completamente diferente um do outro. Esta característica vai depender das propriedades de ionização do coformador. A solubilidade do cocrystal aumentará com o aumento do pH, no caso de cocrystalização com coformadores ácidos (Figura 4a). Porém, no caso de coformadores anfotéricos (Figura 4b), o perfil de solubilidade apresentará curvatura em U. Este perfil é similar ao apresentado na Figura 4c, no qual o cocrystal é formado por fármaco básico e coformador ácido, sendo que neste caso os grupos ionizáveis estão presentes em ambas as moléculas. O perfil de solubilidade em forma de U também é esperado para um cocrystal formado de fármaco zwitteriônico e coformador ácido (Figura 4d), como é o caso dos cocristais de meloxicam estudados nesta tese (BETHUNE et al., 2009).

A vantagem de solubilidade, SA, determinada a partir da razão da solubilidade do cocrystal por aquela do fármaco, pode representar um índice de supersaturação do cocrystal ou até mesmo um indicador de estabilidade em solução, permitindo delinear estudos cinéticos de dissolução com maior segurança e prevendo possíveis transições de fase (cocrystal para fármaco). Após a etapa de obtenção de um cocrystal, primeiramente deve-se tomar cuidado em relação à sua estabilidade termodinâmica em solução (BHARDWAJ; LIPERT; BAK, 2017). Neste trabalho, o termo estabilidade termodinâmica refere-se à propensão do cocrystal transformar-se para o fármaco, quando o mesmo encontra-se em condições de supersaturação em relação ao fármaco (ver figura 3). Os cocristais estudados nesta tese são constituídos de fármacos hidrofóbicos e coformador hidrofílico, portanto, as conversões abordadas serão de cocrystal para fármaco.

Nesse âmbito, estudos demonstram que métodos termodinâmicos (em condições de equilíbrio), os quais utilizam concentrações eutéticas para a determinação da solubilidade dos cocristais, são considerados seguros e podem ser utilizados como método de primeira escolha na avaliação de cocristais. Esta abordagem permite acessar a solubilidade do complexo molecular em soluções nas quais ele é a fase termodinamicamente instável (GOOD; RODRÍGUEZ-HORNEDO, 2009).

### 2.3.3 Ponto eutético, produto da solubilidade do cocrystal ( $K_{sp}$ ) e constante eutética ( $K_{eu}$ )

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

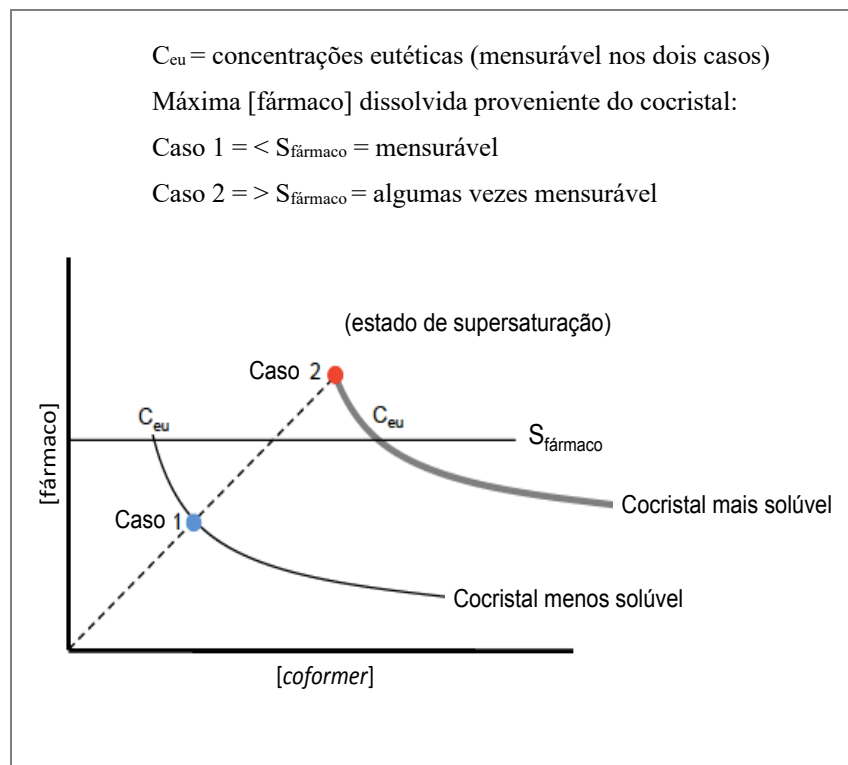
O ponto eutético utilizado para acessar a  $S_{\text{cocrystal}}$ , assim como o descrito acima, é um ponto invariável isotérmico, e, neste caso, duas fases sólidas coexistem em equilíbrio com uma solução. Vale ressaltar que o cocrystal pode apresentar dois pontos eutéticos que são diferenciados pelas fases que estão em equilíbrio com a solução, podendo ser fármaco e cocrystal ou coformador e cocrystal. O ponto eutético nestes estudos é a partir do equilíbrio de fármaco, cocrystal e solução, devido ao fármaco ser menos solúvel que o coformador. Neste caso, este ponto é caracterizado pela intersecção das curvas de solubilidade do fármaco e do cocrystal, ou seja, o ponto onde  $S_{\text{cocrystal}} = S_{\text{fármaco}}$  (NEHM; RODRÍGUEZ-SPONG; RODRÍGUEZ-HORNEDO, 2006).

Este ponto pode ser acessado através da medida da concentração de cada componente do cocrystal ( $[fármaco]_{eu}$  e  $[coformador]_{eu}$ ) quando a solução está em equilíbrio, ou seja, no ponto onde a solução é duplamente saturada em relação ao fármaco e ao cocrystal. A partir destas concentrações, obtém-se o produto da solubilidade ( $K_{sp}$ ) (Equação 2), que pode ser aplicado em modelos matemáticos para prever a solubilidade dos cocrystal em soluções com diferentes condições, como valores de pH e na presença de aditivos.

Estes conceitos são melhor apreciados no diagrama de solubilidade de fases (Figura 5), descrito por Good e Rodríguez-Hornedo (2009), que é constituído pelas fases sólidas do cocrystal e fármaco (ou coformador) em equilíbrio com a solução. Neste diagrama é possível observar dois tipos de cocrystal com comportamentos diferentes em relação ao fármaco. No caso 1, o cocrystal é a fase mais estável, apresentando solubilidade menor que a do fármaco. Já o caso 2 é de um cocrystal metaestável que apresenta solubilidade maior que a do fármaco. A

linha pontilhada do diagrama representa a dissolução das concentrações estequiométricas dos componentes do cocrystal em um solvente determinado, e a intersecção (círculos) com as curvas dos cocrystal indica a concentração máxima de fármaco que o cocrystal pode atingir. Já a linha horizontal representa a solubilidade do fármaco em equilíbrio no solvente em questão, assumindo que a mesma é menor que a solubilidade do coformador, que não está demonstrada neste diagrama.

Figura 5 - Diagrama de solubilidade de fases contendo dois tipos diferentes de cocrystal considerando sua estabilidade e seus respectivos pontos eutéticos (ponto de intersecção com a  $S_{\text{fármaco}}$ ). A linha pontilhada indica as concentrações estequiométricas dos componentes do cocrystal por meio da dissolução e os círculos representam a solubilidade dos cocrystal no solvente puro.



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

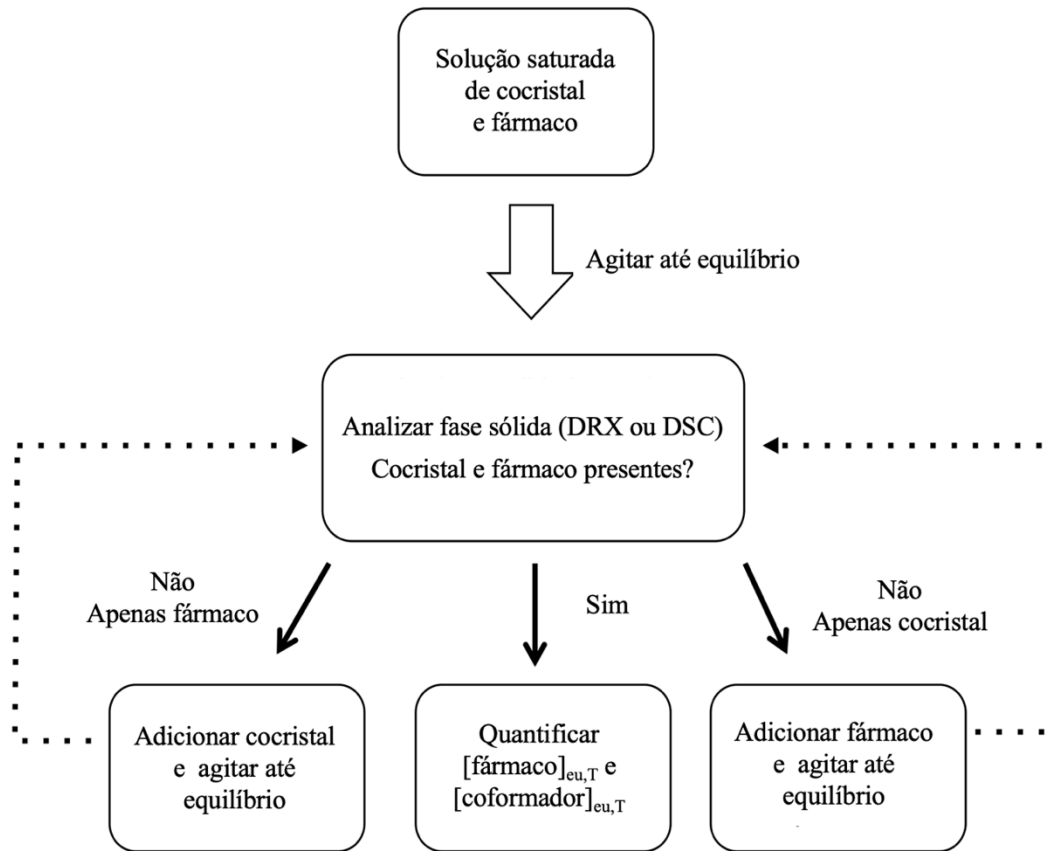
A solubilidade de um cocrystal metaestável (caso 2) não é tipicamente um equilíbrio mensurável e estes cocrystal são denominados incongruente saturados. Conforme o cocrystal metaestável dissocia-se em solução, ocorre a supersaturação do fármaco (a concentração de fármaco associado ao cocrystal excede a  $S_{\text{fármaco}}$  demonstrada pela linha horizontal) e este pode precipitar. Em alguns casos a supersaturação não é suficiente para gerar a precipitação do fármaco, permitindo a quantificação da verdadeira solubilidade em



equilíbrio. Isto pode estar relacionado à nucleação lenta ou a outros fatores cinéticos que estejam atuando junto com a supersaturação. A outra situação constitui de cocrystalais menos solúveis que o fármaco (caso 1), no qual a dissolução dos componentes do cocrystal ocorre de maneira proporcional gerando, neste caso, uma saturação congruente, apresentando assim, concentração do fármaco menor que a  $S_{\text{fármaco}}$  puro (representada pela linha  $S_{\text{fármaco}}$ ). Neste caso a solubilidade do cocrystal pode ser mensurada a partir da dissolução do cocrystal em equilíbrio com a solução. Desta maneira, para ambos os casos (1 e 2) o ponto eutético representa o ponto de intersecção entre as curvas de solubilidade do cocrystal e do fármaco e pode ser utilizado para separar as regiões termodinamicamente estáveis do fármaco e do cocrystal (GOOD; RODRÍGUEZ-HORNEDO, 2009).

Para execução desta análise, são requeridos pequenas quantidades de amostra do fármaco e do cocrystal (em excesso), e um pequeno volume da solução de interesse (no pH desejado, com ou sem aditivos), de modo que a solução se apresente saturada de fármaco e de cocrystal, onde as concentrações de  $[\text{fármaco}]_{\text{eu}}$  e  $[\text{coformador}]_{\text{eu}}$  serão medidas. É importante destacar que a verificação do pH e da temperatura no ponto eutético é uma etapa essencial, juntamente com a confirmação das fases sólidas presentes em equilíbrio, que pode ser avaliada por meio de Difração de Raios X de Pó (DRXP) ou DSC. Somente deste modo é possível saber se o sistema está em equilíbrio, isto é, no ponto eutético em questão. Um fluxograma com as etapas deste método está apresentado na Figura 6 (GOOD; RODRÍGUEZ-HORNEDO, 2009; KUMINEK, G., CAVANAGH, K., RODRÍGUEZ-HORNEDO, 2018).

Figura 6 – Fluxograma representativo do método utilizado para determinar as concentrações eutéticas dos componentes do cocrystal. Neste exemplo, as fases sólidas em equilíbrio com a solução são cocrystal e fármaco.



Fonte: Adaptado de Kuminek et al., 2018.

O cocrystal é considerado mais solúvel que o fármaco quando  $[\text{fármaco}]_{\text{eu,T}} < [\text{coformador}]_{\text{eu,T}}$  e menos solúvel quando  $[\text{fármaco}]_{\text{eu}} > [\text{coformador}]_{\text{eu}}$  (BETHUNE et al., 2009). Ainda, a partir das concentrações  $[\text{fármaco}]_{\text{eu}}$  e  $[\text{coformador}]_{\text{eu}}$  é possível obter a constante eutética ( $K_{\text{eu}}$ ), indicadora da estabilidade do cocrystal e definida pela razão das atividades ( $a$ ) do coformador e do fármaco no ponto eutético. A  $K_{\text{eu}}$  é derivada de uma série de equações descritas por Good e Rodríguez-Hornedo (2010), baseadas nas reações de equilíbrio do cocrystal em solução, oriundas de estudos com mais de 40 tipos de cocrystal, e pode ser representada pela equação (5):

$$K_{\text{eu}} \equiv \frac{a_{\text{coformer,eu}}}{a_{\text{fármaco,eu}}} \approx \frac{[\text{coformador}]_{\text{eu}}}{[\text{fármaco}]_{\text{eu}}} \quad (5)$$

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

A relação entre as concentrações eutéticas e a SA para um cocrystal de razão molar 1:1 pode ser estabelecida pela equação (6):

$$K_{eu}^{1:1} = \frac{[\text{Coformador}]_{eu}}{[\text{Fármaco}]_{eu}} = \left( \frac{S_{\text{cocrystal}}}{S_{\text{fármaco}}} \right)^2 = (SA)^2 \quad (6)$$

e para cocristais 2:1, pela equação (7):

$$K_{eu}^{2:1} = \frac{[\text{coformador}]_{eu}}{[\text{fármaco}]_{eu}} = 0.5 \left( \frac{S_{\text{cocrystal}}}{S_{\text{fármaco}}} \right)^3 = 0.5(SA)^3 \quad (7)$$

Essas equações representam uma relação segura e de ótimo poder preditivo para o estudo do comportamento dos cocristais em solução (KUMINEK, G., CAVANAGH, K., RODRÍGUEZ-HORNEDO, 2018).

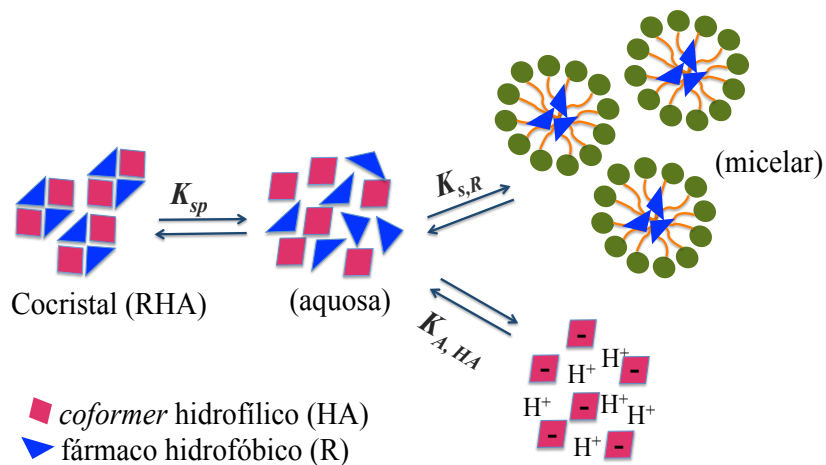
### 2.3.4 Influência de agentes solubilizantes na solubilidade do fármaco e dos cocristais

A solubilização micelar é uma estratégia utilizada na solubilização e dissolução de fármacos pouco solúveis (GRBIC et al., 2009; JINNO et al., 2000; SHENG et al., 2006; MACHADO, 2016). Além disso, a adição de surfactantes e polímeros constituem uma etapa importante e desafiadora do desenvolvimento de uma formulação, tanto para aumentar a solubilidade de fármacos, quanto para diminuir a cinética de precipitação do fármaco durante a dissolução de sólidos metaestáveis e aumentar a sua estabilidade (ALHALAWEH; ALI; VELAGA, 2014; BEVERNAGE et al., 2013; GUZMÁN et al., 2007).

Cocristais farmacêuticos são geralmente formados de fármaco hidrofóbico e coformador hidrofílico. Assim, espera-se que diferentes afinidades e solubilizações ocorram entre os componentes que formam o cocrystal e a solução em que se encontram. Considerando

os conceitos de solubilização diferencial/preferencial aplicados até então em misturas oleosas binárias, descreveu-se o modelo de solubilização preferencial em cocristais. Neste modelo, as micelas formadas pelos aditivos solubilizantes interagem preferencialmente com o componente mais hidrofóbico do cocrystal, geralmente o fármaco, deixando o excesso de coformador, que por sua vez é o componente hidrofílico na fase aquosa (Figura 7) (CHRISTIAN; SCAMEHORN, 1995; HUANG; RODRÍGUEZ-HORNEDO, 2010).

Figura 7 - Ilustração do equilíbrio entre o cocrystal e seus componentes no meio aquoso e micelar. Este esquema representa a solubilização micelar do componente hidrofóbico (neste caso o fármaco).

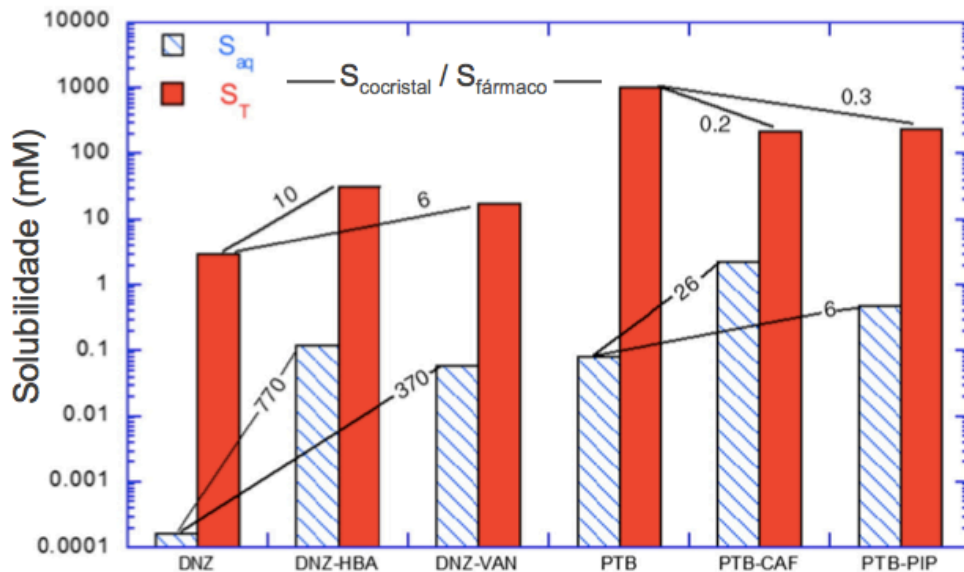


Fonte: Adaptado de Huang e Rodríguez-Hornedo (2010).

No trabalho desenvolvido por Lipert e colaboradores (2015) foi demonstrado que a  $S_{\text{cocrystal}}$  e a  $S_{\text{fármaco}}$  podem ser modificadas na presença de agentes solubilizantes em diferentes proporções (Figura 8). Sabe-se que o potencial de um aditivo em inibir a cristalização/nucleação é inversamente proporcional à supersaturação. Desse modo, o efeito de um aditivo em reduzir a SA, ou seja, diminuir a diferença de solubilidade do cocrystal em relação ao fármaco, pode diminuir a força motriz para os processos de cristalização de cocrystal à fármaco. Este fenômeno foi observado para os cocristais de danazol (DNZ) e pterostilbeno (PTB) na presença de 150 mM de Tween 80<sup>®</sup> em solução. Ambos os fármacos foram altamente solubilizados pelos aditivos, mas seus cocristais foram solubilizados em menor extensão. Os agentes solubilizantes diminuíram a SA e tornaram os cocristais de PTB menos solúveis que o fármaco na formulação lipídica estudada. Estudos como estes podem antecipar efeitos indesejados, onde o cocrystal perde sua vantagem de solubilidade frente a uma formulação, por exemplo. Importante mencionar que esse efeito é passível de ocorrer em

condições *in vivo*, onde micelas podem ser formadas a partir de sais biliares presentes no trato gastrointestinal (TGI) (MAZER; BENEDEK; CAREY, 1980 (LIPERT; RODRÍGUEZ-HORNEDO, 2015).

Figura 8 – Influência de agentes solubilizantes na  $S_{\text{cocristal}}$ , para danazol (DNZ) e seus cocristais com ácido 4-hidroxibenzoico (HBA) e vanilina (VAN) e do fármaco pterostilbeno (PTB) e seus cocristais com cafeína (CAF) e piperazina (PIP). Tween 80<sup>®</sup> (150 mM pH 5,0) foi utilizado para DNZ e uma formulação lipídica (Captex 355 / Capmul:Cremophor EL) para PTB. Os números representam a SA em tampão com e sem a presença de agente solubilizante ( $S_T$  e  $S_{aq}$ , respectivamente).



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

#### 2.3.4.1 Solubilização do cocristal vs solubilização do fármaco

A razão ou força de solubilização (SP), do inglês *Solubilization Power*, pode ser utilizada na predição da solubilização do cocristal na presença de algum aditivo de interesse. A SP é definida pela equação (8):

$$SP \equiv \left( \frac{S_T}{S_{aq}} \right), \quad (8)$$

Em que ( $S_T$ ) é a solubilidade total em um meio contendo agente solubilizante e ( $S_{aq}$ ) corresponde à solubilidade aquosa, na ausência de aditivos solubilizantes (LIPERT; RODRÍGUEZ-HORNEDO, 2015).

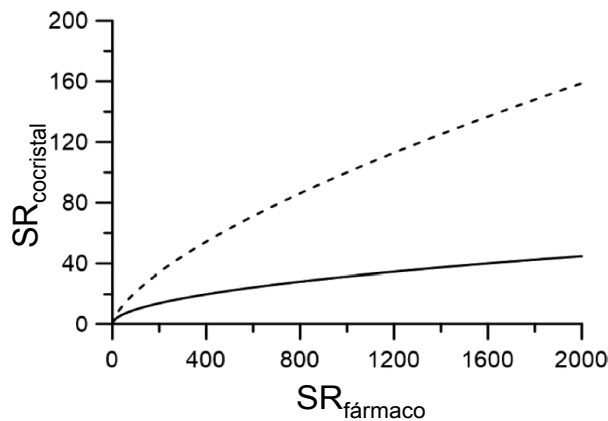
Dessa forma, a solubilização do cocristal pode ser estimada a partir da solubilização do fármaco, para cocristais (1:1) (equação 9) e para cocristais (2:1) (equação 10):

$$SP_{\text{cocristal}(1:1)} = \sqrt{SP_{\text{fármaco}}} \quad (9)$$

$$SP_{\text{cocristal}(2:1)} = SP_{\text{fármaco}}^{\frac{2}{3}} \quad (10)$$

Por exemplo, se uma determinada concentração de agente solubilizante aumenta a solubilidade do fármaco em 100 vezes, a partir desta relação é possível estimar um aumento da solubilidade para cocristais (1:1) de 10 vezes na presença deste mesmo aditivo. Assim, espera-se que  $SP_{\text{cocristal}}$  seja muito menor que  $SP_{\text{fármaco}}$ , decorrente da solubilização preferencial do fármaco hidrofóbico, conforme ilustrado pelas curvaturas do gráfico (Figura 9).

Figura 9 – Dependência de  $SP_{\text{cocristal}}$  em  $SP_{\text{fármaco}}$  para cocristais de estequiometria 1:1 (—) e 2:1 (- - -).



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

## 2.4 DISSOLUÇÃO DOS COCRISTAIS

O uso de formas sólidas de alta energia e a importância do estado de supersaturação não são conceitos novos na área farmacêutica. Higuchi e colaboradores (1959) em um estudo com emulsões metaestáveis relataram pela primeira vez conceitos que são aplicados até hoje (HIGUCHI, 1959).

Os cocristais, assim como os sais e os sistemas amorfos, podem apresentar-se altamente solúveis devido ao seu estado de alta energia, pertencendo ao grupo dos sistemas supersaturados de liberação de fármaco, do inglês “*Supersaturating Drug Delivery Systems*” (SDDS). A abordagem dos SDDS consiste na rápida dissolução do soluto e promoção de um

estado de supersaturação intraluminal temporário (em que a concentração de fármaco é superior ao seu valor de solubilidade), o que garantiria aumento de absorção e biodisponibilidade de fármacos pouco solúveis. No entanto, a transições para a fase menos solúvel constitui a principal barreira no desenvolvimento desta estratégia (ALMEIDA E SOUSA *et al.*, 2016; SUN; LEE, 2015; WILLIAMS *et al.*, 2013). Cocristsais que são mais solúveis que o fármaco, geram níveis de supersaturação durante a dissolução e estão suscetíveis a conversão para o fármaco menos solúvel. Esses cocristsais, apresentam dissolução incongruente e são o objeto de estudo desta tese (LEYSSSENS; HORST, 2018; SUN; LEE, 2015).

Ensaio de dissolução são geralmente os métodos mais encontrados na literatura para avaliação do desempenho de cocristsais, entretanto, quando analisados isoladamente, estes apresentam algumas limitações. Primeiramente, o perfil de concentração do fármaco *versus* tempo obtido nestes ensaios é resultado das conversões cinéticas do cocrystal (dissolução e taxa de cristalização) e, a concentração máxima de fármaco medida ( $C_{max}$ ) não deve ser relacionada à solubilidade do cocrystal (valor em equilíbrio) (CHENEY *et al.*, 2010; CHENEY; WEYNA; SHAN, 2011; ROCHA *et al.*, 2016; TAKURIA *et al.*, 2013). Estaríamos subestimando a solubilidade do cocrystal ao considerar uma medida cinética ( $C_{max}$ ) como o valor de solubilidade do complexo molecular. Portanto, a maneira mais confiável de avaliar a solubilidade do cocrystal é através das medidas eutéticas, mencionadas anteriormente, e que estabelece a verdadeira solubilidade e a (s) região (s) de estabilidade termodinâmica do cocrystal. A partir disso é possível obter *insights* sobre o comportamento cinético do cocrystal e administrar a sua taxa de conversão por meio do conhecimento da SA e de outros aspectos descritos a seguir:

#### 2.4.1 Dose number (Do)

O *dose number* (Do) é um importante parâmetro indicativo da absorção oral de fármacos poucos solúveis em água bastante utilizado como guia nas etapas de desenvolvimento de formulações. Do indica se os fluidos do TGI serão suficientes para dissolver totalmente a dose de um medicamento administrado oralmente em um volume de 250 ml, e é definido pela equação (OH; CURL; AMIDON, 1993b; RINAKI *et al.*, 2004):

$$D_o = \frac{M_0/V_0}{S_{\text{fármaco},T}} \quad (11)$$

Onde  $M_0$  representa a maior dose de fármaco (mg),  $V_0$  representa o volume (250 mL) e  $S_{\text{fármaco}}$  representa a solubilidade total do fármaco (mg/mL)

Fármacos pertencentes à classe II do Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB)<sup>1</sup>, são categorizados pela baixa solubilidade, alta permeabilidade e valores de  $D_o$  maiores que 1. Quanto maior o valor de  $D_o$ , mais evidentes são as limitações de solubilidade/absorção (AMIDON *et al.*, 1995; LUGER *et al.*, 1996).

A dissolução e a dose são fatores críticos que afetam a taxa e a extensão da absorção oral de fármacos com baixa solubilidade aquosa. Portanto, é racional que seja considerada a dose de fármaco, especialmente tratando-se de sistemas supersaturados onde a supersaturação gerada pode ser diretamente influenciada pela dose escolhida para os experimentos. É possível encontrar na literatura estudos que utilizam esta abordagem (BABU; NANGIA, 2011; SUN; WEN; TAYLOR, 2016a; TSUME *et al.*, 2014; XU *et al.*, 2017).

A definição da dose é uma etapa crucial no delineamento dos experimentos de dissolução em condições não-*sink* (acima da saturação do fármaco). O  $D_o$  irá informar se a quantidade de meio será suficiente para dissolver toda a dose e também se a supersaturação de fármaco será limitada pela mesma. Quando o  $D_o$  é  $< 1$ , não há supersaturação e a precipitação do fármaco livre não ocorre no meio. Quando o  $D_o$  é  $> 1$  é possível ocorrer supersaturação e, portanto, a precipitação do fármaco é esperada.

#### 2.4.2 Mecanismos de nucleação

As transformações mediadas por solvente envolvem 4 principais etapas: dissolução do sólido metastável, supersaturação em relação a forma estável, nucleação e o crescimento/precipitação do sólido. Estudos envolvendo mecanismos de precipitação durante a dissolução de cocristais são escassos na literatura, a maior parte dos estudos desta natureza apresentam mecanismos decorrentes da dissociação dos sais e precipitação da forma livre do fármaco, que pode ocorrer não apenas no meio de dissolução/fluido como também na

---

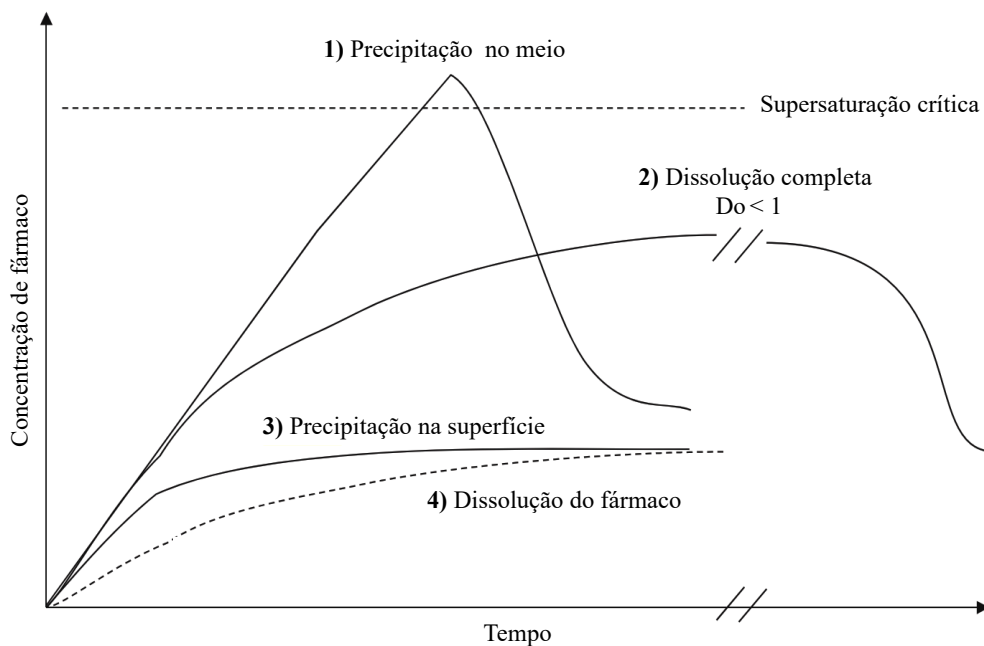
<sup>1</sup> Sistema de Classificação Biofarmacêutica = Qualifica os fármacos em quatro categorias de acordo com a solubilidade e permeabilidade intestinal. Classe I (alta solubilidade/alta permeabilidade) Classe II (baixa solubilidade/alta permeabilidade) Classe III (alta solubilidade/baixa permeabilidade) Classe IV (baixa solubilidade/baixa permeabilidade) (AMIDON *et al.*, 1995).



superfície do sólido que está dissolvendo, denominados como “*bulk nucleation*” e “*surface nucleation*”, respectivamente (HAWLEY; MOROZOWICH, 2010; LI *et al.*, 2005; SERAJUDDIN, 2007).

A Figura 10 apresenta cenários distintos que podem ocorrer durante a dissolução de um sal mas que podem também ser utilizadas para cocristais: 1) o sólido metaestável dissolve e atinge rapidamente a concentração de supersaturação crítica de fármaco, o qual precipita em partículas individuais na solução (*bulk nucleation*); 2) a dissolução do sólido metaestável não atinge a concentração de supersaturação crítica do fármaco, pois a dose não é suficiente ( $Do < 1$ ), portanto a precipitação de fármaco não ocorre; 3) o fármaco precipita diretamente na superfície do sólido metaestável (*surface nucleation*) podendo levar à duas situações: 3a) quando o fármaco precipita cobrindo totalmente a superfície do cocristal ou quando a barreira é porosa, a dissolução do cocristal continua, no entanto mais lenta devido à barreira extra. 3b) quando o fármaco precipita cobrindo totalmente a superfície do cocristal, a dissolução do cocristal passa a ser controlada pela solubilidade do fármaco. Nessa situação a taxa de dissolução pode ser prejudicada impactando negativamente a biodisponibilidade do fármaco; 4) dissolução do fármaco estável, não há supersaturação (SUGANO, 2012).

Figura 10 – Diferentes cenários de dissolução para um sal ou cocristal e a influência dos mecanismos de nucleação nas concentrações de fármaco.



Fonte: Adaptado de Sugano et al. 2012.

Além dos mecanismos de *surface* e *bulk nucleation* citados, o fenômeno denominado *liquid-liquid phase separation* (LLPS) pode também estar presente durante a dissolução de sais, cocristais e sistemas amorfos. Esta fase pode ocorrer quando as concentrações de fármaco excedem a supersaturação crítica, levando a formação de uma micro fase de natureza amorfa que precede a precipitação do fármaco cristalino (ALMEIDA E SOUSA *et al.*, 2016; BERMEJO *et al.*, 2019).

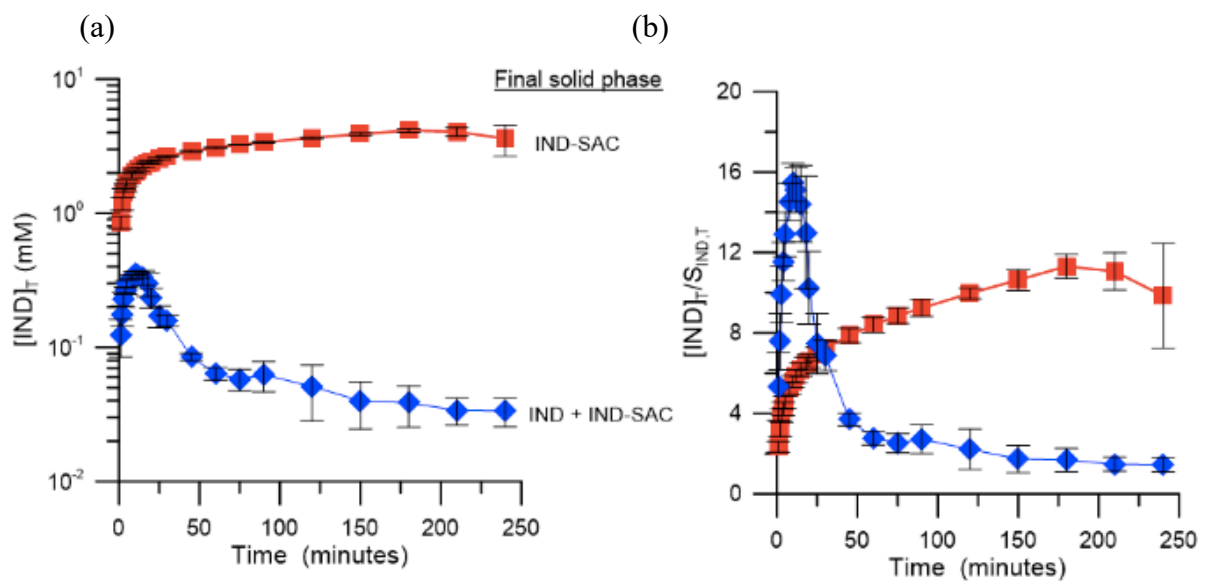
Tipicamente as taxas de nucleação dependem de vários fatores como a supersaturação, a temperatura, a composição do solvente e as variações de pH. Cocristais podem ser formados por componentes com diferentes características de ionização, os quais passam por reações químicas na interface sólido-líquido com as espécies do meio/solução. Estas reações podem alterar o pH e conseqüentemente as concentrações de fármaco situado na interface e no meio. No caso de cocristais com coformadores ácidos, o pH interfacial é influenciado pelo grau de dissociação do ácido na interface, o qual é determinado pela sua concentração e o seu valor de  $pK_a$ . Estudos da literatura com sais relatam que os valores do pH do equilíbrio de soluções saturadas podem ser utilizados como indicadores do pH interfacial do sólido (MOONEY *et al.*, 1981a, 1981b; SERAJUDDIN, 2007).

Além do pH, aditivos como surfactantes e polímeros podem influenciar os mecanismos de precipitação e a morfologia do cristal. A carbamazepina é objeto de diversos estudos envolvendo processos de cristalização. Em um desses estudos foi demonstrado que o surfactante lauril sulfato de sódio facilitou a nucleação do dihidrato de carbamazepina na superfície enquanto o aditivo sódio taurocolato provocou mudanças na morfologia do cristal (RODRÍGUEZ-HORNEDO; MURPHY, 2004). Em concordância, o estudo de Lehto e colaboradores (2008) observou mudanças no hábito cristalino do dihidrato de carbamazepina que de agulhas (na ausência de aditivo) passou a precipitar em morfologia laminar na presença do meio biorrelevante FaSSIF (LEHTO *et al.*, 2012). Por fim, um estudo com cocristais de carbamazepina:nicotinamida sugeriu que o aumento das concentrações de coformador na camada de difusão diminuiu a supersaturação e a precipitação do dihidrato de carbamazepina na superfície do cocrystal, diminuindo assim, a taxa de dissolução desse cocrystal (YAMASHITA; SUN, 2016)

### 2.4.3 Surfactantes naturalmente presentes no TGI

Substâncias tais como os sais biliares presentes no TGI podem solubilizar os fármacos e, dessa maneira, influenciar a SA e a dissolução-supersaturação-precipitação (DSP) de cocristais (MUDIE; AMIDON; AMIDON, 2010). Estudos de dissolução do cocrystal de indometacina-sacarina (IND-SAC) no meio simulado do fluido intestinal no estado alimentado (FeSSIF) e em tampão aquoso do mesmo pH (sem FeSSIF) revelaram como os surfactantes presentes no FeSSIF podem auxiliar na manutenção da supersaturação e retardar a conversão do cocrystal à fármaco, melhorando o desempenho da dissolução. IND-SAC tem valor de SA de 220 em tampão pH 5, e este valor é reduzido em FeSSIF para 57. Esta grande redução de SA diminuiu a força motriz para a cristalização de fármaco em FeSSIF, conforme observado na Figura 11. Valores de SA muito altos podem não ser ideais, devido ao potencial de rápida transformação que poderia eliminar toda a vantagem de dissolução do cocrystal. Um equilíbrio entre a solubilidade e a estabilidade em solução deve ser alcançado, a fim de explorar plenamente as melhorias oferecidas pelos cocristais (LIPERT, 2015).

Figura 11 - Dissolução do cocrystal IND-SAC em FeSSIF (vermelho) e em tampão (azul). (a)  $[IND]_T$  vs tempo e (b) supersaturação ( $[IND]_T/S_{fármaco}$ ) gerada pelo cocrystal durante a dissolução.



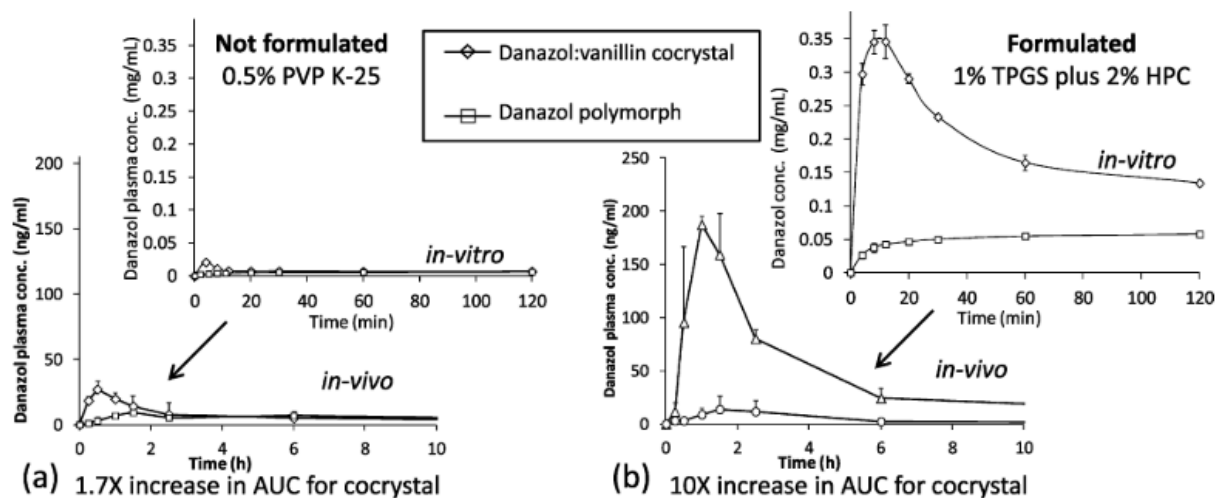
Fonte: Kuminek, G., Cao, Rocha, Cardoso, & Rodriguez-Hornedo, 2016.

#### 2.4.4 Surfactantes sintéticos e polímeros

O desempenho dos cocristais pode ser modulado não apenas por surfactantes

fisiológicos, mas também por agentes solubilizantes sintéticos. Um exemplo que demonstra a importância da utilização de aditivos adequados no desenvolvimento de cocrystal é o trabalho de Childs e colaboradores (2013), o qual demonstrou aumento de 10 vezes na biodisponibilidade do cocrystal de danazol:vanilina quando suspenso em meio aquoso com 1% de vitamina E-TPGS + 2% hydroxipropil celulose HPC<sup>®</sup>. Já o cocrystal puro obteve aumento de apenas 1,7 vezes na biodisponibilidade em comparação com o fármaco (Figura 12).

Figura 12 – Dissolução *in vitro* (a) e *in vivo* (concentração plasmática) (b) para cocrystal de danazol e polimorfo do fármaco sem e com a presença de E-TPGS e HPC.



Fonte: Childs et al., 2013.

Estudos também indicam que a manutenção da supersaturação do fármaco por período de tempo suficiente para a absorção para sistemas altamente energéticos como os amorfos, nanopartículas e sistemas lipídicos (*lipid-based delivery systems*) pode ser alcançada por meio de adição de retardadores poliméricos de precipitação. Aditivos como as ciclodextrinas, polivinilpirrolidona (PVP), hidroxipropil metilcelulose (HPMC) e polivinilcaprolactame acetato-polietileno glicol (Soluplus<sup>®</sup>) têm demonstrado manter a supersaturação do fármaco de um grande número sistemas farmacêuticos (CHAVAN; MODI; BANSAL, 2015; MUNARI *et al.*, 2018; PATEL; ANDERSON, 2014; ZHONG *et al.*, 2016). Um estudo utilizou o inibidor polimérico de precipitação hidroxipropil metilcelulose acetato succinato (HPMCAS) no preparo de comprimidos com o cocrystal de carbamazepina:nicotinamida, o qual foi efetivo em inibir a precipitação prematura do fármaco durante as dissoluções no pH 6,8 (YAMASHITA; SUN, 2019).

O mecanismo de inibição da precipitação pela utilização de polímeros em sistemas cocrystalinos, ainda não está bem elucidado. Alguns polímeros também podem solubilizar o fármaco, nestes casos, o mecanismo de solubilização preferencial abordado no item 2.3.4 também estaria envolvido, somado a outros fatores que alteram a cinética de nucleação e crescimento dos cristais como as propriedades de superfície, viscosidade e tensão superficial (GUO *et al.*, 2017; QIU; LI, 2015).

## 2.5 FÁRMACOS

Visando a investigação dos mecanismos de solubilização e de DSP de cocrystalinos com base nas propriedades e aspectos descritos nesta revisão, selecionou-se os fármacos meloxicam (MLX) e naproxeno (NPX). Ambos os fármacos são anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs), amplamente utilizados na terapêutica de doenças inflamatórias e reumáticas, como artrite reumatoide, osteoartrites e dores em geral, como a enxaqueca (GOODMAN; GILMAN, 2008; TODD; CLISSOLD, 1990).

Estes fármacos tornam-se alvo de estudos desta natureza, pois apresentam características favoráveis e passíveis de serem aprimoradas. Pertencem à classe II do SCB, ou seja, são moléculas de baixa solubilidade aquosa e alta permeabilidade intestinal (AMIDON *et al.*, 1995; LUGER *et al.*, 1996). Além disto, são moléculas ionizáveis, praticamente insolúveis em água, especialmente em valores de pH baixos, o que exige um tempo maior para atingir concentrações plasmáticas em nível terapêutico. A necessidade por analgésicos com início de ação mais rápida tem resultado em investigações para aumentar a velocidade de absorção desses fármacos. Destaca-se que embora existam diversos cocrystalinos de meloxicam e naproxeno relatados na literatura, até o momento nenhum estudo com a abordagem desta tese foi realizado para estes cocrystalinos (CASTRO *et al.*, 2011; CHENEY *et al.*, 2011; TILBORG *et al.*, 2013).

### 2.5.1 Meloxicam

Diversas estratégias vêm sendo utilizadas para melhorar a solubilidade do MLX, a taxa de dissolução e acelerar seu início terapêutico. Abordagens como, sistemas auto-nanoemulsificantes, solubilização micelar, nanossuspensão, formação de sal, complexos de

inclusão de ciclodextrina, nanocristais e cocristais podem ser encontrados na literatura (BADRAN *et al.*, 2014; CHENEY *et al.*, 2010; GHORAB *et al.*, 2004; OCHI *et al.*, 2013, 2014; ULLAH AND KALLEM, 2011; WEYNA *et al.*, 2012). Na Tabela 2 estão apresentados cocristais de meloxicam com diversos coformadores relatados na literatura. .

Tabela 2 - Cocristais de meloxicam relatados na literatura.

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

<sup>a</sup>(CHENEY *et al.* 2010)

<sup>b</sup>(CHENEY *et al.*, 2011)

O MLX é um AINE da classe dos ácidos enólicos, derivado dos oxicans. Apresenta-se como potente inibidor da ciclooxigenase, apresentando preferência e seletividade pela isoenzima COX-2 responsável pelos efeitos terapêuticos dos AINEs, enquanto que a inibição da COX-1 está relacionada com os efeitos colaterais gástricos. Este fármaco demonstra uma incidência menor de eventos adversos gastrintestinais como dispepsia, vômitos, náusea e dor abdominal em comparação com outros fármacos da mesma classe (CHURCHILL *et al.*, 1996; TÜRCK *et al.*, 1995; TURCK; ROTH; BUSCH, 1996)

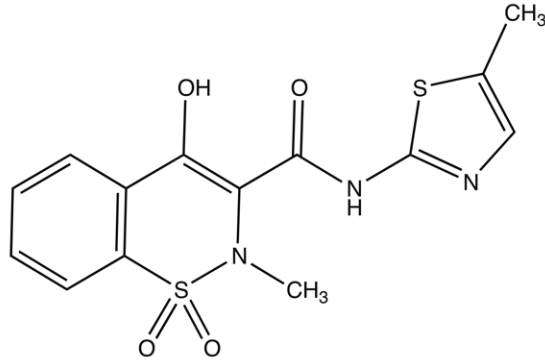
O MLX possui fórmula molecular C<sub>14</sub>H<sub>13</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>S<sub>2</sub> (4-hydroxy-2-methyl-N-(5-methyl-1,3-thiazol-2-yl)-1,1-dioxo-2H-1λ<sup>6</sup>,2-benzothiazine-3-carboxamide) e apresenta-se fisicamente como um pó amarelo, com massa molar de 351,40 g/mol e estrutura química conforme apresentado na

Figura 13. É uma molécula de caráter zwitteriônico de ionização, que de acordo com Luger *et al.* (1996), possui dois valores de pK<sub>a</sub>, 1,09 e 4,18, correspondendo à ionização do anel tiazol e ao grupo OH enólico, respectivamente (CHENEY *et al.*, 2010; LUGER *et al.*, 1996; USP, 2008).

Possui cinco formas polimórficas relatadas que estão descritas na patente de número U.S.2003/0109701A1, sendo a forma I a de atividade terapêutica. Os dados cristalográficos de

monocristal do polimorfo I estão depositados no *Cambridge Structural Database* (CSD) e foram descritos por Luger et al. (1996) e posteriormente por Fabiola et al. (1998).

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



Fonte: Luger et al. (1996).

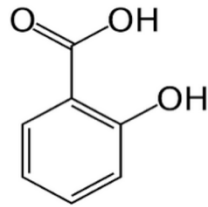
O MLX é um fármaco que possui desejável permeabilidade, baixa solubilidade e uma baixa velocidade de dissolução, fatores limitantes para a sua taxa de absorção. Possui dados relatados de logP de 2,43 (octanol-tampão pH 2) e solubilidade aquosa de 0,0011 mM (pH 2) (LUGER *et al.*, 1996; MACHADO, 2016; MACHADO *et al.*, 2018). Devido à sua baixa solubilidade em condições ácidas (pH de 1 a 5), o MLX é absorvido lentamente, com concentrações plasmáticas máximas atingidas após aproximadamente 10 horas dificultando sua utilização em casos de dores agudas que necessitam de alívio rápido (DAVIES; ANDERSON, 1997; DAVIES; SKJODT, 1999). Experimentos de solubilidade demonstram que a maior dose de MLX comercializada (15 mg) excede a solubilidade do fármaco de 120 a 21 vezes na faixa de pH de 1,0 a 5,0, ou seja, menos de 5,0% da sua dose irá dissolver em 250 mL (volume luminal) na mesma faixa de pH, enquanto sob pH intestinal (>6,5) a dose total irá dissolver (MACHADO, 2016; MACHADO *et al.*, 2020).

Obtenção, a caracterização e estudos de solubilidade com os cocristais de meloxicam-ácido salicílico (MLX-SLC) e meloxicam-ácido maleico (MLX-MLE) foram previamente realizados em dissertação de mestrado (MACHADO, 2016). Uma das razões que motivou a seleção destes cocristais foi o fato de os coformadores apresentarem características de solubilidade bastante extremas (MLE é aproximadamente 400 vezes mais solúvel que o SLC em solução aquosa de pH 1.0), resultando em cocristais com valores de solubilidade bastante distintos. O coformador SLC apresenta-se como um ácido monoprótico com valor de

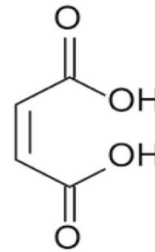
$pK_a$  3,0 enquanto que o MLE se apresenta como um ácido diprótico, com dois valores de  $pK_a$  de 1,9 e 6,6 (Figura 14) (DAWSON, 1958; THE MERCK INDEX, 2001). Assim como o MLX, os cocristais demonstraram solubilidade altamente dependente do pH. Grande incremento de solubilidade na faixa de pH (1 a 7) foi observado, sendo assim, estes cocristais foram considerados promissores para dar continuidade aos estudos propostos nesta tese (MACHADO, 2016).

Figura 14 - Estrutura molecular dos coformadores ácido salicílico (a) e ácido maleico (b).

(a)



(b)



Fonte: Cheney et al. (2010).

### 2.5.2 Naproxeno

O naproxeno, um derivado do ácido propiônico, foi introduzido no mercado em 1976 como S-naproxeno, enantiômero puro, forma ativa inibidora da síntese de prostaglandinas. Desde então, o mesmo encontra-se entre os anti-inflamatórios mais consumidos do mundo, com indicações que vão desde o tratamento de artrite reumatoide até o alívio da dismenorreia e enxaqueca (DAVIES; ANDERSON 1997; HARRINGTON; LODDEWIJK, 1997).

Em relação às características físico-químicas, o NPX é um pó branco, praticamente sem odor, cristalino, solúvel em etanol e metanol. Sua fórmula molecular é  $C_{14}H_{14}O_3$  ((2S)-2-(6-methoxynaphthalen-2-yl)propanoic acid), possui massa molar de 230,3 g/mol e estrutura química representada na Figura 15. É considerado um fármaco do tipo ácido fraco com  $pK_a$  de 4,18. NPX é praticamente insolúvel em meio aquoso em valores de pH ácido, estando em estado não-ionizado nos fluidos gástricos, e facilmente solúvel em valores de pH acima do seu  $pK_a$ . Possui dados relatados de logP de 3,33 (octanol-tampão pH 2). Esta característica lhe



confere caráter lipofílico. A dose comercializada de 500 mg de NPX é aproximadamente 150 vezes acima da sua solubilidade em condições gástricas de pH (1-3), indicando propriedade limitada de dissolução (AVDEEF; VOLOBOY; FOREMAN, 2000; LUGER et al., 1996).

O pico plasmático do NPX pode variar de 0,5 a 3 horas após administração de dose oral de 500 mg e a influência de alimentos na absorção deste fármaco não está bem estabelecida. A literatura sugere que a absorção do NPX ocorre preferencialmente no intestino, embora a absorção gástrica também ocorra, mas em menor grau. Alguns estudos indicam que a presença de alimentos no TGI reduz a absorção do NPX, possivelmente pela redução do tempo de esvaziamento gástrico. Entretanto, outros estudos demonstram que o aumento do pH gástrico devido à ingestão de certos alimentos e antiácidos poderia facilitar a dissolução e acelerar a taxa de absorção do mesmo. Isto implica em divergências nos protocolos deste fármaco (RUNKEL ' *et al.*, 1972; RUNKEL *et al.*, 1973; SEVELIUS *et al.*, 1980).

É possível encontrar o NPX comercializado na forma de sal de sódio (Flanax®) como estratégia para melhorar as características de solubilidade e dissolução. Outras abordagens que prometem aprimorar tais parâmetros estão descritas na literatura, como a formação de sistemas co-amorfos, de nano-cristais, sais (naproxeno:arginina) e complexação com  $\beta$ -ciclodextrinas (BEYER *et al.*, 2017; KASTEN *et al.*, 2018; KUMAR *et al.*, 2015; P. MURA, M.T. FAUCCI, F. MAESTRELLI, S. FURLANETTO, 2002; SEVELIUS *et al.*, 1980).

A molécula de NPX apresenta-se adequada à obtenção de cocrystalis, com possibilidade de formação de interações de hidrogênio via grupamento COOH, apresentando número razoável de cocrystalis relatados. Até o momento, o principal foco dos estudos com cocrystalis de NPX concentra-se na obtenção, interações químicas e resolução da estrutura cristalina (Tabela 3).

Tabela 3 - Cocrystalis de naproxeno relatados na literatura.

<b>Cocrystal</b>	<b>Referência</b>
S-naproxeno - Nicotinamida (2:1)	(ANDO <i>et al.</i> , 2012; CASTRO ET. AL, 2011; NEUROHR <i>et al.</i> , 2013a)
S-naproxeno - D-prolina (1:1)	(TILBORG <i>et al.</i> , 2013)
S-naproxeno- L-prolina (1:1)	(TILBORG <i>et al.</i> , 2013)
S-naproxeno:picolinamida (1:1)	(KERR <i>et al.</i> , 2017)
S-naproxeno - Duloxetina (3:2)	(HEINRICH <i>et al.</i> , 2009)

S-naproxeno – Ureia (\*)

(RAJURKAR; GITE; GHAWATE, 2015b)

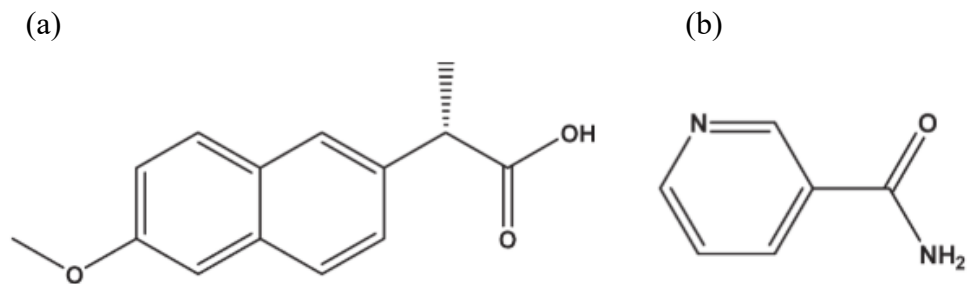
S-naproxeno – Tiourea (\*)

(RAJURKAR; GITE; GHAWATE, 2015b)

\*Estequiometria não foi confirmada pela resolução da estrutura cristalina.

Dentre os cocristais relatados selecionou-se o naproxeno:nicotinamida para execução dos estudos propostos nesta tese, devido a viabilidade da obtenção do mesmo. A nicotinamida (Figura 15). umas das formas da vitamina B3, conhecida por ser um composto seguro, possui grupos funcionais como amida e anel piridina, que são efetivos na formação de interações de hidrogênio, motivo pelo qual esta molécula é muito utilizada na formação de cocristais. É uma molécula do tipo base com valor de  $pK_a = 3,3$ , ou seja, possui elevada solubilidade em valores baixos de pH (AHMAD; ANSARI; ISMAIL, 2003; WICHIANPHONG; CHAROENCHAITRAKOOL, 2018).

Figura 15 - Estrutura molecular do naproxeno (a) e nicotinamida (b).



Fonte: Castro et al. (2011).

## **CAPÍTULO II**

### **COCRISTAIS DE MELOXICAM: PAPEL DO pH E DO MEIO BIORRELEVANTE FeSSIF NA DISSOLUÇÃO DO COCRISTAL E SUPERSATURAÇÃO- PRECIPITAÇÃO DO FÁRMACO**

---

### 3 COCRISTAIS DE MELOXICAM: PAPEL DO pH E DO MEIO BIORRELEVANTE FESSIF NA DISSOLUÇÃO DO COCRISTAL E SUPERSATURAÇÃO-PRECIPITAÇÃO DO FÁRMACO

#### 3.1 INTRODUÇÃO

Os cocristais, assim como os sais e sistemas amorfos, podem gerar altas concentrações de fármaco durante a dissolução. A supersaturação gerada é considerada um estado metaestável, podendo levar à transição de fase mediada pelo solvente (precipitação do componente menos solúvel). O crescente avanço das pesquisas envolvendo os SDDS reflete na necessidade de métodos racionais e apropriados para avaliar corretamente a cinética destes sistemas. Condições não-*sink* de dissolução estão dentre os métodos mais utilizados para avaliar a habilidade destes sistemas em gerar e manter o estado de supersaturação. No entanto, devido à complexidade que envolve os eventos de supersaturação, nucleação e cristalização, diferentes estudos e modelos são descritos na literatura (ALMEIDA E SOUSA *et al.*, 2016; SUN; WEN; TAYLOR, 2016b).

Além do aprimoramento da solubilidade, os cocristais podem modular a dissolução em função do pH, na presença de aditivos solubilizantes, e também alterar o pH do microambiente (CAO *et al.*, 2016; CAO; RODRIGUEZ-HORNEDO; AMIDON, 2019; CHEN, 2017; HUANG *et al.*, 2019).

Enquanto a maioria dos estudos de dissolução de cocristais encontrados na literatura tem enfoque apenas nos perfis de concentração de fármaco *vs* tempo, os estudos desta tese consideram a vantagem da solubilidade cocristal ( $SA = S_{\text{cocristal}}/S_{\text{fármaco}}$ ) e o parâmetro *dose number* ( $Do = C_{\text{dose}}/S_{\text{fármaco}}$ ) ao analisar os perfis de dissolução-supersaturação-precipitação (DSP) de cocristais de meloxicam. A SA é proporcional à energia livre de nucleação do fármaco e seu valor representa o potencial de conversão do cocristal para o fármaco menos solúvel. Já o Do é a resposta para a questão: A solubilidade do fármaco será suficiente para dissolver totalmente a dose? Se  $Do < 1$ , a dose total dissolverá e se  $Do > 1$ , a solubilidade do fármaco não será suficiente para dissolver totalmente a dose. Esse conceito foi inicialmente introduzido por Oh *et al.* (1993) para quantificar o volume de fluido necessário para dissolver a dose do fármaco, e ainda tem sido muito útil na classificação dos fármacos quanto às suas limitações de absorção oral (OH; CURL; AMIDON, 1993b). Para obtenção do Do, a dose total é dividida pelo volume de líquido (ex.: gástrico, intestinal, meio ou outro líquido de

interesse) para obter a concentração da dose dissolvida ( $C_{dose}$ ) que, em comparação com a solubilidade do medicamento ( $S_{fármaco}$ ) nas mesmas condições, fornece a extensão em que o a dose é dissolvida (SUGANO; TERADA, 2015). Assume-se, assim, um sistema fechado (sem absorção). SA e Do podem ser modulados a partir da ionização dos componentes do cocrystal e pela presença de agentes solubilizantes do fármaco, como os surfactantes fisiologicamente relevantes compostos por sais biliares e fosfolipídios (CHEN; RODRÍGUEZ-HORNEDO, 2018; KUMINEK *et al.*, 2016).

Este capítulo busca entender como a SA e o Do influenciam a cinética de dissolução de cocrystal e a supersaturação-precipitação do fármaco em função do pH e na presença do meio simulado do fluido intestinal no estado alimentado (FeSSIF). O estudo tem como objetivo (1) avaliar a solubilidade do cocrystal e do fármaco em diferentes valores de pH e em FeSSIF; (2) determinar os parâmetros termodinâmicos ( $K_{sp}$ ,  $K_{eu}$  e SA); (3) determinar os níveis supersaturados durante a dissolução dos cocrystal, os mecanismo de nucleação e precipitação do fármaco e estabelecer correlação com os parâmetros SA e Do.

Parte dos resultados deste capítulo foram obtidos durante o estágio sanduíche na Universidade de Michigan, sob orientação da Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Naír Rodríguez-Hornedo, e estão publicados no periódico *European Journal of Pharmaceutical Science* (MACHADO *et al.*, 2020).

## 3.2 METODOLOGIA

### 3.2.1 Materiais

#### 3.2.1.1 Componentes dos cocrystal

Meloxicam forma I (MLX) foi adquirido de Technodrugs & Intermediates (Gujarat, Índia). Os coformadores ácido maleico (MLE) e ácido salicílico (SLC) foram adquiridos de Merck (Darmstadt, Germany) e Xiamen Fine Chemical (Xiamen, China), respectivamente. Fármaco e coformadores foram caracterizados por Difração de Raios-X de Pó (DRXP) e Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) antes do preparo dos cocrystal.

### 3.2.1.2 Solventes e tampões

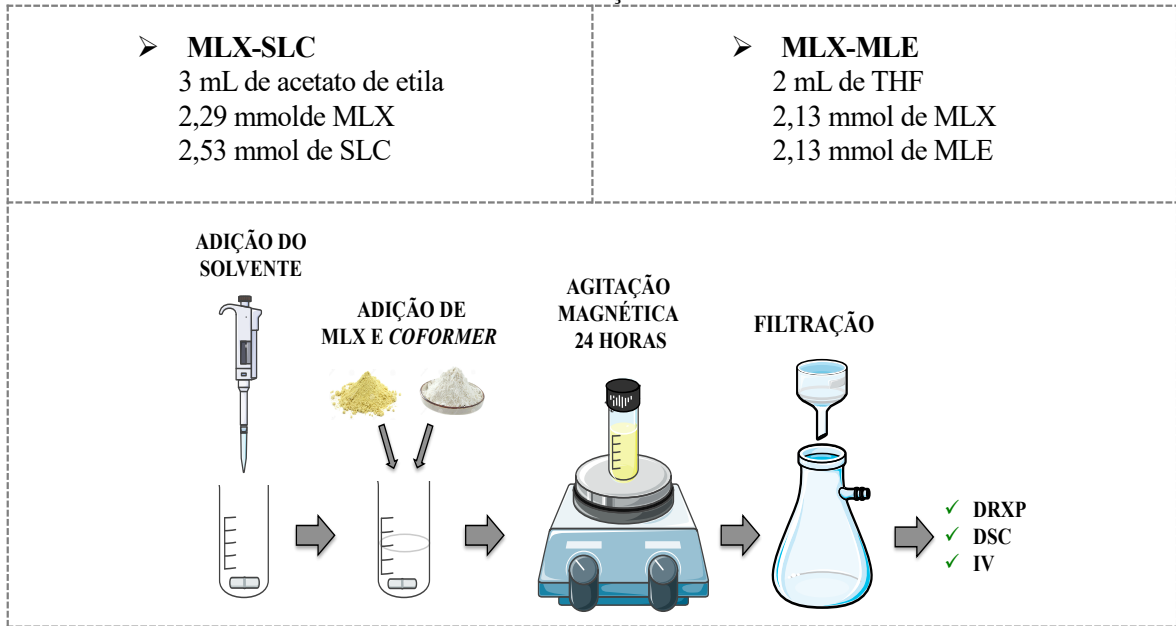
Acetato de etila e tetrahidrofurano (grau analítico), metanol e acetonitrila (grau cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)) foram adquiridos de Tedia (Rio de Janeiro, Brazil). Hidróxido de sódio, ácido acético, acetato de sódio e cloreto de sódio foram adquiridos de Sigma (St. Louis, MO). O produto FaSSIF/FeSSIF/FaSSGF (Versão 1) para preparo de meio biorrelevante foi adquirido da empresa Biorelevant.com LTD (London, UK). A água utilizada nestes estudos foi filtrada através de sistema de purificação (Milli-Q® Water System) de Millipore Co. (Bedford, MA).

## 3.2.2 Métodos

### 3.2.2.1 Preparo dos cocristais

Para a obtenção de cocristais do meloxicam foram utilizadas quantidades de reagentes descritas por Cheney e colaboradores (2010) e o Método de Cristalização por Reação (MCR), descrito por Rodríguez-Hornedo e colaboradores (2006). Esta reação de cristalização em solução foi realizada em temperatura ambiente, por meio da adição de quantidades estequiométricas de MLX e coformador em um frasco contendo um volume determinado de solvente (Figura 16). MLX-SLC (1:1) foi preparado em acetato de etila, enquanto MLX-MLE (1:1) foi preparado em tetrahidrofurano (THF). As suspensões foram mantidas sob agitação magnética durante 24 horas e, em seguida, filtradas em filtro de papel quantitativo sob vácuo. A identidade das amostras foi confirmada por DSC e DRXP. A estequiometria (pureza) do cocrystal foi verificada por CLAE.

Figura 16 - Desenho esquemático do preparo dos cocristais de MLX pelo método de reação de cristalização em solução.



### 3.2.2.2 Difração de raios X (DRXP)

Os difratogramas foram obtidos utilizando o equipamento difratômetro Rigaku Miniflex (Rigaku, Danverse, MA) com radiação de cobre  $K\alpha$  ( $\lambda = 1,54 \text{ \AA}$ ), operando com voltagem de 30 kV e corrente de 10 mA. Os dados foram coletados na faixa de  $5^\circ$  a  $35^\circ$  e varredura de  $2,5^\circ/\text{min}$ . Resultados foram comparados com padrões de difração relatados na literatura ou padrões calculados do banco de dados de estruturas cristalinas Cambridge Structural Database (CSD).

### 3.2.2.3 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

As curvas de DSC foram obtidas em instrumento TA 2920MDSC (Newark, DE), utilizando cápsulas de alumínio hermeticamente fechadas com aproximadamente 2 mg de amostra, sob atmosfera dinâmica de Nitrogênio ( $50 \text{ mL/min}$ ) e razão de aquecimento de  $10^\circ \text{ C/min}$ , na faixa de temperatura de  $25^\circ \text{ C}$  a  $280^\circ \text{ C}$ .

### 3.2.2.4 Espectroscopia vibracional na região do infravermelho (FT-IR)

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

#### 3.2.2.5 Preparo dos meios de dissolução e solubilidade

Soluções de HCl nos valores de pH 1,0 (0,1 M) e 3,0 (0,08 M) foram preparadas a partir de diluições de HCl (12 M) em água. O tampão pH 1,6 ( $\pm 0,02$ ) (34 mM) foi preparado adicionando 1,99 g de NaCl em 1 L de água. O tampão acetato pH 5,0 ( $\pm 0,01$ ) (144 mM) foi preparado por meio da adição de 8,089 g de NaOH, 16,4 mL de ácido acético e 23,748 g de NaCl em 1 L de água. O meio biorrelevante FeSSIF foi preparado dissolvendo o pó FaSSIF/FaSSIF/FaSSGF no tampão pH 5,0, de acordo com quantidades estabelecidas nos protocolos de Biorelevant.com LTD. O tampão fosfato pH 6,52 ( $\pm 0,02$ ) (105,9 mM) foi preparado dissolvendo quantidades apropriadas de fosfato de sódio monobásico (28,4 mM) e NaOH (8,7 mM) em 1 L de água. Os valores de pH em todos os meios foram ajustados com soluções 1 M de NaOH e HCl. A água utilizada nos experimentos de solubilidade foi filtrada através de sistema de purificação MilliQ® e o pH medido foi de 6,3 ( $\pm 0,02$ ).

#### 3.2.2.6 Solubilidade do MLX

A solubilidade do MLX ( $S_{MLX}$ ) foi determinada a partir da adição de excesso de fármaco em 30 ml de solução. As suspensões foram mantidas sob agitação ( $25 \pm 0,2\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 150 rpm) em incubadora do tipo *shaker* (NT 715, Novatécnica, Piracicaba, Brasil). Em intervalos de 24 h alíquotas foram coletadas, filtradas em filtros de poliamida de  $0,45\text{ }\mu\text{m}$  e o pH verificado. Após diluição adequada em fase móvel, a fase líquida foi analisada por CLAE e a fase sólida foi verificada por DRXP e DSC para garantir que não houve transição de fase durante o ensaio. O experimento foi finalizado quando o sistema alcançou o equilíbrio (48-72h), onde a variação de concentração molar foi inferior a 5% entre as duas últimas coletas. Os experimentos foram realizados em triplicata.



### 3.2.2.7 Solubilidade do cocrystal

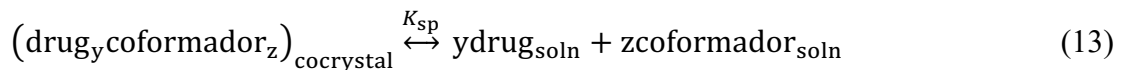
A solubilidade dos cocristais foi determinada no ponto eutético, onde a fase sólida do fármaco e do cocrystal estão em equilíbrio com a solução. Quantidades em excesso de cada fase sólida foram adicionada em 30 mL de meio e as suspensões foram mantidas sob agitação contínua a  $25 \pm 0,2^\circ \text{C}$ , 150 rpm em incubadora do tipo *shaker* (NT 715, Novatécnica, Piracicaba, Brasil, até o equilíbrio ser alcançado (48-72 h). Em intervalos de 24 h, alíquotas foram coletadas, filtradas em filtros de poliamida de  $0,45 \mu\text{m}$  e o pH verificado. Após diluição adequada em fase móvel, a fase líquida foi analisada por CLAE, a fim de obter as concentrações de fármaco e coformador, e a fase sólida foi verificada por DRXP e DSC para garantir que o sistema se encontrava o ponto eutético (confirmado pela presença das fases sólidas do fármaco e do cocrystal e concentrações constantes de fármaco e coformador). Os experimentos foram realizados em triplicata.

A solubilidade estequiométrica dos cocristais foi calculada a partir da concentração eutética total medida de fármaco e de coformador ( $[\text{fármaco}]_{\text{T,eu}}$  e  $[\text{coformador}]_{\text{T,eu}}$ ), de acordo com a seguinte equação para cocristais de estequiometria 1:1:

$$S_{\text{cocrystal (1:1)}} = \sqrt{[\text{fármaco}]_{\text{T,eu}}[\text{coformador}]_{\text{T,eu}}} \quad (12)$$

Onde  $S_{\text{cocrystal}}$  é a solubilidade total do cocrystal, e  $[\text{fármaco}]_{\text{T,eu}}$  e  $[\text{coformador}]_{\text{T,eu}}$  representam a concentração total molar de todas as espécies de fármaco e coformador sob condições de equilíbrio.

Em solução, os cocristais dissociam em fármaco e coformador, e o equilíbrio entre o cocrystal sólido e os constituintes em solução é expresso por uma constante, denominada como produto da solubilidade ( $K_{\text{sp}}$ ).



Onde  $y$  e  $z$  representam os coeficientes estequiométricos de fármaco e coformador, respectivamente.

O  $K_{\text{sp}}$  para os cocristais MLX-SLC e MLX-MLE foi determinado de acordo com as

seguintes equações:

$$K_{sp} = [{}^+MLX^-]_0 [HA]_0 \text{ para MLX-SLC} \quad (14)$$

$$K_{sp} = [{}^+MLX^-]_0 [H_2A]_0 \text{ para MLX-MLE} \quad (15)$$

Onde  $[{}^+MLX^-]_0$ ,  $[HA]_0$  e  $[H_2A]_0$  representam as concentrações neutras de MLX, SLC e MLE no ponto eutético. Neste trabalho a forma zwitteriônica do MLX refere-se à espécie neutra do fármaco.

### 3.2.2.8 Dissolução do fármaco e dos cocristais

A dissolução do fármaco e dos cocristais foi realizada em triplicata nos meios: tampão pH 1,6, tampão pH 5,0 (sem adição de FeSSIF) e FeSSIF pH 5,0. Os tampões pH 1,6 e 5,0 são citados nos protocolos de preparo dos meios biorrelevantes e correspondem ao pH do estômago em estado jejum e pH do intestino em estado alimentado, respectivamente (VERTZONI *et al.*, 2005). A temperatura foi mantida a 25,0 ( $\pm$  0,2) °C sob agitação (150 rpm) utilizando incubadora do tipo *shaker flask* (NT715 Novatécnica, Brasil). A dose de 10 mg de MLX e o equivalente para os cocristais (MLX-MLE:13,30 mg e MLX-SLC: 13,93 mg) foi adicionada em 50 mL do meio de dissolução. As amostras foram previamente passadas pelo tamis de malha 125  $\mu$ m, para uniformização do tamanho de partícula. Em intervalos de tempo pré-determinados, alíquotas de 1,0 mL foram coletadas e imediatamente filtradas com membrana de poliamida de 0,45  $\mu$ m. Concentrações de fármaco e coformador foram analisadas por CLAE e a fase sólida final analisada por DSC e FT-IR. O experimento foi encerrado em 24 horas e o pH foi verificado. Para a análise das dissoluções considerou-se os parâmetros: área sob a curva (AUC), supersaturação ( $[fármaco]_T/S_{fármaco}$ ) e supersaturação máxima ( $\sigma_{max} = C_{max}/S_{fármaco}$ ). Teste *t* foi utilizado para testar a significância estatística em relação aos valores da área sob a curva (AUC) e  $\sigma_{max}$ , entre cada cocrystal e meio utilizado. Aplicou-se intervalo de confiança de 95%. Diferenças entre os parâmetros foram consideradas significativas quando  $p < 0,05$ . O cálculo da AUC e análise estatística foi realizada em *software* GraphPad Prism<sup>®</sup>6.

### 3.2.2.9 Dose number (Do)

O parâmetro Do foi calculada a partir da fórmula (OH; CURL; AMIDON, 1993b):

$$Do = \frac{C_{dose}}{S_{fármaco,T}} = \frac{M_0/V_0}{S_{fármaco,T}} \quad (16)$$

Onde a  $C_{dose}$  é obtida a partir da dose de MLX (mg) ( $M_0$ ) dividida pelo volume (mL) administrado com a dose ou o volume luminal (250 mL) ( $V_0$ ), e  $S_{fármaco,T}$  é a solubilidade total de fármaco (mg/mL).

A  $C_{dose}$  utilizada nos estudos de dissolução deste capítulo é maior que a  $C_{dose}$  correspondente a dose comercializada de MLX. Por esse motivo foram considerados dois cálculos do Do para o fármaco:

- 1) Do em humanos ( $Do_{humanos}$ ): calculada considerando a  $C_{dose}$  em humanos, a qual é definida a partir da maior dose comercializada de MLX (15 mg) em um volume de 250 mL dividida pela  $S_{fármaco}$ .
- 2) Do nos experimentos de dissolução ( $Do_{in vitro}$ ): calculada considerando a  $C_{dose}$  nos experimentos de dissolução, a qual é definida pela dose utilizada de MLX e o seu equivalente nos cocristais (10 mg) adicionados nos meios de dissolução (50 mL) dividida dividida pela  $S_{fármaco}$ .

A Do em relação ao cocrystal ( $Do_{(cocrystal)}$ ) foi calculada considerando a  $C_{dose}$  nos experimentos de dissolução, a qual é definida pela dose utilizada de cocrystal adicionados nos meios de dissolução (50 mL) dividida pela  $S_{cocrystal}$ .

Os valores de dose são geralmente relatados na literatura em mg. Neste capítulo as doses foram convertidas para a escala molar (mmol) e as concentrações estão em mmol/L (mM).

### 3.2.2.10 Instrumentação e condições cromatográficas

Para quantificação do MLX e dos coformadores por CLAE foram utilizadas metodologias previamente desenvolvidas e validadas, cujas condições estão apresentadas na Tabela 4 (MACHADO, 2016). As análises por CLAE foram realizadas em cromatógrafo Shimadzu LC-10A (Kyoto, Japão), equipado com bomba LC-10AD, degaseificador DGU-

14A, detector de comprimento de onda ( $\lambda$ ) SPD-10AV e unidade controladora de sistema SCL-10AVP. A aquisição dos dados foi realizada por meio do *software* CLASS-VP® V 6.14.

Tabela 4 - Condições cromatográficas utilizadas para quantificação de MLX, SLC e MLE.

Parâmetros	Método		
	Isocrático	Gradiente 1	Gradiente 2
Analito	MLX	MLX e SLC	MLX e MLE
Fase móvel	Acetonitrila (ACN): Tampão acetato de amônio 25 mM pH 6,8	A: ACN B: tampão pH 6,8	A: ACN B: MeOH C: tampão pH 2,5
Proporção (v/v)	35:65	Solução (A:B): 20:80 (0-5 min) 80:20 (5-8 min) 20:80 (8-12 min)	10:90 (B:C) (0-6 min) 90:10 (A:C) (6-14 min) 10:90 (B:C) (14-18 min)
$\lambda$ de onda	360 nm	MLX: 360 nm SLC: 230 nm	MLX: 360 nm MLE: 240 nm
Vol. de injeção	20 $\mu$ L	20 $\mu$ L	20 $\mu$ L
Vazão	1 mL/min	1 mL/min	1 mL/min
Temperatura	25°C	25°C	25°C
Tempo de retenção	7 min.	SLC: 4 min. MLX: 8 min.	MLE: 6 min. MLX: 12 min.
Faixa linear	0,075 - 5,0 $\mu$ g/mL 2,0 - 75 $\mu$ g/mL	10-100 $\mu$ g/ml	10-100 $\mu$ g/mL
Limite de detecção	0,005 $\mu$ g/mL 0,15 $\mu$ g/ml	MLX: 1,00 $\mu$ g/ml SLC: 1,30 $\mu$ g/ml	MLX: 1,50 $\mu$ g/mL MLE: 2,47 $\mu$ g/mL
Limite de quantificação	0,02 $\mu$ g/mL 0,4 $\mu$ g/mL	MLX: 3,35 $\mu$ g/ml SLC 4,34 $\mu$ g/ml	MLX: 4,55 $\mu$ g/mL MLE: 8,14 $\mu$ g/mL
Coluna	Phenomenex Gemini® C18 (5 m $\mu$ , 250 mm x 4,6 mm d.i.)		

### 3.2.2.11 Microscopia óptica

#### 3.2.2.11.1 Avaliação da cinética de dissolução dos cocristais

A cinética de dissolução dos cocristais seguida da precipitação do fármaco foi investigada em microscópio invertido Leica Dmi8 (Leica Microsystems, Wetzlar, Alemanha) equipado com câmera de alta resolução e iluminação clara de LED. Alíquotas de 200  $\mu$ L

foram coletadas durante a dissolução dos cocristais (mesmas condições descritas no item 2.2.2.9) e transferidas para as placas de 96 poços em tempos pré-determinados. As imagens foram coletadas utilizando câmera Leica DMC2900 controlada por software LAS v4.7 (Leica Microsystems, Wetzlar, Germany). Aumento de 20x foi utilizado para todas as imagens.

#### 3.2.2.11.2 Avaliação da precipitação do MLX

O método de *pH-shift* foi utilizado para induzir estados supersaturados do MLX. (PLUM *et al.*, 2020). Para isso, diferentes quantidades de MLX foram solubilizadas em soluções de pH acima de 8.0 na presença e ausência de FeSSSIF com objetivo de acessar concentrações altas de MLX (solução estoque), visto que o fármaco apresenta aumento significativo da solubilidade acima do pH 6,0. Alíquotas (5 a 30  $\mu$ L) da solução estoque foram adicionadas em 5 mL dos meios: pH 1,6, pH 5,0 (sem FeSSIF) e FeSSIF pH 5.0. Imediatamente, uma alíquota foi transferida para a placa de 96 poços e monitorada em microscópio invertido a fim de observar a precipitação do fármaco. O pH foi verificado no início e no final de cada experimento. O experimento foi conduzido por 24 h com 3 replicatas. O índice ou grau de supersaturação representado pela sigla DS (do inglês “*degree of supersaturation*”) foi calculado considerando a equação:

$$DS = \frac{[MLX]_T}{S_{MLX}} \quad (17)$$

Onde  $[MLX]_T$  representa a concentração de MLX e  $S_{MLX}$  representa a solubilidade do MLX no meio onde as alíquotas foram adicionadas considerando o valor de pH final.

#### 3.2.2.12 Avaliação da molhabilidade

O Sistema de ângulo de contato OCA 15EC (Filderstadt, Alemanha) foi utilizado para avaliar a molhabilidade das amostras de MLX, MLX-SLC e MLX-MLE. As pastilhas foram preparadas por compressão do pó (200 mg) sob uma pressão de 1 tonelada utilizando uma prensa hidráulica Specac (Specac Limited, Inglaterra). Os ângulos de contato foram determinados após a aplicação de uma gota de cada meio (tampão pH 1,6, tampão 5,0, FeSSIF pH 5,0 e tampão pH 6,5) sob a superfície das pastilhas. As leituras do ângulo de contato foram

registadas entre 1 a 10 segundos, utilizando o instrumento goniômetro. Todas as medidas foram realizadas em triplicado sob condições ambiente de  $25 (\pm 5)^\circ \text{C}$ .

### 3.2.2.13 Espectroscopia Raman com microscópio acoplado

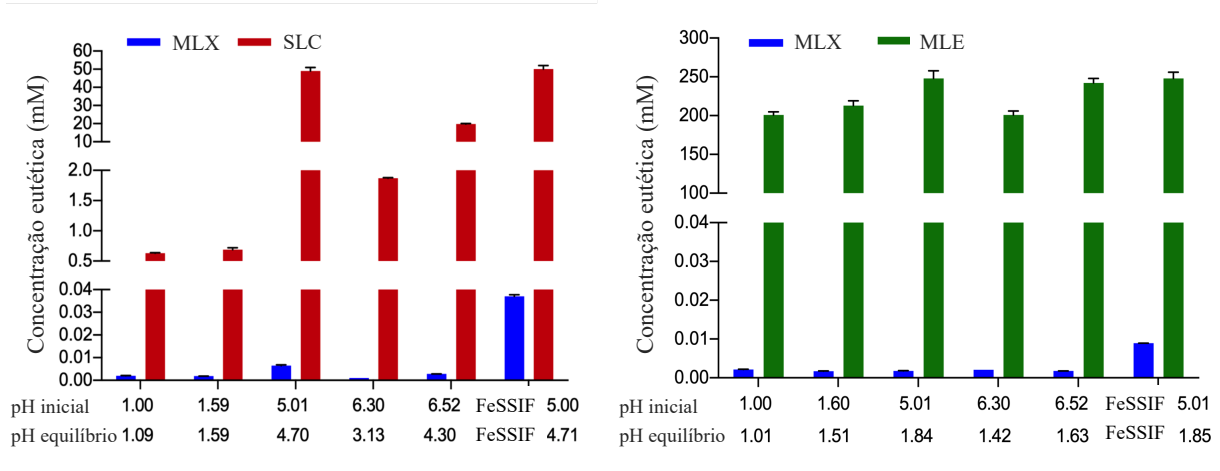
Espectros Raman das amostras MLX, MLX-SLC, MLX-MLE e da fase sólida durante as dissoluções dos cocristais foram obtidos utilizando o microscópio Raman confocal (Renishaw InVia Plc., UK), equipado com comprimento de onda de 532, 633 e 785 nm, na região de  $1200 - 200 \text{ cm}^{-1}$  e com resolução de  $1 \text{ cm}^{-1}$ . A análise dos dados foi realizada utilizando software Spekwin®32.

## 3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.3.1 $K_{\text{eu}}$ , SA e solubilidade

A constante eutética  $K_{\text{eu}}$  foi determinada em função do pH e em FeSSIF (pH 5,0) por meio das medidas das concentrações de fármaco e coformador em equilíbrio com a fase sólida de cocrystal e fármaco no ponto eutético (Figura 17). Relembrando que, o ponto eutético dos estudos dessa tese são entre fármaco e cocrystal, pois  $S_{\text{coformador}} \gg S_{\text{fármaco}}$ . Quando os cocristais convertem para o fármaco, é o ponto eutético fármaco/cocrystal que é relevante. É importante destacar que existem cocristais onde o coformador é menos solúvel que o fármaco, os quais utilizam o ponto eutético entre cocrystal e coformador para acessar a  $S_{\text{cocrystal}}$  (ROSA *et al.*, 2019).

Figura 17 - Concentrações eutéticas de fármaco e coformador medidas no ponto eutético. As concentrações de fármaco correspondem a  $S_{\text{fármaco}}$  uma vez que a solução está saturada em relação ao fármaco. As concentrações eutéticas aumentam com o aumento do pH e na presença de FeSSIF.



A vantagem de solubilidade do cocristal (SA) foi determinada a partir da  $K_{\text{eu}}$  de acordo com a relação estabelecida pela equação abaixo, para cocristais de estequiometria 1:1:

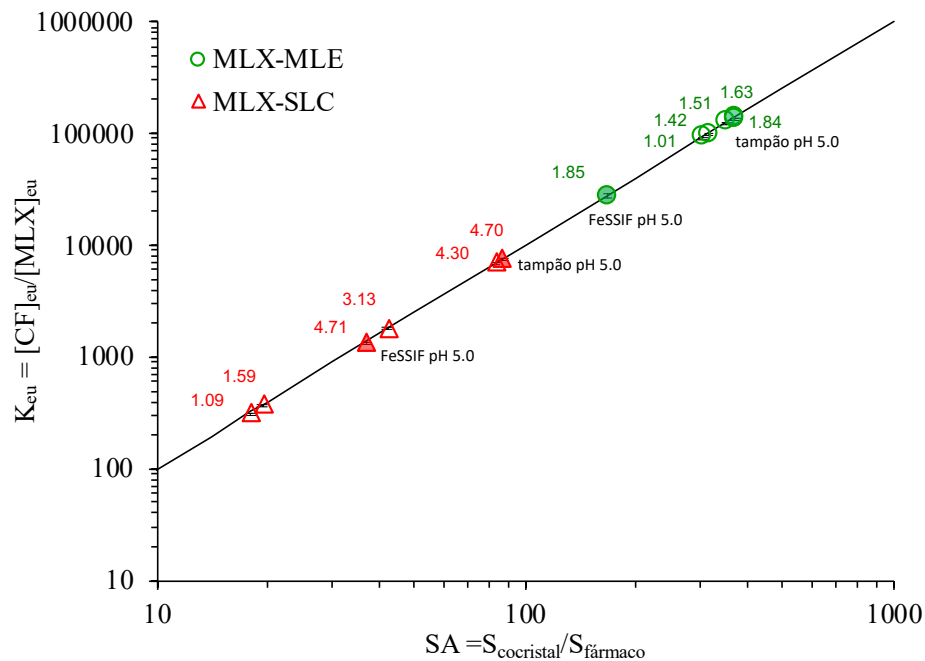
$$K_{\text{eu}}^{1:1} = \frac{[\text{coformador}]_{\text{eu}}}{[\text{fármaco}]_{\text{eu}}} = \left( \frac{S_{\text{cocristal}}}{S_{\text{fármaco}}} \right)^2 = (\text{SA})^2 \quad (18)$$

Onde  $[\text{coformador}]_{\text{eu}}$  e  $[\text{fármaco}]_{\text{eu}}$  referem-se às concentrações molares. A equação 18 que correlaciona  $K_{\text{eu}}$  e SA é obtida expressando  $S_{\text{cocristal}}$  na equação 12 em termos de  $S_{\text{fármaco}}$  e  $K_{\text{eu}}$ , assumindo que  $S_{\text{fármaco}} = [\text{fármaco}]_{\text{eu}}$  sob as condições experimentais estudadas. Essa relação e a sua aplicabilidade em acessar a estabilidade termodinâmica do cocristal tem sido demonstrado para inúmeros cocristais (ALHALAWEH; ALI; VELAGA, 2014; GOOD; RODRÍGUEZ-HORNEDO, 2009). SA representa o potencial do cocristal em converter para o fármaco. A medida que SA aumenta, a supersaturação termodinamicamente alcançável aumenta até um limiar da supersaturação cinética onde a nucleação ocorre (HUANG *et al.*, 2019).

A Figura 18 demonstra a influência do pH e do FeSSIF nos valores de  $K_{\text{eu}}$  e SA para MLX-SLC e MLX-MLE. Todos os valores de  $K_{\text{eu}}$  são  $> 1$ , indicando que ambos cocristais são mais solúveis que o fármaco. Quanto maior o  $K_{\text{eu}}$  maior o SA. Valores de  $K_{\text{eu}}$  encontrados são maiores que 100, e uma vez que SA é a raiz quadrada de  $K_{\text{eu}}$ , SA é maior que 10 em todas as condições estudadas. MLX-MLE demonstrou ser o cocristal mais solúvel, exibindo os valores mais altos de  $K_{\text{eu}}$  e SA. Ambos parâmetros aumentaram com o pH como resultado da ionização dos coformadores ácidos, os quais exibem ionização aumentada nos pHs acima dos

seus valores de  $pK_a$  (3,0 para SLC e 1,9 para MLE). Os valores experimentais de SA variaram de 18 - 87 para MLX-SLC na faixa de pH de 1,09 - 4,70, e de 304 - 371 para MLX-MLE na faixa de pH de 1,01 - 1,85. Embora os valores de pH iniciais foram entre 1,0 - 6,5, os valores de pH do equilíbrio para MLX-MLE foram no máximo 1,85 devido ao efeito tamponante do MLE (Tabela 5).

Figura 18 - Relação entre  $K_{eu}$  e SA para cocrystalos de MLX. A linha foi gerada a partir da forma logarítmica da equação 18. Os números próximos dos pontos experimentais indicam os valores de pH final dos experimentos de solubilidade. Os símbolos representam valores de SA e  $K_{eu}$  do MLX-MLE (símbolos verdes) e MLX-SLC (símbolos vermelhos). Símbolos preenchidos correspondem aos dados em FeSSIF e no tampão pH 5,0 (sem FeSSIF).  $K_{eu}$  e SA aumentam com o aumento do pH e diminuem em FeSSIF em comparação com tampão pH 5,0.



FeSSIF reduziu a SA para os dois cocrystalos (de 87 para 34 para MLX-SLC) e (de 314 para 167 para MLX-MLE). Lecitina e taurocolato de sódio presentes em FeSSIF formam micelas mistas em solução que solubilizam preferencialmente o fármaco hidrofóbico ao invés do coformador hidrofílico, levando a redução dos valores de  $K_{eu}$  e SA. As concentrações de lecitina e taurocolato de sódio no preparado FeSSIF são 3,75 mM e 15 mM, respectivamente. Estes valores estão acima da concentração micelar crítica (CMC) destes componentes (VERTZONI *et al.*, 2005).

$S_{cocrystal}$  e  $S_{fármaco}$  na Figura 19 aumentam com o aumento do pH. Enquanto  $S_{cocrystal}$  e  $S_{fármaco}$  aumentam em FeSSIF, comparado com o pH 5,0, a solubilização do cocrystal é menor



que a do fármaco. O motivo desse comportamento é devido à solubilização preferencial do fármaco, descrito pela relação:  $SP_{\text{cocristal}} = \sqrt{SP_{\text{fármaco}}}$  onde SP representa a força de solubilização pelo FeSSIF (LIPERT *et al.*, 2015). SP é obtido a partir da razão da solubilidade em FeSSIF e no tampão pH 5,0 ( $SP = S_{\text{FeSSIF}}/S_{\text{tampão pH 5,0}}$ ). Valores de SP são maiores para o fármaco que para os cocristais (5,7 para MLX vs 2,4 para MLX-SLC no pH 4,7 e 5,0 para MLX vs 2,2 para MLX-MLE no pH 1,84).

Figura 19 – Solubilidades do fármaco e dos cocristais aumentam com o pH e na presença de FeSSIF. As solubilidades dos cocristais foram determinadas no ponto eutético e a partir da equação 12. Valores de  $S_{\text{cocristal}}$  são maiores que  $S_{\text{fármaco}}$  em todas as condições estudadas. A solubilização em FeSSIF é consistente com a relação  $SP_{\text{cocristal}} = \sqrt{SP_{\text{fármaco}}}$ . Números em parênteses representam a força de solubilização ( $SP = S_{\text{FeSSIF}}/S_{\text{tampão pH 5,0}}$ ).  $S_{\text{FeSSIF}}$  é a soma das concentrações de todas as espécies dissolvidas de fármaco e cocristal (aquosa e micelar) nos experimentos de solubilidade em FeSSIF.  $S_{\text{tampão pH 5,0}}$  representa a solubilidade do fármaco e dos cocristais no tampão pH 5,0 na ausência de agente solubilizante.

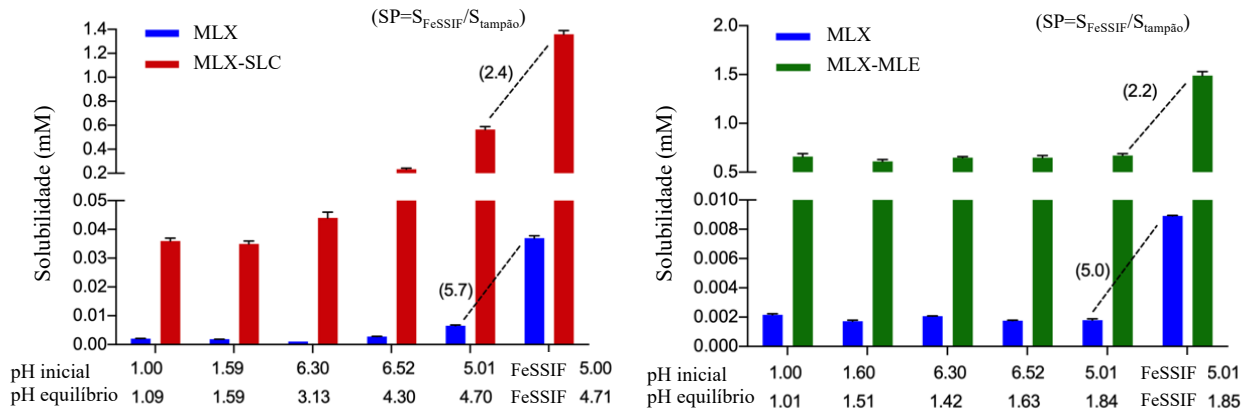


Tabela 5 – Valores de pH inicial e final dos experimentos de solubilidade do fármaco e cocristais.

componente	meio	pH inicial	pH equilíbrio (48-72h)
MLX-SLC	HCl 0,1 M	1,00 ± 0,01	1,09 ± 0,01
	Tampão acetato*	1,59 ± 0,01	1,59 ± 0,01
	Tampão acetato (sem FeSSIF)*	5,01 ± 0,01	4,70 ± 0,01
	Água	6,30 ± 0,01	3,13 ± 0,01
	Tampão fosfato	6,52 ± 0,01	4,30 ± 0,01
	FeSSIF*	5,00 ± 0,01	4,71 ± 0,01
MLX-MLE	HCl 0,1 M	1,00 ± 0,01	1,01 ± 0,01
	Tampão acetato*	1,60 ± 0,01	1,51 ± 0,02
	Tampão acetato (sem FeSSIF)*	5,01 ± 0,01	1,84 ± 0,01
	Água	6,30 ± 0,01	1,42 ± 0,01
	Tampão fosfato	6,52 ± 0,01	1,63 ± 0,01
	FeSSIF*	5,01 ± 0,01	1,85 ± 0,01
MLX	HCl 0,1 M	1,00 ± 0,01	1,01 ± 0,02
	HCl 0,08 M	3,01 ± 0,01	3,02 ± 0,01
	Tampão acetato*	1,59 ± 0,01	1,60 ± 0,02
	Tampão acetato (sem FeSSIF)*	5,00 ± 0,01	5,00 ± 0,01
	Água	6,01 ± 0,01	5,90 ± 0,01
	Tampão fosfato	6,59 ± 0,01	6,55 ± 0,02
	FeSSIF*	5,01 ± 0,01	5,10 ± 0,01

\* meios utilizados nos estudos de dissolução que serão posteriormente apresentados.

### 3.3.2 Os cocristais modulam o pH microambiente

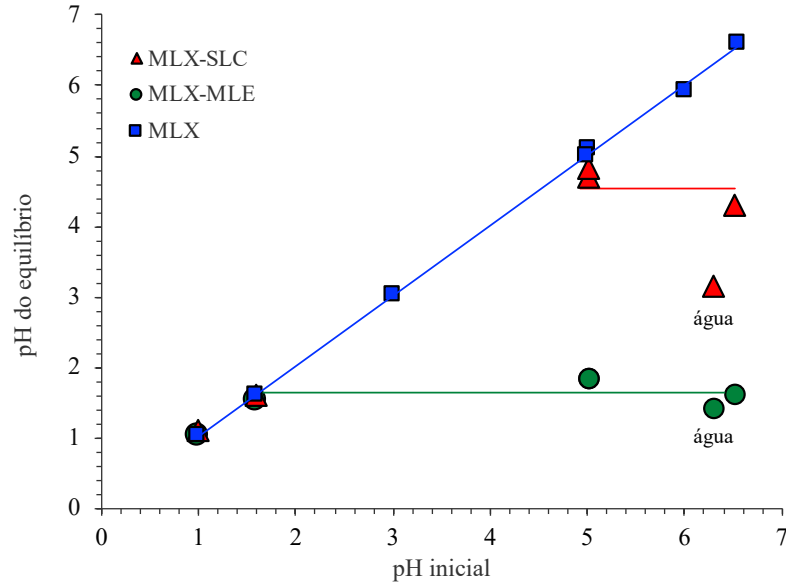
A composição do meio de dissolução, como pH e a presença de agentes tamponantes pode ter impacto significativo na taxa de dissolução do fármaco ionizável (MOONEY *et al.*, 1981a, 1981b). Com isso, o pH da superfície do sólido que está dissolvendo, pode ser relativamente diferente do pH da solução e, tratando-se de cocristais, a ionização do coformador desempenha papel fundamental na sua cinética de dissolução (SERAJUDDIN, 2007).

A Figura 20 apresenta os valores de pH inicial e do equilíbrio dos experimentos de solubilidade do fármaco e dos cocristais. O pH inicial representa o pH do meio ( $pH_{bulk}$ ) enquanto o pH do equilíbrio (saturação) é reconhecido por ser um indicador do pH microambiente ou interfacial ( $pH_{int}$ ) para compostos ionizáveis e seus sais (MOONEY *et al.*,

1981a). No caso de cocristais, o  $\text{pH}_{\text{int}}$  é obtido a partir dos dados de pH do equilíbrio no ponto eutético, onde a solução está duplamente saturada em relação ao cocrystal e ao fármaco.

Diferente do fármaco, onde  $\text{pH}_{\text{int}} = \text{pH}_{\text{bulk}}$ , os cocristais exibiram  $\text{pH}_{\text{int}} < \text{pH}_{\text{bulk}}$ . Conforme demonstrado na Figura 20, os cocristais atingiram valores de pH constante acima de um valor específico de  $\text{pH}_{\text{bulk}}$  correspondente ao  $\text{pH}_{\text{int}}$ . Tal comportamento é devido ao coformador ácido que diminui o pH da interface do cocrystal que está dissolvendo.  $\text{pH}_{\text{int}}$  foi menor para o cocrystal com o ácido mais forte, MLE ( $\text{pH}_{\text{int}} = 1,6$ ) do que para SLC ( $\text{pH}_{\text{int}} = 4,5$ ). A modulação do  $\text{pH}_{\text{int}}$  ocorreu quando os valores de  $\text{pH}_{\text{bulk}}$  estavam próximos ou acima dos valores equilibrados de  $\text{pH}_{\text{int}}$ . Por exemplo, nos experimentos com MLX-SLC quando o valor de  $\text{pH}_{\text{bulk}}$  foi de 1,6 o  $\text{pH}_{\text{int}}$  não aumentou para valores próximos de 4,5. Valores iniciais de pH baixos permaneceram baixos. Esta habilidade dos cocristais em modular o pH microambiente na sua superfície pode alterar a sua dissolução e a supersaturação de fármaco uma vez que SA varia significativamente com o pH. Espera-se que os valores de SA para os cocristais de MLX sejam menores na superfície do cocrystal do que no meio visto que SA diminui com o pH conforme demonstrado anteriormente na Figura 18. A habilidade dos cocristais em modular o  $\text{pH}_{\text{int}}$  foi também observado em um estudo com cocristais de cetoconazol (fármaco do tipo base) com os coformadores ácidos fumárico, succínico e adípico, os quais modularam o pH da interface do cocrystal e diminuíram a dependência da dissolução do fármaco ao pH (CAO; RODRIGUEZ-HORNEDO; AMIDON, 2019).

Figura 20 – Valores de pH inicial e do equilíbrio dos experimentos de solubilidade do fármaco e do ponto eutéctico dos cocrystalis. pH inicial representa o pH do meio ( $pH_{bulk}$ ) e o pH do equilíbrio representa o pH do microambiente ou interfacial ( $pH_{int}$ ). Os cocrystalis diminuíram o  $pH_{int}$  em comparação com o  $pH_{bulk}$  como resultado da ionização dos coformadores.  $pH_{int}$  foi modulado em torno de 1,6 para MLX-MLE e em torno de 4,5 para MLX-SLC.



### 3.3.3 Dependência da solubilidade do fármaco e dos cocrystalis ao pH

A solubilidade dos cocrystalis em função do pH na Figura 21 foi predita a partir de equações de solubilidade para cocrystalis formados por fármaco zwitteriônico e coformador ácido, considerando o equilíbrio químico e suas constantes de equilíbrio (Bethune et al., 2009). As reações de equilíbrio estão apresentadas no Apêndice I desta tese.

Para MLX, a solubilidade em função do pH pode ser descrita pela equação:

$$S_{\text{fármaco}} = S_{\text{fármaco},0} (1 + 10^{(pK_{a1}-pH)} + 10^{(pH-pK_{a2})}) \quad (19)$$

Onde  $S_{\text{fármaco},0}$  representa a solubilidade intrínseca do MLX e  $pK_a$  é  $-\log$  da constante de ionização  $K_a$ . A solubilidade intrínseca do MLX é  $9,3 (\pm 0,2) \times 10^{-4}$ , determinada utilizando a equação 19.

Para MLX-SLC, onde SLC é um ácido monoprotico, a solubilidade do cocrystalis em função do pH é dada pela equação:

$$S_{\text{cocristal}}^{1:1} = \sqrt{K_{\text{sp}}(1 + 10^{(\text{p}K_{\text{a1, fármaco}} - \text{pH})} + 10^{(\text{pH} - \text{p}K_{\text{a2, fármaco}})})(1 + 10^{(\text{pH} - \text{p}K_{\text{a1, cf}})})} \quad (20)$$

Para MLX-MLE, onde MLE é um ácido diprótico, a solubilidade do cocristal em função do pH é dada pela equação:

$$S_{\text{cocristal}}^{1:1} = \sqrt{K_{\text{sp}}(1 + 10^{(\text{p}K_{\text{a1, fármaco}} - \text{pH})} + 10^{(\text{pH} - \text{p}K_{\text{a2, fármaco}})})} \times \sqrt{(1 + 10^{(\text{pH} - \text{p}K_{\text{a1, cf}})} + 10^{(2\text{pH} - \text{p}K_{\text{a1, cf}} - \text{p}K_{\text{a2, cf}})})} \quad (21)$$

Onde  $K_{\text{sp}}$  é o produto da solubilidade do cocristal. Os valores de  $\text{p}K_{\text{a}}$  e das constantes de equilíbrio estão descritos na Tabela 6 e Tabela 7, respectivamente.

Tabela 6 - Valores de  $\text{p}K_{\text{a}}$  dos componentes dos cocristais.

Componente	$\text{p}K_{\text{a1}}, \text{p}K_{\text{a2}}$
MLX (zwitteriônico)	1,09 e 4,18 <sup>a</sup>
SLC (ácido monoprótico)	3.0 <sup>b</sup>
MLE (ácido diprótico)	1,9 e 6,6 <sup>c</sup>

<sup>a</sup> Referência (LUGER *et al.*, 1996)

<sup>b</sup> Referência (SMITH, 2001)

<sup>c</sup> Referência (DAWSON *et al.*, 1960)

Tabela 7 -  $K_{\text{sp}}$ ,  $\text{p}K_{\text{sp}}$ , solubilidade intrínseca e vantagem de solubilidade dos cocristais de MLX. Valores altos de  $K_{\text{sp}}$  implicam em valores maiores de solubilidade intrínseca.

Cocristal	$K_{\text{sp}}$ (M <sup>2</sup> )	$\text{p}K_{\text{sp}}$ <sup>a</sup>	$S_0$ (mM) <sup>b</sup>	$\text{SA} = (S_{\text{cocristal}}/S_{\text{fármaco}})^c$ pH 1.0 - 7.0
MLX-SLC	$9,81 (\pm 1,15) \times 10^{-10}$	9,01	$0,03 \pm 0,002$	18 - 145
MLX-MLE	$2,03 (\pm 0,20) \times 10^{-7}$	6,69	$0,45 \pm 0,023$	305 - 15190

<sup>a</sup>  $\text{p}K_{\text{sp}} = -\log(K_{\text{sp}})$ .

<sup>b</sup> Solubilidade intrínseca do cocristal obtida a partir de  $S_0 = \sqrt{K_{\text{sp}}}$

<sup>c</sup> Vantagem de solubilidade do cocristal obtida a partir dos valores de  $S_{\text{cocristal}}$  e  $S_{\text{fármaco}}$  obtidos pelas equações (19), (20) e (21).

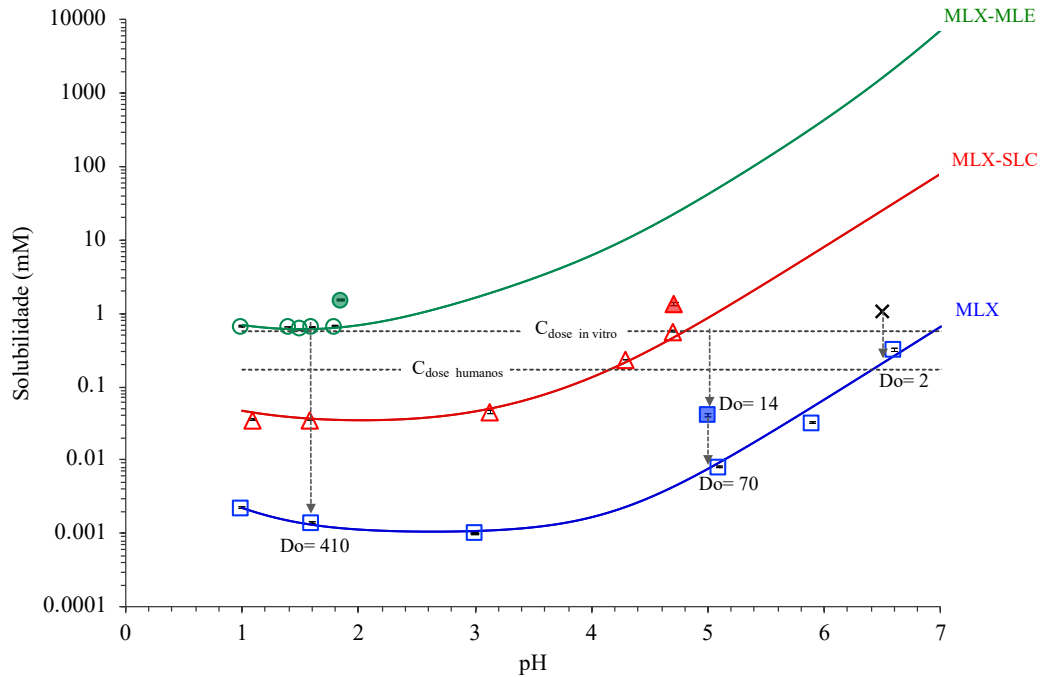
Os valores de  $K_{\text{sp}}$  da Tabela 7 foram obtidos utilizando as equações 14 e 15 considerando o produto das concentrações das espécies neutras de fármaco e coformador em equilíbrio no ponto eutéctico. Uma vez que os valores de  $K_{\text{sp}}$  costumam ser pequenos, este

parâmetro pode ser expresso em escala logarítmica ( $pK_{sp} = -\log K_{sp}$ ) para facilitar a interpretação. Os valores de  $pK_{sp}$  são 9,01 para MLX-SLC e 6,69 para MLX-MLE. Quanto maiores os valores de  $pK_{sp}$ , menores são os valores de  $K_{sp}$  e de solubilidade intrínseca. Estes valores de  $pK_{sp}$  estão dentro da faixa daqueles valores relatados na literatura para cocristais de estequiometria (1:1) compostos por fármacos SCB classe II (CAVANAGH; MAHESHWARI; RODRÍGUEZ-HORNEDO, 2018).

A Figura 21 demonstra que além do aumento da solubilidade os cocristais modulam a dependência da solubilidade no pH.  $S_{\text{cocristal}}$  aumenta nos valores de  $\text{pH} \geq$  que o valor de  $pK_a$  do coformador. Mesmo que as solubilidades não tenham sido experimentalmente medidas em valores de pH elevados, devido à ação tamponante dos coformadores, os valores teóricos são indicadores úteis de que a SA aumenta com o pH.

A solubilidade do MLX vs pH exibe uma curva suave em formato de U. A faixa de pH onde a  $S_{\text{MLX}}$  é menor situa-se de 2,0 a 4,0 (região platô) e a mesma aumenta 2x no pH 1,0, o que está relacionada com sua constante de ionização ( $pK_{a1} = 1,09$ ), e aumenta exponencialmente nos valores de pH acima do seu segundo  $pK_{a2}$ . (4,18). Estes resultados demonstram que o pH tem uma enorme influência nas solubilidades dos sólidos aqui estudados. Valores de solubilidade em FeSSIF estão indicados na Figura 21 e situam-se acima das curvas devido à solubilização do fármaco e dos cocristais pelo aditivo.

Figura 21 – Solubilidade do fármaco e dos cocristais em função do pH. Os símbolos preenchidos representam as solubilidades em FeSSIF. Curvas foram geradas a partir das equações (19), (20) e (21). Valores de pH correspondem ao pH do equilíbrio. A concentração ( $C_{\text{dose,humanos}}$ ) correspondente a dose em humanos (0,17 mM) e a  $C_{\text{dose,in vitro}}$  correspondente a concentração nos estudos de dissolução (0,57 mM) estão representadas pelas linhas tracejadas. X representa a  $C_{\text{dose}}$  dos estudos de dissolução de Weyna et al., 2012. A razão da  $C_{\text{dose}}$ /solubilidade do fármaco ou *dose number* (Do) nos tampões de pH 1,6, 5,0, 6,5 e em FeSSIF pH 5,0 estão indicados pelas setas e foram calculados pela equação 16.



A relação entre a  $S_{\text{cocristal}}$  e a  $S_{\text{coformador}}$  é evidente. A solubilidade do MLE é de 450 – 17500 vezes maior que a solubilidade do SLC na faixa de pH de 1 – 7, o que está diretamente relacionado aos maiores valores de  $K_{\text{cu}}$  e SA para MLX-MLE. Além disso,  $K_{\text{sp}}$  para MLX-MLE é 250 vezes maior do que para MLX-SLC, consistente com a solubilidade deste coformador. Quando a solubilidade é determinada pela força de solvatação e não pela energia de rede cristalina, a  $S_{\text{cocristal}}$  é dependente da solubilidade dos seus componentes. Sugere-se que os coformadores diminuem a barreira de solvatação de fármacos hidrofóbicos em uma extensão proporcional à solubilidade do coformador (GOOD; RODRÍGUEZ-HORNEDO, 2010; KUMINEK, G. *et al.*, 2016)

### 3.3.4 Importância do *dose number* (Do)

Avaliar apenas o perfil de concentração vs tempo nos estudos de dissolução com cocristais pode levar a interpretações limitadas em relação ao seu desempenho. O Do é um importante parâmetro que deve ser considerado nestes estudos devido à sua influência nos

estados supersaturados do fármaco e por representar o máximo de supersaturação que o sistema pode atingir. A Tabela 8 apresenta os valores de  $C_{dose}$  e  $Do$  para MLX correspondente a: dose em humanos; dose utilizada nos estudos de dissolução deste trabalho; dose utilizada em outro estudo da literatura, e que também estão demonstradas no diagrama de solubilidade na Figura 21 (WEYNA *et al.*, 2012). Quando os valores de dose são constantes (mesmo valor em todos os experimentos), como é o caso deste trabalho,  $Do$  diminui com o aumento da solubilidade. Todos os valores de  $Do$  na Tabela 8 são maiores que 1, uma vez que a solubilidade do fármaco não pode atingir a dose, exceto no pH 6,5 (considerando a dose em humanos).

Tabela 8 - Dose de MLX,  $C_{dose}$  e o *dose number* ( $Do$ ) em diferentes condições de dissolução.

	Dose de MLX (mg)	$C_{dose}$ (mM)	pH	$S_{fármaco}$ (mM)	$Do$ ( $C_{dose}/S_{fármaco}$ )
Humanos	15	0,17 <sup>a</sup>	1,6	$1,40 \times 10^{-3}$	120
			5,0	$8,00 \times 10^{-3}$	21
			6,5	$3,20 \times 10^{-1}$	0,5
Presente estudo	10	0,57 <sup>b</sup>	1,6	$1,40 \times 10^{-3}$	410
			5,0	$8,00 \times 10^{-3}$	70
			5,0 + FeSSIF	$4,10 \times 10^{-2}$	14
Weyna et al. 2012	36 <sup>c</sup> -38 <sup>d</sup>	1,02 <sup>c</sup> -1,07 <sup>d</sup>	6,5	$4,38 \times 10^{-1}$	2,3 -2,4

<sup>a</sup>Obtida a partir da maior dose de MLX comercializada (15 mg) em 250 mL.

<sup>b</sup>Obtida a partir da dose de MLX utilizada nas dissoluções (10 mg) em 50 mL de meio de dissolução.

<sup>c</sup>Obtida a partir da dose de 50 mg de MLX-SLC em 100 mL de meio de dissolução (WEYNA *et al.*, 2012).

<sup>d</sup>Obtida a partir da dose de 50 mg de MLX-MLE em 100 mL de meio de dissolução (WEYNA *et al.*, 2012).

A dose e conseqüentemente os valores de  $Do$  utilizados no presente trabalho são diferentes daqueles utilizados por Weyna et al. e ambos são maiores que a  $C_{dose}$  em humanos. Doses altas são geralmente favoráveis nos estudos de dissolução e conversão de sólidos metaestáveis, uma vez que a observação da supersaturação e dos mecanismos de conversão ocorre de maneira mais rápida. Abordagem similar também vem sendo utilizada em estudos envolvendo dispersões sólidas amorfas (SCHVER; LEE, 2018; SUN; LEE, 2015).

### 3.3.5 Perfil de concentração e supersaturação de fármaco vs tempo

Os cocristais de MLX atingiram altas concentrações de fármaco, pelo menos 3 vezes maiores que a dissolução do fármaco puro em todos os meios testados (Figura 22). O aumento da liberação do fármaco foi maior nos meios com menor valor de pH e foi superior para o cocrystal menos solúvel MLX-SLC. Esse comportamento é demonstrado a partir do aumento



da área sob a curva (AUC) e a razão da AUC dos cocrystalis pela AUC do fármaco ( $RAUC = AUC_{\text{cocrystal}}/AUC_{\text{fármaco}}$ ) apresentada na Figura 24 e Tabela 10. Os cocrystalis aumentaram RAUC de 3 a 12 vezes (MLX-SLC) e de 2 a 10 vezes (MLX-MLE). A Tabela 9 apresenta as medidas de pH do início das dissoluções e no final (24 h). As mudanças entre o pH inicial e pH final não são estatisticamente significantes ( $p > 0,05$ ). O pH final das dissoluções em pH inicial 6,5 não foram relatados (WEYNA *et al.*, 2012).

Figura 22 – Perfis de dissolução do fármaco e cocrystalis em tampão pH 1,6, 5,0, 6,5 e FeSSIF pH 5,0. Os cocrystalis atingiram concentrações de fármaco maiores que aquelas atingidas na dissolução do fármaco puro. As mudanças entre o pH inicial e final das dissoluções não foram estatisticamente significantes ( $p > 0,05$ ). As concentrações em tampão pH 6,5 foram obtidas de Weyna *et al.*, 2012. pH final das dissoluções em pH inicial 6,5 não foram relatados.

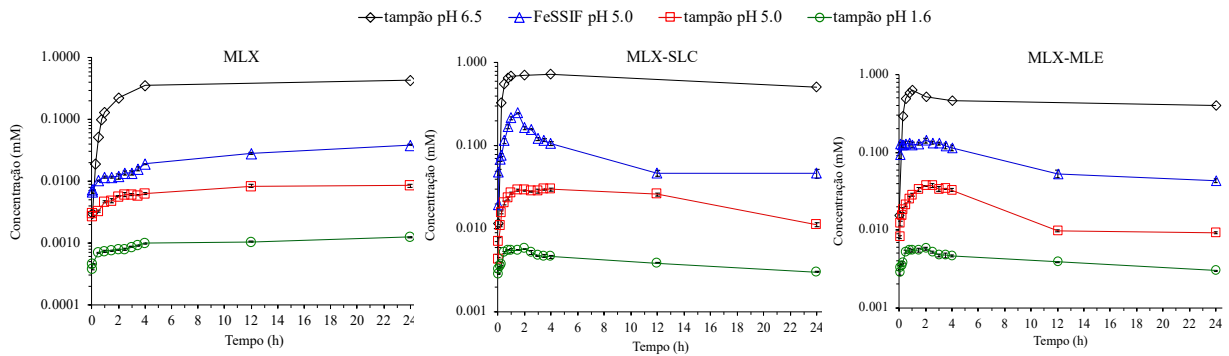


Tabela 9 - Valores de pH inicial e final dos experimentos de dissolução do fármaco e dos cocrystalis.

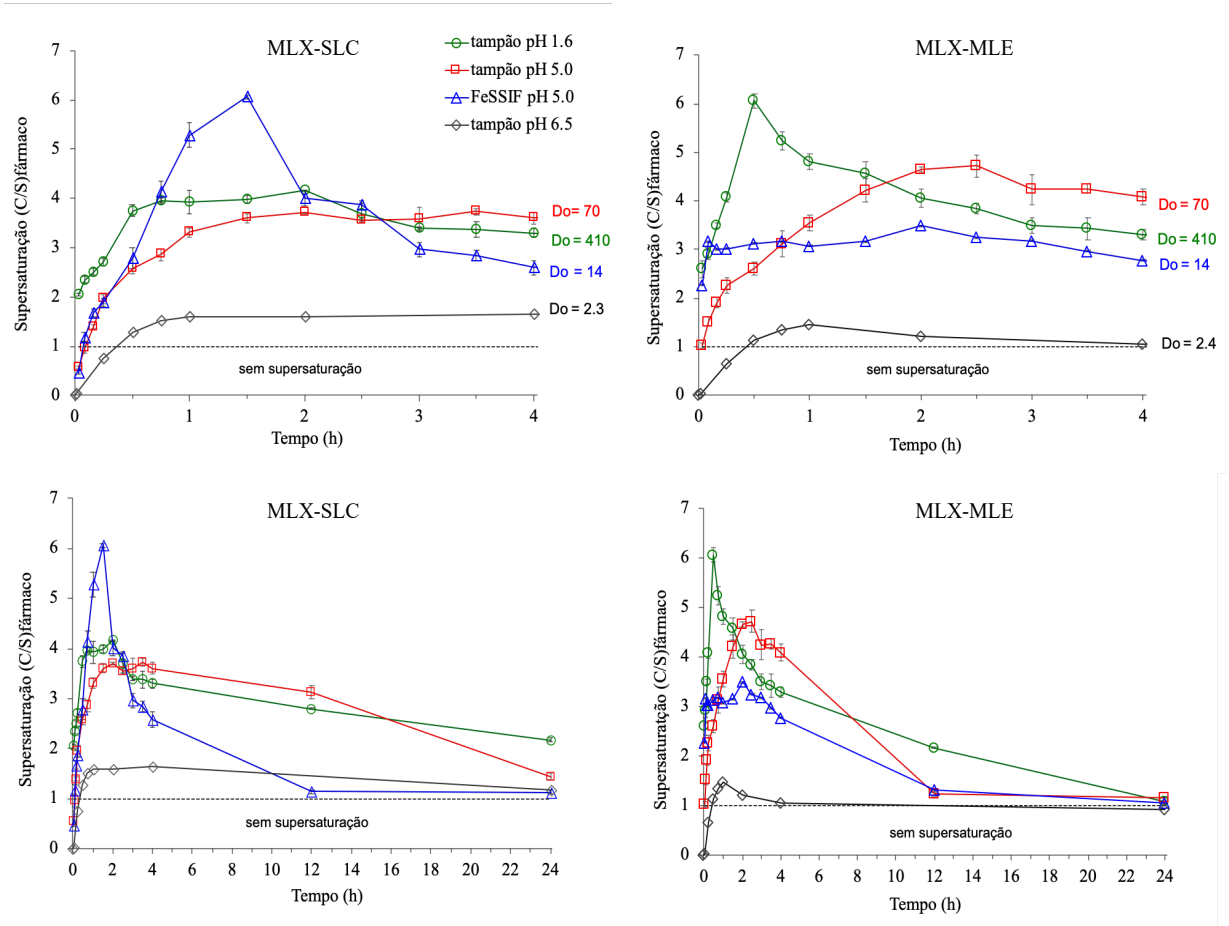
meio e pH inicial	pH final (24h)		
	MLX	MLX-SLC	MLX-MLE
Tampão 1,60 ± 0,01	1,61 ± 0,01	1,60 ± 0,01	1,59 ± 0,02
Tampão 5,00 ± 0,01	5,00 ± 0,01	5,00 ± 0,01	4,98 ± 0,02
FeSSIF 5,01 ± 0,01	5,01 ± 0,01	5,00 ± 0,01	4,98 ± 0,01

As mudanças entre o pH inicial e pH final não são estatisticamente significantes ( $p > 0,05$ ).

A Figura 23 demonstra que a supersaturação máxima ( $\sigma_{\text{max}} = C_{\text{max}}/S_{\text{fármaco}}$ ) diminuiu com o aumento do pH e a diminuição do  $D_0$ . Ambos cocrystalis atingiram  $\sigma_{\text{max}}$  de 3 a 6 que foram sustentados por mais de 2 horas em tampão pH 1,6, 5,0 e FeSSIF. O menor valor de  $\sigma_{\text{max}}$  observado no pH 6,5 foi de 1,7 para MLX-SLC e 1,5 para MLX-MLE. O aumento da solubilidade com o aumento do pH levou a níveis menores de supersaturação e uma taxa menor de dessupersaturação. Comportamento similar foi observado em um estudo envolvendo dispersões sólidas amorfas de indometacina, naproxeno e piroxicam, onde taxas menores de

supersaturação geradas pela diminuição da taxa de infusão refletiu em uma taxa de dessaturação mais lenta (SUN; LEE, 2013).

Figura 23 – Perfis de supersaturação para MLX-SLC e MLX-MLE em tampão pH 6,5, 5,0, 6,5 e FeSSIF pH 5,0 nas primeiras 4 h de dissolução e em 24 h. Valores de  $D_o$  para todas as condições de dissolução estão indicados. Níveis de supersaturação em tampão pH 6,5 foram calculados a partir dos dados relatados por Weyna et al., 2012.



Examinando os resultados em termos de  $D_o$  e SA (Figura 24 e Tabela 10) é demonstrado que a dose foi abaixo da solubilidade do cocristal ( $D_{o, \text{fármaco}} < SA$ ) em todas as condições, exceto no pH 1,6. Isso significa que a solubilidade do cocristal é suficiente para dissolver a dose no pH 5,0 e 6,5, conforme evidenciado pelos números de  $D_{o, \text{cocristal}}$  menores que 1. Ambos  $D_o$  e SA são normalizados pela solubilidade do fármaco e a sua comparação pode ser interpretada em termos de dose e da solubilidade do cocristal. É também demonstrado que  $D_o$  e SA influenciam  $\sigma_{\text{max}}$  e RAUC.  $\sigma_{\text{max}}$  e RAUC diminuem com a diminuição do  $D_o$  à medida que a SA e o pH aumentam.

Figura 24 – Dose number para o fármaco ( $Do = C_{dose}/S_{fármaco}$ ) e a vantagem de solubilidade do cocristal ( $SA = S_{cocristal}/S_{fármaco}$ ) para MLX-SLC e MLX-MLE nos meios de dissolução estudados. SA é maior para MLX-MLE e seu SA interfacial é reduzido significativamente para valor constante. Do e SA influenciam a curva de liberação do fármaco,  $\sigma_{max}$  e RAUC.

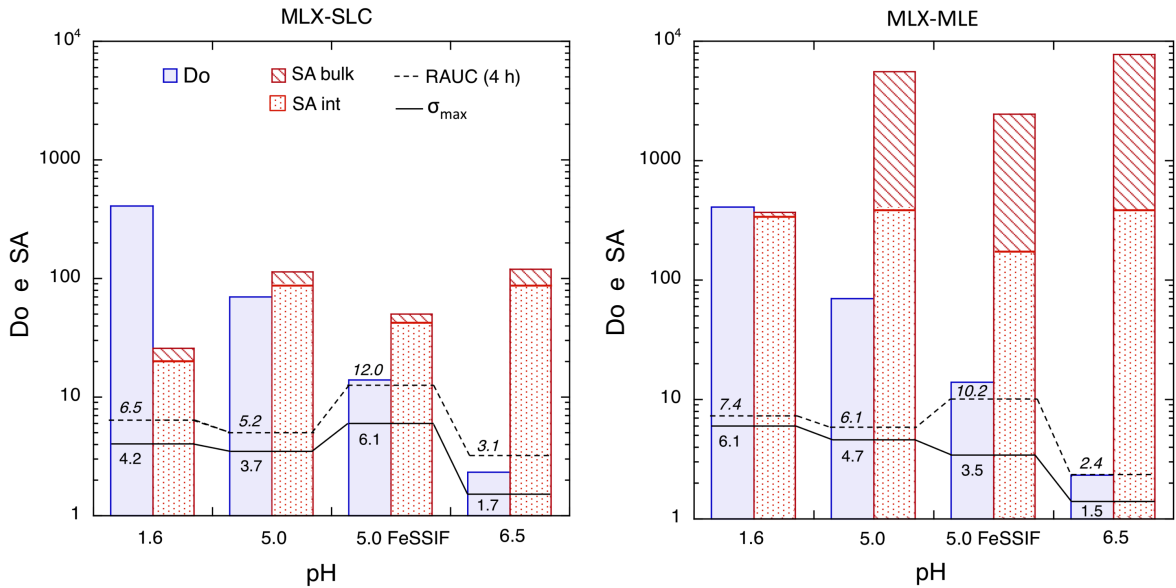


Tabela 10 - Parâmetros chave na avaliação do comportamento de dissolução dos cocristais de meloxicam.

Cocristal	Meio de dissolução (pH <sub>bulk</sub> )	$\sigma_{max}$ <sup>a</sup>	RAUC (4h) <sup>a</sup>	Do <sub>fármaco</sub> <sup>b</sup>	Do <sub>cocristal</sub> <sup>c</sup>	SA <sub>int</sub> <sup>d</sup>	SA <sub>bulk</sub> <sup>e</sup>
MLX-SLC	Tampão pH 1,6	4,16 ±0,01	6,48 ±0,07	410	16	19	26
	Tampão pH 5,0	3,74 ±0,07	5,19 ±0,06	70	0,7	87	114
	FeSSIF pH 5,0	6,05 ±0,03	11,99 ±0,10	14	0,34	37	50
	Tampão pH 6,5 <sup>f</sup>	1,65	3,10	2,3	0,04	85	121
MLX-MLE	Tampão pH 1,6	6,06 ±0,15	7,37 ±0,24	410	0,9	350	371
	Tampão pH 5,0	4,72 ±0,23	6,06 ±0,07	70	0,01	371	5531
	FeSSIF pH 5,0	3,49 ±0,25	10,15 ±0,55	14	6,2x10 <sup>-3</sup>	167	2443
	Tampão pH 6,5 <sup>f</sup>	1,46	2,40	2,4	6,5x10 <sup>-4</sup>	370	7830

<sup>a</sup> Valores de  $\sigma_{max}$  e RAUC foram considerados estatisticamente diferentes ( $p < 0,05$ ) entre os cocristais em todos os meios.

<sup>b</sup>  $Do_{fármaco} = (M_0/V_0)/S_{fármaco}$  no valor de pH final das dissoluções.

<sup>c</sup>  $Do_{cocristal} = (M_0/V_0)/S_{cocristal}$  no valor de pH final das dissoluções.

<sup>d</sup> SA<sub>interfacial</sub> correspondente ao pH do eutético (equilíbrio)

<sup>e</sup> SA<sub>bulk</sub> correspondente ao pH da dissolução. As mudanças entre o pH inicial e pH final não são estatisticamente significantes ( $p > 0,05$ ).

<sup>f</sup> Obtido de WEYNA *et al.*, 2012.

A taxa mais lenta de dessupersaturação observada para MLX-SLC no pH 1,6 e 5,0 parece estar relacionada com a interação entre dissolução do cocristal e a cristalização do fármaco. Este cocristal possui Do de 16 no pH 1,6, portanto a sua dissolução é incompleta (Figura 33). Weyna e colaboradores (2012) em um estudo de absorção *in vivo* em ratos obteve

taxa de absorção superior para MLX-SLC comparado com o fármaco e com o MLX-MLE, que parece ser resultado do estado de quasi-equilibrium entre dissolução e cristalização (WEYNA *et al.*, 2012). Uma publicação recente apresentou um modelo com comportamento similar para estudos de dissolução com fármaco terfenadina, onde o equilíbrio entre a fase cristalina e amorfa coexistindo em um estado de quasi-equilibrium proporcionou a manutenção do estado supersaturado do fármaco (SKRDLA; FLOYD; DELL'ORCO, 2020). No entanto, a interação entre as taxas de dissolução e cristalização na manutenção da supersaturação promovida por sistemas cocrystalinos permanece pouco explorada.

No pH 6,5,  $D_0$  é muito menor que a SA, dessa forma a  $S_{\text{cocrystal}}$  é mais que suficiente para dissolver a dose utilizada na dissolução. Além disso, nesse pH os valores de  $D_0$  (2,3 e 2,4) são mais próximos do  $\sigma_{\text{max}}$  (1,7 e 1,5) para MLX-SLC e MLX-MLE e uma grande fração do cocrystal adicionado dissolveu para atingir o  $\sigma_{\text{max}}$ . A razão da  $\sigma_{\text{max}}/D_0$  indica que fração de cocrystal dissolvido é de pelo menos 0,7 e 0,6. Uma vez que a precipitação do fármaco deve ter ocorrido nos valores de  $\sigma_{\text{max}}$ , a fração de cocrystal dissolvido pode ser estimada acima disso. É importante considerar  $D_0$  e SA na análise da liberação do fármaco durante a dissolução de cocrystalis uma vez que ambos parâmetros influenciam o comportamento de dissolução e em alguns casos limitam o  $\sigma_{\text{max}}$ , como parece ser o caso dos estudos de Weyna *et al.*, 2012.

### 3.3.6 Molhabilidade dos cocrystalis e do fármaco

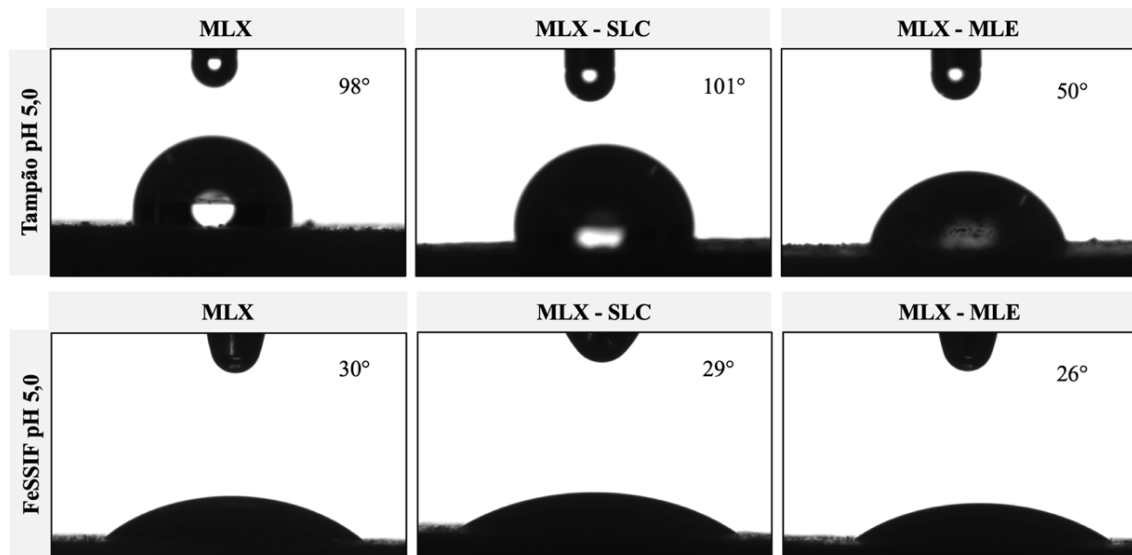
Durante os estudos de dissolução nos tampões pH 1,6 e 5,0 foi observada baixa molhabilidade do pó do fármaco e dos cocrystalis, enquanto em FeSSIF, tal limitação não foi observada. Medidas de ângulo de contato na Tabela 11 confirmam este comportamento. Valores de ângulos de contato em tampão pH 5,0 *vs* FeSSIF diminuíram de 98,1° para 30,6° para MLX, de 101,4° para 29,1° para MLX-SLC e de 56,1° para 26,3° para MLX-MLE. Fica evidente na Figura 25, o aumento da molhabilidade do fármaco e seus cocrystalis na presença de FeSSIF. No geral, os ângulos de contato foram menores para MLX-MLE do que para MLX-SLC, consistente com o alto SA deste cocrystal. Embora MLX-SLC seja mais solúvel que o fármaco, seus ângulos de contato foram relativamente altos. De acordo com a literatura, SLC apresenta propriedade de molhabilidade limitada, e ângulos de contato de 103° e 105° em água, o que pode ter impactado a molhabilidade do cocrystal (KAEASHIMA;

OKUMURA; TAKANEKA, 1982; LERK; SCHOONEN; FELL, 1976). Baixa molhabilidade do MLX tem sido relatado na literatura como um fator limitante para a sua dissolução (POMÁZI *et al.*, 2011).

Tabela 11- Medida dos ângulos de contato para o fármaco e cocristais.

Amostra	Ângulo de contato (grau°)			
	Tampão pH 1,6	Tampão pH 5,0	FeSSIF pH 5,0	Tampão pH 6,5
MLX	89,9 ± 1,4	98,1 ± 2,9	30,6 ± 1,6	89,8 ± 5,9
MLX-SLC	106,4 ± 0,7	101,4 ± 2,3	29,1 ± 2,4	92,6 ± 6,8
MLX-MLE	50,2 ± 5,6	56,1 ± 5,5	26,3 ± 3,5	54,5 ± 0,5

Figura 25 - Imagem das gotas e ângulo de contato das amostras MLX, MLX-SLC e MLX-MLE em tampão pH 5,0 e FeSSIF pH 5,0.



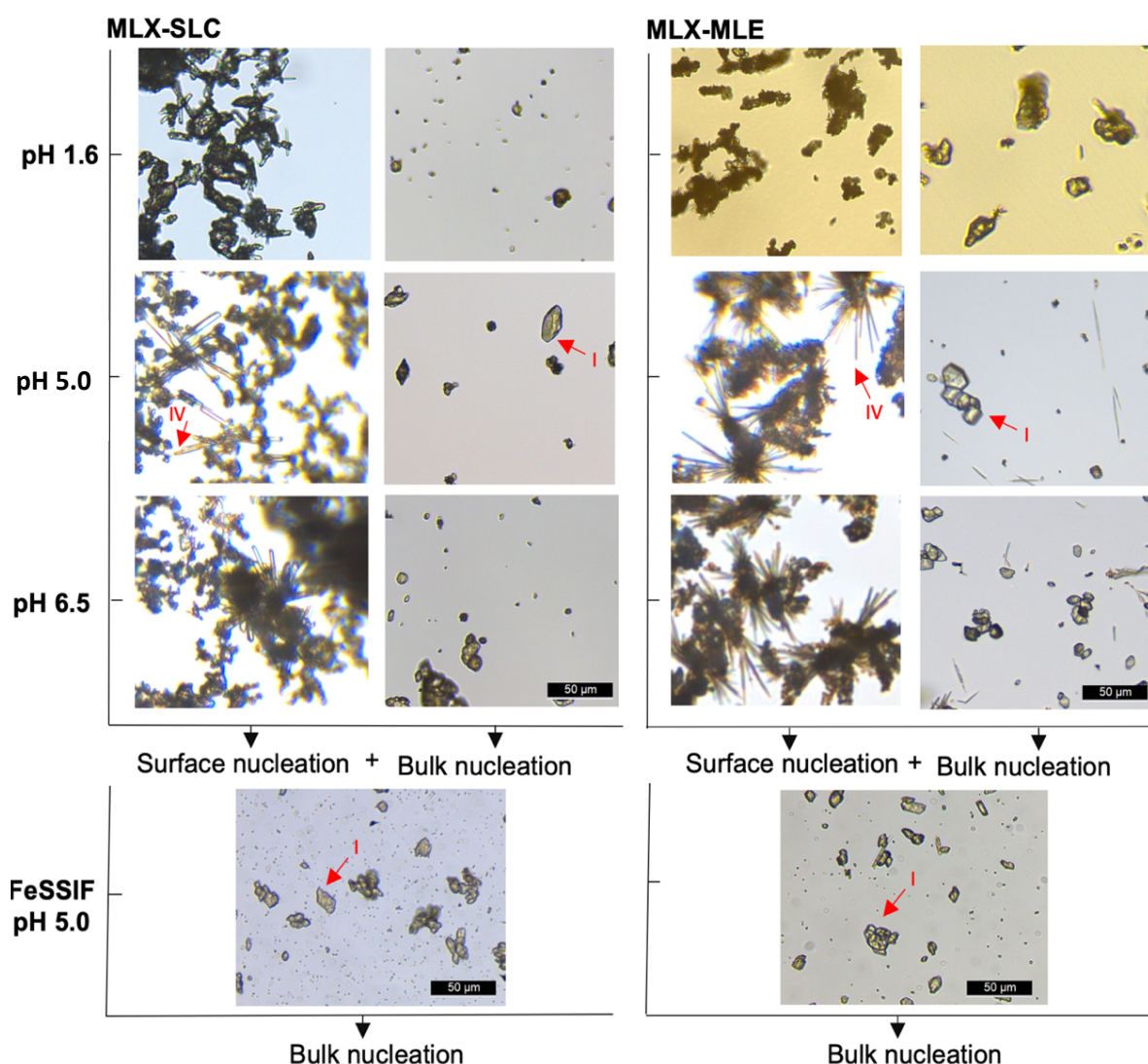
### 3.3.7 Avaliação da precipitação do fármaco

A dissolução do cocrystal, nucleação e cristalização do fármaco foi investigada *in situ* utilizando a microscopia invertida. Foi observado que a conversão do cocrystal para fármaco ocorreu tanto na superfície do cocrystal (*surface nucleation*) como no meio/solução (*bulk nucleation*).

A Figura 26 apresenta as imagens microscópicas das amostras coletadas em diferentes tempos de dissolução. Foi observado a precipitação de cristais em formato de agulha na superfície de ambos cocristais, no pH 1,6, 5,0 e 6,5 nos primeiros 20 minutos. Foi observado que estes cristais aciculares dissolvem lentamente e cristais de morfologia irregular precipitam

no meio, a qual permanecem estável por mais de 24 horas, correspondendo à forma estável do fármaco (MLX forma I), caracterizado por FT-IR. Diferentemente, em FeSSIF não foi observado precipitação na superfície. Em FeSSIF os cocrystal dissolvem mais rapidamente e a forma irregular cristalina (MLX forma I) precipita no meio, depois de 25 minutos para MLX-SLC e depois de 10 minutos para MLX-MLE.

Figura 26 - Imagens microscópicas do comportamento de dissolução dos cocrystal e precipitação do MLX nos valores de pH 1,6, pH 5,0 e 6,5 e FeSSIF pH 5,0. As amostras foram coletadas durante a dissolução em diferentes tempos (1 - 60 minutos). A primeira coluna apresenta a nucleação na superfície e a segunda coluna mostra a nucleação no meio. Setas indicam MLX forma I e IV caracterizadas por Raman. A barra de escala representa 50  $\mu\text{m}$ .



Quando acoplada a um microscópio, a espectroscopia Raman torna-se um diferencial em identificar micro-heterogeneidades presentes na amostra. Amostras foram coletadas durante a dissolução dos cocristais e transferidas para uma placa de vidro, secas e analisadas em microscópio Raman com o objetivo de caracterizar os cristais com morfologia de agulha observado no microscópio invertido durante as dissoluções dos cocristais nos meios sem FeSSIF. A Figura 27 apresenta as imagens microscópicas das amostras coletadas em 5 minutos de dissolução de MLX-SLC e MLX-MLE no pH 5,0, os seus respectivos espectros Raman (B) e (C) e o espectro da fase sólida precipitada no meio de dissolução, a qual correspondente ao MLX forma I (A). Não foi possível obter espectros Raman de boa resolução das amostras da dissolução no pH 1,6 e pH 6,5 devido ao tamanho dos cristais de agulha, os quais eram menores que no pH 5,0. Os espectros (B) e (C) das agulhas precipitadas na superfície do MLX-SLC e MLX-MLE são semelhantes entre eles, diferentes do espectro (A) do MLX forma I e diferentes dos espectros Raman de MLX-SLC e MLX-MLE (Figura 29), sugerindo uma forma polimórfica.

O MLX apresenta 5 formas polimórficas já relatadas na literatura por Coppi et al. 1996 e Luger et al., 1996. A partir da comparação dos espectros Raman (B e C) da Figura 27 com os da Figura 28 foi possível elucidar que a forma intermediária trata-se da forma IV de MLX. (COPPI L., SANMARTI B., 2005; LUGER *et al.*, 1996). Os principais picos (290, 436, 700, 855  $\text{cm}^{-1}$ ) correspondente ao polimorfo IV (Figura 28) estão presentes nos espectros Raman da Figura 27, e são diferentes daqueles apresentados na Figura 29 correspondentes ao meloxicam forma I (A), MLX-SLC (B) e MLX-MLE (C).

Figura 27 – Espectros Raman da fase sólida precipitada no meio de dissolução (A) e das agulhas precipitadas na superfície de (B) MLX-MLE e (C) MLX-SLC. Os cristais com morfologia de agulhas estão demonstrados nas imagens microscópicas.

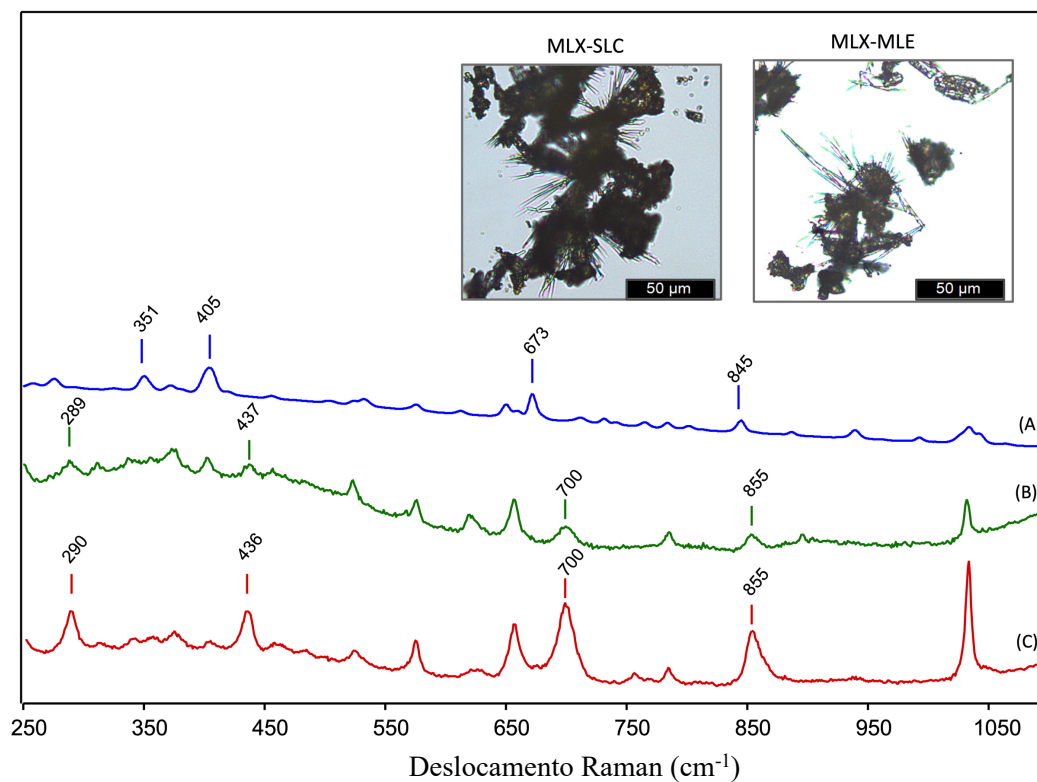
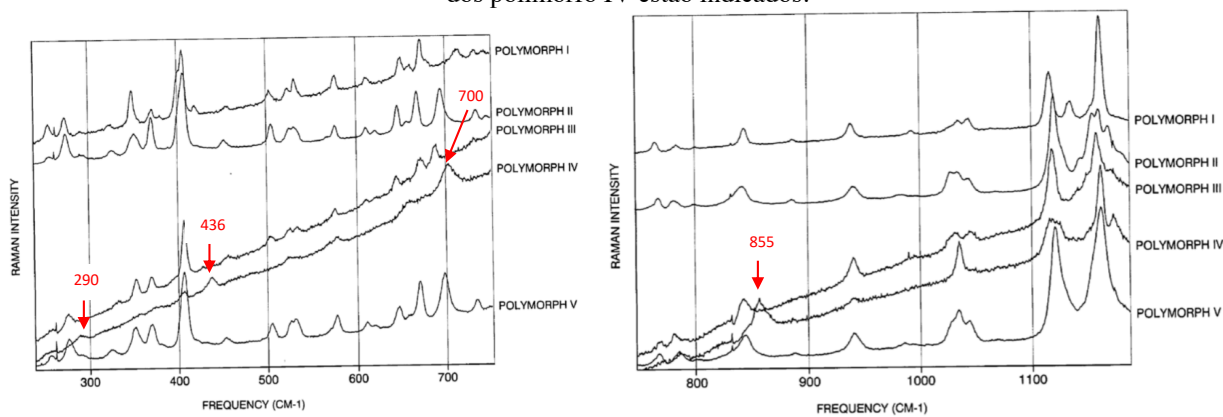


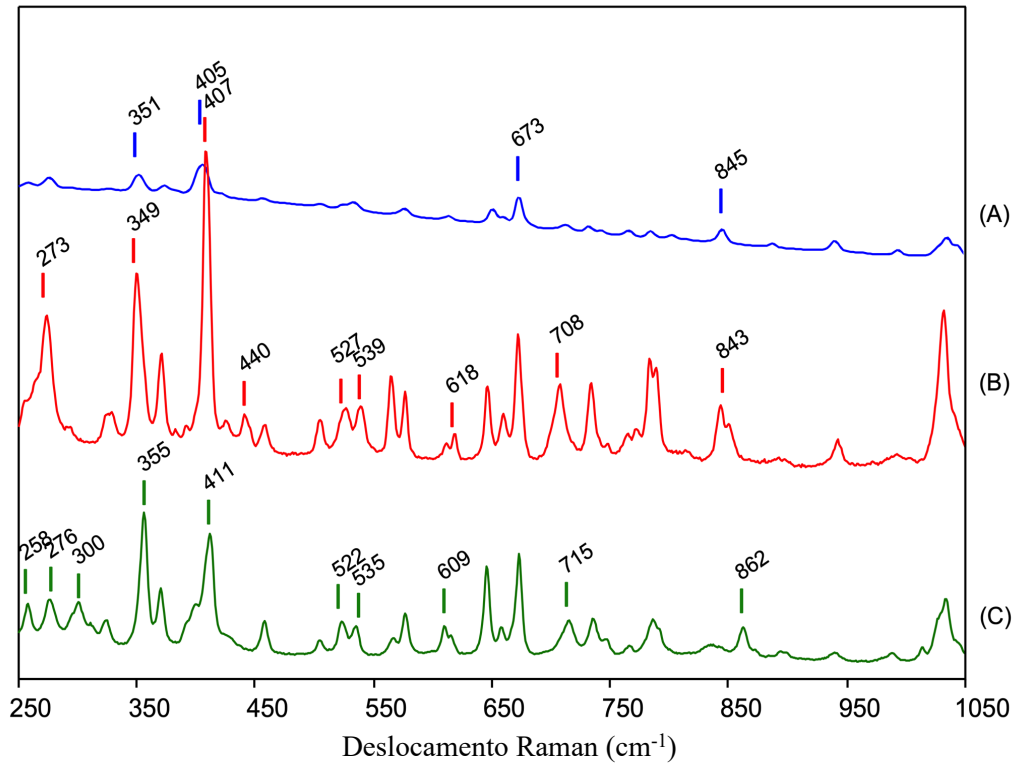
Figura 28 – Espectros Raman dos polimorfos de MLX relatado por Coppi L., Sanmarti B., 2005. Principais picos dos polimorfo IV estão indicados.



Fonte: Coppi L., Sanmarti B., 2005



Figura 29 – Espectros Raman dos sólidos em pó: (a) MLX, (B) MLXSLC e (C) MLX-MLE.



A Tabela 12 resume o comportamento de cristalização do MLX durante a dissolução dos cocristais. Resultados demonstraram que a precipitação do fármaco foi primeiramente observada para o cocrystal mais solúvel MLX-MLE, e que a nucleação de superfície reduziu o início da cristalização do fármaco. A influência da nucleação na supersaturação de fármacos durante dissolução de formas metaestáveis vem sendo relatada na literatura (BOX *et al.*, 2016; GRECO; BOGNER, 2011). Para ambos cocristais, a nucleação de superfície foi observada em menor extensão no pH 1,6, onde a SA é menor. Uma vez que a SA para estes cocristais é muito maior que a supersaturação máxima ( $\sigma_{\max}$ ) gerada pelo MLX nas dissoluções, a nucleação é favorável em ambos domínios (*surface e bulk*), embora a  $SA_{\text{bulk}}$  seja maior que  $SA_{\text{interfacial}}$ .

Tabela 12 - Cristalização do MLX durante a dissolução dos cocristais.

Cocrystal	Tampão (pH <sub>bulk</sub> )	Nucleação <sup>a</sup>	Precipitação do polimorfo de MLX <sup>b</sup>	Início da cristalização <sup>c</sup> (min)
MLX-SLC	Tampão pH 1,6	superfície	IV	20
		meio	I	45
	Tampão pH 5,0	superfície	IV	5
		meio	I	10
FeSSIF pH 5,0	meio	I	25	
MLX-MLE	Tampão pH 6,5	superfície	IV	5
		meio	I	5
	Tampão pH 1,6	superfície	IV	5
		meio	I	10
	Tampão pH 5,0	superfície	IV	1
		meio	I	10
	FeSSIF pH 5,0	meio	I	10
	Tampão pH 6,5	superfície	IV	1
meio		I	5	

<sup>a</sup>Comportamento de nucleação determinado por meio da microscopia.

<sup>b</sup>MLX IV (metaestável) precipita na superfície dos cocristais e converte para MLX I (forma estável) a qual precipita no meio no pH 1,6, 5,0 e 6,5. A conversão total do MLX IV para MLX I ocorreu após 4 h de agitação. Precipitação do MLX IV não foi observada em FeSSIF.

<sup>c</sup>Tempo no qual o fármaco foi observado precipitar pela primeira vez.

A precipitação do fármaco puro foi avaliada a fim de determinar se cristalização do polimorfo IV ocorre apenas durante as dissoluções dos cocristais ou se é intrínseco ao fármaco. Para isso, foi utilizado o método de *pH shift*, onde diferentes concentrações de fármaco foram preparadas a partir da solubilização do MLX em tampões com valores de pH elevado. Após a adição de pequenas alíquotas dessa solução estoque nos meios de dissolução na presença e ausência de FeSSIF foi possível acessar diferentes valores de DS que resultaram em diferentes comportamentos de precipitação do MLX (Figura 30 e Figura 31).

Não foi observado a precipitação de cristais com morfologia acicular (agulhas) na presença de FeSSIF na faixa de supersaturação testada de 17 a 385 (Figura 30). Nestas condições o fármaco inicialmente precipitou em pequenas partículas no meio, as quais aumentaram de tamanho e mantiveram-se estáveis por mais de 24 h, caracterizando a forma I do MLX. Em contrapartida, na ausência de FeSSIF foi observado a precipitação de uma fase intermediária do fármaco na faixa de supersaturação de 30 a 1200 (Figura 31). Esta fase cristalina apresentou morfologia dendrítica e ou acicular semelhante àquela observada durante às dissoluções dos cocristais na ausência de FeSSIF. Os aglomerados de cristais de agulha dissolveram lentamente até desaparecer por completo após 4 h na placa de 96 poços (sem agitação), dando lugar à apenas a forma estável de MLX, que permaneceu estável até o final

do experimento. A partir destes resultados sugere-se que os cristais com morfologia de agulha são correspondentes ao polimorfo IV e que esta é uma característica de precipitação inerente ao fármaco nas condições de pH testadas na ausência do meio biorrelevante FeSSIF

Figura 30 - Valores diferentes de DS para MLX e o seu comportamento de precipitação na presença de FeSSIF. A primeira coluna apresenta as imagens obtidas em 1 minuto e a segunda coluna em 24 horas. Cristais circulares ou irregulares correspondem a forma estável do MLX e aumentam com a diminuição do DS. A barra de escala representa 10  $\mu\text{m}$ .

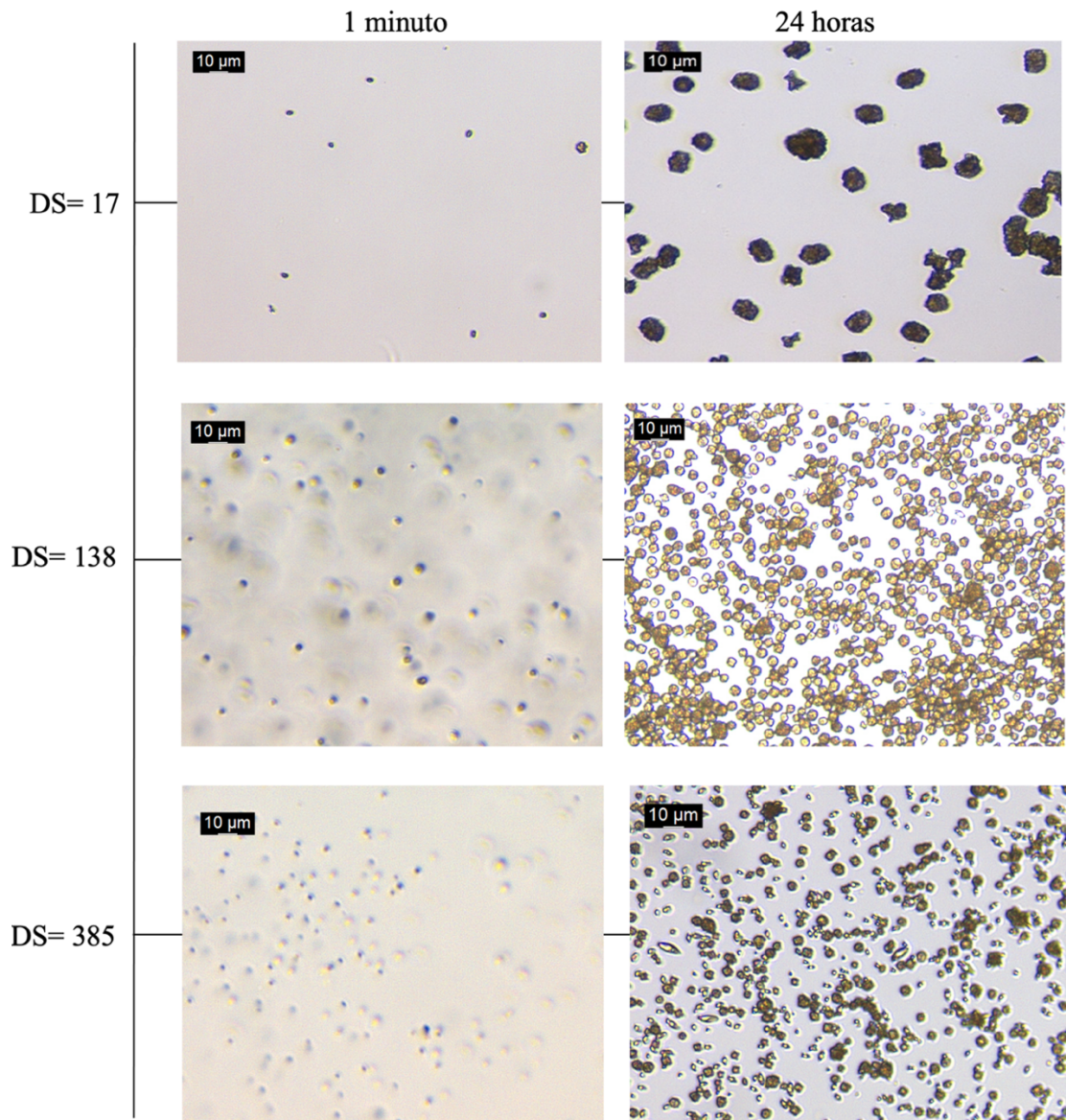
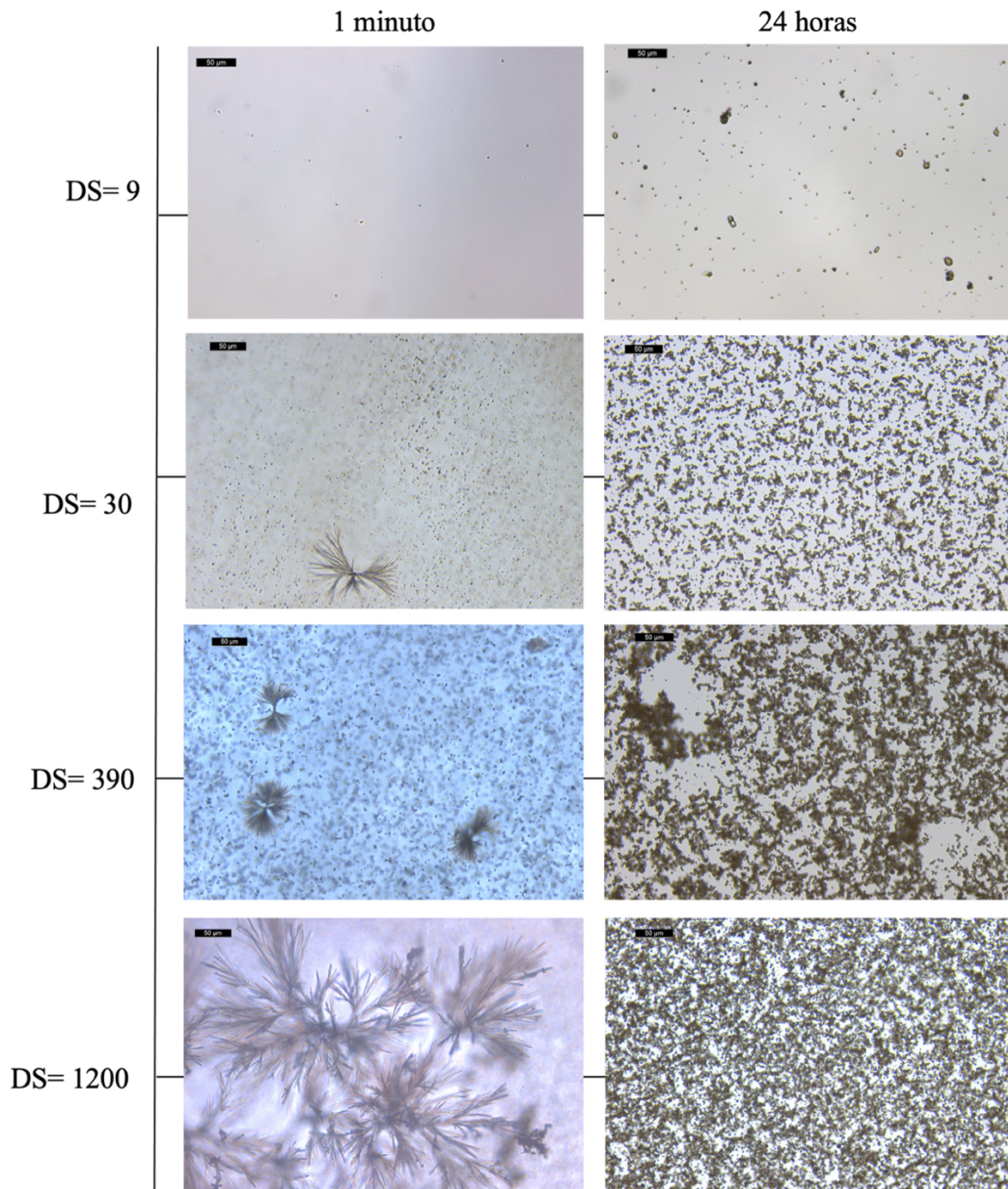


Figura 31 - Valores diferentes de DS para MLX e o seu comportamento de precipitação na ausência de FeSSIF. A primeira coluna apresenta as imagens obtidas em 1 minuto e a segunda coluna em 24 horas. Cristais com morfologia de dendrítica/agulha foram observados na faixa de DS de 30 a 1200. A barra de escala representa 50  $\mu\text{m}$ .



### 3.3.8 O que a concentração de coformador pode informar sobre a DSP dos cocristais?

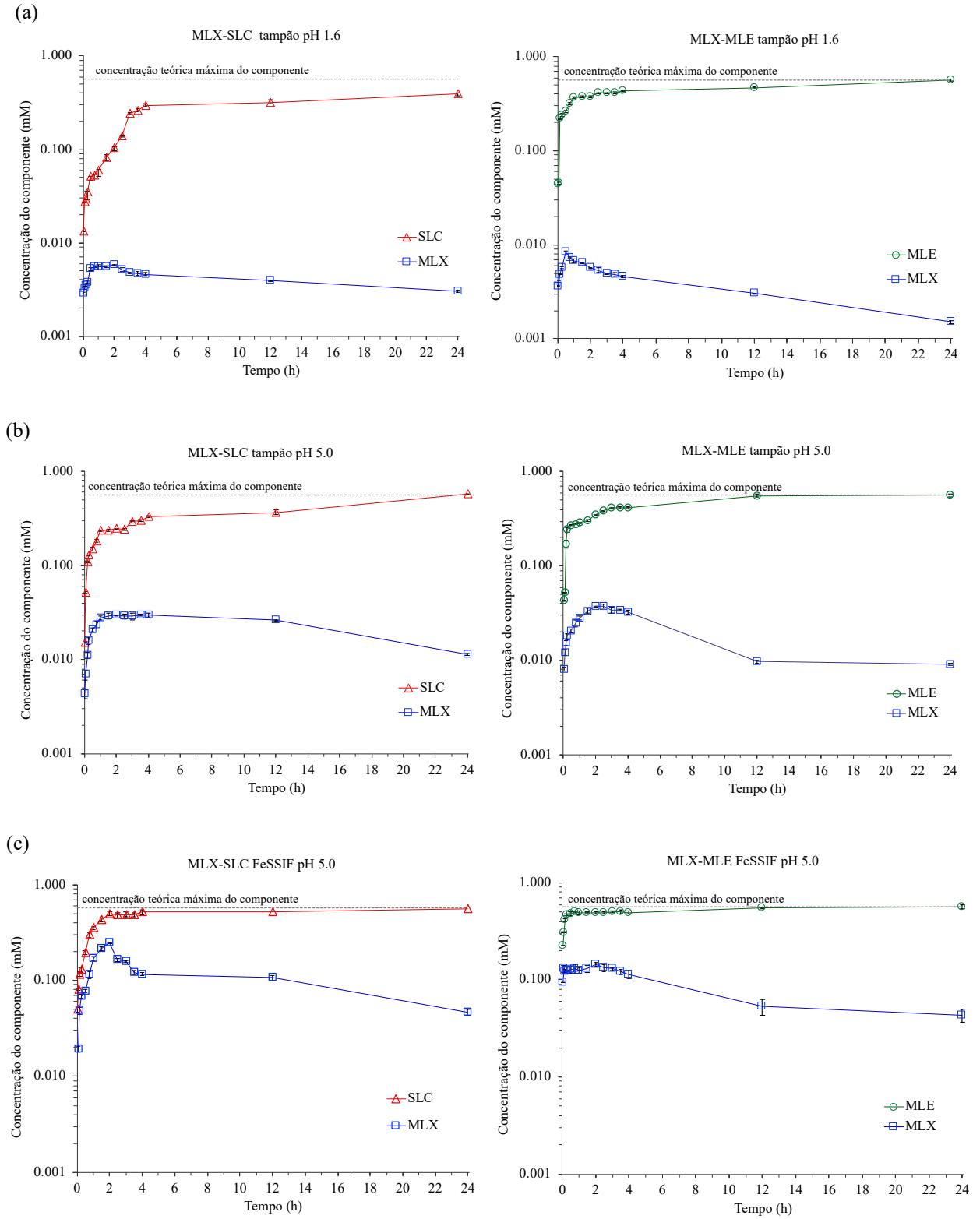
Conforme demonstrado anteriormente, o pH, a SA e o Do são fatores determinantes da supersaturação de fármaco durante a dissolução de cocristais. Além destes parâmetros, a concentração de coformador é uma peça chave que pode auxiliar no entendimento do comportamento de dissolução destes sólidos multicomponentes. Visto que a dissolução de cocristais é incongruente, é racional que seja considerado, além da concentração de fármaco, a concentração do coformador ([coformador]) nestes estudos. A [coformador] fornece informações valiosas como por exemplo a extensão de dissolução do cocrystal. Mesmo assim, ainda são escassos na literatura estudos que consideram a [coformador] na elucidação do comportamento de DSP de cocristais (CAO *et al.*, 2016; CHEN, 2017).

A taxa de dissolução do cocrystal foi examinada a partir da % de cocrystal dissolvido (relativo à dose ou mol inicial de cocrystal adicionado) em função do tempo e está demonstrada na Figura 33. A % de cocrystal dissolvido foi calculado a partir das concentrações de coformador dissolvidas (Figura - 32), tendo em vista, que dose de coformador utilizada nas dissoluções (0,57 mM) está abaixo da saturação:

$$\% \text{ cocrystal dissolvido} = \frac{\text{mol de coformador dissolvido}}{\text{moles inicial de cocrystal adicionado}} \times 100 \quad (22)$$

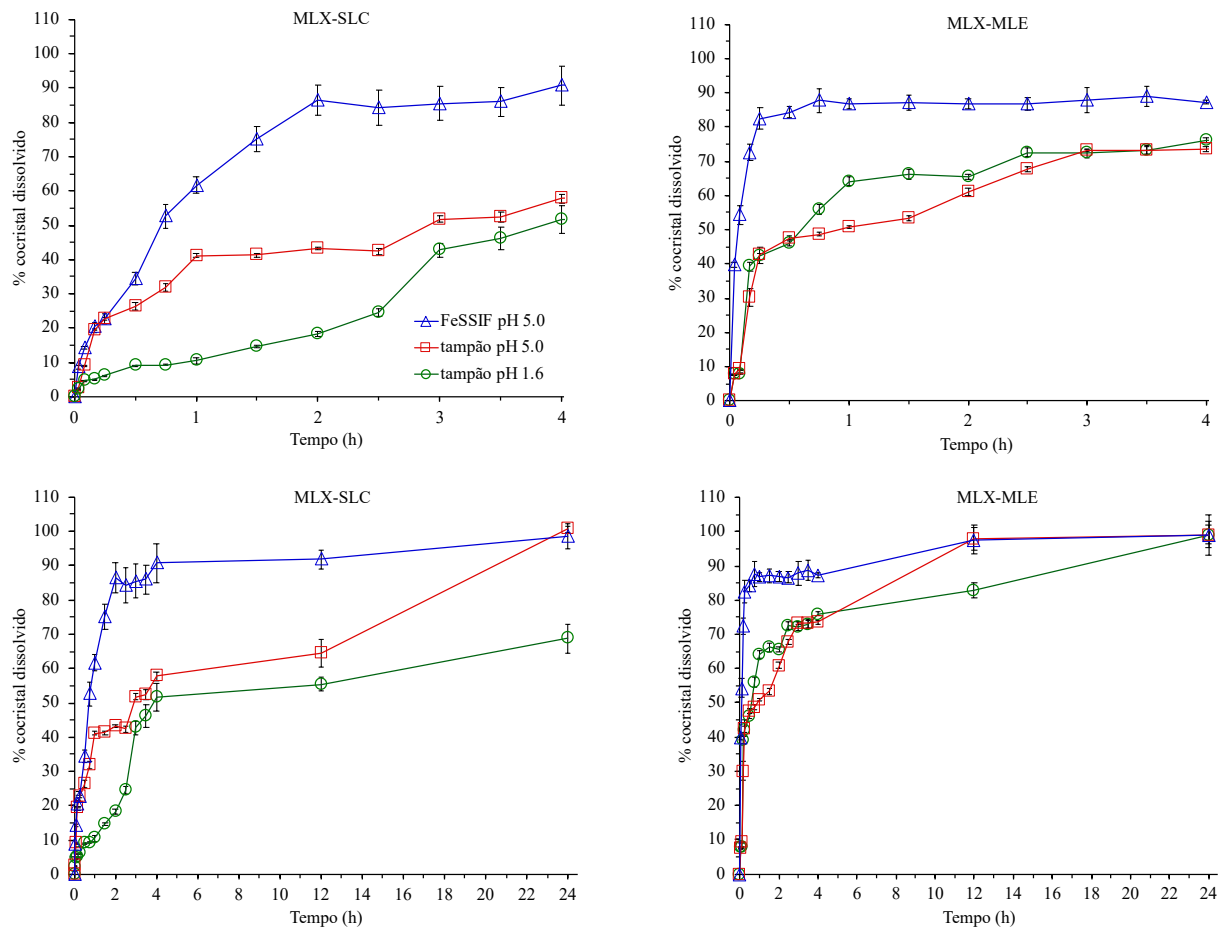
Uma vez que os cocristais de meloxicam são de estequiometria 1:1, a massa molar do fármaco, do coformador e do cocrystal adicionada no meio de dissolução é a mesma. Ou seja, a  $C_{\text{dose}}$  de 0,57mM apresentada anteriormente na Figura 21 representa também a concentração máxima de cada componente no meio de dissolução caso ocorra a dissolução total da dose.

Figura - 32 Concentrações de fármaco e coformador das dissoluções de MLX-SLC e MLX-MLE até 24 h no (a) pH 1,6, (b) pH 5,0 e (c) FeSSIF pH 5,0. A concentração teórica máxima do componente corresponde à massa molar inicial adicionada no meio de dissolução.



Quatro principais observações podem ser feitas a partir da Figura 33. Primeiramente é possível observar que a taxa inicial de dissolução foi maior para MLX-MLE, o cocrystal mais solúvel. Segundo, a influência do pH (1,6 e 5,0) na taxa inicial de dissolução dos cocrystal foi maior para MLX-SLC (aumenta com o pH) do que para MLX-MLE (constante com o pH). A influência do pH na dissolução do fármaco e dos cocrystal em 30 minutos está apresentada na Tabela 13. Terceiro, FeSSIF aumentou a taxa de dissolução para ambos MLX-SLC e MLX-MLE consistente com suas características solubilizantes. Por fim, foi observado uma grande diferença na % de cocrystal dissolvido em 24 h entre os dois cocrystal. O cocrystal menos solúvel MLX-SLC apresentou dissolução incompleta no pH 1,6 (35% permaneceu não dissolvido em 24h), onde  $Do_{cocrystal} \gg 1$ . A fase sólida final constituiu de fármaco e cocrystal, sugerindo uma aproximação à uma condição de equilíbrio (fase sólida caracterizada por FTIR). Dissolução completa dos cocrystal foi observada em todas as outras condições onde  $Do_{cocrystal} < 1$ .

Figura 33 Porcentagem de MLX-SLC e MLX-MLE dissolvida durante dissolução em tampão (pH 1,6 e 5,0) e FeSSIF (pH 5,0).



A dissolução do fármaco e dos cocristais em 30 minutos (Tabela 13) demonstra que ambos o fármaco e o cocristal MLX-SLC exibem dissolução dependente do pH, enquanto MLX-MLE não exibiu tal dependência. Esse comportamento pode ser explicado pelo  $pH_{in}$  destes cocristais, 4,5 para MLX-SLC e 1,6 para MLX-MLE (Figura 20).

Tabela 13 - Percentual de cocristal e de fármaco dissolvidos provenientes das dissoluções de cada fase sólida nos tampões de  $pH_{bulk}$  1,6, 5,0 e 6,5.

$pH_{bulk}$	% dose dissolvida em 30 minutos		
	MLX	MLX-SLC <sup>a</sup>	MLX-MLE <sup>a</sup>
1,6	0,1	9,0	46,0
5,0	0,6	26,2	47,6
6,5 <sup>b</sup>	3,7	54,8	46,2

<sup>a</sup> Percentagem de cocristal dissolvido é independente da precipitação de fármaco. % foi determinada a partir da massa de coformador dissolvida em relação a massa total inicial (massa de cocristal adicionada) de acordo com

$$\% \text{ cocristal dissolvido} = \frac{\text{mols de coformador dissolvido}}{\text{mols de cocristal adicionado}} \cdot 100.$$

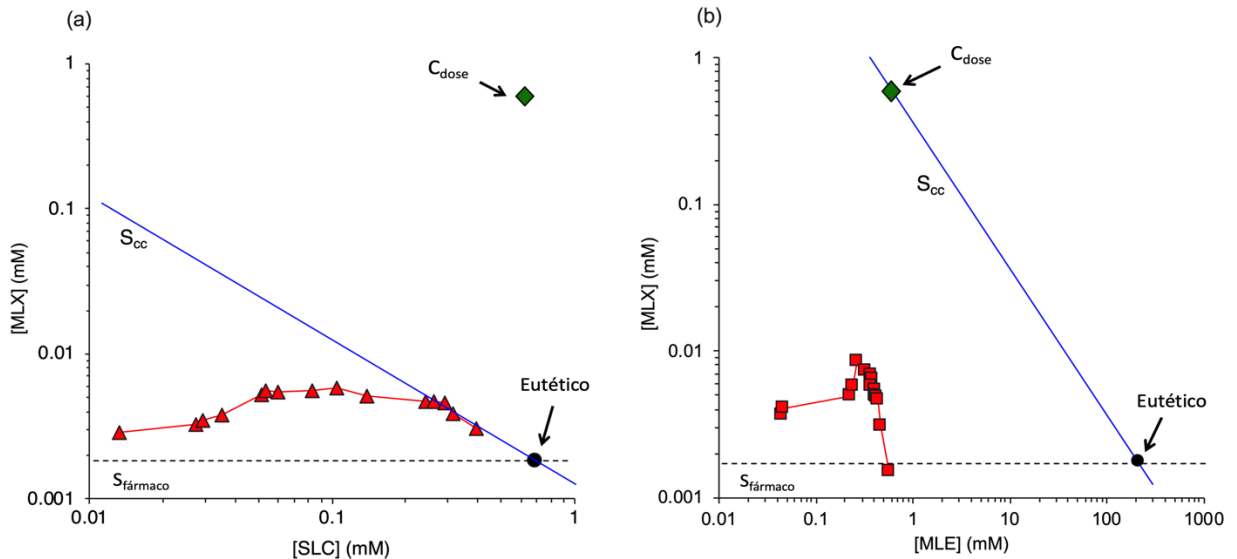
<sup>b</sup> Weyna et al., 2012.



O comportamento de DSP do MLX-SLC no pH 1,6 levantou a hipótese de que o sistema estaria em uma condição de equilíbrio próxima do ponto eutético (cocrystal e fármaco sólidos em equilíbrio com a solução). A partir da comparação da  $C_{dose}$  com as concentrações de fármaco e coformador provenientes do eutético e das dissoluções é possível observar se o sistema encontra-se próximo do equilíbrio. Se a  $C_{dose}$  é acima das concentrações eutéticas de fármaco e coformador, a dissolução do cocrystal e precipitação do fármaco irá aproximar-se do ponto eutético e conseqüentemente ocorrerá a dissolução incompleta do cocrystal. A  $C_{dose}$  nestes estudos é de 0,57 mM. Essa dose é acima da  $[fármaco]_{eu}$  (0,01 a 0,04 mM) para ambos cocrystalis nos valores de pH 1,6 a 5,0 e abaixo de todas as  $[coformador]_{eu}$ , mas bastante próxima da  $[SLC]_{eu}$  no pH 1,6.

As concentrações eutéticas variaram de 0,63 a 50 mM para SLC e de 200 a 248 mM para MLE. A Figura 34 demonstra a evolução das concentrações dos componentes do cocrystal durante a dissolução no pH 1,6 e as solubilidades do fármaco e dos cocrystalis. Concentrações de coformador são maiores que as do fármaco devido à interação entre os processos de dissolução e precipitação. No entanto, dois comportamentos muito diferentes foram observados para os cocrystalis. MLX-SLC com a  $C_{dose}$  (0,57) próxima da  $[coformador]_{eu}$  (0,63) aproxima-se da curva de saturação do cocrystal e do ponto eutético. Quando o cocrystal atinge a sua solubilidade acima do ponto eutético, o mesmo não pode mais dissolver até que o fármaco precipite, o que reduzirá a sua velocidade de dissolução. Essa redução na força motriz da dissolução do cocrystal leva a redução na cinética precipitação do fármaco. Em contraste, quando a  $C_{dose} \ll [coformador]_{eu}$ , (0,57 vs 200) caso b da Figura 34, ocorre a dissolução completa do cocrystal.

Figura 34 - Importância da  $C_{dose}$  e do ponto eutético nas concentrações de fármaco e coformador durante a dissolução dos cocristais no pH 1,6. (a) A  $C_{dose}$  do MLX-SLC é próxima da  $[SLC]_{eu}$ . Dissolução do cocrystal promove supersaturação em relação ao fármaco e aproxima-se da saturação em relação à fase sólida de cocrystal e fármaco no eutético. Conversão de cocrystal à fármaco é retardada à medida que se aproxima do eutético, resultando na dissolução incompleta do MLX-SLC. (b) A  $C_{dose}$  do MLX-MLE é muito menor que a  $[MLE]_{eu}$  e a conversão de cocrystal à fármaco ocorre em sua totalidade. Os pontos representam as concentrações de fármaco e coformador durante às dissoluções. A solubilidade do cocrystal (linha azul) foi obtida a partir da determinação do  $K_{sp}$  de acordo com as equações 14 e 15. A solubilidade do fármaco (linha tracejada) foi experimentalmente medida no ponto eutético.



### 3.4 CONCLUSÃO

Cocristais podem ser classificados em termos dos parâmetros termodinâmicos que influenciam os processos cinéticos gerais que incluem dissolução do cocrystal, supersaturação e precipitação do fármaco. Nos estudos deste capítulo, foram avaliadas as propriedades dos cocristais ( $K_{eu}$ , SA e  $pH_{interfacial}$ ) e comparadas com as propriedades biofarmacêuticas ( $C_{dose}$  e o *dose number* ( $Do$ )) com o objetivo de entender como as mesmas influenciam a cinética de liberação do fármaco. Foi demonstrado que o  $pH_{interfacial}$  do cocrystal é modulado pelas características ácidas do coformador. MLX-MLE exibiu  $pH_{interfacial}$  menor (1,6) que MLX-SLC (4,5), diminuindo a dependência da dissolução do pH em comparação com a dissolução do MLX puro. A determinação das concentrações do coformador foi crucial no entendimento da cinética de dissolução destes cocristais e informou que MLX-SLC estava próximo do equilíbrio na dissolução no pH 1,6, corroborando com o perfil da curva de dissolução onde foi observado uma região *plateau*. Além disso, a avaliação do comportamento de precipitação do

fármaco, o qual apresentou nucleação em ambos os domínios (*bulk* e *surface*) foi crucial no entendimento da cinética de dissolução destes cocristais em função do pH e presença do meio biorrelevante FeSSIF. Por fim, os resultados apresentados revelam que Do e SA são parâmetros importantes a serem considerados na análise da liberação de fármacos durante a dissolução de cocristais. Eles explicam a interação entre dissolução-precipitação e as características das curvas de concentração/supersaturação vs tempo.

### **Capítulo III**

## **COCRISTAIS DE MELOXICAM: INFLUÊNCIA DE ADITIVOS NA CINÉTICA DE DISSOLUÇÃO DOS COCRISTAIS E PRECIPITAÇÃO DO FÁRMACO**

---

## 4 COCRISTAIS DE MELOXICAM: INFLUÊNCIA DE ADITIVOS NA CINÉTICA DE DISSOLUÇÃO DOS COCRISTAIS E SUPERSATURAÇÃO DO FÁRMACO

### 4.1 INTRODUÇÃO

A desupersaturação decorrente da precipitação do fármaco pouco solúvel pode trazer impactos negativos na biodisponibilidade de sistemas supersaturados como sais, amorfos e cocristais. Uma das estratégias para controlar a dissolução destes sólidos e inibir a precipitação do fármaco estável a fim de sustentar níveis supersaturados por tempo suficiente para absorção, tem sido a incorporação de aditivos em formulações (JASANI *et al.*, 2019; SALAS-ZÚÑIGA *et al.*, 2020). Dentre os aditivos mais utilizados encontra-se o grupo dos surfactantes (ex.: Cremophor<sup>®</sup>, Tween<sup>®</sup> e Vitamina E TGPS), os quais devem ser utilizados acima dos valores de CMC, e o grupo dos polímeros (ex.: HPMC, PVP e Soluplus<sup>®</sup>), que atuam tradicionalmente como inibidores ou retardadores de precipitação mas que também podem apresentar solubilização em alguns casos (VELAGA, 2014; BREWSTER *et al.*, 2008; WANG *et al.*, 2016; VANDECRUYS *et al.*, 2007).

Tratando-se de cocristais, estudos demonstram que quanto maior o poder do aditivo em solubilizar o fármaco, ou seja, quanto maior o valor de  $SP=(S_{\text{aditivo}}/S_{\text{tampão}})$ , maior é a capacidade de estabilização termodinâmica do cocrystal, que está relacionada com a redução dos parâmetros SA e Do. A modulação da SA e do Do em função de agentes solubilizantes pode reduzir a força motriz para a precipitação do fármaco estável. No entanto, a utilização de aditivos com essa finalidade sem o conhecimento prévio da influência que os mesmos causam na solubilização do fármaco e cocristais pode levar à diminuição elevada da SA e do Do, impactando negativamente os níveis supersaturados do fármaco (LIPERT; RODRÍGUEZ-HORNEDO, 2015). A importância da utilização de aditivos na modulação do desempenho *in vitro* e *in vivo* foi demonstrada para uma série de cocristais (ALHALAWEH; ALI; CHILDS; KANDI; LINGIREDDY, 2013; REMENAR *et al.*, 2007).

Segundo os resultados do capítulo anterior, as variações de pH e a ação solubilizante do meio biorrelevante FeSSIF modularam a SA e o Do, influenciando o comportamento de precipitação do fármaco e seus níveis supersaturados durante a dissolução dos cocristais de meloxicam. Diante do exposto, os estudos deste capítulo têm como objetivos: (1) avaliar a

influência do surfactante Cremophor®RH40 e do polímero PVP®K30 na solubilização do fármaco e dos cocristais (2) avaliar a modulação da SA e do Do pelos aditivos (2) analisar os perfis de dissolução dos cocristais e o mecanismo de supersaturação-precipitação do fármaco por meio de estudos de dissolução *in vitro* e microscopia óptica.

## 4.2 METODOLOGIA

### 4.2.1 Materiais

#### 4.2.1.1 Componentes dos cocristais

Meloxicam forma I (MLX) foi adquirido de Technodrugs & Intermediates (Gujarat, Índia). Os coformadores ácido maleico (MLE) e ácido salicílico (SLC) foram adquiridos de Merck (Darmstadt, Germany) e Xiamen Fine Chemical (Xiamenn, China), respectivamente. Fármaco e coformadores foram caracterizados por Difração de Raios-X de Pó (DRXP) e Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) antes do preparo dos cocristais.

#### 4.2.1.2 Aditivos, solventes e tampões

Os aditivos Cremophor RH40 e PVP K30 foram adquiridos de BASF e Sigma-Aldrich, respectivamente. Acetato de etila e tetrahydrofurano (grau analítico), metanol e acetonitrila (grau cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)) foram adquiridos de Tedia (Rio de Janeiro, Brazil). Hidróxido de sódio, ácido acético, acetato de sódio, e cloreto de sódio foram adquiridos de Sigma (St. Louis, MO). A água utilizada nestes estudos foi filtrada através de sistema de purificação (Milli-Q® Water System) de Millipore Co. (Bedford, MA).

### 4.2.2 Métodos

#### 4.2.2.1 Preparo dos cocristais

Neste capítulo, a metodologia utilizada para preparo dos cocristais de meloxicam, as técnicas de caracterização no estado sólido e as metodologias de CLAE para quantificar

fármaco e coformador foram as mesmas utilizadas no capítulo anterior e encontram-se descritas nos itens 3.2.2.2 a 3.2.2.4.

#### 4.2.2.2 Solubilidade e dissolução do fármaco e dos cocristais na presença de Cremophor e PVP

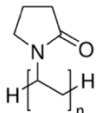
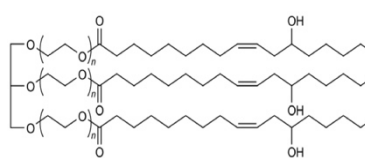
A determinação da solubilidade e dissolução do fármaco e dos cocristais foi realizada na presença dos aditivos Cremophor® RH40 e PVP® K30 (Tabela 14) em duas condições:

- Solução 1: Cremophor RH 40 (1,5% p/v)
- Solução 2: Cremophor RH40 (1,5% p/v) + PVP K30 (2,0 % p/v)

A seleção destes aditivos e das concentrações foi fundamentada em estudos prévios de solubilidade e em dados da literatura da utilização destes aditivos em sistemas supersaturados (BADRAN *et al.*, 2014; CHILDS; KANDI; LINGIREDDY, 2013; WANG *et al.*, 2016).

As soluções foram preparadas por meio da dissolução dos aditivos nas concentrações indicadas no tampão de pH 1,6. O tampão pH 1,6 ( $\pm 0,02$ ) (34 mM) foi preparado adicionando 1,99 g de NaCl em 1 L de água. A metodologia utilizada para determinação da solubilidade do fármaco e dos cocristais e os parâmetros de dissolução (agitação, dose, volume de meio etc) foram os mesmos dos estudos do capítulo II e encontram-se descritos nos itens 3.2.2.6 a 3.2.2.8.

Tabela 14 - Aditivos utilizados nos estudos de solubilidade e dissolução dos cocristais de meloxicam.

Nome	Estrutura molecular <sup>a</sup>	Concentração	CMC (%)	Mecanismo de solubilização
PVP (Polivinilpirrolidona) K30		2,0 % (p/v)	-	Complexação
Cremophor®RH40 (Polyoxyl hydrogenated castor oil)		1,5 % (p/v)	0,02 <sup>b</sup>	Solubilização micelar

<sup>a</sup>ROWE; SHESKEY; QUINN, 2009.

<sup>b</sup>BASF, 2011.

#### 4.2.2.3 Microscopia óptica

##### 4.2.2.3.1 Avaliação da cinética de dissolução dos cocristais

A cinética de dissolução dos cocristais seguida da precipitação do fármaco foi investigada em microscópio invertido Leica Dmi8 (Leica Microsystems, Wetzlar, Alemanha) equipado com câmera de alta resolução e iluminação clara de LED. Alíquotas de 200  $\mu$ L foram coletadas durante a dissolução dos cocristais nos meios de dissolução contendo Cremophor e Cremophor + PVP e transferidas para as placas de 96 poços em tempos pré-determinados. As imagens foram coletadas utilizando câmera Leica DMC2900 controlada por software LAS v4.7 (Leica Microsystems, Wetzlar, Germany). Aumento de 20x foi utilizado para todas as imagens.

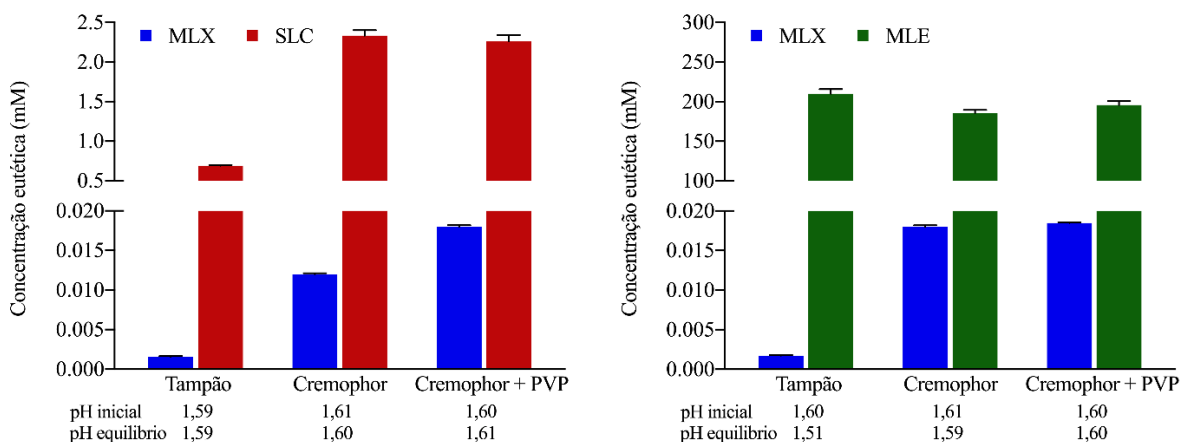
## 4.1 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1.1 Solubilização do fármaco e dos cocristais

As concentrações eutéticas de fármaco e coformador em equilíbrio com a fase sólida na ausência (tampão pH 1,6) e na presença de Cremophor e Cremophor + PVP estão apresentadas na Figura 35. A presença destes aditivos resultou no aumento das concentrações do fármaco e do coformador SLC. Geralmente o coformador, por ser o componente mais hidrofílico, não é solubilizado pelo aditivo devido ao mecanismo de solubilização preferencial do fármaco hidrofóbico (LIPERT *et al.*, 2015). Nesse estudo, o SLC apresentou aumento de aproximadamente 3x nas suas concentrações eutéticas, em comparação com o tampão pH 1,6 sem aditivos. A adição de PVP não resultou no aumento significativo das concentrações eutéticas de SLC ( $p > 0,05$ ) em comparação ao meio contendo apenas Cremophor. Já para o fármaco, PVP resultou em um pequeno aumento nas concentrações eutéticas ( $p < 0,05$ ). O MLE por sua vez, apresenta-se altamente hidrofílico em comparação com o SLC e não apresentou aumento das concentrações eutéticas na presença de Cremophor e Cremophor + PVP. Os valores de pH inicial e pH do equilíbrio estão indicados na Figura 35. Com exceção do MLX-MLE em tampão pH 1,6, as diferenças entre os demais valores não são estatisticamente significantes ( $p > 0,05$ ).

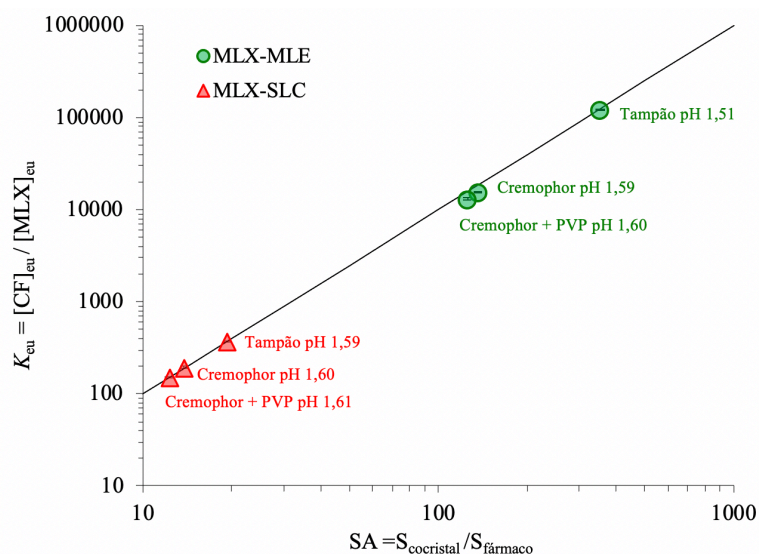


Figura 35 - Concentrações eutéticas de fármaco e coformador medidas no ponto eutético. As concentrações eutéticas de MLX e SLC aumentam na presença de Cremophor e Cremophor + PVP em comparação com o tampão, enquanto o MLE não é solubilizado pelos aditivos.



O  $K_{eu}$ , foi determinado a partir das concentrações eutéticas de fármaco e coformador, e sua relação com SA está apresentado na Figura 36. Para cocrystalis de estequiometria 1:1 SA pode ser obtido a partir de  $SA = \sqrt{K_{eu}}$ . Valores de  $K_{eu} > 1$  indicam que o cocrystal é mais solúvel que o fármaco. Valores de  $K_{eu}$  e SA são menores para o cocrystal menos solúvel (MLX-SLC) e diminuem para ambos cocrystalis com aumento da solubilização do fármaco pelos aditivos Cremophor e Cremophor + PVP (Figura 36). Valores de  $K_{eu}$  e SA foram considerados estatisticamente diferentes entre os meios com aditivos ( $p < 0,05$ ).

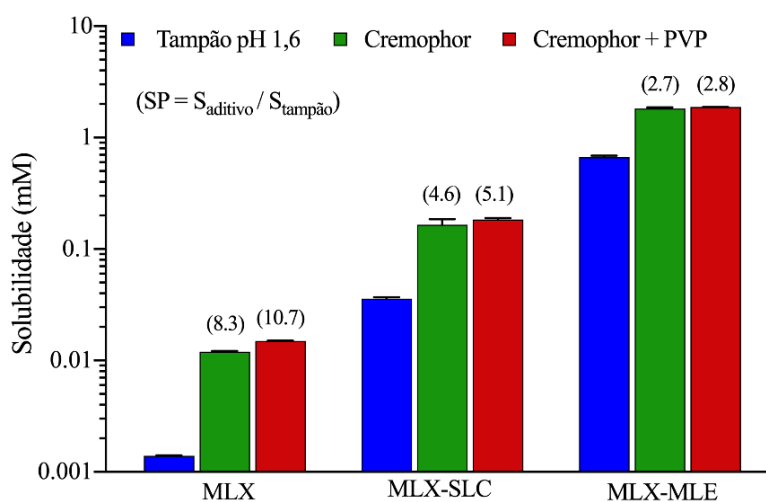
Figura 36 - Relação entre  $K_{eu}$  e SA para cocrystalis de MLX no tampão pH 1,6 e na presença dos aditivos Cremophor e Cremophor + PVP. A linha foi gerada a partir da forma logarítmica da equação 18. Os símbolos representam valores de SA e  $K_{eu}$  do MLX-MLE (símbolos verdes) e MLX-SLC (símbolos vermelhos).  $K_{eu}$  e SA diminuem em Cremophor e Cremophor + PVP em comparação com tampão pH 1,6.



Enquanto  $S_{\text{cocristal}}$  e  $S_{\text{fármaco}}$  aumentam em Cremophor e em Cremophor + PVP, comparado com o tampão pH 1,6, a solubilização do cocristal é menor que a do fármaco, demonstrado pelos valores de  $SP_{\text{experimental}}$  ( $SP = S_{\text{aditivo}}/S_{\text{tampão pH 1,6}}$ ) (Figura 37). Valores de  $SP_{\text{experimental}}$  são maiores para o fármaco do que para os cocristais (8,3 e 10,7 para MLX vs 4,6 e 5,1 para MLX-SLC e 2,7 e 2,8 para MLX-MLE, em Cremophor e Cremophor + PVP, respectivamente). Quando o coformador é solubilizado pelo aditivo, como é o caso do SLC, ocorrem desvios na relação  $SP_{\text{cocristal}} = \sqrt{SP_{\text{fármaco}}}$ , a qual não considera a solubilização do coformador. Os valores de  $SP_{\text{cocristal}}$  calculados a partir desta relação foram de 2,9 em Cremophor e de 3,3 em Cremophor + PVP, estando mais próximos dos valores de  $SP_{\text{experimental}}$  do cocristal MLX-MLE, onde o coformador não foi solubilizado pelos aditivos (KUMINEK, G. *et al.*, 2016).

A adição de PVP resultou no aumento da solubilidade do fármaco e dos cocristais, porém em extensão muito menor em comparação com o meio contendo apenas Cremophor. Apesar de pequena, a diferença de solubilidade entre os meios contendo Cremophor e Cremophor + PVP foi considerada estatisticamente significativa para o fármaco e os cocristais ( $p < 0,05$ ). Mesmo sendo classificado como um polímero, estudos demonstram que alguns fármacos hidrofóbicos podem ser solubilizados pelo PVP (BREWSTER; LOFTSSON, 1996; LOH; TAN; PEH, 2014).

Figura 37 –  $S_{\text{cocristal}}$  e  $S_{\text{fármaco}}$  aumentam na presença de Cremophor e Cremophor + PVP. As solubilidades dos cocristais foram determinadas no ponto eutético e a partir da equação 12. Valores de  $S_{\text{cocristal}}$  são maiores que  $S_{\text{fármaco}}$  em todas as condições estudadas. Números em parênteses representam a força de solubilização ( $SP_{\text{experimental}} = S_{\text{aditivo}}/S_{\text{tampão pH 1,6}}$ ).  $S_{\text{aditivo}}$  é a soma das concentrações de todas as espécies dissolvidas de fármaco e cocristal (aquosa e micelar) nos experimentos de solubilidade em Cremophor e Cremophor + PVP.  $S_{\text{tampão pH 1,6}}$  representa a solubilidade do fármaco e dos cocristais no tampão pH 1,6 na ausência de aditivos.  $SP$  é menor para os cocristais do que para o fármaco como resultado da solubilização preferencial do fármaco pelo aditivo.



#### 4.1.2 Perfil de concentração e supersaturação de fármaco vs tempo

As dissoluções do fármaco e cocristais foram avaliadas no tampão pH 1,6 contendo os aditivos Cremophor (1,5% p/v) e Cremophor (1,5% p/v) + PVP (2,0%) dissolvidos no meio e foram comparadas com as dissoluções no tampão pH 1,6 (sem aditivo) apresentadas no capítulo anterior. Concentrações maiores de fármaco foram alcançadas durante as dissoluções dos cocristais em comparação com o fármaco puro, e foram maiores nos meios contendo Cremophor e Cremophor + PVP em comparação ao tampão pH 1,6, devido à ação solubilizante dos aditivos. Ambos cocristais apresentaram aumento da liberação do fármaco no meio com a adição do polímero PVP em comparação com o meio contendo apenas Cremophor (Figura 38). Diferentemente, concentrações menores foram obtidas durante a dissolução do fármaco puro na presença de PVP, necessitando de mais tempo para atingir a concentrações próximas da  $S_{\text{fármaco}}$ . Valores de pH inicial e final das dissoluções encontram-se na Tabela 15. As mudanças entre o pH inicial e final das dissoluções não foram estatisticamente significantes ( $p > 0,05$ ).

Figura 38 – Perfis de dissolução do fármaco e cocristais em tampão pH 1,6 (sem aditivos) e em tampão pH 1,6 contendo Cremophor e Cremophor + PVP. Os cocristais atingiram concentrações de fármaco maiores que aquelas atingidas na dissolução do fármaco puro.

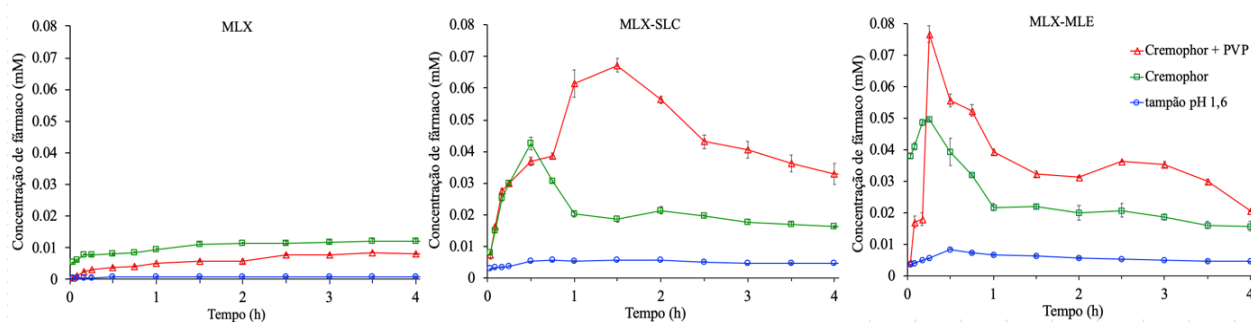


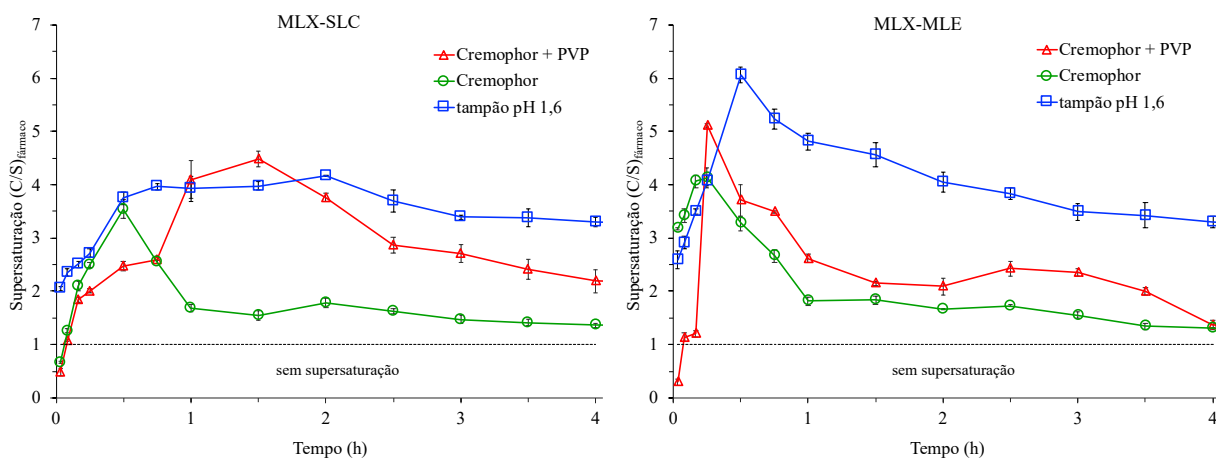
Tabela 15 - Valores de pH inicial e final dos experimentos de dissolução do fármaco e dos cocristais.

meio e pH inicial	pH final (4h)		
	MLX	MLX-SLC	MLX-MLE
Tampão 1,60 ± 0,01	1,61 ± 0,01	1,60 ± 0,01	1,59 ± 0,02
Cremophor 1,60 ± 0,01	1,60 ± 0,01	1,59 ± 0,01	1,59 ± 0,01
Cremophor + PVP 1,60 ± 0,01	1,60 ± 0,01	1,60 ± 0,01	1,59 ± 0,02

As mudanças entre o pH inicial e pH final não são estatisticamente significantes ( $p > 0,05$ ).

Em termos de supersaturação, é possível observar na Figura 39 que o cocrystal mais solúvel (MLX-MLE) atingiu níveis maiores de supersaturação na primeira hora e apresentou uma maior taxa de dessupersaturação em comparação com MLX-SLC. Os valores de  $T_{\max}$  encontram-se Tabela 15 e foram muito menores para MLX-MLE em todas as condições testadas. O cocrystal MLX-SLC por sua vez, atingiu o  $C_{\max}$  mais tardiamente. Ambos cocrystal atingiram níveis menores de supersaturação no meio contendo apenas Cremophor, com valores de  $\sigma_{\max}$  de 3,5 para MLX-SLC e 4,1 para MLX-MLE. Porém, com a adição de PVP os valores de  $\sigma_{\max}$  aumentaram para 4,5 (MLX-SLC) e para 5,1 (MLX-MLE), enquanto no tampão pH 1,6 os valores de  $\sigma_{\max}$  foram 4,2 para MLX-SLC e 6,0 para MLX-MLE.

Figura 39 – Perfis de supersaturação para MLX-SLC e MLX-MLE em tampão pH 1,6 (sem aditivos) e em tampão pH 1,6 contendo Cremophor e Cremophor + PVP.



A adição de 2% de PVP ao tampão contendo 1,5% de Cremophor demonstrou sustentar os níveis supersaturados de fármaco e reduzir a cinética de dissolução dos cocrystal e precipitação do fármaco. Esse comportamento é demonstrado a partir do aumento da  $RAUC = AUC_{\text{cocrystal}}/AUC_{\text{fármaco}}$  apresentada na Figura 43 e Tabela 16. Na presença PVP, os cocrystal aumentaram a RAUC de 2 para 7 vezes (MLX-SLC) e de 2 para 6 vezes (MLX-MLE) em comparação com o meio contendo apenas Cremophor. Comportamento similar foi observado em um estudo desenvolvido por Guo e colaboradores (2017), onde a utilização de PVP resultou em um aumento de 64% na AUC das dissoluções com o cocrystal ácido flufenâmico:nicotinamida, em comparação com o tampão fosfato contendo apenas polietilenoglicol. Além disso, os autores sugerem que a adsorção do polímero na superfície do cocrystal dificultou o contato do meio de dissolução com a superfície do sólido, levando a

diminuição da cinética de dissolução do cocrystal e precipitação do fármaco (GUO *et al.*, 2017).

Tabela 16 - Meios de dissolução, supersaturação máxima, RAUC, Do e a vantagem de solubilidade interfacial e no meio.

Cocrystal	Meio de dissolução (pH <sub>bulk</sub> )	$\sigma_{\max}^a$	T <sub>max</sub> (min)	RAUC <sub>(4h)</sub> <sup>a</sup>	Do <sub>(fármaco)</sub> <sup>b</sup>	Do <sub>(cocrystal)</sub> <sup>c</sup>	SA <sub>bulk</sub> <sup>d</sup>
MLX-SLC	tampão pH 1,6	4,16 ± 0,01	120	6,48 ± 0,07	410	16	26
	tampão pH 1,6 + Cremophor	3,54 ± 0,17	30	2,02 ± 0,06	49	3,5	14
	tampão pH 1,6 + Cremophor + PVP	4,48 ± 0,11	90	7,31 ± 0,25	38	3,1	12
MLX-MLE	Buffer pH 1,6	6,06 ± 0,15	30	7,37 ± 0,24	410	0,9	371
	tampão pH 1,6 + Cremophor	4,13 ± 0,18	15	2,36 ± 0,25	49	0,31	135
	tampão pH 1,6 + Cremophor + PVP	5,10 ± 0,04	15	5,87 ± 0,17	38	0,30	125

<sup>a</sup> Valores de  $\sigma_{\max}$  e RAUC foram considerados estatisticamente diferentes ( $p < 0,05$ ) entre os cocrystal em todos os meios.

<sup>b</sup>  $Do_{\text{fármaco}} = (M_0/V_0)/S_{\text{fármaco}}$  no valor de pH final das dissoluções.

<sup>c</sup>  $Do_{\text{cocrystal}} = (M_0/V_0)/S_{\text{cocrystal}}$  no valor de pH final das dissoluções.

<sup>d</sup> SA<sub>bulk</sub> correspondente ao pH da dissolução. As mudanças entre o pH inicial e pH final não são estatisticamente significantes ( $p > 0,05$ ).

#### 4.1.1 Taxa de dissolução do cocrystal

A taxa de dissolução pode ser expressa por meio da % de cocrystal dissolvido calculada a partir da massa de coformador dissolvida (Figura 40). A % de cocrystal dissolvido em 0,5h, 2 h e 4 h na Tabela 17 demonstra que a taxa de dissolução foi maior para MLX-MLE, o cocrystal mais solúvel, e a diferença é ainda mais evidente nos primeiros 30 minutos de dissolução. Na Figura 40 é possível observar que MLE atinge concentrações próximas da concentração máxima teórica do componente em menor tempo comparado com o SLC. Concentrações de coformador próximas da concentração teórica máxima do componente indicam dissolução total do cocrystal. A fase sólida final das dissoluções de MLX-SLC era composta de fármaco e cocrystal. Para MLX-MLE foi observada a dissolução completa da

dose em todos os meios, com fase sólida final composta apenas de MLX (fase sólida caracterizada por FTIR).

A presença de Cremophor aumentou a taxa de dissolução para ambos cocristais, consistente com a ação solubilizante do aditivo, o que resultou na diminuição dos valores de RAUC, enquanto a adição do polímero PVP resultou na redução da % de cocrystal dissolvido para MLX-SLC e MLX-MLE e aumento da RAUC. Ao final das dissoluções na presença dos aditivos, mais de 25% do cocrystal MLX-SLC permaneceu não dissolvido, enquanto MLX-MLE aproximou-se dos 100%. O parâmetro  $Do_{(cocrystal)}$  obtido pela razão entre a  $C_{dose}$  e a  $S_{cocrystal}$  indica em quais situações a  $S_{cocrystal}$  será suficiente para dissolver a dose total utilizada. A relação entre a % de cocrystal dissolvido e a  $Do$  está abordada posteriormente.

Tabela 17 - Porcentagem de cocrystal dissolvido durante as dissoluções no tampão pH 1,6, e no tampão pH 1,6 com adição de Cremophor e Cremophor + PVP.

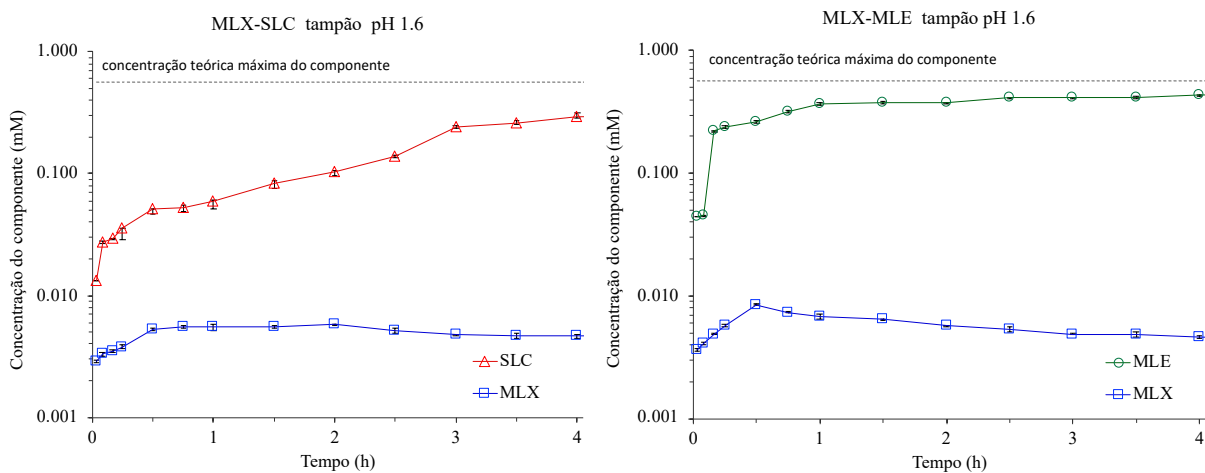
Meio	% MLX-SLC dissolvido <sup>a</sup>			% MLX-MLE dissolvido <sup>a</sup>		
	0,5 h	2 h	4h	0,5 h	2 h	4h
Tampão pH 1,6	9	18	52	46	65	76
Tampão pH 1,6 + Cremophor	30	65	74	69	94	97
Tampão pH 1,6 + Cremophor + PVP	12	40	60	58	88	93

<sup>a</sup>A % de cocrystal dissolvida foi determinada a partir da massa de coformador dissolvida em relação a massa total inicial (massa de cocrystal adicionada) de acordo com a fórmula:

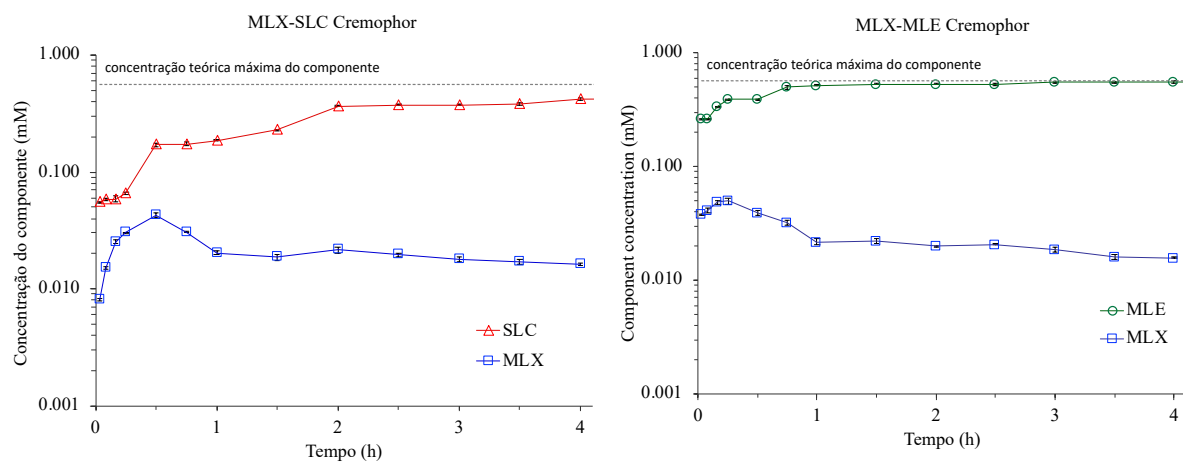
$$\% \text{ cocrystal dissolvido} = \frac{\text{mols de coformador dissolvido}}{\text{mols de cocrystal adicionado}} \times 100$$

Figura 40 - Concentrações de fármaco e coformador das dissoluções de MLX-SLC e MLX-MLE até 4 h no (a) tampão pH 1,6 e com a adição de (b) Cremophor e (c) Cremophor + PVP. A concentração teórica máxima do componente corresponde à massa molar inicial adicionada no meio de dissolução.

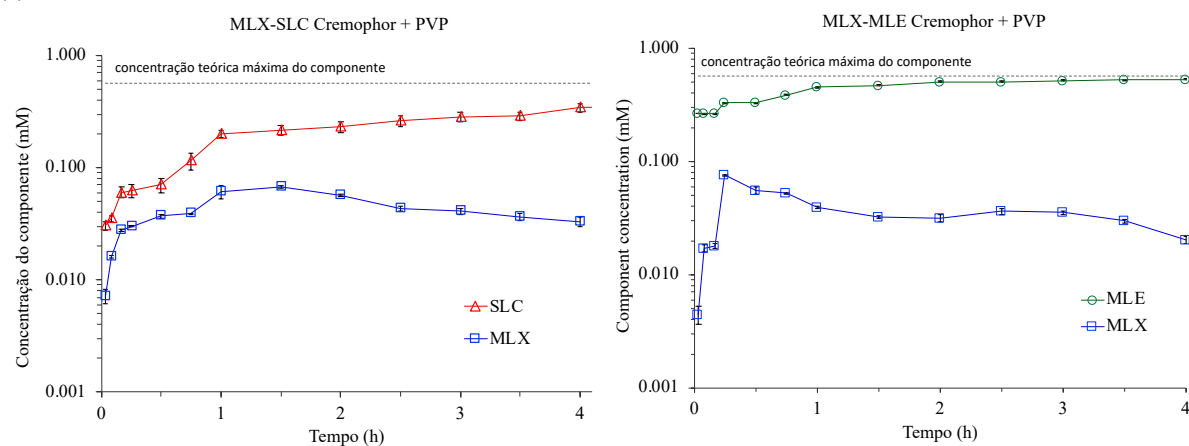
(a)



(b)



(c)



#### 4.1.1 Utilização da microscopia invertida na avaliação da dissolução dos cocristais e precipitação do fármaco

Comparar o comportamento de dissolução dos cocristais nos meios com e sem aditivos sem avaliar o mecanismo de precipitação do MLX durante a dissolução pode resultar em interpretações equivocadas. No capítulo II foi demonstrado que o MLX pode apresentar diferentes mecanismos de nucleação que são influenciados pelo pH (meio e microambiente) e pelo meio biorrelevante FeSSIF.

As Figura 41 e Figura 42 apresentam as imagens microscópicas das dissoluções dos cocristais em Cremophor e Cremophor + PVP coletadas em 5, 30 e 240 minutos. Cocristais e fármaco estão indicados pelas setas e estão associados à morfologia colunar e irregular/pequenas partículas, respectivamente.

Do mesmo modo que fora observado em FeSSIF (Figura 26), o comportamento de precipitação do MLX na presença dos aditivos Cremophor e Cremophor + PVP foi o de nucleação no meio (*bulk nucleation*). Não foi observado a nucleação de superfície na presença de Cremophor e Cremophor + PVP nas condições testadas. Sugere-se que assim como na presença de FeSSIF, esses cocristais aumentaram a sua molhabilidade na presença de Cremophor e PVP, resultando no aumento da taxa de dissolução e supersaturação no meio, levando à precipitação de fármaco em partículas espalhadas pela solução. Já o mecanismo de precipitação no tampão pH 1,6 ocorreu de modo diferente, onde a baixa molhabilidade/solubilidade resultou na precipitação do polimorfo IV na superfície do cocrystal, o que levou à diminuição das taxas de dissolução do cocrystal devido à barreira do precipitado.

Durante a dissolução de MLX-MLE em Cremophor, foi observado a precipitação do MLX em pequenas partículas próximas do cocrystal nos primeiros 5 minutos. Em 30 minutos, muitas partículas de fármaco encontravam-se precipitadas. Já o MLX-SLC apresentou precipitação do MLX em partículas maiores, irregulares e em menor extensão. Com a adição de PVP, foi observado para ambos cocristais a diminuição da cinética de precipitação do fármaco. É possível notar, em 30 min, a precipitação de MLX em menor extensão em comparação com o meio contendo apenas Cremophor. Em 240 min ainda é possível observar a presença de cocristais de morfologia colunar estáveis na amostra de MLX-SLC.



Figura 41 – Imagens microscópicas do comportamento de dissolução dos cocristais MLX-SLC e MLX-MLE e precipitação do fármaco no tampão pH 1,6 contendo Cremophor. As amostras foram coletadas durante a dissolução em diferentes tempos (1 min a 4h), Aumento 20x. Setas indicam o fármaco e cocristal. A barra de escala representa 50  $\mu\text{m}$ .

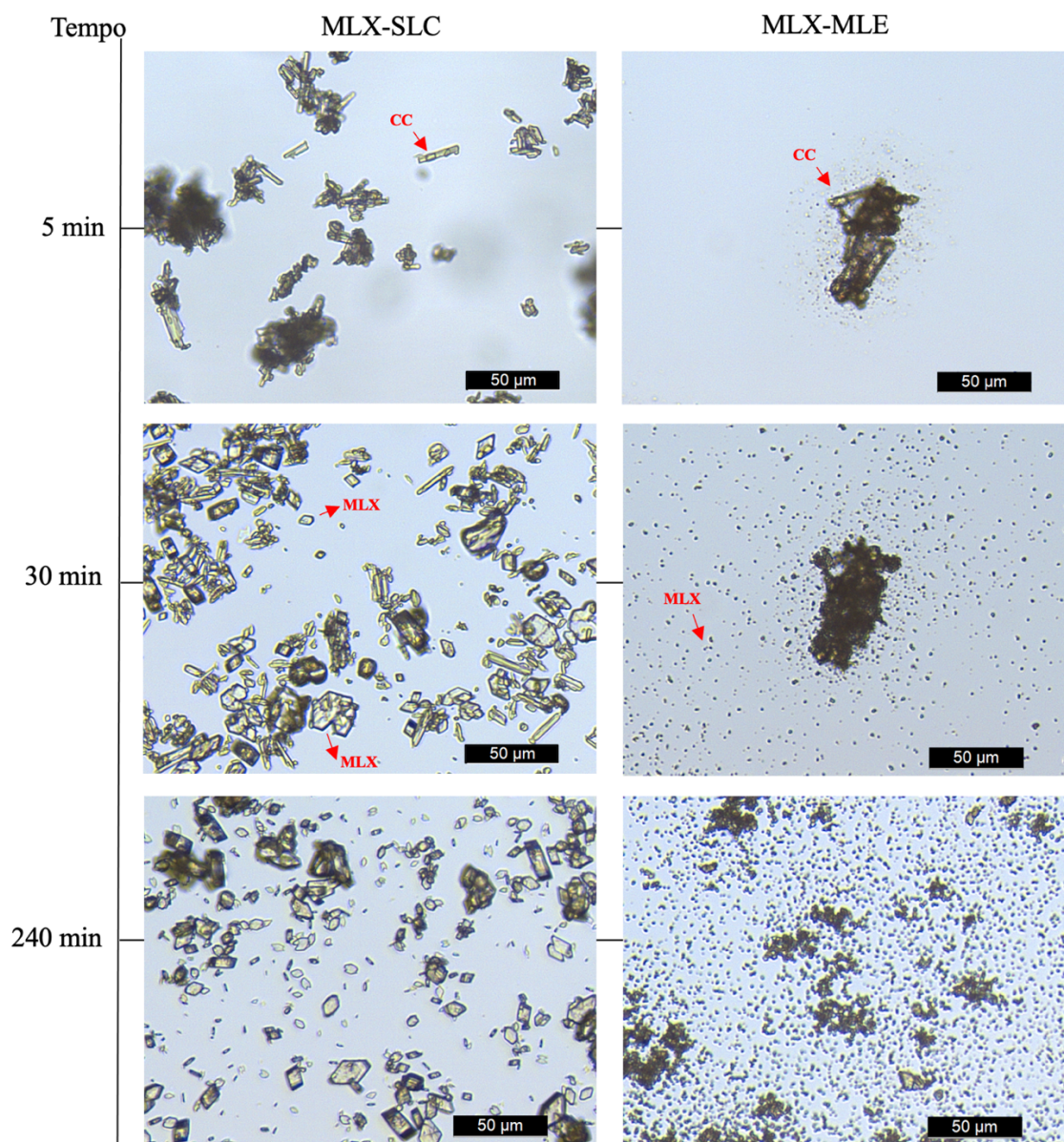
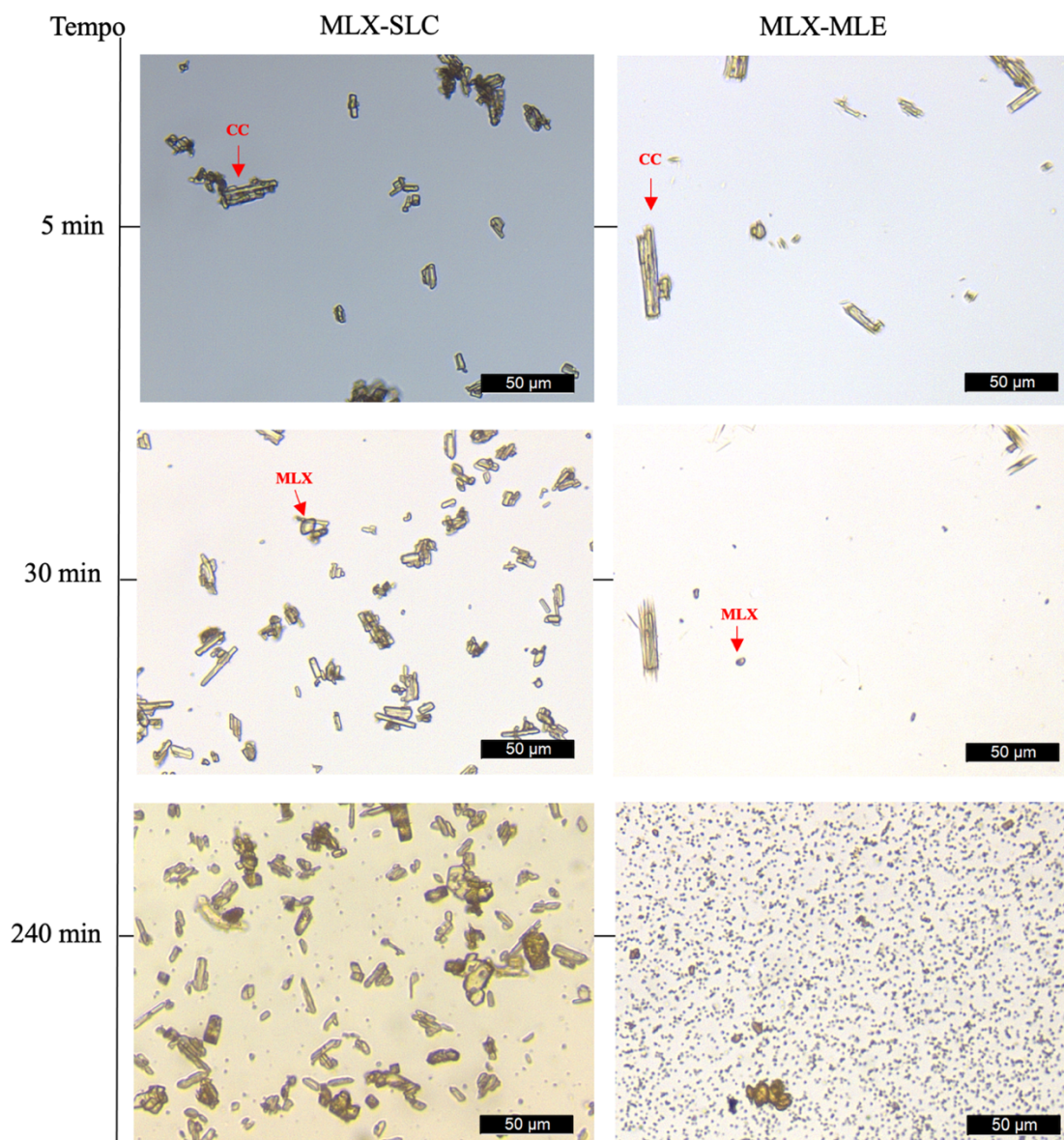


Figura 42 – Imagens microscópicas do comportamento de dissolução dos cocristais MLX-SLC e MLX-MLE e precipitação do fármaco no tampão pH 1,6 contendo Cremophor + PVP. As amostras foram coletadas durante a dissolução em diferentes tempos (1 min a 4 h), Aumento 20x. Setas indicam o fármaco e os cocristal. A barra de escala representa 50  $\mu\text{m}$ .



#### 4.1.2 Influência dos aditivos na modulação do Do, da SA e o comportamento de dissolução dos cocristais de meloxicam

A modulação da SA e do Do na presença dos aditivos e a comparação com o tampão pH 1,6 na Figura 43 demonstram que ambos parâmetros diminuem na presença de Cremophor

e Cremophor + PVP em decorrência do aumento da solubilidade do fármaco. Os valores de pH final das dissoluções em Cremophor e em Cremophor + PVP são estatisticamente iguais aos valores de pH do equilíbrio dos experimentos de solubilidade (Tabela 15 e Figura 35). Por esse motivo foram considerados apenas os valores de  $SA_{\text{bulk}}$ , pois são equivalentes ao  $SA_{\text{interfacial}}$ . SA para MLX-SLC diminuiu de 26, em tampão pH 1,6, para 14 e 12, em Cremophor e Cremophor + PVP, respectivamente. Já o MLX-MLE apresentou redução do seu SA de 371, em tampão pH 1,6, para 135 e 125 em Cremophor e Cremophor + PVP, respectivamente.

Nesses estudos, valores iguais de  $C_{\text{dose}}$  são encontrados (0,57mM), porém devido ao aumento da solubilidade do fármaco e dos cocristais, diferentes valores de  $Do$  foram obtidos (Tabela 16).  $Do_{(\text{fármaco})}$  é  $> SA$  para MLX-SLC e  $< SA$  para MLX-MLE, com exceção do pH 1,6 onde os valores de  $Do_{(\text{fármaco})}$  e SA são bastante próximos (410 vs 371) (Figura 43). Em relação ao  $Do_{(\text{cocrystal})}$ , os valores são  $> 1$  para MLX-SLC e  $< 1$  para MLX-MLE em todas as condições (Tabela 16).

Em condições onde  $Do_{(\text{fármaco})} > SA$  e  $Do_{\text{cocrystal}} > 1$ , a  $S_{\text{cocrystal}}$  não é suficiente para dissolver a dose total de cocrystal. Cabe lembrar que no tampão pH 1,6 situa-se o maior valor de  $Do$  (410), e para MLX-SLC,  $Do_{(\text{fármaco})} \gg SA$  e  $Do_{(\text{cocrystal})} = 16$  (Tabela 16). Nesta condição foi observado uma região platô durante a dissolução, além da dissolução incompleta do cocrystal. Além da relação com a dose, esse comportamento foi relacionado ao mecanismo de precipitação fármaco, o qual apresentou precipitação na superfície, e aproximou-se de uma condição de equilíbrio (Figura 33). Nas dissoluções em Cremophor e Cremophor + PVP os valores de  $Do_{(\text{fármaco})}$  também são maiores que a SA do MLX-SLC, porém a diferença é muito menor do que no tampão pH 1,6. Nessas condições a dose de cocrystal não é suficiente para atingir o estado próximo do equilíbrio.

Situações onde  $Do_{(\text{fármaco})} < SA$  e  $Do_{(\text{cocrystal})} < 1$  indicam que dissolução total da dose pode ocorrer e a supersaturação pode ser limitada pela  $C_{\text{dose}}$ . Esse é o caso do MLX-MLE em Cremophor e Cremophor + PVP, o qual apresentou dissolução próxima de 100%.

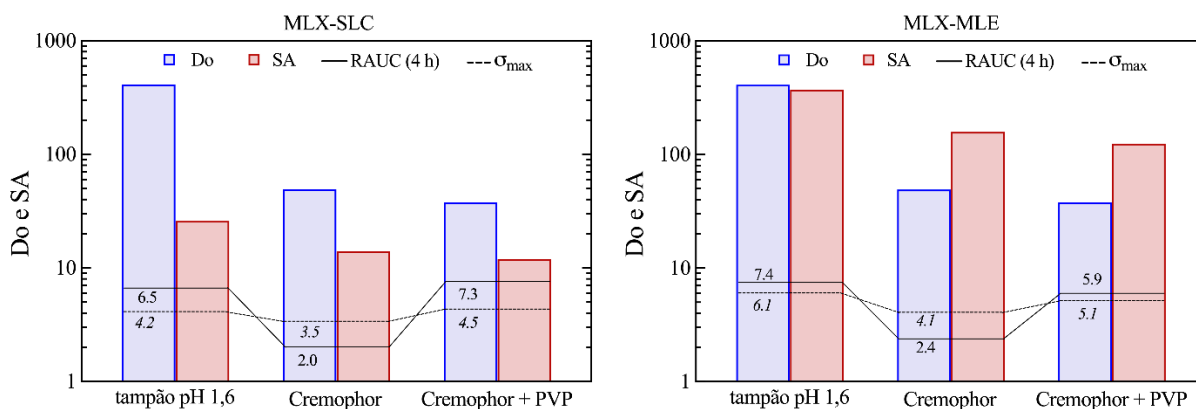
A Figura 43 demonstra que  $\sigma_{\text{max}}$  e RAUC diminuem na presença de Cremophor e aumentam na presença de PVP à medida que  $Do$  e SA diminuem em relação ao tampão pH 1,6. Uma das estratégias para diminuir a tendência dos cocristais em converter para fármaco é a diminuição da SA. Porém, além do SA os resultados desta tese demonstram que o comportamento de dissolução dos cocristais de meloxicam está muito relacionado à ação

solubilizante do aditivo, o tipo de nucleação do fármaco e o  $D_0$ . Sugere-se que a ação solubilizante do Cremophor aumentou a molhabilidade dos cocristais permitindo que a supersaturação e a nucleação do fármaco ocorressem no meio. Estudos com sais demonstram que a nucleação no meio geralmente resulta em uma queda acentuada dos níveis supersaturados do fármaco em comparação com a nucleação na superfície (HAWLEY; MOROZOWICH, 2010).

MLX-SLC e MLX-MLE apresentam valores muito próximos de  $D_0(\text{fármaco})$  e SA em ambos os meios com os aditivos. Valores de  $D_0(\text{fármaco})$  em Cremophor e em Cremophor + PVP foram 49 e 38 respectivamente, enquanto os valores de SA em Cremophor e Cremophor + PVP foram 14 e 12 para MLX-SLC, e 135 e 125 para MLX-MLE. Portanto, considera-se que força motriz para precipitação do fármaco seja similar entre os meios contendo aditivos. Diante disso sugere-se que a ação do PVP em aumentar  $\sigma_{\max}$  e RAUC esteja relacionada ao efeito deste aditivo como retardador polimérico de precipitação.

Sabe-se que diferentes interações podem ocorrer entre os componentes do cocrystal e polímero em solução. A interação entre o polímero e cocrystal ou fármaco irá depender das propriedades do polímero (ex.: cadeia e sua rigidez) e da estrutura da molécula (ex.: empacotamento, grupos funcionais). Um dos mecanismos propostos na literatura sugere que as moléculas do polímero podem ser adsorvidas na superfície do cristal de modo a formar uma camada de adsorção, a qual afetaria a difusão das concentrações de fármaco da superfície para o meio, inibindo assim, a precipitação do fármaco (MORRIS; PARK, 2005<sup>a</sup>). Em outro estudo, foi demonstrado que PVP aumentou a viscosidade da solução e alterou as propriedades de fluxo da superfície do cristal para o meio/solução diminuindo a taxa de crescimento do cristal (PATEL; ANDERSON, 2014; WEN;). Interações do tipo ligação de hidrogênio foram observadas em um estudo entre o fármaco acetaminofeno e PVP (WEN; MORRIS; PARK, 2005b).

Figura 43 – Dose Number para o fármaco ( $Do = C_{dose}/S_{fármaco}$ ) e a vantagem de solubilidade do cocristal ( $SA = S_{cocristal}/S_{fármaco}$ ) para MLX-SLC e MLX-MLE nos meios: tampão pH 1,6, Cremophor e Cremophor + PVP. SA é maior para MLX-MLE e diminui para ambos cocristais na presença dos aditivos.  $\sigma_{max}$  e RAUC aumentam na presença de Cremophor + PVP em comparação com Cremophor.



## 4.2 CONCLUSÃO

Nos estudos deste capítulo, fármaco e cocristais apresentaram diferentes extensões de solubilização na presença dos aditivos Cremophor e do polímero PVP, devido à solubilização preferencial do fármaco. Como consequência, a diminuição dos parâmetros Do e SA foi observada. A presença de Cremophor acelerou a cinética de dissolução e de precipitação do fármaco, resultando em valores menores de  $\sigma_{max}$  e RAUC em relação ao tampão pH 1,6 sem aditivos. A adição do retardador polimérico PVP K30 ao meio contendo Cremophor RH40 proporcionou maior vantagem de dissolução destes cocristais, com níveis maiores de supersaturação e diminuindo a cinética de dissolução e de precipitação do fármaco em relação ao meio com apenas Cremophor RH40. Estudos de microscopia invertida elucidaram o mecanismo de nucleação do meloxicam, o qual apresentou nucleação no meio na presença dos aditivos. Os resultados encontrados revelam que a utilização do parâmetro SA como indicador do risco de conversão do cocristal para fármaco, sem considerar o parâmetro Do e o mecanismo de precipitação do fármaco durante a dissolução, pode levar a interpretações limitadas do comportamento de dissolução dos cocristais. A avaliação da influência que determinado aditivo tem sobre estes parâmetros fornece uma base sólida para o desenvolvimento de formulações efetivas contendo cocristais.

#### **Capítulo IV**

### **NAPROXENO – NICOTINAMIDA: ACESSANDO A SUPERSATURAÇÃO E O COMPORTAMENTO DE PRECIPITAÇÃO DO FÁRMACO**

---

## 5 NAPROXENO-NICOTINAMIDA: ACESSANDO A SUPERSATURAÇÃO E O COMPORTAMENTO DE PRECIPITAÇÃO DO FÁRMACO

A vantagem de biodisponibilidade dos cocristais frente ao fármaco é dependente da sustentação de níveis de supersaturação do fármaco durante a dissolução por tempo suficiente para absorção. A utilização de aditivos e a química em solução desempenham papel fundamental no sucesso de sistemas supersaturados (ALHALAWEH; ALI; VELAGA, 2014; BEVERNAGE *et al.*, 2013; GRECO; BOGNER, 2011; LEYSSENS; HORST, 2018; SUN; LEE, 2015).

A tendência do cocrystal em converter para fármaco pode ser mensurada a partir da SA do cocrystal e sua modulação frente as mudanças de pH e presença de aditivos. Valores maiores de SA indicam maior força motriz para a precipitação do fármaco, a qual também é dependente do parâmetro dose number (Do) (HUANG *et al.*, 2019). A precipitação do fármaco ocorre quando as concentrações do mesmo excedem os valores correspondentes à supersaturação crítica, a qual é identificada como o nível de supersaturação acima do qual a nucleação irá ocorrer instantaneamente, ou em outras palavras, pode ser definida como a força motriz mínima requerida para que a nucleação ocorra (SCHVER; LEE, 2018).

A utilização de retardadores poliméricos de precipitação e aditivos solubilizantes do fármaco, os quais atuam diminuindo a SA, estão entre os aditivos mais utilizados para melhorar o desempenho de dissolução de sistemas supersaturados (CHILDS; KANDI; LINGIREDDY, 2013). Em comparação com sistemas amorfos, estudos que avaliam a utilização de aditivos em formulações contendo cocristais estão em menor representatividade na literatura. Destaca-se o estudo de Alhalaweh, Ali e Velaga (2014), o qual avaliou a influência do PVP e LSS na redução da  $K_{eu}$  e na dissolução do cocrystal de indometacina-sacarina, obtendo resultados significativos na sustentação da supersaturação de indometacina na presença desses aditivos (ALHALAWEH; ALI; VELAGA, 2014).

Com o objetivo de ampliar os estudos propostos nesta tese, selecionou-se o cocrystal de naproxeno:nicotinamida (2:1 NPX:NIC) o qual apresenta diferente estequiometria e diferente característica de solubilidade/ionização em comparação com os cocristais de meloxicam apresentados nos capítulos anteriores. A obtenção do cocrystal 2:1 NPX-NIC já encontra-se relatada na literatura utilizando diferentes métodos, porém, até o momento, nenhum estudo de solubilidade e dissolução com a abordagem proposta nesta tese foi

apresentado para este cocristal (ANDO *et al.*, 2012; CASTRO ET. AL, 2011; NEUROHR *et al.*, 2013a).

Dentro deste cenário, o presente capítulo apresenta a obtenção e a caracterização do cocristal 2: 1 NPX-NIC, a determinação da sua solubilidade em função do pH e na presença de surfactante e polímero, e a determinação do comportamento de dissolução-supersaturação-precipitação (DSP) do cocristal por meio de estudos de dissolução *in vitro* e microscopia óptica invertida.

## 5.1 METODOLOGIA

### 5.1.1 Materiais

A matéria-prima de NPX foi adquirida de Zhejiang Chemicals - China, lote 146021908. O coformador NIC, lote DCBD04307V, foi adquirido de Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA. Fármaco e coformadores foram caracterizados por DRXP e DSC antes do preparo dos cocristais. O solvente etanol apresentava grau analítico. Foram utilizados reagentes (ácidos, bases, solventes e sais) de grau analítico e grau cromatográfico. A água utilizada nestes estudos foi filtrada através de sistema de purificação (Milli-Q<sup>®</sup> Water System) de Millipore Co. (Bedford, MA). Os aditivos Tween80<sup>®</sup> e PVPK30 foram adquiridos de ViaFarma, São Paulo e Sigma-Aldrich, respectivamente.

### 5.1.2 Métodos

#### 5.1.2.1 Síntese do cocristal

Para a obtenção de cocristal do naproxeno com nicotinamida foi utilizado o Método de Cristalização por Reação (MCR), descrito por Rodríguez-Hornedo e colaboradores (2006). Esta reação de cristalização em solução foi realizada em temperatura ambiente, por meio da adição de quantidades estequiométricas de NPX e NIC (próximo à saturação) em um frasco contendo volume determinado de etanol. A suspensão foi mantida sob agitação magnética durante 24 horas e, em seguida, filtradas em filtro de papel quantitativo sob vácuo. A identidade das amostras foi confirmada por FT-IR, DSC e DRXP. A estequiometria (pureza)



do cocrystal foi verificada por CLAE.

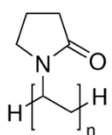
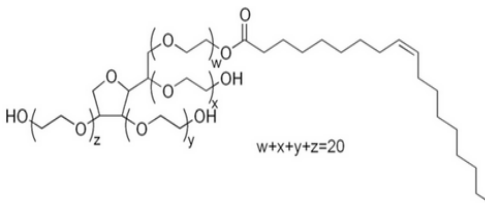
#### *5.1.2.2 Técnicas de caracterização*

As técnicas de DRXP, DSC e FT-IR utilizadas na caracterização dos cocristais deste capítulo estão descritas no capítulo II, nos itens 3.2.2.2 a 3.2.2.4.

#### *5.1.2.3 Preparo dos meios de dissolução e solubilidade*

Soluções de HCl nos valores de pH 1,0 (0,1 M) e 3,0 (0,08 M) foram preparadas a partir de diluições de HCl (12 M) em água. O tampão pH 1,6 ( $\pm 0,02$ ) (34 mM) foi preparado adicionando 1,99 g de NaCl em 1 L de água. O tampão acetato pH 5,0 ( $\pm 0,01$ ) (144 mM) foi preparado por meio da adição de 8,089 g de NaOH, 16,4 mL de ácido acético e 23,75 g de NaCl em 1 L de água. O tampão acetato pH 6,80 ( $\pm 0,02$ ) (105,9 mM) foi preparado dissolvendo quantidades apropriadas de tampão acetato de amônio (25 mM) e NaOH (8,7 mM) em 1 L de água e o tampão fosfato-salino PBS pH 7,4 foi preparado de acordo com protocolos. Soluções nas concentrações de 2% (v/v) dos aditivos Tween<sup>®</sup>80 e PVP<sup>®</sup>K30 (Tabela 18) foram preparadas dissolvendo-os em tampão pH 1,6. Os valores de pH em todos os meios foram ajustados com soluções 1 M de NaOH e HCl. A água utilizada nos experimentos de solubilidade foi filtrada através de sistema de purificação MilliQ<sup>®</sup> e o pH medido foi de 6,3 ( $\pm 0,02$ ).

Tabela 18 - Aditivos utilizados nos estudos de solubilidade e dissolução.

Nome e estrutura química	Concentração utilizada	CMC	Mecanismo de solubilização
PVP ( <i>Polivinilpirrolidona</i> ) K30 	2% (m/v)	-	Complexação
Tween® ( <i>Polisorbato</i> ) 80 	2% (m/v)	0,0013 <sup>a</sup>	Solubilização micelar

<sup>a</sup> ULLAH; BALOCH; DURRANI, 2011.

#### 5.1.2.4 Solubilidade do MLX

A solubilidade do NPX ( $S_{NPX}$ ) foi determinada a partir da adição de excesso de fármaco em 30 ml de solução. As suspensões foram mantidas sob agitação ( $25 \pm 0,2$  °C, 150 rpm) em incubadora do tipo *shaker* (NT 715, Novatécnica, Piracicaba, Brasil). Em intervalos de 24h alíquotas foram coletadas, filtradas em filtros de poliamida de  $0,45 \mu\text{m}$  e o pH verificado. Após diluição adequada em fase móvel, a fase líquida foi analisada por CLAE e a fase sólida foi verificada por DRXP e DSC para garantir que não houve transição de fase durante o ensaio. O experimento foi finalizado quando o sistema alcançou o equilíbrio (48-72h), onde a variação de concentração molar foi inferior a 5% entre as duas últimas coletas. Os experimentos foram realizados em triplicata.

#### 5.1.2.5 Solubilidade do cocrystal

A solubilidade em equilíbrio do cocrystal NPX-NIC foi determinada no ponto eutético, onde a fase sólida do fármaco e do cocrystal estão em equilíbrio com a solução. Quantidades em excesso de cada fase sólida foram adicionadas em 30 ml do meio e as suspensões foram mantidas sob agitação contínua a  $25 \pm 0,2$  °C, 150 rpm em incubadora do tipo *shaker*, até o equilíbrio ser alcançado (48-72h). Em intervalos de 24h, alíquotas foram coletadas, filtradas

em filtros de poliamida de 0,45  $\mu\text{m}$  e o pH verificado. Após diluição adequada em fase móvel, a fase líquida foi analisada por CLAE, a fim de obter as concentrações de fármaco e coformador, e a fase sólida foi verificada por DRXP e DSC para garantir que o sistema se encontrava no ponto eutético (confirmado pela presença das fases sólidas do fármaco e do cocrystal e concentrações constantes de fármaco e coformador). Os experimentos foram realizados em triplicata.

A solubilidade estequiométrica do cocrystal foi calculada a partir da concentração total medida de fármaco e de coformador ( $[\text{fármaco}]_{\text{T,eu}}$  e  $[\text{coformador}]_{\text{T,eu}}$ ), de acordo com a seguinte equação para cocrystal de estequiometria 2:1:

$$S_{\text{cocrystal (2:1)}} = 2^3 \sqrt{\frac{[\text{fármaco}]_{\text{T,eu}}^2 [\text{coformador}]_{\text{T,eu}}}{4}} \quad (23)$$

Onde  $S_{\text{cocrystal}}$  é a solubilidade total do cocrystal, e  $[\text{fármaco}]_{\text{T,eu}}$  e  $[\text{coformador}]_{\text{T,eu}}$  representam a concentração total molar de todas as espécies de fármaco e coformador sob condições de equilíbrio.

O produto da solubilidade ( $K_{\text{sp}}$ ) do cocrystal 2:1 NPX-NIC foi determinado de acordo com a seguinte equação:

$$K_{\text{sp}} = [\text{fármaco}]_0^2 [\text{coformador}]_0 \quad (24)$$

Onde  $[\text{fármaco}]_0^2$  e  $[\text{coformador}]_0$  representam as concentrações neutras de NPX e NIC no ponto eutético.

#### 5.1.2.6 Dissolução do fármaco e dos cocrystal

A dissolução do NPX e do NPX-NIC foi realizada em triplicata nos meios: tampão pH 1,6, tampão pH 5,0, Tween 80 e PVP K30. Foi preparada uma solução de cada um dos aditivos na concentração de 2% (m/v) dissolvidos em tampão pH 1,6. A temperatura foi mantida a 25,0 ( $\pm 0,2$ )  $^{\circ}\text{C}$  sob agitação (150 rpm) utilizando incubadora do tipo *shaker flask*. A dose de 100 mg de NPX e o equivalente para o cocrystal NPX-NIC (126,5 mg) foi adicionada em 50 mL do meio de dissolução. As amostras foram previamente passadas pelo

tamis de malha 125  $\mu\text{m}$ , para uniformização do tamanho de partícula. Em intervalos de tempo pré-determinados, alíquotas de 1,0 mL foram coletadas e imediatamente filtradas com membrana de poliamida de 0,45  $\mu\text{m}$ . Concentrações de fármaco e coformador foram analisadas por CLAE e a fase sólida final analisada por DSC e FT-IR. O experimento foi encerrado em 4 horas e o pH foi verificado. Para a análise das dissoluções considerou-se os parâmetros: área sob a curva (AUC), supersaturação ( $[\text{fármaco}]_T/S_{\text{fármaco}}$ ) e supersaturação máxima ( $\sigma_{\text{max}} = C_{\text{max}}/S_{\text{fármaco}}$ ). Teste  $t$  foi utilizado para testar a significância estatística em relação aos valores da área sob a curva (AUC) e  $\sigma_{\text{max}}$ , entre cada cocristal e meio utilizado. Aplicou-se intervalo de confiança de 95%. Diferenças entre os parâmetros foram consideradas significativas quando  $p < 0,05$ . O cálculo da AUC e análise estatística foi realizada em *software* GraphPad Prism<sup>®</sup>6. O *dose number* (Do) foi determinado de acordo com a equação 16 descrita anteriormente no capítulo II, considerando os valores de  $C_{\text{dose}}$  e  $S_{\text{fármaco}}$ . A  $C_{\text{dose}}$  dos estudos de dissolução desse capítulo foi determinada a partir da dose de 100 mg dividida pelo volume do meio de dissolução (50 mL) resultando em uma  $C_{\text{dose}}$  de 2 mg/ml (8,7 mM). A dose de 100 mg foi selecionada baseada na dose comercializada de um comprimido de 500 mg dividido pelo volume de 250 mL (equivalente ao volume gástrico).

#### 5.1.2.7 Instrumentação e condições cromatográficas

A quantificação do NPX e NIC foi realizada por CLAE utilizando metodologias desenvolvidas com base em parâmetros e métodos descritos na literatura (JAIN *et al.*, 2016; MONDAL *et al.*, 2011; YILMAZ; ASCI; ERDEM, 2013). Posteriormente ao desenvolvimento dos métodos, os mesmos foram validados de acordo com as normas nacionais e internacionais recomendadas (FDA, 2015; ICH, 2005; BRASIL 2017). As análises por CLAE foram realizadas em cromatógrafo Shimadzu LC-10A (Kyoto, Japão), equipado com bomba LC-10AD, degaseificador DGU-14A, detector de comprimento de onda ( $\lambda$ ) SPD-10AV e unidade controladora de sistema SCL-10AVP. A aquisição dos dados foi realizada por meio do *software* CLASS-VP<sup>®</sup> V 6.14.

Foram desenvolvidos dois métodos de CLAE, identificados da seguinte maneira:

- a) Isocrático = para quantificação isolada de NPX;
- b) Gradiente = para quantificação de NPX e NIC.

Um resumo dos principais parâmetros de cada método encontra-se descrito na tabela Tabela 19.

Tabela 19 - Condições cromatográficas utilizadas para quantificação de NPX e NIC.

Parâmetros	Método	
	a) Isocrático	b) Gradiente
Analito	NPX	NIC e NPX
Fase móvel	MeOH:água acidificada pH 3,0	A: MeOH B: água acidificada pH 3,0
Proporção (v/v)	65:35	10:90 A:B (0-5 min) 90:10 A:B (5-10 min) 10:90 A:B (10-13min)
$\lambda$ de onda	270 nm	270 nm - NPX 180 nm -NIC
Vol. de injeção	20 $\mu$ L	20 $\mu$ L
Vazão	1mL/min	1mL/min
Temperatura	25°C $\pm$ 1°C	25°C $\pm$ 1°C
Tempo de retenção	4min	NIC (3,59 min) NPX (10 min)
Faixa linear	2 – 40 $\mu$ g/mL	5-50 $\mu$ g/ml
Limite de detecção	0,46 $\mu$ g/mL	NIC (1,51 $\mu$ g/mL) NPX (1,60 $\mu$ g/mL)
Limite de quantificação	1,46 $\mu$ g/mL	NIC (4,61 $\mu$ g/mL) NPX (4,53 $\mu$ g/mL)
Coluna	Kinetex Core Shell® C18 (5 $\mu$ , 150 mm x 4,6 mm d.i.)	

### 5.1.2.8 Microscopia óptica

#### 5.1.2.8.1 Avaliação da cinética de dissolução do cocrystal e precipitação do fármaco

A cinética de dissolução do NPX-NIC e precipitação do NPX foi investigada em microscópio invertido Leica Dmi8 (Leica Microsystems, Wetzlar, Alemanha) equipado com câmera de alta resolução e iluminação clara de LED. Aliquotas de 200  $\mu$ L foram coletadas durante a dissolução do cocrystal (mesmas condições descritas no item 5.1.2.6) e transferidas para as placas de 96 poços em tempos pré-determinados. As imagens foram coletadas

utilizando câmera Leica DMC2900 controlada por software LAS v4,7 (Leica Microsystems, Wetzlar, Germany). Aumento de 20x foi utilizado para todas as imagens.

## 5.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.2.1 Caracterização do cocrystal e seus componentes

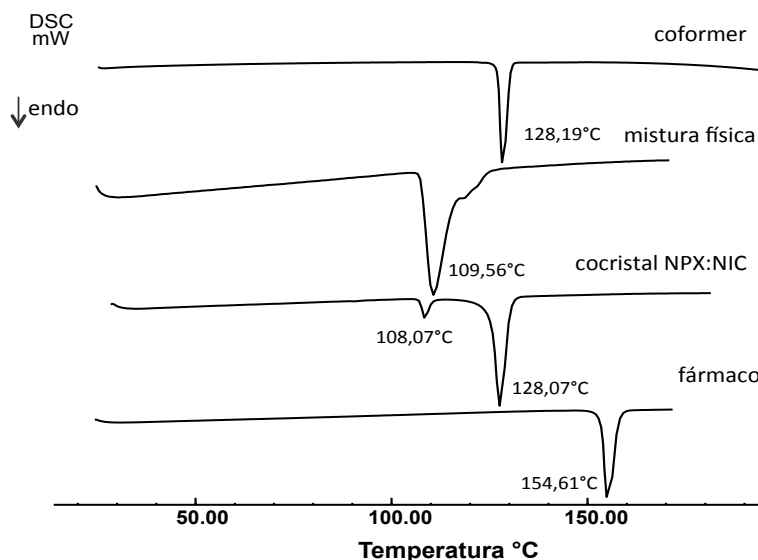
Diferentes métodos de obtenção do cocrystal NPX-NIC encontram-se descritos na literatura: método de antissolvente supercrítico utilizando CO<sub>2</sub>; *screening* pelo método de Kofler (termomicroscopia); moagem assistida por solvente e obtenção de monocristal por evaporação lenta do solvente (CASTRO ET. AL, 2011; NEUROHR *et al.*, 2013b). Neste trabalho foi utilizado o método de cristalização por reação (MCR), o qual demonstrou ser um método simples, passível de escalonamento, resultando em sólidos cristalinos puros com rendimento de até 75%.

Os cocrystalis podem ser usualmente caracterizados por meio da combinação de técnicas termoanalíticas, espectroscópicas, e a mais importante dentre elas, a difração de raios-X de pó (DRXP). Uma ferramenta útil consiste no banco de dados estruturais CSD (CSD - Cambridge Structural Database), que fornece informações essenciais para a caracterização por meio da comparação entre padrões de difração de raios-X da amostra com o padrão de difração calculado, quando existente (HEALY *et al.*, 2017; QIAO *et al.*, 2011; REUTZEL-EDENS, 2012).

No que se refere ao comportamento termoanalítico das amostras, NPX matéria-prima apresentou um único evento endotérmico, com ponto de fusão em 154,61° C, estando de acordo com o intervalo de fusão descritos na literatura para a forma I deste fármaco (CASTRO *et. al.*, 2011; ÉVORA *et al.*, 2011; RAJURKAR; GITE; GHAWATE, 2015a; SONG; SOHN, 2011). A curva DSC da amostra cocrystalizada apresentou ponto de fusão em 128,07°C, localizado abaixo dos eventos endotérmicos dos componentes do cocrystal (Figura 44). Este dado está de acordo com o encontrado no trabalho de Castro *et al.*, 2011, para o cocrystal de NPX-NIC, bem como o evento endotérmico da NIC, com evento de fusão em 128,19°C. Estes autores também relatam a presença de mistura eutética na amostra cocrystalizada, caracterizada pelo evento endotérmico em 108,07°C, antecedente à fusão do

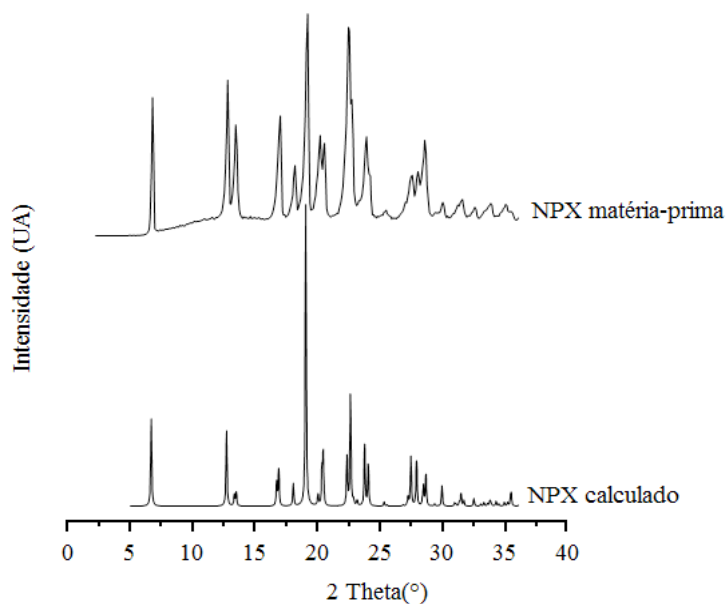
cocristal. A análise de DSC da mistura física na proporção 1:1 apresentou evento endotérmico em 109,56°C, consistente com o relatado por Castro et al., 2011 (CASTRO et al., 2011).

Figura 44 - Resultado das análises por DSC do coformador NIC, da mistura física, da amostra cocristalizada e do fármaco NPX.



A DRXP é considerada uma técnica fundamental e definitiva na análise de materiais sólidos cristalinos, permitindo a caracterização das amostras de acordo com seus padrões de difração (BRITTAIN, 2009). A estrutura cristalina de NPX foi determinada pela primeira vez por Ravikumar et al., 1985. Os dados cristalográficos referentes à forma 1 de NPX estão depositados no *Cambridge Crystallographic Data Centre* (CCDC) identificado como COYRUD (RAVIKUMAR et al., 1985). A amostra da matéria-prima de NPX foi caracterizada por meio da sobreposição dos padrões de reflexão para este polimorfo I, confirmando sua identidade (Figura 45). Outras três formas polimórficas de NPX foram isoladas por Jung-Soon Song and Young-Taek Sohn (2011) por meio de recristalizações em condições extremas utilizando diversos solventes. No entanto, este autor não apresenta as estruturas cristalinas resolvidas para estes polimorfos (SONG; SOHN, 2011).

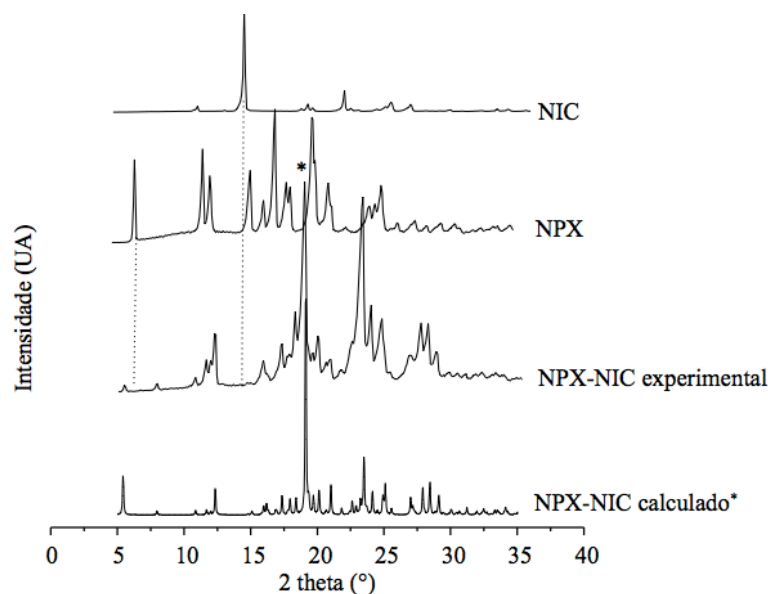
Figura 45 - Difratomogramas da amostra de NPX matéria-prima e do padrão de difração calculado para NPX polimorfo I relatado por Ravikumar et al., 1985.



Em relação à estrutura cristalina do cocristal NPX:NIC, a mesma encontra-se elucidada por meio de difração de raios X de monocristal. Os dados cristalográficos relatados por Ando et al., 2012, demonstraram que a interação entre fármaco e coformador ocorre por meio de quatro ligações de hidrogênio em dois *synthons*: ácido carboxílico (NPX) - anel piridina (NCT) e ácido carboxílico (NPX) – grupo amida (NCT) (ANDO *et al.*, 2012). Comparando o difratograma da amostra cocristalizada NPX-NIC com o padrão de difração calculado desse cocristal (Figura 46), foi possível observar que as reflexões são equivalentes e diferentes dos materiais de partida NPX e NIC. É observado a ausência de reflexões características do fármaco e do coformador em 6,55° e 14,74°, respectivamente, e o surgimento de novas reflexões características desse cocristal, conforme destacado em 19,7° C.



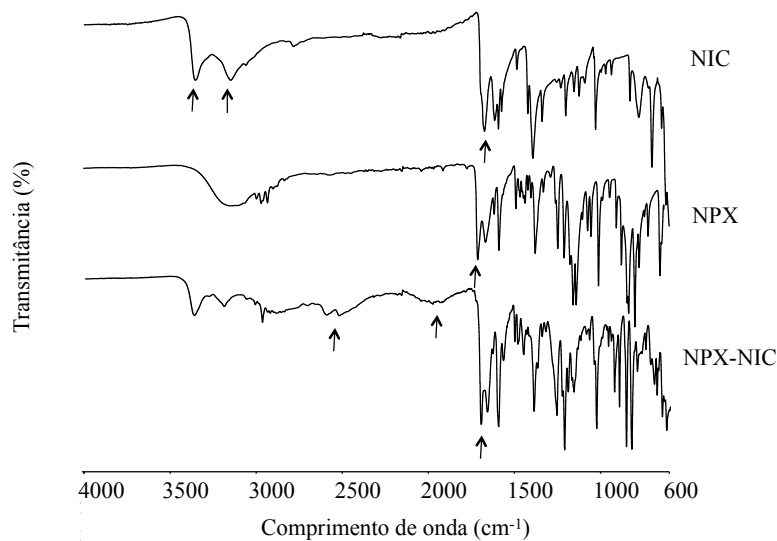
Figura 46 - Difratomogramas da amostra obtida por cocristalização e do padrão de difração calculado para NPX-NIC.



\* Padrão de difração calculado para o cocristal NPX-NIC relatado por Ando et al., 2012.

A Figura 47 mostra as modificações observadas no espectro de infravermelho da amostra de NPX-NIC em relação aos componentes isolados. No espectro de NIC, as bandas visualizadas em  $3354\text{ cm}^{-1}$  e  $3148\text{ cm}^{-1}$  podem ser atribuídas às vibrações assimétricas e simétricas do grupo  $\text{NH}_2$ , e a banda característica de  $\text{C}=\text{O}$  foi observada em  $1675\text{ cm}^{-1}$ . Já para o NPX, o estiramento da ligação  $\text{C}=\text{O}$  é observado em  $1724\text{ cm}^{-1}$ . A formação do cocristal resultou em modificações no espectro que evidenciam as interações de hidrogênio entre os componentes. A vibração  $\text{C}=\text{O}$  de NIC e NPX apareceram no espectro do cocristal em  $1702\text{ cm}^{-1}$  devido à ligação de hidrogênio entre  $\text{C}=\text{O}$  do NPX e o grupamento  $\text{NH}_2$  da NIC. A presença de duas novas bandas em  $2523\text{ cm}^{-1}$  e  $1982\text{ cm}^{-1}$  indicam interação entre o grupamento ácido carboxílico e nitrogênio aromático.

Figura 47 - Espectros de FT-IR das amostras de NIC, de NPX e da amostra cocristalizada NPX-NIC.

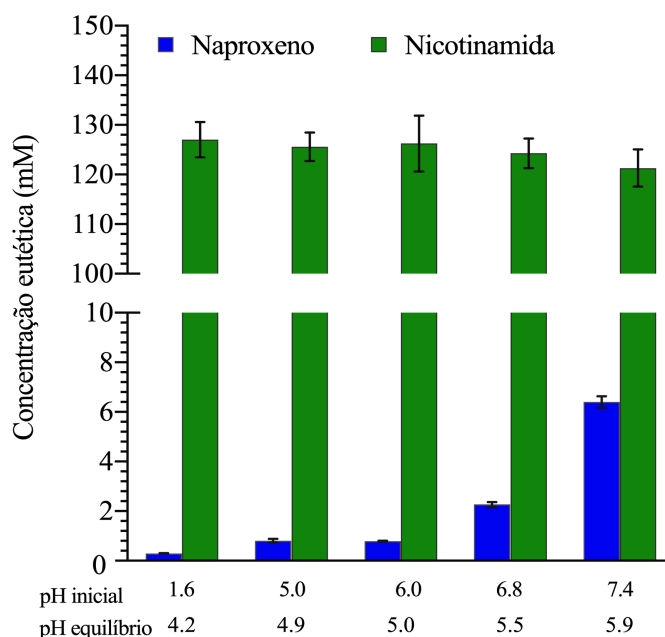


Por fim, a análise por CLAE das concentrações dos componentes do cocristal demonstrou razão fármaco/coformador de 1,97 ( $\pm 0,4$  %), confirmando a estequiometria 2:1 deste cocristal. Estes dados, em conjunto com os resultados obtidos por DSC, FT-IR e DRXP, confirmam a identidade da amostra como cocristal 2:1 NPX-NIC.

### 5.2.2 $K_{eu}$ , SA e solubilidade em função do pH

As concentrações eutéticas de NPX e NIC em equilíbrio com a fase sólida de cocristal e fármaco no ponto eutético em diferentes valores de pH encontram-se apresentadas na Figura 48.  $[NPX]_{eu}$  aumentou com o aumento do pH, consistente com o seu caráter ácido de ionização. Enquanto,  $[NIC]_{eu}$  não apresentou variação nas concentrações ( $p > 0,05$ ). Embora os valores de pH iniciais foram entre 1,6 – 7,4, os valores de pH do equilíbrio foram entre 4,2 e 5,9 devido ao efeito tamponante dos componentes. À medida que o cocristal dissolve em solução, altos níveis de ionização da NIC (base,  $pK_a = 3,3$ ) elevaram o pH da solução de pH 1,6, enquanto que o NPX (ácido,  $pK_a = 4,18$ ) diminuiu o pH das demais soluções. Nesses estudos, o pH do equilíbrio atingiu variações de 2,6 unidades, demonstrando a importância do monitoramento deste parâmetro em estudos desta natureza envolvendo moléculas ionizáveis.

Figura 48 - Concentrações eutéticas de fármaco e coformador medidas no ponto eutético. As concentrações eutéticas de NPX aumentam com o aumento do pH enquanto NIC não apresenta mudança significativa ( $p > 0,05$ ).

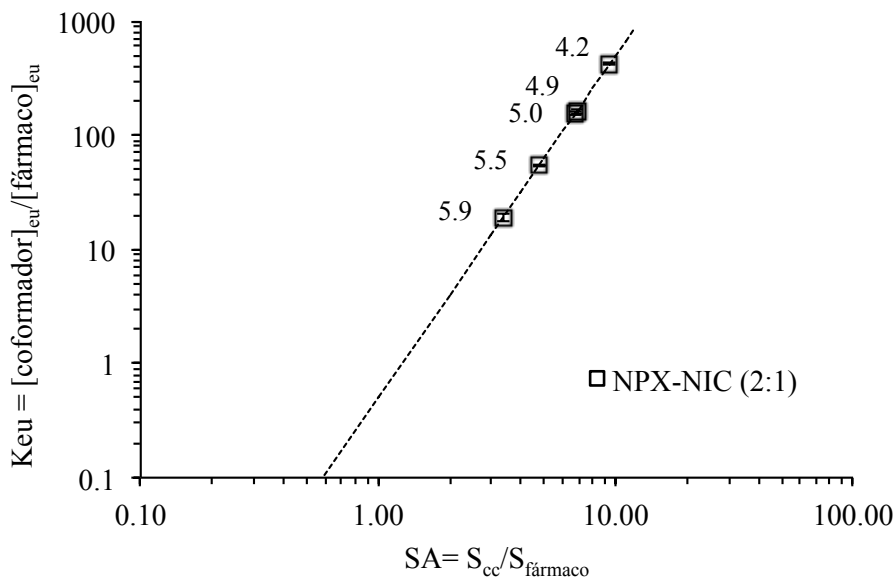


A constante eutética  $K_{eu}$  foi determinada a partir da razão da concentração de coformador pela de fármaco (Figura 48 e Tabela 20) e a sua relação com a SA para cocristais 2:1 é descrita pela equação:

$$K_{eu}^{2:1} = \frac{[\text{coformador}]_{eu}}{[\text{fármaco}]_{eu}} = 0.5 \left( \frac{S_{\text{cocristal}}}{S_{\text{fármaco}}} \right)^3 = 0.5(SA)^3 \quad (25)$$

Valores de  $K_{eu} > 0,5$  para cocristais de estequiometria 2:1 indicam que o cocristal é mais solúvel que o fármaco. Valores de  $K_{eu}$  na Figura 49 estão acima de 18 em todas as condições de pH estudadas. Tanto  $K_{eu}$  quanto SA aumentam à medida que o pH diminui. Os valores experimentais de SA variaram de 21 a 7 para NPX-NIC na faixa de pH de 4,2 a 5,9 (Tabela 20). Diante disso, espera-se que o cocristal apresente rápida dissolução e menor estabilidade termodinâmica em soluções de pH menores. O coformador NIC do tipo base exibe ionização aumentada em valores de pH ácidos, especialmente acima do seu  $pK_a$  de 3,3 refletindo no aumento da  $S_{\text{cocristal}}$  e da SA em condições ácidas.

Figura 49 - Relação entre  $K_{eu}$  e SA para NPX-NIC. A linha foi gerada a partir da forma logarítmica da equação 25. Os números próximos dos pontos experimentais indicam os valores de pH final dos experimentos de solubilidade.  $K_{eu}$  e SA aumentam com a diminuição do pH devido à ionização do coformador tipo base.



É importante ressaltar que a concentração de fármaco no experimento de solubilidade no ponto eutético corresponde à solubilidade do fármaco quando fenômenos como complexação não ocorrem. Por outro lado, as concentrações do coformador variam de acordo com a concentração necessária para atingir o ponto eutético. As concentrações eutéticas de NPX foram aproximadamente 2x maiores que a  $S_{NPX}$  (Tabela 20) sugerindo complexação entre fármaco e coformador. A NIC é amplamente estudada pela sua capacidade de aumentar a solubilidade de outras moléculas quando na presença de determinadas concentrações da mesma. Diferentes mecanismos explicando esse fenômeno podem ser encontrados na literatura. O termo hidrotrópico é bastante citado, embora o mecanismo de complexação seja o mais aceitável. A formação de complexos entre a NIC e outros fármacos é bem relatada na literatura, com o objetivo de aumentar a solubilidade aquosa de fármacos hidrofóbicos (COFFMAN; KILDSIG, 1996; KIM *et al.*, 2010; NIDHI *et al.*, 2011; RASOOL; HUSSAIN; DITTERT, 1991; SANGHVI; EVANS; YALKOWSKY, 2007; SUZUKI, H AND SUNADA, 1998). A ocorrência de complexação em sistemas cocristalinos também encontra-se relatado na literatura (BETHUNE, 2009; GOOD, 2010; NEHM; RODRÍGUEZ-SPONG; RODRÍGUEZ-HORNEDO, 2006).

Tabela 20 - Concentrações eutéticas de fármaco e coformador, pH inicial e final, solubilidade do cocristal e do fármaco e a vantagem de solubilidade do cocristal em relação ao fármaco SA.

pH Inicial	pH <sub>eq</sub> <sup>a</sup>	[NPX] <sub>T</sub> <sup>b</sup> (mM)	[NIC] <sub>T</sub> <sup>b</sup> (mM)	S <sub>cocristal,T</sub> <sup>c</sup> (mM)	S <sub>fármaco</sub> <sup>d</sup> (mM)	SA <sup>e</sup>
1,6	4,25	0,30 ± 0,01	127,06 ± 3,55	2,84	0,13	21
5,0	4,90	0,81 ± 0,07	125,63 ± 2,88	5,48	0,36	15
6,0	5,01	0,79 ± 0,02	126,26 ± 5,64	5,40	0,44	12
6,8	5,50	2,28 ± 0,1	124,30 ± 2,99	10,89	1,27	9
7,4	5,92	6,40 ± 0,24	121,33 ± 3,77	21,50	3,10	7

<sup>a</sup> pH final (equilíbrio).

<sup>b</sup> Concentrações totais de fármaco e coformador (equilíbrio 48h-72h).

<sup>c</sup> Solubilidade do cocristal 2:1 determinada pela equação 23.

<sup>d</sup> S<sub>fármaco</sub> correspondente ao pH<sub>eq</sub> do experimento de solubilidade no ponto eutético.

<sup>e</sup> (SA = S<sub>cocristal</sub>/S<sub>fármaco</sub>).

### 5.2.3 Dependência da solubilidade do fármaco e dos cocristais no pH

A solubilidade do NPX-NIC em função do pH na Figura 50 foi predita a partir de equações de solubilidade para cocristais formados de fármaco ácido e coformador base, considerando o equilíbrio químico e suas constantes de equilíbrio no Apêndice I (BETHUNE *et al.*, 2009).

A solubilidade total do NPX em função do pH pode ser descrita por:

$$S_{\text{fármaco},T} = S_{\text{fármaco},0} (1 + 10^{(\text{pH} - \text{p}K_{a,\text{fármaco}})}) \quad (26)$$

Onde S<sub>fármaco,0</sub> representa a solubilidade intrínseca do NPX e pK<sub>a</sub> é -log da constante de ionização K<sub>a</sub>. A solubilidade intrínseca do NPX determinada é 0,058 ± 0,003 mM por meio da equação 26.

Enquanto que, a solubilidade total da NIC em função do pH pode ser descrita por:

$$S_{\text{coformador},T} = S_{\text{cf},0} (1 + 10^{(\text{p}K_{a,\text{cf}} - \text{pH})}) \quad (27)$$

Onde S<sub>cf,0</sub> representa a solubilidade intrínseca da NIC (2994,9 ± 8,7 mM) determinada por meio da equação 27.

Para o cocristal 2:1 NPX-NIC, a sua solubilidade pode ser descrita por:

$$S_{cc}^{2:1} = 2 \sqrt[3]{\frac{K_{sp}}{4} (1 + 10^{(pH - pK_{a,f\u00e1rmaco})})^2 (1 + 10^{(pK_{a,cf} - pH)})} \quad (28)$$

Onde  $K_{sp}$  é o produto da solubilidade do cocristal, obtido a partir das concentrações aquosas livres e não-ionizadas de fármaco e coformador para cocristais 2:1 (GOOD; RODRÍGUEZ-HORNEDO, 2009):

$$K_{sp} = [NPX]_0^2 [NIC]_0 \quad (29)$$

Na ausência de outras interações em solução, a solubilidade do cocristal é governada pelo  $K_{sp}$ ,  $pK_a$  dos componentes e o pH da solução (BETHUNE *et al.*, 2009). Os parâmetros,  $S_0$ ,  $K_{sp}$  e  $pK_a$  estão descritos na Tabela 21.

Tabela 21 -  $K_{sp}$ ,  $pK_{sp}$ ,  $pK_a$  e solubilidade intrínseca do cocristal e seus componentes a 25°C.

Componente/Cocristal	$K_{sp}^a$ (M <sup>3</sup> )	$pK_{sp}^b$	$S_0$ (mM) <sup>c</sup>	$pK_a$
NPX	-	-	0,058 (± 0,003)	4,18 <sup>d</sup>
NIC	-	-	2994,9 (± 8,7)	3,30 <sup>e</sup>
NPX-NIC	1,77 (± 0,40) x 10 <sup>-9</sup>	8,75	1,52 (± 0,12)	-

<sup>a</sup> Determinada a partir da média das concentrações eutéticas de fármaco e coformador e a equação 29.

<sup>b</sup>  $pK_{sp} = -\log(K_{sp})$ .

<sup>c</sup> Solubilidade intrínseca do fármaco, do coformador e do cocristal. A solubilidade intrínseca do NPX-NIC foi

calculada a partir da equação:  $S_{cc,0}^{2:1} = 2 \sqrt[3]{\frac{K_{sp}}{4}}$

<sup>d</sup> AVDEEF; BERGER; BROWNELL, 2000.

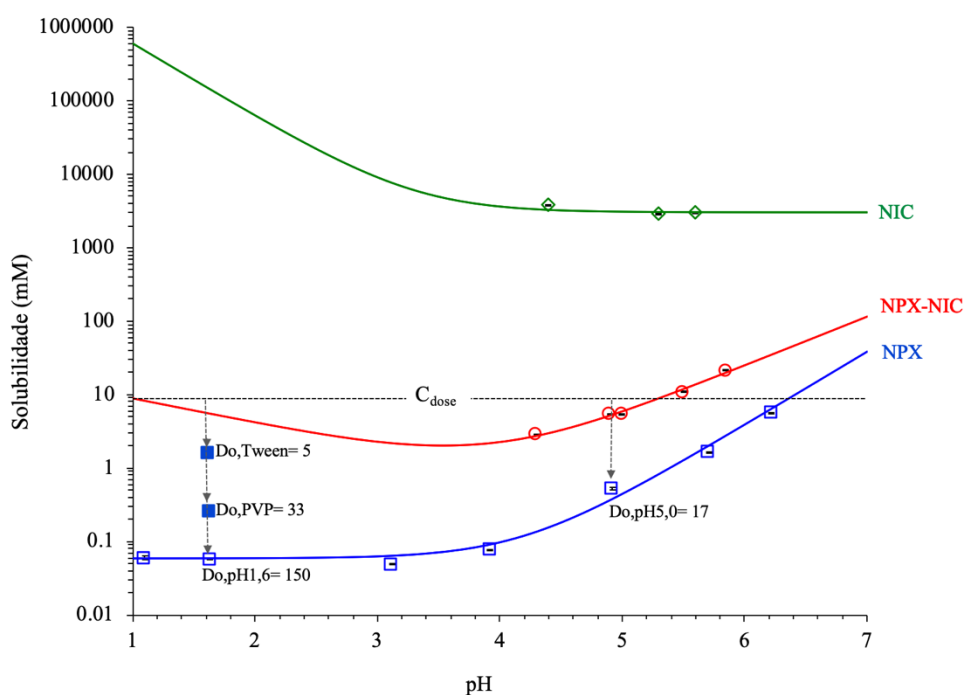
<sup>e</sup> AHMAD; ANSARI; ISMAIL, 2003.

Cavanagh e colaboradores (2018) relataram valores de  $pK_{sp}$  de diversos cocristais de fármacos hidrofóbicos. Para cocristais de estequiometria 2:1 estes valores variaram de 3 a 10. O  $pK_{sp}$  do NPX-NIC está dentro da faixa relatada, apresentando o valor de 8,75 (CAVANAGH; MAHESHWARI; RODRÍGUEZ-HORNEDO, 2018). A partir da obtenção do valor de  $K_{sp}$  do cocristal é possível aplicar modelos matemáticos preditivos a fim de obter as curvas de solubilidade dos cocristais em uma ampla faixa de pH e compará-las com a curva da solubilidade do fármaco e coformador. Desse modo, pode-se antecipar o comportamento de solubilidade do cocristal sem a necessidade de realizar experimentos em diversos valores de pH.

Com a utilização das equações 26, 27 e 28 a solubilidade do cocristal, fármaco e coformador em função do pH pôde ser predita. Figura 50 mostra que além do aumento da solubilidade, NPX-NIC modula a dependência da solubilidade no pH. A curva de solubilidade do NPX é típica de moléculas ácidas. Conforme o pH aumenta, as frações ionizadas de NPX

aumentam, resultando em maior solubilidade, especialmente em valores de pH acima do seu  $pK_a$  (4,18). Em relação ao coformador NIC, não foi possível acessar valores experimentais abaixo do pH 4,2. Por se tratar de uma molécula de caráter básico, a ionização da NIC resulta em aumento do pH da solução, mesmo iniciando o experimento com valores de pH próximos de 1,0. A combinação dos perfis de ionização do fármaco ácido e do coformador básico resultou em um perfil de solubilidade do cocristal 2:1 NPX-NIC em U, diferente dos componentes individuais. Aumento de solubilidade do NPX-NIC é observado em valores de pH abaixo de 3,0 e um aumento mais expressivo ocorre em valores de pH acima de 5,0. O NPX-NIC apresenta-se mais solúvel que o NPX em toda faixa de pH predita.

Figura 50 - Solubilidades do fármaco, coformador e do cocristal em função do pH. Símbolos representam dados experimentais de solubilidade. As curvas foram geradas a partir das equações 26, 27 e 28. Valores de pH correspondem ao pH do equilíbrio. A concentração ( $C_{dose}$ ) correspondente à concentração utilizada nos experimentos de dissolução (8,68 mM) está indicada pela linha tracejada. O dose number ( $Do_{fármaco}$ ) nos tampões de pH 1,6, 5,0, e na presença de Tween 80 e PVPK 30 estão indicados pelas setas e foram calculados pela equação 16.



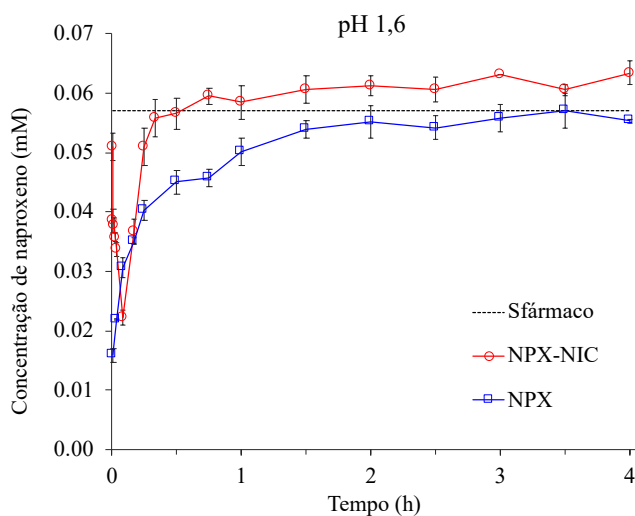
#### 5.2.4 Perfil de concentração de fármaco vs tempo no pH 1,6 e 5,0

As concentrações de fármaco durante a dissolução de NPX-NIC em tampão pH 1,6 foram maiores que aquelas provenientes da dissolução de NPX Figura 51, no entanto, não

foram suficientes para atingir níveis supersaturados. Esse comportamento indica rápida conversão do cocrystal, a qual foi confirmada por meio da quantificação do coformador (Figura 55). Em 5 minutos de dissolução as concentrações de NIC estavam muito próximas do valor total adicionado no início do experimento. A caracterização da fase sólida final por FT-IR demonstrou a presença de apenas NPX. Mesmo com a conversão do cocrystal, a dissolução de NPX-NIC foi superior à do NPX com valores de AUC estatisticamente diferentes ( $p < 0,05$ ).

É comum encontrar na literatura resultados semelhantes ao demonstrado na Figura 51 onde os autores denominam, equivocadamente, o cocrystal como sendo menos solúvel que o fármaco, considerando-os não promissores (BOLLA; NANGIA, 2016). A cocrystalização pode proporcionar grandes melhorias de solubilidade, no entanto, a instabilidade em solução de alguns cocrystalis faz com que a utilização de aditivos como polímeros e surfactantes seja crucial para que níveis supersaturados sejam observados e mantidos.

Figura 51 - Concentração de fármaco vs tempo para as dissoluções do NPX e do cocrystal NPX-NIC no pH 1,6. A linha tracejada representa a solubilidade do fármaco no pH final da dissolução ( $pH_{\text{final}} = 1,80$ ).

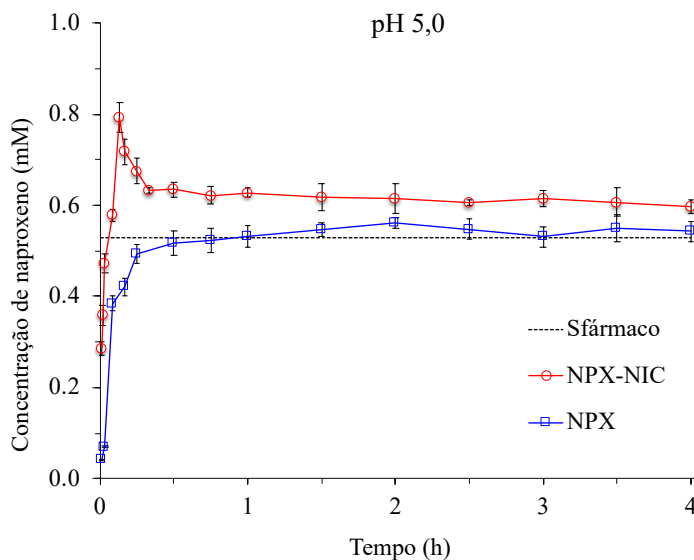


Uma vez que a tendência dos valores de SA para NPX-NIC é diminuir em pHs mais elevados, conforme demonstrado na Figura 49, dissoluções foram conduzidas no pH 5,0 na tentativa de observar níveis de supersaturação deste cocrystal. Concentrações acima da  $S_{\text{NPX}}$  foram observadas durante a dissolução de NPX-NIC no pH 5,0 (Figura 52), mas que rapidamente diminuíram para concentrações próximas da  $S_{\text{NPX}}$ . Em termos de supersaturação máxima ( $\sigma_{\text{max}} = C_{\text{max}}/S_{\text{fármaco}}$ ) o NPX-NIC apresentou  $\sigma_{\text{max}}$  de 1,5 em 8 minutos. Embora o valor de SA deste cocrystal em pH 5,0 seja relativamente baixo ( $SA = 14$ ), a sua cinética de



crystalização ainda é maior que a de dissolução. Similar ao pH 1,6, a caracterização por FT-IR da fase sólida em 4 h indicou a presença de apenas NPX.

Figura 52 - Concentração de fármaco vs tempo para as dissoluções do NPX e do cocristal NPX-NIC no pH 5,0. A linha tracejada representa a solubilidade do fármaco no pH final da dissolução ( $pH_{\text{final}} = 5,00$ ).



### 5.2.5 Solubilização e perfil de concentração de fármaco vs tempo na presença de Tween 80<sup>®</sup> e PVP K30<sup>®</sup>

Um das estratégias para diminuir as taxas de conversão dos cocristais está na utilização de agentes solubilizantes do fármaco e polímeros. Em busca na literatura por aditivos que solubilizam o NPX, o Tween 80 demonstrou ter grande capacidade de solubilização, motivo pelo qual foi selecionado e, dentre os polímeros bastante relatados está o PVP e seus derivados (ALHALAWEH; ALI; VELAGA, 2014; BORBÁS *et al.*, 2016; VANDECRUYS *et al.*, 2007; WARREN *et al.*, 2010). Com o objetivo de avaliar a influência de retardadores poliméricos de precipitação nas dissoluções do NPX-NIC, selecionou-se o PVPK30.

$S_{\text{fármaco}}$  e  $S_{\text{cocristal}}$  na presença dos aditivos Tween 80 e PVP K30 dissolvidos no tampão pH 1,6, estão apresentados na Figura 53. Devido à solubilização preferencial do fármaco hidrofóbico sobre o coformador hidrofílico é esperado que o fármaco seja solubilizado em maior extensão do que o cocristal. Os valores experimentais de SP ( $SP_{\text{experimental}} = S_{\text{aditivo}}/S_{\text{tampão}}$ ) foram maiores para o fármaco do que o cocristal ( $SP_{\text{NPX}} = 27,5$  e  $4,5$  vs  $SP_{\text{NPX-NIX}} = 9,9$  e  $2,9$  em Tween e PVP respectivamente) (Figura 53). Valores de

$SP_{\text{cocristal}}$  calculados utilizando a equação 30 foram 9.0 e 2.7 em Tween e Cremophor respectivamente. Estes resultados estão em concordância como os valores de  $SP_{\text{experimental}}$  para NPX-NIC, demonstrando a utilidade desta equação em prever a solubilização de cocristais a partir da solubilização do fármaco (LIPERT *et al.*, 2015). O coformador nicotinamida não apresentou solubilização pelos aditivos ( $p > 0,05$ ). Os valores de SA descritos na Tabela 22 foram reduzidos de 21 em tampão, para 7 em Tween 80, e para 13 em PVP K30.

$$SP_{\text{cocristal}} = (SP_{\text{fármaco}})^{2/3} \quad (30)$$

Figura 53 – Solubilidade experimental para NPX e NPX-NIC em Tween 80 e PVP K30. Números acima das colunas indicam a  $SP_{\text{experimental}}$  ( $SP = S_{\text{aditivo}}/S_{\text{tampão}}$ ). A relação  $SP_{\text{cocristal}} = (SP_{\text{fármaco}})^{2/3}$  é observada.

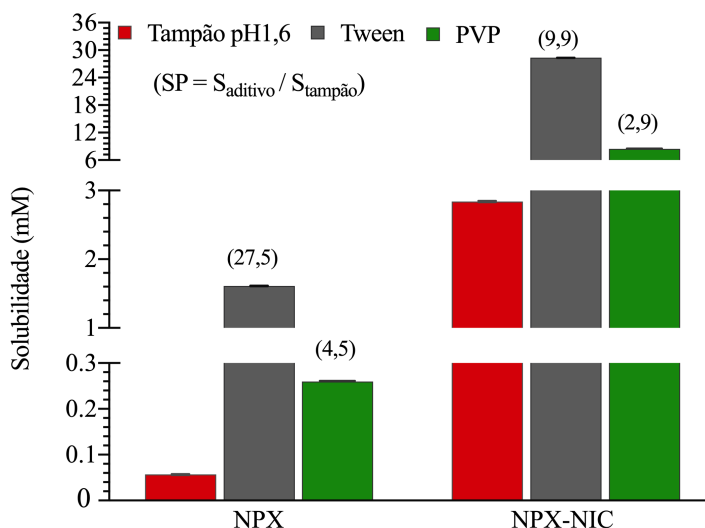


Tabela 22 – Valores de pH inicial e do equilíbrio,  $S_{\text{cocristal}}$  e a SA em tampão pH 1,6, Tween 80 e PVPK 30.

Cocristal	Meio	pH <sub>inicial</sub>	pH <sub>eq</sub> <sup>a</sup>	$S_{\text{cc,T}}$ <sup>b</sup> (mM)	SA=( $S_{\text{cc}}/S_{\text{fármaco}}$ )
NPX-NIC	Tampão	1,60 ± 0,01	4,25 ± 0,01	2,84 ± 0,01	21
	Tween 80 (2% m/v)	1,60 ± 0,01	4,28 ± 0,01	28,35 ± 0,02	7 <sup>c</sup>
	PVP K30 (2% m/v)	1,60 ± 0,01	4,30 ± 0,01	8,49 ± 0,02	13 <sup>c</sup>

<sup>a</sup> pH final da solubilidade no ponto eutético (48-72h).

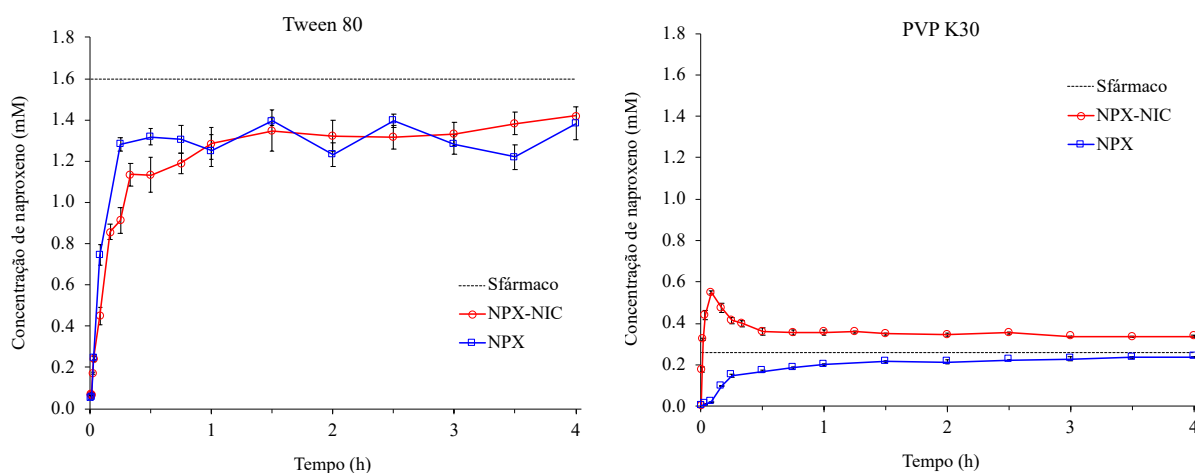
<sup>b</sup> Solubilidade do cocristal calculada pela equação (23).

<sup>c</sup> Valores de SA preditos a partir da equação  $SA = \frac{S_{\text{Aaq}}}{(SR_{\text{fármaco}})^{2/3}}$  com valores de SP descritos na Figura 53.

NPX-NIC não demonstrou vantagem de dissolução em comparação com NPX na presença de Tween 80 (Figura 54). Os valores de AUC do fármaco e do cocristal foram

considerados semelhantes ( $p > 0,05$ ). Apesar do Tween 80 apresentar efeito solubilizante sob o fármaco e o cocrystal, as concentrações de fármaco não atingiram a  $S_{NPX}$  até o final da dissolução (4h), necessitando de mais tempo para atingir o equilíbrio. Na presença do retardador polimérico de precipitação PVP K30, o cocrystal NPX-NIC apresentou dissolução superior à do fármaco e supersaturação (Figura 54). NPX-NIC atingiu concentração máxima de fármaco em 5 min ( $\sigma_{max}$  de 2,2) seguido da diminuição das concentrações, as quais permaneceram um pouco acima da  $S_{NPX}$  até o final do experimento. Concentrações são maiores nas dissoluções em Tween devido ao seu poder de solubilização ( $SP_{Tween} \gg SP_{PVP}$ ). Apenas NPX estava presente na fase sólida ao final das 4h das dissoluções em Tween 80 e PVP K30 (caracterizado por FT-IR).

Figura 54 - Concentração de fármaco vs tempo para as dissoluções do NPX e do cocrystal NPX-NIC na presença de Tween 80 e PVP K30. A linha tracejada representa a  $S_{fármaco}$  no pH final da dissolução na presença do aditivo ( $pH_{final} = 1,77$  em Tween e  $pH_{final} = 1,82$  em PVP).



### 5.2.6 % de cocrystal dissolvido

Os valores de % de cocrystal dissolvido na Tabela 23 foram calculados a partir das concentrações de coformador dissolvidas, tendo em vista que a dose de NIC está abaixo da saturação (Figura 55). Para todas as condições avaliadas, a concentração de coformador dissolvida atingiu a concentração teórica do coformador (4,35 mM) indicada pela linha pontilhada na Figura 55, confirmando a conversão total do cocrystal para fármaco. Visto que NPX-NIC possui estequiometria 2:1, a concentração molar de NPX e NIC não é a mesma.

NPX-NIC apresentou taxa de dissolução rápida em todos os meios, porém na presença de PVP K30 a taxa foi menor. Destaca-se os valores de % de cocristal dissolvido em 1 minuto de dissolução, os quais foram de apenas 7% em PVP K30 e de 46 a 59% nas demais condições. Em 30 minutos mais de 85% do cocristal encontrava-se dissolvido em todos os meios, demonstrando a baixa estabilidade termodinâmica deste cocristal até mesmo na presença de aditivos que reduziram a sua SA.

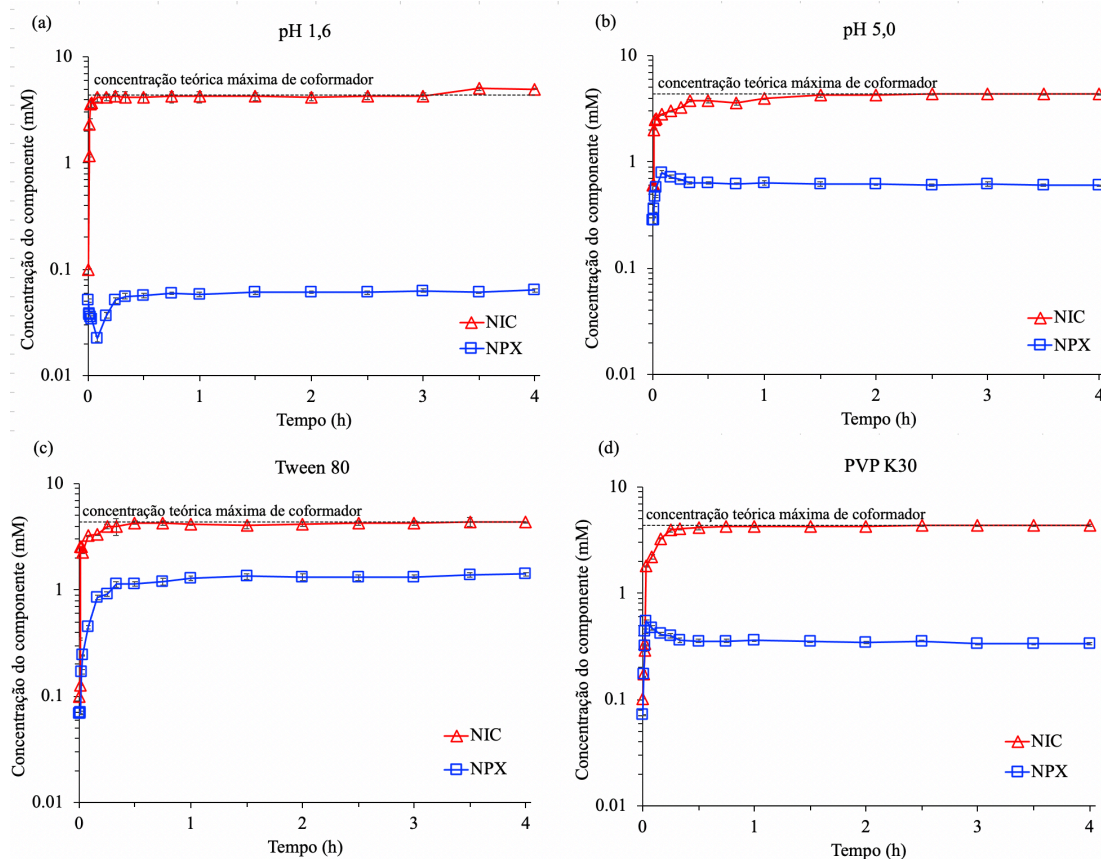
Tabela 23 - Porcentagem do cocristal NPX-NIC dissolvido durante as dissoluções no tampão pH 1,6, pH 5,0 e na presença de Tween 80 e PVP K30.

Meio	% cocristal dissolvido <sup>a</sup>		
	1 min	5 min	30 min
Tampão pH 1,6	54	94	95
Tampão pH 5,0	46	65	87
Tampão pH 5,0 + Tween 80	59	74	99
Tampão pH 5,0 + PVP K30	7	50	95

<sup>a</sup> Porcentagem de cocristal dissolvido foi determinada a partir da massa de coformador dissolvida em relação a massa total inicial (massa de cocristal adicionada) de acordo com:

$$\% \text{ cocristal dissolvido} = \frac{\text{mols de coformador dissolvido}}{\text{mols de cocristal adicionado}} 100.$$

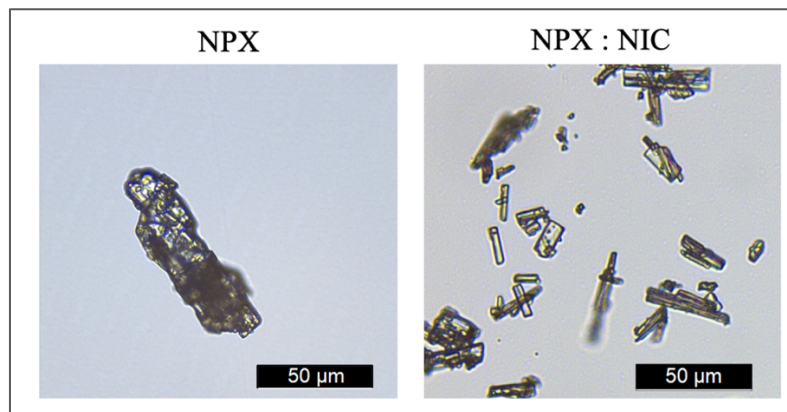
Figura 55 - Concentrações de fármaco e coformador das dissoluções de NPX-NIC nos tampões pH 1,6 (a) e pH 5,0 (b) e no tampão pH 1,6 com adição de Tween 80 (c) e PVP K30 (d). A concentração teórica máxima do coformador corresponde à massa molar inicial adicionada ao meio de dissolução.



### 5.2.7 Avaliação do comportamento de dissolução do cocrystal e precipitação do fármaco por meio de microscopia óptica invertida

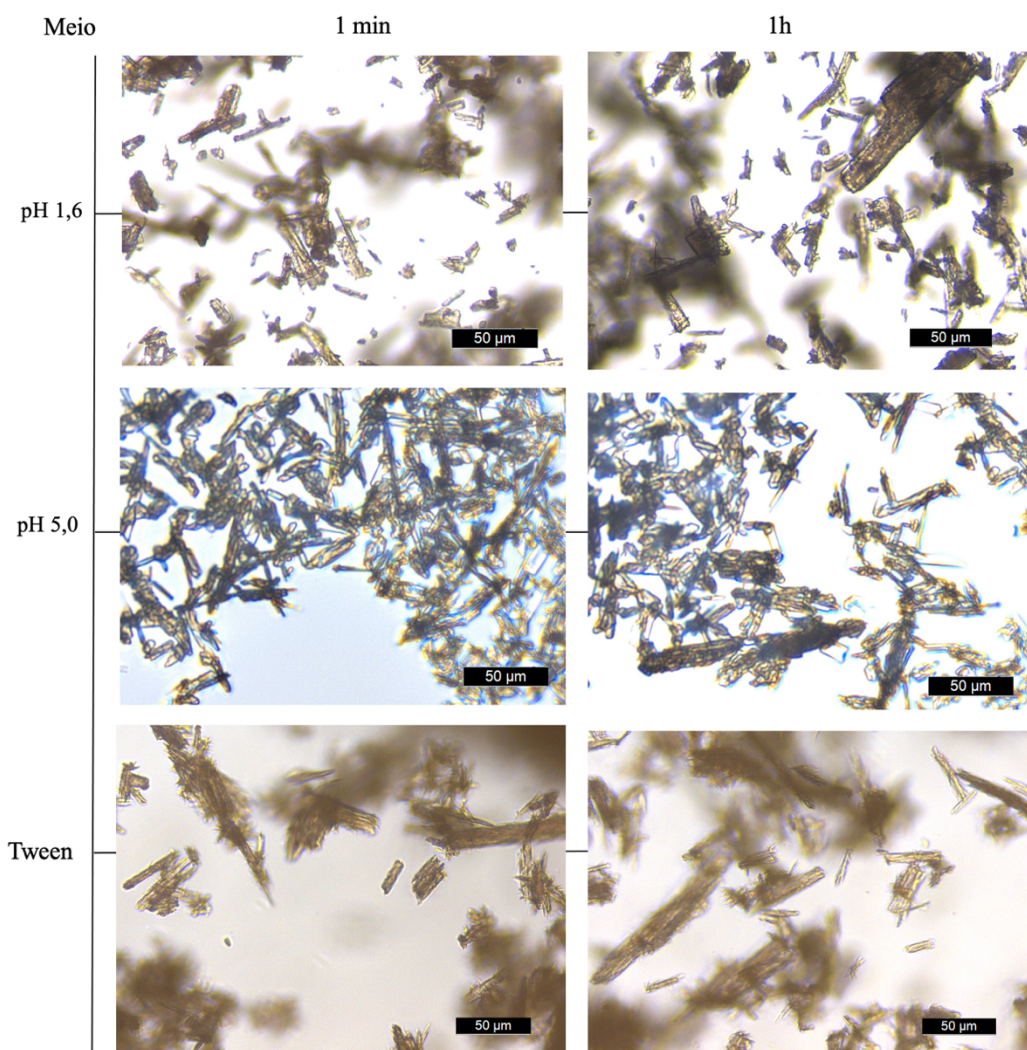
As imagens microscópicas na figura Figura 56 correspondem ao fármaco (matéria prima) e cocrystal, ambos no estado sólido. O NPX apresenta-se com morfologia de blocos ou colunas enquanto o NPX-NIC apresenta-se em formato de agulha ou laminar. O NPX pode cristalizar em diferentes morfologias dependendo da técnica e solvente empregado no processo de cristalização. Neurohr et. al (2012 e 2013) utilizou a técnica de anti-solvente para a obtenção do cocrystal NPX-NIC. Nesse estudo os autores obtiveram cristais em formato de agulha para o NPX e para o cocrystal NPX-NIC foi observado morfologia laminar e de agulha, muito similar ao fármaco (NEUROHR et al., 2013; NEUROHR *et al.*, 2012).

Figura 56 – Imagens microscópicas de NPX e NPX-NIC no estado sólido. Aumento 20x.



Amostras foram coletadas durante as dissoluções do NPX-NIC e transferidas para placas de 96 poços para observação em microscópio invertido. A Figura 57 apresenta imagens microscópicas das amostras em 1 minuto e 1 hora das dissoluções nos meios: tampão pH 1,6, pH 5,0 e Tween 80. Nessas condições, a dissolução do cocrystal e precipitação do fármaco ocorreu de maneira imediata. É possível observar que o mesmo hábito cristalino (colunar ou agulha) está presente nas fotos de 1 minuto e de 1 hora em todos os meios e permaneceu sem alteração até o final do experimento (4h). Destaca-se que em Tween 80, o fármaco precipitado apresentou morfologia similar aos outros meios, porém pequenas agulhas também foram observadas na superfície dos cristais maiores. Para confirmação da conversão do cocrystal para o fármaco, amostras correspondentes a 1 hora da dissolução foram filtradas e caracterizadas por DSC, onde apenas a presença de NPX foi observado.

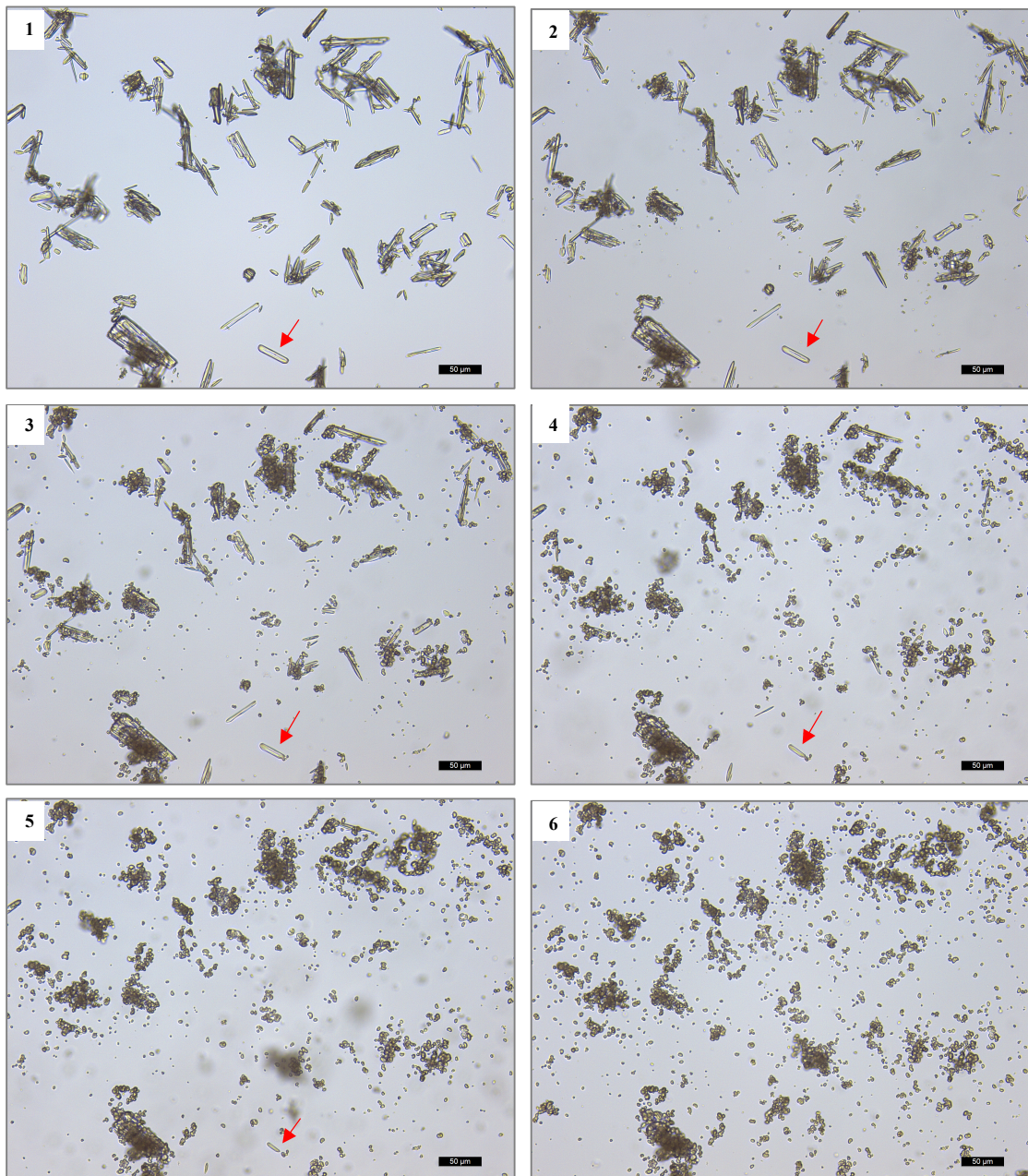
Figura 57 - Imagens obtidas em microscópio invertido durante a dissolução de NPX-NIC no tampão pH 1,6, pH 5,0 e tampão pH 1,6 + Tween 80. Aumento 20x.



A Figura 58 apresenta as imagens microscópicas de amostra coletada em 1 minuto da dissolução no tampão pH 1,6 + PVP K30 seguida da sua observação (sem agitação). A sequência do número em cada foto corresponde ao minuto em que cada foto foi capturada. Na presença de PVP K30 foi possível observar o processo de transição de fase de cocrystal para fármaco. NPX-NIC apresenta-se com morfologia laminar e acicular e está indicado pela seta nas Figura 58. As imagens demonstram dissolução total do cocrystal em até 6 minutos. A partir de 2 minutos foi observado o início da precipitação de pequenas partículas circulares no meio que aumentam à medida que o cocrystal dissolve. Fase sólida final foi caracterizada por DSC confirmado que os cristais em morfologia circular correspondem ao NPX. Essa foi a condição em que NPX-NIC atingiu o maior nível de supersaturação e a única em que a

transição de fase foi passível de observação por meio da microscopia óptica invertida, podendo ser atribuída a diminuição da cinética de precipitação proporcionada pelo PVP K30.

Figura 58 - Imagens obtidas em microscópio invertido durante a dissolução de NPX-NIC no tampão pH 1,6 + PVP K30. Aumento 20x. Os números indicam os minutos. Setas indicam o cocrystal NPX-NIC.





### 5.2.8 Comportamento de DSP do NPX-NIC e correlação com os parâmetros SA e Do

A fim de obter uma correlação apropriada entre a SA e comportamento de dissolução obtido para esse cocristal, a SA foi calculada considerando-se os valores de pH ao final das dissoluções na presença de aditivos a partir da equação 31 ou 32 para cocristais de estequiometria 2:1. Além dos valores de SA, os valores de Do encontram-se descritos na Tabela 24.

$$S_{\text{cocristal,aditivo}} = S_{\text{cocristal,aq}} \left( \frac{S_{\text{aditivo}}}{S_{\text{aq}}}_{\text{fármaco}} \right)^{2/3} \quad (31)$$

$$SA = \frac{SA_{\text{aq}}}{(SP_{\text{fármaco}})^{2/3}} \quad (32)$$

A Figura 59 apresenta os perfis de dissoluções em termos de supersaturação e os valores de SA correspondentes ao pH final de cada dissolução. Comparando os meios sem aditivos (pH 1,6 vs pH 5,0), níveis supersaturados foram observados apenas no pH 5,0. Tanto SA quanto Do são menores no pH 5,0 (SA= 14 e Do=17) vs (SA= 81 e Do=150) no pH 1,6. Valores menores de SA e Do diminuíram a força motriz para cristalização do fármaco e possibilitou que níveis de supersaturação fossem observados no pH 5,0.

Em relação aos meios com aditivos, a SA foi reduzida de 81 em tampão (sem aditivo) para 9 em Tween 80, e para 28 em PVP K30. O NPX é solubilizado em maior extensão pelo Tween 80, conseqüentemente a redução da SA torna-se maior na presença deste aditivo em comparação com PVP K30. Mesmo com maior SA em PVP K30, esta foi a condição que possibilitou o melhor desempenho deste cocristal, proporcionando incremento de 2 vezes na AUC em relação ao fármaco. A redução da SA exercida pelo Tween 80 não foi suficiente para que a cinética de precipitação do fármaco fosse reduzida. Destaca-se que em Tween 80 é a condição com menor valor de Do ( $Do_{\text{Tween}} = 5$ ). Dentre os mecanismos propostos para o efeito do PVP em inibir a cristalização, sugerem o poder de adsorção do polímero ao cristal resultando na resistência à difusão no meio e diminuição da cinética de cristalização (VANDECRUYS *et al.*, 2007).

Com exceção das dissoluções em Tween 80, níveis supersaturados estavam presentes ao final da dissolução, mesmo com a conversão total do cocristal. Esse resultado pode ser

atribuído à presença da nicotinamida e sua capacidade de solubilização hidrotrópica ou complexação. Um estudo avaliou a dissolução intrínseca da mistura física de NPX-NIC na proporção 2:1 no tampão de pH 1,2, a qual apresentou concentrações 2x maiores que as concentrações da dissolução do fármaco puro. Nesse mesmo estudo, o cocrystal NPX-NIC apresentou dissolução intrínseca até 2,8x maior que a do fármaco. A  $C_{dose}$  utilizada pelos autores nesse estudo (50 mg de cocrystal em 10 mL) está muito acima da  $S_{cocrystal}$  ( $D_{o(fármaco)}=290$ ). A vantagem de dissolução do NPX-NIC nessa condição, pode ter sido influenciada pela dose. Outro aspecto não abordado pelos autores é a mudança de pH durante o experimento além da pureza do cocrystal. É demonstrado que o excesso de coformador pode sustentar os níveis supersaturados de fármaco pela diminuição da solubilidade do cocrystal e força motriz para precipitação (YAMASHITA; SUN, 2016).

Figura 59 – Supersaturação ( $[NPX]_T/S_{fármaco}$ ) durante a dissolução do cocrystal NPX-NIC no pH 1,6 e 5,0 e sob a influência dos aditivos Tween 80 e PVP K30. Números próximos das curvas correspondem ao  $SA_{bulk}$  nos valores de pH final das dissoluções.

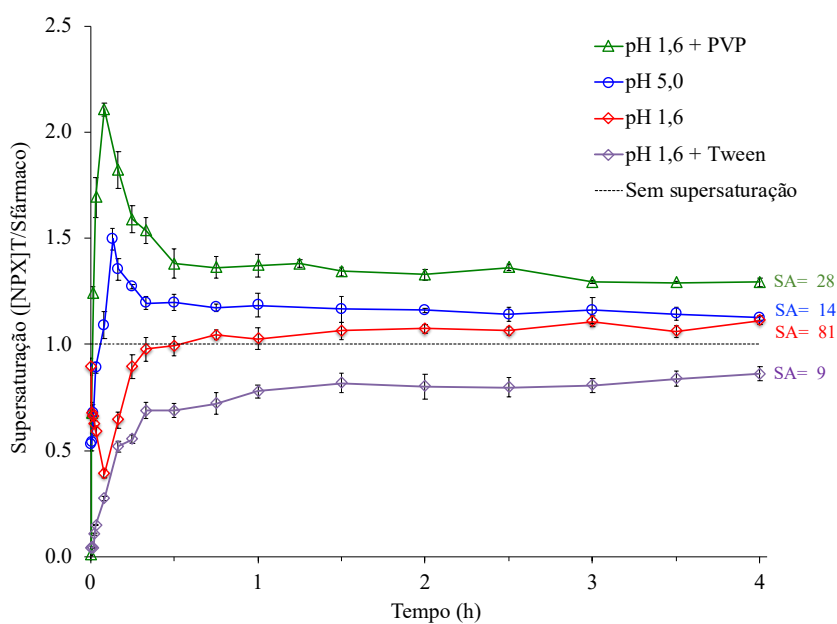


Tabela 24 - Resumo dos parâmetros obtidos nas dissoluções do NPX-NIC nos tampões pH 1,6, 5,0 e na presença de Tween 80 e PVP K30.

Cocristal	Meio	pH <sub>inicial</sub>	pH <sub>final</sub> <sup>a</sup>	$\sigma_{\max}$ <sup>b</sup>	RAUC <sub>(0-4h)</sub> <sup>c</sup>	Do <sub>(fármaco)</sub> <sup>d</sup>	SA <sup>e</sup>
NPX-NIC	Tampão	1,60 ± 0,01	1,80 ± 0,01	-	1,13 ± 0,02	150	81
	Tampão	5,01 ± 0,01	5,00 ± 0,01	1,50 ± 0,05	1,21 ± 0,01	17	14
	Tween 80	1,60 ± 0,01	1,77 ± 0,01	-	1,00 ± 0,02	5	9
	PVP K 30	1,60 ± 0,01	1,82 ± 0,01	2,18 ± 0,03	2,01 ± 0,02	33	27

<sup>a</sup> pH final da dissolução (4h).

<sup>b</sup> Supersaturação máxima atingida na dissolução ( $C_{\max}/S_{\text{fármaco}}$ ).

<sup>c</sup>  $AUC_{\text{cocristal}}/AUC_{\text{fármaco}}$ .

<sup>e</sup> SA referente ao pH final da dissolução estimado pela equação 32.

Estes resultados demonstraram a vulnerabilidade deste cocristal em solução e facilidade do fármaco em precipitar mesmo sob valores consideravelmente baixos de SA e de Do, como observado em Tween 80 onde a SA = 9 e Do = 5. Estudos descritos a seguir revelam a tendência do NPX em precipitar sob baixos valores de supersaturação.

Um dos estudos é o desenvolvido por Sun e Lee (2013), o qual avaliou a precipitação do NPX a partir de uma dose fixa do fármaco solubilizada em etanol e adicionada em 250 mL de água a 37°C, 150 rpm utilizando diferentes taxas de infusão. O NPX apresentou precipitação nos primeiros minutos do experimento sob valores de  $\sigma_{\max}$  de 2,1 e 2,7, e quanto maior a taxa de infusão utilizada, mais rápido o  $C_{\max}$  foi atingido e maior foi a taxa de dessupersaturação observada (SUN; LEE, 2013). No estudo posterior de Han e Lee (2017), a supersaturação-cristalização do NPX foi avaliada pelo método de *solvent shift* a partir de diferentes doses do fármaco solubilizadas em etanol. Alíquotas da solução estoque foram adicionadas em 250 mL de tampão pH 4,2 a 37°C, 150 rpm em diferentes tempos. Os valores de Do para este estudo foram calculados e ficaram na faixa de 1,4 a 3,5 e o  $\sigma_{\max}$  observado ficou na faixa de 1,4 a 2,8, consistente com o Do que limitou a supersaturação. Nesse estudo, valores maiores de Do resultaram em valores maiores de  $\sigma_{\max}$  e rápido declínio das concentrações. Em todas as situações ocorreu a precipitação do fármaco, no entanto, à medida que a dose diminuiu a velocidade de precipitação foi mais lenta. Os autores justificam esse comportamento à uma tendência/característica inerente da molécula em precipitar (HAN; LEE, 2017). Alguns compostos são conhecidos por manter a supersaturação enquanto outros precipitam rapidamente (MURDANDE *et al.*, 2011).

De acordo com o modelo de energia de superfície proposto por Sangwal (2007) a taxa de nucleação depende diretamente da tensão interfacial do cristal com o fluido. Um

aumento na tensão interfacial resulta na diminuição da taxa de nucleação, enquanto a diminuição da tensão interfacial resulta no aumento da taxa de nucleação e formação de núcleos estáveis (SANGWAL, 2007). Han e Lee (2017) propõem tal hipótese para explicar porque o NPX apresentou taxa de nucleação rápida em baixos valores de supersaturação. Nesse mesmo estudo a tensão interfacial para NPX foi indiretamente medida utilizando o método de ângulo de contato descrito por Tam e Zografí (1976) e também a partir de dados experimentais de solubilidade utilizando o método proposto por Mersmann (1990) onde valores considerados baixos de tensão interfacial foram obtidos para NPX (MERSMANN, 1990; ZOGRAFI; TAM, 1976).

Outro trabalho demonstra a baixa estabilidade termodinâmica de sais de naproxeno-arginina em estudos de dissolução *in vitro* e biodisponibilidade *in vivo*. O sal apresentou aumento de apenas 1,5 x na AUC em relação ao fármaco puro durante estudo farmacocinético. Já no experimento de dissolução *in vitro* o sal não apresentou vantagem (KASTEN *et al.*, 2018).

Por fim, o estudo de Blaabjerg *et al.* (2018) avaliou a capacidade de supersaturação inerente do NPX em FaSSIF e na presença de polímero por meio do método de solvente-*shift*. NPX não atingiu supersaturação no meio FaSSIF e na presença de 0,05% de HPMCAS. Já com 0,5% de HPMCAS, supersaturação de 3 foi observada *fPVP*

Considerando todas as tentativas para gerar níveis supersaturados do NPX apresentadas na literatura e nesta tese é possível observar que baixos valores de supersaturação crítica caracterizam este fármaco. Dentre todas as condições avaliadas, o valor máximo de supersaturação atingida pelo NPX situou-se próximo de 3 seguido da sua precipitação. O coformador NIC é altamente hidrofílico e, portanto, o cocrystal NPX-NIC tende a apresentar uma alta energia de solvatação e possivelmente baixa tensão interfacial. Esta última que pode diminuir à medida que a SA aumenta e também pode ser alterada pela presença de aditivos solubilizantes e polímeros utilizados nestes estudos. Casos como o cocrystal NPX-NIC, onde a conversão rápida para o fármaco está presente em diversas condições faz com que as tentativas para melhorar o desempenho de dissolução do cocrystal seja ainda mais desafiadoras (BAVISHI; BORKAHTARIA, 2016; BROUWERS; BREWSTER; AUGUSTIJNS, 2009).

### 5.3 CONCLUSÕES

O método utilizado para obtenção do cocrystal de NPX-NIC foi considerado simples, passível de reprodutibilidade, apresentou bom rendimento e resultou em material puro e cristalino. As amostras cocrystalizadas foram caracterizadas por DSC, FT-IR e DRXP apresentando resultados em concordância com o relatado para esse cocrystal. NPX-NIC apresentou-se mais solúvel que o fármaco em toda faixa de pH estudado com valores de SA que aumentaram à medida que valores de pH diminuíram. No entanto, a habilidade do NPX-NIC em gerar supersaturação foi limitada, apresentando cinética de cristalização mais rápida que de dissolução em todos meios estudados, mesmo em valores baixos de SA e Do. Níveis de supersaturação do fármaco alcançados com a redução da SA de 81 para 14 (meios sem aditivos) e na presença do retardador de precipitação PVP K30, o qual resultou em um aumento de 2 x na AUC em relação ao fármaco. Estudos de microscopia revelaram a rápida dissolução do cocrystal e precipitação do fármaco no meio, a qual foi possível de ser observada apenas na presença de PVP K30. Estudos da literatura avaliando a capacidade de supersaturação do NPX corroboram com os resultados obtidos neste capítulo, onde valores de supersaturação atingidos são bastante similares, caracterizando a supersaturação crítica do NX. Por fim, sugere-se que tendência do NPX em precipitar mesmo em valores baixos de supersaturação seja uma característica intrínseca da molécula.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Cocristais mais que são mais solúveis que o fármaco são caracterizadas pela sua tendência em converter para a forma menos solúvel do mesmo quando em solução. O risco do cocrystal converter à fármaco pode ser avaliado a partir de dois parâmetros apresentados nesta tese, que são: a vantagem de solubilidade do cocrystal ( $SA = S_{\text{cocrystal}}/S_{\text{fármaco}}$ ) e o *dose number* ( $Do = C_{\text{dose}}/S_{\text{drug}}$ ).

Ambos são obtidos a partir de dados de solubilidade e podem ser também utilizados para prever o comportamento cinético de dissolução dos cocristais. Juntos, SA e Do também representam a supersaturação teórica máxima que o cocrystal pode gerar.

Ainda, a partir de um único experimento de solubilidade no ponto eutético na presença de aditivos solubilizantes é possível obter a razão de solubilização (SP) que pode auxiliar no delineamento de formulações a partir da seleção de aditivos que atuem na sustentação de níveis supersaturados do fármaco e modulem a SA.

Os estudos com os cocristais de meloxicam demonstraram que o comportamento de dissolução de cocristais não pode limitar-se apenas ao nível de supersaturação alcançado pelo fármaco. Mudanças de pH (bulk e interfacial), a presença de aditivos solubilizantes e meio biorrelevante podem ter impacto significativo no comportamento de DSP e devem ser considerados. O fármaco diante dessas alterações pode apresentar diferentes comportamentos de precipitação. Nestes estudos foi demonstrado que o meloxicam apresentou precipitação do polimorfo metaestável IV na superfície do cocrystal na ausência de aditivos (FeSSIF, PVP e Cremophor) enquanto na presença de aditivos apenas a precipitação da forma I estável de MLX foi observada. O tipo de precipitação impactou diretamente os níveis supersaturados do fármaco e uma menor taxa de conversão do cocrystal para fármaco foi observada quando ocorria a precipitação na superfície. A modulação dos parâmetros Do e SA também influenciou a DSP dos cocristais de MLX. Maior velocidade de dissolução foi observada para o cocrystal mais solúvel (MLX-MLE) com os maiores valores de SA.

Ainda foi demonstrado que os cocristais de meloxicam podem modular o pH microambiente devido à ionização dos coformadores ácidos, de modo que MLX-SLC apresentou dissolução dependente do pH enquanto MLX-MLE não. Por fim a utilização do retardador polimérico de precipitação PVP K30 nas dissoluções dos cocristais de meloxicam resgatou níveis supersaturados e aumentou AUC em comparação com o meio contendo

apenas o aditivo solubilizante Cremophor RH40. O aditivo Cremophor apesar de diminuir a SA, apresenta grande poder de solubilização, o que resultou em uma cinética de precipitação maior que a de dissolução.

Os estudos aqui propostos envolvendo o cocrystal NPX-NIC demonstraram que apesar desse cocrystal apresentar vantagem de solubilidade ( $SA > 7$ ), a mesma vantagem não foi observada durante estudos de dissolução. A alta propensão do NPX-NIC em converter à fármaco mesmo sob valores baixos de SA e Do parece estar relacionada à uma característica intrínseca da molécula. O que foi constatado em diversos estudos da literatura.

Os parâmetros termodinâmicos apresentados nessa tese representam uma peça chave no entendimento do comportamento cinético de dissolução de cocrystal. Com bases sólidas o risco de conversão de cocrystal para fármaco pode ser controlado a partir de estratégias, como adição de aditivos solubilizantes ou polímeros, e modificação do pH microambiente, buscando um balanço entre a supersaturação promovida e precipitação do fármaco estável. Tais estratégias são passíveis de serem implementadas em formulações farmacêuticas inovadoras contendo cocrystal.

## APÊNDICE

Figura A1 – Capa do artigo publicado referente aos resultados apresentados no capítulo II desta tese.



### The role of pH and dose/solubility ratio on cocrystal dissolution, drug supersaturation and precipitation

Tatiane Cogo Machado<sup>a</sup>, Gislaïne Kuminek<sup>b</sup>, Simone Gonçalves Cardoso<sup>a</sup>,  
Naír Rodríguez-Hornedo<sup>b,\*</sup>

<sup>a</sup> Programa de Pós-Graduação em Farmácia, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Santa Catarina 88040-900, Brazil

<sup>b</sup> Department of Pharmaceutical Sciences, College of Pharmacy, University of Michigan, Ann Arbor, Michigan 48109-1065, United States

#### ARTICLE INFO

##### Keywords:

Cocrystal  
Dose number  
Disproportionation  
Precipitation  
Supersaturation  
Interfacial pH

#### ABSTRACT

Cocrystals that are more soluble than the constituent drug, generate supersaturation levels during dissolution and are predisposed to conversion to the less soluble drug. Drug release studies during cocrystal dissolution generally compare several cocrystals and their crystal structures. However, the influence of drug dose and solubility in different dissolution media has been scarcely reported. The present study aims to investigate how drug dose/solubility ratio ( $Do = C_{dose}/S_{drug}$ ), cocrystal solubility advantage over drug ( $SA = S_{cocrystal}/S_{drug}$ ), and dissolution media affect cocrystal dissolution-drug supersaturation and precipitation (DSP) behavior. SA and  $K_{sp}$  values of 1:1 cocrystals of meloxicam-salicylic acid (MLX-SLC) and meloxicam-maleic acid (MLX-MLE) were determined at cocrystal/drug eutectic points. Results demonstrate that both cocrystals enhance SA by orders of magnitude (20 to 100 times for the SLC and over 300 times for the MLE cocrystal) in the pH range of 1.6 to 6.5. It is shown that during dissolution, cocrystals regulate the interfacial pH ( $pH_{int}$ ) to 1.6 for MLX-MLE and 4.5 for MLX-SLC, therefore diminishing the cocrystal dissolution rate dependence on bulk pH. Do values ranged from 2 (pH 6.5) to 410 (pH 1.6) and were mostly determined by the drug solubility dependence on pH. Drug release profiles show that maximum supersaturation ( $\sigma_{max} = C_{max}/S_{drug}$ ) and AUC increased with increasing Do as pH decreased. When  $Do > SA$ , the cocrystal solubility is not sufficient to dissolve the dose so that a dissolution-precipitation quasi-equilibrium state is able to sustain supersaturation for the extent of the experiment (24 h). When  $Do < SA$ , cocrystal solubility is more than adequate to dissolve the dose. Low  $\sigma_{max}$  values (1.7 and 1.5) near the value of Do (2.3 and 2.4) were observed, where a large fraction of the cocrystal added is dissolved to reach  $\sigma_{max}$ . Two different cocrystal to drug conversion pathways were observed: (1) surface nucleation of the metastable MLX polymorph IV on the dissolving cocrystal preceded formation of the stable MLX polymorph I in bulk solution (in all conditions without FeSSIF), and (2) bulk nucleation of the stable MLX polymorph (in FeSSIF). The interplay between cocrystal SA, Do, and drug precipitation pathways provide a framework to interpret and understand the DSP behavior of cocrystals.

#### 1. Introduction

Drug solid-state forms such as salts, cocrystals and amorphous solids have been shown to increase drug exposure by enhancing solubility and generating supersaturated drug solutions, especially for Biopharmaceutics Classification System (BCS) class II drugs, which have high permeability and low solubility (Amidon et al., 1995; Berry and Steed, 2017; Bevernage et al., 2013; Lakshman et al., 2020; Sun and Lee, 2015; Tanaka et al., 2017; Taylor and Zhang, 2016). The bioavailability advantage of these solid-state forms is dependent on

sustaining supersaturation levels during dissolution, achieved by different approaches depending on the chemistry and structure of the solid-state and their associated solution chemistry (Alhalaweh et al., 2014; Bevernage et al., 2013; Greco and Bogner, 2011; Leyssens and Horst, 2018; Sun and Lee, 2015). Pharmaceutical cocrystals that solve bioavailability problems due to the drug insufficient solubility to dissolve the dose are supersaturating systems. These cocrystals are also referred to as incongruent systems and they are the subject of this manuscript.

Cocrystals are a single phase with well-defined stoichiometry,

\* Corresponding author. College of Pharmacy, 428 Church Street, University of Michigan, Ann Arbor, MI 48109-1065. Telephone: +1-7347630101; Fax: +1-7346156162.

E-mail address: nrh@umich.edu (N. Rodríguez-Hornedo).

<https://doi.org/10.1016/j.ejps.2020.105422>

Received 31 March 2020; Received in revised form 28 May 2020; Accepted 7 June 2020

Available online 10 June 2020

0928-0987/© 2020 Elsevier B.V. All rights reserved.



Figura A2 - Resultado das análises por DSC do fármaco MLX (A), do coformador SLC (B) e do co cristal MLX-SLC (C).

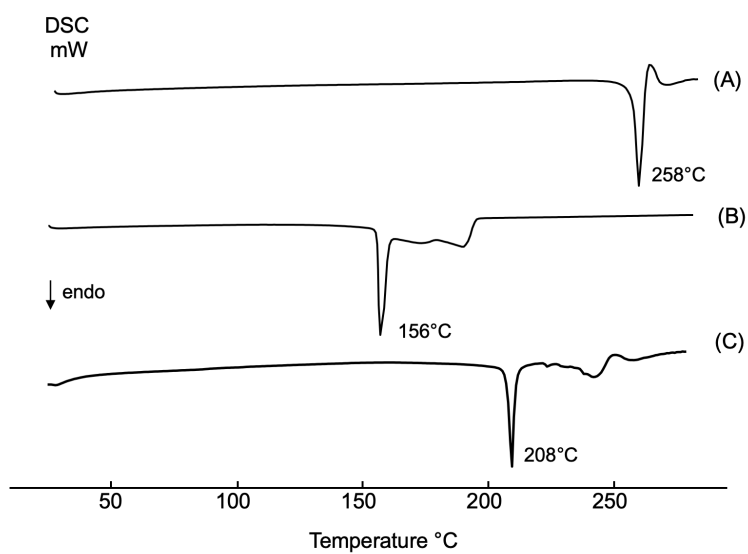


Figura A3 - Resultado das análises por DSC do fármaco MLX (A), do coformador MLE (B) e do co cristal MLX-MLE (C).

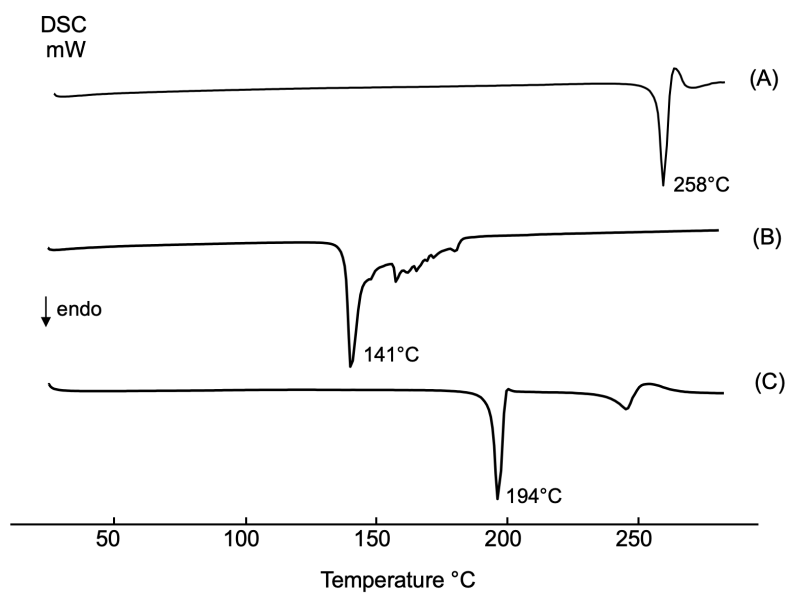


Figura A4 - Difratoograma experimental de (A) MLX forma I, (B) SLC, (C) MLX-SLC e (D) o padrão de difração calculado para NPX-NI do *Cambridge Structural Database*.

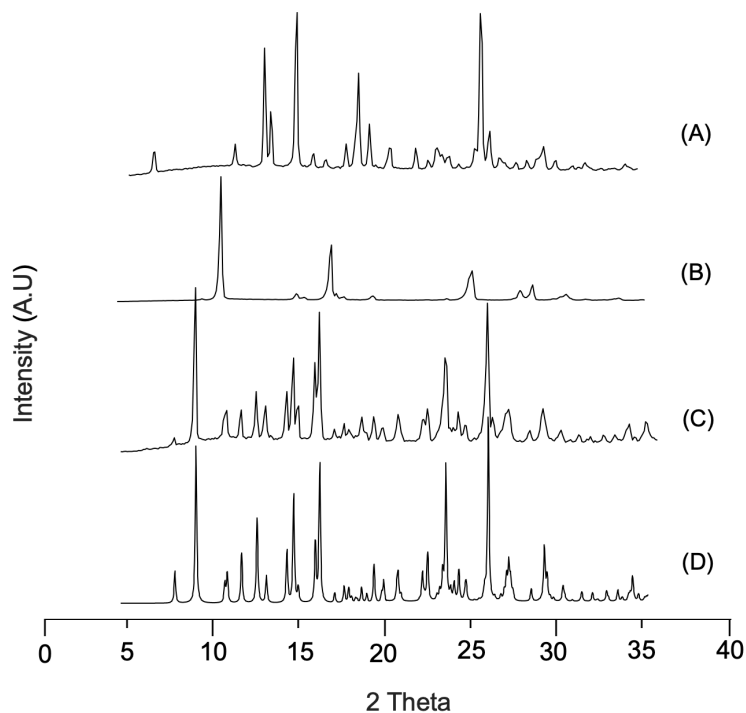
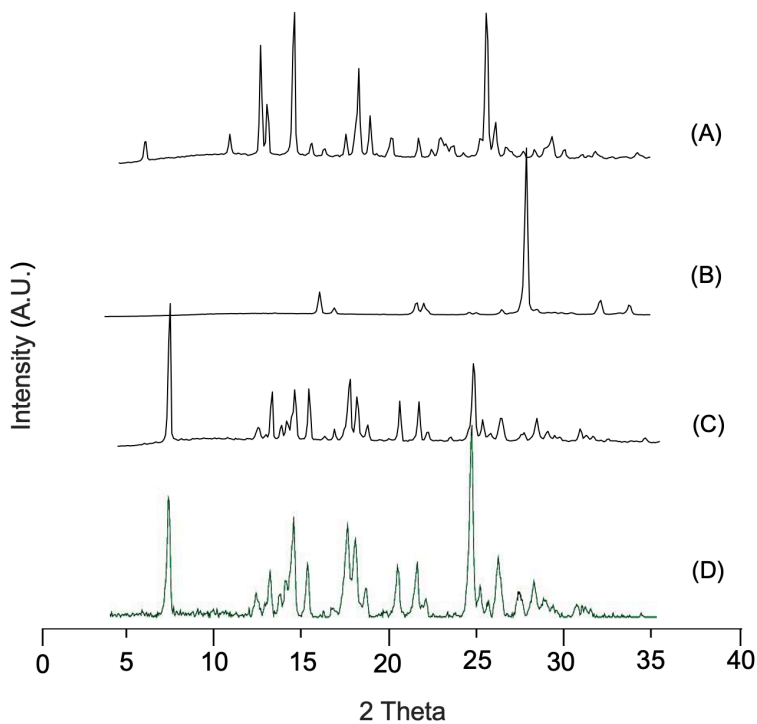


Figura A5 - Difratoograma experimental de (A) MLX forma I, (B) MLE, (C) MLX-MLE e (D) o padrão de XRPD para MLX-MLE relatado por Cheney et al., 2010.



### Reações de equilíbrio e ionização

Os modelos matemáticos de predição da solubilidade dos cocrystal são bem descritos na literatura e estão fundamentados nas constantes associadas à dissociação do cocrystal ( $K_{sp}$ ), ionização do fármaco e coformador ( $K_a$ ) além das reações de equilíbrio químico em solução descritas por Henderson-Hasselback (BUTLER, 1964; REDDY et al., 2009). Um resumo contendo as reações de equilíbrio e ionização para os componentes dos cocrystal estudados encontra-se nas tabelas A1 e A2. A derivação completa das equações utilizadas nesta tese está descrita na literatura (MACHADO, 2016; BETHUNE et al., 2009).

Tabela A1 - Reações de equilíbrio correspondentes às ionizações dos componentes do cocrystal.

<b>Ionização dos componentes do cocrystal</b>	<b>Reações de equilíbrio</b>	<b>Constante de equilíbrio</b>
Ácido monoprotico (HA): Naproxeno Ácido salicílico	$HA_{aq} \rightleftharpoons H^+_{aq} + A^-_{aq}$	$K_{a,HA}$
Ácido diprotico ( $H_2A$ ): Ácido maleico	$H_2A_{aq} \rightleftharpoons H^+_{aq} + HA^-_{aq}$ $HA^-_{aq} \rightleftharpoons H^+_{aq} + A^{2-}_{aq}$	$K_{a,H_2A}$ $K_{a,HA2^-}$
Base monoprotica ( $BH^+$ ): Nicotinamida	$BH^+_{aq} \rightleftharpoons H^+_{aq} + B_{aq}$	$K_{a,BH^+}$
Zwiteriônico ( $ABH^+$ ): Meloxicam	$-ABH^+_{aq} \rightleftharpoons H^+_{aq} + AB^-_{aq}$ $HABH^+_{aq} \rightleftharpoons -ABH^+_{aq} + H^+_{aq}$	$K_{a,-ABH^+}$ $K_{a,HABH^+}$

Tabela A2- Componentes dos cocristais estudados e suas ionizações de acordo com as equações de Henderson-Hasselbalch.

<b>Componente do cocristal</b>	<b>Ionização</b>
Ácido monoprotóico (HA) - Naproxeno - Ácido salicílico	$1 + \frac{K_a^{HA}}{[H^+]}$
Ácido diprotóico (H <sub>2</sub> A) - Ácido maleico	$1 + \frac{K_a^{H_2A}}{[H^+]} + \frac{K_a^{H_2A} K_a^{HA^-}}{[H^+]^2}$
Base monoprotóica (BH <sup>+</sup> ) - Nicotinamida	$1 + \frac{[H^+]}{K_a^{BH^+}}$
Zwitteriônico (ABH <sup>+</sup> ) - Meloxicam	$1 + \frac{K_a^{-ABH^+}}{[H^+]} + \frac{[H^+]}{K_a^{HABH^+}}$

## REFERÊNCIAS

- AHMAD, I.; ANSARI, I. A.; ISMAIL, T. Effect of nicotinamide on the photolysis of cyanocobalamin in aqueous solution. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, 2003.
- AITIPAMULA, S. *et al.* Polymorphs, salts, and cocrystals: What's in a name? **Crystal Growth and Design**, v. 12, p. 2147–2152, 2012.
- ALHALAWEH, A.; ALI, H. R. H.; VELAGA, S. P. Effects of polymer and surfactant on the dissolution and transformation profiles of cocrystals in aqueous media. **Crystal Growth and Design**, v. 14, p. 643–648, 2014.
- ALMEIDA E SOUSA, L.; REUTZEL-EDENS, S. M.; STEPHENSON, G. A.; TAYLOR, L. S. Supersaturation Potential of Salt, Co-Crystal, and Amorphous Forms of a Model Weak Base. **Crystal Growth and Design**, v. 16, p. 737–748, 2016.
- AMIDON, G. L.; LENNERNAS, H.; SHAH, V. P.; CRISON, J. R. A Theoretical Basis for a Biopharmaceutical Drug Classification: The Correlation of in Vitro Drug Product Dissolution and in Vivo Bioavailability. **Pharmaceutical research**, v. 12, p. 413–419, 1995.
- ANDO, S.; KIKUCHI, J.; FUJIMURA, Y.; IDA, Y.; HIGASHI, K.; MORIBE, K.; YAMAMOTO, K. Physicochemical characterization and structural evaluation of a specific 2:1 cocrystal of naproxen-nicotinamide. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 101, p. 3214–3221, 2012.
- AVDEEF, A.; VOLOBOY, D.; FOREMAN, A. Dissolution and Solubility. *In: Comprehensive Medicinal Chemistry II. [S. l.]*: Elsevier Ltd. All Rights Reserved., 2007. p. 399–423. *E-book*.
- BABU, N. J.; NANGIA, A. Solubility advantage of amorphous drugs and pharmaceutical cocrystals. **Crystal Growth and Design**, v. 11, p. 2662–2679, 2011.
- BADRAN, M. M.; TAHA, E. I.; TAYEL, M. M.; AL-SUWAYEH, S. A. Ultra-fine self nanoemulsifying drug delivery system for transdermal delivery of meloxicam: Dependency on the type of surfactants. **Journal of Molecular Liquids**, v. 190, p. 16–22, 2014.
- BERMEJO, M.; KUMINEK, G.; AL-GOUSOUS, J.; RUIZ-PICAZO, A. Exploring Bioequivalence of Dexketoprofen Trometamol Drug Products with the Gastrointestinal Simulator (GIS) and Precipitation Pathways Analyses. p. 1–18, 2019.
- BETHUNE, S. **Thermodynamic and kinetic parameters that explain crystallization and solubility of pharmaceutical cocrystals**. 2009. - University of Michigan, *[s. l.]*, 2009.
- BETHUNE, S. J.; HUANG, N.; JAYASANKAR, A.; RODRÍGUEZ-HORNEDO, N. Understanding and predicting the effect of cocrystal components and pH on cocrystal

solubility. **Crystal Growth and Design**, v. 9, p. 3976–3988, 2009.

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

BEYER, A.; GROHGANZ, H.; LÖBMANN, K.; RADES, T.; LEOPOLD, C. S. Improvement of the physicochemical properties of Co-amorphous naproxen-indomethacin by naproxen-sodium. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 526, p. 88–94, 2017.

BHARDWAJ, S.; LIPERT, M.; BAK, A. Mitigating Cocrystal Physical Stability Liabilities in Preclinical Formulations. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 106, n. 1, p. 31–38, 2017.

BOLLA, G.; NANGIA, A. Pharmaceutical cocrystals: Walking the talk. **Chemical Communications**, v. 52, p. 8323–8480, 2016.

BORBÁS, E. *et al.* Investigation and mathematical description of the real driving force of passive transport of drug molecules from supersaturated solutions. **Molecular Pharmaceutics**, v. 13, n. 11, p. 3816–3826, 2016.

BOX, K. J.; COMER, J.; TAYLOR, R.; KARKI, S.; RUIZ, R.; PRICE, R.; FOTAKI, N. Small-Scale Assays for Studying Dissolution of Pharmaceutical Cocrystals for Oral Administration. **AAPS PharmSciTech**, v. 17, n. 2, p. 245–251, 2016.

BREWSTER, M. E.; LOFTSSON, T. Pharmaceutical Applications of Cyclodextrins . 1 . Drug Solubilization and Stabilization. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 85, n. 10, p. 1017–1025, 1996.

BRITTAIN, H. G. Pharmaceutical cocrystals: The coming wave of new drug substances. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 102, p. 311–317, 2013.

CAO, F.; AMIDON, G. L. .; RODRIGUEZ-HORNEDO, N.; AMIDON, G. E. Mechanistic Analysis of Cocrystal Dissolution as a Function of pH and Micellar Solubilization. **Mol. Pharmaceutics**, v. 13, p. 1030–1046, 2016.

CAO, F.; RODRIGUEZ-HORNEDO, N.; AMIDON, G. E. Mechanistic Analysis of Cocrystal Dissolution, Surface pH, and Dissolution Advantage as a Guide for Rational Selection. **J. Pharm. Sci.**, v. 108, n. 483, p. 243–251, 2019.

CASTRO ET. AL. Naproxen cocrystals with pyridinecarboxamide isomers. **Crystal Growth and Design**, p. 5396–5404, 2011.

CAVANAGH, K. L.; MAHESHWARI, C.; RODRÍGUEZ-HORNEDO, N. Understanding the Differences Between Cocrystal and Salt Aqueous Solubilities. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 107, n. 1, p. 113–120, 2018.

CHAVAN, R. B.; MODI, S. R.; BANSAL, A. K. Role of solid carriers in pharmaceutical performance of solid supersaturable SEDDS of celecoxib. **International Journal of**

**Pharmaceutics**, v. 495, n. 1, p. 374–384, 2015.

CHEN, Y. M. **Cocrystals Mitigate the Effect of pH on Solubility and Dissolution of Basic Drugs**. 2017. - University of Michigan, [s. l.], 2017.

CHEN, Y.; RODRÍGUEZ-HORNEDO, N. Cocrystals Mitigate Negative Effects of High pH on Solubility and Dissolution of a Basic Drug. **Cryst. Growth Des.**, v. 18, n. 3, p. 1358–1366, 2018.

CHENEY, M. L.; WEYNA, D. R.; SHAN, N.; HANNA, M.; WOJTAS, L.; ZAWOROTKO, M. J. Supramolecular Architectures of Meloxicam Carboxylic Acid Cocrystals, a Crystal Engineering Case Study. **Crystal Growth & Design**, v. 10, p. 4401–4413, 2010.

CHENEY, M. L.; WEYNA, D. R.; SHAN, N.; 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, p. 2172–2181, 2011.

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

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

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

COFFMAN, R. E.; KILDSIG, D. O. Effect of nicotinamide and urea on the solubility of riboflavin in various solvents. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 85, n. 9, p. 951–954, 1996.

COPPI L., SANMARTI B., C. M. United States Patent No. : US 6,967,248 B2. Crystalline forms of meloxicam and processes for their preparation and interconversion. v. 2, n. 12, p. 1–14, 2005.

DAVIES, N. M.; ANDERSON, K. E. Clinical pharmacokinetics of naproxen. **Clinical Pharmacokinetics**, v. 32, p. 268–293, 1997.

DAWSON, R. M. C.; ELLIOTT, D. C.; ELLIOTT, W. H.; JONES, K. M. Data for biochemical research. v. 8, p. A490, 1960.

DUGGIRALA, N. K.; LACASSE, S. M.; ZAWOROTKO, M. J.; KRZYZANIAK, J. F.; ARORA, K. K. Pharmaceutical Cocrystals: Formulation Approaches to Develop Robust Drug Products. **Crystal Growth and Design**, v. 20, n. 2, p. 617–626, 2020.

ÉVORA, A. O. L.; CASTRO, R. A. E.; MARIA, T. M. R.; ROSADO, M. T. S.; SILVA, M.

R.; BEJA, A. M.; CANOTILHO, J.; EUSEBIO, M. E. S. Pyrazinamide-diflunisal: A new dual-drug Co-crystal. **Crystal Growth and Design**, v. 11, p. 4780–4788, 2011.

GANESAN, A.; COOTE, M. L.; BARAKAT, K. Molecular dynamics-driven drug discovery: leaping forward with confidence. **Drug Discovery Today**, v. 22, n. 2, p. 249–269, 2017.

GHORAB, M. M.; ABDEL-SALAM, H. M.; EL-SAYAD, M. A.; MEKHEL, M. M. Tablet Formulation Containing Meloxicam and  $\beta$ -Cyclodextrin : Mechanical Characterization and Bioavailability Evaluation. **AAPS PharmSciTech**, v. 5, n. 4, p. 1–6, 2004.

GOOD, D. J. **Pharmaceutical cocrystal eutectic analysis: study of thermodynamic stability, solubility and phase behavior**. 2010. - University of Michigan, [s. l.], 2010.

GOOD, D. J.; RODRÍGUEZ-HORNEDO, N. Solubility advantage of pharmaceutical cocrystals. **Crystal Growth and Design**, v. 9, p. 2253–2264, 2009.

GOOD, D. J.; RODRÍGUEZ-HORNEDO, N. Cocrystal eutectic constants and prediction of solubility behavior. **Crystal Growth and Design**, v. 10, p. 1028–1032, 2010.

GRBIC, S.; PAROJCIC, J.; DJURIC, Z.; IBRIC, S. Mathematical modeling of pH-surfactant-mediated solubilization of nimesulide. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 7, p. 852–856, 2009.

GRECO, K.; BOGNER, R. Solution-Mediated Phase Transformation: Significance During Dissolution and Implications for Bioavailability. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, p. 1–23, 2011.

GUO, M.; WANG, K.; QIAO, N.; FÁBIÁN, L.; SADIQ, G.; LI, M. Insight into Flufenamic Acid Cocrystal Dissolution in the Presence of a Polymer in Solution: From Single Crystal to Powder Dissolution. **Molecular Pharmaceutics**, v. 14, n. 12, p. 4583–4596, 2017.

GUZMÁN, H. R. *et al.* Combined use of crystalline salt forms and precipitation inhibitors to improve oral absorption of celecoxib from solid oral formulations. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 96, p. 2686–2702, 2007.

HAN, Y. R.; LEE, P. I. Effect of Extent of Supersaturation on the Evolution of Kinetic Solubility Profiles. **Molecular Pharmaceutics**, v. 14, n. 1, p. 206–220, 2017.

HANEEF, J.; CHADHA, R. Drug-Drug Multicomponent Solid Forms: Cocrystal, Coamorphous and Eutectic of Three Poorly Soluble Antihypertensive Drugs Using Mechanochemical Approach. **AAPS PharmSciTech**, v. 18, n. 6, p. 2279–2290, 2017.

HARRINGTON, P. J.; LODEWIJK, E. Twenty years of naproxen technology. **Organic Process Research and Development**, v. 1, p. 72–76, 1997.

HAWLEY, M.; MOROZOWICH, W. Modifying the diffusion layer of soluble salts of poorly soluble basic drugs to improve dissolution performance. **Molecular Pharmaceutics**, v. 7, n. 5, p. 1441–1449, 2010.



- HEALY, A. M.; WORKU, Z. A.; KUMAR, D.; MADI, A. M. Pharmaceutical solvates, hydrates and amorphous forms: A special emphasis on cocrystals. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 117, p. 25–46, 2017.
- HIGUCHI. Physical chemical analysis of percutaneous absorption process from creams and ointments. **Journal of the Society of Cosmetic Chemists**, p. 23–24, 1959.
- HUANG, N.; RODRÍGUEZ-HORNEDO, N. Effect of micellar solubilization on cocrystal solubility and stability. **Crystal Growth and Design**, p. 2051–2053, 2010.
- HUANG, N.; RODRÍGUEZ-HORNEDO, N. Engineering cocrystal thermodynamic stability and eutectic points by micellar solubilization and ionization. **CrystEngComm**, v. 13, p. 5409–5422, 2011.
- HUANG, Y.; KUMINEK, G.; ROY, L.; CAVANAGH, K.; YIN, Q.; RODRIGUEZ-HORNEDO, N. Cocrystal Solubility Advantage Diagrams as a Means to Control Dissolution, Supersaturation, and Precipitation. **Mol. Pharmaceutics**, v. 16, p. 3887–3895, 2019.
- JAIN, N.; JAIN, R.; KUMARJAIN, D.; JAIN, S. K. Development and validation of new analytical method for the simultaneous estimation of naproxen and esomeprazole in bulk and pharmaceutical formulation. **Bulletin of Phamaceutical Research**, v. 2, n. 3, p. 134–139, 2016.
- JASANI, M. S.; KALE, D. P.; SINGH, I. P.; BANSAL, A. K. Influence of Drug-Polymer Interactions on Dissolution of Thermodynamically Highly Unstable Cocrystal. **Molecular Pharmaceutics**, v. 16, n. 1, p. 151–164, 2019.
- JAYASANKAR, A.; GOOD, D. J.; RODRÍGUEZ-HORNEDO, N. Mechanisms by which moisture generates cocrystals. **Molecular Pharmaceutics**, v. 4, p. 360–372, 2007.
- JOACHIM BROUWERS, 1 MARCUS E. BREWSTER, 2 PATRICK AUGUSTIJNS1; 1LABORATORY. supersaturating Drug Delivery Systems: The Answer to Solubility-Limited. **Journal of pharmaceutical sciences**, v. 99, n. 10, p. 4215–4227, 2009.
- KAEASHIMA, Y.; OKUMURA, M.; TAKANEKA, H. Spherical Crystallization : Direct Spherical Agglomeration of Salicylic Acid Crystals During Crystallization Calcium Carbonate Hexahydrate from Organic-Rich Sediments of the Antarctic Shelf : Precursors of Glendonites. **Science**, v. 216, p. 1127–1128, 1982.
- KASTEN, G.; LOBO, L.; DENGALÉ, S.; GROHGANZ, H.; RADES, T.; LÖBMANN, K. In vitro and in vivo comparison between crystalline and co-amorphous salts of naproxen-arginine. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 132, p. 192–199, 2018.
- KAVANAGH, O. N.; CROKER, D. M.; WALKER, G. M.; ZAWOROTKO, M. J. Pharmaceutical cocrystals: from serendipity to design to application. **Drug Discovery Today**, v. 24, n. 3, p. 796–804, 2019.

KERR, H. E.; SOFTLEY, L. K.; SURESH, K.; HODGKINSON, P.; EVANS, I. R. Structure and physicochemical characterization of a naproxen-picolinamide cocrystal. **Acta Crystallographica Section C: Structural Chemistry**, v. 73, p. 168–175, 2017.

KIM, J. Y.; KIM, S.; PAPP, M.; PARK, K.; PINAL, R. Hydrotropic solubilization of poorly water-soluble drugs. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 99, p. 3953–3965, 2010.

KUMAR, S.; SHEN, J.; ZOLNIK, B.; SADRIEH, N.; BURGESS, D. J. Optimization and dissolution performance of spray-dried naproxen nano-crystals. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 486, n. 1–2, p. 159–166, 2015.

KUMINEK, G., CAVANAGH, K., RODRÍGUEZ-HORNEDO, N. Measurement and mathematical relationships of cocrystal thermodynamic properties. *In*: 2019 JOHN WILEY & SONS, I. (org.). **Pharmaceutical Crystals**. New Jersey: In Pharmaceutical Crystals: Science and Engineering, John Wiley & Sons: 2018, 2018. p. 8341. *E-book*.

KUMINEK, G.; CAO, F.; ROCHA, A. B. O.; CARDOSO, S. G.; RODRIGUEZ-HORNEDO, N. Cocrystals to facilitate delivery of poorly soluble compounds beyond-rule-of-5. **Adv. Drug Deliv. Rev.**, v. 101, p. 143–166, 2016.

KUMINEK, G.; RODRÍGUEZ-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**, v. 52, n. 34, p. 5832–5835, 2016.

KUMINEK, G.; CAVANAGH, K. L.; DA PIEDADE, M. F. M.; RODRÍGUEZ-HORNEDO, N. Posaconazole Cocrystal with Superior Solubility and Dissolution Behavior. **Crystal Growth and Design**, v. 19, n. 11, p. 6592–6602, 2019.

LEHTO, P.; AALTONEN, J.; TENHO, M.; RANTANEN, J.; HIRVONEN, J.; PEKKA, V.; PELTONEN, L. Solvent-Mediated Solid Phase Transformations of Carbamazepine: Effects of Simulated Intestinal Fluid and Fasted State Simulated Intestinal Fluid. **Journal of pharmaceutical sciences**, v. 101, n. 7, p. 2271–2280, 2012.

LERK, C. F.; SCHOONEN, A. J. M.; FELL, J. T. Contact Angles and Wetting of Pharmaceutical Powders. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 65, n. 6, p. 843–847, 1976.

LEYSSSENS, T.; HORST, J. H. Solution co-crystallisation and its applications. *In*: TIEKINK, E.; ZUKERMAN-SCHPECTOR, J. (org.). **Multi-Component Crystals**. Berlin/Boston: Walter de Gruyter GmbH, Berlin/Boston Coverf, 2018. p. 205–236. *E-book*.

LI, S.; WONG, S.; SETHIA, S.; ALMOAZEN, H.; JOSHI, Y. M.; SERAJUDDIN, A. T. M. Investigation of solubility and dissolution of a free base and two different salt forms as a function of pH. **Pharmaceutical Research**, v. 22, n. 4, p. 628–635, 2005.

LIPERT, M. P. **Predicting the influence of drig solubilizing agents on cocrystal solubility, stability, and transition points**. 2015. - University of Michigan, [*s. l.*], 2015.

- LIPERT, M. P.; ROY, L.; CHILDS, S. L.; RODRÍGUEZ-HORNEDO, N. Cocrystal Solubilization in Biorelevant Media and its Prediction from Drug Solubilization. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 104, p. 4153–4163, 2015.
- LIPERT, M. P.; RODRÍGUEZ-HORNEDO, N. Cocrystal transition points: Role of cocrystal solubility, drug solubility, and solubilizing agents. **Molecular Pharmaceutics**, v. 12, p. 3535–3546, 2015.
- LOH, G. O. K.; TAN, Y. T. F.; PEH, K. K. Hydrophilic polymer solubilization on norfloxacin solubility in preparation of solid dispersion. **Powder Technology**, v. 256, p. 462–469, 2014.
- LU, E.; RODRÍGUEZ-HORNEDO, N.; SURYANARAYANAN, R. A rapid thermal method for cocrystal screening. **CrystEngComm**, v. 10, p. 665–668, 2008.
- LUGER, P.; DANECK, K.; ENGEL, W.; TRUMMLITZ, G.; WAGNER, K. Structure and physicochemical properties of meloxicam, a new NSAID. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 4, n. 3, p. 175–187, 1996.
- MACHADO, T. C. **Solubilidade e estabilidade termodinâmica de cocristais de meloxicam**. 2016. - Universidade Federal de Santa Catarina, [s. l.], 2016.
- MACHADO, T. C.; GELAIN, A. B.; ROSA, J.; CARDOSO, S. G.; CAON, T. Cocrystallization as a novel approach to enhance the transdermal administration of meloxicam. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 123, p. 184–190, 2018.
- MACHADO, T. C.; KUMINEK, G.; CARDOSO, S. G.; RODRÍGUEZ-HORNEDO, N. The role of pH and dose/solubility ratio on cocrystal dissolution, drug supersaturation and precipitation. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 152, p. 105422, 2020.
- MERSMANN, A. Calculation of interfacial tensions. **Journal of Crystal Growth**, v. 102, n. 4, p. 841–847, 1990.
- MONDAL, M. S.; HAQUE, M. A.; ISLAM, M. S.; ASHRAFUL ISLAM, S. M. Development and validation of rp-hplc method for the simultaneous estimation of domperidone and naproxen in tablet dosage form. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**, v. 1, n. 7, p. 145–148, 2011.
- MOONEY, K. G.; MINTUN, M. A.; HIMMELSTEIN, K. J.; STELLA, V. J. Dissolution kinetics of carboxylic acids I: Effect of pH under unbuffered conditions. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, 1981 a.
- MOONEY, K. G.; MINTUN, M. A.; HIMMELSTEIN, K. J.; STELLA, V. J. Dissolution kinetics of carboxylic acids II: Effect of pH under unbuffered conditions. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 70, p. 13–22, 1981 b.
- MUDIE, D. M.; AMIDON, G. L.; AMIDON, G. E. Physiological parameters for oral delivery and in vitro testing. **Molecular Pharmaceutics**, v. 5, p. 1388–1405, 2010.

MUNARI, J.; PINTO, O.; LEÃO, A. F.; RIEKES, M. K.; FRANÇA, M. T.; STULZER, H. K. HPMCAS as an effective precipitation inhibitor in amorphous solid dispersions of the poorly soluble drug candesartan cilexetil. **Carbohydrate Polymers**, v. 184, p. 199–206, 2018.

MURDANDE, S. B.; PIKAL, M. J.; SHANKER, R. M.; BOGNER, R. H. Aqueous solubility of crystalline and amorphous drugs: Challenges in measurement. **Pharmaceutical Development and Technology**, v. 16, p. 187–200, 2011.

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

NEUROHR, C.; REVELLI, A. L.; BILLOT, P.; MARCHIVIE, M.; LECOMTE, S.; LAUGIER, S.; MASSIP, S.; SUBRA-PATERNAULT, P. Naproxen-nicotinamide cocrystals produced by CO<sub>2</sub> antisolvent. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 83, p. 78–85, 2013 a.

NEUROHR, C.; REVELLI, A.-L.; LAUGIER, S.; ERRIGUIBLE, A.; MARCHIVIE, M.; LECOMTE, S.; SUBRA-PATERNAULT, P. Production of Naproxen-Nicotinamide cocrystals by CO<sub>2</sub> antisolvent: comparison of SAS and GAS. v. 83, p. 78–85, 2013 b.

NIDHI, K.; INDRAJEET, S.; KHUSHBOO, M.; GAURI, K.; SEN, D. J. Hydrotrophy: A promising tool for solubility enhancement: A review. **International Journal of Drug Development and Research**, v. 3, n. 2, p. 26–33, 2011.

OCHI, M.; INOUE, R.; YAMAUCHI, Y.; YAMADA, S.; ONOUE, S. Development of meloxicam salts with improved dissolution and pharmacokinetic behaviors in rats with impaired gastric motility. **Pharmaceutical Research**, v. 30, p. 377–386, 2013.

OCHI, M.; KAWACHI, T.; TOITA, E.; HASHIMOTO, I.; YUMINOKI, K. Development of nanocrystal formulation of meloxicam with improved dissolution and pharmacokinetic behaviors. v. 474, p. 151–156, 2014.

OH, D.-M.; CURL, R. L.; AMIDON, G. L. Estimating the fraction dose absorbed from suspensions of poorly soluble compounds in humans: a mathematical model. **Pharmaceutical Research**, v. 10, n. 2, p. 1–7, 1993 a.

OH, D.; CURL, R. L.; AMIDON, G. L. Estimating the fraction dose absorbed from suspensions of poorly soluble compounds in humans: A mathematical model. **Pharmaceutical Research**, v. 10, p. 264–270, 1993 b.

P. MURA, M.T. FAUCCI, F. MAESTRELLI, S. FURLANETTO, S. P. Characterization of physicochemical properties of naproxen systems with amorphous b-cyclodextrin-epichlorohydrin polymers. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 29, p. 1015–1024, 2002.

PAGIRE, S.; KORDE, S.; AMBARDEKAR, R.; DESHMUKH, S.; DASH, R. C.; DHUMAL, R.; PARADKAR, A. Microwave assisted synthesis of caffeine/maleic acid co-crystals: The role of the dielectric and physicochemical properties of the solvent. **CrystEngComm**, v. 15,

p. 3705–3710, 2013.

PATEL, D. D.; ANDERSON, B. D. Effect of precipitation inhibitors on indomethacin supersaturation maintenance: Mechanisms and modeling. **Molecular Pharmaceutics**, v. 11, n. 5, p. 1489–1499, 2014.

PLUM, J.; BAVNHØJ, C.; PALMELUND, H.; PÉREZ-ALÓS, L.; MÜLLERTZ, A.; RADES, T. Comparison of induction methods for supersaturation: pH shift versus solvent shift. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 573, p. 118862, 2020.

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

PUTRA, O. D.; FURUISHI, T.; YONEMOCHI, E.; TERADA, K.; UEKUSA, H. Drug-Drug Multicomponent Crystals as an Effective Technique to Overcome Weaknesses in Parent Drugs. **Crystal Growth and Design**, v. 16, p. 3577–3581, 2016.

RAJURKAR, V. G.; GITE, R. D.; GHAWATE, V. B. Development of Naproxen Co Crystal Formation: An Efficient Approach to Enhance Aqueous Solubility. **Analytical Chemistry Letters**, v. 5, n. 4, p. 229–238, 2015 a.

RAJURKAR, V. G.; GITE, R. D.; GHAWATE, V. B. Development of Naproxen Co Crystal Formation: An Efficient Approach to Enhance Aqueous Solubility. **Analytical Chemistry Letters**, v. 5, n. 4, p. 229–238, 2015 b.

RASOOL, A. A.; HUSSAIN, A. A.; DITTERT, L. W. Solubility Enhancement of Some Water-Insoluble Drugs in the Presence of Nicotinamide and Related Compounds. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 80, n. 4, p. 387–393, 1991.

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

RINAKI, E.; DOKOUMETZIDIS, A.; VALSAMI, G.; MACHERAS, P. Identification of Biowaivers Among Class II Drugs: Theoretical Justification and Practical Examples. **Pharmaceutical Research**, v. 21, p. 1567–1572, 2004.

ROCHA, A. B. O. *et al.* Cocrystals: Uma estratégia promissora na área farmacêutica. **Quimica Nova**, v. 39, n. 9, p. 1112–1125, 2016.

RODRÍGUEZ-HORNEDO, N.; MURPHY, D. Surfactant-Facilitated Crystallization of Dihydrate Carbamazepine during Dissolution of Anhydrous Polymorph. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 93, p. 449–460, 2004.

ROSA, J.; MACHADO, T. C.; DA SILVA, A. K.; KUMINEK, G.; BORTOLLUZZI, A. J.; CAON, T.; CARDOSO, S. G. Isoniazid-Resveratrol Cocrystal: A Novel Alternative for Topical Treatment of Cutaneous Tuberculosis. **Crystal Growth & Design**, v. 19, p. 5029–

5036, 2019.

ROWE, R.; SHESKEY, P.; QUINN, M. **Handbook of Pharmaceutical Excipients**. [S. l.: s. n.]. *E-book*.

RUNKEL, R.; CHAPLIN, M.; BOOST, G.; SEGRE, E.; FORCHIELLI, E. Absorption, Distribution, Metabolism, and Excretion of Naproxen in Various Laboratory Animals and Human Subjects. v. 61, p. 703–708, 1972.

RUNKEL, R.; FORCHIELLI, E.; BOOST, G.; CHAPLIN, M.; HILL, R.; SEVELIUS, H.; THOMPSON, G.; SEGRE, E. Naproxen-metabolism, excretion and comparative pharmacokinetics. v. 2, p. 29–36, 1973.

SALAS-ZÚÑIGA, R.; RODRÍGUEZ-RUIZ, C.; HÖPFL, H.; MORALES-ROJAS, H.; SÁNCHEZ-GUADARRAMA, O.; RODRÍGUEZ-CUAMATZI, P.; HERRERA-RUIZ, D. Dissolution advantage of nitazoxanide cocrystals in the presence of cellulosic polymers. **Pharmaceutics**, v. 12, p. 1–18, 2020.

SANGHVI, R.; EVANS, D.; YALKOWSKY, S. H. Stacking complexation by nicotinamide: A useful way of enhancing drug solubility. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 336, n. 1, p. 35–41, 2007.

SANGWAL, K. **Additives and Crystallization Processes**. West Sussex, England: John Wiley & Sons, Inc, 2007. *E-book*.

SCHVER, G. C. R. M.; LEE, P. I. Combined Effects of Supersaturation Rates and Doses on the Kinetic-Solubility Profiles of Amorphous Solid Dispersions Based on Water-Insoluble Poly(2-hydroxyethyl methacrylate) Hydrogels. **Molecular Pharmaceutics**, v. 15, n. 5, p. 2017–2026, 2018.

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

SEVELIUS, H.; RUNKEL, R.; SEGRE, E.; BLOOMFIELD, S. Bioavailability of naproxen sodium and its relationship to clinical analgesic effects. **British Journal of Clinical Pharmacology**, v. 10, p. 259–263, 1980.

SKRDLA, P. J.; FLOYD, P. D.; DELL'ORCO, P. C. Modeling Recrystallization Kinetics following the Dissolution of Amorphous Drugs. **Molecular Pharmaceutics**, v. 17, n. 1, p. 219–228, 2020.

SMITH, A. The Merck index: an encyclopedia of chemicals, drugs, and biologicals. **Merck, Whitehouse Station**, n. 13, p. 2195–2198, 2001.

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.

Solubility Advantage of Pharmaceutical Cocrystals. p. 21–24, 2009.

SONG, J. S.; SOHN, Y. T. Crystal forms of naproxen. **Archives of Pharmacal Research**, v. 34, p. 87–90, 2011.

SUGANO, K. ENABLING FORMULATIONS. *In: Biopharmaceutics Modeling and Simulations: Theory, Practice, Methods and Applications*. 1st. ed. [S. l.]: John Wiley & Sons, Inc, 2012. p. 347–378. *E-book*.

SUGANO, K.; TERADA, K. Rate- and Extent-Limiting Factors of Oral Drug Absorption: Theory and Applications. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 104, n. 9, p. 2777–2788, 2015.

SUN, D. D.; LEE, P. I. Evolution of supersaturation of amorphous pharmaceuticals: The effect of rate of supersaturation generation. **Molecular Pharmaceutics**, v. 10, n. 11, p. 4330–4346, 2013.

SUN, D. D.; LEE, P. I. Haste Makes Waste: The Interplay Between Dissolution and Precipitation of Supersaturating Formulations. **The AAPS Journal**, v. 17, n. 6, p. 1317–1326, 2015.

SUN, D. D.; WEN, H.; TAYLOR, L. S. Non-Sink Dissolution Conditions for Predicting Product Quality and In Vivo Performance of Supersaturating Drug Delivery Systems. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 105, n. 9, p. 2477–2488, 2016 a.

SUN, D. D.; WEN, H.; TAYLOR, L. S. Non-Sink Dissolution Conditions for Predicting Product Quality and In Vivo Performance of Supersaturating Drug Delivery Systems. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 105, p. 2477–2488, 2016 b.

SUZIKI, H AND SUNADA, H. Mechanistic Studies on Hydrotropic Solubilization of Nifedipine in Nicotinamide Solution. **Chem. Pharm. Bull**, v. 46, n. 1, p. 125–130, 1998.

TAYLOR, L. S.; ZHANG, G. G. Z. Physical chemistry of supersaturated solutions and implications for oral absorption |. **Adv. Drug Deliv. Rev.**, v. 101, p. 122–142, 2016.

THAKURIA, R.; DELORI, A.; JONES, W.; LIPERT, M. P.; ROY, L.; RODRÍGUEZ-HORNEDO, N. Pharmaceutical cocrystals and poorly soluble drugs. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 453, p. 102–125, 2013.

THIPPARABOINA, R.; KUMAR, D.; CHAVAN, R. B.; SHASTRI, N. R. Multidrug co-crystals: Towards the development of effective therapeutic hybrids. **Drug Discovery Today**, v. 21, n. 3, p. 481–490, 2016.

TILBORG, A.; SPRINGUEL, G.; NORBERG, B.; WOUTERS, J.; LEYSSSENS, T. On the influence of using a zwitterionic cofomer for cocrystallization: structural focus on naproxen–proline cocrystals. **CrystEngComm**, v. 15, p. 3341–3350, 2013.

TSUME, Y.; MUDIE, D. M.; LANGGUTH, P.; AMIDON, G. E.; AMIDON, G. L. The

Biopharmaceutics Classification System: Subclasses for in vivo predictive dissolution (IPD) methodology and IVIVC. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 57, p. 152–163, 2014.

TÜRCK, D.; BUSCH, U.; HEINZEL, G.; NARJES, H.; NEHMIZ, G. Effect of Food on the Pharmacokinetics of Meloxicam after Oral Administration. **Clinical Drug Investigation**, v. 9, n. 5, p. 270–276, 1995.

TURCK, D.; ROTH, W.; BUSCH, U. A Review of the Clinical Pharmacokinetics of Meloxicam. **Rheumatology**, v. 35, p. 13–16, 1996.

ULLAH AND KALLEM. Solubility of Nonsteroidal Anti-inflammatory Drugs ( NSAIDs ) in Aqueous Solutions of Non-ionic Surfactants. **J Solution Chem** (2011), v. 40, p. 1341–1348, 2011.

VANDECRUYS, R.; PEETERS, J.; VERRECK, G.; BREWSTER, M. E. Use of a screening method to determine excipients which optimize the extent and stability of supersaturated drug solutions and application of this system to solid formulation design. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 342, n. 1–2, p. 168–175, 2007.

VERTZONI, M.; DRESSMAN, J.; BUTLER, J.; HEMPENSTALL, J.; REPPAS, C. Simulation of fasting gastric conditions and its importance for the in vivo dissolution of lipophilic compounds. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 60, n. 3, p. 413–417, 2005.

WANG, C.; TONG, Q.; HOU, X.; HU, S.; FANG, J.; SUN, C. C. Enhancing Bioavailability of Dihydromyricetin through Inhibiting Precipitation of Soluble Cocrystals by a Crystallization Inhibitor. **Crystal Growth and Design**, v. 16, p. 5030–5039, 2016.

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

WEN, H.; MORRIS, K. R.; PARK, K. Study on the interactions between polyvinylpyrrolidone (PVP) and acetaminophen crystals: Partial dissolution pattern change. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 94, n. 10, p. 2166–2174, 2005 a.

WEN, H.; MORRIS, K. R.; PARK, K. Hydrogen bonding interactions between adsorbed polymer molecules and crystal surface of acetaminophen. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 290, n. 2, p. 325–335, 2005 b.

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.

WICHIANPHONG, N.; CHAROENCHAITRAKOOL, M. Statistical optimization for production of mefenamic acid–nicotinamide cocrystals using gas anti-solvent (GAS) process.



**Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v. 62, p. 375–382, 2018.

WILLIAMS, H. D.; TREVASKIS, N. L.; CHARMAN, S. A.; SHANKER, R. M.; CHARMAN, W. N.; POUTON, C. W.; PORTER, C. J. H. Strategies to Address Low Drug Solubility in Discovery and Development. **Pharmacological Reviews**, v. 65, p. 315–499, 2013.

XU, H.; VELA, S.; SHI, Y.; MARROUM, P.; GAO, P. In Vitro Characterization of Ritonavir Drug Products and Correlation to Human in Vivo Performance. **Molecular Pharmaceutics**, v. 14, n. 11, p. 3801–3814, 2017.

YAMASHITA, H.; SUN, C. C. Harvesting Potential Dissolution Advantages of Soluble Cocrystals by Depressing Precipitation Using the Common Coformer Effect. **Crystal Growth and Design**, v. 16, p. 6719–6721, 2016.

YAMASHITA, H.; SUN, C. C. Expedited Tablet Formulation Development of a Highly Soluble Carbamazepine Cocrystal Enabled by Precipitation Inhibition in Diffusion Layer. **Pharmaceutical research**, v. 36, n. 90, p. 1–10, 2019.

YILMAZ, B.; ASCI, A.; ERDEM, A. F. HPLC Method for Naproxen Determination in Human Plasma and Its Application to a Pharmacokinetic Study in Turkey. **Journal of Chromatographic Science**, v. 52, p. 584–589, 2013.

ZHONG, Y.; JING, G.; TIAN, B.; HUANG, H.; ZHANG, Y.; GOU, J.; TANG, X.; HE, H.; WANG, Y. Supersaturation induced by Itraconazole/Soluplus® micelles provided high GI absorption in vivo. **Asian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 11, n. 2, p. 255–264, 2016.

ZOGRAFI, G.; TAM, S. S. Wettability of pharmaceutical solids: Estimates of solid surface polarity. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 65, n. 8, p. 1145–1149, 1976.