

AMANDA COSMO DE ALMEIDA

**ALGUNS COCRISTAIS DE CIPROFLOXACINO: SÍNTESE
MECANOQUÍMICA, CARACTERIZAÇÃO E ENSAIO DE SOLUBILIDADE**

Dissertação apresentada ao Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Química.

Orientador: Prof. Dr. Flávio Junior Caires

ARARAQUARA

2019

FICHA CATALOGRÁFICA

A447a Almeida, Amanda Cosmo de
Alguns cocristais de ciprofloxacino: síntese
mecanoquímica, caracterização e ensaio de solubilidade /
Amanda Cosmo de Almeida. – Araraquara : [s.n.], 2019
104 f. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista,
Instituto de Química
Orientador: Flávio Junior Caires

1. Ciprofloxacina. 2. Análise térmica. 3. Espectroscopia
de infravermelho. 4. Estudos de validação. 5. Solubilidade.
I. Título.

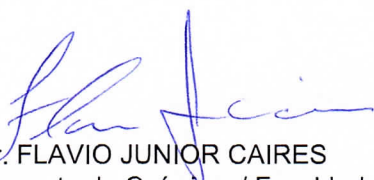
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: "Alguns cocristais de ciprofloxacino: síntese mecanoquímica, caracterização e ensaio de solubilidade"

AUTORA: AMANDA COSMO DE ALMEIDA

ORIENTADOR: FLAVIO JUNIOR CAIRES

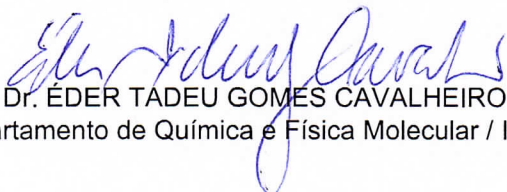
Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em QUÍMICA, pela Comissão Examinadora:



Prof. Dr. FLAVIO JUNIOR CAIRES
Departamento de Química / Faculdade de Ciências - UNESP - Bauru



Prof. Dr. ALEXANDRE DE OLIVEIRA LEGENDRE
Departamento de Química / Faculdade de Ciências - UNESP - Bauru



Prof. Dr. ÉDER TADEU GOMES CAVALHEIRO
Departamento de Química e Física Molecular / Instituto de Química - USP - São Carlos

Araraquara, 01 de março de 2019

DADOS CURRICULARES

AMANDA COSMO DE ALMEIDA

Data de nascimento: 23/08/1992

Nacionalidade: Brasileira

Naturalidade: Bauru – SP

Estado civil: Solteira

Filiação: Pedro Wanderley de Almeida

Rosângela Maria Cosmo de Almeida

Endereço: Rua Wenceslau Braz, 5-15, Vila Souto, Bauru – SP

Telefone: (14) 99691-5921

E-mail: amandaacosmo@gmail.com / amanda.cosmo@unesp.br

Nome em citações bibliográficas: Almeida, Amanda Cosmo; Almeida, A. C.; de Almeida, Amanda Cosmo, de Almeida, A. C.; Amanda Cosmo de Almeida.

ENDEREÇO PROFISSIONAL:

Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho - UNESP, Faculdade de Ciências, Campus de Bauru.

Avenida Engenheiro Luiz Edmundo Carrijo Coube

Núcleo Residencial Presidente Geisel

17033360 - Bauru, SP - Brasil

Telefone: (14) 3103-6426

FORMAÇÃO ACADÊMICA:

Licenciada em Química pela Faculdade de Ciências – Unesp, Campus de Bauru.

FORMAÇÃO COMPLEMENTAR:

2017 – 2017 Novas perspectivas da Análise Térmica. (Carga horária: 2h). VIII Simpósio de Análise Térmica, SIAT, Brasil.

2016 – 2016 Cristalografia e difração de raios X - Refinamento pelo Método de Rietveld. (Carga horária: 9h). Associação Brasileira de Química, ABQ, Brasil.

2016 – 2016 Workshop - Análise Térmica e suas diversas aplicações. (Carga horária: 4h). Mettler Toledo, MT, Brasil.

2016 – 2016 Formação e crescimento de cristais. (Carga horária: 8h). Associação Brasileira de Química, ABQ, Brasil.

2015 – 2015 Cosméticos. (Carga horária: 4h). Universidade Estadual de Campinas, UNICAMP, Brasil.

2015 – 2015 Energia do futuro. (Carga horária: 8h). Universidade Estadual de Campinas, UNICAMP, Brasil.

2015 – 2015 Cosmetologia. (Carga horária: 8h). Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, Brasil.

2015 – 2015 A origem dos elementos químicos e a história do universo. (Carga horária: 4h). Universidade Estadual de Campinas, UNICAMP, Brasil.

2012 – 2012 Processos de fermentação. (Carga horária: 8h). Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, Brasil.

PRODUÇÃO BIBLIOGRÁFICA:

Trabalhos publicados em anais de eventos científicos:

1. Almeida, A. C.; Ferreira, P. O.; Caires, F. J. A supramolecular association of ciprofloxacin and pyrazinecarboxylic acid: Cocrystal synthesis and characterization. In: XIX Brazilian Meeting on Inorganic Chemistry | VI Latin American Meeting on Biological Inorganic Chemistry | VII Brazilian Meeting on Rare Earths, 2018, Fortaleza. XIX Brazilian Meeting on Inorganic Chemistry | VI Latin American Meeting on Biological Inorganic Chemistry | VII Brazilian Meeting on Rare Earths, 2018.
2. Almeida, A. C.; Ferreira, P. O.; Caires, F. J. Síntese mecanoquímica e caracterização do cocrystal de ciprofloxacino e ácido pirazinóico. In: VIII Congresso Farmacêutico da Unesp e IV Jornada de Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia, 2018, Araraquara. VIII Congresso Farmacêutico da Unesp e IV Jornada de Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia, 2018.
3. Silva, M. V. T.; Ferreira, P. O.; Almeida, A. C.; Caires, F. J. Síntese mecanoquímica e caracterização de um cocrystal nutracêutico de ácido fólico e ácido isonicotínico. In: VIII Congresso Farmacêutico da Unesp e IV Jornada de Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia, 2018, Araraquara. VIII Congresso Farmacêutico da Unesp e IV Jornada de Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia, 2018.
4. Almeida, A. C.; Macário, G. M.; Ferreira, P. O.; Gaglieri, C.; Torquetti, C.; Caires, F. J. Cocrystal de ciprofloxacino com ácidos nicotínico e isonicotínico: Síntese, caracterização e construção dos diagramas de fase binários. In: VIII Simpósio de Análise Térmica - SiAT, 2017, Ponta Grossa - PR. Livro de Resumos, 2017.
5. Macário, G. M.; Almeida, A. C.; Ferreira, P. O.; Gaglieri, C.; Torquetti, C.; Caires, F. J. Síntese mecanoquímica, caracterização e estudos termoanalíticos do cocrystal de ciprofloxacino e ácido para-aminobenzóico. In: VIII Simpósio de Análise Térmica - SiAT, 2017, Ponta Grossa - PR. Livro de Resumos, 2017.
6. Ferreira, P. O.; Torquetti, C.; Almeida, A. C.; Gaglieri, C.; Caires, F. J. Caracterização da mistura eutética de norfloxacino-cafeína. In: VIII Simpósio de Análise Térmica - SiAT, 2017, Ponta Grossa - PR. Livro de Resumos, 2017.
7. Ferreira, P. O.; Torquetti, C.; Almeida, A. C.; Gaglieri, C.; Caires, F. J. Síntese mecanoquímica e caracterização do cocrystal de norfloxacino-sacarina. In: VIII Simpósio de Análise Térmica - SiAT, 2017, Ponta Grossa - PR. Livro de Resumos, 2017.
8. Torquetti, C.; Almeida, A. C.; Ferreira, P. O.; Nunes, W. D. G.; Caires, F. J. Síntese, caracterização e estudos termoanalíticos do cocrystal de

ciprofloxacino-ácido picolínico. In: VIII Simpósio de Análise Térmica - SiAT, 2017, Ponta Grossa - PR. Livro de Resumos, 2017.

9. Torquetti, C.; Almeida, A. C.; Ferreira, P. O.; Nunes, W. D. G.; Caires, F. J. Synthesis, characterization and thermoanalytical studies of ciprofloxacin-caffeic acid cocrystal. In: 46th World Chemistry Congress/ 40a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química/ IUPAC 49th General Assembly, 2017, São Paulo. 46th World Chemistry Congress, 40a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, and IUPAC 49th General Assembly, 2017.

10. Ferreira, P. O.; Torquetti, C.; Almeida, A. C.; Gaglieri, C.; Caires, F. J. Mechanochemical synthesis and characterization of the norfloxacin-saccharine cocrystal. In: 46th World Chemistry Congress/ 40a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química/ IUPAC 49th General Assembly, 2017, São Paulo. 46th World Chemistry Congress/ 40a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química/ IUPAC 49th General Assembly, 2017.

11. Almeida, A. C.; Torquetti, C.; Ferreira, P. O.; Gaglieri, C.; Nunes, W. D. G.; Caires, F. J. Síntese, caracterização e estudos termoanalíticos do cocrystal ciprofloxacino-ácido isonicotínico. In: 56º Congresso Brasileiro de Química, 2016, Belém. CD ROM do 56º CBQ, 2016.

12. Torquetti, C.; Almeida, A. C.; Ferreira, P. O.; Ferreira, L. T.; Bannach, G.; Ionashiro, M.; Caires, F. J. Síntese, caracterização e estudos termoanalíticos do co-cristal de ciprofloxacino com o co-formador ácido nicotínico. In: X Congresso Brasileiro / IV Congresso Pan-Americano de Análise Térmica e Calorimetria, 2016, São Paulo - SP - Brasil. Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 2016.

13. Ferreira, P. O.; Torquetti, C.; Almeida, A. C.; Ferreira, L. T.; Bannach, G.; Ionashiro, M.; Caires, F. J. Síntese e estudo termoanalítico e espectroscópico do co-cristal de norfloxacin-sacarina. In: X Congresso Brasileiro / IV Congresso Pan-Americano de Análise Térmica e Calorimetria, 2016, São Paulo - SP - Brasil. Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 2016.

14. Almeida, A. C.; Torquetti, C.; Ferreira, P. O.; Gaglieri, C.; Caires, F. J. Síntese, caracterização e estudos termoanalíticos do cocrystal ciprofloxacino-ácido isonicotínico. In: XXVIII Congresso de Iniciação Científica da Unesp, 2016, Bauru. Trabalhos apresentados na 1ª Fase do XXVIII CIC, 2016.

15. Torquetti, C.; Almeida, A. C.; Ferreira, P. O.; Nunes, W. D. G.; Caires, F. J. Síntese, caracterização e estudos termoanalíticos do cocrystal de ciprofloxacino com o coformador ácido nicotínico. In: X Semana da Química - A Química a serviço da sustentabilidade, 2016, Bauru. Livro de resumos, 2016.

16. Ferreira, P. O.; Torquetti, C.; Almeida, A. C.; Teixeira, J. A.; Caires, F. J. Síntese e Estudo Termonalítico e Espectroscópico do Cocrystal Norfloxacin-Sacarina. In: X Semana da Química - A Química a serviço da sustentabilidade, 2016, Bauru. Livro de resumos, 2016.

17. Ferreira, P. O.; Torquetti, C.; Almeida, A. C.; Caires, F. J. Síntese e estudos termoanalíticos e espectroscópicos do cocrystal de norfloxacin-sacarina. In: 24º SIICUSP - Simpósio Internacional de Iniciação Científica e Tecnológica da Universidade de São Paulo, 2016, São Carlos. 24º SIICUSP, 2016.

18. Torquetti, C.; Almeida, A. C.; Ferreira, P. O.; Caires, F. J. Síntese, caracterização e estudos termoanalíticos do cocrystal de ciprofloxacino com o coformador ácido nicotínico. In: 24º SIICUSP - Simpósio Internacional de Iniciação Científica e Tecnológica da Universidade de São Paulo, 2016, São Carlos. 24º SIICUSP, 2016.

19. Ferreira, P. O.; Torquetti, C.; Almeida, A. C.; Ferreira, L. T.; Bannach, G.; Ionashiro, M.; Caires, F. J. Synthesis, thermoanalytical and spectroscopic study of norfloxacin-caffeine cocrystal. In: 39ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química., 2016, Goiânia. 39ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química., 2016.

Apresentação de trabalhos e /ou palestras:

1. Almeida, A. C.; Ferreira, P. O.; Caires, F. J. A supramolecular association of ciprofloxacin and pyrazinecarboxylic acid: Cocrystal synthesis and characterization. In: XIX Brazilian Meeting on Inorganic Chemistry | VI Latin American Meeting on Biological Inorganic Chemistry | VII Brazilian Meeting on Rare Earths, 2018, Fortaleza. (Apresentação de Trabalho/Congresso).

2. Almeida, A. C.; Ferreira, P. O.; Caires, F. J. Síntese mecanoquímica e caracterização do cocrystal de ciprofloxacino e ácido pirazinóico. In: VIII Congresso Farmacêutico da Unesp e IV Jornada de Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia, 2018, Araraquara. (Apresentação de Trabalho/Congresso).

3. Almeida, A. C.; Macário, G. M.; Ferreira, P. O.; Gaglieri, C.; Torquetti, C.; Caires, F. J. Cocrystal de ciprofloxacino com ácidos nicotínico e isonicotínico: Síntese, caracterização e construção dos diagramas de fase binários. In: VIII Simpósio de Análise Térmica - SiAT, 2017, Ponta Grossa. (Apresentação de Trabalho/Simpósio).

4. Almeida, A. C.; Torquetti, C.; Ferreira, P. O.; Gaglieri, C.; Caires, F. J. Síntese, caracterização e estudos termoanalíticos do cocrystal ciprofloxacino-ácido isonicotínico. In: 56º Congresso Brasileiro de Química, 2016, Belém. (Apresentação de Trabalho/Congresso).

5. Almeida, A. C.; Torquetti, C.; Ferreira, P. O.; Gaglieri, C.; Nunes, W. D. G.; Caires, F. J. Síntese, caracterização e estudos termoanalíticos do cocrystal ciprofloxacino-ácido isonicotínico. In: XXVIII Congresso de Iniciação Científica da Unesp, 2016, Bauru. (Apresentação de Trabalho/Congresso).

PARTICIPAÇÃO EM BANCAS:

1. Caires, F. J.; Almeida, A. C.; Moura, A. Participação em banca de Carolina Torquetti. Síntese mecanoquímica e caracterização dos cocrystal e misturas

eutéticas de ciprofloxacino com alguns coformadores. 2017. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Química) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho.

2. Caires, F. J.; Almeida, A. C.; Souza, F. Z. R. Participação em banca de Carlos Augusto Vianni. Co-cristais farmacêuticos: síntese e caracterização. 2017. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Química) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho.

PARTICIPAÇÃO EM EVENTOS CIENTÍFICOS:

1. VIII Congresso Farmacêutico da Unesp e IV Jornada de Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia. Síntese mecanoquímica e caracterização do cocrystal de ciprofloxacino e ácido pirazinóico. 2018. (Congresso).

2. XIX Brazilian Meeting on Inorganic Chemistry | VI Latin American Meeting on Biological Inorganic Chemistry | VII Brazilian Meeting on Rare Earths. A supramolecular association of ciprofloxacin and pyrazinecarboxylic acid: Cocrystal synthesis and characterization. 2018. (Congresso).

3. VIII Simpósio de Análise Térmica. Cocrystal de ciprofloxacino com ácidos nicotínico e isonicotínico: Síntese, caracterização e construção dos diagramas de fase binários. 2017. (Simpósio).

4. 56º Congresso Brasileiro de Química. Síntese, caracterização e estudos termoanalíticos do cocrystal ciprofloxacino-ácido isonicotínico. 2016. (Congresso).

5. XXVIII Congresso de Iniciação Científica. Síntese, caracterização e estudos termoanalíticos do cocrystal ciprofloxacino-ácido isonicotínico. 2016. (Congresso).

6. 14ª Semana de Química da Unicamp. 2015. (Feira).

7. VIII Semana da Química da UNESP. 2013. (Outra).

8. X Semana da Química do Centro Oeste Paulista. 2012. (Feira).

Dedico esta dissertação à Deus, por toda sua
imensa bondade e compaixão, por ser meu
guia, autor do meu destino.

Aos meus pais, Rosangela e Pedro, meu irmão
Guilherme, por serem amparo e exemplo, fonte
de carinho, amor, força e compreensão.

Aos grandes e verdadeiros amigos que tenho,
por tornar essa árdua caminhada mais suave,
em especial à Patrícia Osório.

Ao meu orientador, Flávio, por sempre acreditar
no meu potencial.

AGRADECIMENTOS

Gratidão é uma palavra muito pequena frente a todo sentimento que sinto neste momento em que escrevo. É muito difícil agradecer apenas com palavras a todas as pessoas e entidades que me proporcionaram chegar até aqui, porém, deixo aqui meus sinceros agradecimentos.

À Deus, meu Pai Redentor, aos meus guias e protetores, por sempre me darem força, sabedoria, paciência e proteção durante esses dois anos. Obrigada Senhor por sua infinita bondade para comigo e por colocar tantas pessoas maravilhosas em meu caminho.

Agradeço aos meus pais, Rosângela e Pedro, por me proporcionarem amparo emocional e financeiro durante toda a minha vida, por serem exemplo de garra e determinação e principalmente por todo apoio. Ao meu irmão, Guilherme, por sempre acreditar em mim, e meu sobrinho Davi, por me inspirar com seu modo sonhador de ser. Quero agradecer ainda, todos os meus familiares, principalmente meus avós, Aparecida, Irene, José “Baté” (em memória) e Pedro (em memória), por depositarem em mim seus sonhos e esperança de um futuro melhor. Muito obrigada por estarem sempre comigo.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Flávio Junior Caires, por toda orientação e conselhos, por acreditar no meu potencial, ser tão compreensivo e por me impulsionar sempre para fazer o meu melhor. Obrigada pela confiança que deposita em mim.

Quero agradecer também meus amigos, peças-chave para que todo o caminho percorrido seja mais leve e ameno. Muito obrigada aos amigos do laboratório Patrícia, Aniele, Carol Torquetti, Carol Gaglieri, Rafael Alarcon, Laura, Fayene, Ana Carina, Bruno, André, Richard e Geórgia, por toda ajuda em momentos difíceis, auxílio com análises e por todas as risadas e momentos de descontração. Aos amigos extra laboratório, João Henrique, Vanessa, Pamela, Murilo e Maria Carolina, por aguentarem meu mau-humor e reclamações, por me apoiarem incondicionalmente e por estarem sempre comigo, mesmo com a correria do dia a dia.

À Doutora Ana Carolina Kogawa por todos os ensinamentos, conselhos e disponibilidade para me ensinar tanto em tão pouco tempo, porém com muita dedicação e amor. Obrigada pela paciência e confiança.

Agradeço ao Prof. Dr. Gilbert Bannach (LATIG – Bauru), Prof. Dr. Massao Ionashiro (LATIG – Araraquara), Prof. Dr. Fenelon Martinho Lima Pontes (LDMFN – Bauru), Prof. Dr. Luiz Carlos da Silva Filho (LSOP – Bauru) por me concederem utilizar seus equipamentos para realizar minhas análises e aos seus alunos por estarem disponíveis e pelo auxílio com os equipamentos.

Agradeço à todas as pessoas que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho, pois só quem esteve perto sabe o quanto foi difícil, cheio de desafios e que ao mesmo tempo me fez crescer e amadurecer tanto. Realizar este trabalho e chegar até aqui, finalizando-o, é um momento muito sonhado e esperado por mim e por pessoas especiais em minha vida.

Por fim, quero agradecer aos órgãos de fomento CNPq, FAPESP e CAPES pela bolsa de mestrado e apoio financeiro durante a realização deste projeto de pesquisa.

“Tudo tem o seu tempo determinado, e há tempo para todo propósito de baixo do céu: há tempo de nascer, tempo de morrer; tempo de plantar e tempo de colher. ”

(Eclesiastes 3:1-2)

RESUMO

Tendo em vista a necessidade de se melhorar as propriedades físico-químicas de fármacos por parte da indústria farmacêutica, a cocristalização atua como um novo método capaz de melhorar tais propriedades, dentre elas a solubilidade aquosa. Uma vez que o Ciprofloxacino (CIP) pertence à classe 4 do Sistema de Classificação Biofarmacêutica, o que significa que o mesmo apresenta baixa solubilidade aquosa e baixa permeabilidade em biomembranas, o presente trabalho descreve a síntese e caracterização dos cocristais deste antibiótico. Os coformadores ácido pirazinóico (APZ), ácido *p*-aminobenzóico (PABA), ácido nicotínico (ANC) e ácido isonicotínico (AINC) foram escolhidos, devido a possíveis estabelecimentos de síntons com o API. Os cocristais foram obtidos através de método mecanoquímico (moagem à seco e assistida por solvente), com o auxílio de um moinho de bolas. A caracterização dos cocristais foi realizada através das seguintes técnicas: calorimetria exploratória diferencial (DSC), termogravimetria e análise térmica diferencial simultânea (TG-DTA), espectroscopia vibracional de absorção na região do infravermelho (IV) e difratometria de raios X do pó (DRXP). Através da análise térmica, espectroscópica e difratométrica foi possível verificar a formação de três cocristais e um sal, nas razões estequiométricas 1:1 (mol/mol), com e sem adição do solvente etanol. Além disso, foram construídos diagramas de fase binários, variando-se as razões molares entre API e coformador, afim de utilizar tal método para reafirmar a formação de cocristais. Um método de determinação analítica quantitativa do princípio ativo foi validado neste trabalho e um estudo da solubilidade dos cocristais formados entre o API e os ácidos nicotínico e isonicotínico foi realizado, verificando um aumento na solubilidade aquosa e em sistema tamponado de pH 6,8 para os cocristais em relação ao precursor CIP. Dessa forma, os cocristais formados foram capazes de uma melhoria nas propriedades físico-químicas do antibiótico utilizado nesse estudo.

Palavras-chave: Ciprofloxacino. Cocristal. Análise térmica.

ABSTRACT

In view of the need of improving physicochemical properties of drugs by the pharmaceutical industry, cocrystallization acts as a new method capable of improving such properties, among them the aqueous solubility. Since Ciprofloxacin (CIP) belongs to Class 4 of the Biopharmaceutics Classification System, which means that it has low aqueous solubility and low permeability in biomembranes, the present work describes the synthesis and characterization of the cocrystals of this antibiotic. The pyrazinoic (APZ), *p*-aminobenzoic (PABA), nicotinic (ANC) and isonicotinic (AINC) acids cofomers were chosen due to possible synthons establishments with the API. The cocrystals were obtained by mechanochemical method (dry milling and liquid-assisted grinding), with the aid of a ball mill. The characterization of the cocrystals was carried out using the following techniques: differential scanning calorimetry (DSC), thermogravimetry and simultaneous differential thermal analysis (TG-DTA), infrared spectroscopy (IR) and powder X-ray diffractometry (PXRD). Through the thermal, spectroscopic and diffractometric analysis it was possible to verify the formation of three cocrystals and one salt, in the 1:1 (mol/mol) stoichiometric ratios with and without the addition of the ethanol. In addition, binary phase diagrams were constructed by varying the molar ratios between API and cofomer in order to use such a method to reaffirm the formation of cocrystal. A method of quantitative analytical determination of the drug was validated in this work and a study of the solubility of the cocrystals formed between the API and the nicotinic and isonicotinic acids was carried out, verifying an increase in the aqueous solubility and in a buffered system of pH 6.8, comparing the cocrystals with the precursor CIP. Thus, the formed cocrystals were capable of an improvement in the physicochemical properties of the antibiotic used in this study.

Keywords: Ciprofloxacin. Cocrystal. Thermal Analysis.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

CAPÍTULO I – INTRODUÇÃO GERAL E OBJETIVOS

Figura 1.1 – Representação esquemática das estruturas das formas sólidas de APIs.	24
Figura 1.2 – Representação de algumas interações entre grupos funcionais.	26
Figura 1.3 – Número de publicações referentes à “cocrystal” nos últimos 15 anos.	27
Figura 1.4 – Sistema de Classificação Biofarmacêutica (BCS).	28
Figura 1.5 – Quinolonas de primeira e segunda geração.	29
Figura 1.6 – Fórmula estrutural química do ciprofloxacino.	30
Figura 1.7 – Fórmulas estruturais dos coformadores utilizados neste estudo.	33

CAPÍTULO II – SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DOS COCRISTAIS DE CIPROFLOXACINO

Figura 2.1 – Curvas TG-DTA e DSC dos compostos puros e do sistema CIP-ANC.	41
Figura 2.2 – Espectros no IV dos compostos puros e do sistema CIP-ANC.	43
Figura 2.3 – Sugestão de formação de sinton supramolecular para o sistema CIP-ANC.	44
Figura 2.4 – Difrátogramas de DRXP dos compostos puros e do sistema CIP-ANC.	45
Figura 2.5 – Difrátogramas de DRXP e espectros no IV do sistema CIP-ANC (15Hz) aquecido em diferentes temperaturas.	46
Figura 2.6 – Curvas TG-DTA e DSC dos compostos puros e do sistema CIP-AINC.	47
Figura 2.7 – Espectros no IV dos compostos puros e do sistema CIP-AINC.	49
Figura 2.8 – Sugestão de formação de sinton supramolecular para o sistema CIP-AINC.	49
Figura 2.9 – Difrátogramas de DRXP dos compostos puros e do sistema CIP-AINC.	50
Figura 2.10 – Difrátogramas de DRXP e espectros no IV do sistema CIP-AINC / EtOH (15Hz) aquecido em diferentes temperaturas.	51
Figura 2.11 – Estudo da variação do tempo de moagem.	52
Figura 2.12 – Curvas TG-DTA e DSC dos compostos puros e do sistema CIP-APZ.	53
Figura 2.13 – Espectros no IV dos compostos puros e do sistema CIP-APZ.	54
Figura 2.14 – Difrátogramas de DRXP dos compostos puros e do sistema CIP-APZ.	56
Figura 2.15 – Difrátogramas de DRXP e espectros no IV do sistema CIP-APZ (30Hz) aquecido em diferentes temperaturas.	57
Figura 2.16 – Difrátogramas de DRXP e espectros no IV do sistema CIP-APZ / EtOH (30Hz) em temperatura ambiente e aquecido até 215°C.	58

Figura 2.17 – Curvas TG-DTA e DSC dos compostos puros e do sistema CIP-PABA.	58
Figura 2. 18 – Imagens registradas por DSC-fotovisual durante aquecimento da amostra de CIP-PABA (15 Hz).	60
Figura 2.19 – Espectros no IV dos compostos puros e do sistema CIP-PABA.	61
Figura 2.20 – Sugestão de formação de sal para o sistema CIP-PABA.	62
Figura 2.21 – Difratogramas de DRXP dos compostos puros e do sistema CIP-PABA.	63
Figura 2.22 – Difratogramas de DRXP e espectros no IV do sistema CIP-PABA (15Hz) aquecido em diferentes temperaturas.	64
Figura 2.23 – Diagrama de fase binário de CIP-ANC.	65
Figura 2.24 – Diagrama de fase binário de CIP-AINC.	66
Figura 2.25 – Diagrama de fase binário de CIP-PABA.	67

CAPÍTULO III – ADEQUAÇÃO E VALIDAÇÃO DE MÉTODO ANALÍTICO QUANTITATIVO

Figura 3.1 – Espectro de absorção no UV da solução de ciprofloxacino 4,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$.	76
Figura 3.2 – Curva de Ringbom obtida pelo método espectrofotométrico.	76
Figura 3.3 – Curva analítica, equação da reta e coeficiente de correlação obtidos através do método proposto.	78
Figura 3.4 – Seletividade para o sistema CIP-AINC.	82
Figura 3.5 – Seletividade para o sistema CIP-ANC.	82
Figura 3.6 – Seletividade para o sistema CIP-APZ.	83
Figura 3.7 – Seletividade para o sistema CIP-PABA.	83

CAPÍTULO IV – ESTUDO DE SOLUBILIDADE

Figura 4.1 – Solubilidade do ciprofloxacino e seus cocristais em sistema aquoso e tampão pH 6,8 após 6, 12, 18 e 24 horas no shaker.	92
--	----

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I – INTRODUÇÃO GERAL E OBJETIVOS

CAPÍTULO II – SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DOS COCRISTAIS DE CIPROFLOXACINO

Tabela 2.1 – Características distintivas de eutéticos e cocristais.....	37
Tabela 2.2 – Descrição da procedência e pureza dos reagentes utilizados, bem como suas respectivas siglas.....	38
Tabela 2.3 – Proporções e temperaturas utilizadas na construção do diagrama de fase binário de CIP-ANC.	65
Tabela 2.4 – Proporções e temperaturas utilizadas na construção do diagrama de fase binário de CIP-AINC.	66
Tabela 2.5 – Proporções e temperaturas utilizadas na construção do diagrama de fase de CIP-PABA.....	67

CAPÍTULO III – ADEQUAÇÃO E VALIDAÇÃO DE MÉTODO ANALÍTICO QUANTITATIVO

Tabela 3.1 – Parâmetros a serem considerados na validação analítica.....	71
Tabela 3.2 – Obtenção da curva de Ringbom.	72
Tabela 3.3 – Valores obtidos na construção da curva de Ringbom pelo método proposto, no comprimento de onda de 277 nm.....	77
Tabela 3.4 – Valores de absorbância determinados para a curva analítica.....	78
Tabela 3.5 – Valores obtidos para determinar a precisão do método.....	79
Tabela 3.6 – Valores obtidos para determinar a precisão entre analistas.	79
Tabela 3.7 – Valores obtidos para determinar a exatidão do método.....	79
Tabela 3.8 – Valores obtidos para a robustez na ausência de filtração.	80
Tabela 3.9 – Valores obtidos para a robustez realizando análises com o comprimento de onda máximo de 275 nm.....	80
Tabela 3.10 – Valores obtidos para a robustez utilizando uma solução de HCl 0,08 M.	80
Tabela 3.11 – Determinação do teor de ciprofloxacino nas amostras de cocrystal.....	84

CAPÍTULO IV – ESTUDO DE SOLUBILIDADE

Tabela 4.1 – Valores das absorvâncias de ciprofloxacino em diferentes solventes na concentração 4 µg mL ⁻¹	89
Tabela 4.2 – Solubilidade do ciprofloxacino após 6 horas de experimento.....	89
Tabela 4.3 – Solubilidade do ciprofloxacino após 12 horas de experimento.	89
Tabela 4.4 – Solubilidade do ciprofloxacino após 18 horas de experimento.	90
Tabela 4.5 – Solubilidade do ciprofloxacino após 24 horas de experimento.	90
Tabela 4.6 – Solubilidade do cocristal CIP-ANC após 6 horas de experimento.	90
Tabela 4.7 – Solubilidade do cocristal CIP-ANC após 12 horas de experimento.	90
Tabela 4.8 – Solubilidade do cocristal CIP-ANC após 18 horas de experimento.	90
Tabela 4.9 – Solubilidade do cocristal CIP-ANC após 24 horas de experimento.	91
Tabela 4.10 – Solubilidade do cocristal CIP-AINC após 6 horas de experimento.	91
Tabela 4.11 – Solubilidade do cocristal CIP-AINC após 12 horas de experimento.	91
Tabela 4.12 – Solubilidade do cocristal CIP-AINC após 18 horas de experimento.	91
Tabela 4.13 – Solubilidade do cocristal CIP-AINC após 24 horas de experimento.	91

ANEXO A – ATRIBUIÇÃO DE BANDAS DE INFRAVERMELHO PARA OS COMPOSTOS PUROS E SISTEMAS

Tabela A.1 – Atribuição das principais bandas para os compostos puros e o sistema CIP-ANC.	103
Tabela A.2 – Atribuição das principais bandas para os compostos puros e o sistema CIP-AINC.	103
Tabela A.3 – Atribuição das principais bandas para os compostos puros e o sistema CIP-APZ.....	103
Tabela A.4 – Atribuição das principais bandas para os compostos puros e o sistema CIP-ANC.	104

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

°	Grau
°C	Grau Celsius
µg	Micrograma
µL	Microlitro
µm	Micrômetro
A _A	Absorbância da amostra
Abs.	Absorbância
A _{CIP}	Absorbância do ciprofloxacino
A _{INC}	Ácido isonicotínico
A _{NC}	Ácido nicotínico
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
API	Princípio ativo farmacêutico, do inglês " <i>Active Pharmaceutical Ingredient</i> "
APZ	Ácido pirazinóico
BCS	Sistema de Classificação Biofarmacêutica, do inglês " <i>Biopharmaceutics Classification System</i> "
C _A	Concentração da amostra
C _c	Concentração de ciprofloxacino encontrado no cocrystal
C _{CIP}	Concentração de ciprofloxacino
CIP	Ciprofloxacino
cm	Centímetro
C _{Teórico}	Concentração teórica de ciprofloxacino no cocrystal
DP	Desvio padrão
DPR	Desvio padrão relativo
DRXP	Difratometria de raios X do pó
DSC	Calorimetria exploratória diferencial
DTA	Análise térmica diferencial
DTG	Termogravimetria derivada
EGA	Análise de gás liberado
EtOH	Etanol
FDA	do inglês " <i>Food and Drug Administration</i> "
g	Gramas
GRAS	Substâncias geralmente reconhecidas como seguras para consumo, do inglês " <i>Generally Regarded as Safe</i> "
HCl	Ácido clorídrico
Hz	Hertz
IV	Espectroscopia vibracional de absorção na região do infravermelho
J	Joule

K	Kelvin
kV	Quilovolts
L	Litro
M	Concentração molar (mol por litro)
mA	Miliampère
mg	Miligrama
min	Minutos
mL	Mililitro
mm	Milímetro
nm	Nanômetro
PABA	Ácido <i>p</i> -aminobenzóico ou ácido 4-aminobenzóico
pH	Potencial hidrogeniônico
R	Constante dos gases
R ²	Coeficiente de correlação
rpm	Rotação por minuto
T	Ponto de fusão da mistura binária
T%	Teor percentual
T ₀	Temperatura de fusão do composto puro
TG	Termogravimetria
TG-DTA	Termogravimetria e Análise térmica diferencial simultânea
TMA	Análise termomecânica
T _{onset}	Temperatura onset
T _{pico}	Temperatura de pico
UV	Ultravioleta
UV-Vis	Espectrofotometria na região do ultravioleta e visível
x	Fração molar de um componente na mistura
α	do alfabeto grego <i>alpha</i>
Δ	Variação (do alfabeto grego <i>delta</i>)
ΔH_0	Calor de fusão do composto puro
θ	Ângulo de difração de raios X (do alfabeto grego <i>theta</i>)
λ	Comprimento de onda (do alfabeto grego <i>lambda</i>)
π	do alfabeto grego <i>pi</i>
$\Delta m_{Calc.}$	Variação de massa calculada teoricamente
Δm_{TG}	Variação de massa obtida experimentalmente pela curva TG

SUMÁRIO

1. CAPÍTULO I – INTRODUÇÃO GERAL E OBJETIVOS	22
1.1. INTRODUÇÃO GERAL	23
1.1.1. Agências regulamentadoras	27
1.1.2. A história das quinolonas	28
1.1.3. Ciprofloxacino	30
1.1.4. Cocristais de ciprofloxacino	31
1.1.5. Coformadores	32
1.2. OBJETIVOS	34
1.2.1. Objetivos Gerais.....	34
1.2.2. Objetivos Específicos	34
2. CAPÍTULO II – SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DOS COCRISTAIS DE CIPROFLOXACINO	35
2.1. INTRODUÇÃO	36
2.2. MATERIAIS E MÉTODOS	38
2.2.1. Síntese dos cocristais.....	38
2.2.2. Caracterização dos compostos obtidos.....	39
2.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	41
2.3.1. Sistema Ciprofloxacino-Ácido nicotínico (CIP-ANC)	41
2.3.2. Sistema Ciprofloxacino-Ácido isonicotínico (CIP-AINC).....	47
2.3.3. Sistema Ciprofloxacino-Ácido pirazinóico (CIP-APZ).....	52
2.3.4. Sistema Ciprofloxacino-Ácido <i>p</i> -aminobenzóico (CIP-PABA)	58
2.3.5. Diagramas de fase binários	64
2.4. CONCLUSÃO	68
3. CAPÍTULO III – ADEQUAÇÃO E VALIDAÇÃO DE MÉTODO ANALÍTICO QUANTITATIVO	69
3.1. INTRODUÇÃO	70
3.2. METODOLOGIA	71
3.2.1. Método.....	71
3.2.2. Curva de Ringbom	72
3.2.3. Obtenção da curva analítica	73
3.2.4. Determinação de ciprofloxacino em cocristais farmacêuticos.....	73
3.2.5. Validação	74
3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	75
3.4. CONCLUSÃO	85

4. CAPÍTULO IV – ESTUDO DE SOLUBILIDADE	86
4.1. INTRODUÇÃO	87
4.2. METODOLOGIA	88
4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	89
4.4. CONCLUSÃO	93
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	94
REFERÊNCIAS	96
ANEXO A – ATRIBUIÇÃO DE BANDAS DE INFRAVERMELHO PARA OS COMPOSTOS PUROS E SISTEMAS	103

1. CAPÍTULO I – INTRODUÇÃO GERAL E OBJETIVOS

1.1. INTRODUÇÃO GERAL

O processo de introduzir um novo fármaco na área terapêutica é bastante oneroso e longo, com duração de cerca de doze anos em média, com pequena probabilidade de sucesso. De cada cem mil novos compostos descobertos, apenas duzentos e cinquenta são submetidos aos ensaios pré-clínicos e, apenas cinco entram em ensaios clínicos. Estima-se que apenas uma molécula chegue ao mercado ao final do processo e, para isso, deve ser segura, eficaz e/ou capaz de melhorar a qualidade de vida dos pacientes (FERREIRA et al., 2009).

Mesmo após a fase de comercialização, um princípio ativo farmacêutico (API, do inglês "*Active Pharmaceutical Ingredient*") continua sendo alvo de pesquisas, cujo objetivo é a melhoria de suas propriedades físico-químicas, principalmente, a sua solubilidade e as taxas de dissolução em água, uma vez que a água atua como solvente nos sistemas biológicos. No campo farmacêutico, a melhoria de tais propriedades é um desafio. A solubilidade e a taxa de dissolução são fatores chave na determinação da biodisponibilidade do fármaco e da eficácia ou atividade do fármaco (KOTBANTAO; CHAROENCHAITRAKOOL, 2017).

Atualmente, aproximadamente 60% dos fármacos são pouco solúveis em água, resultando assim em problemas relacionados com a sua dissolução, biodisponibilidade inconsistente e conseqüente eficácia imprecisa para pacientes, principalmente quando da administração oral de tais medicamentos. Deste modo, foram desenvolvidas muitas abordagens para modificar estes fármacos preparando-se as suas formas multicomponentes, tais como sais, cocristais, polimorfos, hidratos e solvatos (BLAGDEN et al., 2007; BOLLA; SANPHUI; NANGIA, 2013; CHADHA et al., 2016; ISSA, 2011; KOTBANTAO; CHAROENCHAITRAKOOL, 2017). Essas abordagens foram obtidas com base no conhecimento de que as propriedades físico-químicas de um sólido dependem fortemente da disposição e das interações intermoleculares não covalentes entre as moléculas embutidas no cristal ou na estrutura de estado sólido amorfo (ARENAS-GARCÍA et al., 2017). Algumas dessas abordagens são apresentadas na Figura 1.1.

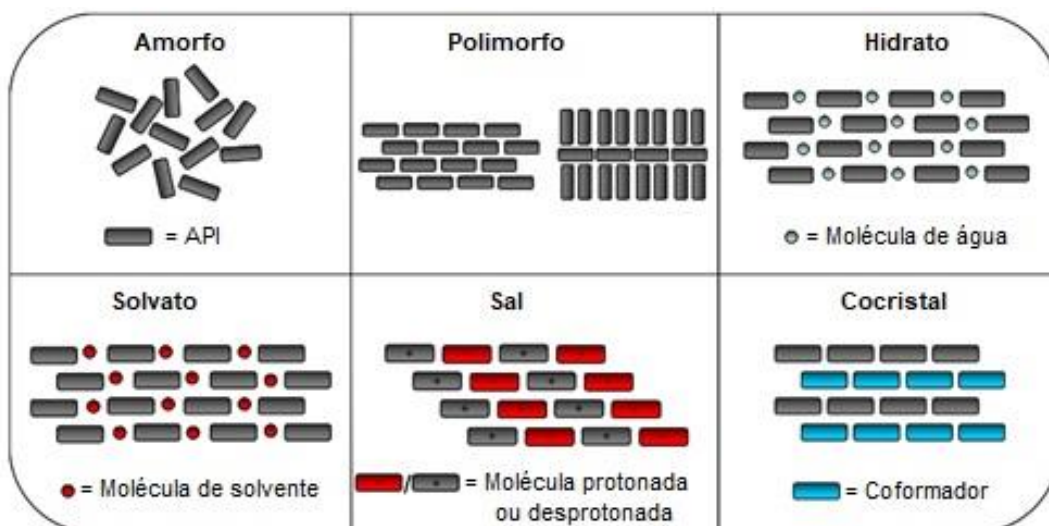


Figura 1.1 – Representação esquemática das estruturas das formas sólidas de APIs.

Fonte: Adaptado de Issa (2011, p. 18)

Recentemente, a estratégia de cocrystalização tem sido aplicada para alterar as propriedades físico-químicas do princípio ativo farmacêutico, como ponto de fusão, estabilidade, solubilidade, taxa de dissolução e biodisponibilidade, sem afetar suas propriedades farmacológicas (KOTBANTAO; CHAROENCHAITRAKOOOL, 2017), além de melhorar outras propriedades essenciais para os APIs como fluidez, compressibilidade e higroscopicidade (QIAO et al., 2011). Para os pacientes, as melhorias nas propriedades físico-químicas podem trazer benefícios desde um melhor conforto durante a ingestão, quanto a diminuição de possíveis efeitos adversos (FERREIRA; PERPETUO; BANNACH, 2015).

Um cocrystal farmacêutico pode ser definido como uma estrutura cristalina multicomponente composta por API e coformador em uma razão estequiométrica definida e ligados por interações não-iônicas e não-covalentes, predominantemente por ligações de hidrogênio (KOTBANTAO; CHAROENCHAITRAKOOOL, 2017). Os componentes de cocrystal são reagentes moleculares neutros que são sólidos à temperatura ambiente (QIAO et al., 2011).

No preparo de cocrystal farmacêuticos, geralmente são empregados como coformadores moléculas farmacêuticamente aceitáveis (frequentemente os membros da lista GRAS (Substâncias geralmente reconhecidas como seguras para consumo, do inglês “*Generally Regarded as Safe*”), flavonoides, nutracêuticos, conservantes, vitaminas, minerais, excipientes, aminoácidos, biomoléculas e outros APIs), os candidatos adequados são selecionados usando

os princípios de engenharia de cristais (ARENAS-GARCÍA et al., 2017; QIAO et al., 2011; THAKURIA et al., 2013).

A engenharia de cristais pode ser definida como uma aplicação dos conceitos de química supramolecular ao estado sólido. Os cocristais são construídos a partir de interações intermoleculares tais como forças de van der Waals, interações de empilhamento π - π e ligação de hidrogênio (QIAO et al., 2011).

Os sítions supramoleculares são de grande importância na engenharia de cristais porque além de serem uma representação modular do reconhecimento primário entre os grupos funcionais, também são considerados como uma força motriz para a cocrystalização, desempenhando um papel significativo ao planejar estratégias de formação de cocristais (BLAGDEN et al., 2007; STEPANOVSKY et al., 2015). Sítions são unidades estruturais que contêm toda a informação geométrica e química inerente a tal reconhecimento (MUKHERJEE et al., 2013). O termo “sítions supramoleculares” introduzido por Desiraju (DESIRAJU, 1995) é definido como “unidades estruturais dentro de supermoléculas que podem ser formadas e/ou reunidas por operações sintéticas conhecidas ou concebíveis, envolvendo interação intermolecular”. De forma resumida, os sítions supramoleculares são arranjos espaciais das interações intermoleculares. A ligação de hidrogênio formada entre dois grupos funcionais idênticos, como dois ácidos carboxílicos na Fig. 1.2 (1) ou dois grupos amida na Fig. 1.2 (3) são denominadas homossítions. Alguns heterossítions também são mostrados na Figura 1.2, tal como ácido carboxílico-piridina na Fig. 1.2 (2), ácido carboxílico-amida na Fig. 1.2 (4) e álcool-éter na Fig. 1.2 (5) (QIAO et al., 2011).

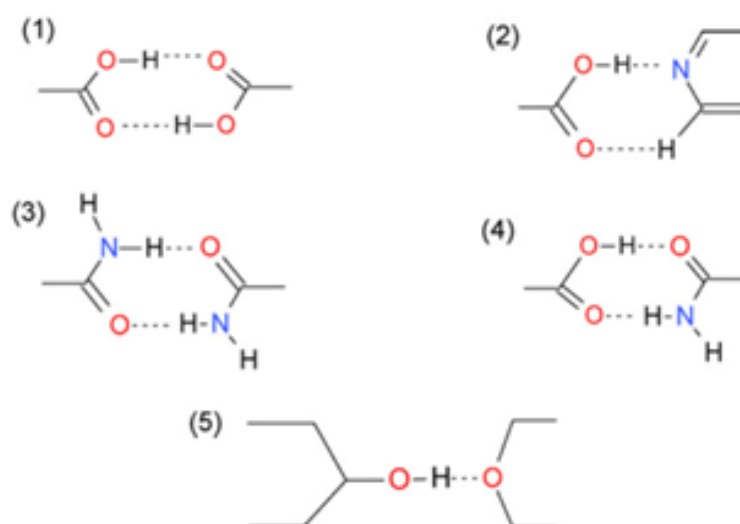


Figura 1.2 – Representação de algumas interações entre grupos funcionais.

Fonte: Adaptado de Qiao (2011, p. 2)

Análises dos tipos de interações que podem gerar os síntons, permitem correlacionar quais coformadores podem ser mais adequados para formação de um cocrystal (RAUBER, 2013).

Ao longo das duas últimas décadas, cocrystalis têm chamado a atenção significativa por parte da indústria farmacêutica, e um grande número dos chamados cocrystalis farmacêuticos têm sido preparados e estudados. Isso pode ser confirmado através da Figura 1.3, que mostra o número crescente de publicações referentes ao termo “cocrystal” nos últimos 15 anos, em uma busca realizada na base de dados SciFinder Scholar.

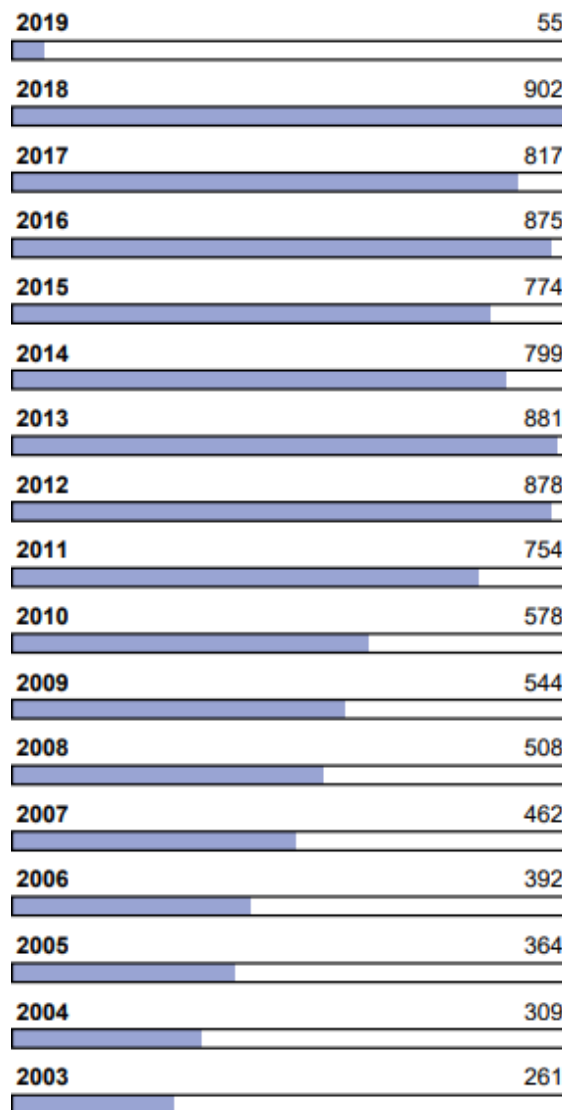


Figura 1.3 – Número de publicações referentes à “cocrystal” nos últimos 15 anos.

Fonte: Retirado da base de dados SciFinder Scholar (acesso em 07/01/2019)

1.1.1. Agências regulamentadoras

O Sistema de Classificação Biofarmacêutica (BCS, do inglês “*Biopharmaceutics Classification System*”) é uma ferramenta útil para a tomada de decisões no desenvolvimento de formulações do ponto de vista biofarmacêutico. O Sistema de Classificação Biofarmacêutica e a orientação correspondente emitida pela Food and Drug Administration (FDA) classificam as substâncias medicamentosas em 4 grupos com base na solubilidade aquosa e na permeabilidade da membrana intestinal, conforme pode ser visto na Figura 1.4 (AMIDON et al., 1995; KAWABATA et al., 2011; TSUME et al., 2014).

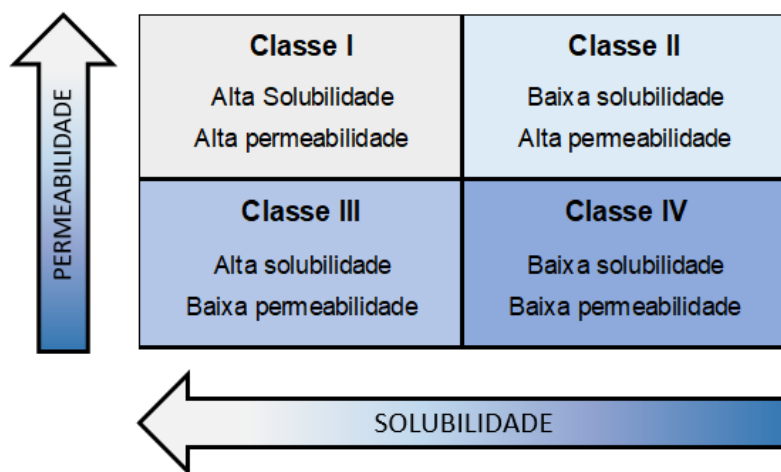


Figura 1.4 – Sistema de Classificação Biofarmacêutica (BCS).

Fonte: Adaptado de Amidon et al (1995, p. 417)

Existem agências reguladoras que são responsáveis pelo monitoramento dos medicamentos presentes no mercado. Tais agências possuem a autoridade de introduzir e/ou retirar medicamentos do mercado, buscando qualidade, eficácia e segurança (FERREIRA et al., 2009).

A FDA que é a agência reguladora dos Estados Unidos da América e é referência em todo o mundo, faz o controle de alimentos, suplementos alimentares, cosméticos, medicamentos, materiais biológicos, equipamentos médicos e produtos derivados do sangue humano (FERREIRA et al., 2009).

No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) foi criada em 1999. Sua finalidade é promover a proteção da saúde populacional por meio do controle sanitário da produção e da comercialização de produtos e serviços submetidos à vigilância sanitária, incluindo os ambientes, processos, insumos e tecnologias relacionados a eles (FERREIRA et al., 2009).

1.1.2. A história das quinolonas

Em 1962, um subproduto da síntese da cloroquina levou à síntese do ácido nalidíxico (Figura 1.5), a primeira quinolona utilizada comercialmente. O ácido nalidíxico caracteriza-se por ser um antibiótico sintético derivado da 1,8-naftiridina, com modesta atividade contra microrganismos Gram-negativos, baixa contra Gram-positivos e nula contra *Pseudomonas aeruginosa*. Devido à sua baixa absorção oral e alta concentração na urina, seu uso terapêutico foi restringido ao tratamento de infecções urinárias (BARLOW, 1963; DE SOUZA, 2005; LESHER et al., 1962).

O interesse em encontrar compostos com maior atividade levou à síntese de vários derivados, entre eles os ácidos oxolínico e pipemídico e o cinoxacino, análogos estruturais do ácido nalidíxico, e que apresentaram uma pequena vantagem terapêutica em comparação ao precursor (DE SOUZA, 2005).

Na década de 1980, após intensas pesquisas realizadas a partir das primeiras quinolonas, originaram as denominadas quinolonas de segunda geração, as fluorquinolona, que diferem das anteriores por conterem a combinação de um átomo de flúor e um grupo piperazinil. O norfloxacino se destacou por ser a primeira quinolona fluorada de uso humano e pela alta atividade contra bactérias Gram-negativas, ação contra *Pseudomonas aeruginosa* e outros organismos Gram-positivos. Foram sintetizadas muitas outras fluoroquinolonas as quais variam nas substituições feitas no núcleo central, que lhes conferem características farmacocinéticas e de atividade antimicrobiana diferenciada entre si, permitindo a sua classificação por gerações. Basicamente, as quinolonas podem ser classificadas em quatro gerações, sendo a primeira e segunda geração são apresentadas na Figura 1.5 (DE SOUZA, 2005).

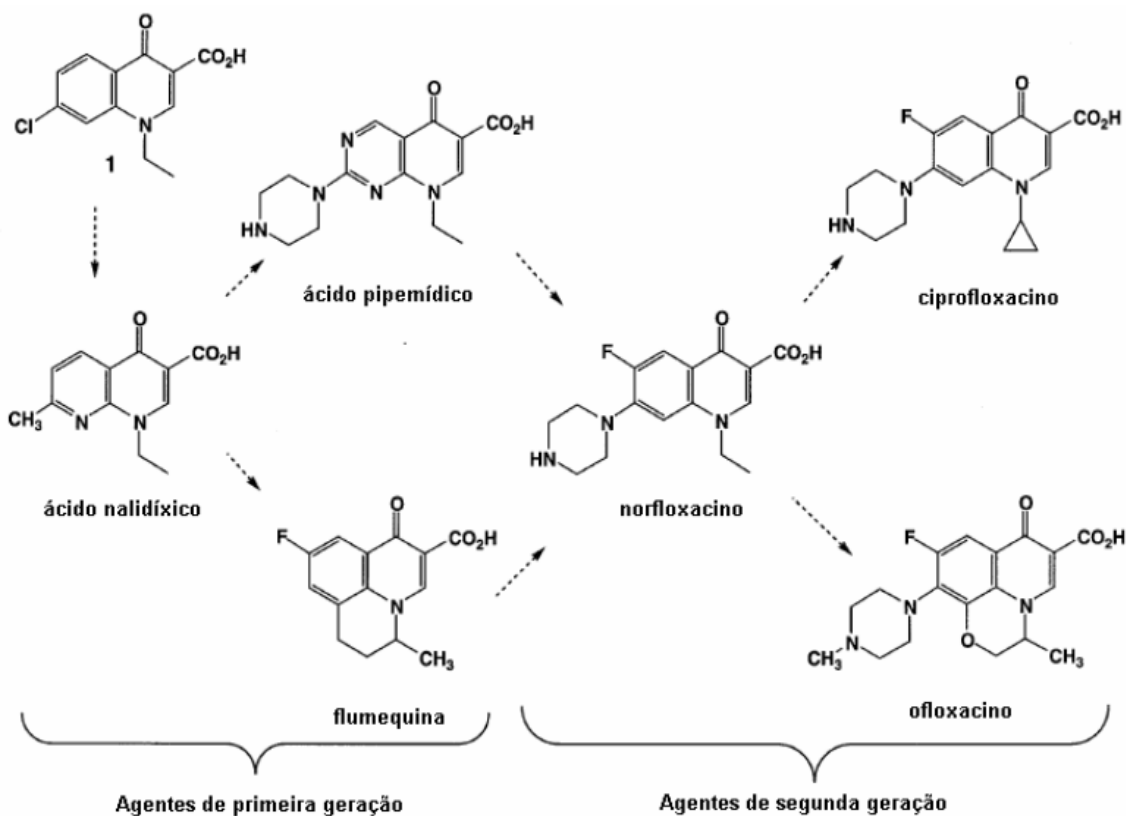


Figura 1.5 – Quinolonas de primeira e segunda geração.

Fonte: Cazedey (2009, p. 6)

1.1.3. Ciprofloxacino

O ciprofloxacino (CIP) ou ácido 1-ciclopropil-6-flúor-1,4-diidro-4-oxo-7-(1-piperazinil)-3-quinolona carboxílico, Fig. 1.6, é uma fluorquinolona de segunda geração aprovada pela FDA em 1987, e está disponível em diversas formas farmacêuticas. Este fármaco é a fluorquinolona mais amplamente prescrita no mundo, seguida pelo ofloxacino, além de estar registrado que o consumo oral do ciprofloxacino aumentou em 30% nos últimos anos (ANDREU; BLASCO; PICÓ, 2007; DE SOUZA, 2005; YI et al., 2017).

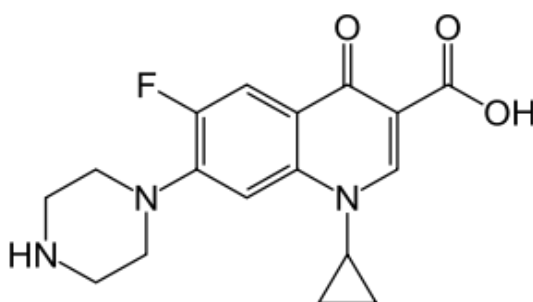


Figura 1.6 – Fórmula estrutural química do ciprofloxacino.

Fonte: Elaborado pela autora.

É considerado um antibiótico de amplo espectro, largamente utilizado na prevenção e controle de doenças em humanos e animais. É comumente utilizado no tratamento de doenças como faringite, sinusite e dores de ouvido, bem como doenças respiratórias como pneumonia e bronquite, além de infecções urinárias, gastrointestinais e na pele (VELLA et al., 2015; YI et al., 2017).

O ciprofloxacino apresenta amplo espectro de ação, com alta atividade contra espécies de bactérias Gram-negativas, incluindo *Pseudomonas aeruginosa*. Mostra-se também moderadamente eficaz contra microrganismos Gram-positivos. Os anaeróbios são, em geral, menos sensíveis. Esta fluorquinolona apresenta rápida ação bactericida, pois pode afetar as enzimas DNA-girase (topoisomerase II) e topoisomerase IV, impedindo a replicação do DNA e levando a morte celular bacteriana (DE SOUZA, 2005; GALANI et al., 2014; MESALLATI; MUGHEIRBI; TAJBER, 2016; YI et al., 2017).

Embora o ciprofloxacino seja um antibiótico muito prescrito e com grande interesse comercial, é caracterizado como um composto pertencente à classe 4 do BCS, o que significa que esse API apresenta dificuldade para atravessar biomembranas e é pouco solúvel em água (BREDA et al., 2009; LINDENBERG; KOPP; DRESSMAN, 2004; REDDY et al., 2011).

1.1.4. Cocristais de ciprofloxacino

Ainda são poucos os trabalhos encontrados na literatura sobre a preparação de cocristais de ciprofloxacino, entretanto esses estudos podem auxiliar na obtenção de novos cocristais deste API, visando melhorar suas propriedades físico-químicas. Abaixo descrevemos alguns trabalhos encontrados sobre a preparação de sais e cocristais desta fluorquinolona.

Reddy e colaboradores (REDDY et al., 2011) descreveram a preparação de seis novos sais dos antibióticos norfloxacino e ciprofloxacino com ácidos carboxílicos a partir da mistura estequiométrica dos APIs e os ácidos com posterior cristalização em solventes ou mistura de solventes. Cinco destes sais foram obtidos na forma de hidratos, com diferentes teores de água. Estes sais se mostraram mais solúveis e exibiram rápida dissolução em água pura e em tampão fosfato do que os fármacos puros, mas a ordem é invertida em meio ácido. Além disso, os sais se mostraram quimicamente estáveis nas condições da medida de dissolução, enquanto que o norfloxacino puro apresentou transformações de fase para o hidrato de norfloxacino no fim do experimento.

O primeiro cocrystal relatado na literatura entre duas fluoroquinolonas foi descrito por Vitorino e colaboradores (VITORINO et al., 2013). Em seu trabalho, os autores descreveram a síntese de um cocrystal entre ciprofloxacino (CIP) e norfloxacino (NOR), em quantidades estequiométricas, dando origem a um cocrystal com ponto de fusão intermediário ao de seus precursores isolados. O cocrystal apresenta uma unidade assimétrica composta por 3 formas zwitteriônicas independentes (A, B e C), unidas por ligações de hidrogênio em um arranjo de “prisma triangular”, com contribuições de CIP, NOR e moléculas de água. Segundo os autores, a presença de água em sua estrutura foi confirmada por dos dados de termogravimetria (TG). A formação do cocrystal entre estas duas fluoroquinolonas foi confirmada através dos dados experimentais coletados, uma vez que a amostra apresentou propriedades físico-químicas diferentes de seus precursores, ciprofloxacino e norfloxacino (SHEN et al., 1989).

Em seu trabalho, Martínez-Alejo e colaboradores (MARTÍNEZ-ALEJO et al., 2014) descreveram a formação dos cocristais de sais de cloridrato de ciprofloxacino e de moxifloxacino com o coformador ácido 4-hidroxibenzoico, ambos na razão estequiométrica 1:1. Segundo os autores, a nova fase sólida

pode ser formada por diferentes metodologias como moagem assistida por solvente, cristalização por evaporação de solvente, transformação de fase mediada por solução e processo de cristalização. Eles relataram que análises das estruturas cristalinas dos cocristais revelaram variações significativas nas interações supramoleculares entre os compostos iônicos nestes sólidos devido a incorporação do ácido 4-hidroxibenzoico. A cocrystalização do cloridrato de ciprofloxacino levou à formação de um sólido com solubilidade e taxa de dissolução menores do que o composto de partida. Por outro lado, o cocrystal formado pelo moxifloxacino apresentou uma tendência oposta, tendo uma melhora no desempenho biofarmacêutico quando comparado ao sal de cloridrato de moxifloxacino inicial.

1.1.5. Coformadores

Como já descrito anteriormente, os coformadores, são substâncias consideradas seguras para o consumo humano, que fazem papel importante na cocrystalização, pois são os formadores de supramoléculas com o API, exibindo grupos funcionais compatíveis com o mesmo. Sendo assim, para este trabalho, foram escolhidos como coformadores os compostos: ácido *para*-aminobenzoico (PABA), ácido pirazinóico (APZ), ácido nicotínico (ANC) e ácido isonicotínico (AINC), apresentados na Figura 1.7.

O ácido 4-aminobenzoico ou *p*-aminobenzoico (PABA), é um sólido branco-amarelado que possui fórmula e peso molecular igual à $C_7H_7NO_2$ e $137,14 \text{ g mol}^{-1}$, respectivamente. Este composto também é conhecido como vitamina B₁₀, não sintetizado pelo corpo humano e que pode ser encontrado em alimentos, além de ser amplamente utilizado como bloqueador de radiação UV. No organismo humano, é necessário para a síntese do ácido fólico (AKBEROVA, 2002; TEIXEIRA et al., 2016).

O ácido pirazinóico ou ácido 2-pirazinocarboxílico (APZ) é o produto da bioconversão da pirazinamida pela enzima pirazinamidase, o qual é considerado a forma ativa com atividade contra *Mycobacterium tuberculosis*. Com fórmula molecular $C_5H_4N_2O_2$, este ácido é comercialmente disponível, estável, solúvel em água e que exibe uma rica química de coordenação, sendo amplamente utilizado na preparação de diferentes complexos metálicos, polímeros de coordenação ou estruturas metal-orgânicas (BARSZCZ et al., 2012; ETAIW; EL-

BENDARY, 2018; FERNANDES; FELLI, 2009; KIRILLOV; SHUL'PIN, 2013; MINIYAR; MOKALE; MAKHIJA, 2017).

Também conhecido como niacina ou vitamina B₃, o ácido nicotínico (ANC) é um importante componente biológico para o corpo humano, uma vez que este é o produto de degradação do triptofano. É uma vitamina solúvel em água que participa de mais de 50 funções metabólicas, todas as quais são importantes na liberação da energia dos carboidratos. Além disso, em doses altas é capaz de diminuir os níveis de colesterol no plasma humano (CARLSON, 2005; PAUCEAN et al., 2010; SOMPHON; HALLER, 2013).

Isômero do ácido nicotínico, o ácido isonicotínico (AINC) também é utilizado na formação de cocristais. Quimicamente é o ácido piridina-4-carboxílico, amplamente utilizado como um reagente anticorrosivo e aditivo alimentar, além de ser um importante intermediário de síntese da droga isoniazida, que tem atividade antituberculosa (ABRAHAM; ACREE, 2013; SOMPHON; HALLER, 2013; ZHAO et al., 2017)

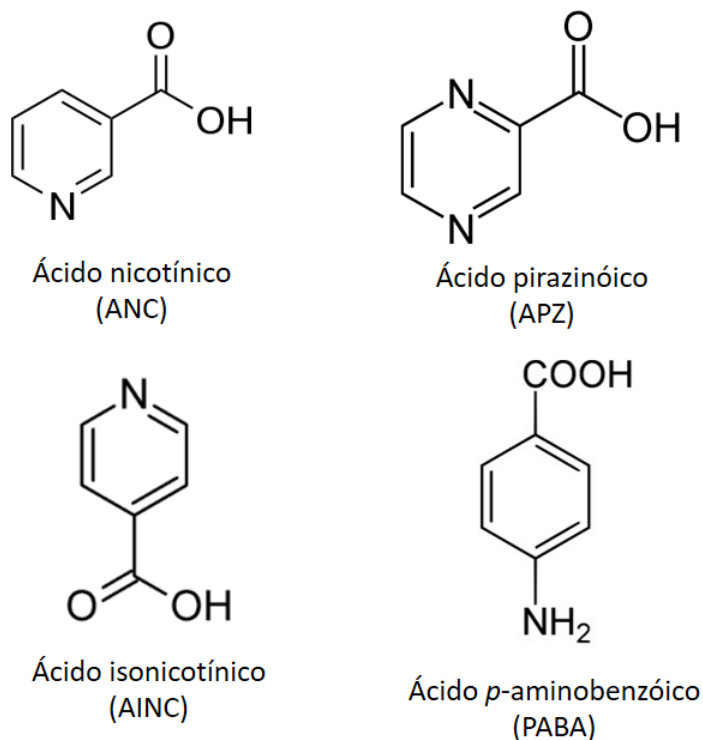


Figura 1.7 – Fórmulas estruturais dos coformadores utilizados neste estudo.

Fonte: Elaborado pela autora.

Desta forma, este trabalho visou o estudo da formação dos cocristais farmacêuticos sintetizados entre o antibiótico ciprofloxacino, devido sua baixa solubilidade aquosa e baixa permeabilidade em membranas intestinais,

juntamente com os ácidos nicotínico, isonicotínico, pirazinóico e *p*-aminobenzóico, utilizados como coformadores. A síntese destes cocristais buscou a melhoria nesta precária propriedade físico-química do fármaco, sendo realizado um estudo comparativo das solubilidades encontradas para os cocristais e princípio ativo puro.

1.2. OBJETIVOS

1.2.1. Objetivos Gerais

O presente trabalho tem como objetivos a síntese e caracterização dos cocristais formados entre o antibiótico ciprofloxacino (CIP) e alguns coformadores (ANC, AINC, APZ e PABA), bem como o estudo da solubilidade dos mesmos.

1.2.2. Objetivos Específicos

Constituem-se os objetivos específicos deste trabalho:

- Obtenção dos cocristais de ciprofloxacino através da síntese mecanoquímica.
- Caracterização dos compostos puros e sintetizados através de análise térmica (TG-DTA e DSC), difratometria de raios X do pó (DRXP) e espectroscopia vibracional de absorção na região do infravermelho (IV).
- Construção dos diagramas de fase binários para as misturas entre API e coformadores.
- Validar método analítico quantitativo para determinação de ciprofloxacino.
- Estudo da solubilidade do ciprofloxacino e cocristais obtidos em água e tampão fosfato pH 6,8.

2. CAPÍTULO II – SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DOS COCRISTAIS DE CIPROFLOXACINO

2.1. INTRODUÇÃO

Cocristais apresentam uma oportunidade para manipular o arranjo de moléculas no estado sólido usando estratégias de planejamento baseadas em síntons supramoleculares. Várias técnicas para a preparação de cocristais foram recentemente reconhecidas como alternativas aos métodos tradicionais de cocristalização em solução, em particular métodos mecanoquímicos de moagem à seco ou assistida por solvente, pois oferecem uma metodologia fácil e de baixo ou nenhum consumo de solventes (FRIŠČIĆ et al., 2009; THAKURIA et al., 2013; WEYNA et al., 2009).

A mecanoquímica, moagem de sólidos, é uma metodologia viável para preparar cocristais. Quando adicionado uma pequena quantidade controlada de solvente à moagem, ou seja, moagem assistida por solvente, há um aumento significativo na cinética de formação do cocristal. A moagem assistida por solvente pode ainda oferecer outras vantagens em relação à cristalização em solução, uma vez que não é necessária a dissolução dos precursores, além de poder produzir cocristais que não seriam facilmente obtidos através do método tradicional (WEYNA et al., 2009).

A caracterização de cocristais envolve tanto propriedades físicas, quanto estruturais. Diversas técnicas podem ser empregadas quando da caracterização de um cocristal dentre elas estão a análise térmica, a difratometria de raios X pelo método do pó e a espectroscopia vibracional de absorção no infravermelho (SEKHON, 2009), as quais foram empregadas neste estudo.

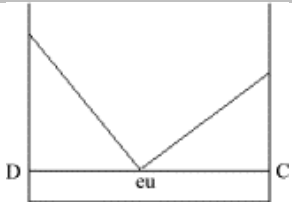
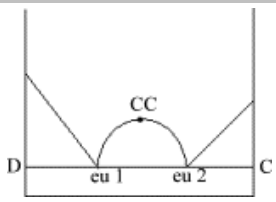
A análise térmica é um conjunto de técnicas utilizadas na área farmacêutica há muito anos, podendo ser definida como “o estudo da relação entre uma propriedade da amostra e sua temperatura, enquanto a amostra é aquecida ou resfriada de maneira controlada”. Técnicas como termogravimetria (TG), termogravimetria derivada (DTG), análise térmica diferencial (DTA), calorimetria exploratória diferencial (DSC), análise termomecânica (TMA) e análise de gás liberado (EGA) são muito utilizadas, permitindo a obtenção de informações como: variação de massa, estabilidade térmica, ponto de fusão e pureza, caracterização e quantificação dos gases liberados da amostra, calores de transição e calores específicos, bem como cinética de reação, transições vítreas, diagramas de fase, etc. (IONASHIRO; CAIRES; GOMES, 2014).

A construção de diagramas de fase binários pode auxiliar a compreensão de curvas DSC de compostos eutéticos e cocristais. Eles podem ser determinados através de métodos termoanalíticos, como DSC e DTA, na qual misturas contendo proporções diferentes de componentes são analisadas (GIRON, 1998; LORENZ; SEIDEL-MORGENSTERN, 2002). Para determinar teoricamente a curva do diagrama de fase binário, utiliza-se uma expressão termodinâmica clássica do tipo Van't Hoff, a equação (2.1) de Schröder-Van Laar, em que x é a fração molar de um componente na mistura, ΔH_0 e T_0 são os correspondentes calor de fusão (J mol^{-1}) e temperatura de fusão (K) do composto puro, respectivamente, T é o ponto de fusão da mistura binária em x , e R a constante dos gases ($8,134 \text{ J.K}^{-1}\text{mol}^{-1}$) (LORENZ; SEIDEL-MORGENSTERN, 2002).

$$\ln x = \frac{\Delta H_0}{R} \left(\frac{1}{T_0} - \frac{1}{T} \right) \quad \text{Equação 2.1}$$

Na prática, o diagrama de fase binário pode ser interpretado, uma vez que misturas eutéticas exibem um diagrama com forma de “V” padrão, enquanto que a formação de cocristais assume a forma de “W” característico (Li et al., 2014), conforme representado na Tabela 2.1. O formato característico do diagrama de fases binário auxilia na caracterização e distinção desses tipos de compostos.

Tabela 2.1 – Características distintivas de eutéticos e cocristais.

Características	Eutético	Cocrystal
Estado do material	cristalino	cristalino
Número de fases	múltiplas	única
Estequiometria	indefinida	bem definida
Diagrama de fase		

Fonte: Adaptado de Li et al (2014, p. 784)

A difratometria de raios X, podendo ser de monocristal ou pelo método do pó, possui a vantagem de não ser destrutiva, além de serem necessárias pequenas quantidades de amostra, é considerada a confirmação definitiva de uma fase, pois pode, geralmente, mostrar diferenças significativas entre as formas cristalinas, fornece uma compreensão profunda da estrutura e uma

“impressão digital” da fase sólida (POIESZ; GRUNDNER; REDMAN-FUREY, 2006).

O uso da espectroscopia vibracional de absorção no infravermelho na indústria farmacêutica está ganhando muita popularidade como uma ferramenta quantitativa devido à sua natureza de medição rápida e não destrutiva, preparação simples de amostra, facilidade de uso e menor ou nenhum consumo de solvente para monitorar a qualidade, bem como quantidade de matérias-primas e produtos acabados, além de gerar informações químicas e físicas simultaneamente (MALLAH et al., 2015; SARRAGUÇA et al., 2014).

2.2. MATERIAIS E MÉTODOS

Os reagentes utilizados para a síntese dos cocristais farmacêuticos estão dispostos na Tabela 2.2.

Tabela 2.2 – Descrição da procedência e pureza dos reagentes utilizados, bem como suas respectivas siglas.

Reagente	Siglas	Procedência	Pureza (%)
Ciprofloxacino	CIP	Sigma Aldrich	≥ 98
Ácido Nicotínico	ANC	Sigma Aldrich	≥ 99,5
Ácido Isonicotínico	AINC	Sigma Aldrich	≥ 99
Ácido Pirazinóico	APZ	Sigma Aldrich	≥ 99
Ácido <i>p</i> -Aminobenzóico	PABA	Sigma Aldrich	≥ 99
Etanol	EtOH	Araçaprolab	98

Fonte: Elaborado pela autora.

2.2.1. Síntese dos cocristais

Os cocristais de CIP com os coformadores ANC, AINC, APZ e PABA, foram sintetizados pelo método mecanoquímico, que consiste na moagem, em fase sólida, da mistura dos reagentes (API e coformadores), num moinho de bolas, assistido ou não por solvente.

As moagens foram realizadas no moinho da Retsch, modelo MM 400, em jarro de aço inox, utilizando-se apenas uma esfera de aço inox, em duas condições distintas:

- Massa total de amostra de aproximadamente 500 mg por moagem, tempo de 30 min e 30Hz de frequência, com ou sem a adição de 125µL de solvente etanol (EtOH);

- Massa total de amostra de aproximadamente 100 mg por moagem, tempo de 30min e 15 Hz de frequência, com ou sem a adição de 25µL de EtOH;

As variações nas condições de síntese foram propostas afim de se obter um processo com menor demanda de energia, menor utilização de matéria prima, tornando-se assim, menos custoso. A estequiometria 1:1 (mol/mol) entre API e coformadores e o tempo de síntese foram os mesmos em ambas as condições, além da razão de solvente adicionada (0,25 µL mg⁻¹ de amostra), conforme relatado por Friscic e colaboradores (FRIŠČIĆ et al., 2009).

Todas as amostras sintetizadas foram colocadas em uma estufa à 50 °C por 24 horas, afim de eliminar o solvente residual e/ou água adsorvida pela mesma.

2.2.2. Caracterização dos compostos obtidos

2.2.2.1. Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

As curvas DSC foram obtidas utilizando-se o equipamento DSC Q10 da TA Instruments. Foram utilizados, como suporte de amostra e referência, cadinhos de alumínio de 40 µL. A razão de aquecimento foi de 10 °C min⁻¹, massa de amostra da ordem de 2,5 mg, sob atmosfera dinâmica de ar sintético com vazão de 50 mL min⁻¹.

2.2.2.2. Termogravimetria e Análise Térmica Diferencial simultânea (TG-DTA)

As curvas TG-DTA foram obtidas utilizando-se o equipamento da TA Instruments, modelo SDT 2960. As curvas foram obtidas em cadinho de α- Al₂O₃ (70 µL), com massa de amostra de aproximadamente 5,0 mg, razão de aquecimento de 10 °C min⁻¹, sob atmosferadinâmica de ar sintético com vazão de 50 mL min⁻¹ e intervalo de temperatura de 30-800 °C.

2.2.2.3. Espectroscopia vibracional de absorção na região do infravermelho (IV)

Os espectros no IV do ciprofloxacino, coformadores e misturas estudados neste trabalho foram obtidos no espectrômetro da Thermo Scientific, Nicolet iS10, através do método de refletância total atenuada com cristal de germânio,

no intervalo de 675 cm^{-1} a 4000 cm^{-1} , resolução de 4 cm^{-1} e 32 varreduras por espectro.

2.2.2.4. Difractometria de raios X do pó (DRXP)

Os difratogramas de raios X do pó foram obtidos no equipamento da RIGAKU, modelo MiniFlex, utilizando-se tubo de cobre, submetido a 40 kV, corrente de 15 mA, radiação $\text{CuK}\alpha$ ($\lambda = 1,54056\text{ \AA}$) e $5^\circ \leq 2\theta \leq 50^\circ$.

2.2.2.5. Diagramas de fase binários

Os diagramas de fase binários experimentais e teóricos foram construídos a partir das temperaturas T_{onset} (indica o início do processo de fusão, com o surgimento da primeira gota de líquido) e T_{pico} (indica a total fusão da amostra) obtidas das curvas DSC das frações molares 0, 0,25, 0,33, 0,5, 0,66, 0,75, e 1,0. O diagrama de fase binário teórico foi obtido através da equação de Schröder-Van Laar.

2.2.2.6. Calorimetria exploratória diferencial com sistema de microscópio (DSC-fotovisual)

As curvas imagens de DSC-fotovisual foram obtidas pelo equipamento da Mettler Toledo, modelo DSC 1 Star^e System com câmera digital SC 30 acoplada, que incorpora um sensor CMOS de 3,3 megapixel, subconjunto óptico mecânico Navitar 1-6232D com zoom de 6,5 x. Utilizou-se massa de amostra de aproximadamente 2,5 mg, razão de aquecimento de $10\text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$, em atmosfera dinâmica de ar sintético com vazão de 50 mL min^{-1} , cadinho de α -alumina aberto ($30\text{ }\mu\text{L}$), num intervalo de aquecimento de acordo com a estabilidade térmica de cada composto.

2.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Inicialmente, foi realizada a caracterização do API e coformadores selecionados para este trabalho, verificando se as possíveis condições de moagem e uso de solvente afetariam significativamente as propriedades térmicas e estruturais dos mesmos e como resultado, essas análises revelaram que nem a moagem e nem a utilização do etanol modificaram consideravelmente as propriedades dos compostos.

2.3.1. Sistema Ciprofloxacino-Ácido nicotínico (CIP-ANC)

2.3.1.1. Análise Térmica (TG-DTA e DSC)

As curvas TG-DTA e DSC do CIP e ANC puros e do sistema CIP-ANC são apresentadas na Figura 2.1.

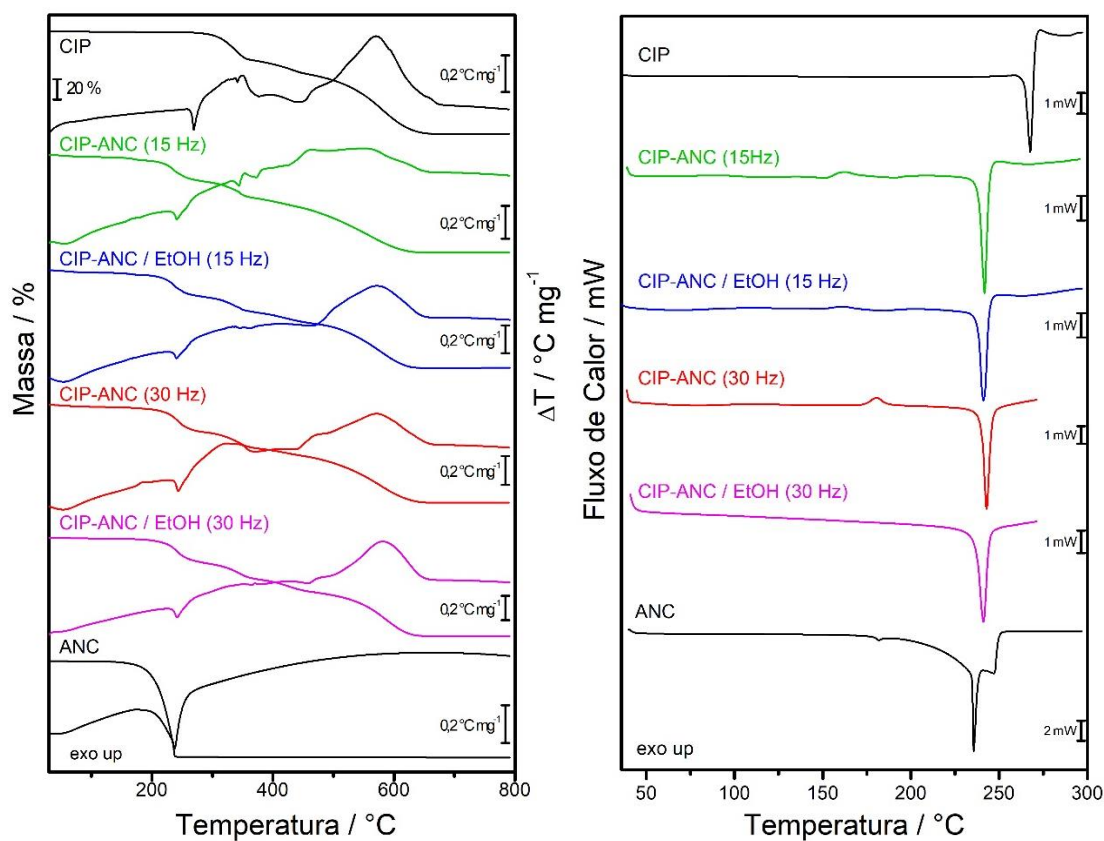


Figura 2.1 – Curvas TG-DTA e DSC dos compostos puros e do sistema CIP-ANC.

Fonte: Elaborado pela autora.

As curvas TG-DTA do CIP apresentam três etapas sobrepostas de perda de massa, correspondendo a eventos endotérmicos e exotérmicos na curva DTA, que são atribuídos à decomposição térmica e oxidação do fármaco (MESALLATI; MUGHEIRBI; TAJBER, 2016). O princípio ativo é termicamente

estável até 280°C. Além disso, também é observado um pico endotérmico em 268 °C (DSC) e 270 °C (DTA), sem perda de massa na curva TG, que é atribuído à fusão incongruente do composto.

Já as curvas TG-DTA do ácido nicotínico mostram que o composto é termicamente estável até 150 °C e exibe perda de massa em uma única etapa, correspondendo ao pico endotérmico em 247 °C (DSC), que é atribuída à evaporação do composto (DO NASCIMENTO et al., 2014). A curva DSC apresenta mais dois picos, sendo o primeiro pequeno pico referente à transição de fase reversível em 182 °C, e o segundo a fusão do composto em 235 °C (DO NASCIMENTO et al., 2014).

As curvas TG-DTA e DSC do sistema CIP-ANC sintetizado com e sem solvente mostram um comportamento térmico característico, não sendo apenas a combinação das curvas termoanalíticas dos compostos puros.

Para o sistema, as curvas TG-DTA mostram quatro etapas de perda de massa atribuídas à decomposição térmica e volatilização do material, além de uma estabilidade térmica de até 200 °C, intermediária em relação à do API e coformador. A primeira etapa de perda de massa, sem evento térmico associado na curva DTA, é atribuído ao início da decomposição térmica do cocrystal com liberação do coformador ($\Delta m_{\text{Calc.}} = 26,8 \%$; $\Delta m_{\text{TG}} = 27,0 \%$). Nessa primeira etapa as curvas DTA e DSC mostram um pico endotérmico agudo em 241 °C e 242 °C respectivamente, também intermediário ao do CIP e ANC, atribuído à fusão incongruente do sistema. As outras três etapas de perda de massa, correspondendo a eventos endotérmicos e exotérmicos na curva DTA, estão associadas a degradação térmica do fármaco remanescente. O pequeno pico exotérmico em torno de 160 °C (para a moagem à 15 Hz) e 180°C (para a amostra moída sem solvente à 30 Hz) na curva DSC, exceto para a amostra CIP-ANC / EtOH (30 Hz), é atribuído a um processo físico, o qual será posteriormente discutido junto com os dados de DRXP e IV.

Esses resultados termoanalíticos do sistema acima apresentados sugerem a formação do cocrystal em todas as condições de síntese empregadas (CHERUKUVADA; NANGIA, 2014).

2.3.1.2. Espectroscopia no infravermelho (IV)

O ciprofloxacino anidro pode existir em duas formas diferentes, a não-ionizada e a zwitteriônica (MESALLATI; MUGHEIRBI; TAJBER, 2016), e conforme observado na Figura 2.2 (e na Tabela A.1 em anexo), a amostra de ciprofloxacino encontra-se na forma de zwitterion, confirmada pela presença das bandas atribuídas ao grupo carboxilato (COO^-) e amônio secundário (NH_2^+), com as vibrações de estiramento COO^- assimétrica e simétrica, respectivamente, em torno de 1589 cm^{-1} e 1375 cm^{-1} , e a banda pouco intensa do grupo NH_2^+ na região de $2580\text{-}2680\text{ cm}^{-1}$. Além disso, é observada no espectro do CIP a banda forte em 1616 cm^{-1} , atribuída ao estiramento $\text{C}=\text{O}$ do grupo cetona (CHOI et al., 2017; MESALLATI; MUGHEIRBI; TAJBER, 2016).

O espectro no IV do ácido nicotínico (ANC) apresenta vibrações $\text{C}=\text{O}$ em torno de 1706 cm^{-1} , além de duas bandas largas em torno de 2500 cm^{-1} e 1900 cm^{-1} , indicando presença de ligações de hidrogênio $\text{O}-\text{H}_{(\text{ácido carboxílico})} \cdots \text{N}_{(\text{aromático})}$ entre as moléculas do coformador (AAKERÖY et al., 2006; ALLAN; BAIRD; KASSYK, 1979; KOCZÓN et al., 2003; RICARDO et al., 2011).

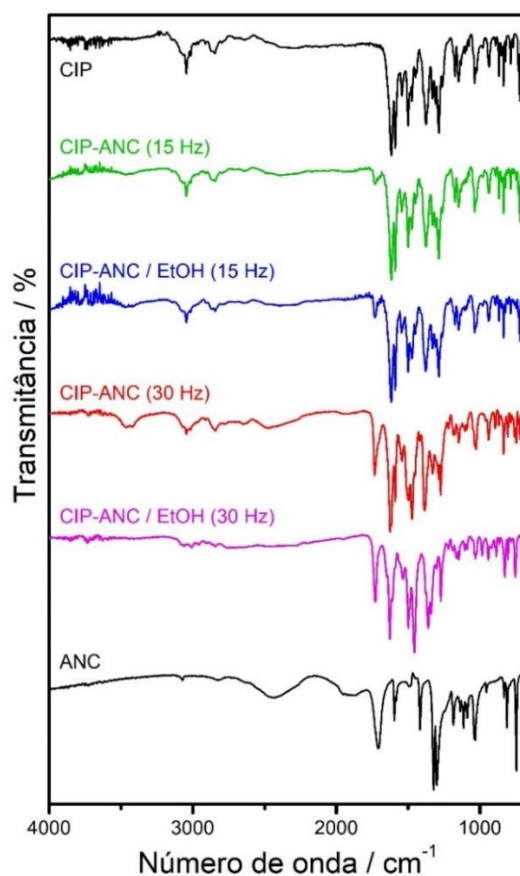


Figura 2.2 – Espectros no IV dos compostos puros e do sistema CIP-ANC.

Fonte: Elaborado pela autora.

As análises de IV do sistema CIP-ANC mostram o surgimento da banda em 3470 cm^{-1} referente ao estiramento O-H, banda de O-H fraca e muito alargada sobreposta por absorções C-H na região de $3400\text{-}2400\text{ cm}^{-1}$ (mais perceptível na amostra CIP-ANC (30 Hz)), deslocamento hipsocrômico da carbonila do ácido carboxílico de 1706 cm^{-1} para 1730 cm^{-1} , além da diminuição na intensidade das bandas referentes ao íon carboxilato do CIP e ligação de hidrogênio O-H...N do coformador, sugerindo a formação de novos sítios supramoleculares, tais como a interação ácido-ácido ilustrada na Figura 2.3.

A amostra CIP-ANC / EtOH (30 Hz) apresenta um espectro bastante distinto dos demais, indicando a formação de uma nova fase cristalina nesta amostra. É possível verificar a presença de bandas como C=O_(ácido) em torno de 1729 cm^{-1} , C=O_(cetona) em 1627 cm^{-1} e, banda de O-H fraca e muito alargada sobreposta por absorções C-H na região de $3200\text{-}2000\text{ cm}^{-1}$, além da diminuição da banda referente ligação de hidrogênio do coformador e dos estiramentos simétricos e assimétricos do grupo COO⁻ do API.

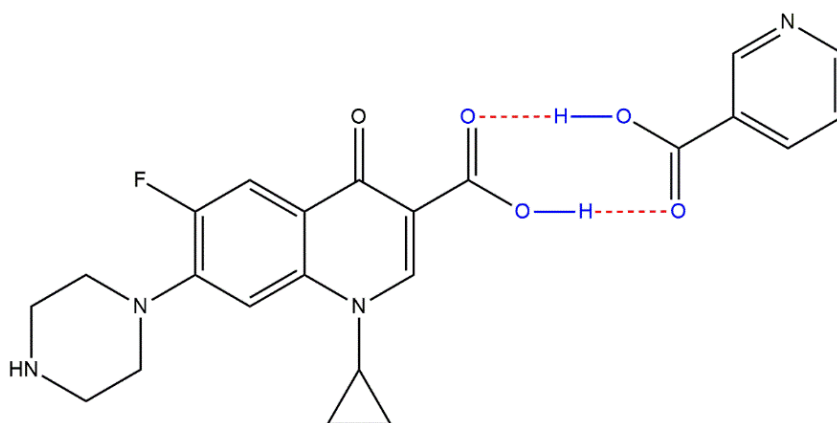


Figura 2.3 – Sugestão de formação de sítio supramolecular para o sistema CIP-ANC.

Fonte: Elaborado pela autora.

2.3.1.3. Difractometria de raios X do pó (DRXP)

Os difratogramas de DRXP do sistema CIP-ANC são apresentados na Figura 2.4. Esses resultados de DRXP do sistema CIP-ANC diferem dos compostos puros, uma vez que novos picos de difração foram observados em baixa intensidade, sendo mais evidente em torno de $5,3^\circ$; $8,6^\circ$; $10,7^\circ$ para as amostras CIP-ANC / EtOH (15 Hz) e CIP-ANC (30 Hz), indicando a presença do cocrystal nessas amostras. A amostra CIP-ANC (15 Hz) não apresenta de forma

evidente esses novos picos, sendo muito semelhante com a combinação dos difratogramas dos precursores. Esta amostra será detalhada na seção 2.3.1.4.

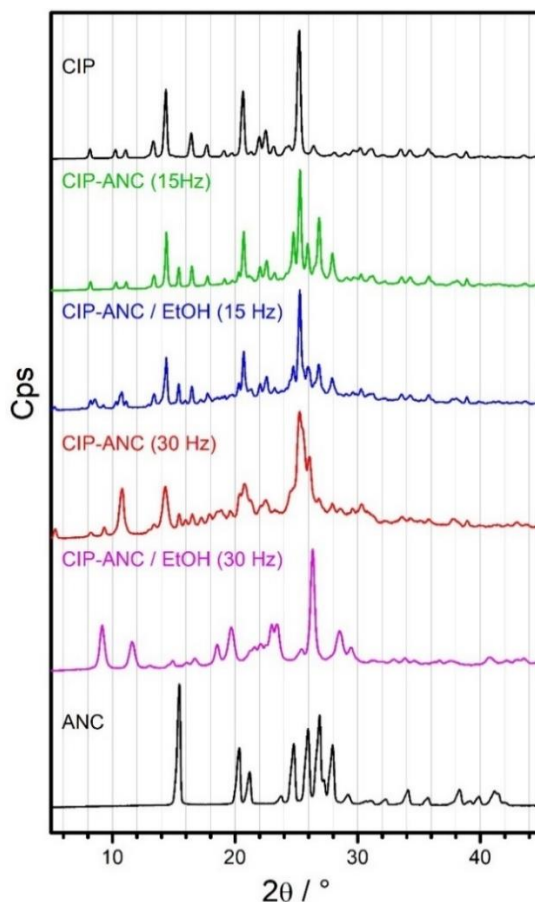


Figura 2 4 – Difratogramas de DRXP dos compostos puros e do sistema CIP-ANC.

Fonte: Elaborado pela autora.

A amostra CIP-ANC / EtOH (30 Hz), por sua vez apresenta um padrão difratométrico distinto dos demais, em que pode ser observada a presença de novos picos de difração em 9,2°; 11,5°; 18,5°; 19,5°; 22,9°; 23,4°; 26,4°; 28,5° e 29,4°, além da ausência de picos característicos do CIP e do ANC, indicando a presença de uma nova fase cristalina distinta e confirmando a formação do cocrystal (CHERUKUVADA; NANGIA, 2014).

As amostras sintetizadas à 30 Hz com ou sem adição de etanol apresentam uma diferença mais significativa quando comparadas com os precursores, uma vez que esta frequência fornece maior energia mecânica para a cocrystalização e o solvente age como catalisador da reação (LIN; HUANG; LIN, 2016). Este comportamento também fica evidente com a análise espectroscópica.

2.3.1.4. Estudo do efeito do aquecimento no processo de cocrystalização

Amostras de CIP-ANC (15 Hz) foram aquecidas até 100 °C, 135 °C e 185 °C (temperaturas antes e pós o evento térmico na curva DSC) no TG-DSC 1 (Mettler Toledo) e os difratogramas e espectros das amostras são apresentados na Figura 2.5, em que pode-se observar que, com o aquecimento da amostra ocorre o surgimento de alguns picos característicos do cocrystal, tanto no DRXP (indicados pelas setas) quanto no IV, sugerindo que o aquecimento (ou “estresse térmico”) favoreça a cocrystalização, como relatado por Lin e colaboradores (LIN; HUANG; LIN, 2016).

Além disso, a amostra aquecida até 185 °C apresenta significativas mudanças no difratograma e no espectro no IV da amostra, sendo agora muito semelhante aos padrões encontrados para o CIP-ANC / EtOH (30 Hz), o que sugere que o pequeno pico exotérmico presente nas curvas DSC do sistema seja atribuído à uma transição de fase polimórfica irreversível. Esses resultados mostram que os polimorfos apresentam uma relação monotrópica, uma vez que o processo é irreversível e o evento térmico na curva DSC é exotérmico (libera energia) (GIRON, 2001).

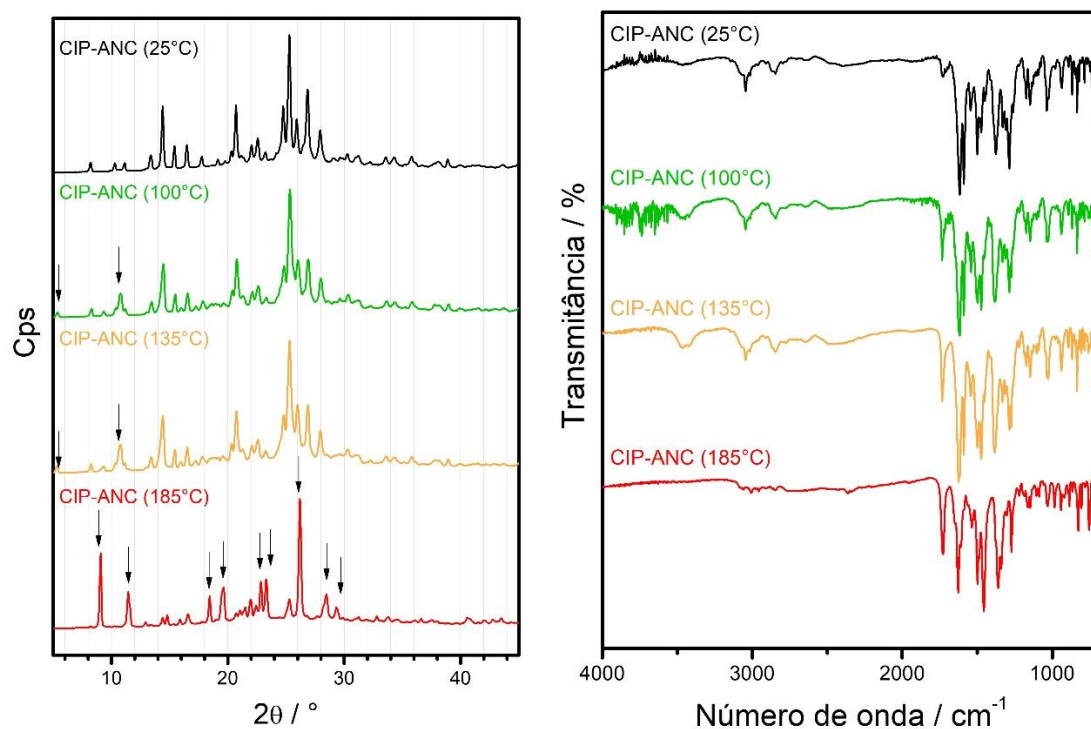


Figura 2.5 – Difratogramas de DRXP e espectros no IV do sistema CIP-ANC (15Hz) aquecido em diferentes temperaturas.

Fonte: Elaborado pela autora.

2.3.2. Sistema Ciprofloxacino-Ácido isonicotínico (CIP-AINC)

2.3.2.1. Análise Térmica (TG-DTA e DSC)

As curvas TG-DTA (Figura 2.6) mostram que este coformador AINC é termicamente estável até 180 °C e apresenta perda de massa em uma única etapa na curva TG, associado ao pico endotérmico alargado em 263 °C na curva DTA e 268 °C na curva DSC, atribuído à sublimação do composto.

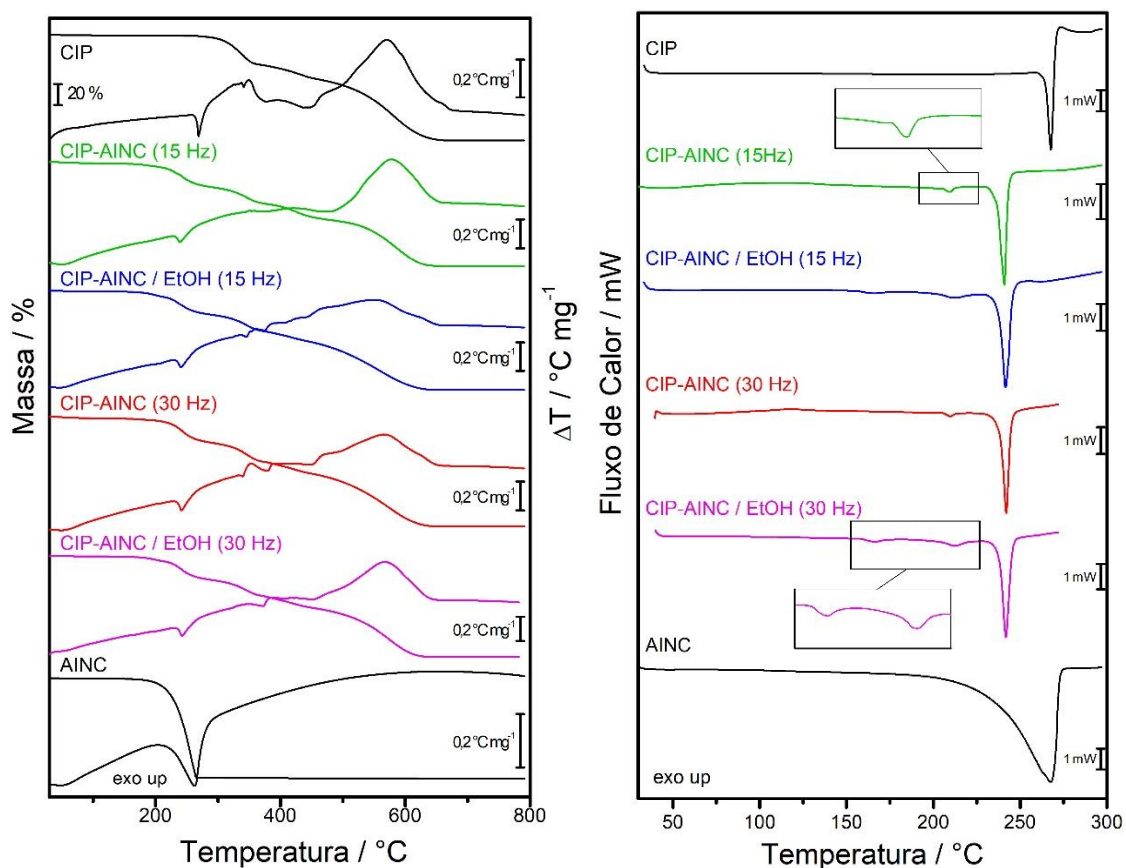


Figura 2.6 – Curvas TG-DTA e DSC dos compostos puros e do sistema CIP-AINC.

Fonte: Elaborado pela autora.

As curvas TG-DTA do sistema CIP-AINC apresentam características próprias, como perfil de decomposição (4 etapas de perda de massa) e estabilidade térmica (190°C) diferentes dos seus componentes puros, não sendo apenas a combinação das curvas dos compostos isolados. A primeira etapa de perda de massa entre 190–268 °C, é atribuída ao início da decomposição térmica do cocristal com liberação do coformador ($\Delta m_{\text{Calc.}} = 26,9\%$; $\Delta m_{\text{TG}} = 23,8\%$). As outras três etapas de perda de massa, correspondendo a eventos endotérmicos e exotérmicos na curva DTA, estão associadas a degradação térmica do fármaco remanescente.

A curva DSC apresenta dois picos endotérmicos (212 °C e 242 °C), o primeiro atribuído à transição de fase cristalina e o segundo atribuído a fusão do sistema. Além disso, as amostras preparadas com adição de solvente, apresentam um terceiro pico muito pequeno na curva DSC em 165 °C também referente à uma transição de fase cristalina. Os picos endotérmicos em 165 °C e 212 °C na curva DSC foram investigados com o auxílio de DRXP e IV, e serão apresentados a seguir no item 2.3.2.4.

Esses resultados termoanalíticos mostram que as amostras CIP-AINC apresentam um comportamento térmico distinto dos componentes individuais, o que sugere a formação de cocrystal (CHERUKUVADA; NANGIA, 2014).

2.3.2.2. Espectroscopia no infravermelho (IV)

Os espectros no IV do ácido isonicotínico, Figura 2.7 e Tabela A.2, apresentam as vibrações na região de 2400 cm⁻¹ e 1900 cm⁻¹, referentes a ligação de hidrogênio entre a hidroxila do grupo ácido carboxílico com o nitrogênio do anel aromático, além do estiramento do grupo C=O_(ácido) em 1705 cm⁻¹ (AAKERÖY et al., 2006; GOWENLOCK et al., 2015; KOCZÓN et al., 2003; RICARDO et al., 2011).

Já para as amostras deste sistema, os espectros no IV mostram surgimento de uma banda fraca em 3440 cm⁻¹ referente ao estiramento O-H, banda fraca e larga de estiramento O-H sobreposta as absorções de estiramento C-H na região de 3300-2400 cm⁻¹ sendo mais perceptível para a amostra CIP-AINC (30 Hz), deslocamento hipsocrômico da carbonila do ácido carboxílico de 1705 cm⁻¹ para aproximadamente 1728 cm⁻¹, além da diminuição da intensidade das bandas referentes ao grupo carboxilato do CIP (1590 cm⁻¹ e 1375 cm⁻¹) e ausência das vibrações da ligação de hidrogênio O-H...N do coformador em 2400 cm⁻¹ e 1900 cm⁻¹, sugerindo a formação de novos sítios supramoleculares.

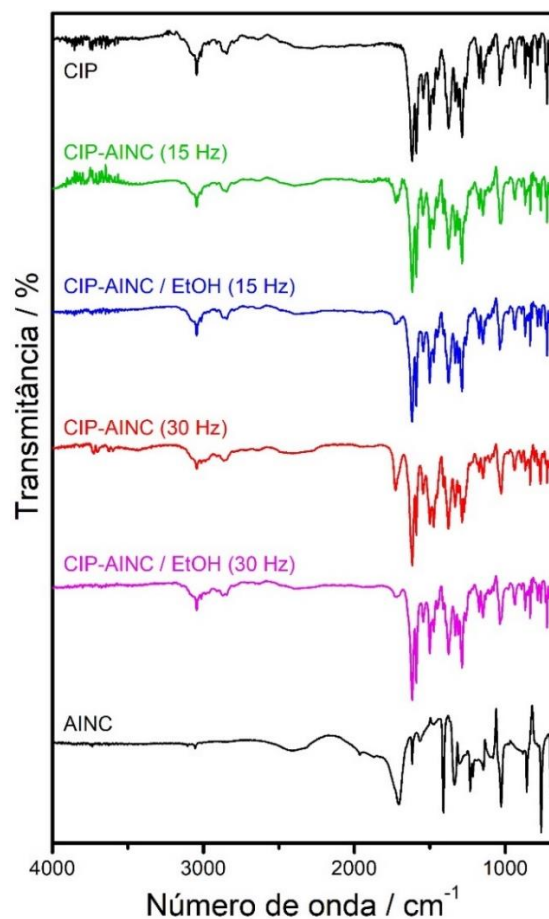


Figura 2.7 – Espectros no IV dos compostos puros e do sistema CIP-AINC.

Fonte: Elaborado pela autora.

É possível observar que, quanto maior a intensidade da carbonila do ácido carboxílico, menor a intensidade do grupo carboxilato, indicando que a interação entre API e coformador ocorre através do grupo ácido, possivelmente pela formação do sinton ácido-ácido, conforme é ilustrado na Figura 2.8.

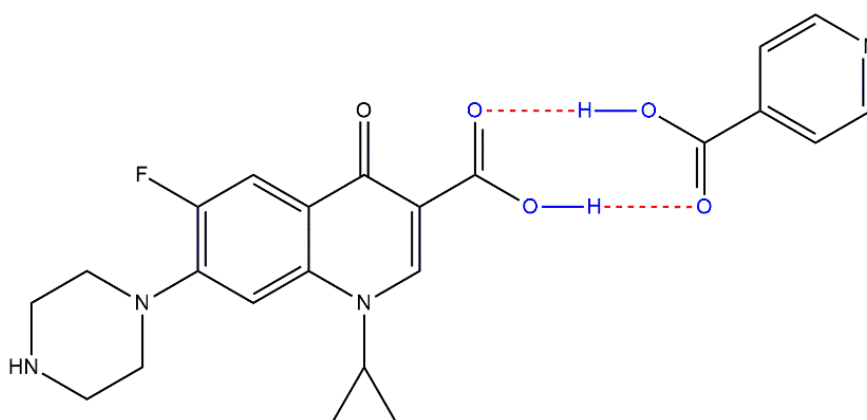


Figura 2.8 – Sugestão de formação de sinton supramolecular para o sistema CIP-AINC.

Fonte: Elaborado pela autora.

2.3.2.3. Difratometria de raios X do pó (DRXP)

Os difratogramas de DRXP são apresentados na Figura 2.9. Os dados difratométricos coletados do sistema CIP-AINC diferem significativamente dos compostos puros, uma vez que novos picos de difração, em baixa intensidade, foram observados em 5,4°; 10,6°; 19,2°; 21,4° e 28,4°, mais evidentemente na amostra CIP-ANC (30 Hz), indicando a presença de uma nova fase cristalina e confirmando a formação do cocrystal.

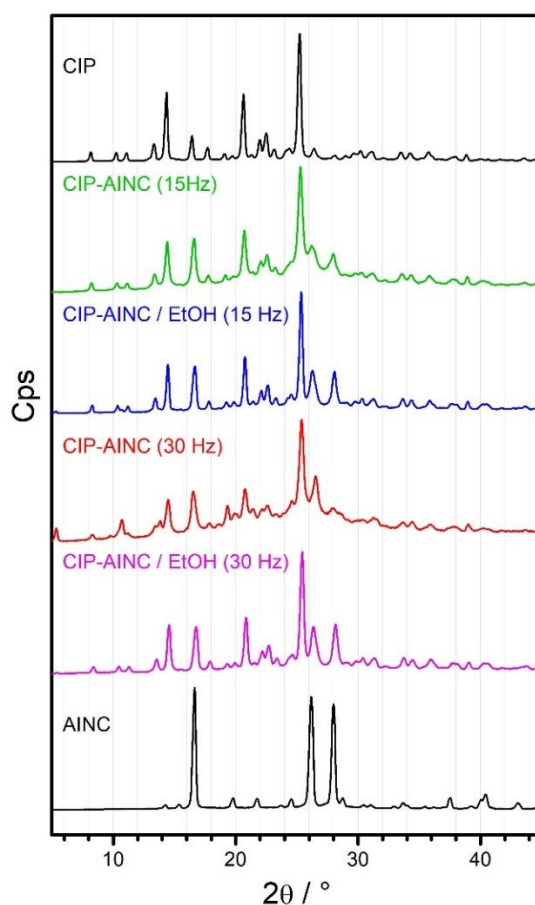


Figura 2.9 – Difratomogramas de DRXP dos compostos puros e do sistema CIP-AINC.

Fonte: Elaborado pela autora.

2.3.2.4. Estudo do efeito do aquecimento no processo de cocrystalização

Nos difratogramas e espectros apresentados na Figura 2.10 da amostra de CIP-AINC / EtOH (15 Hz) que foi aquecida no TG-DSC 1 (Mettler Toledo) até as temperaturas de 150 °C, 190 °C e 220 °C, não são observadas mudanças de deslocamento nos picos de difração e espectrais, o que sugere que os dois

pequenos eventos térmicos em 165 °C e 212°C sejam transições de fase reversíveis que ocorreram no cocrystal durante o aquecimento. Isto sugere uma relação enantiotrópica entre os polimorfos (GIRON, 2001), sendo o obtido pela síntese mecanoquímica o polimorfo mais estável.

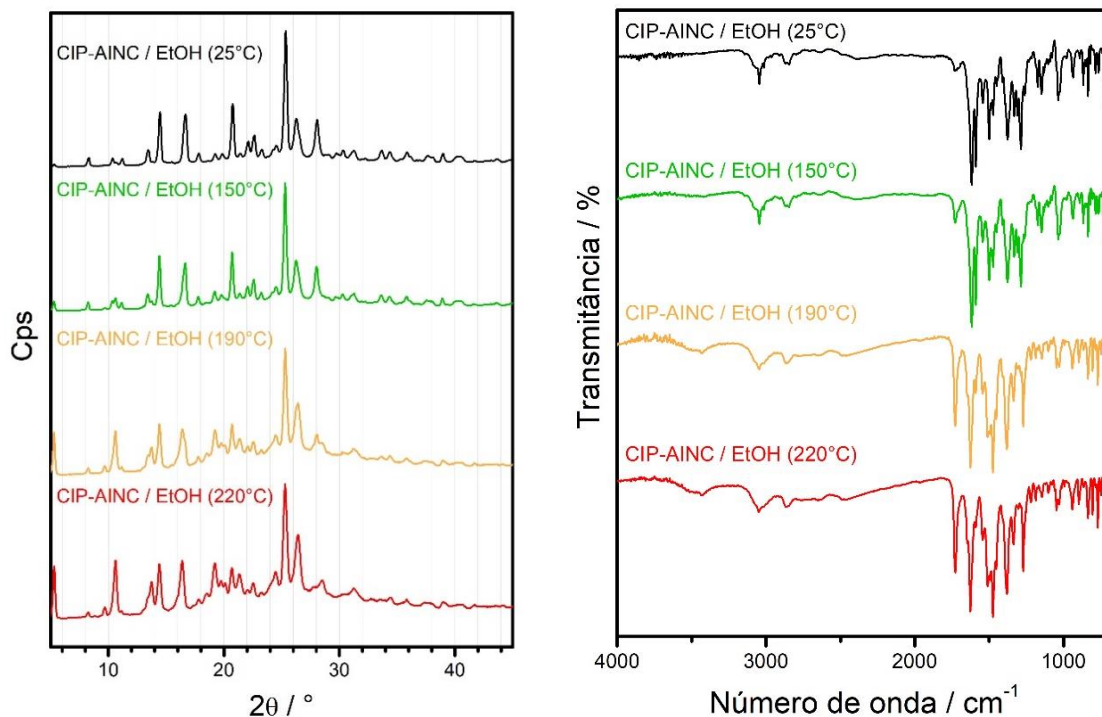


Figura 2.10 – Difrátogramas de DRXP e espectros no IV do sistema CIP-AINC / EtOH (15Hz) aquecido em diferentes temperaturas.

Fonte: Elaborado pela autora.

Além disso, é possível notar que o estresse térmico sofrido pela amostra causa o aumento da intensidade de alguns picos característicos do cocrystal no DRXP, bem como o gradual desaparecimento das vibrações referentes ao grupo carboxilato, aumento da intensidade de C=O(ácido carboxílico) e O-H no espectro de IV, sugerindo que o aquecimento favoreça a cocrystalização de material remanescente não cocrystalizado (LIN; HUANG; LIN, 2016).

Outro experimento realizado foi sintetizar a amostra CIP-AINC sem solvente sob a frequência de 30 Hz, aumentando-se o tempo de moagem em 30, 60 e 90 minutos. Estas amostras foram analisadas por DRXP e DSC e são apresentadas na Figura 2.11.

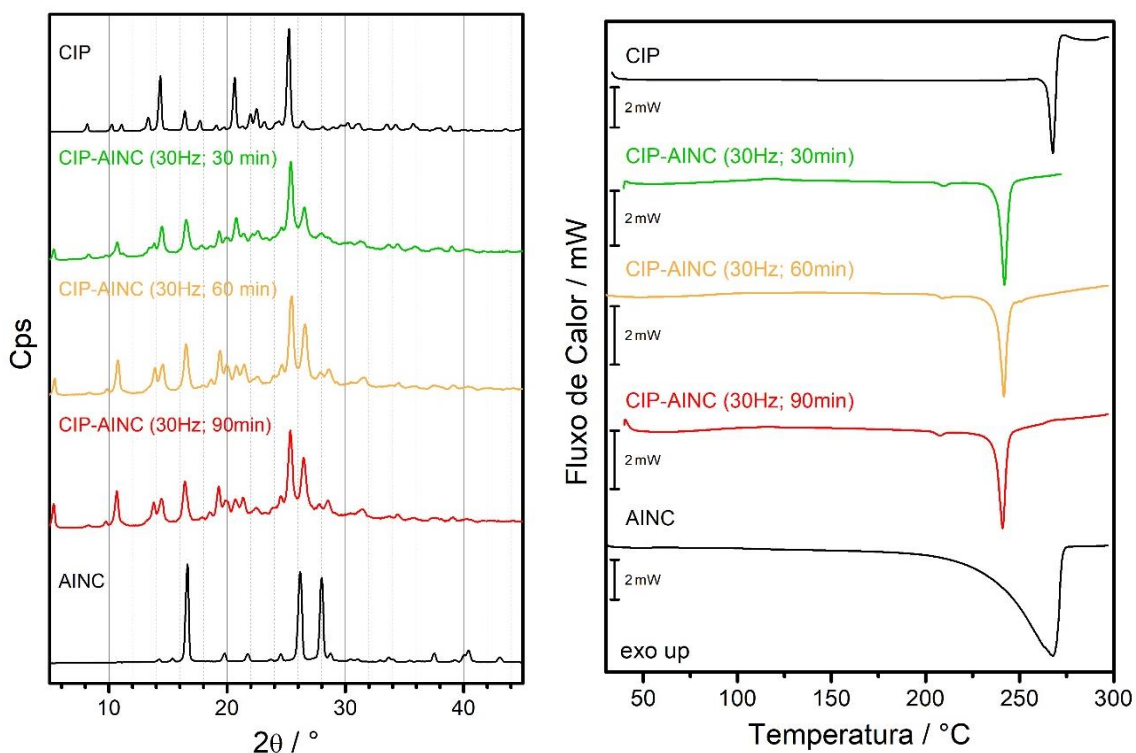


Figura 2.11 – Estudo da variação do tempo de moagem.

Fonte: Elaborado pela autora.

Esses resultados mostram que o aumento nos tempos de moagem favoreceu a cocristalização entre o ciprofloxacino e o ácido isonicotínico. Evidentemente nos difratogramas das amostras com maiores tempos de síntese, ocorre um aumento das intensidades dos picos associados à formação do cocristal.

As curvas DSC presentes na Figura 2.11 confirmam o comportamento distinto do sistema quando comparado ao API e coformador, confirmando a formação do cocristal e que, o aquecimento realizado durante a análise favorece a reação de cocristalização como já dito anteriormente.

2.3.3. Sistema Ciprofloxacino-Ácido pirazinóico (CIP-APZ)

2.3.3.1. Análise Térmica (TG-DTA e DSC)

As curvas TG-DTA, Figura 2.12, mostram que o ácido pirazinóico apresenta perda de massa total em uma única etapa entre 150 – 225 °C, associado ao pico endotérmico em 218 °C na curva DTA. Experimento realizado com o composto colocado em um tubo de ensaio e aquecendo-o em um aparelho de ponto de fusão mostra que ele sublima e condensa nas paredes do tubo, sem ocorrer decomposição térmica.

A curva DSC (Figura 2.12) não apresenta nenhum evento térmico até próximo a temperatura de início de perda de massa na curva TG, o que descarta possíveis transições polimórficas com o aquecimento.

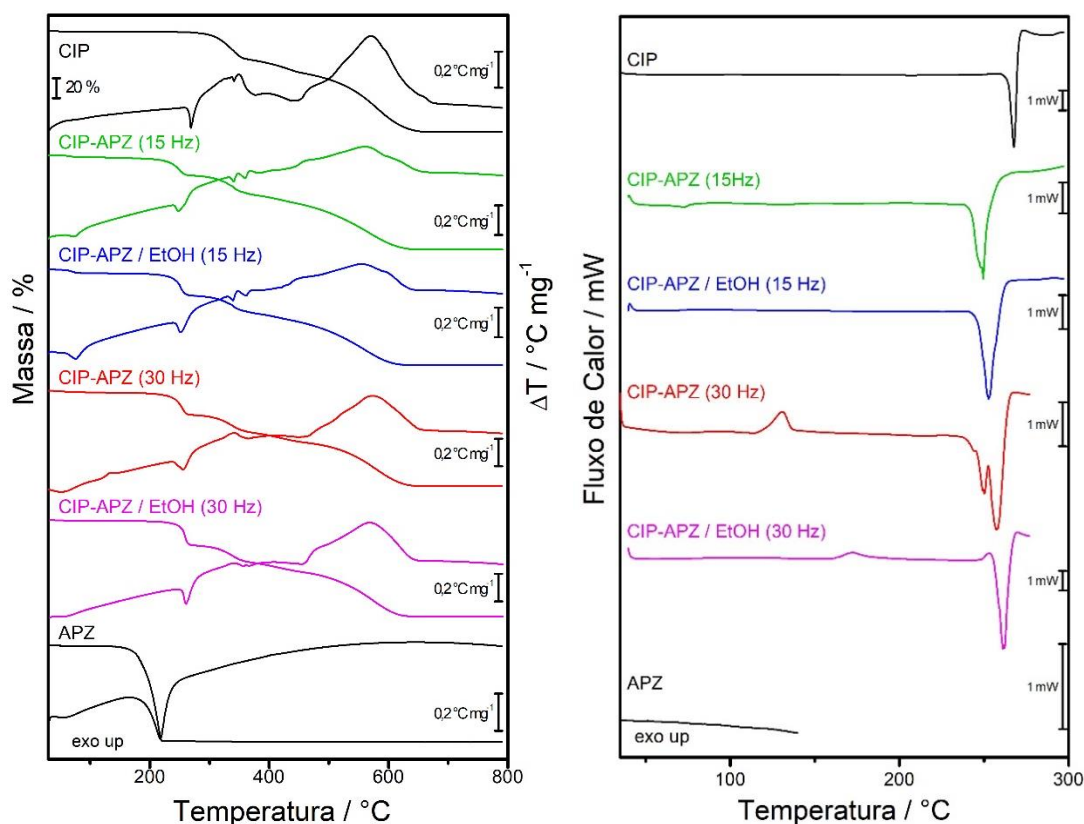


Figura 2.12 – Curvas TG-DTA e DSC dos compostos puros e do sistema CIP-APZ.

Fonte: Elaborado pela autora.

As curvas TG-DTA para o sistema apresentam pelo menos três etapas sobrepostas de perda de massa na curva TG, com estabilidade térmica de aproximadamente 205 °C. A primeira etapa de perda de massa entre 205 – 265 °C, é atribuída ao início da decomposição térmica do cocrystal com liberação do coformador ($\Delta m_{\text{Calc.}} = 27,0\%$; $\Delta m_{\text{TG}} = 26,7\%$). As outras duas etapas de perda de massa, correspondendo a eventos endotérmicos e exotérmicos na curva DTA, estão associadas a degradação térmica do fármaco remanescente. O pico endotérmico em 252 °C (DTA) ou 251 °C (DSC) é atribuído à fusão incongruente do composto. Em exceção, o sistema sintetizado com adição de solvente à 30 Hz apresenta estabilidade térmica em torno de 230 °C e ponto de fusão em 261°C (DSC e DTA).

Na curva DSC da amostra sintetizada sem solvente à 30 Hz (curva vermelha) é observado dois picos de fusão consecutivos (250 °C e 258°C), o que sugere ser uma mistura de polimorfos.

As curvas TG-DTA de ambas as amostras à 15 Hz apresentam ainda um pequeno pico na curva DTA com uma sucinta perda de massa na TG em até 80 °C, associado ao pequeno e quase imperceptível evento presente na DSC, que pode ser atribuído à eliminação de solvente e/ou água adsorvida pelas amostras.

Os eventos exotérmicos em 130 °C e 172 °C presentes nas amostras sintetizadas à 30 Hz foram estudados através do aquecimento dessas amostras até temperaturas antes e depois destes eventos e seguidas pela caracterização por DRXP e IV, como apresentado na seção 2.3.3.4.

2.3.3.2. Espectroscopia no infravermelho (IV)

A Figura 2.13 (e Tabela A.3 em anexo) apresenta os dados espectroscópicos do sistema CIP-APZ, bem como de seus precursores.

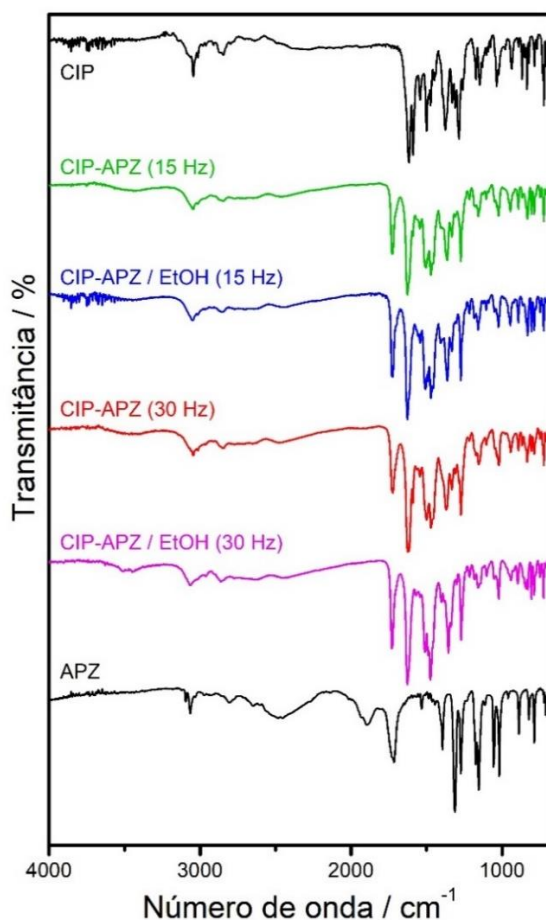


Figura 2.13 – Espectros no IV dos compostos puros e do sistema CIP-APZ.

Fonte: Elaborado pela autora.

O espectro no infravermelho do ácido pirazinóico apresenta vibrações C=O em 1715 cm^{-1} , além das duas bandas largas em torno de 2500 cm^{-1} e 1900 cm^{-1} referentes à ligação de hidrogênio O-H...N entre o ácido carboxílico e o nitrogênio aromático entre as moléculas do coformador (BARSZCZ et al., 2012; ETAIW; EL-BENDARY, 2018).

Ao analisar os espectros na região do infravermelho do sistema CIP-APZ, nota-se uma perceptível mudança em todos os casos, principalmente a ausência das vibrações simétrica e assimétrica do grupo carboxilato do antibiótico CIP e vibrações referentes à ligação de hidrogênio O-H_(ácido carboxílico)...N_(aromático) entre as moléculas de APZ, além do deslocamento hipsocrômico da carbonila do ácido de 1715 cm^{-1} para 1726 cm^{-1} , aproximadamente. São observados ainda, o surgimento de uma banda fraca de O-H em torno de 3450 cm^{-1} , um pequeno deslocamento da carbonila do grupo cetona de 1616 cm^{-1} para 1626 cm^{-1} , bem como o aparecimento da banda alargada de O-H entre 3200 cm^{-1} e 2000 cm^{-1} sobreposta pelos estiramentos C-H, sugerindo a formação de novos sítios supramoleculares estabelecidos no cocrystal, como ligações de hidrogênio ácido-ácido.

2.3.3.3. Difratomia de raios X do pó (DRXP)

Para confirmação das evidências de formação do cocrystal foram realizadas medidas de DRXP e os difratogramas são apresentados na Figura 2.14.

Os difratogramas deste sistema diferem significativamente dos seus precursores. Ambas as amostras à 15 Hz e a amostra sem solvente à 30 Hz apresentam um padrão de difração muito semelhante entre si, embora esta última tenha apresentado amorfização durante a síntese mecanoquímica (DESCAMPS; WILLART, 2016), como sugere o halo de difração em seu difratograma. Estas amostras apresentam novos picos de difração em torno de $5,5^\circ$; $18,9^\circ$; $26,4^\circ$, indicando a presença de uma nova fase cristalina e confirmando a formação do cocrystal.

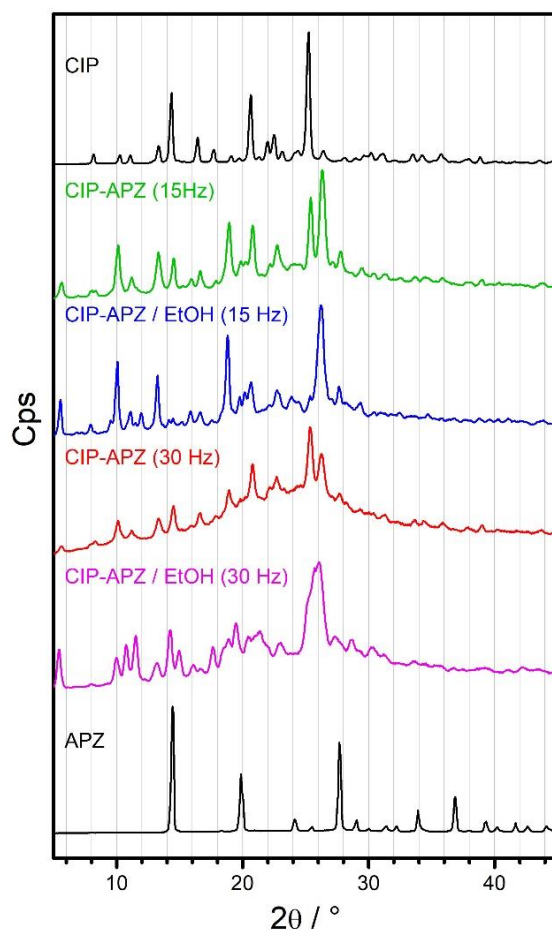


Figura 2.14 – Difratogramas de DRXP dos compostos puros e do sistema CIP-APZ.

Fonte: Elaborado pela autora.

Já para a amostra CIP-APZ / EtOH (30Hz), observa-se um padrão de difração distinto, com novos picos em 5,5°; 10,8°; 11,5°; 15,0°; 18,9°; 19,5°; 26,0°. Esse difratograma diferenciado sugere a síntese de um outro polimorfo.

2.3.3.4. Estudo do efeito do aquecimento no processo de cocrystalização

Como descrito no item 2.3.3.1, as amostras sintetizadas pelo método mecanoquímico sob uma frequência de 30 Hz foram aquecidas no equipamento da Mettler Toledo, modelo TG-DSC 1, até as temperaturas anteriores e posteriores aos eventos exotérmicos presentes nas curvas DSC e, posteriormente, analisadas por DRXP e IV, conforme pode ser visto nas Figuras 2.15 e 2.16.

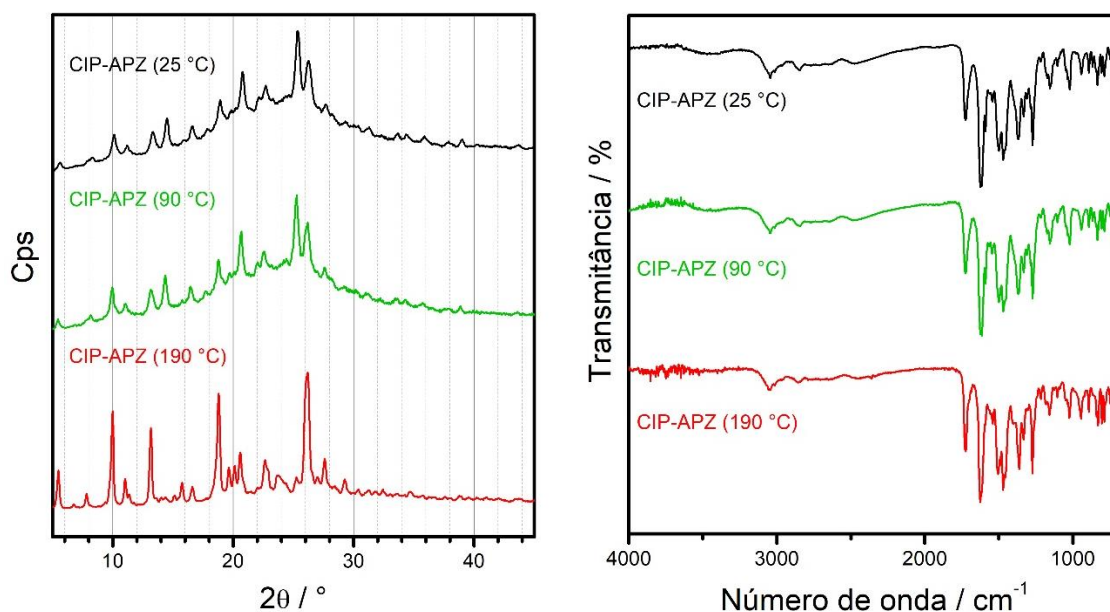


Figura 2.15 – Difratomogramas de DRXP e espectros no IV do sistema CIP-APZ (30Hz) aquecido em diferentes temperaturas.

Fonte: Elaborado pela autora.

Para a amostra sintetizada nesta condição sem a adição de etanol (Figura 2.15,) observa-se através do DRXP que o evento exotérmico presente em 130 °C na curva DSC seja referente à transição de fase cristalina irreversível (monotropia) da amostra, que se transforma no polimorfo equivalente à amostra CIP-APZ / EtOH (15 Hz). Os espectros no IV não apresentaram alterações significativas.

Já para a amostra sintetizada com adição de solvente, pode-se verificar nos difratogramas (Figura 2.16) que o calor fornecido durante o aquecimento transformou esta amostra em uma nova fase, como podem ser observadas as mudanças no padrão de difração e espectral (principalmente na região entre 3600 cm^{-1} e 2000 cm^{-1}). Além disso, esses dados sugerem que o evento exotérmico presente na curva DSC em torno de 172 °C seja referente à uma transição de fase irreversível, ou seja, relação monotrópica entre os polimorfos.

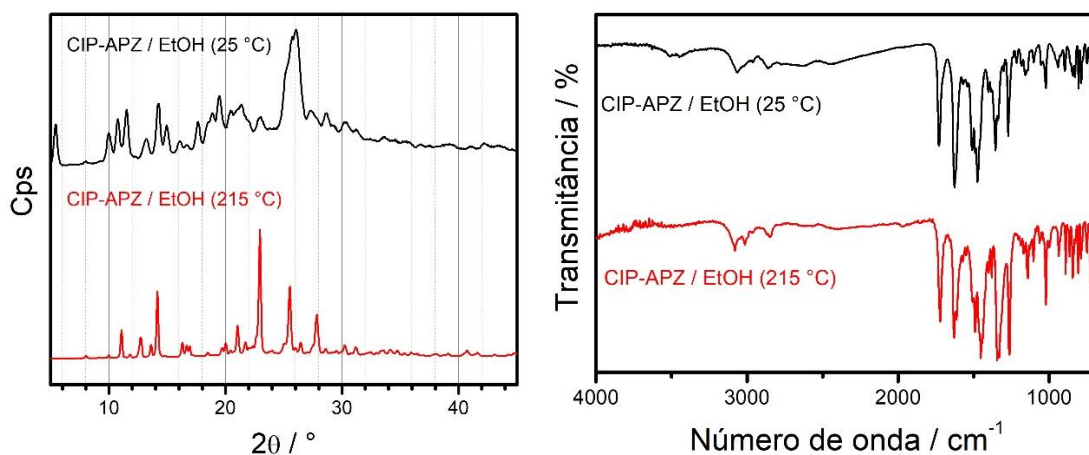


Figura 2.16 – Difratomogramas de DRXP e espectros no IV do sistema CIP-APZ / EtOH (30Hz) em temperatura ambiente e aquecido até 215°C.

Fonte: Elaborado pela autora.

2.3.4. Sistema Ciprofloxacino-Ácido *p*-aminobenzóico (CIP-PABA)

2.3.4.1. Análise Térmica (TG-DTA e DSC)

A análise térmica do sistema sintetizado entre ciprofloxacino e ácido *p*-aminobenzóico é apresentada na Figura 2.17.

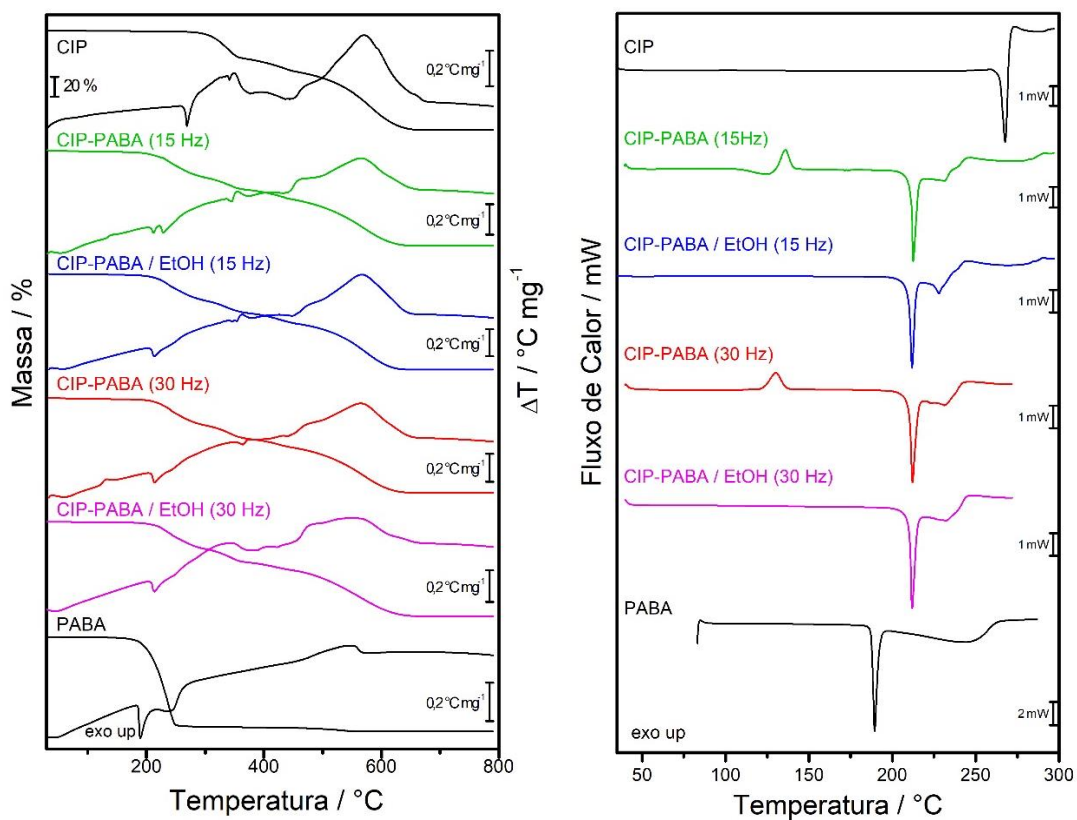


Figura 2.17 – Curvas TG-DTA e DSC dos compostos puros e do sistema CIP-PABA.

Fonte: Elaborado pela autora.

As curvas TG-DTA mostram que o PABA é termicamente estável até 170 °C e apresenta duas etapas de perda de massa na curva TG, associados ao evento endotérmico (240 °C) e exotérmico (545 °C) na curva DTA. Essas perdas de massa estão associadas à evaporação parcial e decomposição do coformador, gerando um resíduo carbonizado que é oxidado posteriormente (TEIXEIRA et al., 2016). O pico endotérmico em 190 °C (DTA) e 189 °C (DSC), sem significativa perda de massa na curva TG, corresponde à fusão do coformador.

Já para as amostras do sistema, as curvas TG-DTA mostram estabilidade térmica até 200 °C, intermediária a do CIP e do PABA. As curvas TG também mostram quatro etapas de perda de massa, associadas a eventos endotérmicos e exotérmicos nas curvas DTA, atribuídas à decomposição térmica do sistema. A primeira etapa de perda de massa entre 200 – 280 °C, é atribuída ao início da decomposição térmica do cocristal com liberação do coformador ($\Delta m_{\text{Calc.}} = 29,1\%$; $\Delta m_{\text{TG}} = 27,8\%$). As outras três etapas de perda de massa, correspondendo a eventos endotérmicos e exotérmicos na curva DTA, estão associadas a degradação térmica do fármaco remanescente.

As curvas DSC mostram três eventos térmicos: o primeiro pico endotérmico em 212 °C associado à fusão incongruente das amostras, o segundo pico em 230 °C associado a volatilização parcial do PABA e o terceiro evento, uma exoterma muito sutil em torno de 230 – 245 °C, associado a cristalização do CIP remanescente, como também pode ser observado nas imagens de DSC-fotovisual (Mettler Toledo, modelo DSC 1), mostradas na Figura 2.18. Além disso, as amostras que não contém solvente em sua composição, apresentam um terceiro pico exotérmico em torno de 132 °C, que foi estudado e será apresentado na seção 2.3.4.4.

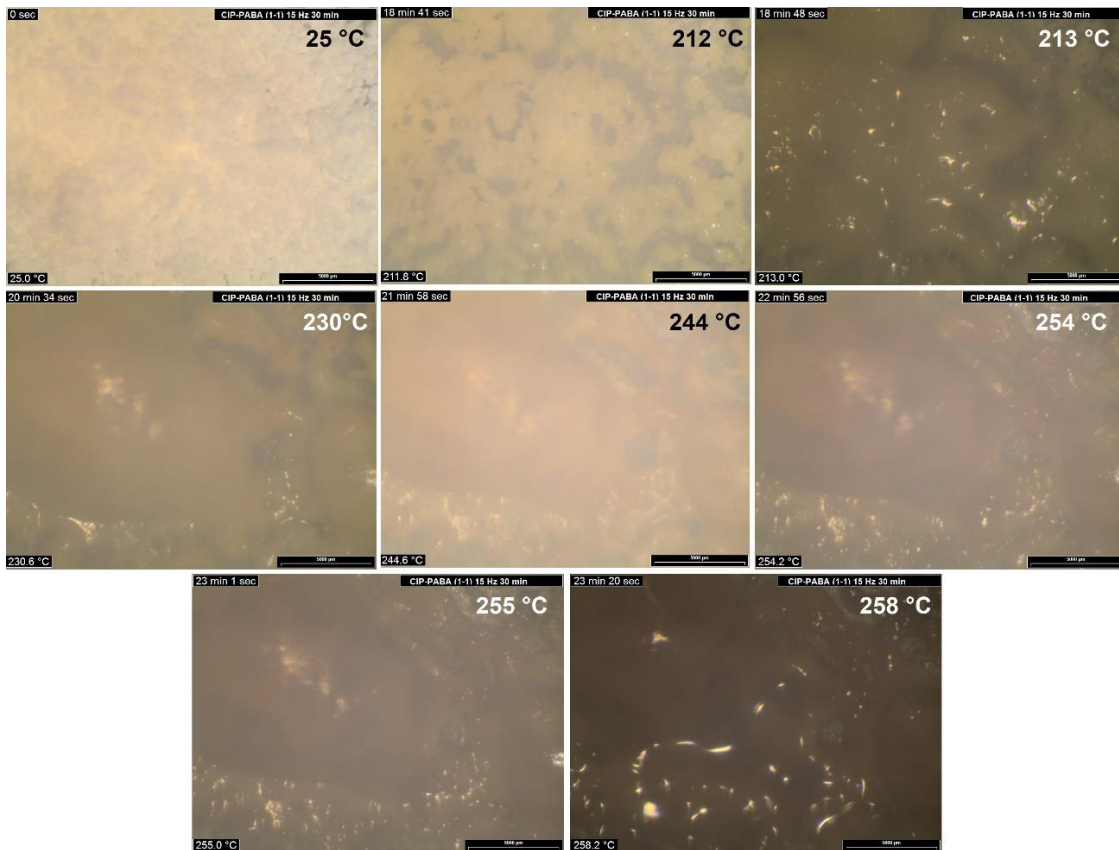


Figura 2. 18 – Imagens registradas por DSC-fotovisual durante aquecimento da amostra de CIP-PABA (15 Hz).

Fonte: Elaborado pela autora.

O comportamento térmico peculiar deste sistema sugere formação do cocrystal CIP-PABA. Para confirmar tal evidência, foram realizadas medidas de IV e DRXP.

2.3.4.2. Espectroscopia no infravermelho (IV)

O espectro no IV do ácido 4-aminobenzóico (Figura 2.19 e Tabela A.4) apresenta banda do estiramento da carbonila (C=O) em torno de 1662 cm^{-1} e uma banda larga que sobrepõe os estiramentos C-H, referente à vibração da hidroxila (O-H) na região de $3300\text{-}2200\text{ cm}^{-1}$. As duas bandas referentes ao estiramento do grupo NH_2 também estão presente em 3460 cm^{-1} e 3363 cm^{-1} (LI et al., 2016; TANTISHAIYAKUL et al., 2014).

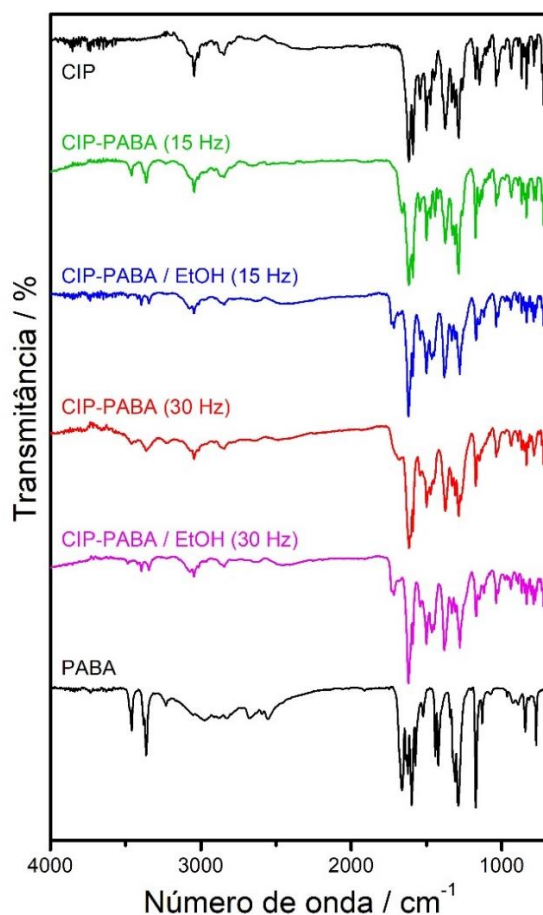


Figura 2.19 – Espectros no IV dos compostos puros e do sistema CIP-PABA.

Fonte: Elaborado pela autora.

Os espectros no IV deste sistema mostram diminuição da intensidade da carbonila, bem como o seu deslocamento de 1662 cm^{-1} para 1717 cm^{-1} ($\Delta=55\text{ cm}^{-1}$) nas amostras com etanol, porém esse deslocamento é mais discreto nas amostras sintetizadas sem o solvente ($\Delta=0\text{ cm}^{-1}$ para amostra à 15 Hz e $\Delta=17\text{ cm}^{-1}$ para amostra à 30 Hz), uma vez que estas mostram apenas uma combinação dos espectros dos precursores. Em ambos os casos, há indícios dos estiramentos simétrico e assimétrico do grupo carboxilato, do API ou do coformador, que aparecem em torno de 1380 cm^{-1} e 1590 cm^{-1} , respectivamente, o que sugere a formação de um sal por parte desta mistura, conforme apresentado na Figura 2.20.

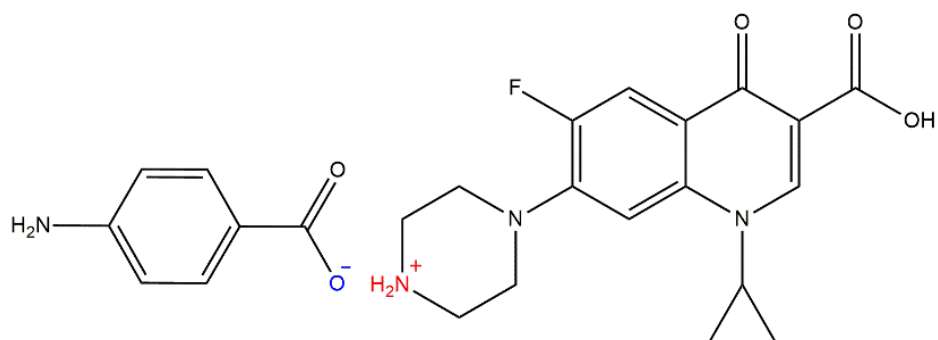


Figura 2.20 – Sugestão de formação de sal para o sistema CIP-PABA.

Fonte: Elaborado pela autora.

Além disso, uma vez que o valor do pka do CIP zwitteriônico (8,62) é maior que do PABA (4,68), indica que o coformador é um ácido mais forte, sofrendo a dissociação do próton do grupo carboxila, que então protonará o grupo carboxilato do princípio ativo, confirmando a interação iônica proposta na Figura 2.20 (JOVER; BOSQUE; SALES, 2008; SHARMA et al., 2010).

2.3.4.3. Difractometria de raios X do pó (DRXP)

Os difratogramas do sistema CIP-PABA, ilustrados na Figura 2.21, apresentam novos picos em 6,5°; 9,6°; 23,5°; 27,6° para as misturas com etanol, o que confirma a formação de uma nova fase cristalina, ou seja, para estes casos, a moagem assistida por solvente favoreceu a reação, como descrito por Lin e colaboradores (LIN; HUANG; LIN, 2016). Já os difratogramas das amostras sem solvente não apresentam novos picos de difração de forma notável, sendo muito semelhantes à soma entre os padrões de difração dos precursores.

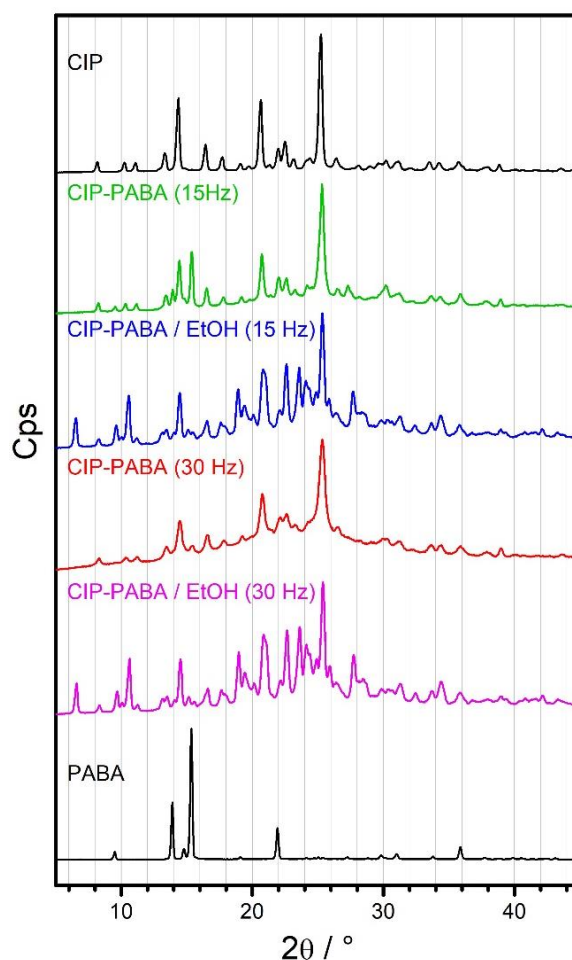


Figura 2.21 – Difratomogramas de DRXP dos compostos puros e do sistema CIP-PABA.

Fonte: Elaborado pela autora.

2.3.4.4. Estudo do efeito do aquecimento no processo de cocrystalização

O pico exotérmico no DSC em 132 °C, presente nas misturas sintetizadas sem a adição de etanol, foi investigado. A amostra CIP-PABA (15 Hz) foi aquecida no equipamento TG-DSC 1 da Mettler Toledo até 100 °C, 125 °C e 175 °C, sendo posteriormente analisada por DRXP e IV, como pode ser visto na Figura 2.22.

De acordo com a Figura abaixo, são observadas mudanças nos padrões de difração e espectrais, o que sugere que o evento térmico em 132°C corresponda à uma transição de fase polimórfica irreversível (monotropia) que ocorreu no composto durante o aquecimento. Além disso, é possível notar que o estresse térmico sofrido pela amostra causa o aumento da intensidade de alguns picos característicos do cocrystal no DRXP, bem como o gradual

deslocamento do grupo $C=O$ (ácido carboxílico) e o aparecimento da banda de O-H (alargada e sobreposta por estiramentos C-H) no espectro no IV, sugerindo que o aquecimento favoreça a reação cocristalização (LIN; HUANG; LIN, 2016).

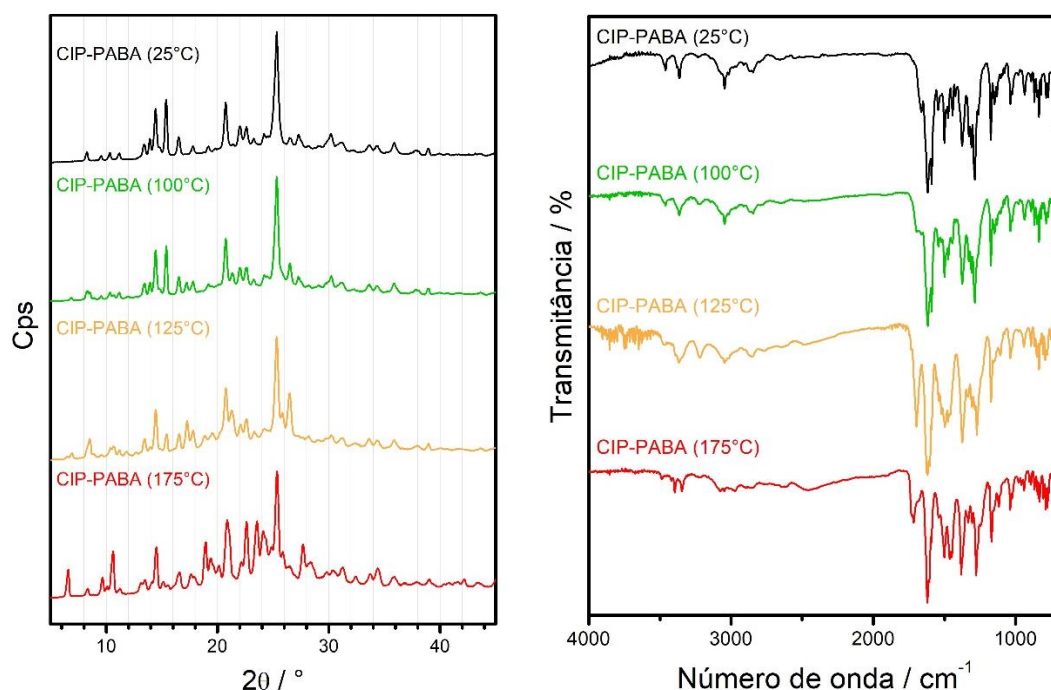


Figura 2.22 – Difratogramas de DRXP e espectros no IV do sistema CIP-PABA (15Hz) aquecido em diferentes temperaturas.

Fonte: Elaborado pela autora.

2.3.5. Diagramas de fase binários

A fim de complementar e auxiliar na confirmação de formação dos cocristais obtidos neste estudo, foram construídos diagramas de fase binários experimentais e teóricos (Figuras 2.23 – 2.25), nas proporções molares e temperaturas apresentadas pelas Tabelas 2.3 – 2.5, das misturas entre ciprofloxacino e os coformadores ácido nicotínico, ácido isonicotínico e ácido *para*-aminobenzóico.

2.3.5.1. Diagrama de fase binário do sistema CIP-ANC

Tabela 2.3 – Proporções e temperaturas utilizadas na construção do diagrama de fase binário de CIP-ANC.

Razão molar	Fração molar do ciprofloxacino	T _{onset} (°C)	T _{pico} (°C)
CIP	1	266,21	269,13
3:1	0,75	233,29	238,64
2:1	0,66	236,38	239,95
1:1	0,5	239,22	---
1:2	0,33	201,39	205,13
1:3	0,25	203,11	205,53
ANC	0	236,14	237,23

Fonte: Elaborado pela autora.

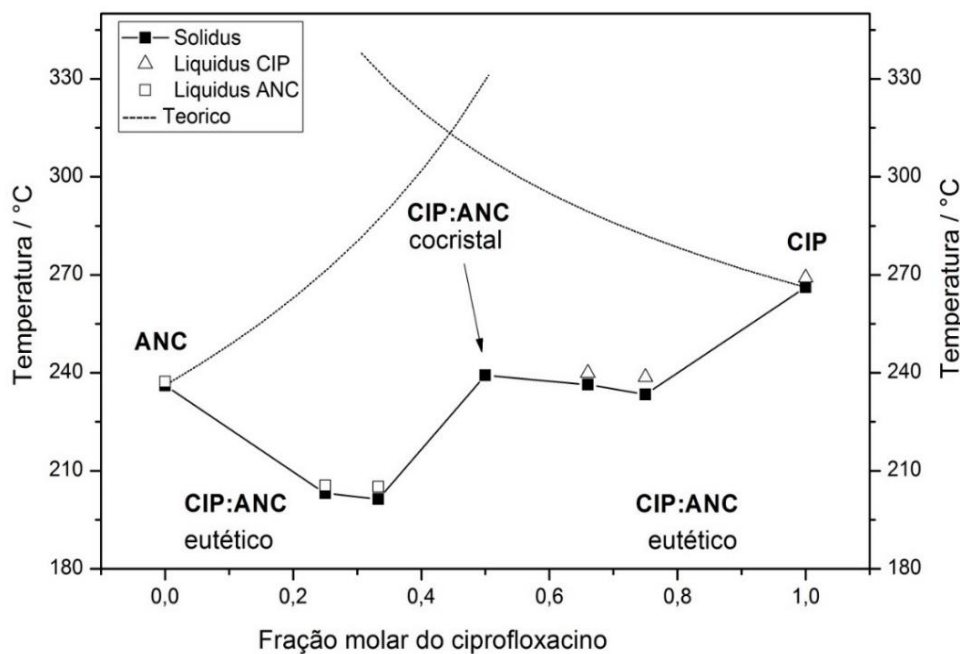


Figura 2.23 – Diagrama de fase binário de CIP-ANC.

Fonte: Elaborado pela autora.

2.3.5.2. Diagrama de fase binário do sistema CIP-AINC.

Tabela 2.4 – Proporções e temperaturas utilizadas na construção do diagrama de fase binário de CIP-AINC.

Razão molar	Fração molar do ciprofloxacino	T _{onset} (°C)	T _{pico} (°C)
CIP	1	266,21	260,13
3:1	0,75	233,95	238,11
2:1	0,66	234,31	238,81
1:1	0,5	237,10	---
1:2	0,33	232,99	236,67
1:3	0,25	233,43	236,36
AINC	0	260,12	---

Fonte: Elaborado pela autora.

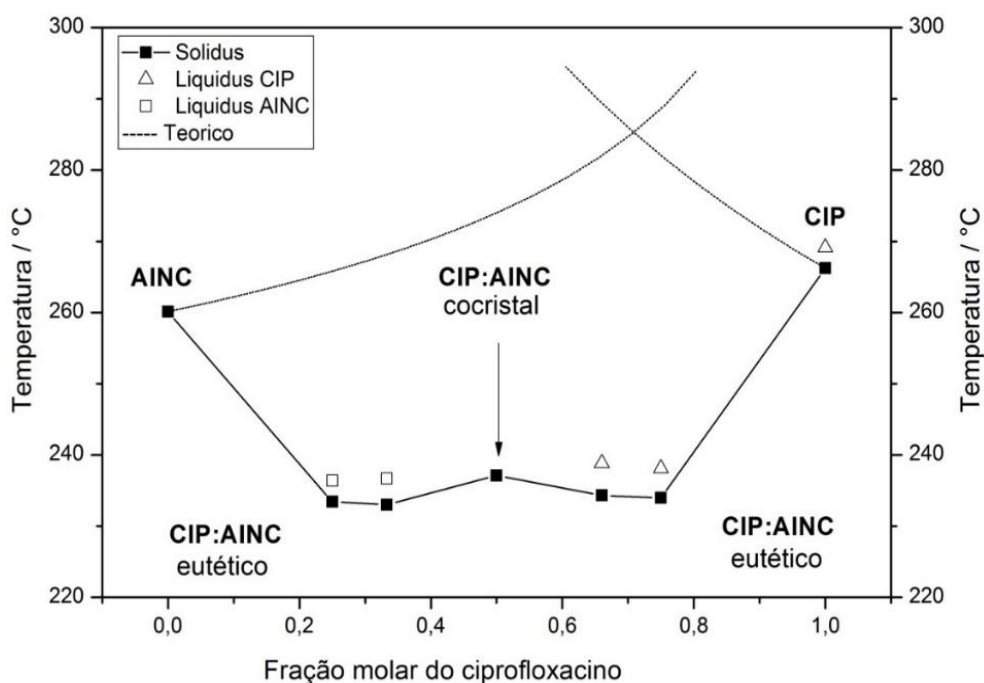


Figura 2.24 – Diagrama de fase binário de CIP-AINC.

Fonte: Elaborado pela autora.

2.3.5.3. Diagrama de fase binário do sistema CIP-PABA

Tabela 2.5 – Proporções e temperaturas utilizadas na construção do diagrama de fase de CIP-PABA.

Razão molar	Fração molar do ciprofloxacino	T _{onset} (°C)	T _{pico} (°C)
CIP	1	266,21	269,13
3:1	0,75	206,11	254,39
2:1	0,66	207,93	250,45
1:1	0,5	211,17	213,26
1:2	0,33	172,12	214,86
1:3	0,25	170,33	209,81
PABA	0	189,51	191,19

Fonte: Elaborado pela autora.

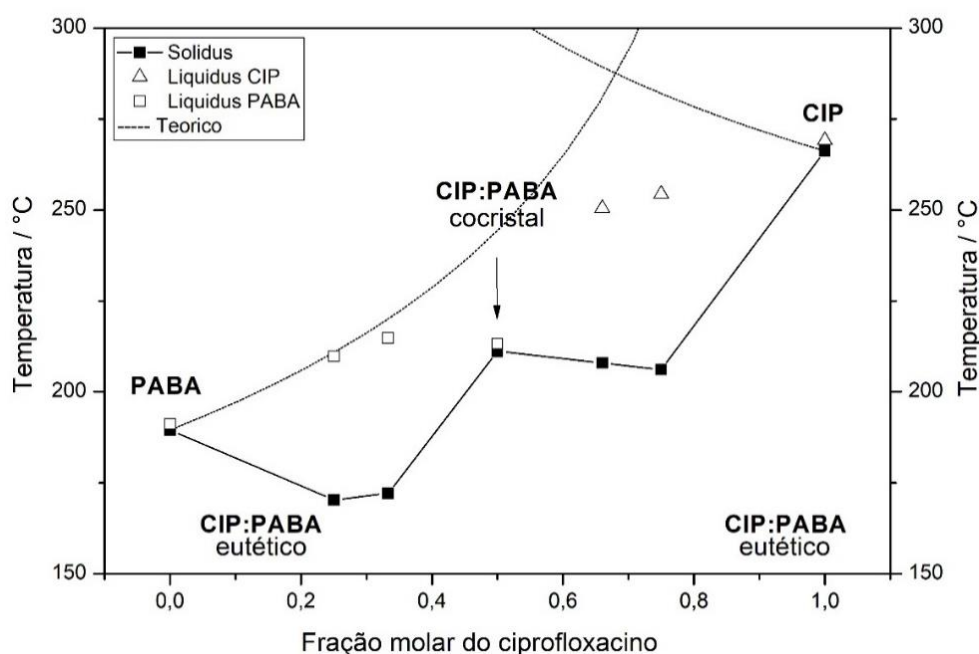


Figura 2.25 – Diagrama de fase binário de CIP-PABA.

Fonte: Elaborado pela autora.

A partir dos diagramas de fase binários, mostrados nas Figuras 2.23 – 2.25, foi possível observar que ambos apresentam formato em “W”, característico de um cocristal, indicando que a proporção molar 1:1 seria a mais adequada entre os compostos, auxiliando na confirmação de formação dos mesmos.

2.4. CONCLUSÃO

A realização de análise térmica, difratometria de raios X e espectroscopia no IV para compostos isolados possibilitou coletar informações a respeito das características térmicas e estruturais dos mesmos.

Através de análise térmica foi possível também caracterizar as misturas, sugerindo a formação de cocristais, além de obter informações sobre a estabilidade térmica, processos de cocrystalização, fusão, transições polimórficas, decomposição térmica, enquanto que as análises espectroscópicas e difratométricas confirmaram a obtenção dos cocristais e do sal entre o ciprofloxacino e o coformadores utilizados neste trabalho, uma vez que novos padrões espectrais e de difração foram observados, confirmando interações entre as espécies.

Além disso, foi possível comprovar que as misturas sintetizadas na proporção molar 1:1 formaram cocristais através da construção de diagramas de fase binários. O perfil em forma de “W” obtido nos diagramas, característico quando há formação de cocristais, foi observado.

3. CAPÍTULO III – ADEQUAÇÃO E VALIDAÇÃO DE MÉTODO ANALÍTICO QUANTITATIVO

3.1. INTRODUÇÃO

Por apresentar robustez, custo relativamente baixo e grande número de aplicações, a espectrofotometria na região do ultravioleta e visível (UV-Vis) do espectro eletromagnético é uma das técnicas analíticas mais empregadas quando se trata de desenvolvimento de método analítico para quantificação, permitindo desenvolver métodos com elevada sensibilidade (CAZEDEY, 2009).

Alguns trabalhos são encontrados na literatura, utilizando a espectrofotometria na região do ultravioleta para análise do sal de ciprofloxacino, ou seja, o fármaco em sua forma farmacêutica simples ou em associação com outros fármacos (CAZEDEY; SALGADO, 2012; FERREIRA; SEIFU; MOLA, 2015; GUMMADI et al., 2012; NIJHU; JHANKER; SUTRADHAR, 2011; ZHOU; JIANG, 2012), entretanto não foram encontrados trabalhos para a determinação quantitativa do ciprofloxacino puro. Desta forma, este trabalho visou a modificação e adequação de método (CAZEDEY, 2009; CHIERENTIN; SALGADO, 2014), afim de quantificar o API em questão. Tais modificações exigem uma validação de método.

Para validar um método, alguns requisitos são necessários, dentre eles pode-se destacar a seletividade, curva de calibração, linearidade, exatidão, precisão, limite de detecção, limite de quantificação e robustez (AMARANTE JUNIOR et al., 2001). Alguns destes critérios não são exigidos em todas as validações, sendo avaliados apenas quando se mostram relevantes, como por exemplo, o limite de quantificação é facultativo para métodos modificados, entretanto, quando esse método é usado para quantificar níveis elevados do analito, este requisito torna-se desnecessário, como apresentado na Tabela 3.1 (AMARANTE JUNIOR et al., 2001; ANVISA, 2017; KOGAWA, 2012).

Tabela 3.1 – Parâmetros a serem considerados na validação analítica.

Tipo de Método	Exatidão	Repetitividade	Reprodutibilidade	Limite de Detecção	Limite de Quantificação	Linearidade	Especificidade	Robustez
Novo	✓	✓	✓	☑	☑	✓	✓	✓
Padrão	✓	✓	☑	☑	☑	☑	✗	✗
Modificado	✓	✓	☑	✗	☑	✗	✗	✗
Qualitativo	✗	✗	✗	✓	✗	✗	✓	✓
Quantitativo (nível de concentração elevado)	✓	✓	✓	✗	✗	✓	✓	✓
Quantitativo (nível de concentração baixo)	✓	✓	✓	✓	✓	✗	✓	✓

✓ Obrigatório; ☑ Se relevante; ✗ Não necessário

Fonte: Adaptado de Amarante Junior et al (2001, p. 118)

3.2. METODOLOGIA

A substância química de referência utilizada foi o ciprofloxacino (Sigma Aldrich, $\geq 98\%$) e as amostras utilizadas para esta validação foram os cocristais sintetizados, descritos no item 2.2.1.

As determinações foram realizadas no espectrofotômetro UV-Vis da Agilent Technologies, modelo Cary 8454, controlado pelo software Agilent UV-Visible Chemstation versão B.05.02, usando cubetas de quartzo com 1,0 cm de caminho óptico.

Nas medidas volumétricas foram empregadas vidrarias grau A, micropipetas Olen (100-1000 μL) e Tediapet (10-100 μL). As pesagens foram feitas em balança analítica, modelo AUW220D, marca Shimadzu.

3.2.1. Método

Uma solução estoque contendo 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de CIP foi preparada pesando-se exatamente 10 mg da substância de referência, considerando-se a pureza do API, e transferiu-se para um balão de 100 mL com auxílio de uma solução de HCl 0,1 mol L^{-1} . Levou-se ao ultrassom por 5 minutos para garantir total dissolução e completou-se o volume com o mesmo solvente. Esta solução-mãe foi filtrada com papel filtro 25 μm e preparada diariamente.

Soluções de trabalho foram preparadas, imediatamente antes do uso, por diluições adequadas da solução-mãe correspondente, utilizando-se água destilada, de acordo com os níveis de concentração apropriados. Alíquotas da solução estoque de ciprofloxacino foram transferidas para balões volumétricos de 10 mL, em seguida, o volume foi completado com água. As leituras foram efetuadas no comprimento de onda máximo de 277 nm, utilizando a água como solvente para zerar o aparelho.

3.2.2. Curva de Ringbom

A faixa de linearidade do método analítico foi determinada através da construção da curva de Ringbom, para qual, a partir da solução estoque de ciprofloxacino, foram preparadas diluições com o auxílio de uma micropipeta, em balões volumétricos de 10 mL, como apresentados na Tabela 3.2. As leituras foram realizadas em comprimento de onda de 277 nm.

Tabela 3.2 – Obtenção da curva de Ringbom.

Volume da solução estoque (µL)	Concentração da solução de trabalho (µg mL⁻¹)
10	0,100
25	0,250
50	0,500
75	0,750
100	1,00
200	2,00
300	3,00
400	4,00
500	5,00
600	6,00
700	7,00
800	8,00
900	9,00
1000	10,0
1100	11,0
1200	12,0
1400	14,0
1600	16,0
1800	18,0
2000	20,0
2200	22,0
2400	24,0
2600	26,0
2800	28,0
3000	30,0

Fonte: Elaborado pela autora.

3.2.3. Obtenção da curva analítica

Para obtenção da curva analítica de ciprofloxacino, transferiram-se alíquotas de 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; 0,6; 0,7 mL da solução-mãe para balão volumétrico de 10 mL e completaram-se os volumes com água destilada, obtendo-se assim, soluções com as seguintes concentrações finais: 2,0; 3,0; 4,0; 5,0; 6,0; 7,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$, respectivamente. Soluções de cada concentração foram preparadas em triplicata.

3.2.4. Determinação de ciprofloxacino em cocrystalis farmacêuticos

Para validar o método, foram realizadas medidas com os cocrystalis obtidos no Capítulo II, em que a massa de cocrystal equivalente à 10 mg de API foi pesada, ou seja, massa de cocrystal que contém 10 mg de ciprofloxacino, adicionada ao balão volumétrico de 100 mL com o auxílio da solução de HCl 0,1 mol L^{-1} , levada ao ultra-som por 5 minutos. Esta solução teve seu volume completado com a solução de ácido e depois filtrada, afim de remover quaisquer partículas sólidas da solução-mãe. A partir destas soluções, volumes de 0,4 mL foram transferidos para balões volumétricos de 10 mL, completando-se o volume com água, obtendo-se assim, soluções com concentração final de 4 $\mu\text{g mL}^{-1}$. As medidas para cada solução foram realizadas em comprimento de onda de 277 nm e preparadas em seis réplicas.

O cálculo da concentração e do teor de ciprofloxacino nas amostras de cocrystal foi realizado seguindo as equações 3.1 e 3.2, respectivamente:

Concentração

$$C_A = \frac{A_A \cdot C_{CIP}}{A_{CIP}} \quad \text{Equação 3.1}$$

Em que:

C_A = concentração da amostra ($\mu\text{g mL}^{-1}$)

C_{CIP} = concentração do ciprofloxacino ($\mu\text{g mL}^{-1}$)

A_A = absorvância da amostra

A_{CIP} = absorvância do ciprofloxacino

Teor percentual ou Recuperação (T%)

$$T\% = \frac{C_c \cdot 100}{C_{\text{Teórico}}} \quad \text{Equação 3.2}$$

Em que:

C_c = concentração de ciprofloxacino encontrada no cocrystal ($\mu\text{g mL}^{-1}$)

$C_{\text{Teórico}}$ = concentração teórica de ciprofloxacino no cocrystal ($\mu\text{g mL}^{-1}$)

3.2.5. Validação

3.2.5.1. Seletividade

É a capacidade que um método possui para medir exatamente um composto com presença de outros componentes como impurezas, produtos de degradação e excipientes (ANVISA, 2017; VALENTINI; SOMMER; MATIOLI, 2007). A seletividade do método proposto foi comprovada pela comparação da resposta obtida para a substância ativa pura, coformadores isolados, diluente e cocristais (produtos de referência), para demonstrar que o resultado do teste não é afetado por esses materiais. A seletividade foi comprovada também através do cálculo do teor percentual para cada sistema de cocristais.

3.2.5.2. Linearidade

A linearidade é a habilidade que uma metodologia possui de reproduzir resultados diretamente proporcionais à concentração do analito, dentro de um intervalo especificado (ANVISA, 2017; VALENTINI; SOMMER; MATIOLI, 2007). Os dados coletados na construção da curva analítica descrita no item 3.2.3 foram analisados para a obtenção da equação da reta pelo método dos mínimos quadrados e a verificação da linearidade foi constatada analisando-se as médias das triplicatas, resultando em desvios padrão relativos (DPR) inferiores à 2,5%.

3.2.5.3. Precisão

Sendo a precisão a avaliação da proximidade entre os resultados obtidos repetidamente de amostragens múltiplas de uma mesma amostra (ANVISA, 2017; VALENTINI; SOMMER; MATIOLI, 2007), esta foi testada pela realização de ensaios da determinação de ciprofloxacino intra dia (repetibilidade) e inter dia (precisão intermediária), coletando-se seis determinações. A precisão entre analistas também foi determinada. Os valores de DPR inferiores à 2,5% verificaram a precisão do método.

3.2.5.4. Exatidão

É a concordância dos resultados obtidos pelo método em relação à um valor tomado como verdadeiro (ANVISA, 2017; VALENTINI; SOMMER; MATIOLI, 2007). A exatidão do método foi determinada pelo cálculo dos teores percentuais e concentrações reais das amostras (através da equação da reta). Foram analisadas 3 soluções-mãe diferentes em 6 réplicas para cada concentração.

3.2.5.5. Robustez

A robustez do método é a capacidade que este apresenta de se manter invariável quando sujeito a pequenas e deliberadas modificações nas condições analíticas, indicando sua confiança durante o uso rotineiro (ANVISA, 2017; VALENTINI; SOMMER; MATIOLI, 2007) e neste estudo a mesma foi testada realizando-se pequenas alterações no método, sendo elas: variação na concentração da solução de HCl (0,08 M) ausência de filtração da solução estoque e pequena alteração no comprimento de onda máximo (275 nm). O baixo valor no desvio padrão relativo garante a robustez do método proposto.

3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Devido à baixa solubilidade do ciprofloxacino, optou-se pela utilização de solução de ácido clorídrico $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ como solvente, uma vez que este é solúvel neste meio.

Observou-se um máximo de absorção no comprimento de onda de 277 nm para o ciprofloxacino dissolvido conforme descrito no item 3.2.1. Esse espectro de absorção no UV da solução contendo $4,0 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$ do API é apresentado na Figura 3.1.

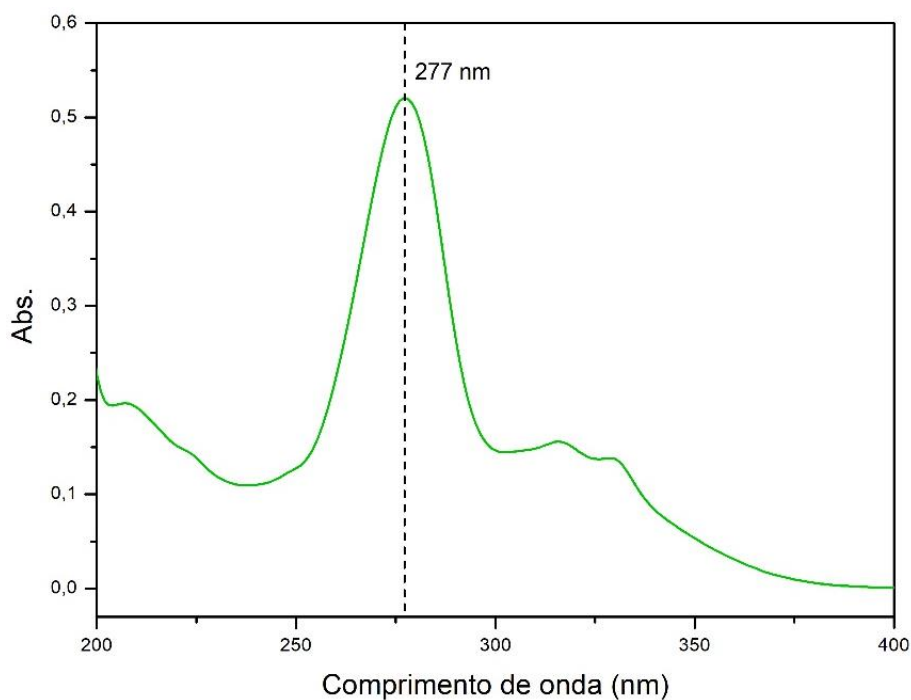


Figura 3.1 – Espectro de absorção no UV da solução de ciprofloxacino 4,0 µg mL⁻¹.

Fonte: Elaborado pela autora.

Afim de determinar a faixa linear do método, a curva de Ringbom (Figura 3.2) foi construída pela determinação da absorbância de 25 concentrações e os resultados obtidos foram dispostos na Tabela 3.3.

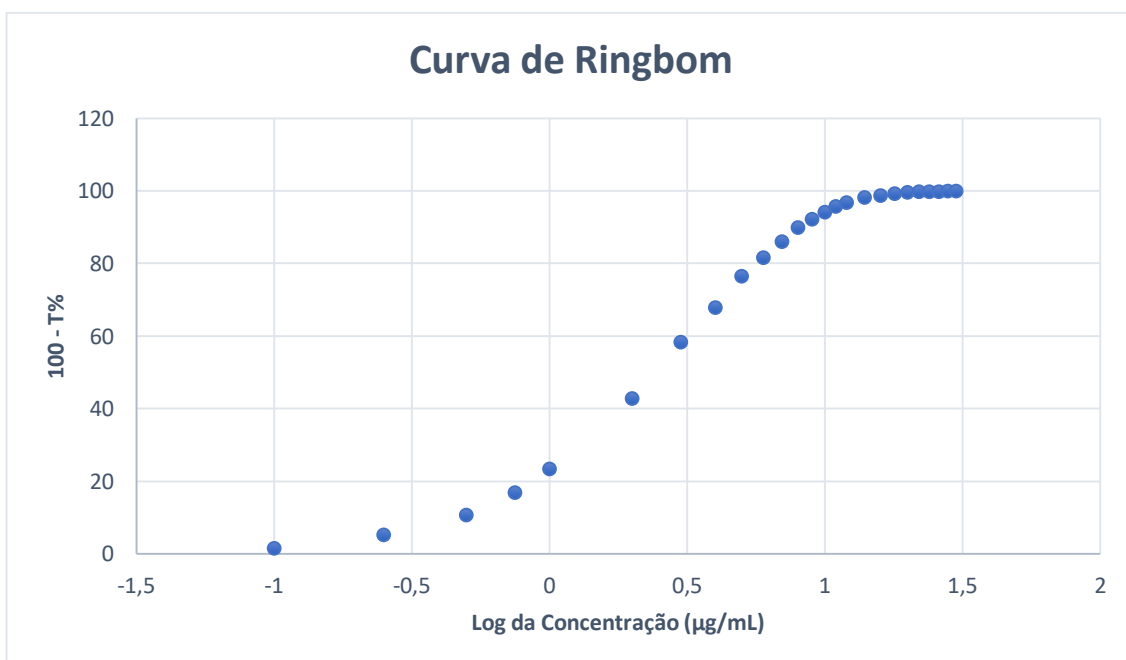


Figura 3.2 – Curva de Ringbom obtida pelo método espectrofotométrico.

Fonte: Elaborado pela autora.

Tabela 3.3 – Valores obtidos na construção da curva de Ringbom pelo método proposto, no comprimento de onda de 277 nm.

Concentração da solução de trabalho ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Absorbância	100-T%
0,100	0,006657	1,5212
0,250	0,02324	5,2116
0,500	0,04960	10,793
0,750	0,08018	16,859
1,00	0,1160	23,449
2,00	0,2432	42,884
3,00	0,3808	58,395
4,00	0,4945	67,973
5,00	0,6290	76,504
6,00	0,7370	81,676
7,00	0,8566	86,087
8,00	0,9945	89,873
9,00	1,113	92,284
10,0	1,242	94,267
11,0	1,367	95,708
12,0	1,494	96,793
14,0	1,741	98,184
16,0	1,940	98,851
18,0	2,198	99,366
20,0	2,403	99,605
22,0	2,654	99,778
24,0	2,995	99,899
26,0	3,059	99,913
28,0	3,242	99,943
30,0	3,524	99,970

Fonte: Elaborado pela autora.

Através da porção retilínea da curva de Ringbom construída foi possível selecionar a faixa de concentração ótima para o método proposto, que neste caso situa-se entre 2,0 e 7,0 $\mu\text{g/mL}$ aproximadamente, e que obedece a lei de Lambert-Beer, em que a absorvidade do sistema é diretamente proporcional à concentração do soluto.

A partir da faixa linear, foram realizadas medidas para determinar a curva analítica do método (Figura 3.3), o qual esses valores determinados encontram-se dispostos na Tabela 3.4.

Tabela 3.4 – Valores de absorvância determinados para a curva analítica.

Curva Analítica						
($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Abs.*			média	DP	DPR (%)
2,00	0,261	0,262	0,261	0,261	0,001	0,28
3,00	0,389	0,388	0,389	0,389	0,001	0,16
4,00	0,517	0,520	0,519	0,519	0,001	0,26
5,00	0,651	0,648	0,653	0,651	0,003	0,43
6,00	0,775	0,772	0,779	0,775	0,003	0,45
7,00	0,900	0,900	0,903	0,901	0,002	0,25

*Cada valor corresponde à média de três determinações.

Fonte: Elaborado pela autora.

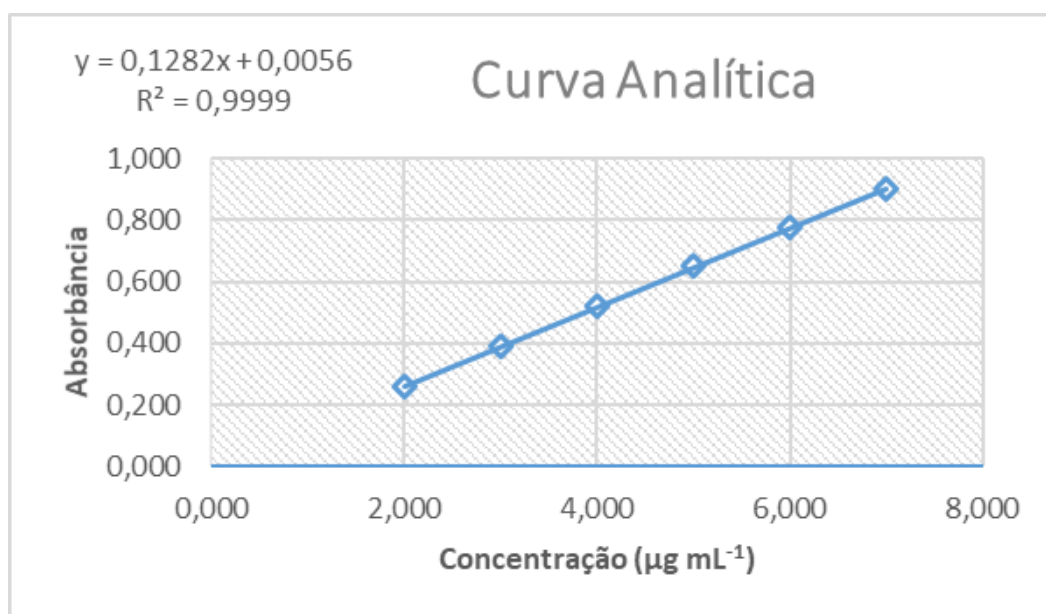


Figura 3.3 – Curva analítica, equação da reta e coeficiente de correlação obtidos através do método proposto.

Fonte: Elaborado pela autora.

De acordo com os dados presentes na tabela acima, o método apresenta-se linear uma vez que em toda a faixa de concentração de trabalho, o desvio padrão relativo apresentou valores menores que 1%, além de ter um coeficiente de correlação (R^2) $\geq 0,99$ indicando a proporcionalidade dos resultados obtidos com a concentração.

A equação da reta, determinada pelo método dos mínimos quadrados, é: $y = 0,1282x + 0,0056$, com coeficiente de correlação (R^2) igual a 0,9999.

A precisão do método foi avaliada através da precisão inter e intra dias na concentração de 4 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e conforme pode ser observado na Tabela 3.5, o método mostrou-se preciso, uma vez que foram obtidos valores de DPR menores que 1%. O método mostrou-se também preciso com relação a variação de analistas, conforme mostrado na Tabela 3.6.

Tabela 3.5 – Valores obtidos para determinar a precisão do método.

($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Abs.	Média	DP	DPR (%)	
4,00	0,516 0,518 0,518 0,517 0,517 0,518	0,517	0,001	0,14	Precisão intradia
4,00	0,515 0,518 0,521 0,516 0,519 0,520	0,519	0,002	0,42	Precisão inter dia
	0,521 0,521 0,522 0,519 0,521 0,517				

Fonte: Elaborado pela autora.

Tabela 3.6 – Valores obtidos para determinar a precisão entre analistas.

Entre analistas					
Analista	($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Abs.	Média	DP	DPR (%)
1	4,00	0,510 0,517 0,514 0,514 0,514 0,515	0,516	0,002	0,46
2		0,516 0,518 0,518 0,517 0,517 0,518			

Fonte: Elaborado pela autora.

A exatidão da metodologia proposta foi avaliada através do teor percentual (recuperação) e concentração experimental em comparação com o valor teórico, conforme mostrado na Tabela 3.7. Foram realizadas 6 determinações para as concentrações alta, média e baixa, ou seja 7,0; 4,0 e 2,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$, de 3 soluções-mãe diferentes.

Tabela 3.7 – Valores obtidos para determinar a exatidão do método.

Equação da reta		$y = 0,1282x + 0,0056$			
($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Média Abs.	DP	DPR (%)	Concentração ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Recuperação (%)
2,00	0,260	0,001	0,46	1,987	99,36
4,00	0,517	0,001	0,14	3,992	99,80
7,00	0,899	0,003	0,33	6,972	99,60
2,00	0,262	0,002	0,65	2,000	100,01
4,00	0,518	0,002	0,42	3,999	99,98
7,00	0,897	0,004	0,44	6,950	99,28
2,00	0,262	0,002	0,61	2,002	100,09
4,00	0,520	0,002	0,36	4,013	100,33
7,00	0,904	0,004	0,49	7,005	100,07

Fonte: Elaborado pela autora.

Na tabela são apresentadas a absorvância média das seis réplicas, o desvio padrão (DP) e o desvio padrão relativo (DPR), além da concentração real (x) e teor percentual real. O método mostrou-se exato uma vez que os DPR são todos inferiores a 1%, as concentrações experimentais encontradas são muito próximas das teóricas, além disso, os teores encontrados estão compreendidos entre 98% e 102% (AOAC, 2016).

Com relação à robustez do método, como descrito no procedimento experimental, foram avaliadas pequenas alterações no mesmo, sendo elas: a ausência de filtração da solução estoque, a alteração do comprimento de onda para 275 nm e utilização de uma solução de HCl 0,08 M. As Tabelas 3.8–3.10 mostram os resultados obtidos das análises nas condições analíticas alteradas para as soluções de concentração 4,0 µg mL⁻¹.

Tabela 3.8 – Valores obtidos para a robustez na ausência de filtração.

Variando filtração								
	(µg mL ⁻¹)	Abs.				média	DP	DPR (%)
Sem filtrar	4	0,520	0,522	0,521	0,519	0,524	0,517	0,39
Filtrado	4	0,521	0,522	0,519	0,521	0,517	0,521	

Fonte: Elaborado pela autora.

Tabela 3.9 – Valores obtidos para a robustez realizando análises com o comprimento de onda máximo de 275 nm.

Variando comprimento de onda								
	(µg mL ⁻¹)	Abs.				média	DP	DPR (%)
275 nm	4	0,507	0,512	0,510	0,512	0,511	0,512	1,03
277 nm	4	0,521	0,522	0,519	0,521	0,517	0,521	

Fonte: Elaborado pela autora.

Tabela 3.10 – Valores obtidos para a robustez utilizando uma solução de HCl 0,08 M.

Variando concentração HCl								
	(µg mL ⁻¹)	Abs.				média	DP	DPR (%)
0,08M	4	0,523	0,524	0,522	0,524	0,518	0,522	0,42
0,1M	4	0,521	0,522	0,519	0,521	0,517	0,521	

Fonte: Elaborado pela autora.

De acordo com os resultados observados, pode-se dizer que o método é robusto para as alterações realizadas por apresentar valores de desvio padrão relativo baixos, sendo todos eles inferiores à 2,5 %. O método é robusto para a

utilização de uma solução de ácido menos concentrada, o que o torna mais econômico e vantajoso, podendo ser menos prejudicial ao ambiente e ao operador. Como pode ser observado também, a filtração não interfere no método, uma vez que a variação entre os dados é muito pequena, além disso, a mudança no comprimento de onda de 277 nm para 275 nm não causou alterações significativas nos resultados.

A seletividade foi comprovada através da comparação entre os espectros obtidos para as soluções de concentração $4,0 \mu\text{g mL}^{-1}$ de ciprofloxacino puro, diluente, coformadores e cocristais.

Para a curva da solução de ciprofloxacino, a mesma foi preparada segundo o procedimento experimental descrito no item 3.2.1, assim como para a solução de cocrystal, descrita no item 3.2.4, para a qual se utiliza a massa de cocrystal que contém 10 mg de API. Para a solução de diluente, foi preparada uma solução pipetando-se 400 μL de HCl 0,1 M, transferindo-a para um balão de 10 mL e completando o volume com água destilada, ou seja, a mesma solução descrita no procedimento do item 3.2.1, porém sem a adição do princípio ativo. Além disso, a solução utilizada de coformador foi preparada calculando-se a massa dessa substância contida em 10 mg de cocrystal.

As seletividades dos sistemas sintetizados no Capítulo II estão ilustradas nas Figuras 3.4-3.7.

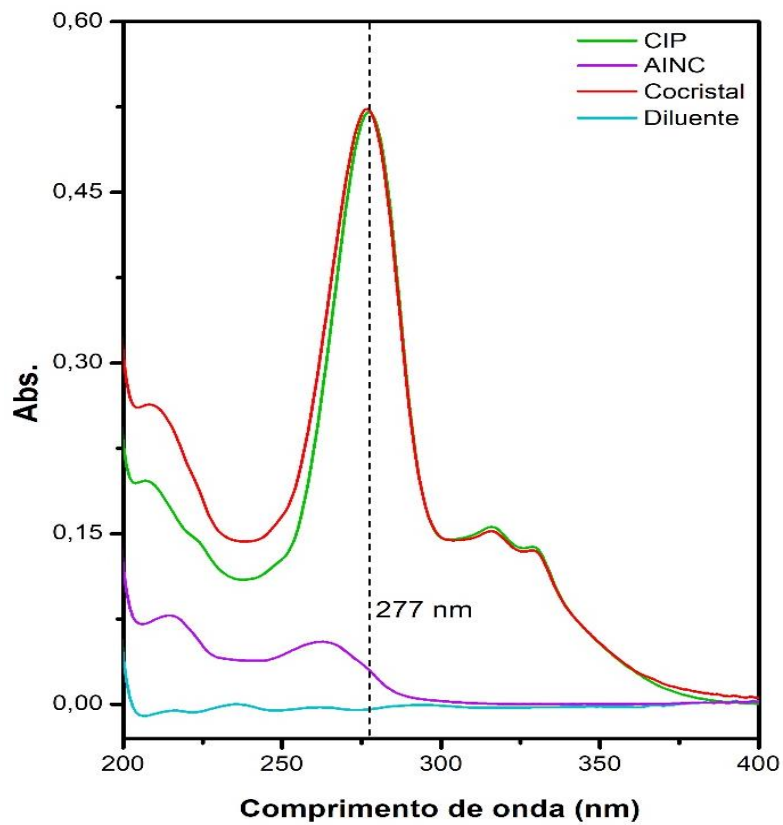


Figura 3.4 – Seletividade para o sistema CIP-AINC.

Fonte: Elaborado pela autora.

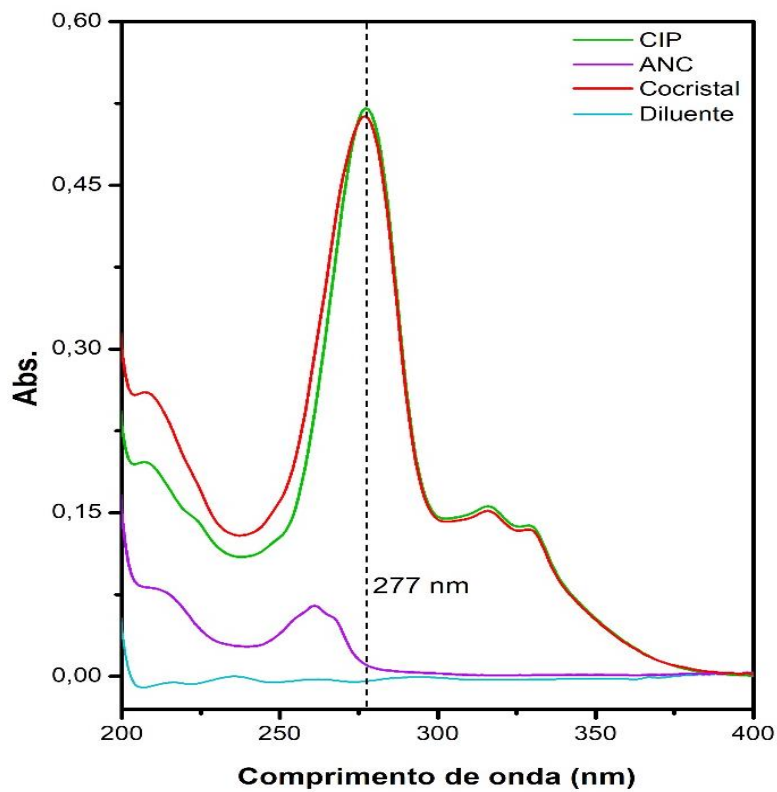


Figura 3.5 – Seletividade para o sistema CIP-ANC.

Fonte: Elaborado pela autora.

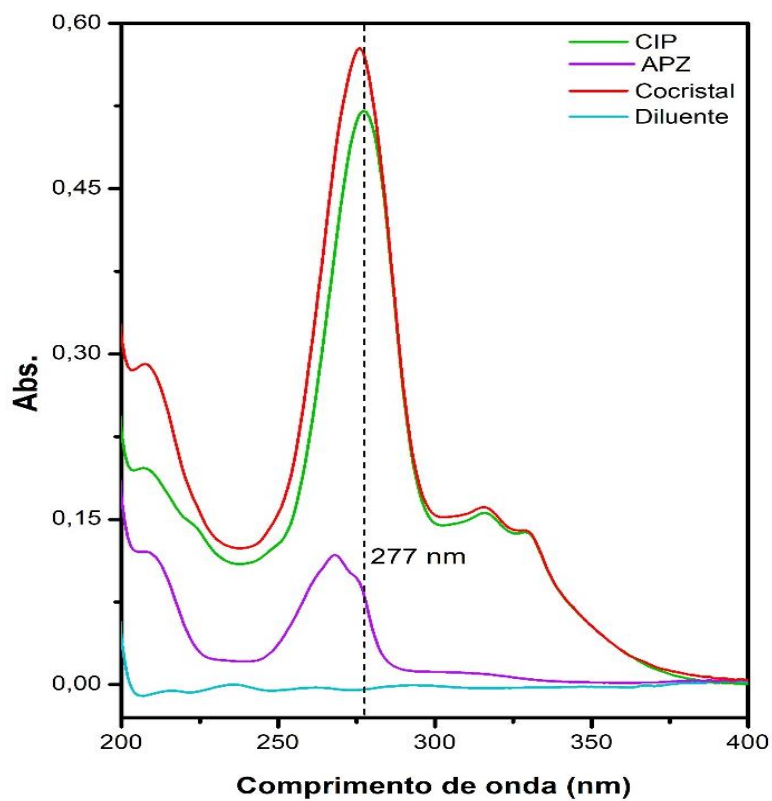


Figura 3.6 – Seletividade para o sistema CIP-APZ.

Fonte: Elaborado pela autora.

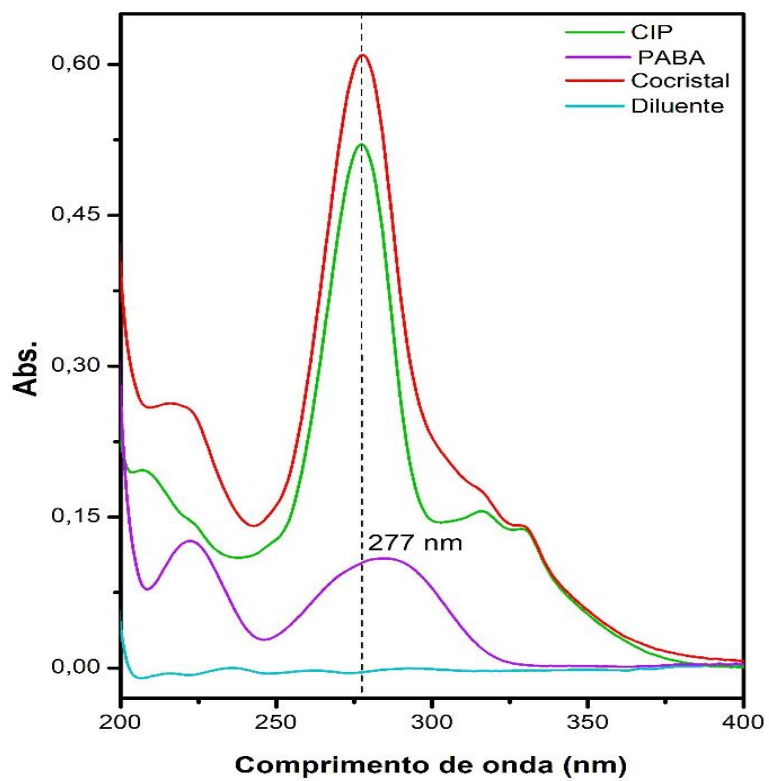


Figura 3.7 – Seletividade para o sistema CIP-PABA.

Fonte: Elaborado pela autora.

Os cocristais utilizados neste nos testes de seletividade foram:

- CIP-AINC (30 Hz 90 min)
- CIP-ANC / EtOH (30Hz)
- CIP-APZ / EtOH (30Hz)
- CIP-PABA / EtOH (30Hz)

Como pode ser visto pelas Figuras 3.4 e 3.5, não há interferência por parte do coformador ou diluente para os cocristais sintetizados com os ácidos isonicotínico (AINC) e nicotínico (ANC), respectivamente. Entretanto, as Figuras 3.6 e 3.7 mostraram que os coformadores ácido pirazinóico (APZ) e ácido *p*-aminobenzóico (PABA) tem absorção praticamente na mesma região do espectro de ciprofloxacino que interfere na determinação do mesmo, impossibilitando a utilização deste método para determinar CIP nos cocristais que contém estes coformadores.

Sendo assim, afim de comprovar a validação do método, foi realizado o cálculo do teor percentual (recuperação) experimental para as amostras de cocrystal de CIP na concentração de 4 µg mL⁻¹, conforme mostrado na Tabela 3.11.

Tabela 3.11 – Determinação do teor de ciprofloxacino nas amostras de cocrystal.

Equação da reta	$y = 0,1282x + 0,0056$		
Cocrystal	Média Abs. (y)*	Concentração (µg mL ⁻¹)	TEOR (%)
CIP-ANC	0,514	3,964	99,09
CIP-PABA	0,610	4,712	117,81
CIP-AINC	0,525	4,049	101,23
CIP-APZ	0,575	4,441	111,03

* Média das absorbâncias realizadas em seis réplicas. Concentração teórica de 4 µg mL⁻¹.

Fonte: Elaborado pela autora.

É possível verificar que, através da equação da reta, foram calculadas as concentrações reais de CIP para os cocristais e seus respectivos teores percentuais experimentais. Assim como visto nos testes de seletividade, os cocristais que contém APZ e PABA apresentam absorbâncias maiores e consequentemente maiores concentrações e teores, uma vez que estes coformadores possuem absorção na mesma região que o fármaco interferindo na sua determinação.

A Tabela 3.11 mostra também, que o método foi capaz de determinar ciprofloxacino em amostras de cocrystal de CIP-AINC e CIP-ANC, pois as concentrações obtidas são próximas do valor teórico ($4,0 \mu\text{g mL}^{-1}$) e o teor encontrado experimentalmente está compreendido entre $98\% \leq \text{Teor} \leq 102\%$ (AOAC, 2016).

3.4. CONCLUSÃO

Conclui-se que as medidas feitas no espectrofotômetro de absorção no UV são simples, de fácil execução, sensíveis e com custo relativamente reduzido, podendo ser utilizadas com precisão para análise quantitativa de fármacos.

O método validado apresentou-se linear, preciso, exato e robusto, resistindo às modificações causadas no método, além de apresentar desvios padrão relativos bem baixos em todos os quesitos validados.

Através da seletividade foi possível concluir que apenas os ácidos pirazinóico e *p*-aminobenzóico influenciaram a região de absorção do CIP, impossibilitando a sua determinação nos cocrystal dos mesmos, enquanto que o diluente e os ácidos nicotínico e isonicotínico não causaram interferência relevante.

A confirmação de validação do método se deu pelo cálculo do teor percentual dos cocrystal, e que se mostrou satisfatório ($98\% \leq \text{Teor} \leq 102\%$) para os sistemas contendo ANC e AINC, e insatisfatório para os sistemas com APZ e PABA.

4. CAPÍTULO IV – ESTUDO DE SOLUBILIDADE

4.1. INTRODUÇÃO

No campo farmacêutico, um desafio enfrentado no desenvolvimento de fármacos está relacionado ao melhoramento de suas propriedades físico-químicas, principalmente a solubilidade aquosa e a taxa de dissolução (KOTBANTAO; CHAROENCHAITRAKOOL, 2017).

Segundo Babu e colaboradores (BABU; NANGIA, 2011), mais de 80% dos fármacos são vendidos na forma de comprimidos e cerca de 40% dos fármacos comercializados apresentam baixa solubilidade aquosa.

A solubilidade aquosa depende de suas propriedades moleculares e da sua habilidade em formar ligações de hidrogênio, além de ser influenciada por fatores como pH, pKa, polimorfismo, tamanho de partícula, excipientes, composição do fluido intestinal, entre outros (KOGAWA; CORRÊA; SALGADO, 2014).

A determinação da solubilidade de um fármaco pode ser feita dissolvendo-se uma alta dose do composto em um volume de 250 mL ou menos, de uma solução tampão que apresenta pH na faixa de 1,0 a 7,5 numa temperatura de 37°C (KOGAWA; CORRÊA; SALGADO, 2014).

Como descrito anteriormente, o ciprofloxacino é uma fluorquinolona de segunda geração amplamente prescrita, entretanto este antibiótico apresenta baixa solubilidade aquosa (cerca de 80 mg/L) e baixa permeabilidade em biomembranas, ou seja, enquadra-se na classe 4 do Sistema de Classificação Biofarmacêutica (ASSALI et al., 2016; REDDY et al., 2011; VELLA et al., 2015).

São encontrados alguns trabalhos na literatura nos quais se descreve que houve a melhoria da precária solubilidade aquosa do ciprofloxacino através da esterificação do fármaco com (mono-, di- e tri-) etileno glicóis (ASSALI et al., 2016) e através da formação de sais com ácidos carboxílicos (CHADHA et al., 2016; REDDY et al., 2011), desta forma, buscou-se realizar o estudo da solubilidade dos cocrystal sintetizados neste trabalho, afim de verificar se os mesmos proporcionaram melhoria nesta propriedade físico-química do princípio ativo de interesse, comparando seus resultados com aqueles obtidos pelo ciprofloxacino puro.

4.2. METODOLOGIA

A substância química de referência utilizada foi o ciprofloxacino (Sigma Aldrich, $\geq 98\%$) e as amostras utilizadas para este estudo de solubilidade foram os cocristais sintetizados com os ácidos nicotínico (CIP-ANC / EtOH (30Hz)) e isonicotínico (CIP-AINC (30 Hz 90 min)).

Para este estudo de solubilidade foi aplicado o método “shake-flask” por saturação. Um shaker (ou uma incubadora agitadora) da Marconi, modelo MA 420, um espectrofotômetro UV da Shimadzu, modelo UV 1800 e cubetas de quartzo com 1,0 cm de caminho óptico foram usados. Nas medidas volumétricas foram empregadas vidrarias grau A, micropipetas Olen (100-1000 μL) e Tediapet (10-100 μL).

A solubilidade foi avaliada em solução fisiologicamente relevante de tampão fosfato pH 6,8 e água destilada pH 4,5.

Foram pesados 15 mg de ciprofloxacino e cocristais em uma balança analítica da Ohaus, modelo DV2015CD, transferidos para tubos de ensaio separadamente. Em cada tubo foram adicionados 5 mL de diluente (água ou tampão). Foram preparados 5 tubos para cada um dos compostos (CIP ou cocrystal), embora a solubilidade para cada meio tenha sido determinada em triplicata. Os tubos foram tampados e colocados no shaker à 37°C, com rotação de 60 rpm por 24 horas.

Alíquotas de 1000 μL foram coletadas a cada 6 horas de experimento (tempos de 6, 12, 18 e 24 horas), filtradas através de microfiltros de membrana de politetrafluoretileno (PTFE) com tamanho de poros de 0,2 μm e 13 mm de diâmetro, algumas diluições (no mesmo meio) foram realizadas, conforme necessário para a medição no espectrofotômetro. Logo após a amostragem de sobrenadante, o volume de 1000 μL retirado foi restituído com o mesmo meio, os tubos foram novamente tampados e levados ao shaker sob mesmas condições acima citadas.

As leituras no espectrofotômetro foram realizadas em 277 nm, todas usando o meio de dissolução como branco. O método espectrofotométrico usado foi previamente validado, conforme descrito no Capítulo III.

Para calcular a concentração, foi preparado um padrão contendo uma concentração de 4 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de ciprofloxacino puro para cada um dos diluentes testados (teste dos diluentes). Os resultados foram obtidos para o fármaco livre

e os cocristais foram comparados, além disso, o papel desempenhado pelos cocristais sobre a solubilidade do CIP foi avaliado.

4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores das absorvâncias da solução de ciprofloxacino na concentração de 4 µg mL⁻¹ nos solventes testados estão mostrados na Tabela 4.1.

Tabela 4.1 – Valores das absorvâncias de ciprofloxacino em diferentes solventes na concentração 4 µg mL⁻¹.

	Absorvâncias			Média	DP	DPR (%)	Concentração (µg mL ⁻¹)
água destilada	0,518	0,516	0,515	0,516	0,001	0,23	3,907
tampão pH 6,8	0,363	0,362	0,363	0,363	0,001	0,16	2,731

Fonte: Elaborado pela autora.

O teste dos diluentes é realizado para se calcular a concentração do princípio ativo farmacêutico descartando-se a influência do solvente, sendo assim, esse teste permite determinar a concentração real de CIP nas soluções preparadas com água destilada e tampão fosfato pH 6,8, utilizando o método descrito no Capítulo III.

As Tabelas 4.2-4.5 mostram a solubilidade do ciprofloxacino puro após 6, 12, 18 e 24 horas no shaker.

Tabela 4.2 – Solubilidade do ciprofloxacino após 6 horas de experimento.

6 horas	Média Abs.*	DPR (%)	Diluição (µL)	Concentração (µg/mL)
água purificada (pH 4,5)	0,583	0,50	300	73,48
tampão fosfato (pH 6,8)	0,475	1,34	200	73,47

* Média das absorvâncias realizadas em triplicata.

Fonte: Elaborado pela autora.

Tabela 4.3 – Solubilidade do ciprofloxacino após 12 horas de experimento.

12 horas	Média Abs.*	DPR (%)	Diluição (µL)	Concentração (µg/mL)
água purificada (pH 4,5)	0,520	2,24	300	65,62
tampão fosfato pH 6,8	0,417	1,94	200	78,45

* Média das absorvâncias realizadas em triplicata.

Fonte: Elaborado pela autora.

Tabela 4.4 – Solubilidade do ciprofloxacino após 18 horas de experimento.

18 horas	Média Abs.*	DPR (%)	Diluição (µL)	Concentração (µg/mL)
água purificada (pH 4,5)	0,545	3,15	300	68,77
tampão fosfato pH 6,8	0,381	0,30	200	71,79

* Média das absorvâncias realizadas em triplicata.

Fonte: Elaborado pela autora.

Tabela 4.5 – Solubilidade do ciprofloxacino após 24 horas de experimento.

	Média Abs.*	DPR (%)	Diluição (µL)	Concentração (µg/mL)
água purificada (pH 4,5)	0,514	1,73	300	64,82
tampão fosfato pH 6,8	0,374	1,90	200	70,35

* Média das absorvâncias realizadas em triplicata.

Fonte: Elaborado pela autora.

As Tabelas 4.6-4.9 mostram a solubilidade do cocristal entre ciprofloxacino e ácido nicotínico após 6, 12, 18 e 24 horas no shaker.

Tabela 4.6 – Solubilidade do cocristal CIP-ANC após 6 horas de experimento.

6 horas	Média Abs.*	DPR (%)	Diluição (µL)	Concentração (µg/mL)
água purificada (pH 4,5)	0,393	1,53	10	1486,85
tampão fosfato (pH 6,8)	0,619	3,63	200	116,60

* Média das absorvâncias realizadas em triplicata.

Fonte: Elaborado pela autora.

Tabela 4.7 – Solubilidade do cocristal CIP-ANC após 12 horas de experimento.

12 horas	Média Abs.*	DPR (%)	Diluição (µL)	Concentração (µg/mL)
água purificada (pH 4,5)	0,387	1,97	10	1465,41
tampão fosfato (pH 6,8)	0,568	1,34	200	107,00

* Média das absorvâncias realizadas em triplicata.

Fonte: Elaborado pela autora.

Tabela 4.8 – Solubilidade do cocristal CIP-ANC após 18 horas de experimento.

18 horas	Média Abs.*	DPR (%)	Diluição (µL)	Concentração (µg/mL)
água purificada (pH 4,5)	0,373	1,24	10	1409,92
tampão fosfato (pH 6,8)	0,547	2,00	200	103,05

* Média das absorvâncias realizadas em triplicata.

Fonte: Elaborado pela autora.

Tabela 4.9 – Solubilidade do cocrystal CIP-ANC após 24 horas de experimento.

24 horas	Média Abs.*	DPR (%)	Diluição (µL)	Concentração (µg/mL)
água purificada (pH 4,5)	0,317	1,28	10	1198,05
tampão fosfato (pH 6,8)	0,533	0,60	200	100,29

* Média das absorvâncias realizadas em triplicata.

Fonte: Elaborado pela autora.

As Tabelas 4.10-4.13 mostram a solubilidade do cocrystal entre ciprofloxacino e ácido isonicotínico após 6, 12, 18 e 24 horas no shaker.

Tabela 4.10 – Solubilidade do cocrystal CIP-AINC após 6 horas de experimento.

6 horas	Média Abs.*	DPR (%)	Diluição (µL)	Concentração (µg/mL)
água purificada (pH 4,5)	0,415	0,48	10	1570,08
tampão fosfato (pH 6,8)	0,507	1,02	100	190,91

* Média das absorvâncias realizadas em triplicata.

Fonte: Elaborado pela autora.

Tabela 4.11 – Solubilidade do cocrystal CIP-AINC após 12 horas de experimento.

12 horas	Média Abs.*	DPR (%)	Diluição (µL)	Concentração (µg/mL)
água purificada (pH 4,5)	0,382	2,04	10	1443,97
tampão fosfato (pH 6,8)	0,454	0,00	100	170,95

* Média das absorvâncias realizadas em triplicata.

Fonte: Elaborado pela autora.

Tabela 4.12 – Solubilidade do cocrystal CIP-AINC após 18 horas de experimento.

18 horas	Média Abs.*	DPR (%)	Diluição (µL)	Concentração (µg/mL)
água purificada (pH 4,5)	0,349	1,16	10	1321,64
tampão fosfato (pH 6,8)	0,410	0,37	100	154,26

* Média das absorvâncias realizadas em triplicata.

Fonte: Elaborado pela autora.

Tabela 4.13 – Solubilidade do cocrystal CIP-AINC após 24 horas de experimento.

24 horas	Média Abs.*	DPR (%)	Diluição (µL)	Concentração (µg/mL)
água purificada (pH 4,5)	0,309	2,93	10	1170,31
tampão fosfato (pH 6,8)	0,396	1,02	100	149,24

* Média das absorvâncias realizadas em triplicata.

Fonte: Elaborado pela autora.

Através dos valores de concentração mostrados nas tabelas acima, percebe-se uma melhoria na solubilidade, em tampão fosfato pH 6,8, para os cocristais sintetizados neste trabalho com relação ao API, entretanto esse melhoramento é mais pronunciado em sistema aquoso, em que é possível ver uma melhora de cerca de 20 vezes em relação à solubilidade do ciprofloxacino puro, tanto no cocrystal de ANC quanto de AINC. Em sistema tamponado, essa solubilidade melhorou em torno de 1,5 vezes para o sistema com ácido nicotínico e 2,5 vezes para o cocrystal de ácido isonicotínico. A Figura 4.1 ilustra essas melhorias de forma mais clara.

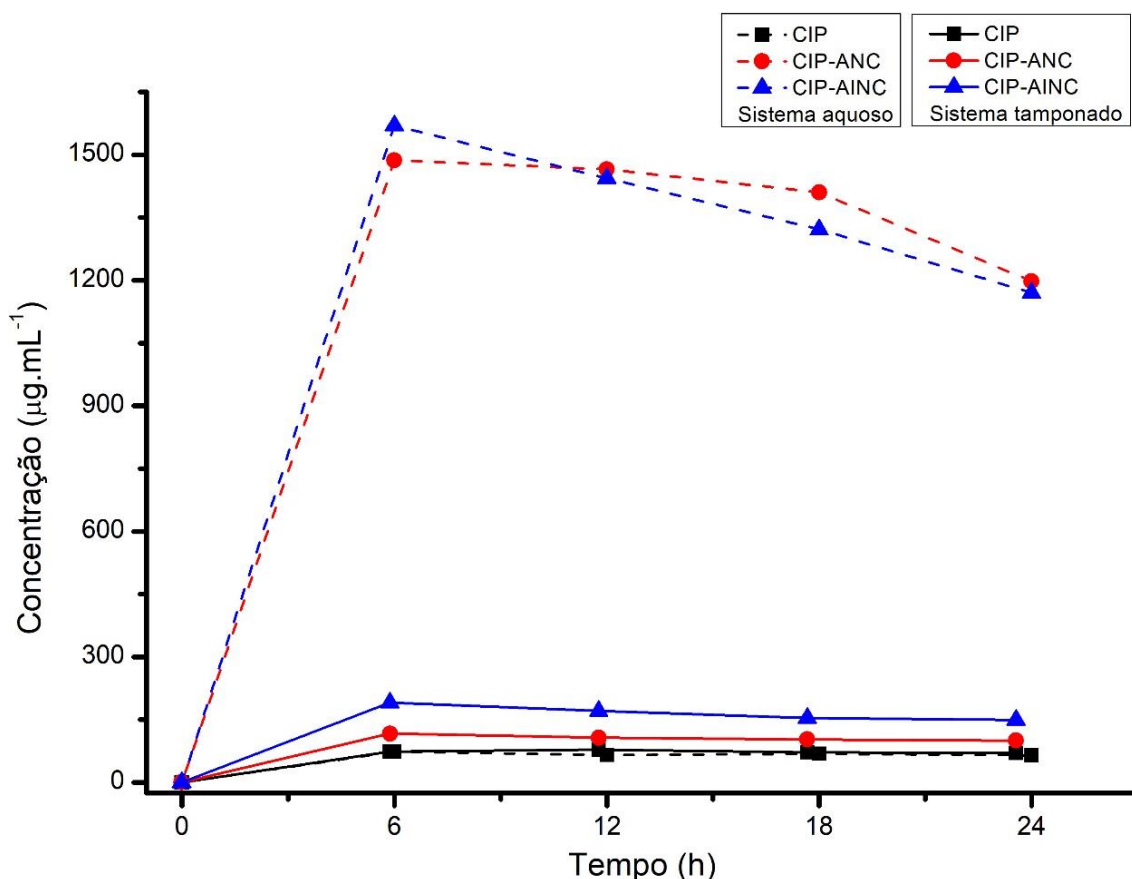


Figura 4.1 – Solubilidade do ciprofloxacino e seus cocristais em sistema aquoso e tampão pH 6,8 após 6, 12, 18 e 24 horas no shaker.

Fonte: Elaborado pela autora.

A melhora da solubilidade por parte dos cocristais pode ser explicada uma vez que, em meio biológico, ocorre a dissociação da ligação de hidrogênio entre API e coformador em um curto período de tempo (questão de minutos a uma hora). O coformador, por apresentar maior solubilidade aquosa, é liberado da estrutura cristalina para o meio biológico aquoso, enquanto que o API precipita subitamente de forma desorientada, o que o assemelha à um fármaco amorfo.

Sendo assim, o efeito “*spring*” pode ser alcançado pela dissociação do cocrystal em um fármaco na forma amorfa, e este composto que apresenta moléculas dispostas aleatoriamente, maior energia livre e maior superfície de contato apresenta, agora, uma maior solubilidade, rápida dissolução aquosa e geralmente são mais bem absorvidas. Já o efeito “*parachute*” ou seja, a manutenção do pico de solubilidade do API, acontece por um período relativamente alto, devido à lenta transformação deste precipitado amorfo em uma fase cristalina estável (BABU; NANGIA, 2011; KOGAWA; CORRÊA; SALGADO, 2014).

4.4. CONCLUSÃO

Através do método descrito no Capítulo III, foi possível determinar a concentração de ciprofloxacino puro e presente nos cocrystal sintetizados neste trabalho, e o teste do diluente correlaciona o método previamente validado, descartando a influência dos solventes durante a determinação da concentração do analito.

O estudo da solubilidade permitiu concluir que a cocrystalização com os ácidos nicotínico e isonicotínico contribuiu para a melhoria da solubilidade do API, sendo esta mais acentuada no sistema aquoso.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A baixa solubilidade e taxa de dissolução aquosa por parte dos fármacos tem chamado a atenção da indústria farmacêutica, uma vez que novas abordagens de formas multicomponentes, tais como cocristais, sais, e solvatos, têm sido desenvolvidas. Como citado neste trabalho, os cocristais podem ser definidos como sendo uma estrutura cristalina multicomponente, formada entre API e coformador sob uma razão estequiométrica definida, na qual estas moléculas estão unidas por interações não-iônicas e não-covalente, principalmente por ligações de hidrogênio.

Desta forma, esta dissertação trouxe, de forma detalhada, a síntese dos cocristais de ciprofloxacino, um antibiótico muito utilizado no mundo, porém que apresenta baixa solubilidade aquosa e permeabilidade em membranas intestinais. Os coformadores foram escolhidos com base nos princípios de engenharia de cristais, aplicando-se os conceitos de química supramolecular ao estado sólido, visando a formação de síntons supramoleculares.

Com relação aos resultados aqui apresentados, pôde-se verificar que a síntese mecanoquímica foi efetiva na formação do sal e dos cocristais. A utilização do etanol, que atuou como catalisador da reação, e o estresse térmico provocado nas amostras favoreceram o processo de cocrystalização. Além disso, foi possível verificar que as análises de caracterização confirmaram a obtenção dos produtos, fornecendo informações térmicas e estruturais tanto das matérias primas quanto das misturas.

Uma vez que os produtos foram sintetizados e caracterizados, buscou-se avaliar se, conforme esperado e relatado na literatura, os cocristais e sal haviam provocado uma melhora na solubilidade aquosa do princípio ativo, ciprofloxacino. Assim, para determinar e quantificar o API, e posteriormente determinar sua solubilidade, foi necessário a utilização de um método analítico validado.

Conseqüentemente, conforme mencionado, foi realizada a modificação e adequação, baseada em métodos descritos na literatura, que exigiu, então, a sua validação.

A validação do método analítico quantitativo para determinação de ciprofloxacino em cocristais se deu de forma eficiente e adequada, seguindo-se os critérios exigidos pela ANVISA. O método proposto apresentou-se preciso,

exato, linear, robusto e seletivo. Através da seletividade e recuperação foi possível concluir que o método era ideal apenas na determinação de CIP para os sistemas contendo os coformadores ANC e AINC, em contrapartida que os produtos que continham os coformadores PABA e APZ, estes apresentaram absorção na mesma região que o API, resultando um valor falso na determinação quantitativa do analito.

Com o método analítico validado, for então realizado o ensaio de solubilidade para os cocrystal sintetizados com ANC e AINC. Através do estudo de solubilidade foi possível verificar uma melhora significativa desta propriedade físico-química, em cerca de 20 vezes em sistema aquoso para os cocrystal CIP-ANC e CIP-AINC, quando comparados com o API. As amostras em solução de tampão fosfato pH 6,8 também apresentaram um aumento na solubilidade, em torno de 1,5 e 2,5 vezes para as amostras contendo ANC e AINC, respectivamente.

Vale ressaltar ainda, que o estudo de solubilidade realizado possibilitou observar os efeitos “spring” e “parachute”, respectivamente, uma vez que a dissociação do cocrystal em solução aquosa provocou a rápida transformação do ciprofloxacino em um composto de comportamento similar à um sólido amorfo, apresentando assim um aumento significativo em sua solubilidade aquosa, além disso, ocorreu a lenta transformação do fármaco amorfo em sua fase cristalina estável, garantindo a manutenção no pico de solubilidade apresentado pelo composto.

REFERÊNCIAS

AAKERÖY, C. B. et al. Cyanophenyloximes: Reliable and versatile tools for hydrogen-bond directed supramolecular synthesis of cocrystals. **Crystal Growth and Design**, v. 6, n. 4, p. 1033–1042, 2006.

ABRAHAM, M. H.; ACREE, W. E. On the solubility of nicotinic acid and isonicotinic acid in water and organic solvents. **The Journal of Chemical Thermodynamics**, v. 61, p. 74–78, 2013.

AKBEROVA, S. I. New Biological Properties of p -Aminobenzoic Acid. **Biology Bulletin of the Russian Academy of Sciences**, v. 29, n. 4, p. 390–393, 2002.

ALLAN, J. R.; BAIRD, N. D.; KASSYK, A. L. Some first row transition metal complexes of nicotinamide and nicotinic acid. **Journal of Thermal Analysis**, v. 16, p. 79–90, 1979.

AMARANTE JUNIOR, O. P. et al. VALIDAÇÃO DE MÉTODOS ANALÍTICOS: uma breve revisão. **Cadernos de Pesquisa**, v. 12, n. 1/2, p. 116–131, 2001.

AMIDON, G. L. et al. A Theoretical Basis for a Biopharmaceutic Drug Classification: The Correlation of in vitro Drug product dissolution and in vivo bioavailability. **Pharmaceutical Research**, v. 12, n. 3, p. 413–420, 1995.

ANDREU, V.; BLASCO, C.; PICÓ, Y. Analytical strategies to determine quinolone residues in food and the environment. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 26, n. 6, p. 534–556, 2007.

ANVISA. **Resolução da diretoria colegiada - RDC nº 166, de 24 de Julho de 2017** Ministério da Saude, 2017. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/2721567/RDC_166_2017_COMP.pdf/d5fb92b3-6c6b-4130-8670-4e3263763401>

AOAC. Association of Official Analytical Chemists. Appendix F : Guidelines for Standard Method Performance Requirements. **Official Methods of Analysis of AOAC International**, p. 1–17, 2016.

ARENAS-GARCÍA, J. I. et al. Interrelation of the dissolution behavior and solid-state features of acetazolamide cocrystals. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 96, p. 299–308, 2017.

ASSALI, M. et al. Facile Synthesis of Ciprofloxacin Prodrug Analogues to Improve its Water Solubility and Antibacterial Activity. **ChemistrySelect**, v. 1, n. 6, p. 1132–1135, 2016.

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

BARLOW, A. M. Nalidixic Acid In Infections Of Urinary Tract : Laboratory and clinical investigations. **British Medical Journal**, v. 2, n. 5368, p. 1308–1310,

1963.

BARSZCZ, B. et al. Cadmium(II) and calcium(II) complexes with N,O-bidentate ligands derived from pyrazinecarboxylic acid: Thermal data and crystal structure correlation. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 108, n. 3, p. 971–978, 2012.

BLAGDEN, N. et al. Crystal engineering of active pharmaceutical ingredients to improve solubility and dissolution rates. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 59, n. 7, p. 617–630, 2007.

BOLLA, G.; SANPHUI, P.; NANGIA, A. Solubility advantage of tenoxicam phenolic cocrystals compared to salts. **Crystal Growth and Design**, v. 13, n. 5, p. 1988–2003, 2013.

BREDA, S. A. et al. Solubility behavior and biopharmaceutical classification of novel high-solubility ciprofloxacin and norfloxacin pharmaceutical derivatives. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 371, n. 1–2, p. 106–113, 2009.

CARLSON, L. A. Nicotinic acid: The broad-spectrum lipid drug. A 50th anniversary review. **Journal of Internal Medicine**, v. 258, n. 2, p. 94–114, 2005.

CAZEDEY, E. C. L. **Análise químico-farmacêutica de cloridrato de ciprofloxacino em solução oftálmica**. [s.l.] Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, 2009.

CAZEDEY, E. C. L.; SALGADO, H. R. N. Spectrophotometric Determination of Ciprofloxacin Hydrochloride in Ophthalmic Solution. **Advances in Analytical Chemistry**, v. 2, n. 6, p. 74–79, 2012.

CHADHA, R. et al. Ciprofloxacin Hippurate Salt: Crystallization Tactics, Structural Aspects, and Biopharmaceutical Performance. **Crystal Growth and Design**, v. 16, n. 9, p. 4960–4967, 2016.

CHERUKUVADA, S.; NANGIA, A. Eutectics as improved pharmaceutical materials: Design, properties and characterization. **Chemical Communications**, v. 50, n. 8, p. 906–923, 2014.

CHIERENTIN, L.; SALGADO, H. R. N. Performance Characteristics of UV and Visible Spectrophotometry Methods for Quantitative Determination of Norfloxacin in Tablets. **Journal of Scientific Research**, v. 6, n. 3, p. 531–541, 2014.

CHOI, J. M. et al. Solubility and bioavailability enhancement of ciprofloxacin by induced oval-shaped mono-6-deoxy-6-aminoethylamino- β -cyclodextrin. **Carbohydrate Polymers**, v. 163, p. 118–128, 1 maio 2017.

DE SOUZA, M. V. N. New fluoroquinolones: a class of potent antibiotics. **Mini-Reviews in Medicinal Chemistry**, v. 5, n. 11, p. 1009–1017, 2005.

DESCAMPS, M.; WILLART, J. F. Perspectives on the amorphisation/ milling relationship in pharmaceutical materials. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 100, p. 51–66, 2016.

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

DO NASCIMENTO, A. L. C. S. et al. Thermal behaviour of nicotinic acid, sodium nicotinate and its compounds with some bivalent transition metal ions. **Thermochimica Acta**, v. 575, p. 212–218, 2014.

ETAIW, S. E. DIN H.; EL-BENDARY, M. M. Crystal structure, characterization and catalytic activities of Cu(II) coordination complexes with 8-hydroxyquinoline and pyrazine-2-carboxylic acid. **Applied Organometallic Chemistry**, v. 32, n. 4, p. 1–14, 2018.

FEREJA, T. H.; SEIFU, M. F.; MOLA, T. Y. UV Visible Spectrophotometric Method Development and Quantification of Ciprofloxacin in Tablets Dosage Form. **American Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 2, n. 1, p. 1–8, 2015.

FERNANDES, J. P. DOS S.; FELLI, V. M. A. Evaluation of the influence of base and alkyl bromide on synthesis of pyrazinoic acid esters through factorial design. **Química Nova**, v. 32, n. 9, p. 2464–2466, 2009.

FERREIRA, F. G. et al. Fármacos: do desenvolvimento à retirada do mercado. **Revista Eletrônica de Farmácia**, p. 14–24, 2009.

FERREIRA, L. T.; PERPETUO, G. L.; BANNACH, G. Estudo do comportamento térmico do cocristal de cetoprofeno com ácido salicílico obtido pelo método mecanoquímico. **Brazilian Journal of Thermal Analysis**, v. 7, p. 19–22, 2015.

FRIŠČIĆ, T. et al. The role of solvent in mechanochemical and sonochemical cocrystal formation: a solubility-based approach for predicting cocrystallisation outcome. **CrystEngComm**, v. 11, n. 3, p. 418–426, 2009.

GALANI, A. et al. Synthesis, crystal structure and characterization of three novel copper complexes of Levofloxacin. Study of their DNA binding properties and biological activities. **Inorganica Chimica Acta**, v. 423, p. 207–218, nov. 2014.

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

GIRON, D. Investigations of polymorphism and pseudo-polymorphism in pharmaceuticals by combined thermoanalytical techniques. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 64, n. 1, p. 37–60, 2001.

GOWENLOCK, C. E. et al. Copper-complexed isonicotinic acid functionalized aluminum oxide nanoparticles. **Main Group Chemistry**, v. 15, n. 1, p. 1–15, 2015.

GUMMADI, S. et al. Development and validation of UV spectroscopic methods for simultaneous estimation of ciprofloxacin and tinidazole in tablet formulation. **International Current Pharmaceutical Journal**, v. 1, n. 10, p. 317–321, 2012.

IONASHIRO, M.; CAIRES, F. J.; GOMES, D. J. C. **Giolito: fundamentos da termogravimetria e análise térmica diferencial / calorimetria exploratória diferencial**. 2. ed. São Paulo: Giz editorial e Livraria Ltda., 2014.

ISSA, N. **Towards more Efficient Screening of Pharmaceutical Cocrystals**. [s.l.] University College London, 2011.

JOVER, J.; BOSQUE, R.; SALES, J. QSPR prediction of pKa for benzoic acids in different solvents. **QSAR and Combinatorial Science**, v. 27, n. 5, p. 563–581, 2008.

KAWABATA, Y. et al. Formulation design for poorly water-soluble drugs based on biopharmaceutics classification system: Basic approaches and practical applications. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 420, n. 1, p. 1–10, 2011.

KIRILLOV, A. M.; SHUL'PIN, G. B. Pyrazinecarboxylic acid and analogs: Highly efficient co-catalysts in the metal-complex-catalyzed oxidation of organic compounds. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 257, n. 3–4, p. 732–754, 2013.

KOCZOŃ, P. et al. Experimental and theoretical IR and Raman spectra of picolinic, nicotinic and isonicotinic acids. **Journal of Molecular Structure**, v. 655, n. 1, p. 89–95, 2003.

KOGAWA, A. C. **Análise químico-farmacêutica de hidrato de doxiciclina em comprimidos e de seu complexo de inclusão**. [s.l.] Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, 2012.

KOGAWA, A. C.; CORRÊA, J. C. R.; SALGADO, H. R. N. Influence of Darunavir:β-Cyclodextrin complex on the solubility of Darunavir. **Research and Reviews : Journal of Pharmacology and Toxicological Studies**, v. 2, n. 4, p. 50–55, 2014.

KOTBANTAO, G.; CHAROENCHAITRAKOOL, M. Processing of ketoconazole–4-aminobenzoic acid cocrystals using dense CO₂ as an antisolvent. **Journal of CO₂ Utilization**, v. 17, p. 213–219, 2017.

LESHER, G. Y. et al. 1,8-Naphthyridine Derivates: A new clas of chemotherapic agents. **Journal of Medicinal and Pharmaceutical Chemistry**, v. 5, n. 1, p. 1063–1065, 1962.

LI, H.-R. et al. The smart precursors of energetic–energetic cocrystals from eutectic precursors. **Chinese Chemical Letters**, v. 25, n. 5, p. 783–786, maio 2014.

LI, Y. et al. Fabrication of intercalated p-aminobenzoic acid into Zn-Ti layered double hydroxide and its application as UV absorbent. **Chinese Chemical Letters**, v. 27, n. 9, p. 1495–1499, 2016.

LIN, H. L.; HUANG, Y. T.; LIN, S. Y. Spectroscopic and thermal approaches to investigate the formation mechanism of piroxicam-saccharin co-crystal induced

by liquid-assisted grinding or thermal stress. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 123, n. 3, p. 2345–2356, 2016.

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

LORENZ, H.; SEIDEL-MORGENSTERN, A. Binary and ternary phase diagrams of two enantiomers in solvent systems. **Thermochimica Acta**, v. 382, n. 1, p. 129–142, 2002.

MALLAH, M. A. et al. A rapid Fourier-transform infrared (FTIR) spectroscopic method for direct quantification of paracetamol content in solid pharmaceutical formulations. **Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 141, p. 64–70, 2015.

MARTÍNEZ-ALEJO, J. M. et al. A twist in cocrystals of salts: Changes in packing and chloride coordination lead to opposite trends in the biopharmaceutical performance of fluoroquinolone hydrochloride cocrystals. **Crystal Growth and Design**, v. 14, n. 6, p. 3078–3095, 2014.

MESALLATI, H.; MUGHEIRBI, N. A.; TAJBER, L. Two Faces of Ciprofloxacin: Investigation of Proton Transfer in Solid State Transformations. **Crystal Growth and Design**, v. 16, n. 11, p. 6574–6585, 2016.

MINIYAR, P. B.; MOKALE, S. N.; MAKHIJA, S. J. Design and synthesis of 5-methylpyrazine-2-carbohydrazide derivatives: A new anti-tubercular scaffold. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 10, n. 1, p. 41–46, 2017.

MUKHERJEE, A. et al. Synthon identification in co-crystals and polymorphs with IR spectroscopy. Primary amides as a case study. **CrystEngComm**, v. 15, n. 23, p. 4640–4654, 2013.

NIJHU, R. S.; JHANKER, Y. M.; SUTRADHAR, K. B. Development of an assay method for simultaneous determination of ciprofloxacin and naproxen by UV spectrophotometric method. **Stamford Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 4, n. 1, p. 84–90, 2011.

PAUCEAN, A. et al. HPLC Analysis of Vitamin B3 and Vitamin C from A Dairy Product Containing Brewer's Yeast. **Journal of Agroalimentary Processes and Technologies**, v. 16, n. 2, p. 136–140, 2010.

POIESZ, K. B.; GRUNDNER, C. L.; REDMAN-FUREY, N. L. Monitoring hydration state conversion by TG-DTA. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 85, n. 1, p. 79–86, 2006.

QIAO, N. et al. Pharmaceutical cocrystals: An overview. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 419, n. 1–2, p. 1–11, 2011.

RAUBER, G. S. **Cocristsais farmacêuticos de furosemida: Obtenção,**

caracterização e estudos de estabilidade. [s.l.] Universidade Federal de Santa Catarina, 2013.

REDDY, J. S. et al. Fluoroquinolone Salts with Carboxylic Acids. **JOURNAL OF PHARMACEUTICAL SCIENCES**, v. 100, n. 8, p. 3160–3176, 2011.

RICARDO, R. A. et al. Naproxen cocrystals with pyridinecarboxamide isomers. **Crystal Growth and Design**, v. 11, n. 12, p. 5396–5404, 2011.

SARRAGUÇA, M. C. et al. A PAT approach for the on-line monitoring of pharmaceutical co-crystals formation with near infrared spectroscopy. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 471, p. 478–484, 2014.

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

SHARMA, P. C. et al. Ciprofloxacin: Review on developments in synthetic, analytical, and medicinal aspects. **Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry**, v. 25, n. 4, p. 577–589, 2010.

SHEN, L. L. et al. Mechanism of inhibition of DNA gyrase by quinolone antibacterials: A cooperative drug-DNA binding model. **Biochemistry**, v. 28, n. 9, p. 3886–3894, 1989.

SOMPHON, W.; HALLER, K. J. Crystal growth and physical characterization of picolinic acid cocrystallized with dicarboxylic acids. **Journal of Crystal Growth**, v. 362, n. 1, p. 252–258, 2013.

STEPANOV, D. et al. Cocrystals of Pentoxifylline: In Silico and Experimental Screening. **Crystal Growth and Design**, v. 15, n. 8, p. 3652–3660, 2015.

TANTISHAIYAKUL, V. et al. Investigation of the efficiency of gelation of melamine with the positional isomers of aminobenzoic acid. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 446, p. 118–126, 2014.

TEIXEIRA, J. A. et al. Thermal and spectroscopic study to investigate p-aminobenzoic acid, sodium p-aminobenzoate and its compounds with some lighter trivalent lanthanides. **Thermochimica Acta**, v. 624, p. 59–68, 2016.

THAKURIA, R. et al. Pharmaceutical cocrystals and poorly soluble drugs. **International journal of pharmaceutics**, v. 453, p. 101–125, 30 ago. 2013.

TSUME, Y. et al. 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.

VALENTINI, S. R.; SOMMER, W. A.; MATIOLI, G. Validação de Métodos Analíticos. **Arquivos do Mudi**, v. 11, n. 2, p. 26–31, 2007.

VELLA, J. et al. A simple HPLC-UV method for the determination of ciprofloxacin in human plasma. **Journal of Chromatography B**, v. 989, p. 80–85, 2015.

VITORINO, G. P. et al. A Supramolecular Assembly Formed by Heteroassociation of Ciprofl oxacin and Nor fl oxacin in the Solid State: Co-Crystal Synthesis and Characterization. **Crystal Growth & Design**, v. 13, n. 3, p. 1050–1058, 2013.

WEYNA, D. R. et al. Synthesis and Structural Characterization of Cocrystals and Pharmaceutical Cocrystals: Mechanochemistry vs Slow Evaporation from Solution. **Crystal Growth & Design**, v. 9, n. 2, p. 1106–1123, 2009.

YI, K. et al. Effect of ciprofloxacin on biological nitrogen and phosphorus removal from wastewater. **Science of The Total Environment**, v. 605–606, p. 368–375, 15 dez. 2017.

ZHAO, D. et al. Enthalpy of phase transition of isonicotinic acid. **Chinese Journal of Chemical Engineering**, v. 25, n. 7, p. 971–975, 2017.

ZHOU, Z.; JIANG, J. Q. Detection of ibuprofen and ciprofloxacin by solid-phase extraction and UV-Vis spectrometry. **Journal of Applied Spectroscopy**, v. 79, n. 3, p. 459–464, 2012.

ANEXO A – ATRIBUIÇÃO DE BANDAS DE INFRAVERMELHO PARA OS COMPOSTOS PUROS E SISTEMAS

Tabela A.1 – Atribuição das principais bandas para os compostos puros e o sistema CIP-ANC.

Atribuição	CIP	ANC	CIP-ANC (15 Hz)	CIP-ANC / EtOH (15 Hz)	CIP-ANC (30 Hz)	CIP-ANC / EtOH (30 Hz)
$\nu_{as}, \nu_s(\text{COO}^-)$	1589, 1375 <i>s,m</i>		1589, 1376 <i>s,m</i>	1589, 1377 <i>s,m</i>	1589, 1385 <i>m</i>	
$\nu(\text{NH}_2^+)$	2580-2680 <i>w</i>		2580-2680 <i>w</i>	2580-2680 <i>w</i>	2580-2680 <i>w</i>	
$\nu(\text{C=O})_{\text{ketone}}$	1616 <i>s</i>		1616 <i>s</i>	1617 <i>s</i>	1626 <i>s</i>	1627 <i>s</i>
$\nu(\text{C=O})_{\text{acid}}$		1706 <i>m</i>	1729 <i>w</i>	1731 <i>w</i>	1733 <i>m</i>	1729 <i>m</i>
$\nu(\text{O-H}_{\text{acid}} \cdots \text{N}_{\text{aromatic}})$		2436, 1900 <i>b</i>				
$\nu(\text{OH})_{\text{free}}$			3469 <i>w</i>	3470 <i>w</i>	3466 <i>w</i>	
$\nu(\text{OH})$					3400-2400 <i>b</i>	3200-2000 <i>b</i>

ν = estiramento, s = forte, m = médio, w = fraco, b = largo.

Fonte: Elaborado pela autora.

Tabela A.2 – Atribuição das principais bandas para os compostos puros e o sistema CIP-AINC.

Atribuição	CIP	AINC	CIP-AINC (15 Hz)	CIP-AINC / EtOH (15 Hz)	CIP-AINC (30 Hz)	CIP-AINC / EtOH (30 Hz)
$\nu_{as}, \nu_s(\text{COO}^-)$	1589, 1375 <i>s,m</i>		1590, 1376 <i>s,m</i>	1590, 1376 <i>s,m</i>	1589, 1377 <i>m,w</i>	1589, 1376 <i>s,m</i>
$\nu(\text{NH}_2^+)$	2580-2680 <i>w</i>		2580-2680 <i>w</i>	2580-2680 <i>w</i>	2580-2680 <i>w</i>	2580-2680 <i>w</i>
$\nu(\text{C=O})_{\text{ketone}}$	1616 <i>s</i>		1616 <i>s</i>	1617 <i>s</i>	1616 <i>s</i>	1616 <i>s</i>
$\nu(\text{C=O})_{\text{acid}}$		1705 <i>s</i>	1726 <i>w</i>	1731 <i>w</i>	1727 <i>m</i>	1718 <i>w</i>
$\nu(\text{O-H}_{\text{acid}} \cdots \text{N}_{\text{aromatic}})$		2400, 1900 <i>b</i>				
$\nu(\text{OH})_{\text{free}}$					3433 <i>w</i>	
$\nu(\text{OH})$					3300-2400 <i>b</i>	

ν = estiramento, s = forte, m = médio, w = fraco, b = largo.

Fonte: Elaborado pela autora.

Tabela A.3 – Atribuição das principais bandas para os compostos puros e o sistema CIP-APZ.

Atribuição	CIP	APZ	CIP-APZ (15 Hz)	CIP-APZ / EtOH (15 Hz)	CIP-APZ (30 Hz)	CIP-APZ / EtOH (30 Hz)
$\nu_{as}, \nu_s(\text{COO}^-)$	1589, 1375 <i>s,m</i>					
$\nu(\text{NH}_2^+)$	2580-2680 <i>w</i>					
$\nu(\text{C=O})_{\text{ketone}}$	1616 <i>s</i>		1626 <i>s</i>	1627 <i>s</i>	1626 <i>s</i>	1627 <i>s</i>
$\nu(\text{C=O})_{\text{acid}}$		1715	1725 <i>m</i>	1726 <i>m</i>	1725 <i>m</i>	1729 <i>m</i>
$\nu(\text{O-H}_{\text{acid}} \cdots \text{N}_{\text{aromatic}})$		2450, 1900 <i>b</i>				
$\nu(\text{OH})_{\text{free}}$			3442 <i>w</i>	3447 <i>w</i>	3469 <i>w</i>	3448 <i>w</i>
$\nu(\text{OH})$			3200-2000 <i>b</i>	3200-2000 <i>b</i>	3200-2000 <i>b</i>	3200-2000 <i>b</i>

ν = estiramento, s = forte, m = médio, w = fraco, b = largo.

Fonte: Elaborado pela autora.

Tabela A.4 – Atribuição das principais bandas para os compostos puros e o sistema CIP-ANC.

Atribuição	CIP	PABA	CIP-PABA (15 Hz)	CIP-PABA / EtOH (15 Hz)	CIP-PABA (30 Hz)	CIP-PABA / EtOH (30 Hz)
$\nu_{as}, \nu_s(\text{COO}^-)$	1589, 1375 <i>s,m</i>		1590, 1375 <i>s,m</i>	1590, 1382 <i>m</i>	1589, 1375 <i>s,m</i>	1590, 1382 <i>m</i>
$\nu(\text{NH}_2^+)$	2580-2680 <i>w</i>					
$\nu(\text{C=O})_{\text{ketone}}$	1616 <i>s</i>		1617 <i>s</i>	1619 <i>s</i>	1616 <i>s</i>	1619 <i>s</i>
$\nu_{as}, \nu_s(\text{NH}_2)$		3460, 3363 <i>m</i>	3460, 3363 <i>w</i>	3395, 3345 <i>w</i>	3460, 3363 <i>w</i>	3395, 3345 <i>w</i>
$\nu(\text{C=O})_{\text{acid}}$		1662 <i>s</i>	1661 <i>w</i>	1716 <i>w</i>	1679 <i>w</i>	1717 <i>w</i>
$\nu(\text{OH})$		3300-2400 <i>b</i>			3600-2000 <i>b</i>	

ν = estiramento, *s* = forte, *m* = médio, *w* = fraco, *b* = largo.

Fonte: Elaborado pela autora.