

RICHARD PEROSA FERNANDES

Síntese, caracterização, estudo termoanalítico e avaliação de novas formas sólidas de meloxicam

Tese apresentada ao Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Química

Orientador: Prof. Dr. Flávio Junior Caires

Araraquara
2021

FICHA CATALOGRÁFICA

F363s Fernandes, Richard Perosa
 Síntese, caracterização, estudo termoanalítico e
 avaliação de novas formas sólidas de meloxicam / Richard
 Perosa Fernandes. – Araraquara : [s.n.], 2021
 118 f. : il.

 Tese (doutorado) – Universidade Estadual Paulista,
 Instituto de Química
 Orientador: Flávio Junior Caires

 1. Fármacos. 2. Agentes anti-inflamatórios.
 3. Solubilidade. 4. Dissolução. 5. Análise térmica. I. Título.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: Síntese, caracterização, estudo termoanalítico e avaliação de novas formas sólidas de meloxicam

AUTOR: RICHARD PEROSA FERNANDES

ORIENTADOR: FLÁVIO JUNIOR CAIRES

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



Prof. Dr. FLÁVIO JUNIOR CAIRES (Participação Virtual)
Departamento de Química/ Faculdade de Ciências – UNESP – Bauru



Prof. Dr. MARLUS CHORILLI (Participação Virtual)
Departamento de Fármacos e Medicamentos/ Faculdade de Ciências Farmacêuticas - UNESP – Araraquara



Prof. Dr. RONALDO SPEZIA NUNES (Participação Virtual)
Departamento de Química e Energia / Faculdade de Engenharia de Guaratinguetá - UNESP – Guaratinguetá



Prof. Dr. JOSÉ AUGUSTO TEIXEIRA (Participação Virtual)
Núcleo de Base Nacional Comum/ Química/ Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Paraná – IFPR – Paranavai



Prof. Dr. CLAUDIO TEODORO DE CARVALHO (Participação Virtual)
Química/ Faculdade de Ciências Exatas e Tecnologias – UFGD – Dourados

Araraquara, 29 de abril de 2021

DADOS CURRICULARES

IDENTIFICAÇÃO

Nome: Richard Perosa Fernandes

Nome em citações bibliográficas: Fernandes, R. P.

FORMAÇÃO ACADÊMICA

2020-2021: Especialização em Metodologia do Ensino de Química

Trabalho de conclusão: Metodologia contemporânea e histórica no ensino de química

Orientador: Claudinéia Conationi da Silva Franco

União Brasileira de Faculdades, UNIBF

2020-2021: Especialização em Química Ambiental

Trabalho de conclusão: Química Ambiental: o ensino da química verde

Orientador: Claudinéia Conationi da Silva Franco

União Brasileira de Faculdades, UNIBF

2015-2017: Mestrado em Química

Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, UNESP

Dissertação: Estudo do comportamento em co-cultivo dos fungos *Fusarium solani* e *Phomopsis cassiae* isolados de *Senna spectabilis*

Orientador: Prof. Dr. Ian Castro-Gamboa

Bolsa: CNPq.

2016: Licenciatura em Química.

Faculdade Associação Brasil, FAB

2009-2014: Bacharelado em Química com ênfase tecnológica.

Universidade Federal de São Carlos, UFSCar

Monografia: Avaliação do perfil espectral de elementos químicos em poeira no campus São Carlos da Universidade Federal de São Carlos.

Orientador: Prof. Dr. Edenir Rodrigues Pereira Filho

FORMAÇÃO COMPLEMENTAR

2017-2017: Cristalografia

Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, Brasil.

2017-2017: Métodos cromatográficos de Análise: Aplicações Analíticas (Carga horária: 180 horas)

Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, Brasil.

2017-2017: Análise Térmica (Carga horária: 180 horas)

Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, Brasil.

2017-2017: Métodos Espectrométricos I (Carga horária: 180 horas)

Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, Brasil.

2016-2016: RMN de Produtos Naturais (Carga horária: 120 horas)

Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, Brasil.

2015-2015: Aplicações em Quimiometria (Carga horária: 180 horas)

Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, Brasil.

2015-2015: Preparo de Amostras (Carga horária: 180 horas)

Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, Brasil.

2015-2015: Espectrometria Atômica (Carga horária: 180 horas)

Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, Brasil.

ATUAÇÃO PROFISSIONAL

2020-2021: Professor colaborador na disciplina de Química orgânica e analítica

Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Bauru.

2015-2015: Estágio docência na disciplina de Química Orgânica II

Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Araraquara.

2014-2014: Estágio curricular obrigatório no Grupo de Análise Instrumental Aplicada

Universidade Federal de São Carlos – São Carlos

2014-2014: Tutor de Cálculo

Universidade Federal de São Carlos – São Carlos

PRODUÇÃO BIBLIOGRÁFICA

NASICMENTO, L. C. S.; FERNANDES, R. P.; CHARPENTIER, M. D.; TER HORST, J. H.; CAIRES, F. J.; CHORILLI, M. Co-crystals of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs): Insight toward formation, methods, and drug enhancement, 2021. DOI:10.1016/j.partic.2021.03.015

FERNANDES, R. P.; EKAWA, B.; FERREIRA, L. T.; CARVALHO, A. C. S.; FREIRE, R. T.; CAIRES, F. J. Classification of beer by thermogravimetric and chemometric techniques. Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 2021. DOI: 10.1007/s10973-021-10729-y

TORQUETTI, C.; FERREIRA, P. O.; ALMEIDA, A. C.; FERNANDES, R. P.; CAIRES, F. J. Thermal study and characterization of new cocrystals of ciprofloxacin with picolinic acid. Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 2021. DOI: 10.1007/s10973-020-10479-3

NASCIMENTO, A.; FERNANDES, R. P.; QUIJIA, C.; ARAUJO, V. H.; PEREIRA, J.; GARCIA, J. S.; TREVISAN, M. G.; CHORILLI, M. Pharmacokinetic parameters of HIV 1 Protease Inhibitors. *ChemMedChem*, 2020. DOI: 10.1002/cmdc.202000101

PILON, A.; SELEGATO, D.; FERNANDES, R. P.; BUENO, P.; PINHO, D.; CARNEVALE, N. F.; FREIRE, R.; CASTRO-GAMBOA, I.; BOLZANI, V.; LOPES, N. Metabolômica de plantas: Métodos e desafios. *Química Nova*, 2020. DOI: 10.21577/0100-4042.20170499

ARAUJO, V. H. S.; DA SILVA, P. B.; SZLACHETKA, I. O.; DA SILVA, S. W.; FONSECA-SANTOS, B.; CHORILLI, M.; GANASSIN, R.; DE OLIVEIRA, G. R. T.; DA ROCHA, M. C. O.; FERNANDES, R. P.; DE CARVALHO, V. Q. M.; AZEVEDO, R. B.; MUEHLMANN, L. A. The influence of NLC composition on curcumin loading under a physicochemical perspective and in vitro evaluation. *Colloids and Surfaces A-Physicochemical and Engineering Aspects*, 2020. DOI: 10.1016/j.colsurfa.2020.125070

DOS SANTOS, E. S.; FERNANDES, R. P.; GUEDES, W. N.; DOS SANTOS, F. N.; EBERLIN, M. N.; LOPES, N. P.; PADOVANI, V. D.; DA ROSA, J. A. Rhodnius spp. are differentiated based on the peptide/protein profile by matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry and chemometric tools. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2020. DOI:10.1007/s00216-019-02376-y

EKAWA, B.; CARVALHO, A. C. S.; FERNANDES, R. P.; DO NASCIMENTO, A. L. C. S.; CAIRES, F. J. Synthesis, thermoanalytical and spectroscopic studies of trivalent lanthanides (Eu-Ho) complexes with the valsartan ligand. *Thermochimica Acta*, 2020. DOI:10.1016/j.tca.2020.178532

DE ALMEIDA, A. C.; TORQUETTI, C.; FERREIRA, P. O.; FERNANDES, R. P.; DOS SANTOS, E. C.; KOGAWA, A. C.; CAIRES, F. J. Cocrystals of ciprofloxacin with nicotinic and isonicotinic acids: mechanochemical synthesis, characterization, thermal and solubility study. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 2020. DOI:10.1016/j.tca.2019.178346

FERNANDES, R. P.; DE CARVALHO, A. C. S.; EKAWA, B.; DO NASCIMENTO, A. L. S. C.; PIRONI, A. M.; CHORILLI, M.; CAIRES, F. J. Synthesis and characterization of meloxicam eutectics with mandelic acid and saccharin for enhanced solubility. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 2020. DOI:10.1080/03639045.2020.1775633

ALVES, R.C.; FERNANDES, R. P.; SANTOS, F. B.; VICTORELLI, F. D.; CHORILLI, M. A critical review of properties and analytical methods for the determination of curcumin in biological and pharmaceutical matrices, *CRITICAL REVIEWS IN ANALYTICAL CHEMISTRY*, 2019. DOI: 10.1080 / 10408347.2018.1489216

NASCIMENTO, A. L. C. S.; ASHTON, G. P.; PARKES, G. M. B.; EKAWA, B.; FERNANDES, R. P.; CARVALHO, A. C. S.; IONASHIRO, M.; CAIRES, F. J. Novel solid-state compounds of heavy rare-earth (III) picolates. A pyrolytic study using: TG-DSC-IR, HSM-MS and GC-MS. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 2019. DOI:10.1016/j.jaap.2019.104709

FERNANDES, R. P.; NASCIMENTO, A.; CARVALHO, A. C. S.; TEIXEIRA, J. A.; IONASHIRO, M.; CAIRES, F. Mechanochemical synthesis, characterization and thermal behavior study of meloxicam cocrystals with salicylic acid, fumaric acid and malic acid, *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 2019. DOI:10.1007/s10973-019-08118-7

DOS SANTOS, E. S.; FERNANDES, R. P.; GALVÃO, C.; DE PAIVA, V. F.; DA ROSA, J. A. Distinguishing two species of *Cavernicola* (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae) with matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry. *Acta Tropica*, 2019. DOI: 10.1016/j.actatropica.2019.105071

ZANGARO, G. A. C.; CARVALHO, A. C. S.; EKAWA, B.; DO NASCIMENTO, A. L. C. S.; NUNES, W. D. G.; FERNANDES, R. P.; PARKES, G. M. B.; ASHTON, G. P.; IONASHIRO, M.; CAIRES, F. J. Study of the thermal behavior in oxidative and pyrolysis conditions of some transition metals complexes with Lornoxicam as ligand using the techniques: TG-DSC, DSC, HSM and EGA (TG-FTIR and HSM-MS). *Thermochimica Acta*, 2019. DOI:10.1016/j.tca.2019.178399

CARVALHO, A. C. S.; ZANGARO, G. A. C.; FERNANDES, R. P.; EKAWA, B.; NASCIMENTO, A. L. C. S.; SILVA, B. F.; ASHTON, G. P.; PARKES, G. M. B.; IONASHIRO, M.; CAIRES, F. J.; Lornoxicam drug – a new study of thermal degradation under oxidative and pyrolysis conditions using the thermoanalytical techniques, DRX and LC-MS/MS. *Thermochimica Acta*, 2019. DOI: 10.1016/j.tca.2019.178353

NASCIMENTO, A. L. C. S.; PARKES, G.M.B.; ASHTON, G.P.; FERNANDES, R.P.; TEIXEIRA, J.A.; NUNES, W.D.G.; IONASHIRO, M.; CAIRES, F.J. T Thermal analysis in oxidative and pyrolysis conditions of alkaline earth metals picolines using the techniques: TG-DSC, DSC, MWT, HSM and EGA (TG-DSC-FTIR and HSM-MS), *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 2018. DOI: 10.1016/j.jaap.2018.09.018

ALVES, R.C.; FERNANDES, R.P.; ELOY, J.O; SALGADO, N.R.H.; CHORILLI, M. Characteristics, properties and analytical methods of paclitaxel: a review. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 2017. DOI: 10.1080/10408347.2017.1416283

TEIXEIRA, J.A.; NUNES, W.D.G.; FERNANDES, R.P.; DO NASCIMENTO, A.L.C.S.; CAIRES, F.J.; IONASHIRO, M. Thermal behavior in oxidative and pyrolysis conditions and characterization of some metal p-aminobenzoate compounds using TG-DTA, EGA and DSC-photovisual system. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 2017. DOI:10.1016/j.jaap.2017.10.002

ORIENTAÇÕES

Giovanna de Paula Costa. Cocristais farmacêuticos de Norfloxacin: Síntese, caracterização e estudo termoanalítico. 2019. Iniciação Científica. (Graduando em Química) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico. Orientador: Richard Perosa Fernandes.

Matheus Vigliassi Thiago da Silva. Síntese e caracterização de cocristais de ácido fólico. 2018. Iniciação Científica. (Graduando em Química) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho. Orientador: Richard Perosa Fernandes.

INOVAÇÃO

FERNANDES, R.P.; FREIRE, RAFAEL ; EKAWA, B. ; FERREIRA, L. T. ; CAIRES, F. J. . Patente: Privilégio de Inovação. Número do registro: BR10202002032, título: "Método de análise e identificação de marcas de cervejas por meio de técnicas de termogravimetria e

quimiometria", Instituição de registro: INPI - Instituto Nacional da Propriedade Industrial.
Depósito: 02/10/2020

*Aos meus pais, Joaquim e Eliane.
Exemplos de honestidade, respeito e perseverança.
Por me guiar durante minhas dificuldades e me
incentivar a seguir adiante independente dos
problemas enfrentados*

*Aos meus tios, Silvana e João.
Por todo apoio e incentivo que me deram durante
todos esses anos, estando presentes e ajudando em
todas as etapas e desafios de minha vida.*

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, por me auxiliarem durante todos os momentos de minha vida. Muito obrigado pelas inúmeras demonstrações de afeto e carinho. Mesmo com tantos obstáculos, demonstraram sempre força e perseverança para seguir adiante.

A minha irmã pelo companheirismo.

Ao meu orientador Prof. Dr. Flávio Junior Caires, pela amizade, pelas conversas e ensinamentos sobre a vida, tanto pessoal, quanto profissional.

Aos meus colegas de grupo: Ana, Bruno, Laura, Georgia. por toda paciência e dedicação que teve comigo durante o doutorado, tanto dentro, como fora do laboratório.

À Renata, pelos incentivos e conselhos, preocupando-se sempre com minha vida pessoal e profissional.

Aos meus colegas “gamers” pelas horas de diversão e lazer, citados pelos apelidos de crius, bolacha, andrieta, mosso, edinha, almondega, jef e vader.

Aos amigos, professores e funcionários do Instituto de Química de Araraquara - UNESP.

Aos funcionários da biblioteca e da pós-graduação, por serem sempre prestativos.

A todos os funcionários e ao Instituto de Química de Araraquara.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e Fapesp (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo)

“Não confunda derrotas com fracasso, nem vitórias com sucesso. Na vida de um campeão sempre haverá algumas derrotas, assim como na vida de um perdedor sempre haverá vitórias. A diferença é que, enquanto os campeões crescem nas derrotas, os perdedores se acomodam nas vitórias”.

- Roberto Shinyashiki

RESUMO

Abordagens que utilizam da modificação da estrutura sólida de fármacos têm ganhado destaque por propiciar melhoras em propriedades físico-químicas sem alterar a atividade biológica do princípio ativo. Nesse contexto, ocorreu a proposta do estudo do fármaco meloxicam (MLX), anti-inflamatório prescrito para o tratamento de artrite reumatoide, osteoartrite, dores pós-operatórias e febre. O fármaco apresenta comprovada efetividade, mas possui limitações quando sua solubilidade aquosa, tendo como resultado efeitos colaterais frequentes frente às altas dosagens necessárias para atingir concentrações terapêuticas adequadas. Dessa maneira, foi realizado o estudo de formas sólidas multicomponentes de MLX através da síntese pelo método de moagem assistida por solvente. Ocorreram a formação de três cocristais utilizando a estequiometria 1:1 com os componentes: ácido málico (MLC), fumárico (FUM) e salicílico (SLY), além de misturas eutéticas com a estequiometria 1:2 (MLX-componente) para o ácido mandélico (MND) e sacarina (SAC). Os materiais obtidos foram caracterizados pelas técnicas de termogravimetria e calorimetria exploratória diferencial, calorimetria exploratória diferencial, espectroscopia vibracional de absorção na região do infravermelho e difratometria de raios X do pó. Os sistemas formados foram estudados termoanaliticamente e vídeos dos materiais sendo aquecidos são demonstrados. Em relação aos cocristais, foi realizado um teste de solubilidade e o cocristal MLX-FUM apresentou um aumento de solubilidade de 84% para 12 horas e 33% para 18 quando comparado ao fármaco puro, enquanto os cocristais MLX-SLY e MLX-MLC demonstraram um perfil de dissolução mais lento. Uma nova forma polimórfica para o cocristal MLX-MLC foi identificada. Em relação aos eutéticos, foi identificada uma forma polimórfica para o sistema MLX-MND, sendo os materiais obtidos avaliados em relação a sua solubilidade, dissolução e higroscopicidade. Os eutéticos demonstraram um aumento na solubilidade de 70% (MLX-MND1), 210% (MLX-MND2) e 30% (MLX-SAC) com perfil de dissolução mais lento quando comparado com o MLX. Todas os eutéticos apresentaram alta higroscopicidade a 98% de umidade relativa com 27,9 e 58,9% de aumento na massa no dia quatro para MLX-SAC e MLX-MND, a deliquescência ocorreu no dia 6. O estudo proposto levou a uma melhor compreensão das propriedades físico-químicas das formas sólidas obtidas, além do perfil térmico de cada reagente e material sintetizado. Os resultados demonstraram a potencialidade de se melhorar a solubilidade aquosa de fármacos através da modificação da estrutura sólida desses materiais.

Palavras-chaves: meloxicam, forma sólida, solubilidade, análise térmica

ABSTRACT

Approaches that use the modification of the solid structure of drugs have gained prominence for providing improvements in physical-chemical properties without altering the biological activity of the active principle. In this context, the drug meloxicam (MLX) was studied. MLX is an anti-inflammatory drug prescribed for the treatment of rheumatoid arthritis, osteoarthritis, postoperative pain and fever. The drug is effective but it has limitations due to low aqueous solubility, resulting in frequent side effects relative to the high dosages necessary to achieve therapeutic concentrations. In this way, the study of multicomponent solid forms of MLX was carried out through synthesis using the solvent-assisted grinding method. Three crystals were formed using 1:1 stoichiometry with the components: malic acid (MLC), fumaric acid (FUM) and salicylic acid (SLY). Eutectic mixtures were obtained with 1:2 stoichiometry (MLX-component) for acid mandelic (MND) and saccharin (SAC). The materials were characterized by thermogravimetry and differential scanning calorimetry, differential scanning calorimetry, vibrational absorption spectroscopy in the infrared region and X-ray powder diffractometry. The systems formed were thermoanalytically studied and videos of the materials being heated are demonstrated. In relation to the cocrystals, a solubility test was performed and the MLX-FUM cocrystal showed an increase in solubility of 84% for 12 hours and 33% for 18 when compared to the pure drug, while the MLX-SLY and MLX-MLC cocrystals demonstrated a slower dissolution profile. A new polymorphic form for the MLX-MLC cocrystal has been identified. In relation to eutectic, a polymorphic form was identified for the MLX-MND system, and the materials obtained were evaluated in relation to their solubility, dissolution and hygroscopicity. Eutectics showed an increase in solubility of 70% (MLX-MND1), 210% (MLX-MND2) and 30% (MLX-SAC) with a slower dissolution profile when compared to MLX. All eutectic showed high hygroscopicity at 98% relative humidity with 27.9 and 58.9% increase in mass on day four for MLX-SAC and MLX-MND, deliquescence occurred on day 6. The proposed study led to a better understanding of the physical-chemical properties of the solid forms obtained, in addition to the thermal profile of each reagent and synthesized material. The results demonstrated the potential to improve the aqueous solubility of drugs by modifying the solid structure of these materials.

Keywords: meloxicam, solid form, solubility, thermal analysis.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Representação esquemática do BCS.	25
Figura 2. Representação esquemática de formas sólida cristalinas.	28
Figura 3. (A) Polimorfismo tautomérico no omeprazol: a figura mostra os dois tautômeros em equilíbrio. (B) Polimorfismo conformacional do ácido mefenâmico: a figura mostra uma sobreposição molecular de conformadores observados na forma I (vermelho), forma II (verde) e forma III (azul). (C) Polimorfismo de sintons na carbamazepina: a figura mostra as diferentes interações observadas em relações aos grupos amida-amida dos polimorfos IV e V, respectivamente.	29
Figura 4. Representação da transferência de prótons em um sal.	30
Figura 5. Exemplo de sintons supramoleculares possíveis na formação de cocristais.	33
Figura 6. Representação esquemática de um diagrama de fases de uma solução sólida (A) e um eutético (B).	35
Figura 7. Estrutura química do meloxicam.	37
Figura 8. Representação de uma curva DSC e alguns eventos endotérmicos e exotérmicos.	38
Figura 9. Exemplificação de uma curva TG.	40
Figura 10. Exemplificação de difratogramas de diferentes formas polimórficas.	42
Figura 11. Correlação de grupos moleculares em relação ao comprimento de onda observado no FTIR.	43
Figura 12. PXRD do MLX teórico e experimental.	47
Figura 13. Curvas TG-DSC em ar (a) e nitrogênio* (b) do MLX.	48
Figura 14. Curva DSC em nitrogênio do MLX.	49
Figura 15. Espectro FTIR (a) e Raman (b) do MLX.	49
Figura 16. Estruturas químicas dos componentes utilizados para a síntese dos cocristais.	52
Figura 17. Curvas TG-DSC obtidas em atmosfera de ar e nitrogênio*: (a, a*) MLX (10,0097, 9,9695* mg), (b, b*) sistema MLX-SLY (1:1) (10,0023, 10,0039* mg) e (c, c*) SLY (10,0855, 10,0620* mg).	56
Figura 18. Espectro FTIR dos produtos gasosos evoluídos do cocrystal MLX-SLY em 288 °C	57
Figura 19. Curvas DSC do (a) MLX, (b) sistema MLX-SLY (1:1) e (c) SLY. Imagens obtidas a partir da análise DSC-fotovisual do sistema MLX-SLY(1:1) nas temperaturas de 50, 160 e 230 °C.	58
Figura 20. Difratogramas PXRD do (a) MLX, (b) sistema MLX-SLY (1:1) e (c) SLY.	59

Figura 21. Espectros de Raman* e FTIR para (a*,a) MLX, (b*,b) sistema MLX-SLY (1:1) e (c*,c) SLY. Eixo da abcissa está em escala recíproca (1/x) para o espectro de FTIR.	60
Figura 22. Curvas TG-DSC obtidas em atmosfera de ar e nitrogênio*: (a, a*) MLX (10,0097, 9,9695* mg), (b, b*) sistema MLX-FUM (1:1) (10,0023, 10,0039* mg) e (c, c*) FUM (10,0855, 10,0620* mg).....	63
Figura 23. Espectro de FTIR dos produtos gasosos evoluídos do cocrystal MLX-FUM (1:1) em 274 °C	64
Figura 24. Curvas DSC do (a) FUM, (b) sistema MLX-FUM (1:1) e (c) MLX.	65
Figura 25. Difrátogramas de PXRD do (a) MLX, (b) sistema MLX-FUM (1:1) e (c) FUM..	66
Figura 26. Espectros Raman* e FTIR do (a*,a) MLX, (b*,b) sistema MLX-FUM (1:1) e (c*,c) FUM. Eixo da abcissa está em escala recíproca (1/x) para o espectro de FTIR.	67
Figura 27. Curvas TG-DSC obtidas em atmosfera de ar e nitrogênio*: (a, a*) MLX (10,0097, 9,9695* mg), (b, b*) sistema MLX-MLC (1:1) (10,0082, 9,9805* mg) and (c, c*) MLC (9,9695, 10,0820* mg).....	68
Figura 28. Espectros de FTIR do material condensado, resíduo sólido em 250 °C, ácido maléico, FUM, MLC	69
Figura 29. Proposta de mecanismo de decomposição térmica do MLC.	69
Figura 30. Espectro de FTIR dos produtos gasosos evoluídos do cocrystal MLX-MLC (1:1) em 241 °C	71
Figura 31. Curvas DSC do (a) MLX, (b) sistema MLX-MLC (1:1) e (c) MLC. Imagens obtidas a partir da análise DSC-fotovisual do sistema MLX-MLC (1:1) nas temperaturas de 50, 120 e 150 °C.....	72
Figura 32. Difrátogramas PXRD da (a) amostra aquecida antes da transição polimórfica em 120 °C e (b) depois da transição polimórfica em 150 °C.	73
Figura 33. Difrátogramas de PXRD do (a) MLX, (b) sistema MLX-MLC (1:1) e (c) FUM..	73
Figura 34. Espectros Raman* e FTIR do (a*,a) MLX, (b*,b) sistema MLX-MLC (1:1) e (c*,c) MLC. Eixo da abcissa está em escala recíproca (1/x) para o espectro de FTIR.	74
Figura 35. Teste de solubilidade do meloxicam e cocristais (n=3, pH 6,8 e 37 °C).	75
Figura 36. Estrutura química do meloxicam, ácido mandélico e sacarina.	78
Figura 37. Curva DSC do MLX, SAC, MND, misturas MLX-SAC e misturas MLX-MND em diferentes proporções preparadas pelo método LAG.	83
Figura 38. a) Diagrama de fase binário e b) triângulo de Tamman para as diferentes proporções de misturas MLX-SAC preparadas por LAG.	85
Figura 39. a) Diagrama de fase binário e b) triângulo de Tamman para as diferentes proporções de misturas MLX-MND preparadas por LAG.	86

Figura 40. Difractogramas do MLX, SAC, MND, eutéticos e misturas físicas.....	87
Figura 41. Espectros FTIR do MLX, SAC, misturas físicas e eutético MLX-SAC.....	88
Figura 42. Espectros FTIR do MLX, MND, misturas físicas e eutético MLX-MND.	88
Figura 43. Curvas DSC para MLX, SAC e eutético MLX-SAC.....	89
Figura 44. Curvas DSC para MLX, MND e eutético MLX-MND.	89
Figura 45. Curvas TG-DSC do MLX, MND, SAC e eutéticos MLX-MND e MLX-SAC.....	91
Figura 46. Curva gram-schmidt relativa a análise de TG-DSC-FTIR dos eutéticos MLX-SAC e MLX-MND.	92
Figura 47. Curva TG-DSC do eutético MLX-MND após 5 dias.	93
Figura 48. Curvas DSC do eutético MLX-MND tiradas do dia 1 ao 5.....	94
Figura 49. Espectros FTIR dos eutéticos MLX-MND1 e MLX-MND2.....	95
Figura 50. Teste de dissolução do MLX, MLX-MND1, MLX-MND2 e MLX-SAC em solução simulada de fluido intestinal (pH 6,8), n=3.	97
Figura 51. Difractogramas dos eutéticos MLX-MND1, MLX-MND2 e MLX-SAC antes e depois do teste de solubilidade.	98
Figura 52. Tamanho de partícula e frequência acumulada do MLX e eutéticos.....	99
Figura 53. Teste de higroscopicidade do MLX e eutéticos MLX-MND1, MLX-SAC e MLX-MND2 em 1, 2, 3, 4 e 5 dias, n=3.	100
Figura 54. Espectro de absorção no UV da solução de MLX.	105
Figura 55. Curva analítica, equação da reta e coeficiente de correlação referente a linearidade final do método de quantificação do MLX.....	107
Figura 56. Absorção UV de todos os componentes estudados na faixa de comprimento de onda de 250-400 nm.	109

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Critérios adotados pela USP para medir solubilidade	23
Tabela 2. Propriedades físico-química que podem diferir ao se realizar modificações na forma sólida.....	27
Tabela 3. Atribuição dos modos vibracionais do MLX teóricos e experimentais.....	50
Tabela 4. Modos vibracionais de todos os componentes e materiais sintetizados	62
Tabela 5. Solubilidade do MLX e eutéticos após 24 horas em solução simulada de fluido intestinal (pH 6,8), n=3.....	96
Tabela 6. Parâmetros analisados em uma validação analítica.	104
Tabela 7. Curva analítica referente a Linearidade 1.	106
Tabela 8. Curva analítica referente a Linearidade 2.	106
Tabela 9. Curva analítica referente a Linearidade 3.	106
Tabela 10. Curva analítica referente a Linearidade Final.....	107
Tabela 11. Valores de absorbância para determinar precisão entre analistas.....	107
Tabela 12. Valores finais de absorbância para a precisão entre analistas.	108
Tabela 13. Precisão do método inter e intradia.....	108
Tabela 14. Tabela dos resultados de exatidão.	108

LISTA DE ABREVIATURAS

FUM	Ácido Fumárico
MLC	Ácido Málico
MND	Ácido Mandélico
SLY	Ácido Salicílico
ANVISA	Agencia Nacional de Vigilância Sanitária
BCS	Biopharmaceutics classification system
CCDC	Cambridge Crystallographic Data Centre
DP	Desvio padrão
DPR	Desvio padrão relativo
DSC	Differential Scanning Calorimetry
EGA	Evolved Gas Analysis
FDA	Food and Drug Administration
FTIR	Fourier-Transform Infrared spectroscopy
GT	Gastrointestinal tract
GRAS	Generally Recognized as Safe
IFA	Insumos Farmacêuticos Ativo
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry
LD	Limite de detecção
LQ	Limite de quantificação
LAG	Liquid-Assisted Grinding
MLX	Meloxicam
PXRD	Powder X-ray diffraction
SAC	Sacarina
TG-DSC	Simultaneous Thermogravimetry and Differential Scanning Calorimetry
THF	Tetrahidrofurano
TG	Thermogravimetry
TG-FTIR	Thermogravimetry coupled with Fourier-Transform Infrared spectroscopy
UV	Ultravioleta
USP	United States Pharmacopeia

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	20
1.1 OBJETIVOS	21
1.1.1 Objetivo geral	21
1.1.2 Objetivos específicos	21
CAPÍTULO 1 – REVISÃO DA LITERATURA	22
1 REVISÃO DA LITERATURA	23
1.1 A solubilidade e os fármacos	23
1.2 Formas solidas	25
1.3 Polimorfos	28
1.4 Sais	30
1.5 Hidratos/solvatos	31
1.6 Cocristais	32
1.7 Soluções solidas e eutéticos	33
1.8 Meloxicam	36
1.9 Caracterização de formas sólidas.....	37
1.9.1 DSC	38
1.9.2 TG.....	40
1.9.3 PXRD	41
1.9.4 FTIR	42
CAPÍTULO 2 – CARACTERIZAÇÃO DO FÁRMACO MELOXICAM	44
2 CARACTERIZAÇÃO DO FÁRMACO MELOXICAM	45
2.1 INTRODUÇÃO	45
2.2 MATERIAL E MÉTODOS	45
2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	47
2.4 CONCLUSÃO.....	50
CAPÍTULO 3 – COCRISTAIS COM ÁCIDO MÁLICO, SALICÍLICO E FUMÁRICO	51
3 COCRISTAIS COM ÁCIDO MÁLICO, SALICÍLICO E FUMÁRICO	52
3.1 INTRODUÇÃO	52
3.2 MATERIAL E MÉTODOS	53
3.2.1 Síntese dos cocristais	53

3.2.2 Caracterização dos materiais	53
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	56
3.3.1 Cocrystal MLX-SLY	56
3.3.2 Cocrystal MLX-FUM	63
3.3.3 Cocrystal MLX-MLC	67
3.3.4 Avaliação da solubilidade do MLX e cocrists	75
3.4 CONCLUSÃO.....	76
 CAPÍTULO 4 – EUTÉTICOS COM SACARINA E ÁCIDO MANDÉLICO	 77
4 EUTÉTICOS COM SACARINA E ÁCIDO MANDÉLICO.....	78
4.1 INTRODUÇÃO	78
4.2 MATERIAL E MÉTODOS	79
4.2.1 Síntese das misturas eutéticas	79
4.2.2 Caracterização dos materiais	79
4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	83
4.3.1 Estudo do ponto eutético para as misturas.....	83
4.3.2 Caracterizações	87
4.3.3 Análise térmica	90
4.3.4 Teste de solubilidade e dissolução.....	95
4.3.5 Higroscopicidade	99
4.4 CONCLUSÃO.....	101
 CAPÍTULO 5 – VALIDAÇÃO DO METODO DE QUANTIFICAÇÃO	 102
5 VALIDAÇÃO DO METODO DE QUANTIFICAÇÃO	103
5.1 INTRODUÇÃO	103
5.2 MATERIAL E MÉTODOS	104
5.2.1 Linearidade	104
5.2.2 Seletividade	104
5.2.3 Exatidão	104
5.2.4 Precisão.....	105
5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	105
5.4 CONCLUSÃO.....	109
 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	 110
REFERÊNCIAS	111

1 INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, o setor farmacêutico tem direcionado recursos e incentivado pesquisas para o desenvolvimento de abordagens que busquem modificar a estrutura sólida de fármacos, tendo em vista o grande número de compostos bioativos que apresentam uma baixa solubilidade ou baixa taxa dissolução em meios aquosos. O desenvolvimento de tratamentos mais específicos tem resultado em um aumento da complexidade das estruturas químicas de fármacos, além da maior massa molecular desses compostos, tem ocasionado uma diminuição na solubilidade aquosa desses materiais, fator que afeta a biodisponibilidade desses medicamentos e prejudica tratamentos onde ocorre a necessidade de se trabalhar com altas doses de substâncias para se atingir concentrações terapêuticas adequadas^{1,2}.

A modificação da estrutura sólida de fármacos pela formação de sais é a abordagem mais utilizada atualmente para melhorar a biodisponibilidade de medicamentos². Entretanto, a formação de sais não é a única forma sólida existente na área farmacêutica, sendo possível encontrar produtos farmacêuticos com solvatos/hidratos, eutéticos, soluções sólidas, polimorfos, cocristais, amorfos, entre outros³⁻⁵. Vale destacar, que além da solubilidade e dissolução, a modificação da forma sólida pode ocasionar mudanças na estabilidade térmica, química e mecânica, fatores essenciais para a preservação dos produtos^{2,6}.

O meloxicam é um anti-inflamatório não esteroide que apresenta baixa solubilidade e alta permeabilidade⁷. O fármaco é prescrito para o tratamento de artrite reumatoide, osteoartrite, dores pós-operatórias e febre^{8,9}. Apesar da sua eficácia, a baixa solubilidade aquosa ocasiona uma necessidade de se utilizar altas dosagens do fármaco para se atingir concentrações terapêuticas adequadas, tendo como resultando que em tratamentos contínuos ocorra frequentemente efeitos gastrointestinais adversos, ocasionando diarreia, úlceras, dores abdominais e hemorroidas¹⁰.

Dessa maneira, tendo observado a limitação existente do meloxicam em relação a sua baixa solubilidade aquosa e a possibilidade de melhoria em tratamentos pela modificação de sua estrutura no estado sólido, torna-se evidente a necessidade da pesquisa, síntese, caracterização e avaliação de novas formas sólidas do meloxicam, que é o tema proposta da presente tese de doutorado.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo geral

Sintetizar, caracterizar e avaliar diferentes formas sólidas do meloxicam com diversos componentes.

1.1.2 Objetivos específicos

Sintetizar diferentes formas sólidas do meloxicam tendo como base a metodologia de moagem assistida por solvente.

Caracterizar os materiais sintetizados por meio de técnicas espectroscópicas, difratométricas e térmicas.

Realizar o estudo termoanalítico dos materiais promissores sintetizados.

Avaliar os materiais obtidos em relação a sua solubilidade aquosa.

CAPÍTULO 1 – REVISÃO DA LITERATURA

1 REVISÃO DA LITERATURA

1.1 A SOLUBILIDADE E OS FÁRMACOS

Solubilidade é a propriedade de uma substância química sólida, líquida ou gasosa, chamada soluto, de se dissolver em um solvente sólido, líquido ou gasoso para formar uma solução homogênea do soluto no solvente. A solubilidade de uma substância depende fundamentalmente do solvente usado, bem como da temperatura e da pressão¹¹, sendo a resultante de processos simultâneos e opostos de dissolução e junção de fase (por exemplo, precipitação de sólidos), caracterizada dessa maneira como um equilíbrio dinâmico. O equilíbrio da solubilidade ocorre quando os dois processos procedem a uma taxa constante. Sob certas condições, a solubilidade de equilíbrio pode ser excedida para dar uma solução chamada supersaturada, que é metaestável¹². A União internacional de Química Pura e Aplicada (*IUPAC - International Union of Pure and Applied Chemistry*) define solubilidade como a composição analítica de uma solução saturada expressa como uma proporção de um soluto designado em um solvente designado. A solubilidade pode ser declarada em unidades de concentração, molalidade, fração molar, razão molar e outras unidades¹³.

Vale destacar que a solubilidade não deve ser confundida com a capacidade de dissolver ou liquefazer uma substância, uma vez que esses processos podem ocorrer não apenas por causa da dissolução, mas também devido a reações químicas. Por exemplo, o zinco é insolúvel em ácido clorídrico, mas se dissolve nele reagindo quimicamente em cloreto de zinco e hidrogênio, onde o cloreto de zinco é solúvel em ácido clorídrico. A solubilidade de equilíbrio também não depende do tamanho da partícula ou de outros fatores cinéticos; com tempo suficiente, mesmo as partículas grandes acabarão por se dissolver¹².

A farmacopeia americana (*USP – United States Pharmacopeia*) classifica a solubilidade independentemente do solvente utilizado, apenas em termos de quantificação, definindo os critérios conforme apresentado na Tabela 1¹¹.

Tabela 1. Critérios adotados pela USP para medir solubilidade

Descrição	Parte de solvente requerido por parte de soluto
Altamente solúvel	Menos de 1
Muito solúvel	De 1 a 10
Solúvel	De 10 a 30
Moderadamente solúvel	De 30 a 100
Levemente solúvel	De 100 a 1.000
Muito pouco solúvel	De 1.000 a 10.000
Praticamente insolúvel	Mais de 10.000

Fonte: Adaptado de Mantri et al.¹¹

Apesar de o guia da USP ser muito utilizado em diferentes áreas, a agência reguladora norte americana de fármacos (*FDA - Food and Drug Administration*) elaborou uma classificação que restringe a previsão utilizando parâmetros de solubilidade e permeabilidade intestinal, tendo em vista uma maior aplicação para a área farmacêutica e em insumos farmacêuticos ativos (IFAs). Dessa maneira, o Sistema de Classificação Biofarmacêutica (*BCS - Biopharmaceutics classification system*) divide os fármacos em quatro classes: I) alta solubilidade e alta permeabilidade, II) baixa solubilidade e alta permeabilidade, III) baixa solubilidade e alta permeabilidade e IV) baixa solubilidade e baixa permeabilidade¹⁴.

Nessa normativa, a solubilidade é baseada na dosagem mais alta de um produto de liberação imediata. Um medicamento é considerado altamente solúvel quando a maior dosagem é solúvel em 250 mL ou menos de meio aquoso na faixa de pH de 1 a 7,5. O volume estimado de 250 mL é derivado de protocolos de estudo de bioequivalência típicos que prescrevem a administração de um medicamento a voluntários humanos em jejum com um copo de água.

A classificação da permeabilidade intestinal é baseada na comparação com a administração intravenosa. Todos esses fatores são muito importantes, uma vez que 85% dos medicamentos mais vendidos nos EUA e na Europa são administrados por via oral.

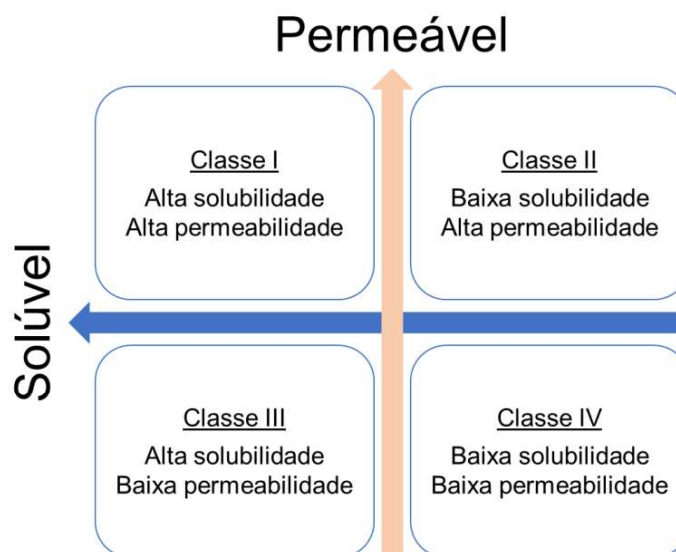
A via oral é a via de administração mais conveniente e comumente empregada devido à sua facilidade de administração, alta adesão do paciente, custo-benefício, menores restrições de esterilidade e flexibilidade no desenho da forma de dosagem. Como resultado, muitas das empresas de medicamentos genéricos estão mais inclinadas a produzir medicamentos orais bioequivalentes¹⁵.

No entanto, o principal desafio com o projeto de formas de dosagem oral reside em sua baixa biodisponibilidade, que depende de vários fatores, incluindo solubilidade aquosa, permeabilidade ao fármaco, taxa de dissolução, metabolismo e suscetibilidade aos mecanismos de efluxo. As causas mais frequentes de baixa biodisponibilidade oral são atribuídas à baixa solubilidade e baixa permeabilidade.

Em termos de desenvolvimento de um medicamento, a solubilidade do fármaco é um parâmetro vital tendo em vista a concentração terapêutica¹⁶. Os fármacos pouco solúveis em água frequentemente requerem altas doses para atingir a concentração mínima necessária para resultar em algum benefício clínico. Segundo dados da FDA, aproximadamente 40% dos fármacos aprovados e 90% em desenvolvimento até 2015 possuíam baixa solubilidade aquosa¹⁷. Fato que enfatiza a necessidade de pesquisas na área que visem solucionar essa limitação na solubilidade aquosa de substâncias.

Em especial, as substâncias classe II de BCS são frequentemente alvo de estudos por possuir a solubilidade como o fator limitante mais preponderante em termos farmacêuticos, conforme pode ser visto na Figura 1. Dessa maneira, a biodisponibilidade pode ser aumentada diretamente pela melhoria da solubilidade e a taxa de dissolução do fármaco nos fluidos gastrointestinais.

Figura 1. Representação esquemática do BCS.



Fonte: Autor.

1.2 FORMAS SÓLIDAS

Atualmente, a prospecção por formas sólidas farmacêuticas é um procedimento padrão no desenvolvimento de qualquer fármaco, tendo em vista a possível existência de polimorfos que podem impactar a qualidade de produtos farmacêuticos¹⁸. Apesar de o processo de triagem ser um requisito regulamentar, o processo metodológico ainda é vago, uma vez que não existe nenhuma orientação universal, tendo em vista que cada composto possui propriedades únicas. Vale ressaltar que diversos fenômenos no estado sólido ainda são pouco compreendidos experimental ou teoricamente, o que transforma diversos procedimentos em tentativa e erro, como processos de nucleação em polimorfos por exemplo¹⁹.

O estado sólido de uma substância, seja ela fabricada com os mesmos íons inorgânicos, moléculas orgânicas ou sistemas covalentemente ligados, pode apresentar estruturas variadas, as quais, embora possuam composição química semelhante, podem apresentar propriedades distintas. De maneira geral, um composto no estado sólido pode existir na forma cristalina ou na forma amorfa²⁰.

A forma amorfa é definida como um sólido com uma faixa de distribuição tridimensional estreita, ou seja, não há arranjo ordenado de átomos a longo alcance em nenhuma das três dimensões espaciais. Geralmente, os sólidos amorfos não são termodinamicamente estáveis em comparação com seus equivalentes cristalinos. Devido à mobilidade das moléculas decorrente da desordenação de suas estruturas e sua instabilidade, os sólidos amorfos geralmente apresentam maior solubilidade e dissolução mais rápida do que a forma cristalina, também tendem a ser mais higroscópicos, absorvendo água mesmo em condições de umidade ambiente.

O estado cristalino é descrito como um sólido no qual as moléculas, átomos ou íons estão orientadas de maneira ordenada, formando assim uma rede cristalina que se estende tridimensionalmente, repetindo um design único conhecido como célula unitária.

Historicamente, materiais cristalinos tem se apresentado como preferenciais no desenvolvimento de novas drogas devido a sua estabilidade termodinâmica, reprodutibilidade nos processos e uma maior tendência de serem isolados com maior pureza em comparação a materiais amorfos. Entretanto, formas amorfas tem sua importância na área farmacêutica com diferentes atividades biológicas, como é o caso do Accupril[®], Diovan[®], Cefitin[®] e Accolate^{®21}.

Os arranjos internos das moléculas na célula unitária, morfologia e tamanho do retículo cristalino desempenham um papel importante na determinação das propriedades físico-químicas de um sólido cristalino. A rede cristalina é governada principalmente por sua estrutura interna, ou seja, empacotamento molecular e interações intermoleculares presentes no cristal. Além disso, as condições de cristalização como solvente, aditivos, temperatura e pressão também desempenham um papel importante no controle da morfologia e do tamanho dos cristais. A morfologia e o tamanho do cristal são muito importantes do ponto de vista da capacidade de fabricação industrial, pois podem afetar propriedades como filtração, secagem, compressão, formação de comprimidos, características de fluxo e a taxa de dissolução de um medicamento. O arranjo interno das moléculas em um cristal é de primordial importância, pois tem grande influência nas propriedades de solubilidade, taxa de dissolução, estabilidade (química, térmica e mecânica) e higroscopicidade de um medicamento.

Algumas dessas mudanças de propriedades estão listadas na Tabela 2. Caso a solubilidade e/ou a taxa de dissolução forem dependentes da forma sólida, a biodisponibilidade do IFA pode ser afetada consequentemente. Esse fator é particularmente importante ao se desenvolver novas formas sólidas de um IFA BCS classe II. Exemplos de IFAs com problemas de biodisponibilidade devido a fenômenos de estado sólido são a carbamazepina e o ritonavir¹⁸.

Diferenças de propriedades mecânicas podem afetar o comportamento de processamento, sendo o caso mais famoso o do paracetamol²²: a compressão direta da forma II é viável, enquanto com a forma I necessita de excipientes²³. A estabilidade é uma propriedade muito importante da forma sólida, visto que matérias-primas e produtos farmacêuticos podem ser armazenados por períodos prolongados e o estado sólido deve permanecer inalterado. Além da estabilidade física, a estabilidade química também deve ser levada em consideração. A reatividade química pode variar entre as diferentes formas sólidas e, às vezes, certas formas sólidas podem ser usadas para causar reações quando desejado ou para prevenir reações quando devem ser evitadas^{23–25}.

Tabela 2. Propriedades físico-química que podem diferir ao se realizar modificações na forma sólida.

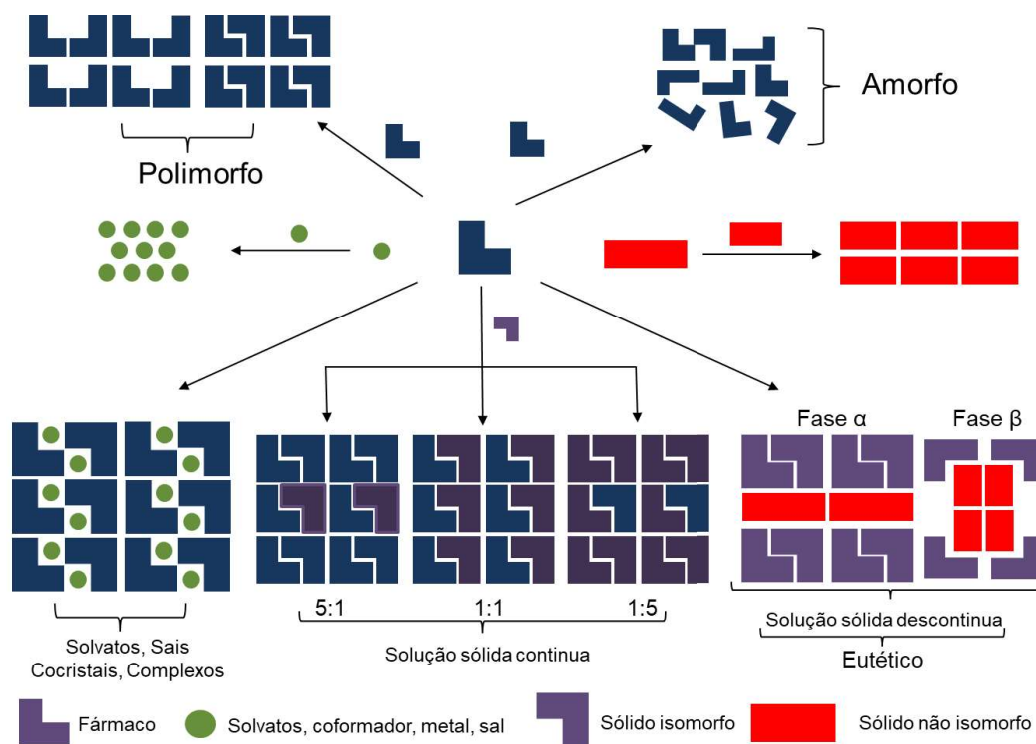
Propriedades	Exemplos
Empacotamento	Volume da célula unitária, densidade, índice de refração, higroscopicidade
Termodinâmica	Ponto de fusão e ebulição, entalpia, entropia, energia livre, solubilidade
Espectroscópica	Transição eletrônica, vibracional, rotacional e spin nuclear.
Cinética	Dissolução, reações, estabilidade
Superficial	Tensão superficial
Mecânica	Dureza, compactibilidade, compressão, fluidez

Fonte: Adaptado de Aaltonen *et al.*¹⁸

Em uma abordagem direta, o objetivo do processo de prospecção de formas sólida na indústria é encontrar o balanço ideal entre as propriedades farmacêuticas desejadas e o esforço econômico para obtê-la. Infelizmente, o processo de triagem muitas vezes é desgastante tendo em vista a peculiaridade de cada substância e a necessidade de conhecer o maior número possível de formas até encontrar a ideal. A escolha da forma a ser desenvolvida deve levar em consideração as propriedades físicas, químicas, farmacêuticas e biofarmacêuticas. Tradicionalmente, a forma mais estável é preferida em relação a outras formas por causa de sua tendência mais baixa para transformações de fase²⁶. É importante identificar a forma estável o mais cedo possível no processo de desenvolvimento do medicamento para evitar contratempos subsequentes²⁰. No entanto, as formas metaestáveis às vezes são escolhidas deliberadamente, geralmente para melhor solubilidade e, portanto, biodisponibilidade¹⁹.

Em relação as formas cristalinas, um grande número de variações pode ser encontrado na literatura, havendo até a possibilidade da mistura de diferentes formas para a criação de um novo sistema multicomponente. A critério de simplificação e melhor compreensão do tema pelo leitor, a revisão da literatura abrangerá polimorfos, sais, cocristsais, hidratos/solvatos, soluções solidas e eutéticos, sendo suas representações esquemáticas demonstradas na Figura 2.

Figura 2. Representação esquemática de formas sólidas cristalinas.



Fonte: Autor

1.3 POLIMORFOS

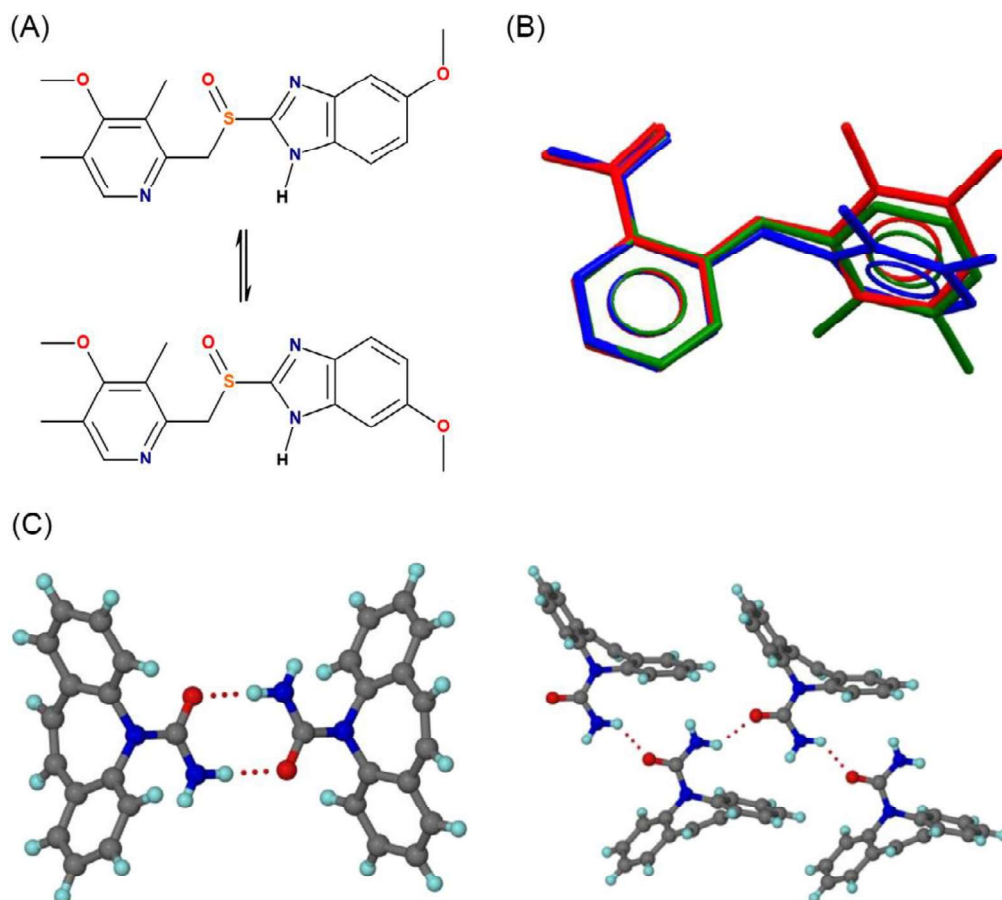
O polimorfismo foi primeiramente citado por McCrone em 1965, sendo descrito como a habilidade de um composto de existir em diferentes formas sólidas cristalinas²⁷. O fenômeno pode ocorrer de maneiras distintas, podendo as diferenças nas estruturas cristalinas serem originárias da geometria molecular (diferentes conformações ou tautômeros) ou em relação aos arranjos espaciais de interações intermoleculares (sintons), podendo ser classificados em polimorfos conformacionais, tautomérico e de sintons, conforme observado na Figura 3.

Polimorfos conformacionais ocorrem quando há uma diferença na conformação das moléculas que podem ser dobradas para dar origem a diferentes arranjos e serem empacotadas na estrutura cristalina. Uma vez que a maioria dos compostos farmacêuticos geralmente contêm porções flexíveis em suas estruturas moleculares (ligações C – C, C – N e C – O rotativas), existem numerosos exemplos de polimorfos conformacionais. No polimorfismo de empacotamento, as moléculas compartilham as mesmas conformações moleculares, mas são empacotadas de forma diferente no espaço 3D da estrutura cristalina. As formas I e II do acetaminofeno são exemplos de polimorfos de empacotamento mais conhecidos²⁰.

O polimorfismo tautomérico representa um caso especial de polimorfismo no qual as formas cristalinas de tautômeros distintos são isoladas de uma solução ou fusão de tautômeros. A taxa de interconversão do tautômero é altamente dependente de fatores como temperatura, solvente e pH. Alguns dos exemplos representativos de polimorfismo tautomérico em drogas incluem cloridrato de ranitidina, omeprazol, triclabendazol, piroxicam e fenobam²⁶.

Polimorfos de sintons são estruturas polimórficas que diferem em suas interações possuindo os mesmos grupos moleculares. Compostos polimórficos bem conhecidos como sulfatiazol, temozolomida, furosemida e isonicotinamida mostram diferenças em seus sintons de ligações de hidrogênio. A análise de estruturas de cristal polimórfico por sintons se demonstra mais fácil devido as diferenças nas interações intermoleculares, o que resulta em perfis espectroscópicos e difratométricos diferentes²⁰.

Figura 3. (A) Polimorfismo tautomérico no omeprazol: a figura mostra os dois tautômeros em equilíbrio. (B) Polimorfismo conformacional do ácido mefenâmico: a figura mostra uma sobreposição molecular de conformadores observados na forma I (vermelho), forma II (verde) e forma III (azul). (C) Polimorfismo de sintons na carbamazepina: a figura mostra as diferentes interações observadas em relações aos grupos amida-amida dos polimorfos IV e V, respectivamente.



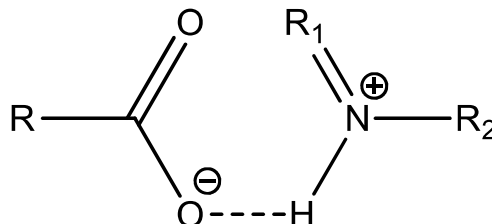
Fonte: Adaptado de Thakuria *et al.*²⁶

1.4 SAIS

Atualmente a modificação da estrutura sólida de fármacos pela formação de sais é uma das abordagens mais utilizada para melhorar a biodisponibilidade de fármacos²⁸. Nos últimos 60 anos, a indústria farmacêutica tem utilizado cada vez mais sais, estima-se que pelo menos 50% dos fármacos comercializáveis se encontram na forma de sais^{2,29,30}. As razões para esse sucesso são a relativa facilidade de síntese, cristalização e a estabilidade do produto. A formação de sal não se limita à modificação da solubilidade e da taxa de dissolução, mas afeta uma série de aspectos farmacológicos e tecnológicos, como perfil de impureza, estabilidade físico-química, capacidade de fabricação e toxicidade^{1,28,31,32}.

De acordo com a IUPAC, um sal é um “composto químico que consiste em um conjunto de cátions e ânions”, mas também é descrito comumente como “qualquer um dos inúmeros compostos que resultam da reação de neutralização de um ácido e uma base”¹³. Os sais são formados devido à transferência de prótons entre grupo moleculares (Figura 4). Assim, um sal farmacêutico necessita de um IFA ionizável (aniônico, catiônico ou zwitteriônico) e um contra-íon, que pode ser molecular ou atômico³¹.

Figura 4. Representação da transferência de prótons em um sal.



Fonte: Autor.

O contra-aníon mais frequente é o cloridrato, seguido pelo sulfato e bromidrato. Só então ocorrem os ânions orgânicos, na maioria das vezes tartarato, mesilato (metanossulfonato), maleato e citrato. O contra-cátion mais frequente é o íon sódio, seguido pelos íons de cálcio, potássio e magnésio, e só então surge o primeiro íon orgânico, a meglumina (N-metil-D-glucamina). Os sais de sódio são geralmente tão solúveis que também são usados em aplicações de injeção. Há mais uma vantagem essencial dos sais: sua solubilidade em função do pH. Uma vez que o pH no trato gastrointestinal (GT - *Gastrointestinal Tract*) varia entre 1 e 7,5 (por exemplo, no estômago o pH é 1-3, no intestino delgado é 5-7), é possível otimizar a absorção em relação ao contra-íon selecionado para obter uma maior solubilidade, tendo em vista que cada sal apresenta um valor de $pH_{máx}$ com a solubilidade máxima.

A presença de ligações de hidrogênio assistidas por cargas permite que as moléculas no sal se dissociem com facilidade, resultando em um pico de solubilidade, e consequentemente absorção, em poucas horas. Além disso, do ponto de vista termodinâmico, os sais geralmente possuem maior entalpia de hidratação, o que resulta em uma maior taxa de dissolução quando comparadas ao fármaco puro³¹.

Em uma mistura de dois ou mais IFAs, é necessário considerar a interação entre os fármacos. Por exemplo, o analgésico Proxyfen® foi originalmente formulado como um cloridrato e usado junto com o ácido acetilsalicílico na sua formulação, porém, a aspirina sofria rapidamente decomposição na presença de cloridrato de propoxifeno, havendo a necessidade de reformulação do sal para napsilato de propoxifeno com o nome comercial de Darvocet®. Vale ressaltar que é possível que ocorra a formação de sais hidratados com frequência nas formulações, como é o exemplo mais conhecido do trihidrato de atorvastatina de cálcio, utilizado como anti-hipertensivo e fabricado pela Pfizer²⁸.

1.5 HIDRATOS/SOLVATOS

Os solvatos e hidratatos ocorrem com frequência em um grande número de IFAs. Os solvatos são formados quando as moléculas de solvente são incorporadas à estrutura cristalina de um composto e são considerados complexos moleculares entre a substância e as moléculas de solvente³³. Um solvato exibe conteúdo de célula unitária, dimensão, morfologia e interações moleculares distintas do IFA. Esse fenômeno é análogo ao polimorfismo, consequentemente, a formação de IFAs com solventes é descrito por alguns autores como pseudopolimorfismo, enquanto um grupo de solvatos com diferentes estequiometrias do mesmo solvente e composto são frequentemente chamados de "pseudopolimorfos"³⁴.

Os solvatos podem ser formados quando um sólido farmacêutico é processado ou armazenado em um solvente durante a cristalização, síntese, refluxo, armazenamento e dissolução¹⁸. A exposição ao vapor do solvente também pode levar à formação de solvatos. No geral, apenas uma parte das moléculas do fármaco forma solvatos, uma vez que nem todos os solventes podem se incorporar em uma rede cristalina. A propensão de uma molécula do fármaco e de uma molécula de solvente formar um solvato está relacionada às suas estruturas moleculares, capacidade de ligação de hidrogênio e empacotamento do cristal. Em relação a terminologia, os hidratatos são um tipo específico de solvatos em que o componente hóspede é a água.

A formação de hidratatos para compostos orgânicos ocorre com mais frequência do que a formação de solvatos com solventes orgânicos, tendo em vista a base de dados estruturais

“Cambridge Crystallographic Data Centre” (CCDC)³⁵. Cerca de 50% das entradas de solvatos de compostos orgânicos metálicos e orgânicos são hidratos. A capacidade significativa dos sólidos de formarem hidratos está relacionada às propriedades da molécula de água, incluindo seu pequeno tamanho, que permite que as moléculas de água preencham os vazios estruturais entre as moléculas do soluto, e sua capacidade de atuar como doador e aceitador de ligações de hidrogênio¹⁵.

Os solvatos formados com solventes orgânicos raramente são usados quando se visa produtos farmacêuticos devido a questões de segurança decorrentes da toxicidade do solvente. No entanto, solvatos podem atuar como intermediários úteis para melhorar a recuperação, purificação e filtração de fármacos¹⁵.

Os hidratos farmacêuticos, por outro lado, são formas viáveis de medicamentos porque não há preocupação com a segurança da água como aduto de cristal. Uma vez que a água está amplamente presente durante a fabricação farmacêutica e armazenamento do produto, estima-se que cerca de 30% dos compostos farmacêuticos comercializados se encontram na forma de hidratos¹⁵.

1.6 COCRISTAIS

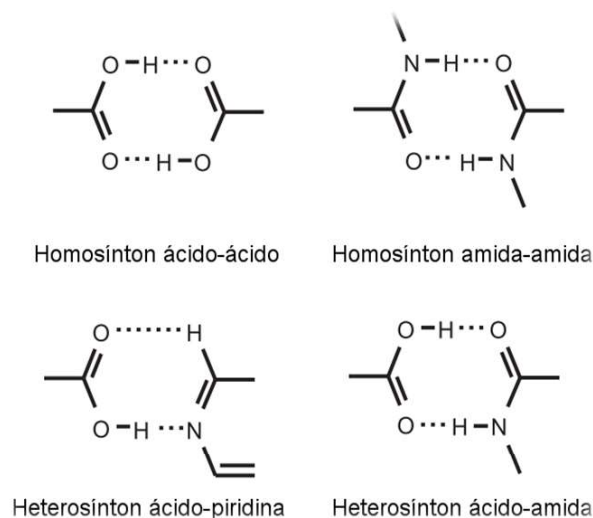
Pela definição, cocristais são materiais cristalinos compostos por dois ou mais componentes, tipicamente um IFA e um coformador no mesmo retículo cristalino. Os coformadores são substâncias que geralmente fazem parte da lista GRAS³⁶. A formação dos cocristais é ocasionada por ligações não covalentes, geralmente ligações de hidrogênio entre duas moléculas, formando uma única estrutura cristalina com padrões cristalográficos diferentes dos compostos de partida³⁷.

Vale destacar que além da possibilidade de utilização de coformadores como segundo componente, é possível utilizar um segundo fármaco na tentativa de se buscar efeitos sinérgicos, como é o caso do cocrystal em desenvolvimento do analgésico tramadol com o anti-inflamatório celcoxib. A junção de ambos os fármacos propiciou o desenvolvimento de um produto com maior efeito analgésico, modificação da farmacocinética de ambos os componentes, melhor custo benefício em termos de eficácia clínica e segurança, além de diminuir o número de administrações nos tratamentos³⁸.

A formação de um cocrystal ocorre através da interação um IFA e um coformador (ou múltiplos IFAs), sem que ocorra transferência de prótons entre essas duas espécies, por meio de ligações não covalentes como: ligações de hidrogênio, interações π - π e interações de Van der Waals. Nos cocristais, as moléculas do IFA e coformador permanecem unidos entre si

através de sintons supramoleculares, formando uma única estrutura cristalina com padrões cristalográficos diferentes dos compostos de partida ³⁷, sendo esses sintons exemplificados na **Figura 5**.

Figura 5. Exemplo de sintons supramoleculares possíveis na formação de cocristais.



Fonte: Autor

Apesar de não ser uma forma sólida tão conhecida ainda, em termos de propriedade intelectual, a prospecção de novos cocristais é uma área atraente tendo em vista que esses materiais são patenteáveis ou passíveis de se obter a extensão de direitos. O processo de aceite dessas patentes se demonstra simplificado em comparação a novos fármacos, tendo em vista que já existe um conhecimento prévio das propriedades farmacêuticas do IFA e da não modificação da propriedade farmacêutica³⁹. Vale destacar, que a efetividade da cocrystalização frente a aplicação futura no mercado farmacêutico foi demonstrada pela aprovação dos medicamentos: Steglatro (2017), Entresto (2015), Odomzo (2015), Lexapro (2002), Cafcit (1999) e Depakote (1996)^{40,41}, além do cocrystal celoxib-tramadol, que se encontra em fase clínica III⁴².

1.7 SOLUÇÕES SÓLIDAS E EUTÉTICOS

Van't Hoff foi um dos primeiros a introduzir o termo "soluções sólidas" na década de 1890⁴³. A solução sólida pode ser simplesmente descrita como uma fase sólida com características de uma solução, onde o soluto sólido é dissolvido no solvente sólido. A IUPAC define solução sólida como “um cristal contendo um segundo constituinte que se encaixa e é distribuído na rede do cristal hospedeiro”¹³. Semelhante às soluções líquidas, a composição dos

constituintes pode ser variada dentro de um contínuo, até certo ponto. A variação dos componentes em uma relação não estequiométrica permite controlar as propriedades, portanto a solução sólida oferece uma estratégia para ajustar as propriedades dos materiais de forma contínua¹⁵.

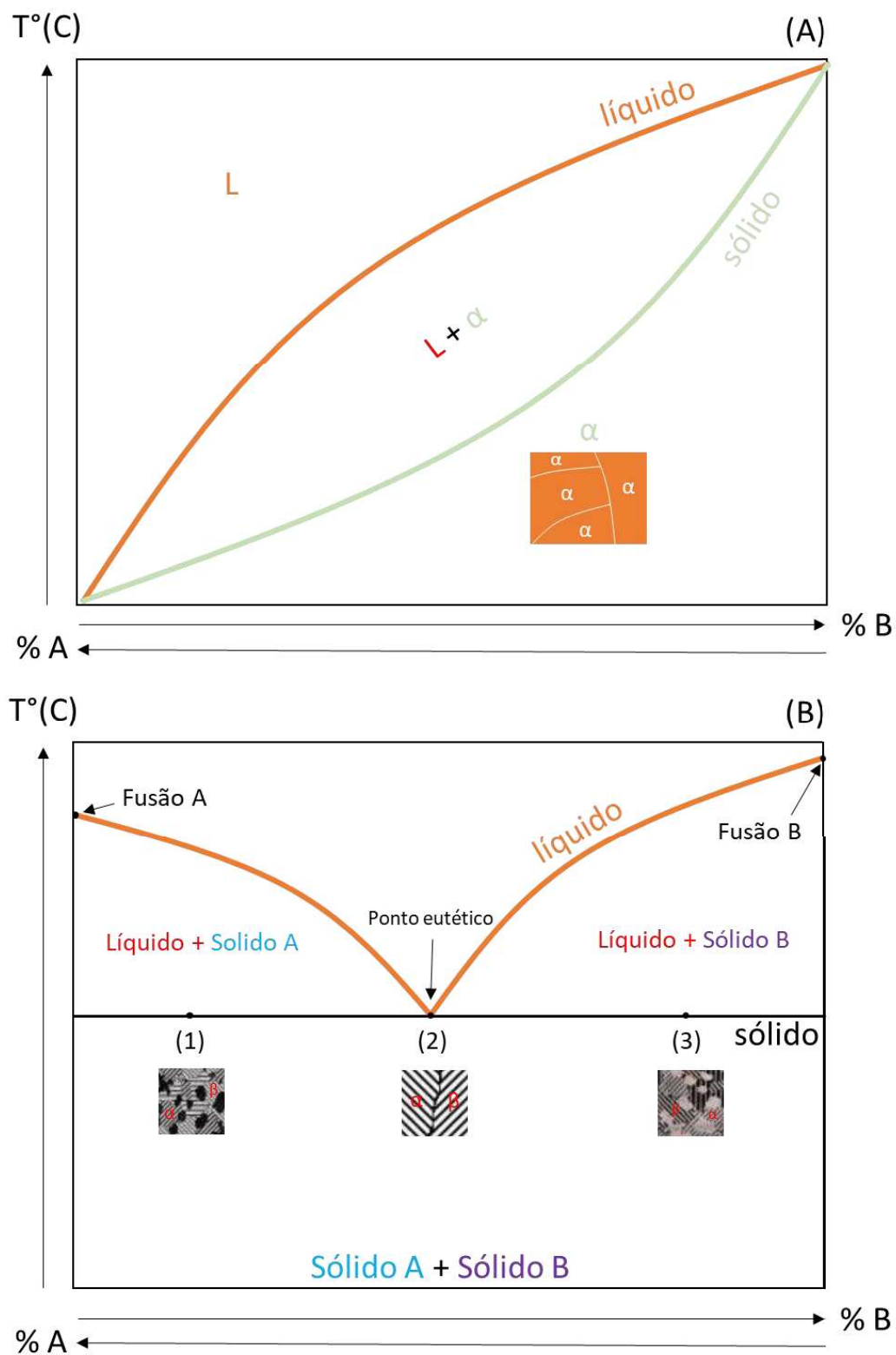
A indústria farmacêutica há muito tempo investiga soluções sólidas e misturas eutéticas com o objetivo de modificar a taxa de dissolução e absorção de drogas⁴⁴, estudos sobre a mistura de acetaminofen-ureia, cloranfenicol-ureia e sistemas de ácido griseofulvina-succínico relataram que a taxa de dissolução em soluções sólidas desses materiais pode aumentar até sete vezes⁴³.

Neste tema, os eutéticos tem sido frequentemente confundidos com soluções sólidas e vice-versa^{43,45,46}, dessa maneira, conclusões e estudos associados a um desses materiais foram descritos erroneamente para a outra classe. Diversas definições de eutéticos com base em sua composição e baixo ponto de fusão são conhecidas na literatura⁴⁵. No entanto, a organização estrutural de eutéticos ainda é um tema pouco explorado.

Dessa maneira, um diagrama de fase genérico para eutéticos e soluções sólidas é demonstrado na Figura 6, sendo suas características discutidas brevemente nos próximos parágrafos.

Uma solução sólida é composta por uma fase principal (solvente) e uma segunda fase secundária (soluto)^{43,45}. É frequentemente formado por cristais isomórficos (ou seja, estruturas cristalinas com o mesmo grupo espacial e dimensões de células unitárias), apresentando estrutura cristalina, valência, tamanho e eletronegatividade semelhantes. Quando os materiais que interagem têm tamanho e estruturas cristalinas semelhantes, eles podem ter solubilidade ilimitada e se acomodar bem na rede cristalina um do outro, seja de forma substitutiva ou intersticial, sem perturbar a estrutura da rede parental e, assim, formar soluções sólidas contínuas (de 1:99 em proporção), os elementos se misturam em qualquer quantidade e se distribuem aleatoriamente dentro da estrutura cristalina. Eles formam uma fase homogênea (solução sólida), designada como α , em toda a rede. Uma solução sólida (Figura 6a), em geral, exibe uma faixa de fusão e temperatura abaixo da qual o material é encontrado na forma sólida (linha verde “sólido”). Da mesma maneira, exibe uma faixa de temperatura a qual acima é encontrado como líquido (linha laranja “líquido”). Entre as faixas sólida e líquida as fases coexistem (Líquido + fase α).

Figura 6. Representação esquemática de um diagrama de fases de uma solução sólida (A) e um eutético (B).



Fonte: Autor.

Em contraste, os cristais não isomorfos podem dar origem a um eutético. Quando os materiais têm incompatibilidade atômica, de tamanho molecular, de forma e assimetria nas estruturas cristalinas, eles têm solubilidade limitada e, portanto, não podem caber além de um determinado limite na rede cristalina um do outro, uma vez que isso causará deformação e desorganização da estrutura da rede. Esses sistemas não podem formar soluções sólidas contínuas e, em vez disso, tendem a formar soluções sólidas descontínuas, ou também chamadas de eutéticos.

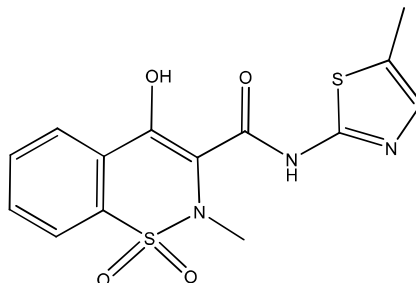
Em relação ao diagrama de fase, as curvas de resfriamento para os componentes A e B mostram uma única linha horizontal em seus pontos de fusão. À medida que B é adicionado a A, a temperatura para o início da solidificação é reduzida. À medida que A é adicionado a B, a temperatura para o início da solidificação também é reduzida. Portanto, como cada componente abaixa o ponto de fusão do outro, a linha que conecta os pontos que mostram o início da solidificação, a linha líquida, deve apresentar um mínimo congruente. Isso é mostrado pela intersecção das linhas, conhecido como ponto eutético. É possível observar que os sólidos formados fora da proporção “eutética” não apresentam fases bem definidas devido às diferenças isomórficas dos componentes (abaixo da temperatura referente ao ponto 1 e 3), porém abaixo da temperatura no ponto 2, onde ocorre a proporção adequada, as fases formadas são bem definidas.

1.8 MELOXICAM

O meloxicam (MLX) é um fármaco derivado do oxicam e inibidor preferencial da COX-2⁴⁷, sendo sua estrutura demonstrada na Figura 7. Originalmente desenvolvido pela Boehringer Ingelheim, o composto possui atividade analgésica, antipirética e anti-inflamatória, com menos irritação do tecido gástrico e local em comparação com outros anti-inflamatórios não esteroidais⁴⁸. O MLX foi considerado eficaz no tratamento da artrite reumatóide, osteoartrite e degenerativa doenças articulares⁴⁹. A substância é um sólido amarelo pertencente à classe II do BCS, apresentando solubilidade e taxa de dissolução limitadas em água (0,012 mg mL⁻¹), com valores que dependem altamente do pH do meio, devido aos seus múltiplos estados de ionização^{8,9}. O composto é ligeiramente solúvel em metanol e tem valores de pKa de 1,1 e 4,2. O MLX é quase totalmente absorvido após a administração, com uma biodisponibilidade absoluta de 89%⁵⁰. Após a administração oral, é completamente absorvido por um período de tempo prolongado. Ele se liga fortemente à albumina sérica (> 99%) e atinge uma concentração máxima em 4-5 h após a administração oral. MLX é eliminado pelo

metabolismo em metabólitos inativos, bem como excretado inalterado na urina e nas fezes com uma meia-vida de eliminação em torno 20 h⁵¹.

Figura 7. Estrutura química do meloxicam.



Fonte: Autor.

Apesar da sua eficácia, o tratamento contínuo com o medicamento é conhecido por seus efeitos gastrointestinais adversos, ocasionando diarreia, úlceras, dores abdominais e hemorroidas¹⁰. Existem relatos da tentativa de alterar o perfil farmacocinético do meloxicam em vários complexos, solvatos, sais^{52,53} e cocrystalais^{9,49,54,55}, entretanto, a melhora do perfil de dissolução desse compostos não se demonstrou promissora, o que enfatiza a necessidade de estudos mais aprofundados sobre o MLX e suas formas sólidas.

1.9 CARACTERIZAÇÃO DE FORMAS SÓLIDAS

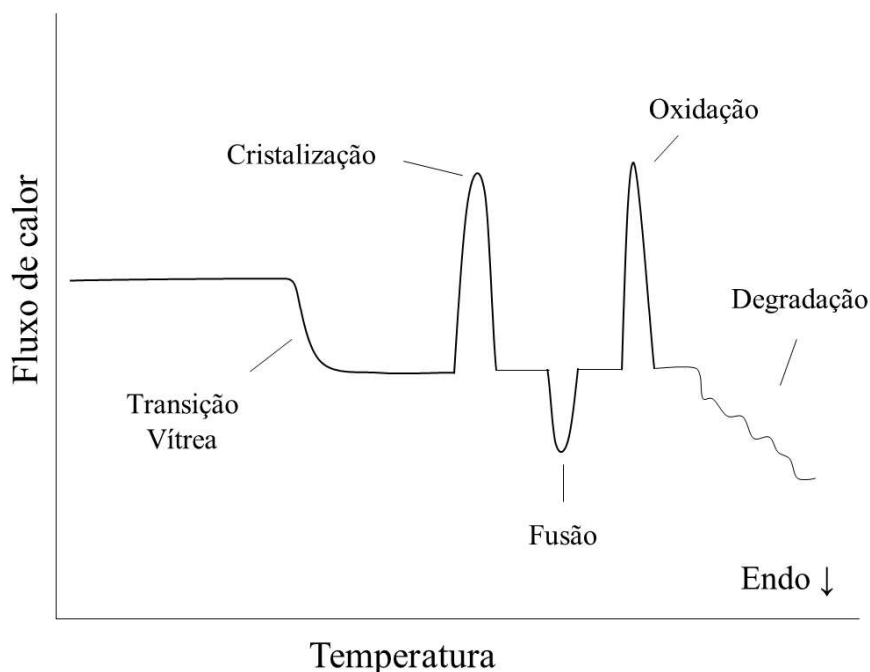
É possível observar o grande número de formas sólidas passíveis de se formar durante um processo de triagem de um IFA, mais de uma forma cristalina pode ser obtida para um mesmo fármaco e até mesmo em uma mesma síntese dependendo do caso (polimorfos). Como o próprio nome já diz, as formas sólidas são dependentes de interações intermoleculares no estado sólido, dessa maneira, apenas técnicas de caracterização no estado sólido podem ser usadas no decorrer do processo de investigação de suas estruturas, uma vez que a solubilização desses materiais resultará na perda de toda a informação estrutural proveniente das interações.

Diversos métodos analíticos podem ser utilizados para a caracterização desses materiais, como: termogravimetria (*TG - thermogravimetry*), calorimetria exploratória diferencial (*DSC – differential scanning calorimetry*), difração de raios X do pó e do monocristal, ressonância magnética nuclear de estado sólido, espectroscopia vibracional na região do infravermelho, espectroscopia Raman, entre outros. Devido à grande diversidade de técnicas e abordagens, esse tópico se restringirá a discutir a parte de caracterização envolvendo estudos termoanalíticos, a difração de raios x do pó (*PXRD – Powder X-ray diffraction*) e a espectroscopia vibracional na região do infravermelho (*FTIR – Fourier-transform infrared spectroscopy*).

1.9.1 DSC

O DSC mede a diferença na razão do fluxo de calor de uma amostra em comparação a um material de referência. O instrumento fornece um gráfico de temperatura em função do fluxo de calor, sendo possível observar eventos endotérmicos e exotérmicos, assim como a alteração de entalpia correspondente a tais eventos. Alguns dos eventos endotérmicos possíveis de observação são transições de fase (fusão, ebulição e sublimação), redução e desidratação, enquanto os exotérmicos são: cristalização, oxidação e algumas reações de decomposição. Em adicional, possíveis eventos que resultem na variação de entropia de segunda ordem podem ser verificados, como é o caso de transições vítreas. Alguns eventos são exemplificados na **Figura 8**.

Figura 8. Representação de uma curva DSC e alguns eventos endotérmicos e exotérmicos.



Fonte: Autor.

Em relação a aplicação do DSC em formas sólidas, o perfil da curva DSC pode evidenciar a natureza da forma sólida formada através da comparação das curvas dos componentes isolados em relação aos materiais sintetizados. Algumas características de cada forma sólida são descritas a seguir baseado em dados da literatura e conhecimento previamente adquiridos^{2,17,34,56-58}:

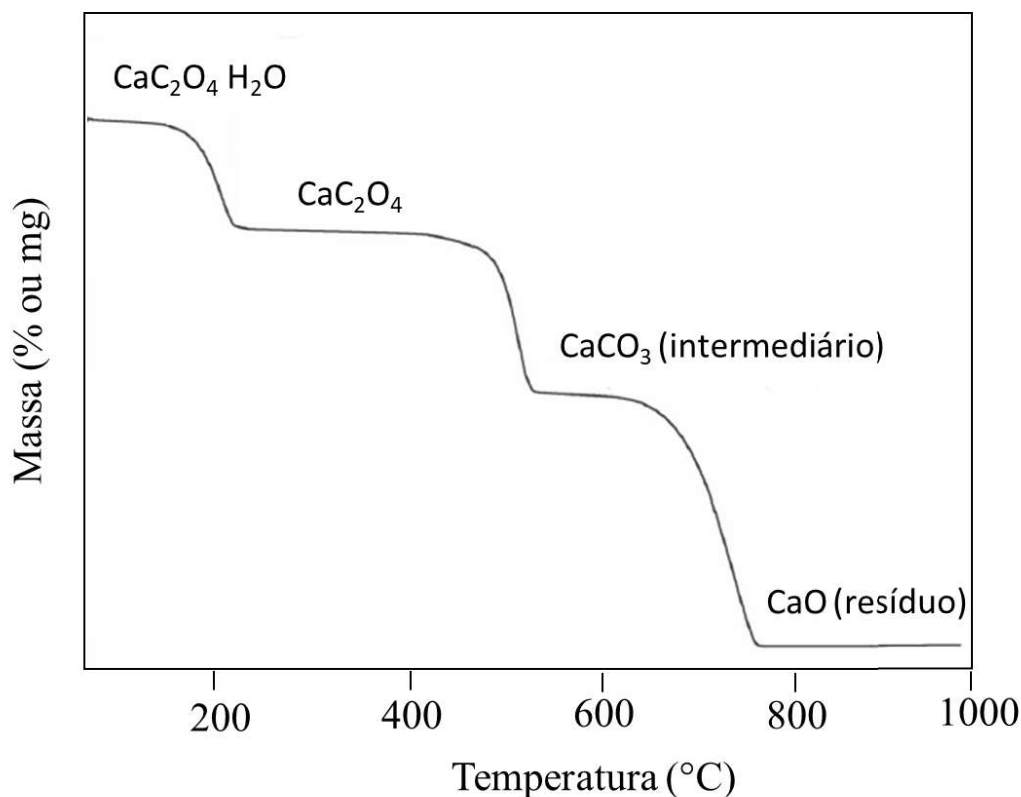
- **Mistura física:** o aquecimento de uma mistura binária a uma taxa de aquecimento específica produz geralmente dois picos endotérmicos, cada um correspondendo ao ponto de fusão dos componentes individuais, a observação de tais eventos sugere que mistura física não sofreu interações intermoleculares.
- **Polimorfos:** geralmente, a presença de polimorfismo pode ser evidenciada pelo aparecimento de picos endotérmicos relativos à transição de fases na curva DSC, ou eventos de cristalização exotérmicos. O processo de transformação de um polimorfo em outro é uma transição de fase, que, de acordo com a regra de fase, pode ocorrer a uma dada pressão por alteração da temperatura. Caso a transição de fase for reversível, os dois polimorfos são enantiotrópicos e a energia da transição no aquecimento é endotérmica. Caso a transição de fase for irreversível, os dois polimorfos são monótrópicos, caso em que apenas uma forma é estável independentemente da temperatura e a transformação da forma instável em estável é exotérmica.
- **Eutético:** diz-se que um eutético se formou quando a curva DSC mostra um único pico endotérmico com temperatura de fusão menor que os pontos de fusão de ambos os componentes iniciais. Um melhor estudo pode ser realizado através da preparação de misturas em diferentes proporções construindo um diagrama de fases, conforme evidenciado pela Figura 6.
- **Solvatos/Hidratos:** a formação de solvatos pode ser averiguada pelo aparecimento de sinais endotérmicos relativos a processos de desidratação e dessolvatação referente ao solvente incorporado na estrutura cristalina.
- **Cocrystal** - um sistema binário pode ser considerado capaz de formar um cocrystal quando a curva DSC exibe um único pico endotérmico com pontos de fusão mais baixos, entre ou maior do que os pontos de fusão dos componentes individuais. A confirmação ocorrerá com o auxílio de técnicas espectroscópicas e difratométricas. Além disso, se a curva DSC mostrar picos múltiplos consecutivos, possivelmente indica a formação de cocrystal. No caso de presença de dois picos consecutivos, o primeiro pico de fusão corresponde à fusão eutética, seguido pela fusão do cocrystal (representada pelo segundo endotérmico). Também é possível que dois ou múltiplos picos sejam uma indicação de transformação polimórfica de cocristais. Em caso da presença de três picos endotérmicos consecutivos, o primeiro representa o derretimento eutético, o segundo representa a fusão do componente em excesso (fármaco ou coformador), seguido pela fusão final do cocrystal no terceiro pico endotérmico. É importante salientar, que não existe uma regra geral absoluta e cada caso deve ser avaliado de maneira distinta.

- Solução sólida – uma solução sólida exibe o comportamento simples de uma mistura física, com a observação de um evento endotérmico relativo à formação da fase líquida mais alta, sendo ambos os constituintes miscíveis entre si. Uma melhor visualização e indicação da formação de uma solução sólida pode ser observada realizando um estudo com diferentes proporções dos componentes evidenciada pela Figura 6.

1.9.2 TG

A TG envolve a medição das mudanças de massa da amostra em função da temperatura, sendo possível controlar a atmosfera da análise para um melhor estudo dos eventos de decomposição térmica observados. A curva resultante de massa da amostra em função da temperatura é denominada curva TG. Um exemplo elucidativo é demonstrado na **Figura 9**, onde é possível verificar uma curva TG referente ao oxalato de cálcio hidratado⁵⁹.

Figura 9. Exemplificação de uma curva TG.



Fonte: Autor

Uma ampla gama de processos e interações podem ser investigados, principalmente quando a técnica é realizada em conjunto do DSC, sendo possível determinar com maior exatidão utilizando um sistema TG-DSC a temperatura dos eventos térmicos de ebulição,

sublimação, estabilidade térmica, determinação da temperatura de decomposição térmica, cinética e mecanismos de decomposição térmica, determinação de pureza, análise de composição, identificação de polimorfos, entre outros ⁶⁰. Em adição, os materiais voláteis evoluídos durante as medições podem ser estudados e caracterizados por técnicas auxiliares acopladas ao sistema TG, como a espectrometria de massas (TG-MS) ou espectroscopia FTIR (TG-FTIR), procedimento de grande valia quando se visa identificar solvatos/hidratos ou realizar estudos de degradação de compostos.

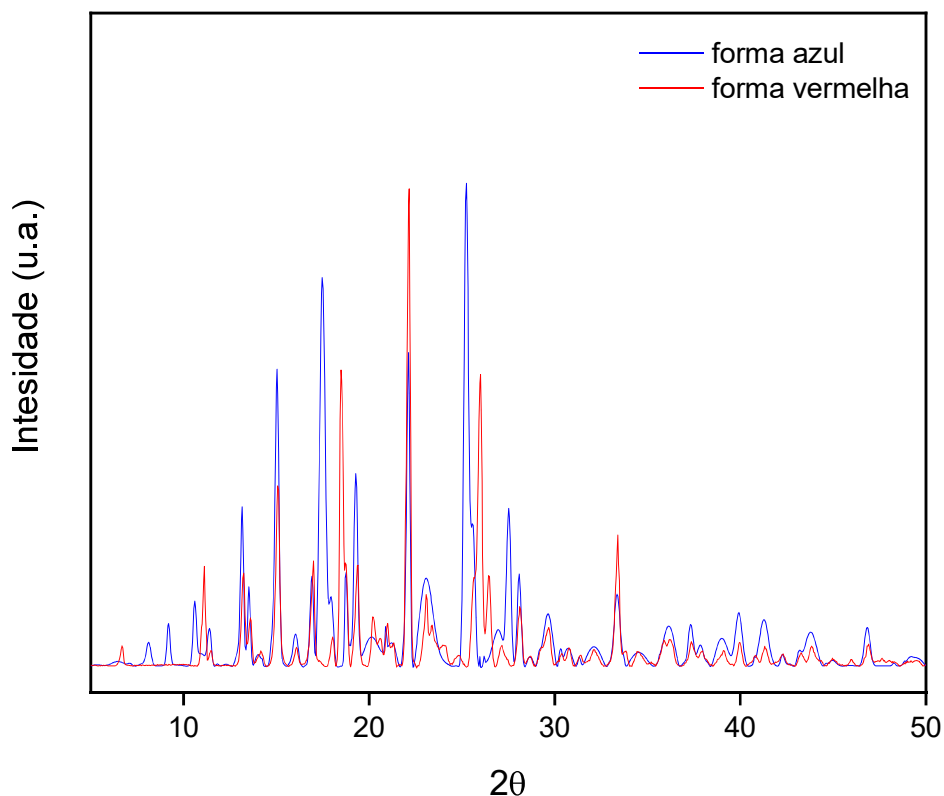
1.9.3 PXRD

A difratometria de raios X se apresenta como uma ferramenta poderosa na triagem de novas formas sólidas pois permite identificar mudanças na estrutura cristalina dos materiais decorrente das interações intermoleculares no estado sólido.

De modo geral¹⁵, a técnica é baseada na interferência construtiva de raios X monocromáticos em uma amostra cristalina. Esses raios X são gerados por um tubo de raios catódicos, orientados para gerar uma radiação monocromática, sendo concentrados e direcionados para a amostra. A interação dos raios incidentes com a amostra produz interferência construtiva (e um raio difratado) quando as condições satisfazem a Lei de Bragg. A lei correlaciona o comprimento de onda da radiação eletromagnética com o ângulo de difração e o espaçamento da rede em uma amostra cristalina. Esses raios X difratados são então detectados, processados e contados. Ao analisar a amostra através de uma faixa de ângulos 2θ , é gerado um gráfico baseado nos ângulos difratados pela contagem de sinais detectados, conhecido como difratograma.

O aparecimento, deslocamento ou desaparecimento de sinais no difratograma de um material sintetizado (quando comparado aos materiais de partida) é decorrente da existência de um retículo cristalino diferente^{18,61}. A **Figura 10** demonstra a diferença existente nos sinais de diferentes formas polimórficas. Assim, os padrões de difração de pó podem ser usados para identificar polimorfos por exemplo, principalmente quando associada a outras técnicas analíticas, como é o caso do DSC. Cada forma sólida de um IFA exibirá um padrão de difração diferente, tendo em vista que os sinais difratados pela amostra levam em consideração o arranjo espacial dos átomos na estrutura cristalina do cristal.

Figura 10. Exemplificação de difratogramas de diferentes formas polimórficas.



Fonte: Autor.

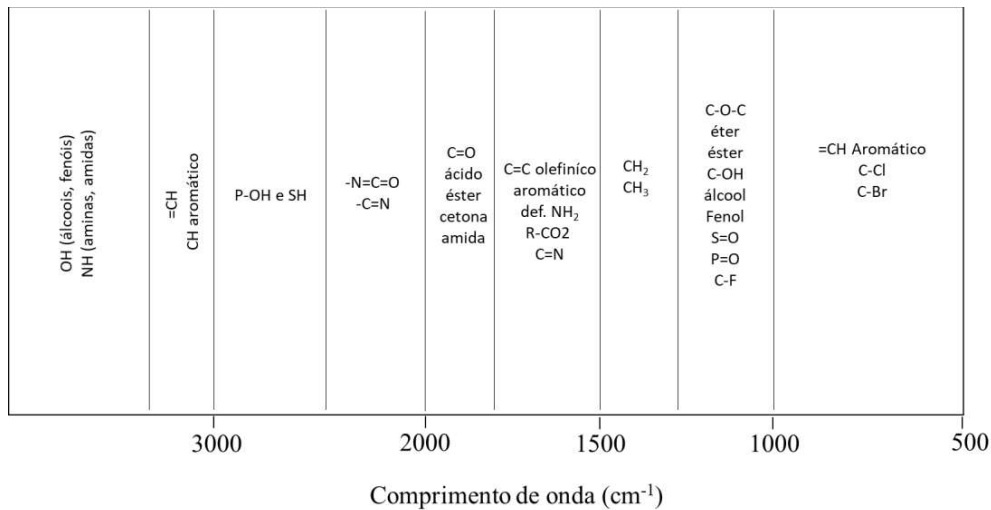
1.9.4 FTIR

A utilização da espectroscopia no infravermelho tem sido amplamente utilizada para o estudo de materiais no estado sólido em diferentes matrizes, tendo duas principais aplicações: a identificação de moléculas através das principais vibrações que servem como “*fingerprints*” moleculares e a identificação de modificações em grupos funcionais através da comparação de espectros¹⁵. Os modos de vibrações observados nos espectros são resultados da força de ligação e das massas dos átomos nas moléculas, dessa maneira, as ligações de determinados grupos característicos devem absorver em frequências características que permitem sua identificação, tendo em vista valores previamente tabelados. A frequência de absorção de uma ligação é afetada pelo ambiente químico próximo a ligação química, como interações intermoleculares, assim sendo, possíveis interações no estado sólido frequentemente presente em formas sólidas podem ser avaliadas através do deslocamento ou modificação na intensidade dos sinais absorvidos.

Em relação aos modos de vibração dos grupos funcionais mais visualizados, a **Figura 11** traz uma breve esquematização de alguns grupos. Vale ressaltar que dependendo da

vizinhança ou da interação intermolecular no estado sólido a faixa de comprimento de onda pode variar.

Figura 11. Correlação de grupos moleculares em relação ao comprimento de onda observado no FTIR.



Fonte: Autor.

Observando exemplos práticos de formas sólidas farmacêuticas, modificação de bandas CO e OH podem indicar interações de ligações de hidrogênio em cocristais, enquanto a ausência ou presença de bandas relativas a grupos ionizáveis (COO⁻ ou NH⁺) podem confirmar ou excluir a formação de sais.

CAPÍTULO 2 – CARACTERIZAÇÃO DO FÁRMACO MELOXICAM

2 CARACTERIZAÇÃO DO FÁRMACO MELOXICAM

2.1 INTRODUÇÃO

O estudo de formas sólidas leva em consideração diversas características dos reagentes iniciais, sendo as técnicas espectroscópicas, difratométricas e termoanalíticas empregadas para a avaliação de uma nova forma sólida de grande importância para um processo efetivo de triagem de novos materiais. Dessa maneira, uma boa caracterização do fármaco MLX se faz necessária, avaliando seu comportamento térmico em diferentes atmosferas e seu perfil espectral. Em conjunto, é importante avaliar em qual forma polimórfica se encontra o MLX, tendo em vista a existência de cinco formas polimórficas para o fármaco.

Dessa maneira, esse capítulo visa avaliar o IFA por diferentes técnicas analíticas e assegurar que o fármaco é o mesmo produto encontrado comercialmente no mercado farmacêutico. Em conjunto, foi avaliado se o método de síntese aplicado para o processo de triagem afetaria a estrutura degradando o material ou até mesmo sofrendo algum tipo de transição de fase.

2.2 MATERIAL E MÉTODOS

FTIR

As análises foram realizadas no espectrofotômetro Nicolet IS10, usando o sistema ATR com janela de Ge, na região de 3600 a 675 cm^{-1} , 32 varreduras por espectro e resolução de 4 cm^{-1} .

Raman

As análises foram realizadas em um espectrofotômetro Bruker, modelo RAMII. O Sistema é equipado com um laser de hélio-neon operando com uma linha de excitação em 1064 nm e um detector de Ge resfriado com nitrogênio líquido. Os passos foram configurados com uma resolução espectral de 2 cm^{-1} , 200 mW e 512 varreduras por espectro. Os espectros foram obtidos entre 200-3400 cm^{-1} .

PXRD

Os difratogramas foram obtidos em um difratômetro Siemens, modelo D500, DIFRAC PLUS XRD COMMANDER, utilizando uma radiação de $\text{CuK}\alpha$ ($\lambda = 1,54056 \text{ \AA}$) com configuração 40 kV e 30 mA, sendo as amostras analisadas de $5-50^\circ$ (2θ), em uma velocidade de varredura de 2° min^{-1} (*continuous scan mode*).

DSC

Os experimentos de DSC foram realizados em um equipamento Q10 da TA *Instruments*. As análises foram realizadas sob atmosfera dinâmica de nitrogênio, com massa de aproximadamente 2 mg, em cadinho de alumínio lacrado e perfurado, fluxo de gás de 50 mL min^{-1} ,

TG-DSC

As curvas TG-DSC foram obtidas utilizando um sistema de análise térmica da Mettler Toledo, modelo TG/DSC-1. A atmosfera de ar e N_2 como gás de purga a uma vazão de 50 mL min^{-1} , massa da amostra de aproximadamente 10 mg e cadinhos de $\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$ de $150 \mu\text{L}$, razão de aquecimento de $10^\circ \text{C min}^{-1}$ e intervalo de temperatura de $30 - 800^\circ \text{C}$.

Avaliação da degradação ou modificação da forma sólida do MLX

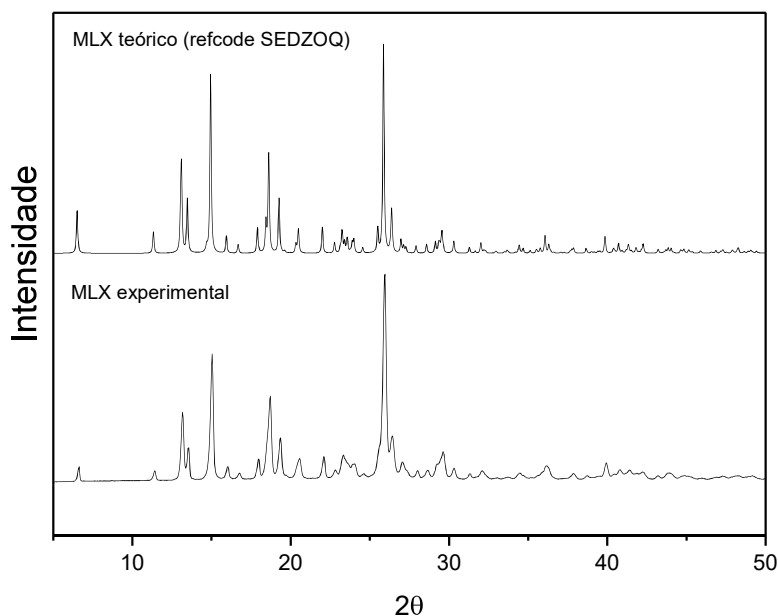
O meloxicam foi obtido da Sigma-Aldrich com 98% de pureza. O material foi moído (450 mg de massa total) em conjunto com $112 \mu\text{L}$ de solvente. Tetrahydrofurano e etanol foram avaliados. A metodologia de moagem assistida por solvente (*LAG – liquid-assisted grinding*) foi empregada ⁶²,

As condições padrões de moagem foram: frequência de 15 Hz, 30 minutos de moagem, proporção de solvente/massa total de $0,25 \mu\text{L mg}^{-1}$ (η). A moagem foi feita em um moinho vibratório modelo Retsch MM 200, jarros de aço inoxidável de 10 mL e uma esfera de aço inoxidável de 7 mm de diâmetro. Os materiais obtidos foram secos a 50°C durante 8 h para remover qualquer solvente residual.

2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O fármaco meloxicam adquirido foi avaliado frente a sua forma polimórfica, dessa maneira, realizou-se a comparação do difratograma obtido experimental do MLX com o da base de dados Cambridge Crystallographic Data Centre (CCDC) ³⁵, **Figura 12**.

Figura 12. PXRD do MLX teórico e experimental.

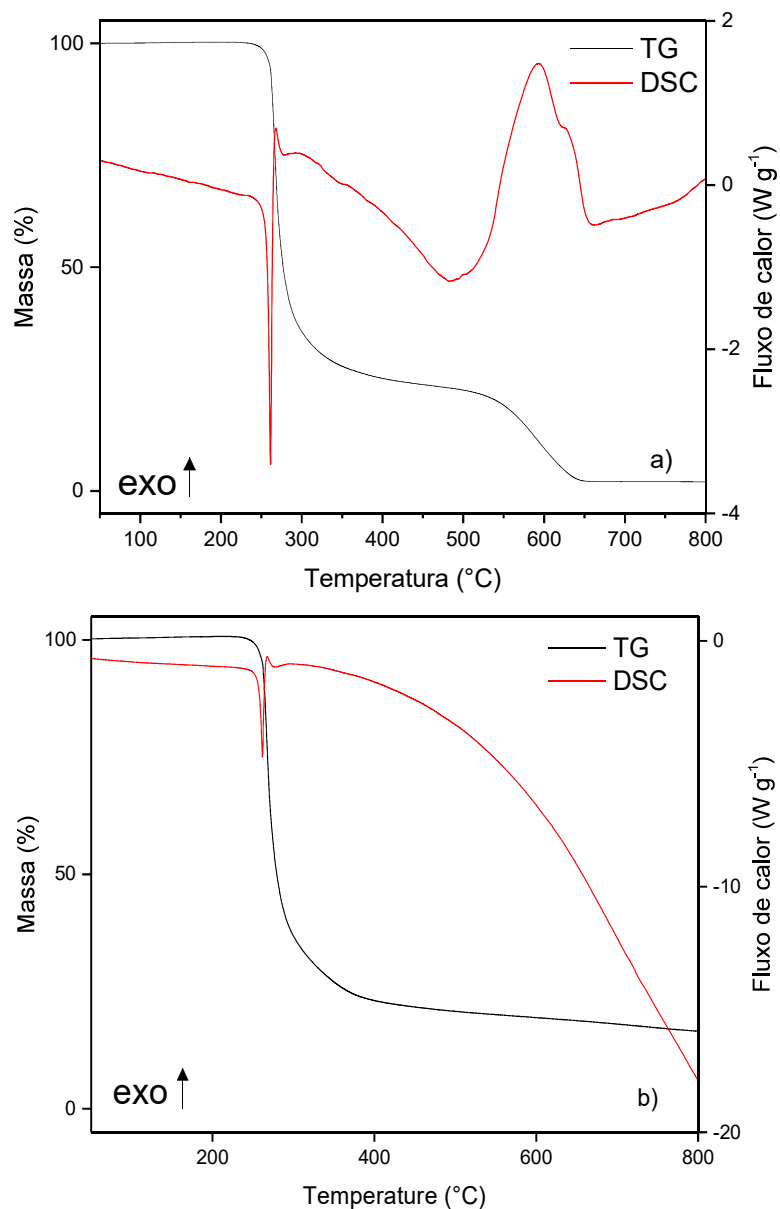


Fonte: Autor.

Observa-se que o meloxicam utilizado para as sínteses está na forma polimórfica I, correspondente a forma comercializada ⁵⁵, com intensidade máxima em 2θ igual a 15° e $25,8^\circ$. O pico em 13° , presente na forma III do meloxicam, não foi encontrado, o que confirma que o precursor está na forma I.

As curvas TG-DSC do fármaco meloxicam obtidas em atmosfera de ar e nitrogênio são apresentadas na **Figura 13**.

Figura 13. Curvas TG-DSC em ar (a) e nitrogênio* (b) do MLX.



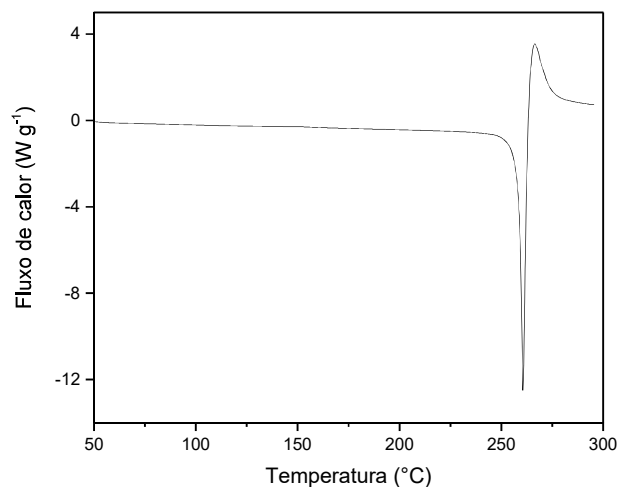
Fonte: Autor.

Essas curvas indicam que o fármaco é termicamente estável até 230 °C em ambas as atmosferas. Acima dessa temperatura, a decomposição térmica ocorre em duas etapas consecutivas e sobrepostas. Em atmosfera de ar, a primeira etapa ocorre entre 230-360 °C ($\Delta m_1 = 75,31\%$) atribuída à decomposição térmica do fármaco, associada ao pico exotérmico em 267 °C na curva DSC. A segunda etapa ocorre entre 360-600 °C ($\Delta m_2 = 22,58\%$), atribuído à oxidação do material carbonizado formado na etapa anterior, correspondendo ao pico exotérmico na curva DSC. Em atmosfera de N₂, a primeira etapa ocorre entre 230-360 °C ($\Delta m_1 = 74,08\%$) e a segunda entre 360-800 °C ($\Delta m_2 = 9,23\%$), atribuído a um processo lento de

pirólise, sem qualquer evento térmico correspondente na curva DSC. Observa-se então que a segunda etapa da perda de massa na curva TG é fortemente influenciada pela atmosfera utilizada.

Na curva DSC (**Figura 14**), observa-se um pico endotérmico em 261 °C com entalpia de 35,0 kJ mol⁻¹, atribuída à fusão com decomposição do meloxicam⁶³.

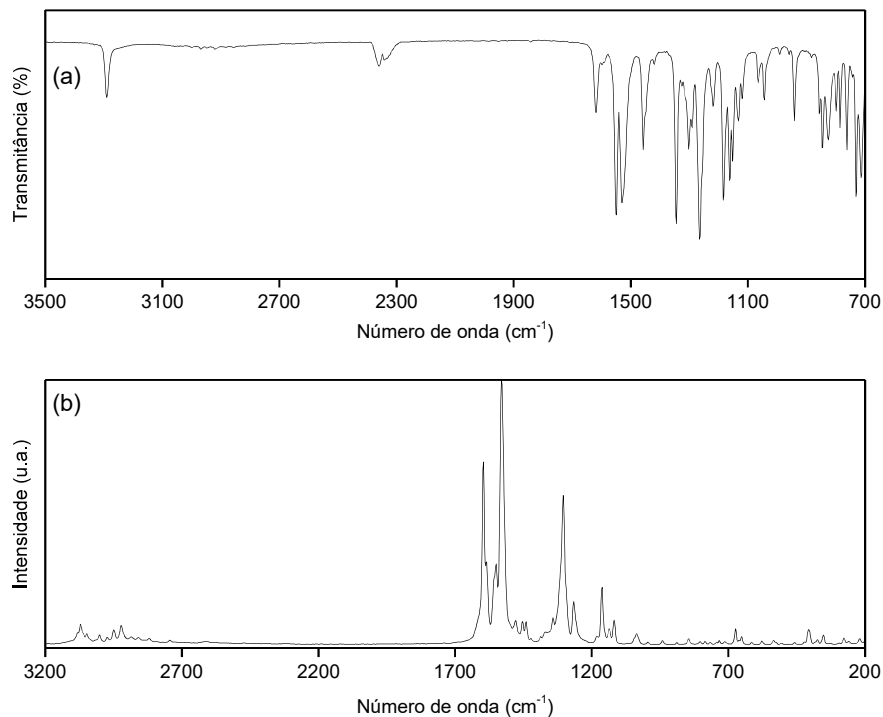
Figura 14. Curva DSC em nitrogênio do MLX.



Fonte: Autor.

Os espectros de FTIR e Raman do meloxicam são mostrados na **Figura 15**.

Figura 15. Espectro FTIR (a) e Raman (b) do MLX.



Fonte: Autor.

A atribuição das principais bandas foi realizada com base na referência [44] e são apresentadas na **Tabela 3**. As principais bandas observadas são atribuídas a νOH em 3286 cm^{-1} , $\nu\text{CO} + \delta\text{NH}$ em 1618 cm^{-1} , $\nu\text{CH}_{\text{anel tiazol}}$ em 3000 cm^{-1} e νSO_2 em 1344 cm^{-1} .

Tabela 3. Atribuição dos modos vibracionais do MLX teóricos e experimentais.

Modos vibracionais	MLX (experimental)	MLX (teórico)
$\nu\text{ O-H}_{\text{enol}}$	3286	3290
$\nu\text{ C-H}_{\text{tiazol}}$	3000	2999
$\nu\text{ C=O}$	1618	1736
$\nu\text{ C-H} + \nu\text{ C=C}_{\text{ar}} + \nu\text{ C-O}_{\text{enol}} + \delta\text{ N-H} + \nu\text{ C=O}$	1548	1550
$\nu_{\text{tiazol}} + \delta\text{ N-H} +$ $\delta\text{ C-H}_{\text{CH}_3}\text{ grupo}$	1527	1538
$\nu\text{ SO}_2$	1344 _{vs}	1344

Fonte: Autor

O MLX foi avaliado frente ao processo de moagem e os materiais obtidos ao final de secagem foram submetidos a análise PXRD, os difratogramas obtidos não demonstraram mudanças significativas, demonstrando que não ocorreu alteração no perfil cristalino dos materiais decorrente da moagem ou presença de solvente.

2.4 CONCLUSÃO

O processo de caracterização do MLX foi efetivo, sendo observado que o composto se trata da forma polimórfica I, correspondente a forma comercializada. Através das análises espectroscópicas e termoanalíticas foi possível obter um *fingerprint* do fármaco, que será utilizado como comparativo nos processos de triagem de novas formas solidas.

Em conjunto, foi observado que o processo de moagem com diferentes solventes não ocasiona a degradação do material ou possíveis transições de fase.

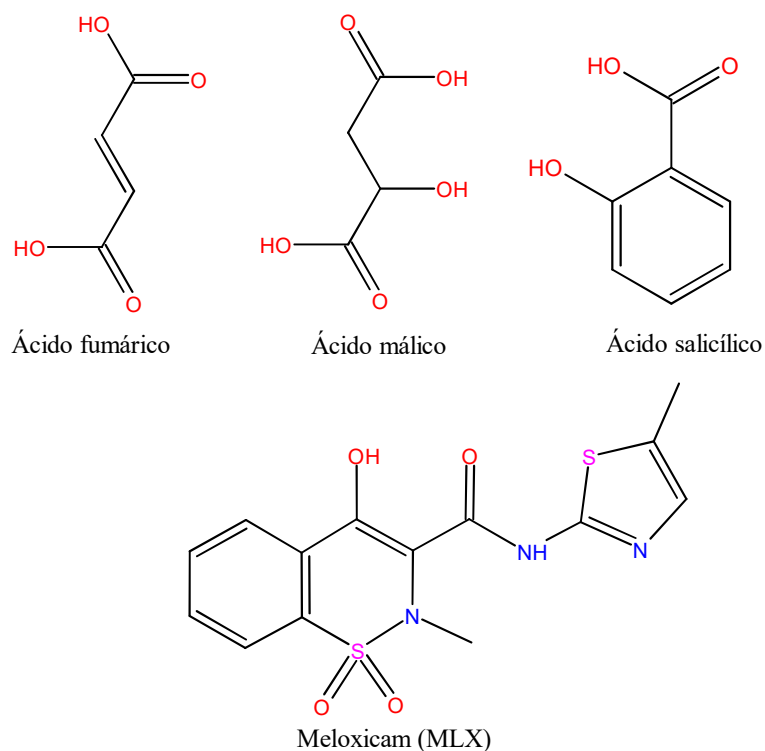
CAPÍTULO 3 – COCRISTAIS COM ÁCIDO MÁLICO, SALICÍLICO E FUMÁRICO

3 COCRISTAIS COM ÁCIDO MÁLICO, SALICÍLICO E FUMÁRICO

3.1 INTRODUÇÃO

No presente capítulo, é relatado a síntese, caracterização e estudo termoanalítico de três cocristais de MLX usando os coformadores: ácido salicílico (SLY), ácido fumárico (FUM) e ácido málico (MLC). O trabalho se encontra publicado no “Journal of Thermal Analysis and Calorimetry”⁶⁴.

Figura 16. Estruturas químicas dos componentes utilizados para a síntese dos cocristais.



Fonte: Autor

A caracterização foi realizada por PXRD, FTIR, espectroscopia Raman e técnicas termoanalíticas, que incluem TG-DSC, DSC e DSC-fotovisual. Alguns coformadores citados anteriormente já são relatados na literatura. No entanto, diferentes resultados de caracterização são apresentados neste artigo, e nenhum trabalho anterior relatou um estudo termoanalítico sistemático desses cocristais. É importante mencionar que poucos relatos discutem o comportamento térmico dos cocristais, embora esses estudos tenham sido relatados como importantes pesquisas realizadas com o objetivo de compreender a estabilidade física e química, melhorar o conhecimento das etapas de secagem e fornecer informações para compreender e desenvolver sistemas de estado sólido aprimorados [18-20].

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1 Síntese dos cocristais

O meloxicam foi reagido com três coformadores selecionados: SLY, FUM e MLC. Todos os reagentes e solventes eram 98% puros e foram obtidos da Sigma-Aldrich. As misturas foram preparadas na proporção estequiométrica de 1:1 (MLX/coformador) com 450 mg de massa total e 112 μL de solvente. Tetrahidrofurano (THF) foi o solvente para MLX/FUM e etanol foi usado para MLX/SLY e MLX/MLC. A metodologia de moagem assistida por solvente (*LAG – liquid-assisted grinding*) foi empregada ⁶².

As condições padrões de moagem foram: frequência de 15 Hz, 30 minutos de moagem, proporção de solvente/massa total de 0,25 $\mu\text{L mg}^{-1}$ (η). A moagem foi feita em um moinho vibratório modelo Retsch MM 200, jarros de aço inoxidável de 10 mL e uma esfera de aço inoxidável de 7 mm de diâmetro. Os cocristais foram então secos a 50 °C durante 8 h para remover qualquer solvente residual.

3.2.2 Caracterização dos materiais

A caracterização dos materiais formados foi feita a partir das técnicas de FTIR, PXRD, DSC, TG-DSC e Raman. Um estudo termoanalítico mais detalhado foi realizado nos materiais sintetizados com o auxílio do sistema acoplado TG-DSC-FTIR e o acompanhamento da degradação dos materiais por vídeo e pelo DSC-fotovisual. A avaliação dos materiais foi realizada por meio do teste de solubilidade.

FTIR

As análises foram realizadas no espectrofotômetro Nicolet IS10, usando o sistema ATR com janela de Ge, na região de 3600 a 675 cm^{-1} , 32 varreduras por espectro e resolução de 4 cm^{-1} .

Raman

As análises foram realizadas em um espectrofotômetro Bruker, modelo RAMII. O Sistema é equipado com um laser de helio-neon operando com uma linha de excitação em 1064 nm e um detector de Ge resfriado com nitrogênio líquido. Os passos foram configurados com

uma resolução espectral de 2 cm^{-1} , 200 mW e 512 varreduras por espectro. Os espectros foram obtidos em uma faixa entre $200\text{-}3400\text{ cm}^{-1}$.

PXRD

Os difratogramas foram obtidos em um difratômetro Siemens, modelo D500, DIFRAC PLUS XRD COMMANDER, utilizando uma radiação de $\text{CuK}\alpha$ ($\lambda = 1,54056\text{ \AA}$) com configuração 40 kV e 30 mA, sendo as amostras analisadas de $5\text{-}50^\circ$ (2θ), em uma velocidade de varredura de 2° min^{-1} (*continuous scan mode*).

DSC

Os experimentos de DSC foram realizados em um equipamento Q10 da TA *Instruments*. As análises foram realizadas sob atmosfera dinâmica de nitrogênio, com massa de aproximadamente 2 mg, em cadinho de alumínio lacrado e perfurado, fluxo de gás de 50 mL min^{-1} ,

DSC-fotovisual

As análises foram realizadas no equipamento da Mettler Toledo DSC 1 stare system acoplado com uma câmera digital OLYMPUS, modelo SC 30, com uma capacidade de captura de 3.3 megapixel e sensor CMOS com zoom de até 6.5 vezes. As condições experimentais: ar seco como gás de purga, com fluxo de 50 mL min^{-1} , razão de aquecimento de $10\text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$ e massa de amostra de aproximadamente 2 mg, as amostras foram colocadas em cadinhos de alumina sem tampa.

TG-DSC

As curvas TG-DSC foram obtidas utilizando um sistema de análise térmica da Mettler Toledo, modelo TG/DSC-1. A atmosfera de ar e N_2 como gás de purga a uma vazão de 50 mL min^{-1} , massa da amostra de aproximadamente 10 mg e cadinhos de $\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$ de $150\text{ }\mu\text{L}$, razão de aquecimento de $10\text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$ e intervalo de temperatura de $30\text{ -- }800\text{ }^\circ\text{C}$.

Análise dos gases por FTIR

A análise de gases liberados (EGA, do inglês Evolved gas analysis) por TG-FTIR dos produtos liberados durante a decomposição térmica foi realizada usando um TG-DSC1 Mettler-Toledo acoplado a um espectrofotômetro Nicolet FTIR com uma célula de gás e um detector DTGS ZnSe. O forno e célula de gás aquecido (250 °C) foram acoplados através de uma linha de transferência de aço inoxidável de 120 cm, aquecida à 225 °C, com diâmetro de 3,0 mm, que foi purgada com ar seco (50 mL min⁻¹). Os espectros de FTIR foram registrados com 16 varreduras por espectro a uma resolução de 4 cm⁻¹. A identificação dos produtos gasosos foi baseada nos espectros de referência disponíveis no software do espectrômetro (OMNIC 8.0) e dados da literatura.

Aquecimento filmado dos cocristais

Os vídeos dos cocristais sendo aquecidos foram realizados por um sistema adaptado. O aquecimento foi realizado em um equipamento digital de ponto de fusão da marca Micro química, modelo MQAPF-302, enquanto a filmagem foi registrada por uma câmera da marca Asus, modelo ze55ekl. As condições experimentais foram: razão de aquecimento de 0,5 °C min⁻¹, atmosfera estática de ar, resolução da câmera de 480 pixels, 30 frames por segundo e uma velocidade de vídeo de 7x.

Avaliação das mudanças de solubilidade dos cocristais

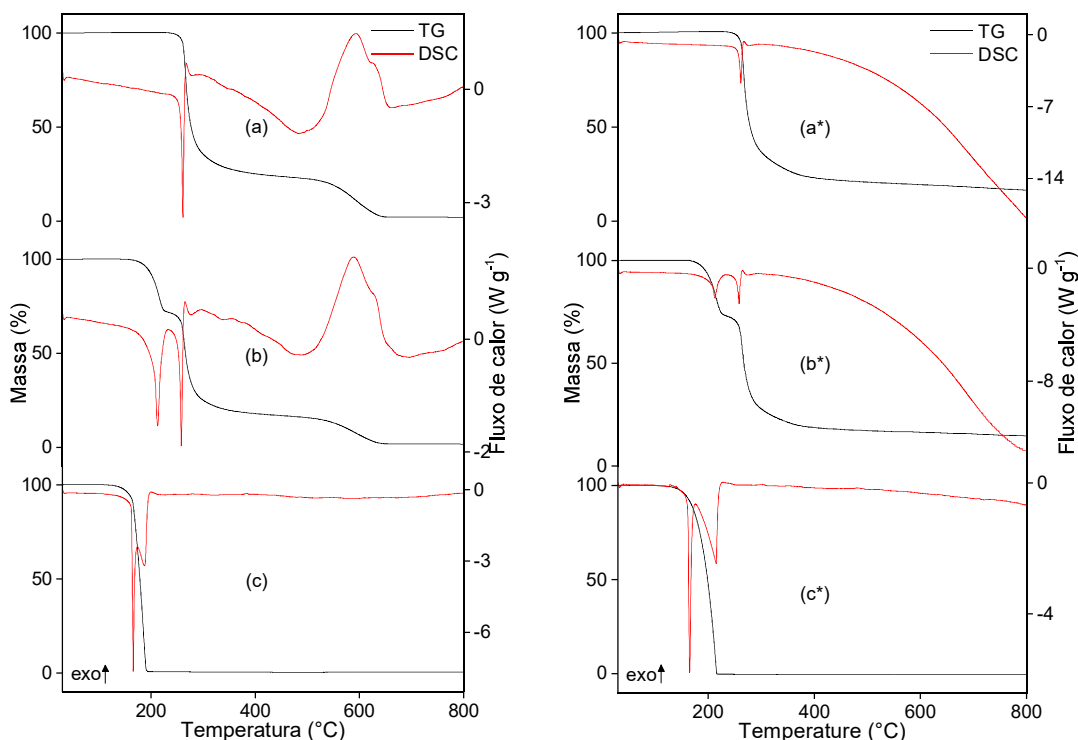
Os experimentos de solubilidade foram realizados em meio de tampão fosfato (pH 6,7), simulando condições intestinais ⁶⁵. Um excesso de cada cocrystal e fármaco foi adicionado a um tubo falcon contendo 12 mL de solução tampão. Três réplicas de cada experimento foram preparadas e colocadas em um termo shaker da marca KASVI, modelo K80-200, configurado para uma rotação de 500 rpm, temperatura de 37 °C. Aproximadamente 1 mL de solução foi retirado nos intervalos de tempo de 6, 12, 18 e 24 horas para cada amostra, sendo posteriormente filtradas através de uma membrana de PTFE de 0,22 µm. Em seguida, as soluções foram diluídas e analisadas em espectrofotômetro da marca Pelkin Elmer, modelo LAMBDA 1050. A solubilidade foi determinada pela leitura das absorbâncias na região do UV, no comprimento de onda de máxima absorção de 366 nm ⁵⁵.

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.3.1 Cocrystal MLX-SLY

As curvas TG-DSC do MLX, SLY e cocrystal MLX-SLY (1:1) obtidas em atmosfera dinâmica de ar seco e nitrogênio são apresentadas na **Figura 17**.

Figura 17. Curvas TG-DSC obtidas em atmosfera de ar e nitrogênio*: (a, a*) MLX (10,0097, 9,9695* mg), (b, b*) sistema MLX-SLY (1:1) (10,0023, 10,0039* mg) e (c, c*) SLY (10,0855, 10,0620* mg).



Fonte: Autor.

As curvas TG-DSC do ácido salicílico em ambas as atmosferas mostram que o composto é termicamente estável até 110 °C. Acima dessa temperatura, a perda de massa ocorre em uma única etapa, correspondente ao pico endotérmico em 186 °C na curva de DSC, sendo atribuído a sublimação parcial e a evaporação do composto. O pico endotérmico em 166 °C na curva DSC corresponde à fusão do composto.

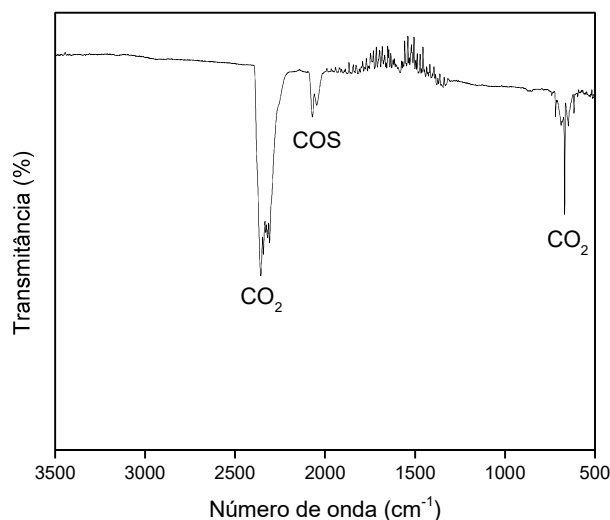
As curvas TG-DSC do cocrystal MLX-SLY (1:1) que foram obtidas em ar apresentam um comportamento térmico diferente dos componentes puros, tais alterações sugerem a formação de uma nova forma sólida⁶⁶. As curvas TG mostram que o sistema MLX-SLY (1:1) é termicamente estável até 150 °C, demonstrando estabilidade térmica intermediária entre o

SLY e MLX. Acima desta temperatura, a decomposição térmica ocorre em três etapas consecutivas entre 150-670 °C, correspondendo a eventos endotérmicos e exotérmicos na curva DSC. A primeira perda de massa entre 150-236 °C, correspondendo ao pico endotérmico em 214 °C, é atribuída à decomposição térmica do sistema MLX-SLY com liberação do SLY ($\Delta m_{TG} = 28,09\%$, $\Delta m_{Teor.} = 28,21\%$). A segunda (236-420 °C) e a terceira (420-670 °C) etapa de perda de massa, correspondendo ao pico endotérmico em 258 °C e exotérmico em 590 °C na curva DSC, são atribuídas a decomposição térmica do IFA ($\Delta m_{TG} = 71,91\%$, $\Delta m_{Teor.} = 71,79\%$). Além disso, essas duas últimas etapas apresentam perfil similar as curvas TG-DSC do fármaco.

As curvas TG-DSC obtida em atmosfera de nitrogênio mostram que o comportamento térmico do sistema MLX-SLY (1:1) é muito semelhante ao apresentado em atmosfera dinâmica de ar seco, pelo menos até as duas primeiras etapas. A terceira perda de massa é atribuída à lenta pirólise do material carbonizado formado nas etapas anteriores devido à decomposição térmica do fármaco.

A possível formação de solvato ou presença de solvente residual no material sintetizado foi avaliada pela técnica de EGA, mostrada na **Figura 18**. Onde os únicos produtos gasosos identificados foram dióxido de carbono e sulfeto de carbonila. Não foram observadas bandas de absorção características de moléculas de etanol, o que rejeita a hipótese de presença de solvente residual ou formação de solvato.

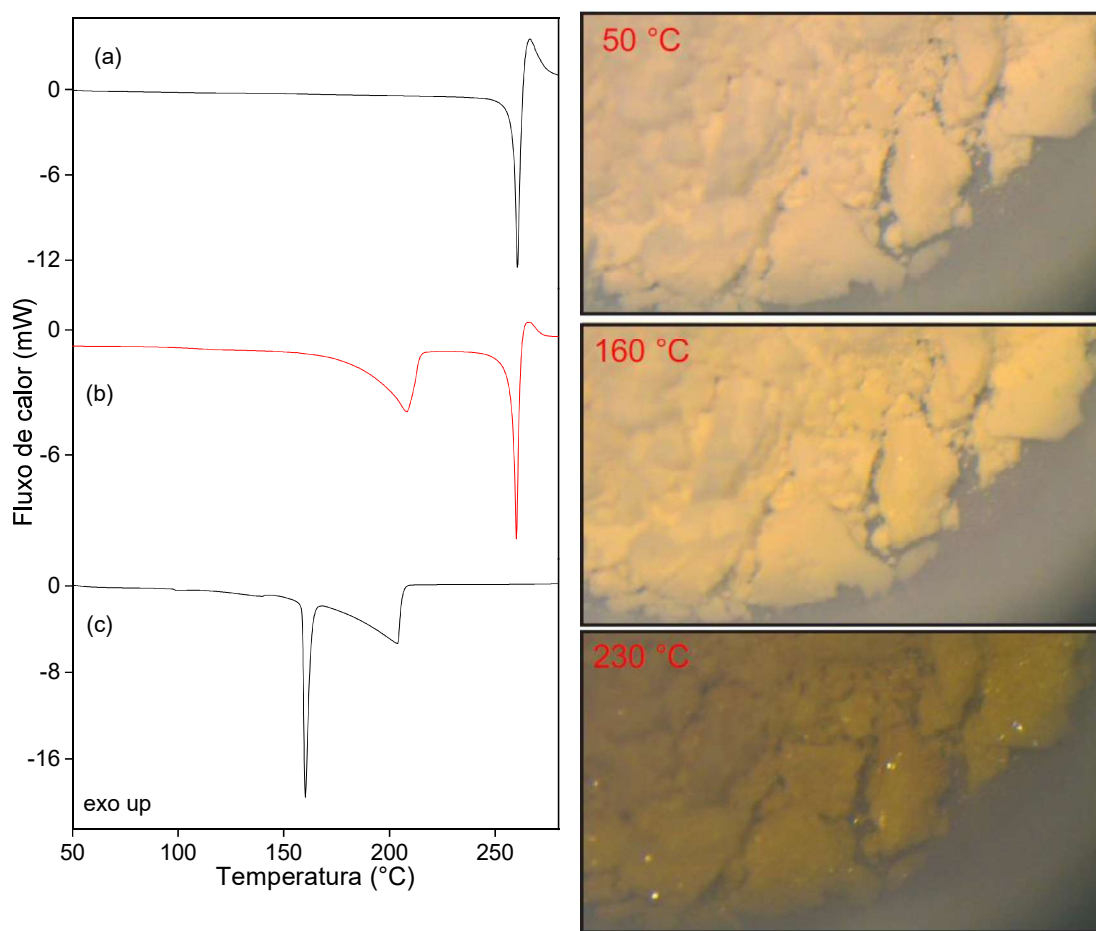
Figura 18. Espectro FTIR dos produtos gasosos evoluídos do cocrystal MLX-SLY em 288 °C



Fonte: Autor.

As curvas DSC do SLY, MLX e do sistema MLX-SLY (1:1) são apresentadas na **Figura 19**. A curva DSC do SLY mostra dois picos endotérmicos em 160 °C ($\Delta H = 19,29 \text{ kJ mol}^{-1}$) e 219 °C ($\Delta H = 34,37 \text{ kJ mol}^{-1}$) que são atribuídos à fusão e evaporação do composto.

Figura 19. Curvas DSC do (a) MLX, (b) sistema MLX-SLY (1:1) e (c) SLY. Imagens obtidas a partir da análise DSC-fotovisual do sistema MLX-SLY (1:1) nas temperaturas de 50, 160 e 230 °C.



Fonte: Autor.

O comportamento térmico do sistema MLX-SLY (1:1) foi estudado por DSC-fotovisual conforme apresentado na **Figura 19**. Além disso, o vídeo da amostra sendo aquecida está disponível online por meio do endereço eletrônico:

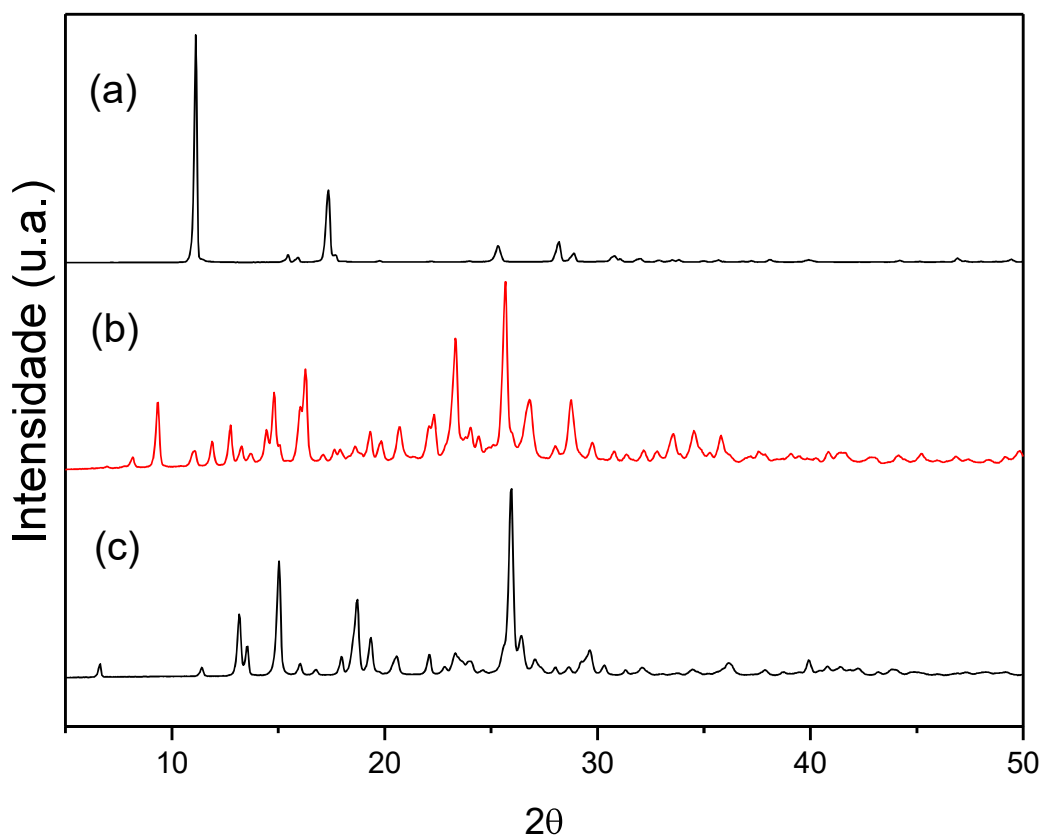
https://static-content.springer.com/esm/art%3A10.1007%2Fs10973-019-08118-7/MediaObjects/10973_2019_8118_MOESM4_ESM.mp4

Imagens e vídeo mostram que após o primeiro evento endotérmico que fica próximo a região de 230 °C, demonstra uma aparência “brilhosa”, que é resultado da decomposição térmica do sistema. Como pode ser visto no vídeo, parte do material sublima e condensa na parede do Becker, solidificando-se em forma de agulha durante o resfriamento. Os cristais em

forma de agulha foram coletados e analisados por FTIR. O espectro de FTIR do material coletado é idêntico ao espectro do SLY, confirmando a decomposição do sistema MLX-SLY (1:1) com liberação de SLY.

Os difratogramas dos componentes puros e do sistema MLX-SLY (1:1) são mostrados na **Figura 20**. O difratograma do MLX-SLY (1:1) apresenta novos picos em 8,6 °, 9,3 °, 11,8 °, 12,7 °, 14,4 °, 16,3 °, 23,3 °, 26,7 °, 28,8 °, 33,6 °, 34,5 °, 35,8°, não sendo apenas a combinação dos difratogramas dos componentes isolados, confirmando a formação de um sólido com nova estrutura cristalina ³⁷.

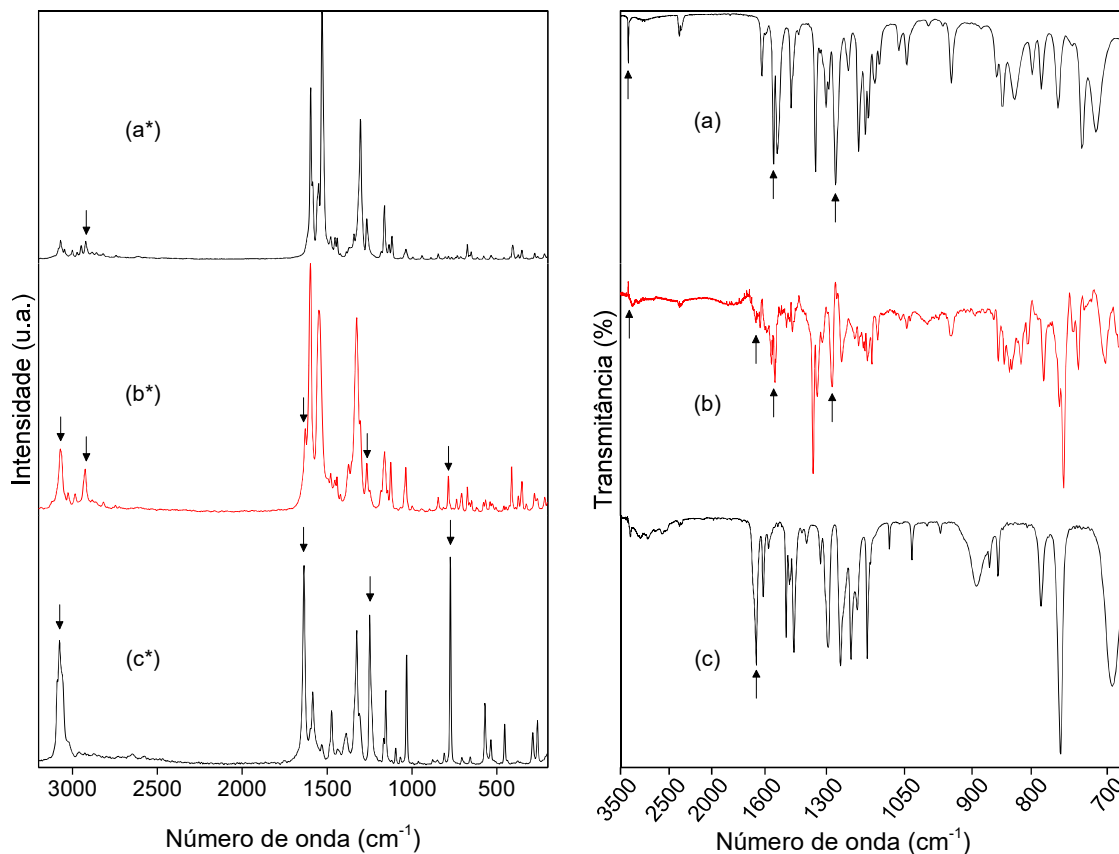
Figura 20. Difratogramas PXRD do (a) MLX, (b) sistema MLX-SLY (1:1) e (c) SLY.



Fonte: Autor.

Os espectros de FTIR para o cocrystal e os componentes puros são mostrados na **Figura 21**.

Figura 21. Espectros de Raman* e FTIR para (a*,a) MLX, (b*,b) sistema MLX-SLY (1:1) e (c*,c) SLY. Eixo da abcissa está em escala recíproca ($1/x$) para o espectro de FTIR.



Fonte: Autor.

A banda ν_{CO} em 1653 cm^{-1} (SLY) e ν_{NH} em 3286 cm^{-1} (MLX) não são observadas, indicando o estabelecimento de ligações de hidrogênio entre os grupos N-H (MLX) e C=O (SLY), uma vez que esse tipo de interação já foi relatado na formação de cocristais [3]. As bandas em 1548 e 1527 cm^{-1} do MLX apresentam um deslocamento para 1562 e 1539 cm^{-1} no do sistema MLX-SLY (1: 1), e a banda atribuída ao ν_{SO_2} desloca-se de 1263 cm^{-1} em MLX para 1277 cm^{-1} no espectro MLX-SLY (1: 1). As principais atribuições são apresentadas na **Tabela 4**.

Os espectros Raman do SLY, sistema MLX-SLY (1: 1) e MLX são apresentados na **Figura 21**. A banda intensa em 3073 cm^{-1} do espectro do SLY, atribuída ao $\nu_{\text{CH}_{\text{aromático}}}$ tem sua intensidade diminuída no espectro do sistema, enquanto as bandas em torno de 2925 cm^{-1} , atribuídas ao $\nu_{\text{CH}_{\text{grupo CH}_3}}$, tiveram sua intensidade aumentada. A diminuição significativa da banda em 1637 cm^{-1} ($\nu_{\text{CO}_{\text{grupo carboxílico}}}$) sugere que esse grupo interage com o MLX, como já observado no espectro de infravermelho. Mudanças são observadas nas bandas atribuídas ao ν_{CCO} , com aumento da intensidade da banda em 1322 cm^{-1} e 1308 cm^{-1} e desaparecimento da

banda em 1246 cm^{-1} . Algumas bandas não foram observadas no sistema, como o $\nu\text{CC}_{\text{aromático}}$ em 1584 cm^{-1} , 1024 cm^{-1} e a δCCO em 566 cm^{-1} e 457 cm^{-1} .

Os resultados obtidos pelas técnicas espectroscópicas, térmicas e difratométricas revelam a formação de um cocrystal, tendo em vista há não observação de solvente na estrutura, além de não ser constatado nenhuma banda de carboxilato pelas técnicas espectroscópicas, excluindo a possibilidade de formação de sal.

Tabela 4. Modos vibracionais de todos os componentes e materiais sintetizados

Modos vibracionais	MLX	MLX-SLY(1:1)	SLY	MLX-FUM(1:1)	FUM	MLX-MLC(1:1)	MLC
ν O-H	-	3196 _{vw}	3231 _w	-	3072 _{vw}	3446 _{vw}	3442 _w
ν O-H _{enol}	3286 _m	-	-	-	-	3293 _m	-
ν N-H	-	-	-	-	-	-	-
ν C-H _{ar}	-	-	-	-	-	-	-
ν C-H _{tiazol}	3000 _w	3006 _{vw}	-	-	-	3033 _{vw}	-
ν C-H(CH ₃ grupo)	2968	-	-	-	-	2989 _{vw}	-
ν C=O	1618 _s	1628 _w	1653 _{vs}	1685 _w	1686 _{vs}	2979 _{vw}	-
C=C _{fenólico}	-	1602 _w	1611 _s	-	-	1739 _w /1689 _m /1635 _m	1739 _m /1683 _s
ν C-H + ν C=C _{ar} +	-	-	-	-	-	-	-
ν C-O _{enol} + δ N-H +	1548 _{vs}	1541 _m	-	1548	-	1552 _{vs}	-
ν C=O + ν C=C _{tiazol}	-	-	-	-	-	-	-
ν _{tiazol} + δ N-H +	1527 _{vs}	-	-	1533	-	1533 _{vs}	-
δ C-H _{CH₃ grupo}	-	-	-	1429 _w	1421 _s	-	-
δ CH ₂	-	-	-	1268 _s	1272 _{vs}	-	-
τ -CH ₂ , ρ -CH ₂	-	-	-	1355	-	1344 _{vs}	-
ν SO ₂	1344 _{vs}	1354 _{vs}	-	-	-	-	-
ν O-H _{fenólico}	-	1317 _m	1323 _m	-	-	-	-
δ C-OH _{fenólico}	-	1242-1156 _{s-m}	1245-1156 _{s-m}	-	-	-	-

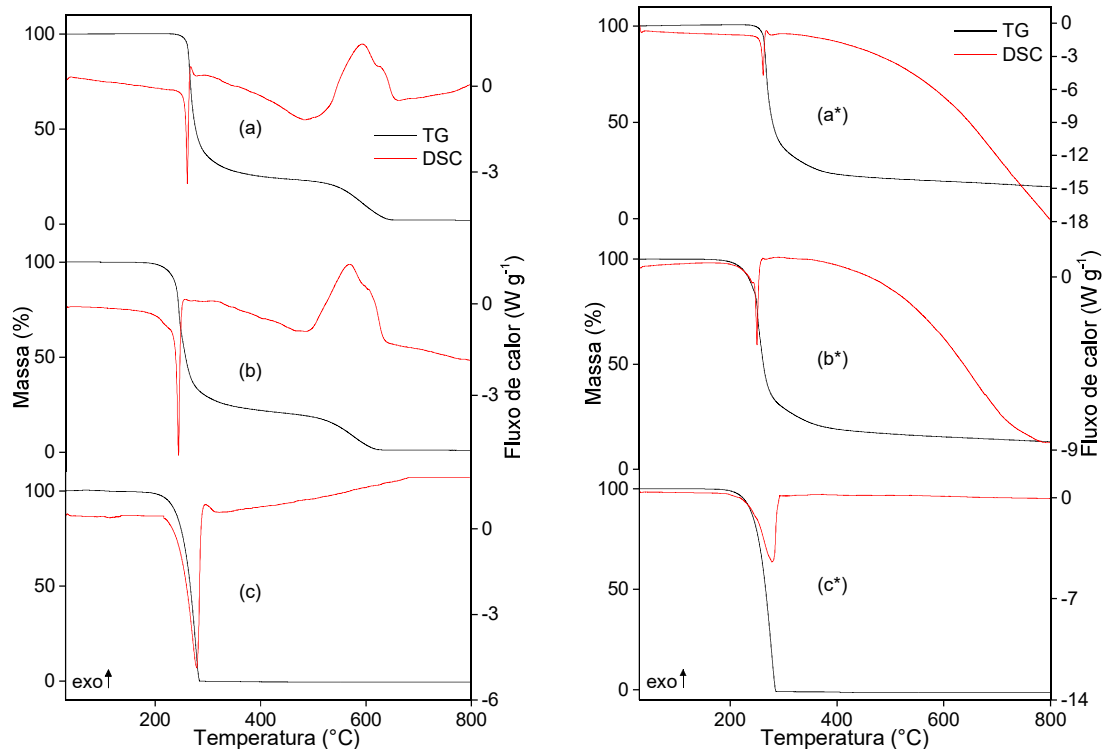
*_{vs}: very strong; *s*: strong; *m*: medium; *w*: weak; *vw*: very weak; *v*: stretching vibrations; τ : torsion. ρ : in plane vending vibration δ : in plane bending vibration. δ out: out of plane bending vibration.

Fonte: Autor.

3.3.2 Cocristal MLX-FUM

As curvas TG-DSC do MLX, FUM e MLX-FUM (1:1) obtidas em atmosferas de ar e N₂ são mostradas na **Figura 22**.

Figura 22. Curvas TG-DSC obtidas em atmosfera de ar e nitrogênio*: (a, a*) MLX (10,0097, 9,9695* mg), (b, b*) sistema MLX-FUM (1:1) (10,0023, 10,0039* mg) e (c, c*) FUM (10,0855, 10,0620* mg).



Fonte: Autor.

As curvas TG-DSC do FUM mostra que ele é termicamente estável até 200 °C em ambas as atmosferas. Acima dessa temperatura, a perda de massa ocorre em uma única etapa entre 200-310 °C, correspondendo ao pico endotérmico em 278 °C na curva DSC, atribuída à fusão e evaporação do composto ⁶⁷.

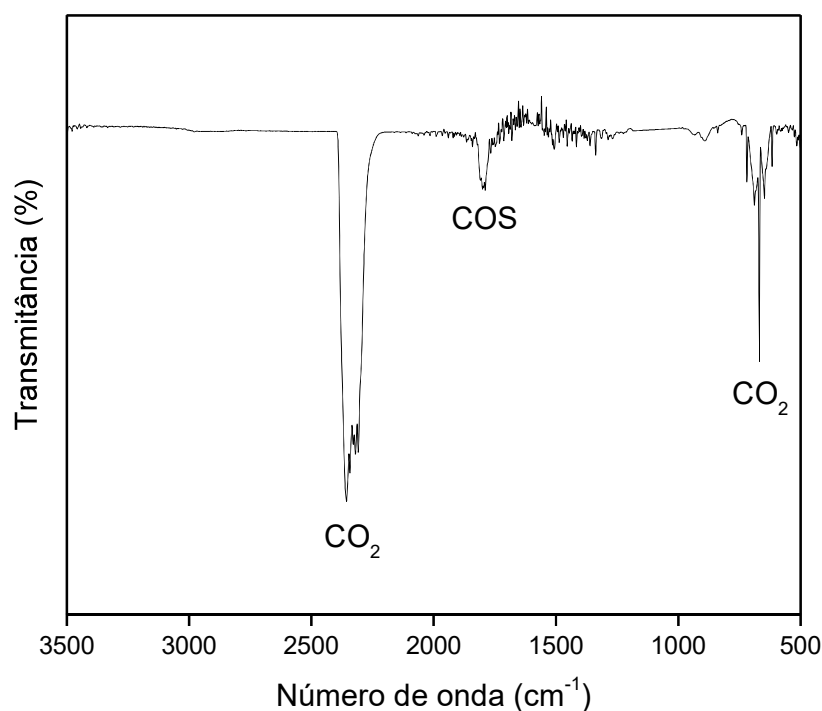
As curvas TG-DSC do MLX-FUM (1:1) em ar mostram que o sistema é termicamente estável até 200 °C. Acima dessa temperatura, a perda de massa ocorre em duas etapas sobrepostas entre 200-650 °C. A primeira perda de massa entre 200-344 °C é atribuída a decomposição térmica do sistema MLX-FUM (1:1) com liberação do FUM e degradação do MLX ($\Delta m_{TG} = 75,48\%$, $\Delta m_{Teor.} = 75,31\%$). O pico endotérmico em 244 °C é associado a fusão com decomposição do composto. A segunda perda de massa entre 344-650 °C ($\Delta m = 23,41\%$)

é associada ao pico exotérmico em 575 °C, sendo atribuído à degradação oxidativa do material carbonizado formado na etapa anterior.

As curvas TG-DSC obtidas em atmosfera de nitrogênio apresentam um perfil semelhante ao obtido na atmosfera de ar até 400 °C. A perda de massa na curva TG é observada até 800 °C, sem qualquer evento térmico nas curvas DSC, processo atribuído à pirólise do material carbonizado.

A EGA dos produtos gasosos liberados durante a decomposição térmica do MLX-FUM (1:1) em atmosfera de ar é mostrada na **Figura 23**. Os principais produtos detectados foram semelhantes ao cocrystal MLX-SLY (1:1), com bandas em 2400, 1800 e 650 cm^{-1} . Não foi encontrado sinais associados ao solvente etanol, o que indica que o solvente não está presente no cocrystal.

Figura 23. Espectro de FTIR dos produtos gasosos evoluídos do cocrystal MLX-FUM (1:1) em 274 °C



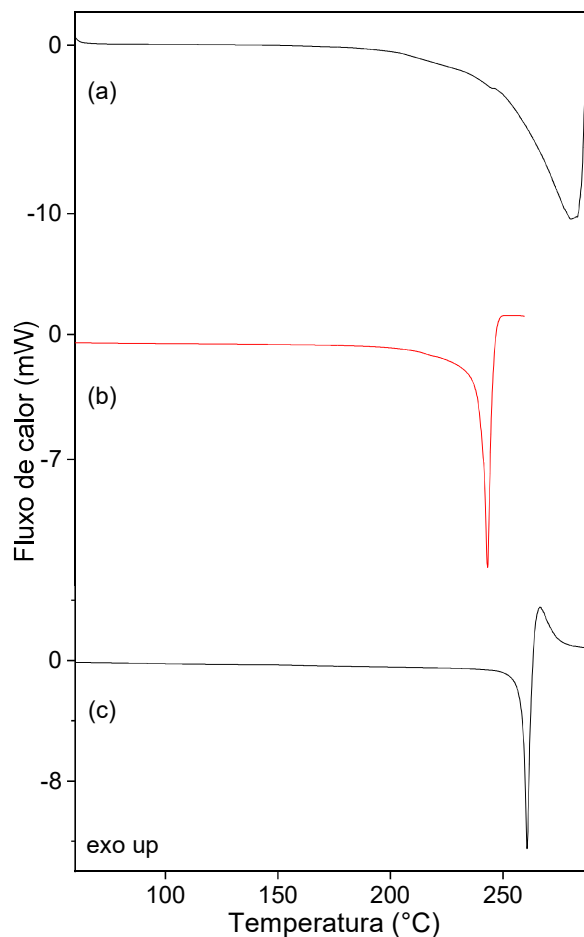
Fonte: Autor.

As curvas DSC do FUM, MLX e do sistema MLX-FUM (1:1) são mostradas na Figura 24. A curva DSC do FUM mostra um pico endotérmico em 280 °C ($\Delta H = 85,17 \text{ kJ mol}^{-1}$) que é atribuído à fusão e evaporação do composto, em acordo com os resultados de TG-DSC. Entretanto, a curva DSC do sistema MLX-FUM (1:1) contém um pico endotérmico em 243 °C ($\Delta H = 105,93 \text{ kJ mol}^{-1}$) que ocorre em temperatura mais baixa do que os componentes isolados, atribuído à fusão do sistema MLX-FUM (1:1).

Uma melhor exemplificação do processo de aquecimento do sistema MLX-FUM pode ser observada no vídeo que está disponível no endereço eletrônico:

https://static-content.springer.com/esm/art%3A10.1007%2Fs10973-019-08118-7/MediaObjects/10973_2019_8118_MOESM1_ESM.mp4

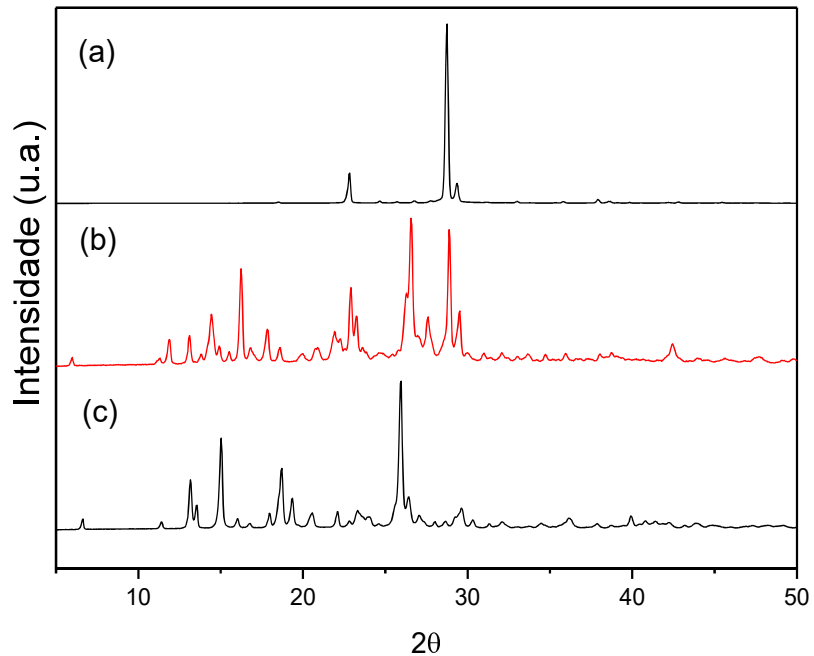
Figura 24. Curvas DSC do (a) FUM, (b) sistema MLX-FUM (1:1) e (c) MLX.



Fonte: Autor.

Os difratogramas dos componentes puros e do sistema MLX-FUM (1:1) são apresentados em anexo na **Figura 25**. O difratograma do sistema MLX-FUM apresenta picos em 11,8 °, 13,8 °, 14,4 °, 16,2 °, 26,6 °, e outros que diferem dos componentes puros, confirmando a formação de uma nova fase cristalina.

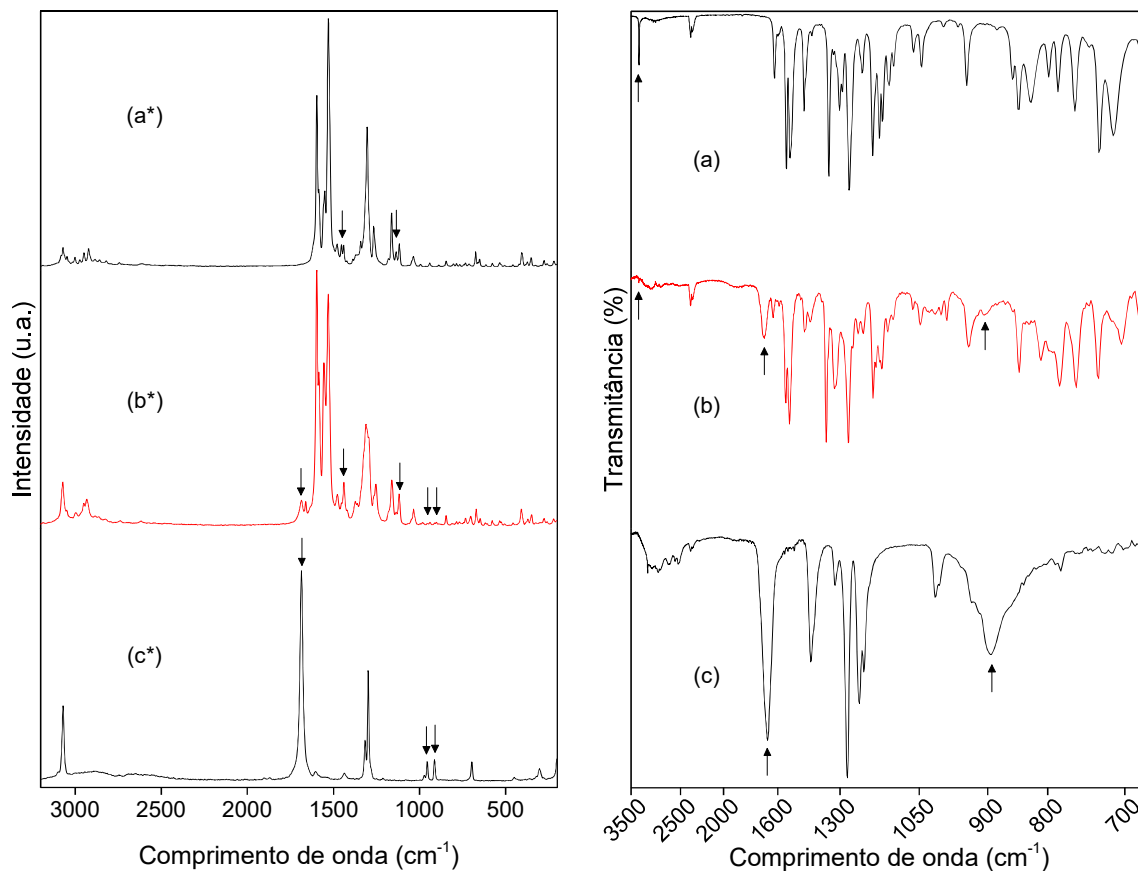
Figura 25. Difratomogramas de PXRD do (a) MLX, (b) sistema MLX-FUM (1:1) e (c) FUM.



Fonte: Autor.

Ao se comparar o espectro de FTIR do sistema aos espectros dos componentes puros na **Figura 26**, observa-se que o νCO em 1662 cm^{-1} do FUM e o νNH em 3286 cm^{-1} do MLX não são observados no espectro do sistema, indicando uma possível ligação de hidrogênio entre $\text{C}=\text{O}\cdots\text{H}-\text{N}$ na estrutura. Além disso, o $\nu\text{CO} + \delta\text{NH}$ em 1618 cm^{-1} é menos intenso do que no MLX. Outras frequências vibracionais são mostradas na **Tabela 4**.

Figura 26. Espectros Raman* e FTIR do (a*,a) MLX, (b*,b) sistema MLX-FUM (1:1) e (c*,c) FUM. Eixo da abcissa está em escala recíproca ($1/x$) para o espectro de FTIR.



Fonte: Autor.

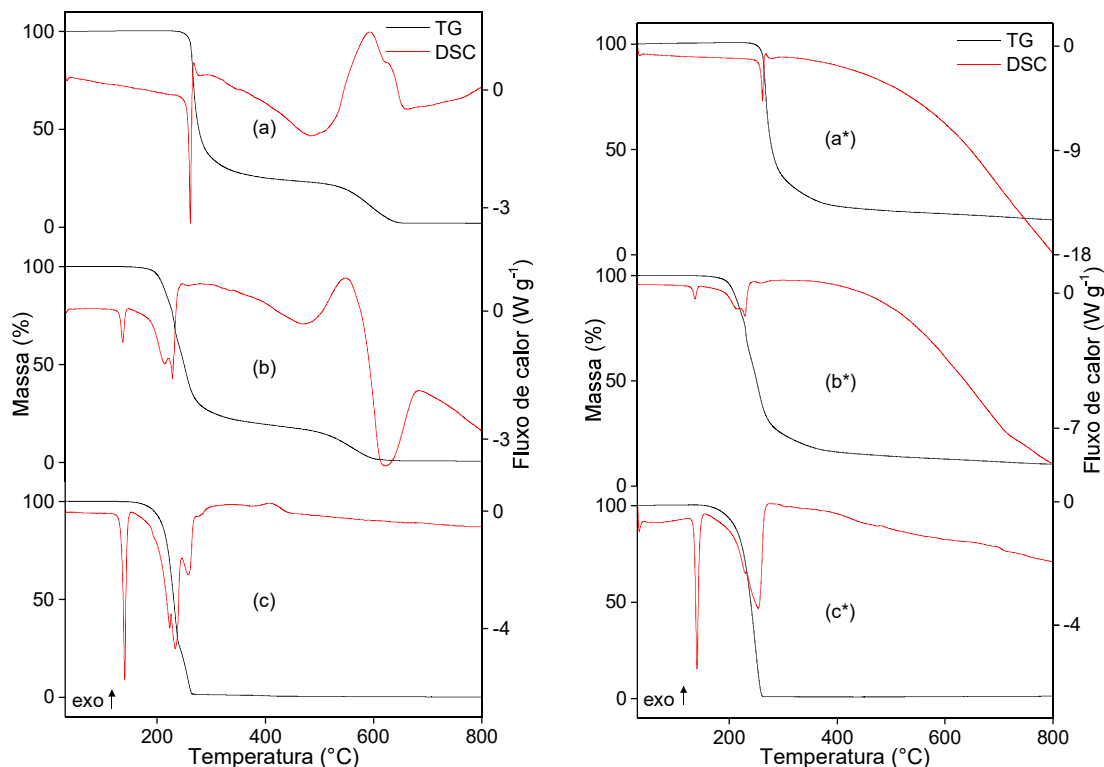
Os espectros de Raman das amostras são mostrados na **Figura 26**. A banda em 1686 cm^{-1} atribuída ao νCO do FUM diminui a intensidade no espectro. Isso sugere que o grupo carboxílico está envolvido na interação com o MLX, o que concorda com os resultados de FTIR. A intensidade da banda em 3072 cm^{-1} , atribuída ao νCH diminui, enquanto as bandas na região entre 1000 e 300 cm^{-1} não são observadas no espectro. Em comparação com o MLX, há mudanças significativas na região entre 1600 e 1200 cm^{-1} . As bandas em 1530 cm^{-1} ($\nu\text{CH}_{\text{anel tiazol}} + \delta\text{NH}$), 1344 cm^{-1} (νSO_2) e 1548 cm^{-1} ($\delta\text{OH} + \nu\text{CH}_{\text{aromático}} + \nu\text{CC}_{\text{aromático}}$) têm intensidade aumentada. Os resultados obtidos, em conjunto com a ausência de sinais provenientes da formação de grupos ionizados (COO^- , NH_3^+) confirmam a formação de um cocrystal.

3.3.3 Cocrystal MLX-MLC

As curvas TG-DSC do MLX, MLC e do sistema MLX-MLC (1:1) obtidas em atmosfera de ar e N_2 são mostradas na **Figura 27**. As curvas TG-DSC do MLC em ambas as atmosferas

mostram que o composto é termicamente estável até 155 °C. Acima dessa temperatura, a perda de massa ocorre em uma única etapa, que corresponde aos picos endotérmicos em 232 °C e 253 °C na curva DSC, atribuído à evaporação do material. O pico endotérmico em 140 °C, sem perda de massa na curva TG, corresponde à fusão do composto.

Figura 27. Curvas TG-DSC obtidas em atmosfera de ar e nitrogênio*: (a, a*) MLX (10,0097, 9,9695* mg), (b, b*) sistema MLX-MLC (1:1) (10,0082, 9.9805* mg) and (c, c*) MLC (9,9695, 10,0820* mg).

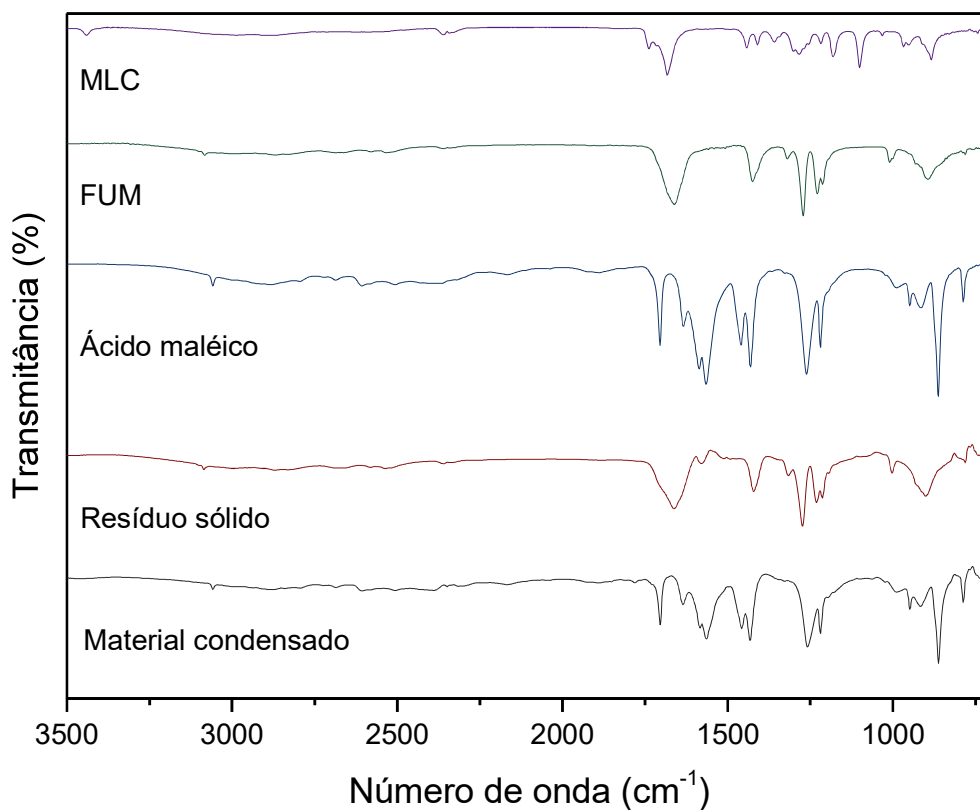


Fonte: Autor.

Tendo em vista que poucos artigos relatam o comportamento térmico do MLC, um estudo térmico foi realizado para esse coformador, sendo o vídeo do aquecimento disponível no endereço eletrônico: https://static-content.springer.com/esm/art%3A10.1007%2Fs10973-019-08118-7/MediaObjects/10973_2019_8118_MOESM2_ESM.mp4

O vídeo mostra que o composto funde e evapora parcialmente. O material evaporado e o resíduo remanescente no fundo do becker foi analisado por FTIR (**Figura 28**). O espectro de FTIR do produto evaporado é muito semelhante ao do ácido maleico, enquanto que o resíduo apresentou um espectro semelhante ao FUM. Esses resultados sugerem que o ácido málico funde e se decompõe em ácido maleico e FUM, o ácido maleico evapora a uma temperatura acima de 135 °C, enquanto que o FUM permanece sólido até 200 °C.

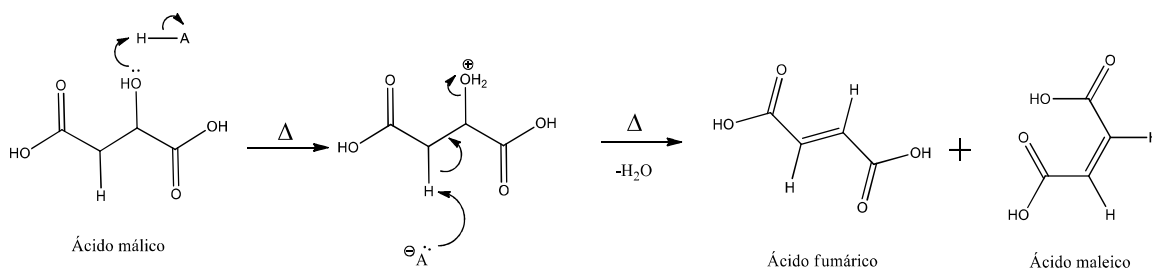
Figura 28. Espectros de FTIR do material condensado, resíduo sólido em 250 °C, ácido maléico, FUM, MLC



Fonte: Autor.

A observação está de acordo com o comportamento térmico de ambos os ácidos, uma vez que o ácido maleico tem menor estabilidade térmica do que o FUM⁶⁸. A partir desses resultados, um mecanismo de decomposição térmica para o ácido málico foi proposto (**Figura 29**). Além disso, a formação desses dois compostos explica os picos endotérmicos observados na curva DSC da MLC, que corresponde à evaporação e fusão dos dois produtos formados.

Figura 29. Proposta de mecanismo de decomposição térmica do MLC.



*HA – ácido málico protonado *A- ácido málico desprotonado

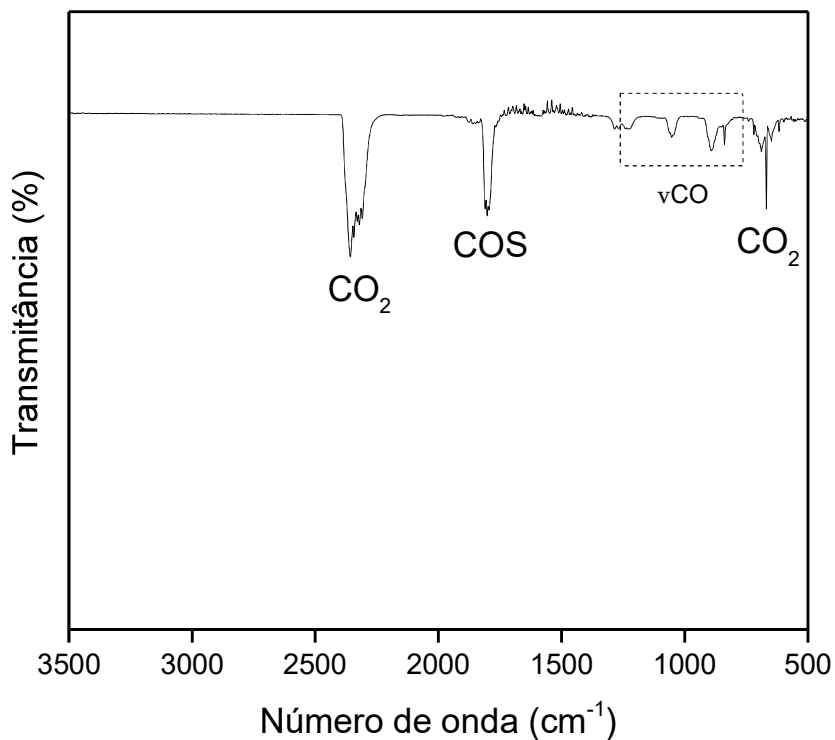
Fonte: Autor.

As curvas TG-DSC do sistema MLX-MLC (1: 1) em atmosfera de ar mostram que o sistema é termicamente estável até 160 °C. Acima dessa temperatura, a perda de massa ocorre em duas etapas consecutivas e sobrepostas entre 160-660 °C. A primeira perda de massa entre 160-300 °C ($\Delta m_{TG} = 74,33\%$) corresponde à dois picos endotérmicos em 212 °C e 228 °C na curva DSC, atribuídos à decomposição térmica do sistema MLX-MLC (1:1), com a liberação de MLC e outros produtos de decomposição. O pico endotérmico em 137 °C, sem perda de massa na curva TG, é atribuído a um fenômeno físico, que será discutido em conjunto com a análise de DSC-fotovisual. A segunda perda de massa entre 300-660 °C ($\Delta m_{TG} = 25,06\%$) está associada ao pico exotérmico em 548 °C, atribuído à degradação oxidativa do material carbonizado.

As curvas TG-DSC obtidas em atmosfera de nitrogênio apresentam um perfil semelhante ao obtido na atmosfera de ar seco dinâmico até 300 °C. Acima de 300 °C, a curva TG indica uma perda de massa lenta até 800 °C ($\Delta m_{TG} = 89,62\%$), atribuído à lenta pirólise do material carbonizado produzido nas etapas anteriores, não sendo observados eventos térmicos na curva DSC nessa faixa de temperatura.

O EGA dos produtos gasosos liberados durante a decomposição térmica do sistema MLX-MLC (1:1) em ar seco dinâmico é mostrada na Figura 30. Os principais produtos detectados foram semelhantes aos cocristais anteriores, com bandas de CO₂ e OCS. Um grupo de sinais foi observado próximo a 1000 cm⁻¹, atribuído provavelmente à νCO, o que é compatível com a estrutura química do MLC que contém diversas ligações CO que podem ocasionar subprodutos de degradação. O ácido maleico não foi observado no EGA, provavelmente porque se degradou ou condensou na linha de transferência aquecida.

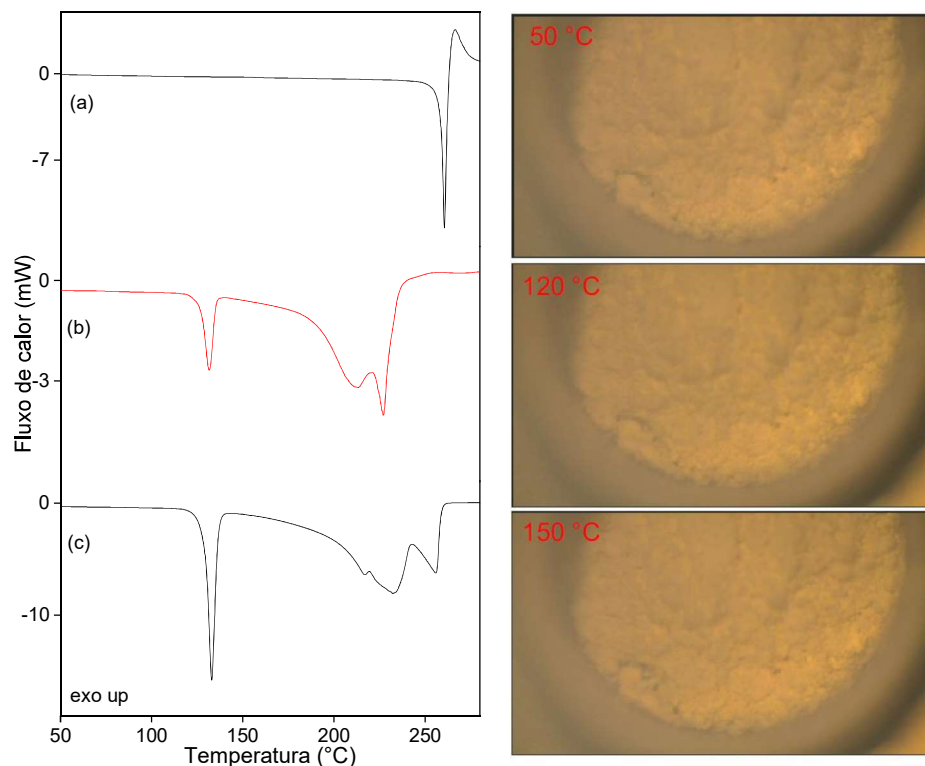
Figura 30. Espectro de FTIR dos produtos gasosos evoluídos do cocrystal MLX-MLC (1:1) em 241 °C



Fonte: Autor.

As curvas DSC do MLX, MLC e do sistema MLX-MLC (1: 1) são mostradas na **Figura 30**. A curva DSC do MLC mostra dois eventos endotérmicos. O primeiro pico em 133 °C ($\Delta H = 30,86 \text{ kJ mol}^{-1}$) é atribuído à fusão do composto, enquanto que o segundo pico largo em 256 °C ($\Delta H = 141,73 \text{ kJ mol}^{-1}$) é atribuído à decomposição térmica, evaporação e fusão, anteriormente discutidos nos dados de TG-DSC.

Figura 31. Curvas DSC do (a) MLX, (b) sistema MLX-MLC (1:1) e (c) MLC. Imagens obtidas a partir da análise DSC-fotovisual do sistema MLX-MLC (1:1) nas temperaturas de 50, 120 e 150 °C.



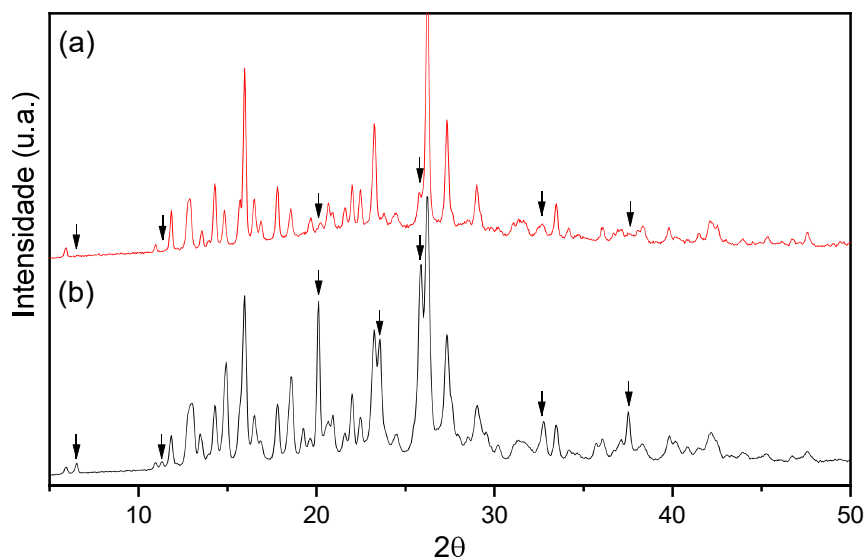
Fonte: Autor.

A curva DSC do sistema MLX-MLC (1:1) é significativamente diferente das curvas DSC dos componentes puros, o que sugere formação do cocrystal MLX-MLC (1: 1). O primeiro pico endotérmico em 131 °C ($\Delta H = 17,16 \text{ kJ mol}^{-1}$) é atribuído a um fenômeno físico. O segundo evento térmico com picos em 211 e 226 °C ($\Delta H = 120,83 \text{ kJ mol}^{-1}$) é atribuído à decomposição térmica do sistema.

O vídeo do sistema MLX-MLC (1:1) sendo aquecido está disponível no endereço eletrônico: https://static-content.springer.com/esm/art%3A10.1007%2Fs10973-019-08118-7/MediaObjects/10973_2019_8118_MOESM3_ESM.mp4

O vídeo e as fotos confirmam que o primeiro evento térmico não está relacionado à fusão do sistema MLX-MLC (1:1), porque o material apresenta as mesmas características físicas até 150 °C. Esse evento é relativo a uma transição polimórfica, confirmado pelo difratograma PXRD da amostra antes e depois do evento em 120 e 150 °C. O difratograma (**Figura 32**) mostra mudanças significativas nas regiões próximas a 6,5°, 11,3°, 20,1°, 23°, 25°, 32,7° e 37,5°.

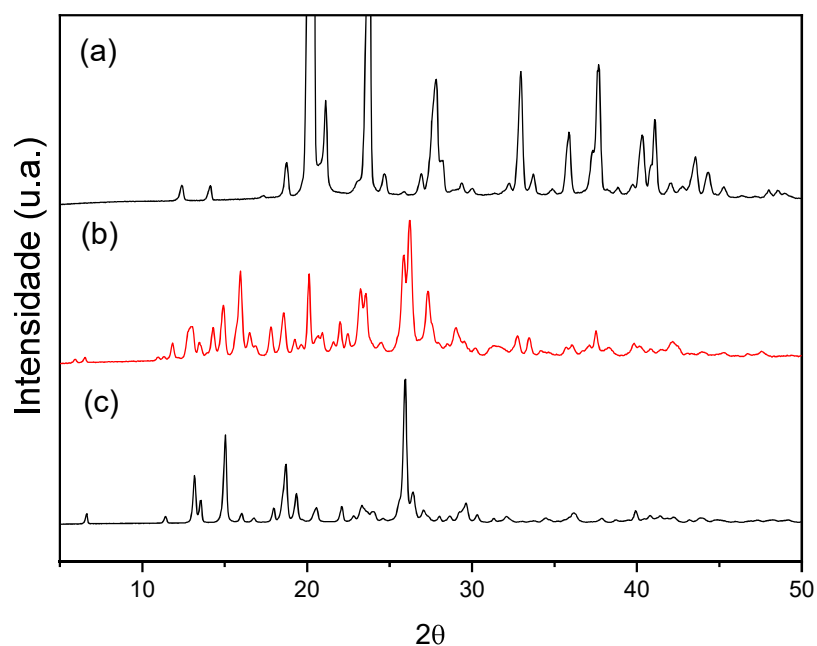
Figura 32. Difratomogramas PXRD da (a) amostra aquecida antes da transição polimórfica em 120 °C e (b) depois da transição polimórfica em 150 °C.



Fonte: Autor.

Os difratogramas do MLC, MLX e MLX-SLY (1: 1) são mostrados na **Figura 33**. O sistema MLX-MLC (1:1) apresenta um padrão de difração distinto quando comparado às substâncias puras. O sistema tem picos únicos em 11,8 °, 14,2 °, 16,4 °, 27,3 °, 32,8 ° e 33,5 °, o que confirma a formação de uma nova forma cristalina ⁴⁹.

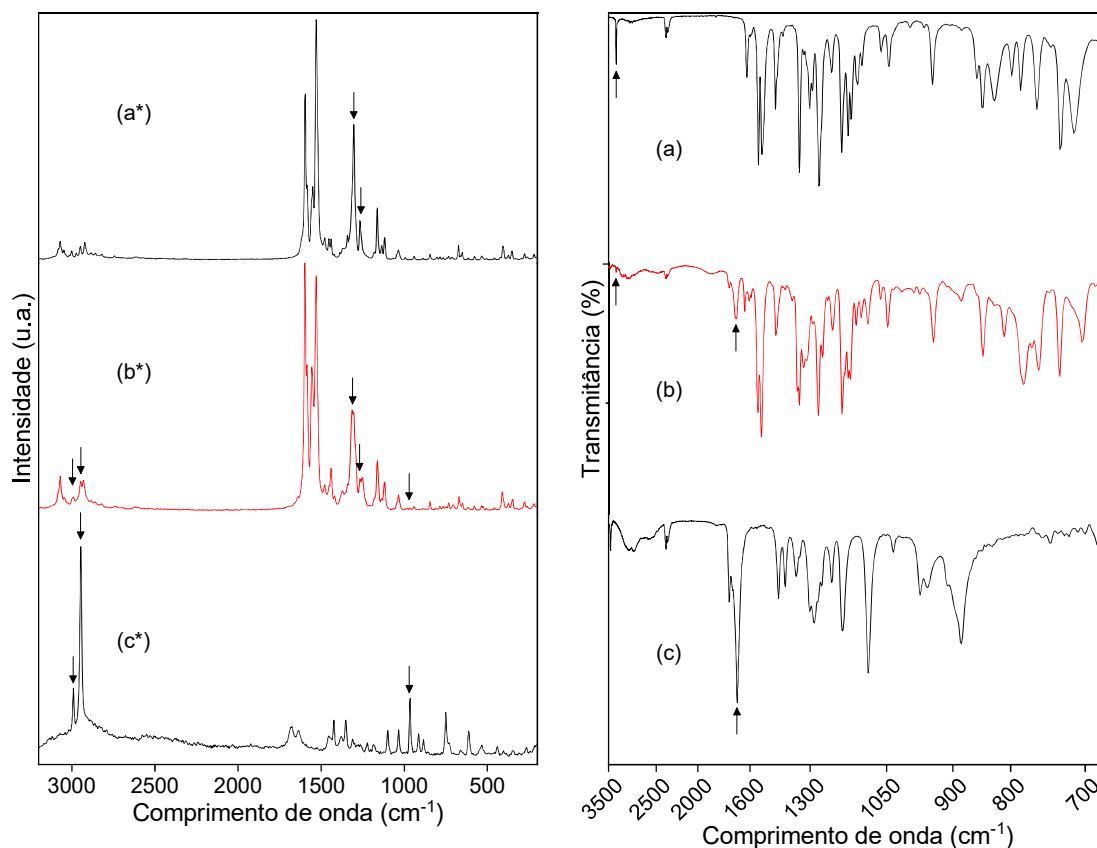
Figura 33. Difratomogramas de PXRD do (a) MLX, (b) sistema MLX-MLC (1:1) e (c) FUM.



Fonte: Autor.

Os espectros de FTIR para o sistema e os componentes puros são mostrados na **Figura 34**. O espectro de FTIR do sistema não apresenta νOH do MLX em 3286 cm^{-1} e νOH do MLC em 3442 cm^{-1} . O $\nu\text{CO} + \delta\text{NH}$ em 1618 cm^{-1} do MLX desloca para 1635 cm^{-1} , enquanto o νCO do MLC fica com intensidade menor no sistema MLX-MLC (1:1). Essas mudanças sugerem uma ligação de hidrogênio entre o hidrogênio da amida do MLX e o oxigênio da carbonila do MLC no sistema.

Figura 34. Espectros Raman* e FTIR do (a*,a) MLX, (b*,b) sistema MLX-MLC (1:1) e (c*,c) MLC. Eixo da abcissa está em escala recíproca ($1/x$) para o espectro de FTIR.



Fonte: Autor.

O espectro de Raman do sistema apresenta um padrão espectral característico que indica o estabelecimento de novas interações no estado sólido, como já visto no espectro de FTIR. As bandas em 2992 cm^{-1} ($\nu_{\text{as}}\text{CH}$) e 2944 cm^{-1} ($\nu_{\text{s}}\text{CH}$) do grupo CH_2 do MLC são mais fracas no espectro do sistema MLX-MLC (1: 1). No entanto, a banda em 3073 cm^{-1} ($\nu\text{C-H}$) do grupo CH_3 do MLX mostra um ligeiro aumento de intensidade. A comparação dos espectros MLX e sistema MLX-MLC (1: 1) mostra mudanças significativas na região entre 1600 e 1200 cm^{-1} , com uma banda mais fraca em 1530 cm^{-1} ($\nu\text{C}_{\text{anel tiazol}} + \delta\text{N-H}$) e bandas mais fortes em 1598 cm^{-1} ($\delta\text{OH} + \nu\text{C}_{\text{aromático}} + \nu\text{C}=\text{C}_{\text{aromático}}$) e 1304 cm^{-1} (νSO_2).

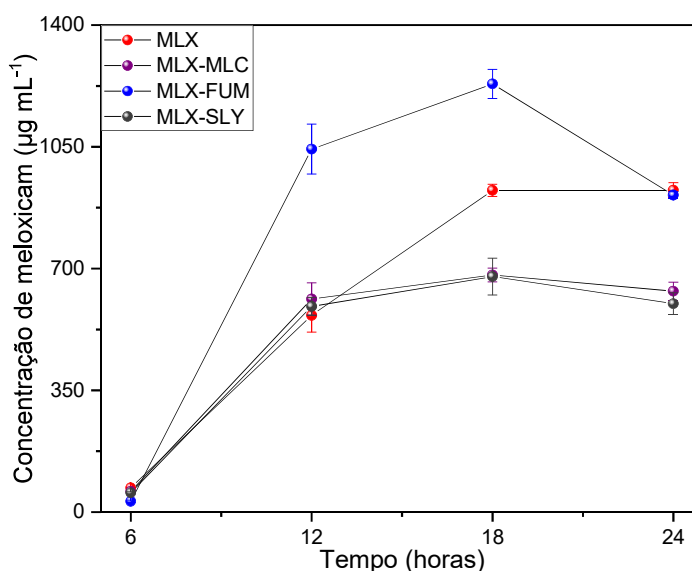
Os resultados obtidos em todas as técnicas confirmam a obtenção de um cocrystal, tendo em vista a ausência de solvente no sistema e a ausência de sinais de grupos ionizados nos espectros.

3.3.4 Avaliação da solubilidade do MLX e cocristais

O perfil de solubilidade do MLX e dos cocristais são mostrados na **Figura 35**. As amostras atingiram uma concentração máxima do fármaco em 18 horas, seguido por uma diminuição na concentração de meloxicam, descrito como "*spring and parachute*"⁵. O mecanismo é explicado pela presença do conformador (parte hidrofílica), que apresenta maior solubilidade que a fármaco, apresentando maior interação com as moléculas de água e, consequentemente, sendo extraído primeiro da rede cristalina do cocrystal para a solução. A desestabilização da estrutura sólida provoca um aumento de energia considerável no sistema, tendo como consequência uma maior solubilidade que a estrutura cristalina do fármaco que é mais estável. Essa fase de alta energia torna-se a forma estável ao longo do tempo, diminuindo a solubilidade.

O cocrystal MLX-FUM apresenta maior solubilidade na maior parte do experimento, com 84% e 33% maior concentração de meloxicam em 12 e 18 horas quando comparado ao IFA. MLX-MLC e MLX-SLY mostraram resultados similares com o fármaco puro antes de 12 horas e menor concentração de meloxicam após 18 horas, quando comparado ao MLX.

Figura 35. Teste de solubilidade do meloxicam e cocristais (n=3, pH 6,8 e 37 °C).



Fonte: Autor.

3.4 CONCLUSÃO

O estudo dos materiais pelas técnicas termoanalíticas estabeleceu o *fingerprint* dos cocristais formados. Além disso, a observação do comportamento térmico de cada um dos componentes individuais e em conjunto permitiu visualizar as mudanças nas estabilidades térmicas devido às interações do hidrogênio formadas nos cocristais.

A observação e o estudo mais detalhado do MLC permitiu identificar dois produtos de degradação, confirmados por FTIR dos materiais coletados, além da proposição de um mecanismo de reação que explicasse a formação dos ácidos fumárico e maléico.

Os padrões de raios X do pó confirmaram a formação de cocristais, e técnicas espectroscópicas ajudaram a identificar quais localidades permitiam a interação entre coformadores e o IFA. Através da espectroscopia de FTIR e Raman foi possível observar a diminuição em algumas bandas de absorção, sugerindo que os sistemas formados interagem por ligações de hidrogênio entre os grupos NH, OH e CO nos cocristais.

Os métodos mecanoquímicos em conjunto com os usos dos solventes THF e etanol mostraram-se eficazes, considerando a facilidade e o baixo custo do método quando comparados às metodologias que utilizam alto volume de solvente ou alta temperatura para a formação dos cocristais.

O teste de solubilidade dos materiais mostrou que o cocrystal MLX-FUM exibiu uma concentração de meloxicam maior em comparação com o MLX, mostrando que a cocrystalização pode fornecer soluções para superar problemas relacionados a fármacos pouco solúveis em meio aquosos.

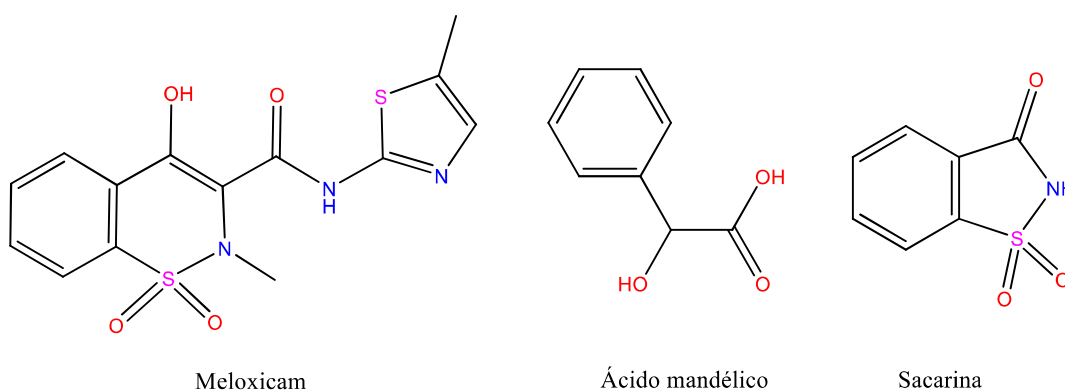
CAPÍTULO 4 – EUTÉTICOS COM SACARINA E ÁCIDO MANDÉLICO

4 EUTÉTICOS COM SACARINA E ÁCIDO MANDÉLICO

4.1 INTRODUÇÃO

Vários estudos demonstraram as vantagens das formulações de medicamentos eutéticos^{37,69-71}, mas poucos foram encontrados para o meloxicam⁷². O ácido mandélico (MND) e a sacarina (SAC) são comumente usados em sistemas multicomponentes⁷³⁻⁷⁶, uma vez que o MND é conhecido como um agente antibacteriano⁷⁷ e o SAC é um aditivo alimentar reconhecido como GRAS e aprovado pelo FDA⁷⁸. As estruturas moleculares dos sistemas multicomponentes são mostradas na Figura 36.

Figura 36. Estrutura química do meloxicam, ácido mandélico e sacarina.



Fonte: Autor.

Dessa maneira, esse capítulo trata da síntese de duas misturas eutéticas envolvendo o MLX com os componentes MND e SAC através da moagem assistida por solvente. As misturas foram estudadas em diferentes estequiometrias e o ponto eutético foi encontrado para cada eutético pelo diagrama de fase binário e o triângulo de Tamman. Os eutéticos foram caracterizados por técnicas termoanalíticas (TG-DSC, EGA, DSC e DSC-fotovisual), FTIR e PXRD. O comportamento térmico foi estudado e os vídeos dos materiais sendo aquecidos estão disponíveis eletronicamente. Uma transição polimórfica foi descoberta e estudada para o eutético MLX-MND. Cada novo sistema foi avaliado por testes de solubilidade, dissolução e higroscopicidade. Os experimentos e análises neste estudo ajudaram a compreender o comportamento de misturas eutéticas e avaliá-los como uma abordagem para modificar propriedades em fármacos.

Atualmente, esse capítulo se encontra publicado no periódico “Drug Development and Industrial Pharmacy”⁷⁹.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

4.2.1 Síntese das misturas eutéticas

MLX, MND, SAC e etanol utilizados apresentavam pureza de 99%, enquanto o fosfato monossódico, fosfato dissódico e laurilsulfato de sódio apresentavam pureza de 99,7%. Todos os materiais foram adquiridos da Sigma-Aldrich, Brasil.

Misturas de MLX: MND e MLX: SAC (450 mg de massa total) foram moídas usando o método LAG⁶² com 112 μL de etanol como solvente. Os diagramas de fase binária foram construídos usando misturas preparadas com 0,20, 0,25, 0,30, 0,33, 0,45, 0,5, 0,67, 0,75 e 0,80 razão molar de MLX. O método LAG foi seguido com $\eta = 0,25 \mu\text{L/mg}$ (v/m, volume de solvente / massa total)⁸⁰. As misturas foram moídas a uma frequência de 15 Hz por 30 min usando um Retsch Mixer Mills MM 200 com jarros de 10 mL de aço inoxidável e uma esfera de aço inoxidável de 7 mm. As misturas foram então secas a 50 °C durante 8 horas para remover qualquer solvente residual e armazenadas num dessecador de vidro contendo cloreto de cálcio anidro.

4.2.2 Caracterização dos materiais

FTIR

As análises foram realizadas no espectrofotômetro Nicolet iS10, usando o sistema ATR com janela de Ge, na região de 3600 a 675 cm^{-1} , 32 varreduras por espectro e resolução de 4 cm^{-1} .

PXRD

Os difratogramas foram obtidos em um difratômetro Siemens, modelo D500, DIFRAC PLUS XRD COMMANDER, utilizando uma radiação de $\text{CuK}\alpha$ ($\lambda = 1,54056 \text{ \AA}$) com configuração 40 kV e 30 mA, sendo as amostras analisadas de 5-50° (2 θ), em uma velocidade de varredura de 2° min^{-1} (modo de varredura contínuo).

DSC

Os experimentos de DSC foram realizados em um equipamento Q10 da TA *Instruments*. As análises foram realizadas sob atmosfera dinâmica de nitrogênio, com massa de aproximadamente 2 mg, em cadinho de alumínio lacrado e perfurado, fluxo de gás de 50 mL min⁻¹.

DSC-fotovisual

As análises foram realizadas no equipamento da Mettler Toledo DSC 1 STARe System acoplado com uma câmera digital OLYMPUS, modelo SC 30, com uma capacidade de captura de 3.3 megapixel e sensor CMOS com zoom de até 6.5. As condições experimentais: ar seco como gás de purga, com fluxo de 50 mL min⁻¹, razão de aquecimento de 10 °C min⁻¹ e massa de amostra de aproximadamente 2 mg, as amostras foram colocadas em cadinhos de alumina sem tampa.

TG-DSC

As curvas TG-DSC foram obtidas utilizando um sistema de análise térmica da Mettler Toledo, modelo TG/DSC 1. A atmosfera de ar e N₂ como gás de purga a uma vazão de 50 mL min⁻¹, massa da amostra de aproximadamente 10 mg e cadinhos de α -Al₂O₃ de 150 μ L, razão de aquecimento de 10 °C min⁻¹ e intervalo de temperatura de 30 – 800 °C.

Análise dos gases por FTIR

A análise de gases liberados (EGA, do inglês Evolved gas analysis) por TG-FTIR dos produtos liberados durante a decomposição térmica foi realizada usando um TG-DSC1 Mettler-Toledo acoplado a um espectrofotômetro Nicolet FTIR com uma célula de gás e um detector DTGS ZnSe. O forno e célula de gás aquecido (250 °C) foram acoplados através de uma linha de transferência de aço inoxidável de 120 cm, aquecida à 225 °C, com diâmetro de 3,0 mm, que foi purgada com ar seco (50 mL min⁻¹). Os espectros de FTIR foram registrados com 16 varreduras por espectro a uma resolução de 4 cm⁻¹. A identificação dos produtos gasosos foi baseada nos espectros de referência disponíveis no software do espectrômetro (OMNIC 8.0) e dados da literatura.

Aquecimento filmado das misturas eutéticas

Os vídeos dos eutéticos sendo aquecidos foram realizados por um sistema adaptado. O aquecimento foi realizado em um equipamento digital de ponto de fusão da marca Micro química, modelo MQAPF-302, enquanto a filmagem foi registrada por uma câmera da marca Asus, modelo ze55ekl. As condições experimentais foram: razão de aquecimento de $0,5\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$, atmosfera estática de ar, resolução da câmera de 480 pixels, 30 frames por segundo e uma velocidade de vídeo de 7x.

Teste de solubilidade

A solubilidade do meloxicam e dos eutéticos foi avaliado utilizando o método do shaker⁸¹. Um excesso do fármaco (6 mg) foi adicionado a um frasco contendo 2 mL de solução tampão de fosfato de sódio (pH = 6,8), a mistura foi agitada em um shaker (Kasvi, modelo k80-200) em uma velocidade de 50 rpm por 24 horas a uma temperatura de $37\text{ }^{\circ}\text{C}$. Posteriormente, as amostras foram centrifugadas à 2000 rpm por 10 minutos e o sobrenadante foi filtrado através de um filtro PTFE $0,45\text{ }\mu\text{m}$. As amostras filtradas foram diluídas e a concentração de meloxicam foi quantificada por UV⁸². Todas as amostras foram realizadas em triplicatas.

Taxa de dissolução

O teste de dissolução foi realizado usando um sistema de dissolução (Hanson, modelo SR8-Plus) utilizando o aparato 2 da USP (pá), em uma rotação de 75 rpm e temperatura de $37\text{ }^{\circ}\pm 0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$. As amostras foram adicionadas a uma solução tampão de fosfato de sódio (pH = 6.8) como meio dissolutor⁸³, sendo a condição sink mantida durante todo o procedimento. Foram adicionadas equivalências de 15 mg do fármaco a solução (27,99 mg para o eutético do ácido mandélico e 22,8 mg para o eutético da sacarina), tendo em vista a proporção em massa de 53,90% e 65,79%. Os tempos de coleta foram de 0, 15, 30, 45, 60, 120, 240 e 480 minutos, sendo retirados 500 μL de amostras em cada período e compensado posteriormente com uma nova solução tampão⁸⁴. As amostras coletadas foram filtradas através de um filtro PTFE $0,45\text{ }\mu\text{m}$ e a concentração de meloxicam foi quantificada por UV-Vis⁸². Todas as amostras foram realizadas em triplicatas.

Higroscopicidade

Três réplicas de cada eutético e do fármaco meloxicam foram armazenadas em umidade relativa de 98% a temperatura ambiente. A umidade relativa foi preparada utilizando uma solução saturada de fosfato de amônio em um dessecador ⁸⁵. A massa das amostras foi monitorada no dia 1, 2, 3, 4 e 5, considerando que no dia 0 as amostras apresentavam aproximadamente a massa de 10 mg.

Microscopia eletrônica de varredura

As imagens foram coletadas usando um microscópio eletrônico de varredura por emissão de campo frio (FE-SEM; JEOL modelo 7500 F) a 2 kV, corrente de emissão de 10 uA, sonda de corrente de 9 no modo de imagem eletrônica secundária. As amostras foram revestidas com uma camada de carbono para evitar os efeitos de carga superficial. O tamanho das partículas foi medido usando o software ImageJ, versão 1.52a. O histograma que mostra a distribuição do tamanho das partículas e a frequência cumulativa foi gerado contando 150 partículas aproximadamente.

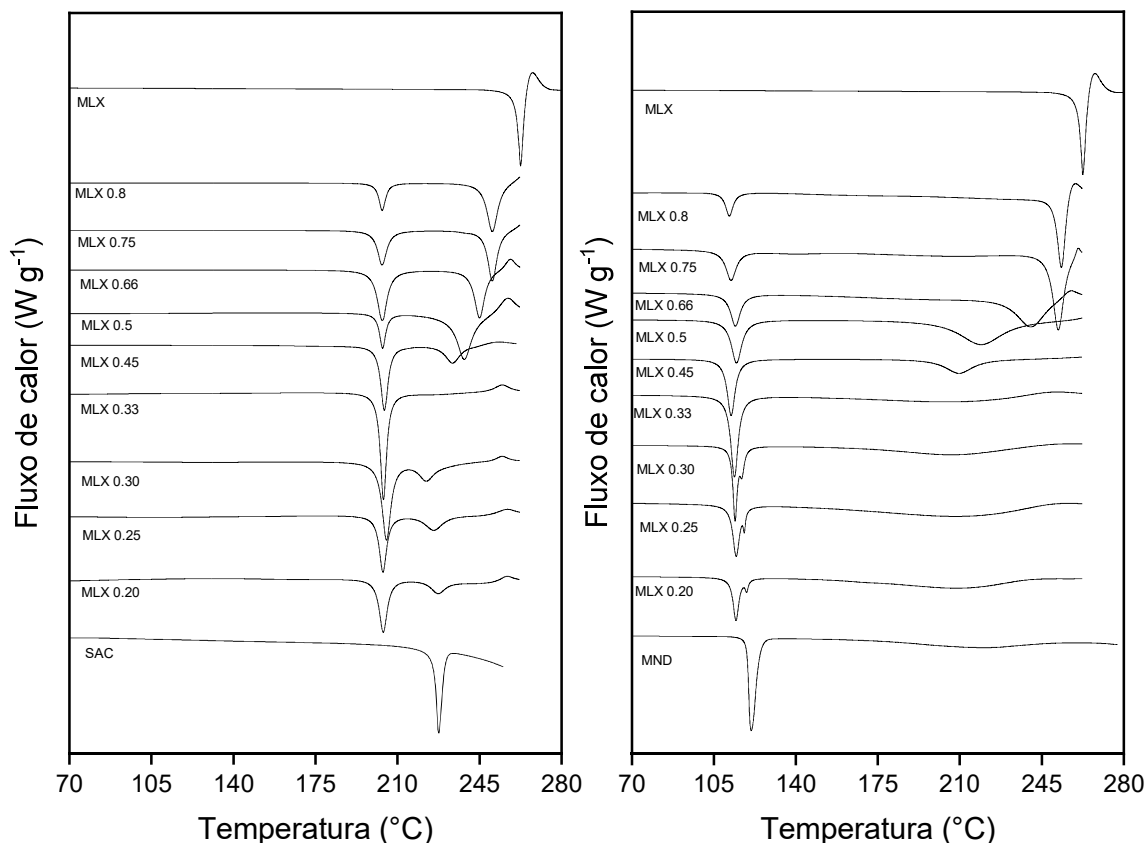
4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.3.1 Estudo do ponto eutético para as misturas

DSC é a principal técnica de triagem de formas sólidas. As misturas binárias exibem dois picos endotérmicos nas curvas DSC, cada pico corresponde à fusão dos componentes separados, pois não ocorre interação entre as moléculas no estado sólido da mistura física. Por outro lado, a eutética mostra um único pico endotérmico em baixa temperatura em comparação com as moléculas parentais correspondentes à fusão do sistema^{34,86}.

MLX, MND, SAC e misturas preparadas pelo método LAG na razão molar de 0,20, 0,25, 0,30, 0,34, 0,45, 0,5, 0,66, 0,75 e 0,80 de MLX foram analisados pela técnica DSC e as curvas são mostradas na Figura 37.

Figura 37. Curva DSC do MLX, SAC, MND, misturas MLX-SAC e misturas MLX-MND em diferentes proporções preparadas pelo método LAG.



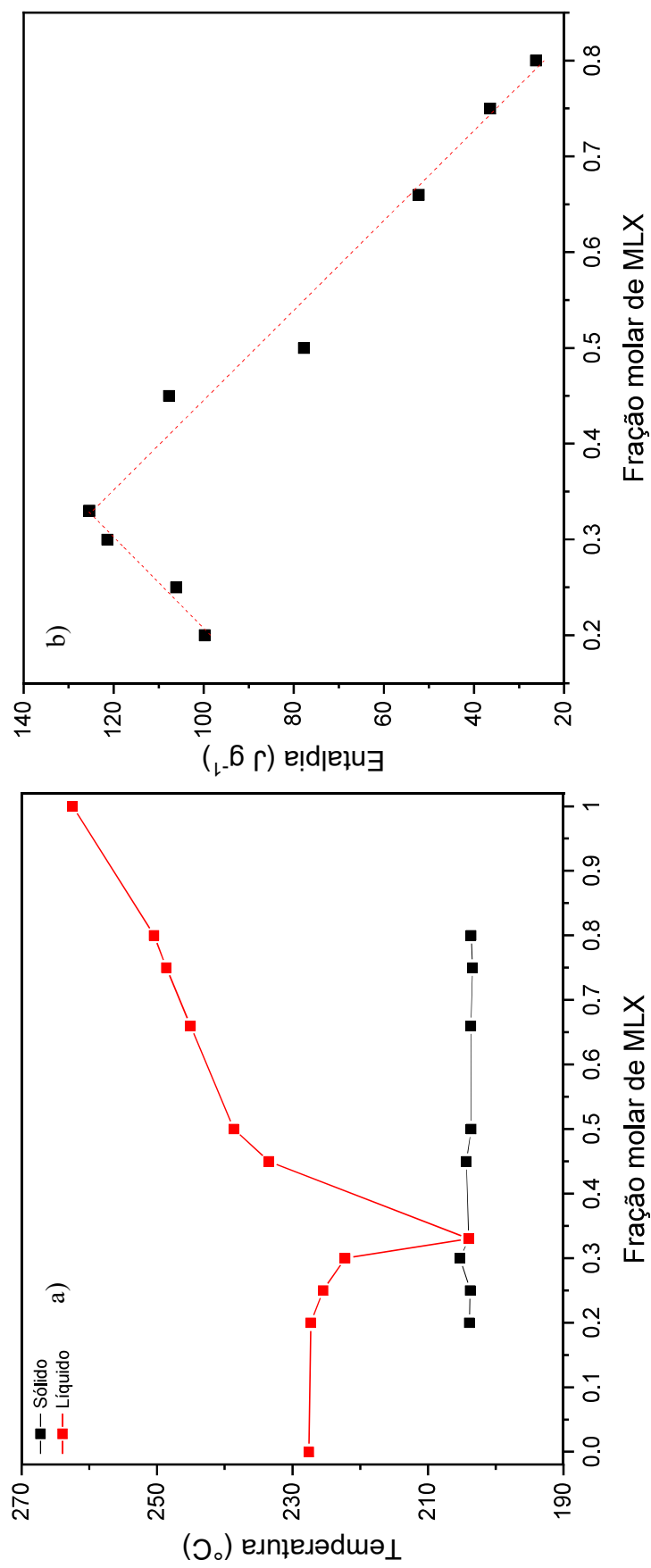
Fonte: Autor

Dados de entalpia e temperatura de fusão obtidos a partir de curvas DSC foram usados para construir os diagramas de fase binários e o triângulo de Tamman⁷². Os diagramas de fase

foram utilizados para encontrar o ponto eutético de cada mistura, comparando o ponto de fusão de cada amostra. Um padrão em forma de V aparece no diagrama de fase eutético como resultado da transição do baixo ponto de fusão do eutético e sua fusão congruente em comparação com as misturas físicas. As duas linhas demonstram os pontos sólido e líquido, as linhas delimitam as regiões em que a mistura é inteiramente sólida (abaixo da linha sólida), uma mistura de sólido + líquido (entre as linhas) ou totalmente líquido (acima da linha líquida)⁵⁷. Os valores de entalpia foram usados para traçar o triângulo de Tamman para confirmar o ponto eutético previsto em cada fração molar. Ocorre um aumento da entalpia até a mistura eutética, que exibe um valor máximo de entalpia em relação às demais frações, seguido de uma diminuição⁷².

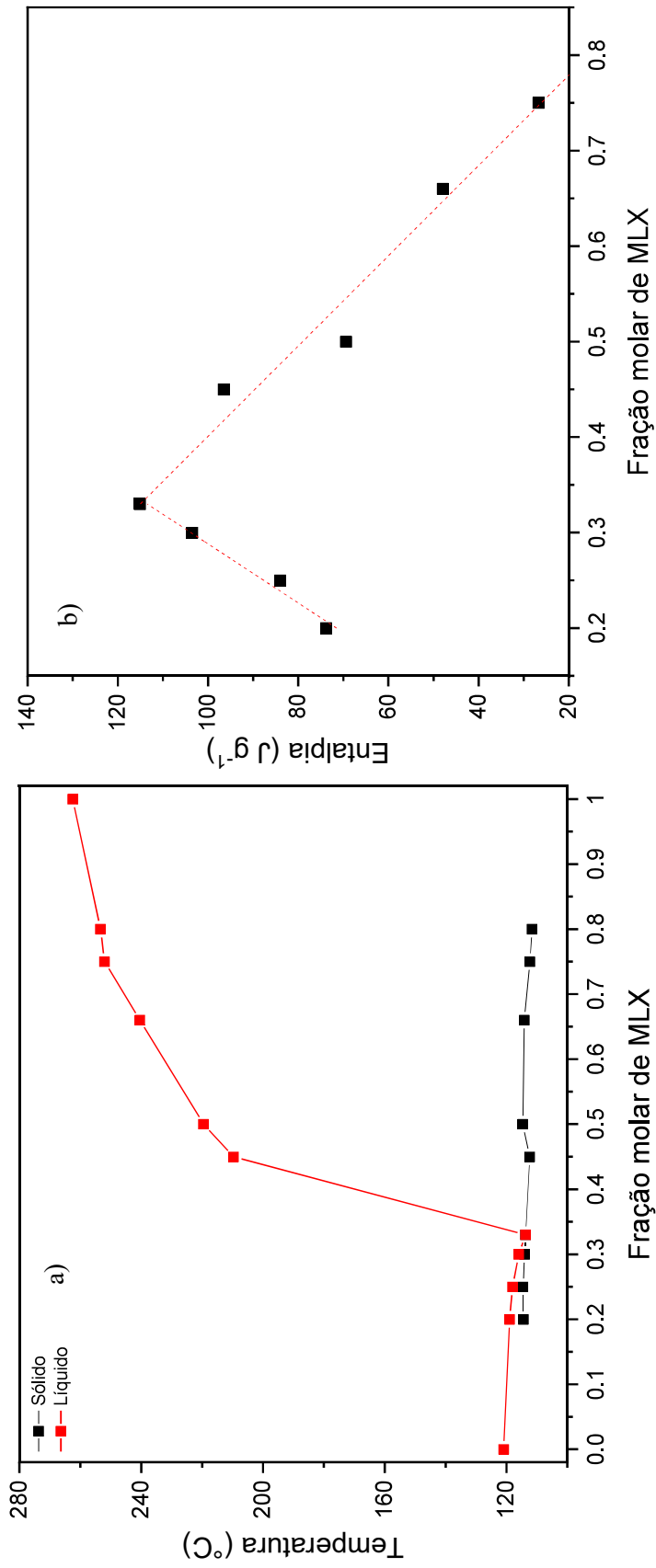
Os diagramas de fase binário e o triângulo de Tamman são mostrados na Figura 38 e Figura 39. As misturas MLX-MND mostraram um ponto de fusão comum próximo a 114 °C e 204 °C para as misturas MLX-SAC. A fusão congruente no diagrama de fase e a inflexão no triângulo de Tamman indicam o ponto eutético. Ambos os resultados indicam fração molar de 0,33 de MLX para MLX-SAC e MLX-MND. Os resultados de MLX-MND mostraram uma forma V distorcida no diagrama de fase devido ao baixo ponto de fusão do MND, no entanto, as curvas DSC indicam um baixo ponto de fusão para a mistura eutética (114 °C) quando comparado ao MND puro (121 °C), o que é confirmado pelo triângulo de Tamman. Desta forma, a fração molar de 0,33 MLX para cada componente foi escolhida para caracterização e avaliação.

Figura 38. a) Diagrama de fase binário e b) triângulo de Tamman para as diferentes proporções de misturas MLX-SAC preparadas por LAG.



Fonte: Autor.

Figura 39. a) Diagrama de fase binário e b) triângulo de Tamman para as diferentes proporções de misturas MLX-MND preparadas por LAG.

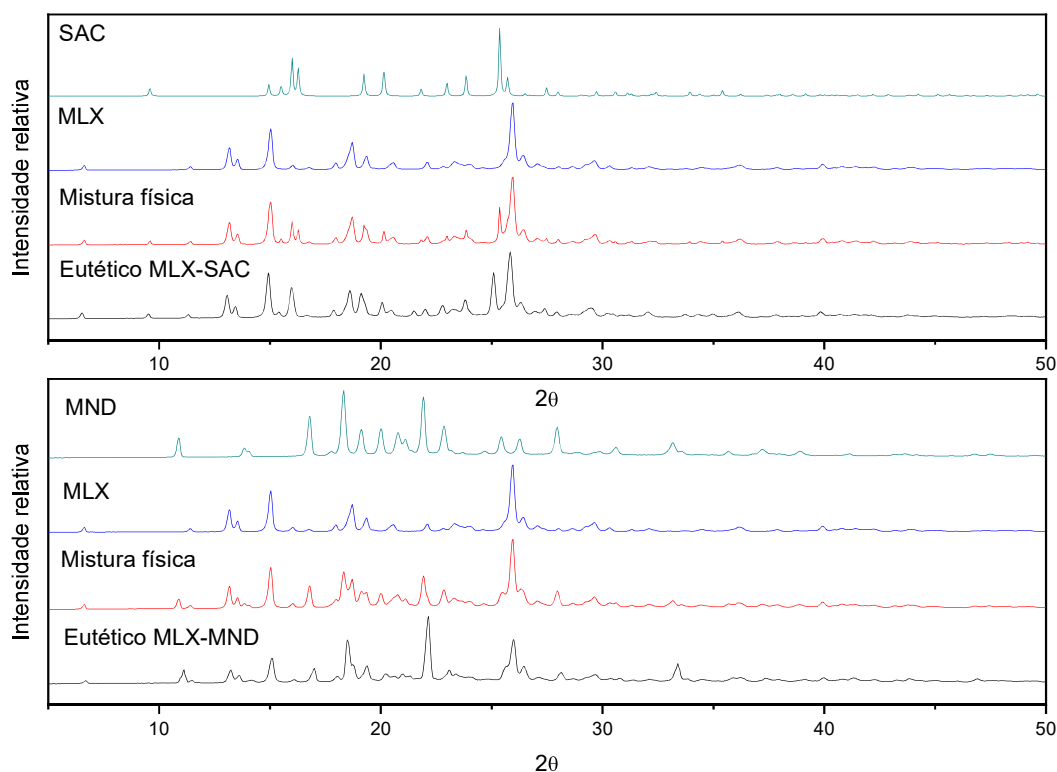


Fonte: Autor.

4.3.2 Caracterizações

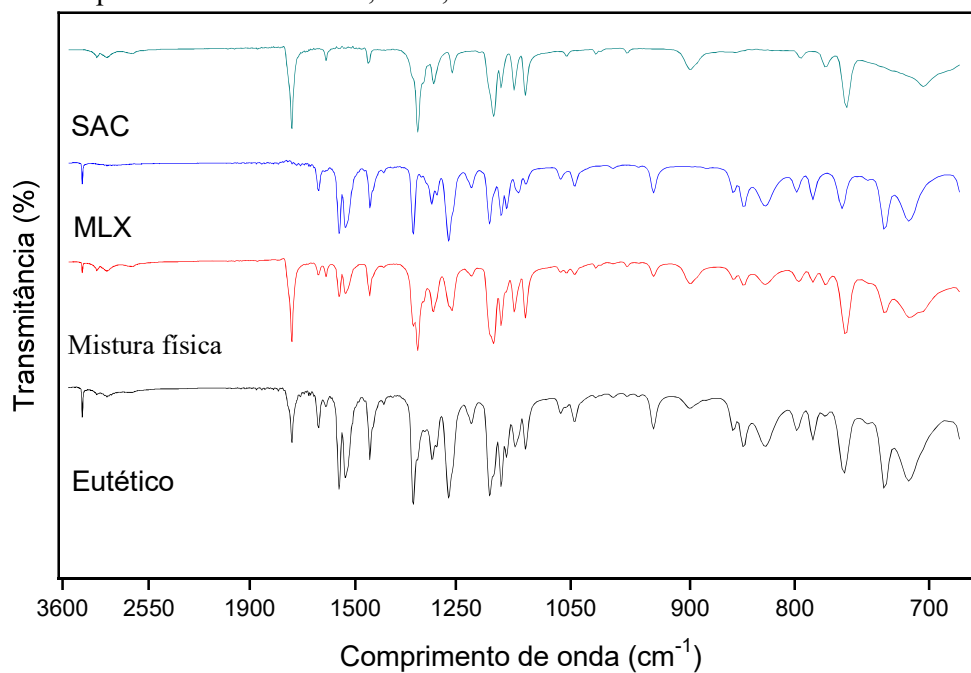
Os difratogramas de PXRD para MND, SAC, MLX e eutéticos são mostrados na Figura 40. Os difratogramas da base de dados CCDC³⁵ foram comparados aos materiais de partida. O SAC possui apenas uma forma polimórfica com o grupo espacial P21/c (REFCODE: SCCHRN) e o MND está na forma DL com o grupo espacial Pbca (REFCODE: DLMAND01).

Figura 40. Difratogramas do MLX, SAC, MND, eutéticos e misturas físicas.

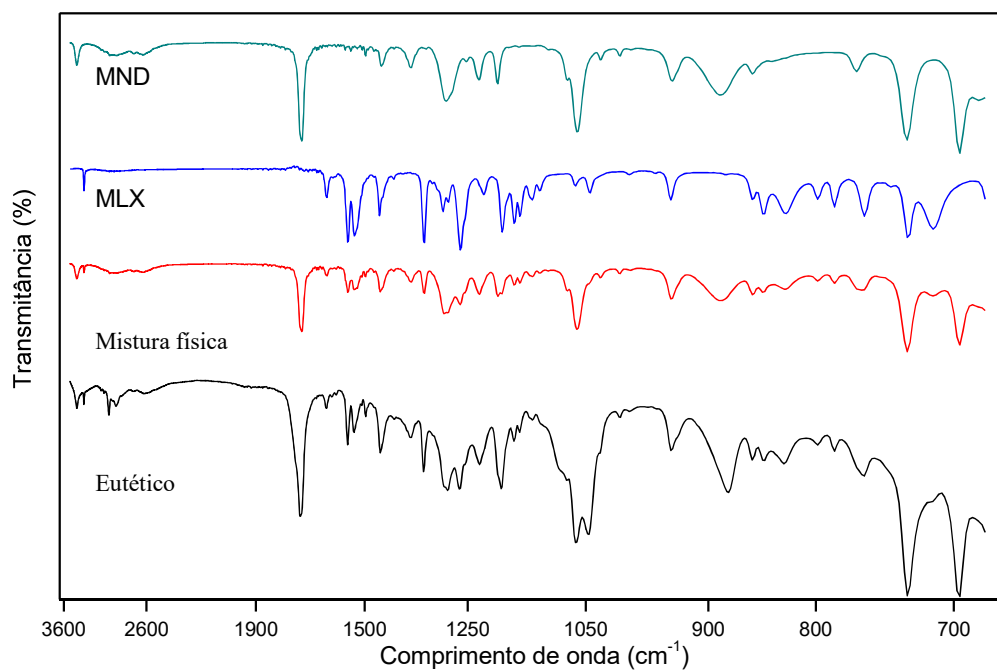


Fonte: Autor.

O espectro de FTIR de todos os materiais são mostrados nas Figura 41 e Figura 42. Ambos os eutéticos exibem difratogramas e espectros semelhantes em comparação com as misturas físicas. Esses comportamentos semelhantes são explicados pela estrutura cristalina dos eutéticos, a inclusão de um componente no outro ocorre intersticialmente ou substitucionalmente. Como resultado, interações coesas e consequentemente a rede cristalina na forma sólida eutética geralmente são inalteradas e mostram resultados semelhantes para técnicas espectroscópicas e de difração, quando comparadas a resultados dos componentes iniciais³⁷.

Figura 41. Espectros FTIR do MLX, SAC, misturas físicas e eutético MLX-SAC

Fonte: Autor.

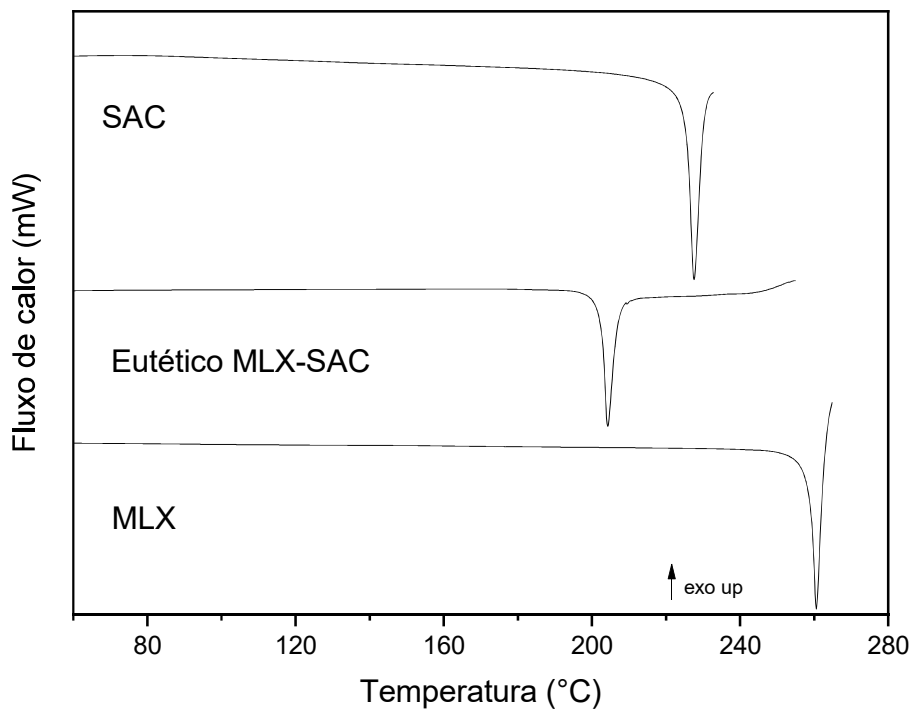
Figura 42. Espectros FTIR do MLX, MND, misturas físicas e eutético MLX-MND.

Fonte: Autor.

As curvas DSC de todos os materiais são mostradas na Figura 43 e Figura 44. A curva do MLX mostra um pico endotérmico agudo em 261 °C ($\Delta H = 35,0 \text{ kJ mol}^{-1}$). O MND mostra um pico endotérmico em 121 °C ($\Delta H = 25,5 \text{ kJ mol}^{-1}$) e o SAC mostra um único pico

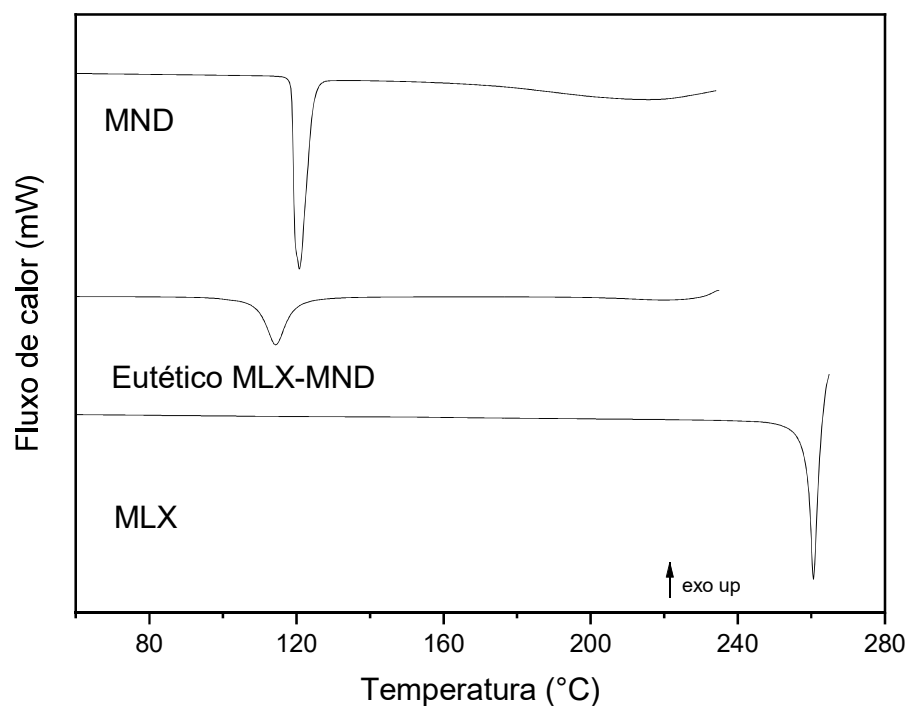
endotérmico em 227 °C ($\Delta H = 26,7 \text{ kJ mol}^{-1}$). Ambos os eventos endotérmicos são associados a fusão dos compostos e consistentes com os dados reportados na literatura ^{87,88}.

Figura 43. Curvas DSC para MLX, SAC e eutético MLX-SAC.



Fonte: Autor.

Figura 44. Curvas DSC para MLX, MND e eutético MLX-MND.



Fonte: Autor.

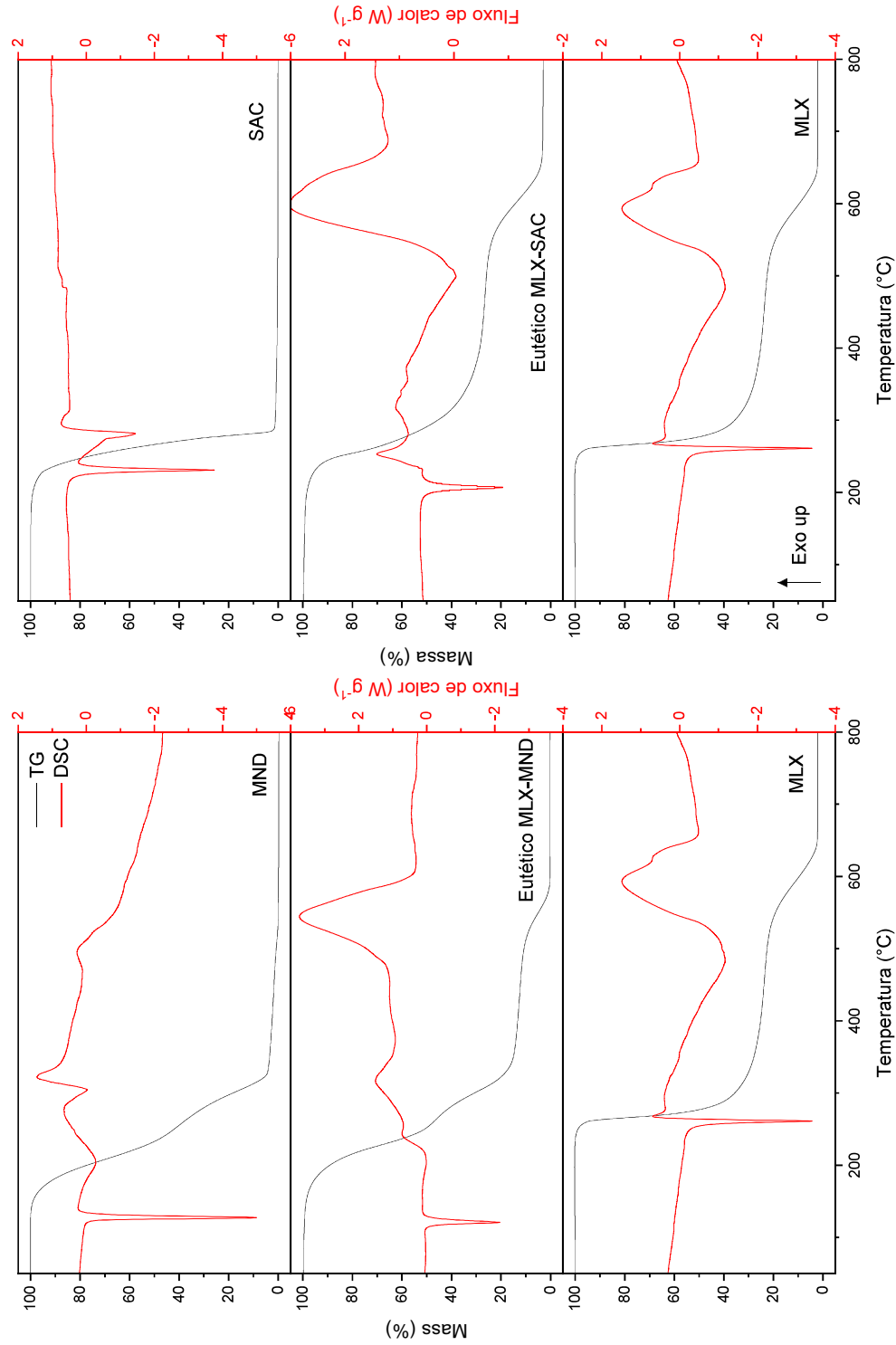
O eutético MLX-MND mostra um pico endotérmico em 114 °C ($\Delta H = 21,0 \text{ kJ mol}^{-1}$), sendo que esse evento ocorre em temperatura mais baixa quando comparado aos eventos endotérmicos observados nas curvas DSC dos componentes isolados. O eutético MLX-SAC mostra um pico endotérmico em 203 °C ($\Delta H = 20,5 \text{ kJ mol}^{-1}$), com valores menores em comparação ao SAC e MLX. Esses resultados confirmam a formação de duas novas fases com pontos de fusão inferiores aos componentes isolados, em adicional, a rede cristalina e perfil espectroscópico são semelhantes, enfatizando a formação de eutéticos.

4.3.3 Análise térmica

As curvas TG-DSC do MLX, MND, SAC e eutéticos são mostrados na Figura 45. A curva TG do MND mostra que o composto é termicamente estável até 138 °C. Acima dessa temperatura, a decomposição térmica ocorre em três etapas consecutivas entre 138-273 °C ($\Delta m = 67,06\%$), 273-321 °C ($\Delta m = 26,94\%$) e 321-577 °C ($\Delta m = 6\%$), correspondente a quatro eventos térmicos na curva DSC. O primeiro pico endotérmico em 127 °C é atribuído a fusão do MND e os picos endotérmicos em 204 °C e 305 °C são relativos à decomposição térmica do material. O SAC é termicamente estável até 160 °C e a curva DSC exibe dois picos endotérmicos em 230 e 281 °C, relativos à fusão seguida de volatilização com uma única etapa de perda de massa ($\Delta m = 100\%$). A curva TG-DSC do MLX mostra que o composto é termicamente estável até 230 °C, sendo que a decomposição térmica ocorre em duas etapas consecutivas entre 230-428 °C ($\Delta m = 75,70\%$) e 428-660 °C ($\Delta m = 24,16\%$). Todos os compostos apresentam comportamento térmico semelhante descrito anteriormente por Gomes et al.⁸⁹, Carvalho et al.⁹⁰ e Fernandes et al.⁹¹.

A curva TG mostra que o eutético MLX-MND é termicamente estável até 130 °C, temperatura inferior a ambos os componentes isolados. Acima dessa temperatura, a perda de massa ocorre em três etapas consecutivas entre 130-273 °C ($\Delta m = 57,90\%$), 273-454 °C ($\Delta m = 30\%$) e 454-615 °C ($\Delta m = 11,86\%$). A primeira etapa está associada à degradação do sistema com evaporação parcial do MND. O pico endotérmico em 119 °C na curva DSC, sem perda de massa na curva TG, é relativo à fusão do sistema. O vídeo do material sendo aquecido está disponível na internet através do endereço eletrônico (Vídeo 3/4): <https://www.tandfonline.com/doi/suppl/10.1080/03639045.2020.1775633?scroll=top>

Figura 45. Curvas TG-DSC do MLX, MND, SAC e eutéticos MLX-MND e MLX-SAC.



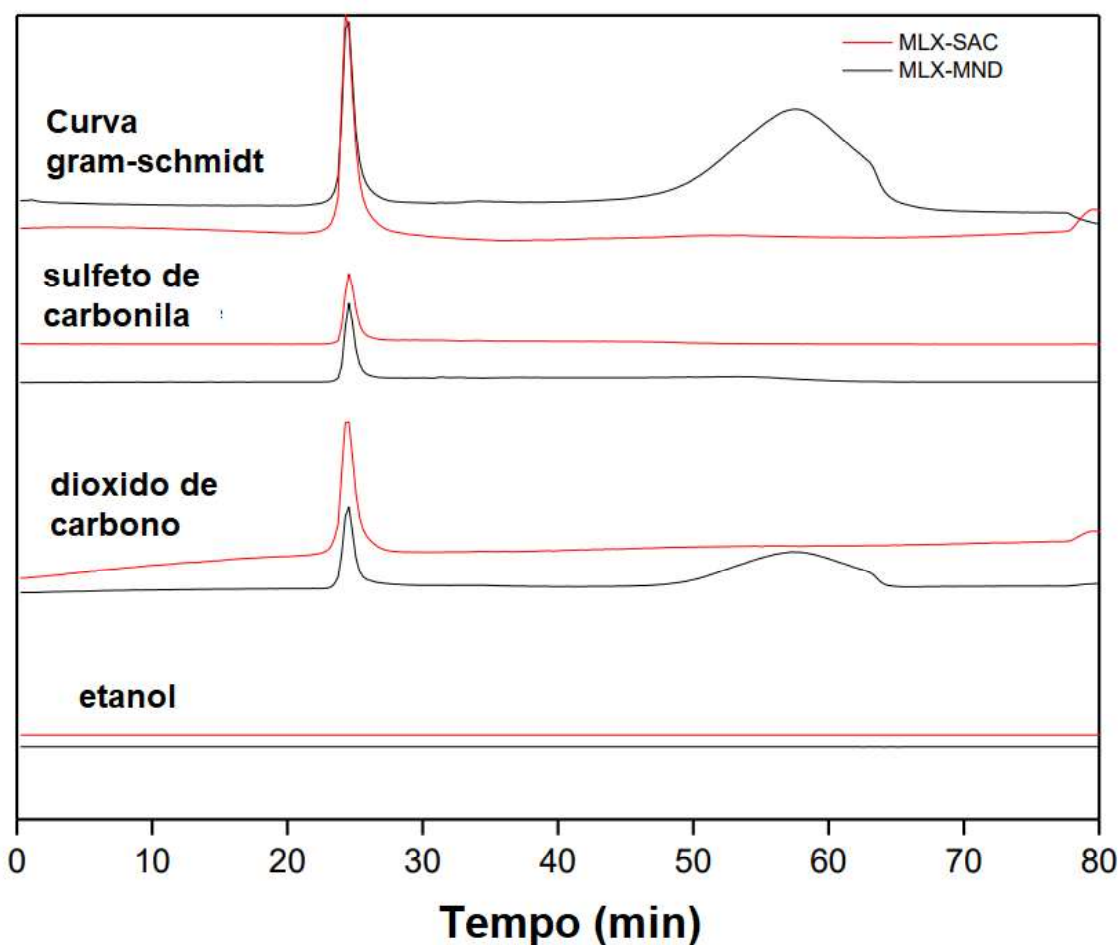
Fonte: Autor.

A curva TG do eutético MLX-SAC mostra que o sistema é termicamente estável até 190 °C. Acima dessa temperatura, a perda de massa ocorre em duas etapas consecutivas entre 190-428 °C ($\Delta m = 77,55\%$) e 360-677 °C ($\Delta m = 22,27\%$). O primeiro pico endotérmico em 203 °C é atribuído à fusão do sistema, seguido pela evaporação e degradação do material, sendo o vídeo do aquecimento disponível no endereço eletrônico (Vídeo 2/4):

<https://www.tandfonline.com/doi/suppl/10.1080/03639045.2020.1775633?scroll=top>

A possibilidade de formação de solvatos é excluída pelas técnicas de análise térmica devido à estabilidade térmica de ambos os eutéticos, pela curva DSC que não exibe nenhum evento relativo à dessolvatação e pelos espectros de FTIR ou análises de PXRD que não mostram sinais de etanol. Além disso, nenhum traço de etanol é detectado no decorrer da análise de TG-DSC-FTIR (**Figura 46**).

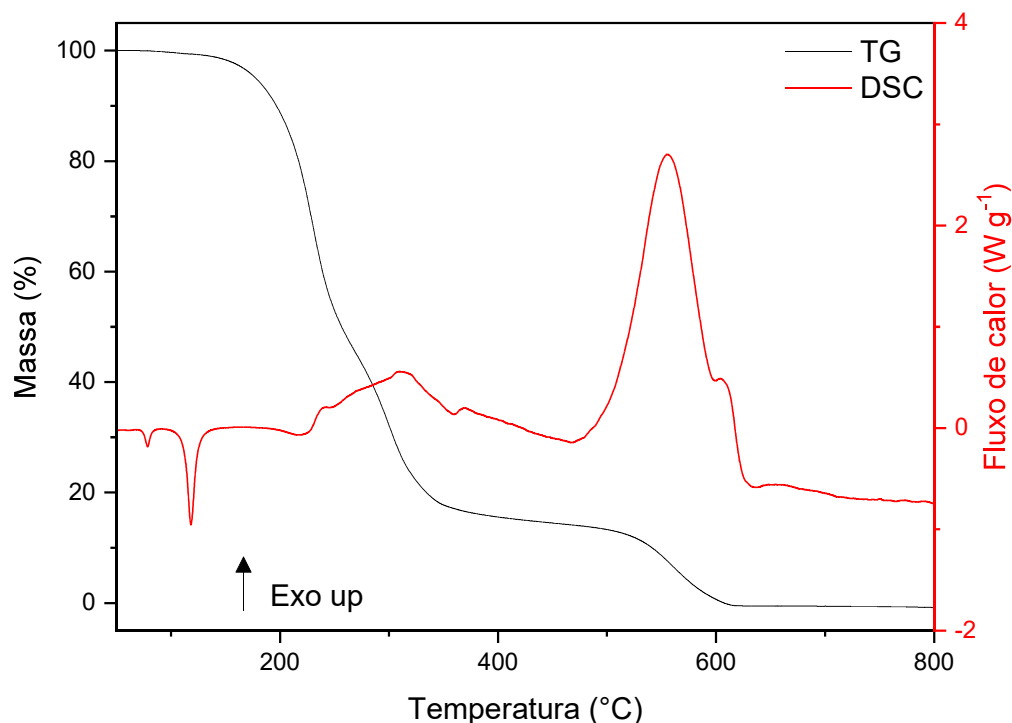
Figura 46. Curva gram-schmidt relativa a análise de TG-DSC-FTIR dos eutéticos MLX-SAC e MLX-MND.



Fonte: Autor.

Após 5 dias em um dessecador, as curvas TG-DSC do sistema mostra um novo pico endotérmico em 73 °C sem perda de massa relativa, sugerindo uma transição polimórfica (Figura 47).

Figura 47. Curva TG-DSC do eutético MLX-MND após 5 dias.



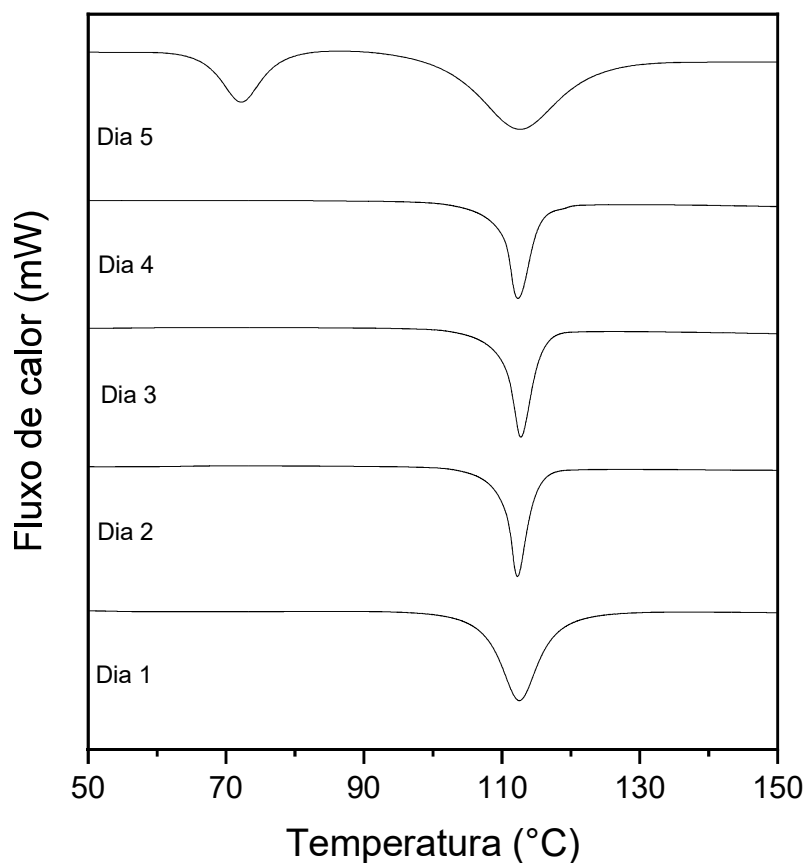
Fonte: Autor.

O material foi investigado pelo DSC-fotovisual, o vídeo da transição está disponível no endereço eletrônico (Vídeo 1/4):

<https://www.tandfonline.com/doi/suppl/10.1080/03639045.2020.1775633?scroll=top>

É possível observar uma alteração no sólido após a transição. O caráter reversível da transição foi observado aquecendo a amostra até 80 °C e analisando com DSC após cada dia (Figura 48), o pico em 73 °C ($\Delta H = 5,6 \text{ kJ mol}^{-1}$) aparece após 5 dias e confirma que a transição é reversível. A transição polimórfica (p.t.) foi confirmada pelos padrões de PXRD e espectros FTIR distintos, que foram adquiridos antes e após o pico endotérmico em 73 °C, Figura 49. Os materiais foram nomeados como MLX-MND1 eutético (material com pico endotérmico / antes da p.t.) e MLX-MND2 eutético (material sem pico endotérmico / após p.t.).

Figura 48. Curvas DSC do eutético MLX-MND tiradas do dia 1 ao 5.

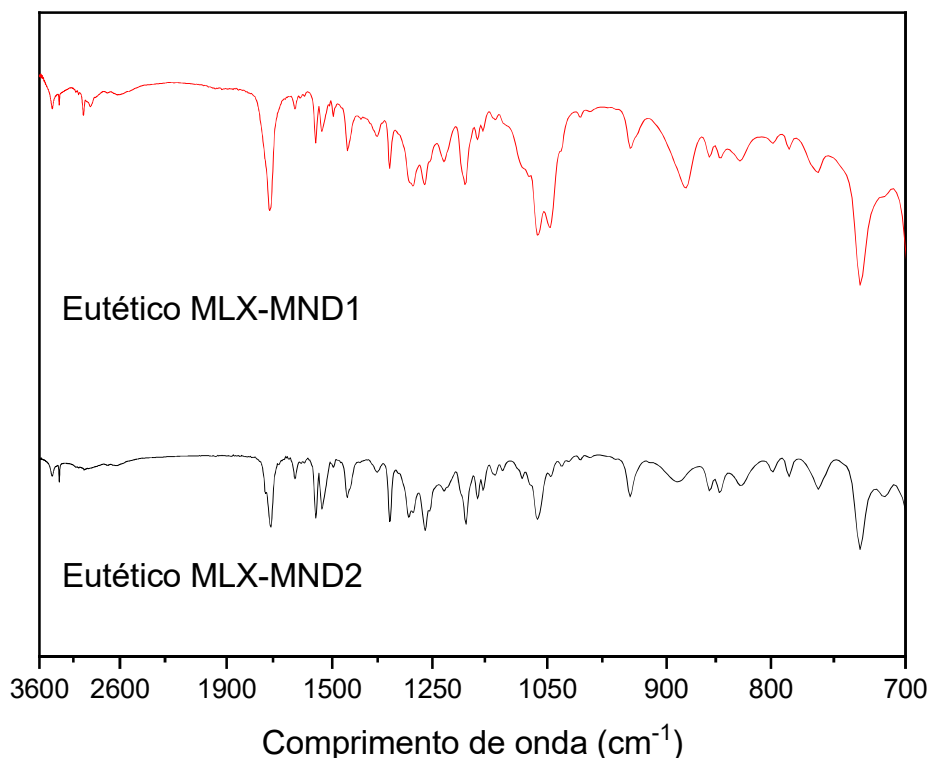


Fonte Autor.

Na Figura 49, os espectros FTIR sugerem que a p.t. ocorre na parte MND do eutético, comparando o espectro FTIR do eutético MLX-MND2 com os componentes iniciais. Os sinais relacionados ao MLX não se modificam, enquanto que para os sinais relativos ao MND há alterações na banda referente ao estiramento C=O em 1708 cm^{-1} , que se divide em duas bandas em 1708 e 1726 cm^{-1} , o estiramento CCC em 887 cm^{-1} muda para 879 cm^{-1} e o estiramento CH na região de $3000\text{-}2900\text{ cm}^{-1}$ parecem mais evidentes após o transição⁹².

O polimorfismo é um fenômeno comum em fármacos²⁶ e já foi previamente explorado em sistemas multicomponentes como cocristais e sais^{93,94}. Porém, existem poucos relatos em misturas eutéticas. Geralmente, os constituintes iniciais exibem polimorfismo e são usados para estudar diferenças na formação de eutéticos⁹⁵, no entanto, a transição que ocorre após a formação da forma sólida é nova, mesmo tendo em vista que esse fenômeno já é observado em fármacos devido a alterações na temperatura ou umidade¹⁹.

Figura 49. Espectros FTIR dos eutéticos MLX-MND1 e MLX-MND2



Fonte: Autor.

O novo pico observado em $7,44^\circ$ no difratograma PXRD para o eutético MLX-MND2 não foi encontrado em nenhum dos treze depósitos do banco de dados da CCDC para polimorfos de MND (REFCODE DLMAND01 a DLMAND13), sugerindo que a restrição conformacional na forma sólida do eutético resulta em uma nova forma polimórfica para o MND. Para explorar esse novo polimorfo, o eutético MLX-MND2 foi avaliada em conjunto com o eutética MLX-MND1 e MLX-SAC em relação à solubilidade, taxa de dissolução e higroscopicidade, comparando os resultados com o fármaco puro.

4.3.4 Teste de solubilidade e dissolução

A solubilidade e a taxa de dissolução têm sido bem reportadas como propriedades físico-químicas que afetam a biodisponibilidade de fármacos. Ambas estão diretamente correlacionadas com a concentração em solução, mas exploram conceitos distintos. A primeira é um processo termodinâmico e a segunda um processo cinético⁹⁶. A solubilidade dos eutéticos em 24 horas foi comparada com o fármaco puro (Tabela 5). O MLX atinge uma concentração de $919 \mu\text{g mL}^{-1}$ em 24 horas, enquanto os eutéticos mostram um aumento na concentração de 1,7x (MLX-MND1), 3,1x (MLX-MND2) e 1,3x (MLX-SAC) em comparação ao MLX. A

solubilidade dos polimorfos eutéticos MLX-MND pode ser explicada em termos de estabilidade, uma vez que a forma polimórfica menos estável em temperatura ambiente (eutético MLX-MND2) geralmente exibe maior solubilidade quando comparada à forma mais estável (eutética do MLX-MND1) ^{19,97}.

Tabela 5. Solubilidade do MLX e eutéticos após 24 horas em solução simulada de fluido intestinal (pH 6,8), n=3.

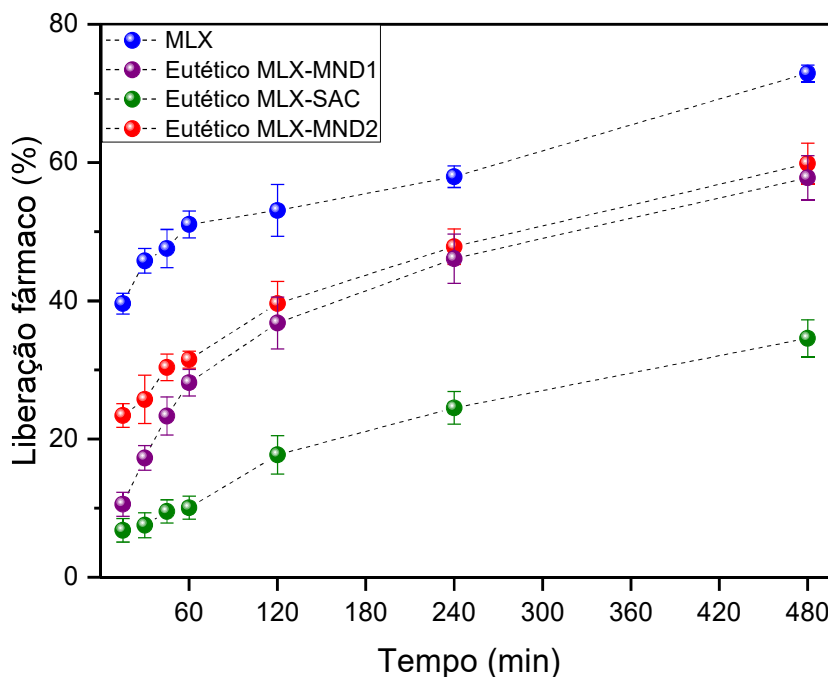
Amostras	Composição	Solubilidade ($\mu\text{g ml}^{-1}$)
MLX	-	919 ± 8
Eutético MLX-MND1	1:2 (33%)	1581 ± 48
Eutético MLX-MND2	1:2 (33%)	2886 ± 71
Eutético MLX-SAC	1:1 (50%)	1265 ± 69

Fonte: Autor.

A taxa de dissolução é um parâmetro de extrema importância na área farmacêutica. Dessa maneira, estudos de dissolução *in vitro* foram realizados para avaliar os perfis de dissolução dos eutéticos e comparar com o fármaco puro, os resultados são mostrados na Figura 50. O MLX foi rapidamente dissolvido, com 40% do fármaco liberado em 15 minutos. De acordo com Cheney et al., os valores estimados de pKa do MLX são 4,35 e 1,29⁴⁹, o que explica a rápida dissolução do MLX em pH 6,8. A dissolução máxima do MLX foi observada após 480 minutos, nos quais a dissolução foi de 73%.

O eutético MLX-MND2 demonstrou um perfil de dissolução mais rápido até 60 minutos em comparação com os eutéticos MLX-MND1 e MLX-SAC. Aos 60 minutos, os perfis de dissolução dos eutéticos MLX-MND 1 e MLX-MND2 apresentaram valores semelhantes e sem diferença significativa ($p \geq 0,05$), depois disso, os eutéticos MLX-MND1 e MLX-MND2 mostram um aumento na concentração próximo após 60 minutos, com taxa de dissolução de 58 e 60% no final do experimento. O eutético MLX-SAC exibiu um comportamento de dissolução lenta, com apenas 7% de dissolução nos primeiros 15 minutos e a dissolução máxima de 34%. Comparado ao fármaco puro, todas as novas formas sólidas exibiram diferentes taxas de dissolução. Essas diferenças de resultados podem ser explicadas pelos diferentes padrões de empacotamento intermolecular dos sistemas multicomponentes, resultando em energia livre de Gibbs distinta em relação ao MLX e, portanto, características e propriedades distintas dos componentes iniciais³³.

Figura 50. Teste de dissolução do MLX, MLX-MND1, MLX-MND2 e MLX-SAC em solução simulada de fluido intestinal (pH 6,8), n=3.



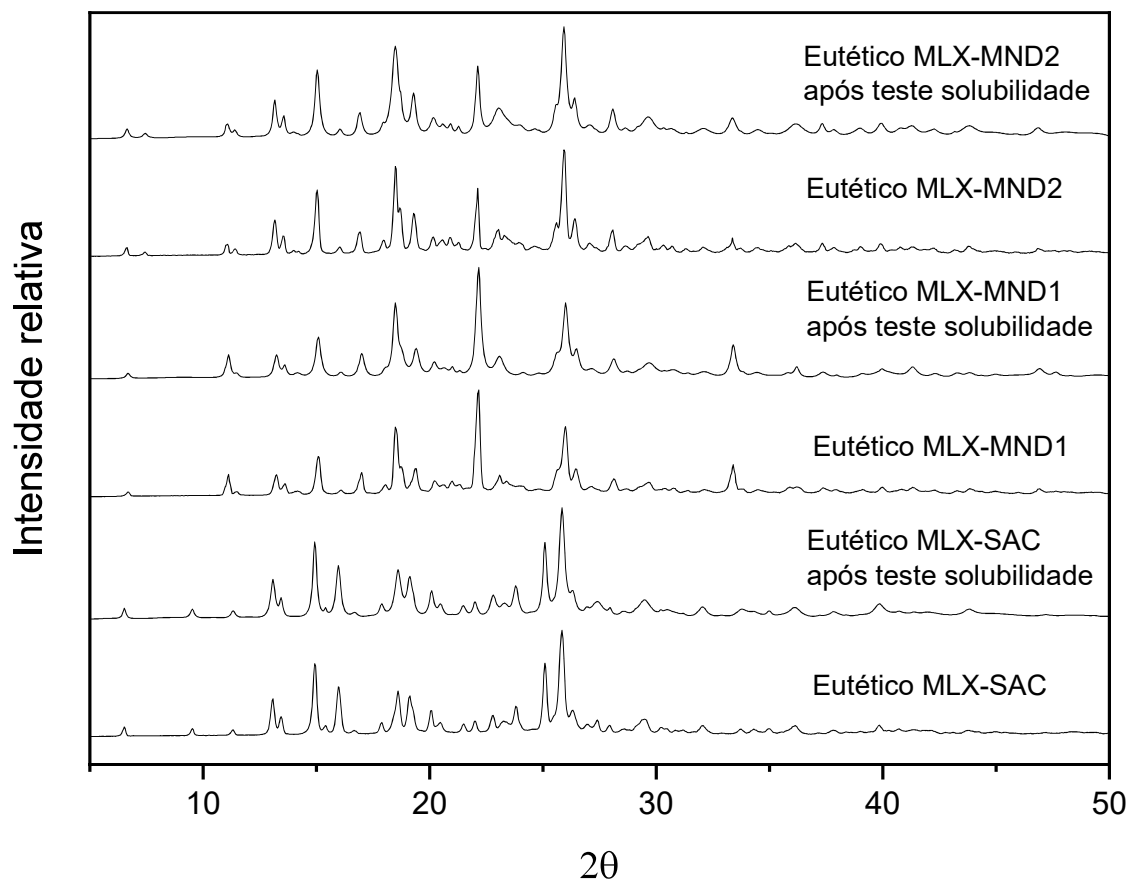
Fonte: Autor.

O comportamento distinto dos eutéticos (alta solubilidade e baixa taxa de dissolução) pode ser explicado pela natureza da dissolução, uma vez que o processo de dissolução ocorre através da formação de novas interações entre soluto e solvente, após a quebra das interações na forma sólida. O processo geralmente envolve duas etapas: a solvatação e o transporte de massa. O primeiro é relativo à formação de moléculas solvatadas devido à interação entre moléculas do sólido e o solvente, enquanto o segundo representa o transporte das moléculas do solvente, que ocorrem entre a interface sólido-líquido e a solução. Dessa forma, a dissolução não está apenas correlacionada à solubilidade, mas também ao processo de transporte⁹⁶.

Os resultados de solubilidade e dissolução mostram que os eutéticos têm um perfil de liberação retardado em relação ao fármaco e podem atingir uma concentração mais alta no longo prazo. A alta solubilidade poderia diminuir as doses administradas do fármaco, tentando evitar ou diminuir efeitos colaterais nocivos em tratamentos, enquanto a taxa de dissolução mais lenta poderia ser correlacionado com uma liberação do fármaco mais prolongada, protegendo o trato gastrointestinal do efeito irritante de altas concentrações⁹⁸.

As amostras sólidas foram coletadas após o teste de solubilidade e avaliadas por PXRD, Figura 51. Não ocorreu alterações nos padrões de difração dos eutéticos antes e depois do teste de solubilidade, indicando que não há formação ou transformação na estrutura cristalina das amostras durante o teste de solubilidade.

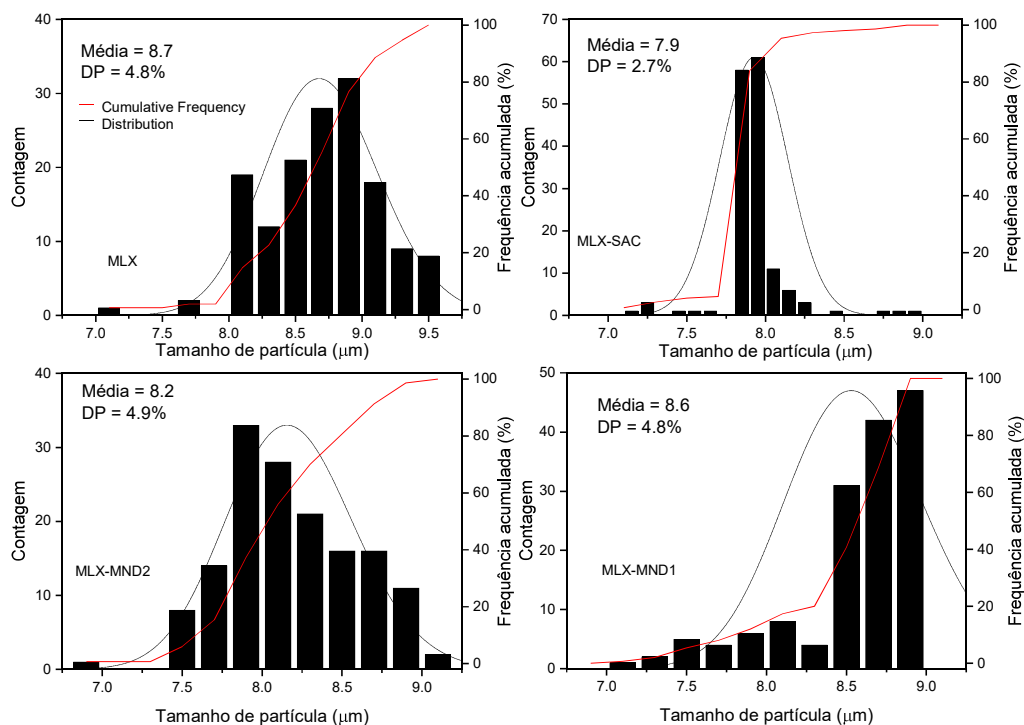
Figura 51. Difratomogramas dos eutéticos MLX-MND1, MLX-MND2 e MLX-SAC antes e depois do teste de solubilidade.



Fonte: Autor.

Além disso, o tamanho de partícula do MLX e os eutéticos foram medidos (Figura 52) para garantir que a avaliação dos materiais sintetizados não fosse afetada pelo tamanho das partículas. O tamanho da partícula foi amplamente discutido como um parâmetro importante que influencia várias propriedades dos medicamentos, sendo um indicador de qualidade e desempenho que influencia as propriedades de compressão e fluxo⁹⁹⁻¹⁰¹. Partículas menores possuem maior área de superfície e podem se dissolver mais rapidamente, resultando frequentemente em uma maior solubilidade. O tamanho médio de todas as partículas das amostras é de 8,3 μm , com menos de 5% de desvio padrão entre os valores, demonstrando uma média populacional de partículas próxima para todos os materiais. Dessa maneira, os valores observados para os resultados de solubilidade e dissolução não apresentaram influência em relação ao tamanho das partículas.

Figura 52. Tamanho de partícula e frequência acumulada do MLX e eutéticos.



*DP = desvio padrão

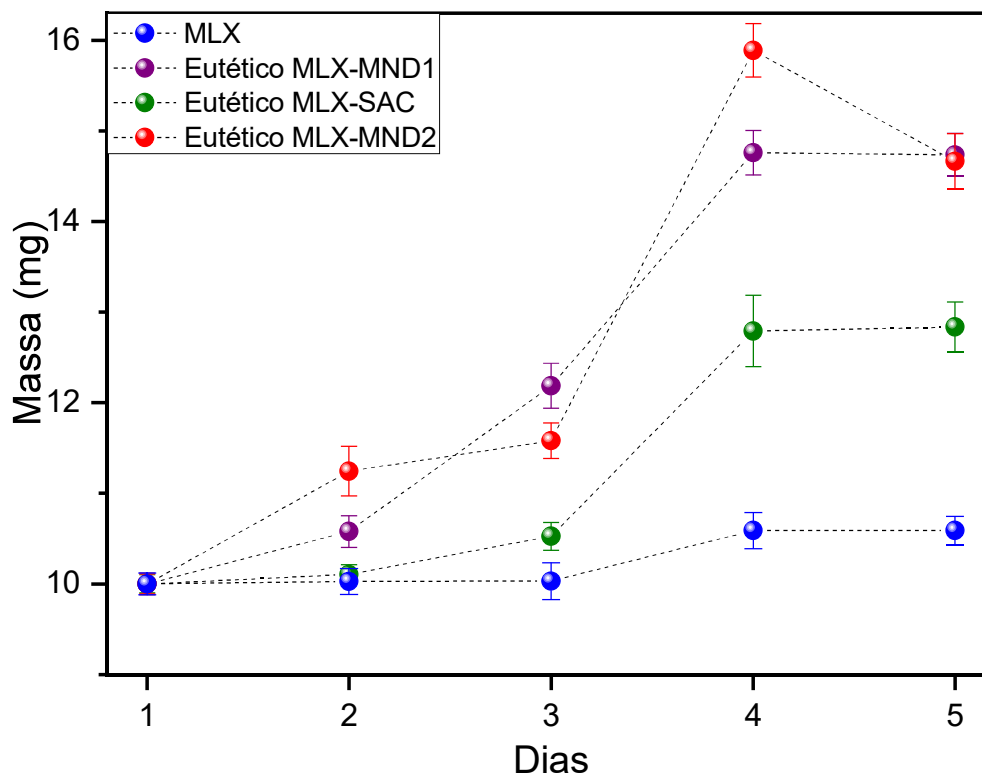
Fonte: Autor.

4.3.5 Higroscopicidade

O ganho de massa dos eutéticos e do MLX em relação a higroscopicidade das amostras quando armazenadas em atmosfera com umidade relativa de 98% é mostrado na Figura 53. O MLX exibe um aumento mais lento da massa com quase nenhuma alteração até o dia 3 e uma variação de massa de 5,8% no dia 4. O eutético MLX-MND exibe a maior alteração de massa, sendo que o eutético MLX-MND2 apresentou o maior ganho de massa no dia 4, com aumento de 58,9%. Após o dia 4, o eutética MLX-MND2 apresenta uma diminuição no valor de massa, podendo tal efeito ser correlacionado com a transição polimórfica reversível. A deliquescência ocorre no dia 6 para todos os materiais sintetizados e não é observada no MLX. O eutético MLX-SAC exibe comportamento intermediário quando comparada ao MLX e aos eutéticos MLX-MND, com aumento de 5,2% no dia 3 e 27,9% no dia 4. Embora a solubilidade e a higroscopicidade não estejam tão correlacionadas em substâncias diferentes, como alguns sais que exibem um aumento na solubilidade, mas menor higroscopicidade¹⁰². Existe um padrão observado para as amostras analisadas na ordem de solubilidade e higroscopicidade MLX-

MND 2> MLX-MND 1> MLX-SAC> MLX ao considerar o dia 4 e MLX-MND> MLX-SAC> MLX no dia 5.

Figura 53. Teste de higroscopicidade do MLX e eutéticos MLX-MND1, MLX-SAC e MLX-MND2 em 1, 2, 3, 4 e 5 dias, n=3.



Fonte: Autor.

Segundo Cherukuvada e Nangia⁵⁷, há uma tendência qualitativa entre o ponto de fusão do eutético e sua estabilidade higroscópica, onde um ponto de fusão mais alto do eutético leva a uma menor tendência à higroscopicidade. Comparando a higroscopicidade das formas eutéticas MLX-MND, observa-se a mesma tendência de alteração da massa após 5 dias. O eutético MLX-SAC apresentou uma menor tendência de ganho de massa em relação ao MLX-MND eutético, o que pode estar associado ao fato de o eutético MLX-SAC apresentar uma temperatura de fusão mais alta que o eutético MLX-MND, garantindo maior estabilidade. No entanto, essa correlação não explica o comportamento de polimorfos que podem ter pontos de fusão próximos com higroscopicidade distinta. Uma abordagem melhor considerando não apenas a entalpia (ponto de fusão), mas também a entropia (organização) desses sólidos é explicada por Thakuria e colaboradores²⁶. A umidade pode interagir com os sólidos de quatro maneiras diferentes: adsorção, absorção, deliquescência e incorporação da rede. Sob ambiente de alta umidade, várias camadas são formadas pela forte interação entre as moléculas de água

e a superfície, resultando em instabilidade química. Os distintos empacotamentos ou arranjos conformacionais nos polimorfos podem resultar em interações distintas entre a interface sólida e a água. Dessa maneira, os polimorfos se comportam de maneira diferente quando expostos a umidade.

4.4 CONCLUSÃO

O MND e SAC foram capazes de formar misturas eutéticas com meloxicam pela metodologia LAG. O triângulo de Tamman e o diagrama de fases binárias sugerem a composição eutética ideal de 1:2 para MLX-MND e 1:2 para MLX-SAC. A solubilidade dos eutéticos foi maior em 24 horas quando comparada ao MLX puro, com uma taxa de dissolução lenta até 480 minutos. O eutético MLX-MND2 apresenta a maior solubilidade em 24 horas e higroscopicidade no dia 4 em comparação a todos os outros materiais. O comportamento térmico dos eutéticos em relação ao MLX apresentou mudanças, com ponto de fusão e degradação distintos, visualizados por vídeo e analisados pelas curvas TG-DSC e DSC. As técnicas espectroscópicas e a análise térmica ajudaram a identificar uma nova forma polimórfica no eutético MLX-MND. O presente estudo ajuda a entender e explorar eutéticos desde a sua formação até a aplicação como uma ferramenta para modificar propriedades físico-químicas de fármaco.

CAPÍTULO 5 – VALIDAÇÃO DO METODO DE QUANTIFICAÇÃO

5 VALIDAÇÃO DO METODO DE QUANTIFICAÇÃO

5.1 INTRODUÇÃO

A espectrofotometria UV-Vis é a principal técnica analítica quantitativa relacionada à absorção de radiação UV (180–390 nm) ou visível (390–780 nm) por espécies químicas em solução¹⁰³. Essas regiões do espectro eletromagnético fornecem energia que dá origem às transições eletrônicas. Devido a sobreposição das transições vibracionais e rotacionais, o espectro UV-visível dos analitos em solução mostra pouca estrutura fina, por esse motivo, a técnica não é comumente usada para identificação (embora todas as moléculas tenham um comprimento de onda de absorção máxima), mas é uma das técnicas mais amplamente utilizadas para análises quantitativas. Sob condições experimentais controladas, a quantidade de radiação absorvida pode estar diretamente relacionada à concentração do analito na solução (lei de Beer). Ele pode ser usado para quantificar espécies orgânicas (principalmente no UV) e inorgânicas (principalmente no visível).

Alguns métodos são reportados na literatura utilizando UV-Vis para a quantificação do MLX em diferentes formulações^{104–107}, o que demonstra a aplicabilidade da técnica para a quantificação do fármaco.

A validação de uma metodologia analítica é uma etapa importante, tendo em vista a confiabilidade dos resultados obtidos e a reprodutibilidade analítica do método. O procedimento é realizado analisando diferentes parâmetros, chamados de figuras de mérito, como: precisão, exatidão, robustez, limite de detecção (LD), limite de quantificação (LQ), especificidade, seletividade, linearidade entre outros. Vale destacar, que existe diferenças nos parâmetros avaliados tendo em vista o tipo de método utilizado, caso seja um procedimento novo, padrão, modificado, quando a técnica será utilizada apenas com caráter qualitativo, quando será avaliado a concentração em níveis elevados ou baixos, sendo os parâmetros demonstrados na Tabela 6 segundo normativa da Agencia Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA)¹⁰⁸.

Tabela 6. Parâmetros analisados em uma validação analítica.

Tipo de Método	Novo	Padrão	Modificado	Qualitativo	Quantitativo (nível elevado)	Quantitativo (nível baixo)
Exatidão	✓	✓	✓	✗	✓	✓
Repetitividade	✓	✓	✓	✗	✓	✓
Reprodutibilidade	✓	☑	☑	✗	✓	✓
LD	☑	☑	✗	✓	✗	✓
LQ	☑	☑	☑	✗	✗	✓
Linearidade	✓	☑	✗	✗	✓	✗
Especificidade	✓	✗	✗	✓	✓	✓
Robustez	✓	✗	✗	✓	✓	✓

✓ Obrigatório; ☑ Se relevante; ✗ Não necessário

Fonte: Autor.

5.2 MATERIAL E MÉTODOS

5.2.1 Linearidade

A linearidade é a capacidade que um método tem de reproduzir resultados diretamente proporcionais à concentração do analito, observando uma faixa específica de trabalho¹⁰⁸. Ela foi avaliada pela média de três curvas analíticas com sete níveis de concentrações (9 µg/mL, 11 µg/mL, 13 µg/mL, 15 µg/mL, 17 µg/mL, 19 µg/mL, 21 µg/mL), sendo realizado a triplicata de cada ponto.

5.2.2 Seletividade

A seletividade é a capacidade do método de mensurar um composto na presença de outros componentes, como produtos de degradação, diferentes impurezas, excipientes, entre outros¹⁰⁸. Dessa maneira, a seletividade foi comprovada pela comparação da resposta obtida do MLX e os componentes utilizados: ácido mandélico, ácido málico, ácido salicílico, ácido fumárico e sacarina.

5.2.3 Exatidão

A exatidão revela a concordância entre um determinado valor em relação a um valor referência tomado como verdadeiro¹⁰⁸. A exatidão foi determinada através do cálculo da

concentração dos sete níveis descritos na linearidade com seis replicatas para cada concentração. O valor experimental foi comparado com o valor calculado tendo como base a função da reta obtida. A recuperação foi calculada tendo como base o valor observado experimentalmente dividido pelo valor calculado.

5.2.4 Precisão

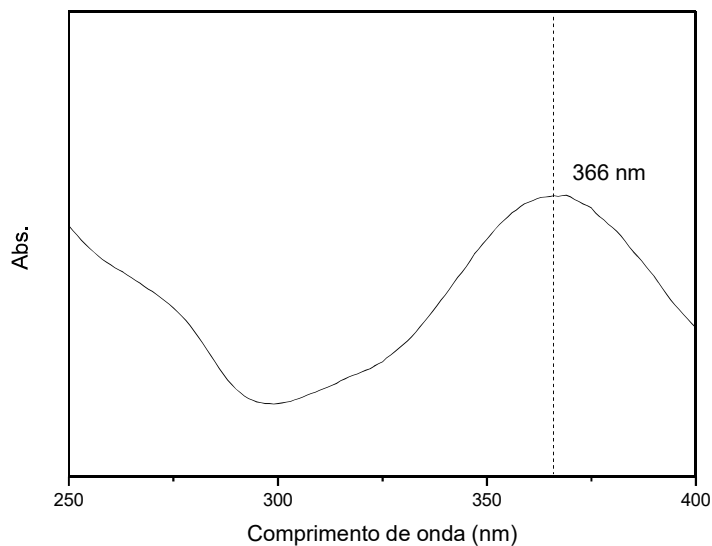
A precisão foi avaliada por meio de três níveis de concentrações da curva analítica: baixo (9 $\mu\text{g/mL}$), médio (13 $\mu\text{g/mL}$) e alto (19 $\mu\text{g/mL}$), no mesmo dia sob as mesmas condições experimentais, método, equipamento e pelo mesmo analista¹⁰⁸, sendo realizado seis replicatas para cada.

A precisão intercorrida ou intermediária foi realizada nas mesmas condições, com analistas diferentes em dias diferentes e consecutivos, sendo realizado seis replicatas para cada. Os resultados foram analisados através do coeficiente de variação. A proximidade entre os resultados obtidos na repetibilidade e na precisão intermediária foi verificada, calculando-se o desvio padrão (DP) e desvio padrão relativo (DPR).

5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todos os testes referentes a validação foram realizados em solução tampão de fosfato de sódio (pH=6.8). O MLX demonstrou um máximo de absorção em 366 nm, valor de acordo com valores previamente reportados¹⁰⁴.

Figura 54. Espectro de absorção no UV da solução de MLX.



Fonte: Autor.

A linearidade final foi calculada tendo como base a média dos valores de três curvas analíticas (Linearidade 1, Linearidade 2, Linearidade 3). Os valores relativos as absorbâncias, DP e DPR são encontrados nas **Tabela 7**, **Tabela 8**, **Tabela 9** e **Tabela 10**. Analisando os dados das tabelas, o método apresenta uma linearidade em toda a faixa de concentração de 0-19 µg/mL, o desvio padrão relativo foi menor que 5%, possuindo um coeficiente de correlação (R^2) maior que 0,99, indicando que existe uma correlação entre as concentrações analisadas e as absorbâncias observadas. A equação da reta referente a linearidade final é encontrada na **Figura 55**.

Tabela 7. Curva analítica referente a Linearidade 1.

ug/ml	1	2	3	Média	DP	DPR
0	0,001	0,001	0,001	0,001	0,000	3,587
9	0,098	0,098	0,098	0,098	0,000	0,257
11	0,126	0,125	0,123	0,125	0,001	1,009
13	0,145	0,146	0,146	0,146	0,001	0,442
15	0,175	0,179	0,176	0,176	0,002	1,223
17	0,211	0,211	0,208	0,210	0,002	0,812
19	0,230	0,235	0,231	0,232	0,002	1,019

Fonte: Autor.

Tabela 8. Curva analítica referente a Linearidade 2.

ug/ml	1	2	3	Média	DP	DPR
0	0,001	0,001	0,001	0,001	0,000	0,000
9	0,098	0,096	0,093	0,096	0,002	2,411
11	0,123	0,125	0,127	0,125	0,002	1,492
13	0,143	0,143	0,144	0,143	0,001	0,351
15	0,178	0,177	0,178	0,178	0,001	0,289
17	0,211	0,209	0,209	0,210	0,001	0,397
19	0,231	0,230	0,230	0,230	0,001	0,345

Fonte: Autor.

Tabela 9. Curva analítica referente a Linearidade 3.

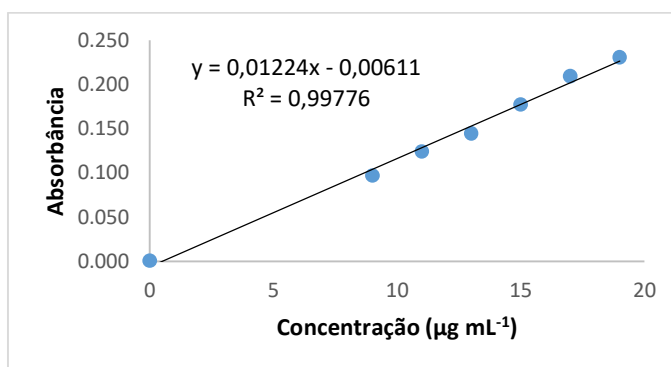
ug/ml	1	2	3	Média	DP	DPR
0	0,001	0,001	0,001	0,001	0,000	0,000
9	0,097	0,099	0,099	0,098	0,001	0,887
11	0,124	0,123	0,124	0,124	0,000	0,352
13	0,144	0,145	0,147	0,145	0,002	1,107
15	0,179	0,178	0,178	0,178	0,001	0,338
17	0,209	0,209	0,210	0,209	0,000	0,199
19	0,230	0,232	0,231	0,231	0,001	0,288

Fonte: Autor.

Tabela 10. Curva analítica referente a Linearidade Final

ug/ml	1	2	3	Média	DP	DPR
0	0,001	0,001	0,001	0,001	0,000	1,902
9	0,098	0,096	0,098	0,097	0,002	1,573
11	0,125	0,125	0,124	0,124	0,001	0,431
13	0,146	0,143	0,145	0,145	0,001	0,764
15	0,176	0,178	0,178	0,177	0,001	0,554
17	0,210	0,210	0,209	0,210	0,000	0,192
19	0,232	0,230	0,231	0,231	0,001	0,381

Fonte: Autor.

Figura 55. Curva analítica, equação da reta e coeficiente de correlação referente a linearidade final do método de quantificação do MLX.

Fonte: Autor.

A equação da reta determinada pelo método dos mínimos quadrados apresentou os valores de 0,01224 para o coeficiente angular e -0,00611 para o coeficiente linear.

A precisão do método entre analistas conforme pode ser observada na Tabela 11 e Tabela 12.

Tabela 11. Valores de absorbância para determinar precisão entre analistas.

Analista 1									
ug/ml	1	2	3	4	5	6	Média	DP	DPR
9	0,095	0,095	0,098	0,097	0,094	0,095	0,096	0,00	1,702
13	0,149	0,140	0,143	0,145	0,149	0,145	0,147	0,00	1,794
19	0,239	0,234	0,236	0,235	0,235	0,230	0,235	0,00	0,705
Analista 2									
ug/ml	1	2	3	4	5	6	Média	DP	DPR
9	0,098	0,098	0,098	0,098	0,098	0,098	0,098	0,00	0,344
13	0,145	0,146	0,147	0,146	0,145	0,143	0,146	0,00	0,931
19	0,231	0,234	0,236	0,238	0,234	0,236	0,236	0,00	0,935

Fonte: Autor.

Tabela 12. Valores finais de absorbância para a precisão entre analistas.

PRECISÃO INTERMEDIÁRIA			
	9	13	19
ANALISTA 1	0,096	0,147	0,235
ANALISTA 2	0,098	0,146	0,236
Média	0,097	0,146	0,236
DP	0,002	0,001	0,001
DPR	1,751	0,456	0,318

Fonte: Autor.

Em conjunto foi avaliado a precisão intra e inter dias.

Tabela 13. Precisão do método inter e intradia.

ug/ml	Dia	1	2	3	4	5	6	Média	DP	DPR	DPR*
9	1	0,098	0,097	0,096	0,098	0,097	0,099	0,097	0,001	1,196	0,645
9	2	0,097	0,096	0,093	0,096	0,097	0,095	0,096	0,000	0,832	
13	1	0,143	0,144	0,143	0,143	0,146	0,143	0,145	0,001	1,115	0,425
13	2	0,145 0	0,145	0,144	0,143	0,144	0,143	0,144	0,000	0,483	
19	1	0,231	0,232	0,233	0,233	0,231	0,234	0,232	0,001	0,517	0,230
19	2	0,231	0,234	0,233	0,233	0,233	0,231	0,233	0,001	0,448	

DPR* = DPR em relação a precisão inter dia.

Fonte: Autor.

Através das análises dos resultados obtidos para precisão, é possível constatar um DPR < 5%, indicando a precisão do método inter dia, intradia e entre analistas.

A exatidão foi calculada comparando os valores teóricos com experimentais, sendo os resultados demonstrado na **Tabela 14**.

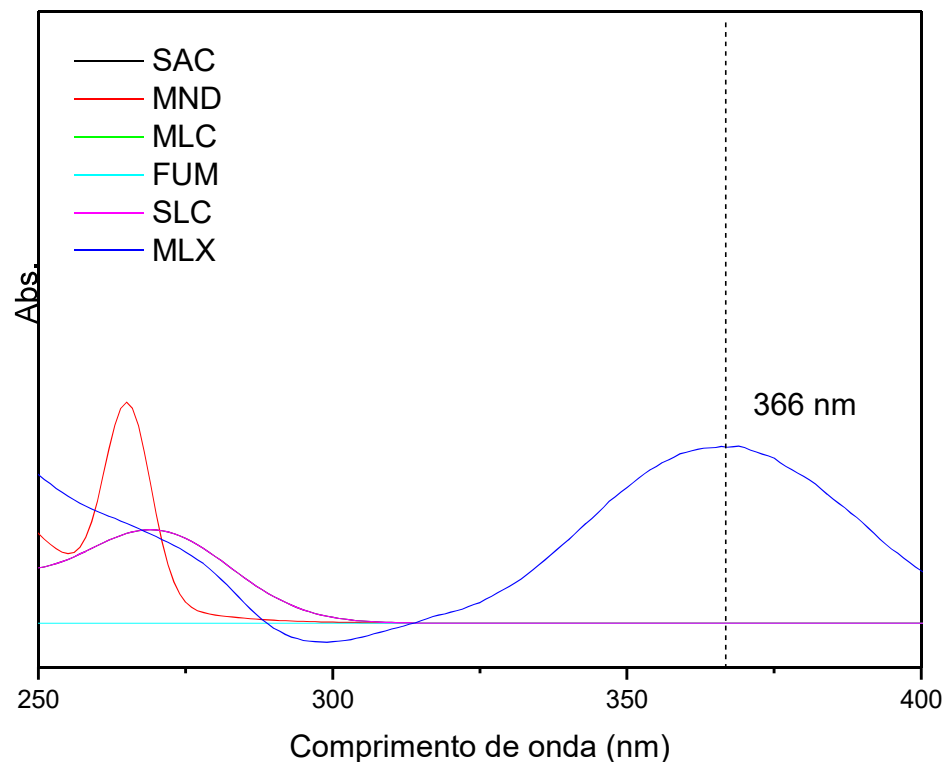
Tabela 14. Tabela dos resultados de exatidão.

x (ug/mL)	yobs	ycal	DP	Recuperação
0	0.001	0.001	0.000	98%
9	0.099	0.104	0.004	95%
11	0.124	0.129	0.003	96%
13	0.145	0.153	0.006	95%
15	0.178	0.178	0.000	100%
17	0.209	0.202	0.005	103%
19	0.231	0.227	0.003	102%

Fonte: Autor.

Afim de se avaliar a interferência dos componentes estudados: MLC, FUM, MND, SAC e SLC, em relação a quantificação do MLX, foi observado a absorção de todos os componentes na faixa de concentração entre 250-400 nm (**Figura 56**). É possível notar que não existe interferência no sinal relativo ao comprimento de onda 366 nm, que é utilizado como comprimento de onda máximo para a quantificação de MLX.

Figura 56. Absorção UV de todos os componentes estudados na faixa de comprimento de onda de 250-400 nm.



Fonte: Autor.

5.4 CONCLUSÃO

O método de quantificação proposto por espectrofotometria UV-Vis se demonstrou eficaz para a quantificação do MLX na faixa de concentração de 9 a 19 $\mu\text{g/ml}$, sendo linear, preciso, exato e seletivo para o analito de interesse.

Os componentes estudados não demonstraram ter interferência no comprimento de onda escolhido para a quantificação do MLX (366 nm).

Os resultados obtidos para todos os parâmetros estudados se demonstraram satisfatórios tendo em vista o DPR relativo menor que 5%, com valores dentro do estipulado para quantificação de materiais farmacêuticos estabelecido pela ANVISA.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente trabalho demonstrou a efetividade de metodologias que visam alterar a forma sólida de IFAs buscando a melhora de propriedades físicas e químicas. Apesar de efetivo, o processo de triagem por novas formas sólidas ainda se demonstra desafiador, muitos parâmetros e estudos devem ser realizados até a obtenção de um material desejado, e após tal procedimento, o processo de caracterização e compreensão das interações formadas é laborioso até se chegar em uma classificação do sólido formado.

Ambas as formas sólidas formadas (eutético e cocrystal) demonstraram uma solubilidade aquosa maior frente ao fármaco puro MLX, porém, nem todos os sólidos sintetizados apresentaram um aumento significativo, o que enfatiza a necessidade de síntese com uma ampla gama de componentes até se chegar no produto farmacêutico desejado.

As técnicas espectroscópicas serviram para entender melhor o processo de interação entre os componentes, enquanto as difratométricas indicavam a formação ou não de uma nova fase cristalina. As técnicas termoanalíticas auxiliaram no processo de triagem, indicando se houve ou não a formação de uma nova forma sólida através da interação dos componentes no estado sólido que levavam a uma modificação no perfil observado nas curvas TG e DSC. Vale ressaltar, que nenhuma técnica foi utilizada isoladamente, sendo o trabalho para a identificação, classificação e compreensão das formas sólidas um conjunto de resultados de diferentes técnicas analíticas, demonstrando a importância do conhecimento multidisciplinar dentro da química analítica.

Em relação a metodologia de moagem assistida por solvente adotada, foi verificada que ela se demonstra efetiva, rápida e de baixo custo, tendo em vista outras metodologias reportadas na literatura que fazem uso de temperatura, solvente e tempo em larga escala.

A quantificação por UV-Vis se demonstrou viável através da análise de diversos parâmetros avaliados durante o procedimento de validação do método, demonstrando que os resultados obtidos sobre a solubilidade aquosa dos materiais são confiáveis, precisos, exatos e reprodutíveis.

REFERÊNCIAS

1. Vioglio, P. C.; Chierotti, M. R.; Gobetto, R. APIs and characterization challenges PT NU SC. **Advanced Drug Delivery Reviews**, 2017. doi:10.1016/j.addr.2017.07.001.
2. Pindelska, E.; Sokal, A.; Kolodziejcki, W. Pharmaceutical cocrystals, salts and polymorphs: Advanced characterization techniques. **Advanced Drug Delivery Reviews**, 2017. doi:10.1016/j.addr.2017.09.014.
3. Guillory, J. K. Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use Edited by P. Heinrich Stahl and Camile G. Wermuth. VHCA, Verlag Helvetica Chimica Acta, Zürich, Switzerland, and Wiley-VCH, Weinheim, Germany. 2002. vii + 374 pp. 17.5 × 24.5 cm. ISBN 3-9063. **Journal of Medicinal Chemistry**, 2003. doi:10.1021/jm030019n.
4. Stahly, G. P. Diversity in Single- and Multiple-Component Crystals. The Search for and Prevalence of Polymorphs and Cocrystals. **Crystal Growth & Design**, 2007. doi:10.1021/cg060838j.
5. Bavishi, D. D.; Borkhataria, C. H. Spring and parachute: How cocrystals enhance solubility. **Progress in Crystal Growth and Characterization of Materials**, 2016. doi:10.1016/j.pcrysrow.2016.07.001.
6. Sanphui, P.; Mishra, M. K.; Ramamurty, U.; Desiraju, G. R. Tuning Mechanical Properties of Pharmaceutical Crystals with Multicomponent Crystals: Voriconazole as a Case Study. **Molecular Pharmaceutics**, 2015. doi:10.1021/mp500719t.
7. Machado, T. C.; Gelain, A. B.; Rosa, J.; Cardoso, S. G.; Caon, T. Cocrystallization as a novel approach to enhance the transdermal administration of meloxicam. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, 2018. doi:10.1016/j.ejps.2018.07.038.
8. Takagi, T.; Ramachandran, C.; Bermejo, M.; Yamashita, S.; Yu, L. X.; Amidon, G. L. A Provisional Biopharmaceutical Classification of the Top 200 Oral Drug Products in the United States, Great Britain, Spain, and Japan. **Molecular Pharmaceutics**, 2006. doi:10.1021/mp0600182.
9. Kaufman, tS; Vignaduzzo, S.; Castellano, P. Development and Validation of a Dissolution Test for Meloxicam and Pridinol Mesylate from Combined Tablet Formulation. **Indian Journal of Pharmaceutical Sciences**, 2010. doi:10.4103/0250-474X.65033.
10. Chen, J.; Gao, Y. Strategies for meloxicam delivery to and across the skin: a review. **Drug Delivery**, 2016. doi:10.3109/10717544.2016.1157839.
11. Mantri, R. V.; Sanghvi, R.; Zhu, H. J. Solubility of pharmaceutical solids. Elsevier Inc.; 2017. doi:10.1016/B978-0-12-802447-8.00001-7.
12. Savjani, K. T.; Gajjar, A. K.; Savjani, J. K. Drug Solubility: Importance and Enhancement Techniques. **ISRN Pharmaceutics**, 2012. doi:10.5402/2012/195727.
13. Nič, M.; Jirá, J.; Košata, B.; Jenkins, A.; McNaught, A., editors. IUPAC Compendium of Chemical Terminology. Research Triangle Park, NC: IUPAC; 2009. doi:10.1351/goldbook.
14. U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration (CDER), C. for D. E. and R. Waiver of In Vivo Bioavailability and Bioequivalence Studies for Immediate-Release Solid Oral Dosage Forms Based on a Biopharmaceutics Classification System. **Biopharmaceutics**, 2017.

15. Byrn, S. R.; Zografi, G.; Chen, X. S. Solid State Properties of Pharmaceutical Materials. Hoboken: John Wiley & Sons, Inc.; 2017. doi:10.1002/9781119264408.
16. **Dosage Form Design Considerations**. Elsevier; 2018. doi:10.1016/C2017-0-01072-8.
17. Cerreia Vioglio, P.; Chierotti, M. R.; Gobetto, R. Pharmaceutical aspects of salt and cocrystal forms of APIs and characterization challenges. **Advanced Drug Delivery Reviews**, 2017. doi:10.1016/j.addr.2017.07.001.
18. Aaltonen, J.; Allesø, M.; Mirza, S.; Koradia, V.; Gordon, K. C.; Rantanen, J. Solid form screening - A review. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, 2009. doi:10.1016/j.ejpb.2008.07.014.
19. Bhatia, A.; Chopra, S.; Nagpal, K.; Deb, P. K.; Tekade, M.; Tekade, R. K. Polymorphism and its Implications in Pharmaceutical Product Development. **Dosage Form Design Parameters**, Elsevier; 2018. doi:10.1016/B978-0-12-814421-3.00002-6.
20. Bhatia, A.; Chopra, S.; Nagpal, K.; Deb, P. K.; Tekade, M.; Tekade, R. K. Polymorphism and its Implications in Pharmaceutical Product Development. **Dosage Form Design Parameters**, Elsevier; 2018, p. 31–65. doi:10.1016/B978-0-12-814421-3.00002-6.
21. Yihong Qiu, Yisheng Chen, Geoff G. Z. Zhang, L. Y. and R. V. M. **Developing Solid Oral Dosage Forms** 2nd Edition. 2017.
22. Di Martino, P.; Guyot-Hermann, A.-M.; Conflant, P.; Drache, M.; Guyot, J.-C. A new pure paracetamol for direct compression: The orthorhombic form. **International Journal of Pharmaceutics**, 1996. doi:10.1016/0378-5173(95)04127-3.
23. Perlovich, G. L.; Volkova, T. V.; Bauer-Brandl, A. Polymorphism of paracetamol. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, 2007. doi:10.1007/s10973-006-7922-6.
24. Byrn, S. R.; Xu, W.; Newman, A. W. Chemical reactivity in solid-state pharmaceuticals: formulation implications. **Advanced Drug Delivery Reviews**, 2001. doi:10.1016/S0169-409X(01)00102-8.
25. Yadav, A.; Shete, A.; Dabke, A.; Kulkarni, P.; Sakhare, S. Co-crystals: A novel approach to modify physicochemical properties of active pharmaceutical ingredients. **Indian Journal of Pharmaceutical Sciences**, 2009. doi:10.4103/0250-474X.57283.
26. Thakuria, R.; Thakur, T. S. **Crystal Polymorphism in Pharmaceutical Science**. Compr. Supramol. Chem. II, Elsevier; 2017. doi:10.1016/B978-0-12-409547-2.12570-3.
27. Couillaud, B. M.; Espeau, P.; Mignet, N.; Corvis, Y. State of the Art of Pharmaceutical Solid Forms : from Crystal Property Issues to Nanocrystals Formulation, 2019. doi:10.1002/cmdc.201800612.
28. Bharate, S. S. Journal of Pre of. **Drug Discovery Today**, 2020. doi:10.1016/j.drudis.2020.11.016.
29. Serajuddin, A. T. M. Salt formation to improve drug solubility. **Advanced Drug Delivery Reviews**, 2007. doi:10.1016/j.addr.2007.05.010.
30. Elder, D. P.; Holm, R.; Diego, H. L. de. Use of pharmaceutical salts and cocrystals to address the issue of poor solubility. **International Journal of Pharmaceutics**, 2013. doi:10.1016/j.ijpharm.2012.11.028.

31. Berry, D. J.; Steed, J. W. and property based design NU SC. **Advanced Drug Delivery Reviews**, 2017. doi:10.1016/j.addr.2017.03.003.
32. Book, O.; Saal, C.; Becker, A. European Journal of Pharmaceutical Sciences
Pharmaceutical salts : A summary on doses of salt formers from the. **EUROPEAN JOURNAL OF PHARMACEUTICAL SCIENCES**, 2013.
doi:10.1016/j.ejps.2013.05.026.
33. Healy, A. M.; Worku, Z. A.; Kumar, D.; Madi, A. M. Pharmaceutical solvates, hydrates and amorphous forms: A special emphasis on cocrystals. **Advanced Drug Delivery Reviews**, 2017. doi:10.1016/j.addr.2017.03.002.
34. Sathisaran, I.; Dalvi, S. Engineering Cocrystals of Poorly Water-Soluble Drugs to Enhance Dissolution in Aqueous Medium. **Pharmaceutics**, 2018.
doi:10.3390/pharmaceutics10030108.
35. Groom, C. R.; Bruno, I. J.; Lightfoot, M. P.; Ward, S. C. The Cambridge Structural Database. **Acta Crystallographica Section B Structural Science, Crystal Engineering and Materials**, 2016. doi:10.1107/S2052520616003954.
36. Fda. Guidance for Industry Regulatory Classification of Pharmaceutical Co-Crystals
Guidance for Industry Regulatory Classification of Pharmaceutical Co-Crystals.
Federal Register, FDA, 2018.
37. Cherukuvada, S.; Guru Row, T. N. Comprehending the Formation of Eutectics and Cocrystals in Terms of Design and Their Structural Interrelationships. **Crystal Growth & Design**, 2014. doi:10.1021/cg500790q.
38. Gascon, N.; Almansa, C.; Merlos, M.; Miguel Vela, J.; Encina, G.; Morte, A.; Smith, K.; Plata-Salamán, C. Co-crystal of tramadol-celecoxib: preclinical and clinical evaluation of a novel analgesic. **Expert Opinion on Investigational Drugs**, 2019.
doi:10.1080/13543784.2019.1612557.
39. Gadade, D. D.; Pekamwar, S. S. Pharmaceutical Cocrystals: Regulatory and Strategic Aspects, Design and Development. **Advanced Pharmaceutical Bulletin**, 2016.
doi:10.15171/apb.2016.062.
40. Karagianni, A.; Malamatar, M.; Kachrimanis, K. Pharmaceutical Cocrystals: New Solid Phase Modification Approaches for the Formulation of APIs. **Pharmaceutics**, 2018. doi:10.3390/pharmaceutics10010018.
41. Kumar, A.; Kumar, S.; Nanda, A. A review about regulatory status and recent patents of pharmaceutical co-crystals. **Advanced Pharmaceutical Bulletin**, 2018.
doi:10.15171/apb.2018.042.
42. Medicine, U. S. N. L. of. Co-crystal E-58425 vs Tramadol and Celecoxib for Moderate to Severe Acute Pain After Bunionectomy. Phase III Clinical Trial. **ClinicalTrialsGov**, 2018.
43. Lusi, M. Engineering Crystal Properties through Solid Solutions. **Crystal Growth and Design**, 2018. doi:10.1021/acs.cgd.7b01643.
44. Mantri, R. V.; Sanghvi, R.; Zhu, H. J. **Solubility of pharmaceutical solids**. Elsevier Inc.; 2017. doi:10.1016/B978-0-12-802447-8.00001-7.
45. Cherukuvada, S.; Guru Row, T. N. Comprehending the formation of eutectics and cocrystals in terms of design and their structural interrelationships. **Crystal Growth and Design**, 2014. doi:10.1021/cg500790q.

46. Cherukuvada, S.; Nangia, A. Eutectics as improved pharmaceutical materials: Design, properties and characterization. **Chemical Communications**, 2014. doi:10.1039/c3cc47521b.
47. Ambrus, R.; Kocbek, P.; Kristl, J.; Šibanc, R.; Rajkó, R.; Szabó-Révész, P. Investigation of preparation parameters to improve the dissolution of poorly water-soluble meloxicam. **International Journal of Pharmaceutics**, 2009. doi:10.1016/j.ijpharm.2009.07.009.
48. Luger, P.; Daneck, K.; Engel, W.; Trummlitz, G.; Wagner, K. Structure and physicochemical properties of meloxicam, a new NSAID. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, 1996. doi:10.1016/0928-0987(95)00046-1.
49. Cheney, M. L.; Weyna, D. R.; Shan, N.; Hanna, M.; Wojtas, L.; Zaworotko, M. J. Supramolecular Architectures of Meloxicam Carboxylic Acid Cocrystals, a Crystal Engineering Case Study. **Crystal Growth & Design**, 2010. doi:10.1021/cg100514g.
50. Cysewski, P. Intermolecular interaction as a direct measure of water solubility advantage of meloxicam cocrystalized with carboxylic acids. **Journal of Molecular Modeling**, 2018. doi:10.1007/s00894-018-3649-0.
51. Studies, B. MCM-41 for Meloxicam Dissolution Improvement: 2015.
52. Weyna, D. R.; Cheney, M. L.; Shan, N.; Hanna, M.; Zaworotko, M. J.; Sava, V.; Song, S.; Sanchez-Ramos, J. R. Improving Solubility and Pharmacokinetics of Meloxicam via Multiple-Component Crystal Formation. **Molecular Pharmaceutics**, 2012. doi:10.1021/mp300169c.
53. Han, H.-K.; Choi, H.-K. Improved absorption of meloxicam via salt formation with ethanolamines. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, 2007. doi:10.1016/j.ejpb.2006.07.003.
54. Myz, S. A.; Shakhshneider, T. P.; Fucke, K.; Fedotov, A. P.; Boldyreva, E. V.; Boldyrev, V. V.; Kuleshova, N. I. Synthesis of co-crystals of meloxicam with carboxylic acids by grinding. **Mendeleev Communications**, 2009. doi:10.1016/j.mencom.2009.09.014.
55. Weyna, D. R.; Cheney, M. L.; Shan, N.; Hanna, M.; Zaworotko, M. J.; Sava, V.; Song, S.; Sanchez-Ramos, J. R. Improving solubility and pharmacokinetics of meloxicam via multiple-component crystal formation. **Molecular Pharmaceutics**, 2012. doi:10.1021/mp300169c.
56. Bugay, D. E. Characterization of the solid-state: spectroscopic techniques. **Advanced Drug Delivery Reviews**, 2001. doi:10.1016/S0169-409X(01)00101-6.
57. Cherukuvada, S.; Nangia, A. Eutectics as improved pharmaceutical materials: Design, properties and characterization. **Chemical Communications**, 2014. doi:10.1039/c3cc47521b.
58. Peltonen, L. Practical guidelines for the characterization and quality control of pure drug nanoparticles and nano-cocrystals in the pharmaceutical industry. **Advanced Drug Delivery Reviews**, 2018. doi:10.1016/j.addr.2018.06.009.
59. Ionashiro, M.; Caires, F. J.; Gomes, D. J. C. Giolito **Fundamentos de Termogravimetria e Análise Térmica Diferencial/Calorimetria Exploratória Diferencial**. 2°. Equipe Giz Editorial; 2014.

60. Giron, D. Applications of thermal analysis and coupled techniques in pharmaceutical industry. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, 2002. doi:10.1023/A:1016015113795.
61. Brittain, H. G. **Characterization of Pharmaceutical Compounds in the Solid State**. Sep. Sci. Technol. 2011. doi:10.1016/B978-0-12-375680-0.00002-4.
62. Douroumis, D.; Ross, S. A.; Nokhodchi, A. Advanced methodologies for cocrystal synthesis. **Advanced Drug Delivery Reviews**, 2017. doi:10.1016/j.addr.2017.07.008.
63. Franzé, J. A.; Carvalho, T. F.; Gaglieri, C.; Caires, F. J.; Bannach, G.; Castro, R. C.; Treu-Filho, O.; Ionashiro, M.; Mendes, R. A. Synthesis, characterization, thermal and spectroscopic studies and bioactivity of complexes of meloxicam with some bivalent transition metals. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, 2017. doi:10.1007/s10973-016-6030-5.
64. Fernandes, R. P.; do Nascimento, A. L. C. S.; Carvalho, A. C. S.; Teixeira, J. A.; Ionashiro, M.; Caires, F. J. Mechanochemical synthesis, characterization, and thermal behavior of meloxicam cocrystals with salicylic acid, fumaric acid, and malic acid. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, 2019. doi:10.1007/s10973-019-08118-7.
65. Oliveira, É. D. F. S.; Azevedo, R. D. C. P.; Bonfilio, R.; Oliveira, D. B. de; Ribeiro, G. P.; Araújo, M. B. de. Dissolution test optimization for meloxicam in the tablet pharmaceutical form. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, 2009. doi:10.1590/S1984-82502009000100008.
66. Karagianni, A.; Malamataris, M.; Kachrimanis, K. Pharmaceutical cocrystals: New solid phase modification approaches for the formulation of APIs. **Pharmaceutics**, 2018. doi:10.3390/pharmaceutics10010018.
67. Ionashiro, E. Y.; Caires, F. J.; Siqueira, A. B.; Lima, L. S.; Carvalho, C. T. Thermal behaviour of fumaric acid, sodium fumarate and its compounds with light trivalent lanthanides in air atmosphere. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, 2012. doi:10.1007/s10973-011-1660-0.
68. Kim, S.; Thiessen, P. A.; Bolton, E. E.; Chen, J.; Fu, G.; Gindulyte, A.; Han, L.; He, J.; He, S.; Shoemaker, B. A.; Wang, J.; Yu, B.; Zhang, J.; Bryant, S. H. PubChem Substance and Compound databases. **Nucleic Acids Research**, 2016. doi:10.1093/nar/gkv951.
69. Cherukuvada, S.; Nangia, A. Eutectics as improved pharmaceutical materials: design, properties and characterization. **Chem Commun**, 2014. doi:10.1039/C3CC47521B.
70. Figueirêdo, C. B. M.; Nadvorný, D.; de Medeiros Vieira, A. C. Q.; Soares Sobrinho, J. L.; Rolim Neto, P. J.; Lee, P. I.; de La Roca Soares, M. F. Enhancement of dissolution rate through eutectic mixture and solid solution of posaconazole and benznidazole. **International Journal of Pharmaceutics**, 2017. doi:10.1016/j.ijpharm.2017.04.021.
71. Hyun, S.-M.; Lee, B. J.; Abuzar, S. M.; Lee, S.; Joo, Y.; Hong, S.-H.; Kang, H.; Kwon, K.-A.; Velaga, S.; Hwang, S.-J. Preparation, characterization, and evaluation of celecoxib eutectic mixtures with adipic acid/saccharin for improvement of wettability and dissolution rate. **International Journal of Pharmaceutics**, 2019. doi:10.1016/j.ijpharm.2018.10.044.

72. Alshaikh, R. A.; Essa, E. A.; El Maghraby, G. M. Eutexia for enhanced dissolution rate and anti-inflammatory activity of nonsteroidal anti-inflammatory agents: Caffeine as a melting point modulator. **International Journal of Pharmaceutics**, 2019. doi:10.1016/j.ijpharm.2019.04.024.
73. Pagire, S. K.; Jadav, N.; Vangala, V. R.; Whiteside, B.; Paradkar, A. Thermodynamic Investigation of Carbamazepine-Saccharin Co-Crystal Polymorphs. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, 2017. doi:10.1016/j.xphs.2017.04.017.
74. Basavoju, S.; Boström, D.; Velaga, S. P. Indomethacin–Saccharin Cocrystal: Design, Synthesis and Preliminary Pharmaceutical Characterization. **Pharmaceutical Research**, 2008. doi:10.1007/s11095-007-9394-1.
75. Tumanova, N.; Payen, R.; Springuel, G.; Norberg, B.; Robeyns, K.; Le Duff, C.; Wouters, J.; Leyssens, T. Cocrystallization out of the blue: dl-mandelic acid/ethyl-dl-mandelate cocrystal. **Journal of Molecular Structure**, 2017. doi:10.1016/j.molstruc.2016.07.109.
76. Zhang, S.-W.; Harasimowicz, M. T.; de Villiers, M. M.; Yu, L. Cocrystals of Nicotinamide and (R)-Mandelic Acid in Many Ratios with Anomalous Formation Properties. **Journal of the American Chemical Society**, 2013. doi:10.1021/ja4103887.
77. Motamedifar, M.; Bazargani, A.; Namazi, M. R.; Sarai, H. S. E. Antimicrobial activity of mandelic acid against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: A novel finding with important practical implications. **World Applied Sciences Journal**, 2014. doi:10.5829/idosi.wasj.2014.31.05.2011.
78. Wouters, J.; Quéré, L., editors. *Pharmaceutical Salts and Co-crystals*. Cambridge: Royal Society of Chemistry; 2011. doi:10.1039/9781849733502.
79. Fernandes, R. P.; de Carvalho, A. C. S.; Ekawa, B.; do Nascimento, A. L. S. C.; Pironi, A. M.; Chorilli, M.; Caires, F. J. Synthesis and characterization of meloxicam eutectics with mandelic acid and saccharin for enhanced solubility. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, 2020. doi:10.1080/03639045.2020.1775633.
80. Reggane, M.; Wiest, J.; Saedtler, M.; Harlacher, C.; Gutmann, M.; Zottnick, S. H.; Piechon, P.; Dix, I.; Müller-Buschbaum, K.; Holzgrabe, U.; Meinel, L.; Galli, B. Bioinspired co-crystals of Imatinib providing enhanced kinetic solubility. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, 2018. doi:10.1016/j.ejpb.2018.05.012.
81. Baka, E.; Comer, J. E. A.; Takács-Novák, K. Study of equilibrium solubility measurement by saturation shake-flask method using hydrochlorothiazide as model compound. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, 2008. doi:10.1016/j.jpba.2007.10.030.
82. Reggane, M.; Wiest, J.; Saedtler, M.; Harlacher, C.; Gutmann, M.; Zottnick, S. H.; Piechon, P.; Dix, I.; Müller-Buschbaum, K.; Holzgrabe, U.; Meinel, L.; Galli, B. Bioinspired co-crystals of Imatinib providing enhanced kinetic solubility. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, 2018. doi:10.1016/j.ejpb.2018.05.012.
83. Scheubel, E.; Lindenberg, M.; Beyssac, E.; Cardot, J.-M. Small Volume Dissolution Testing as a Powerful Method during Pharmaceutical Development. **Pharmaceutics**, 2010. doi:10.3390/pharmaceutics2040351.

84. USP. USP Dissolution Apparatus 2011.
85. Kobayashi, Y.; Ito, S.; Itai, S.; Yamamoto, K. Physicochemical properties and bioavailability of carbamazepine polymorphs and dihydrate. **International Journal of Pharmaceutics**, 2000. doi:10.1016/S0378-5173(99)00315-4.
86. Dalal, N.; Buckner, I. S.; Wildfong, P. L. D. Experimental Determination and Theoretical Calculation of the Eutectic Composition of Cefuroxime Axetil Diastereomers. **AAPS PharmSciTech**, 2017. doi:10.1208/s12249-017-0739-8.
87. Daurio, D.; Medina, C.; Saw, R.; Nagapudi, K.; Alvarez-Núñez, F. Application of Twin Screw Extrusion in the Manufacture of Cocrystals, Part I: Four Case Studies. **Pharmaceutics**, 2011. doi:10.3390/pharmaceutics3030582.
88. do Nascimento, A. L. C. S.; Caires, F. J.; Gomes, D. J. C.; Gigante, A. C.; Ionashiro, M. Thermal behaviour of nicotinic acid, sodium nicotinate and its compounds with some bivalent transition metal ions. **Thermochimica Acta**, 2014. doi:10.1016/j.tca.2013.10.014.
89. Gomes, D. J. C.; Caires, F. J.; Lima, L. S.; Gigante, A. C.; Ionashiro, M. Thermal behaviour of mandelic acid, sodium mandelate and its compounds with some bivalent transition metal ions. **Thermochimica Acta**, 2012. doi:10.1016/j.tca.2012.01.012.
90. de Carvalho, L. C.; Segato, M. P.; Nunes, R. S.; Novak, C.; Cavalheiro, É. T. G. Thermoanalytical studies of some sweeteners. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, 2009. doi:10.1007/s10973-009-0262-6.
91. Fernandes, R. P.; do Nascimento, A. L. C. S.; Carvalho, A. C. S.; Teixeira, J. A.; Ionashiro, M.; Caires, F. J. Mechanochemical synthesis, characterization, and thermal behavior of meloxicam cocrystals with salicylic acid, fumaric acid, and malic acid. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, 2019. doi:10.1007/s10973-019-08118-7.
92. Badawi, H. M.; Förner, W. Analysis of the infrared and Raman spectra of phenylacetic acid and mandelic (2-hydroxy-2-phenylacetic) acid. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, 2011. doi:10.1016/j.saa.2010.12.070.
93. Suresh, K.; Khandavilli, U. B. R.; Gunnam, A.; Nangia, A. Polymorphism, isostructurality and physicochemical properties of glibenclamide salts. **CrystEngComm**, 2017. doi:10.1039/C6CE02295B.
94. Aitipamula, S.; Chow, P. S.; Tan, R. B. H. Polymorphism in cocrystals: a review and assessment of its significance. **CrystEngComm**, 2014. doi:10.1039/c3ce42008f.
95. Drebuschak, V. A.; Ogienko, A. G.; Boldyreva, E. V. Polymorphic effects at the eutectic melting in the H₂O–glycine system. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, 2013. doi:10.1007/s10973-012-2761-0.
96. Smith B.T. Remington Education: Physical Pharmacy 2016.
97. Censi, R.; Di Martino, P. Polymorph Impact on the Bioavailability and Stability of Poorly Soluble Drugs. **Molecules**, 2015. doi:10.3390/molecules201018759.
98. Al-Hashimi, N.; Begg, N.; Alany, R.; Hassanin, H.; Elshaer, A. Oral Modified Release Multiple-Unit Particulate Systems: Compressed Pellets, Microparticles and Nanoparticles. **Pharmaceutics**, 2018. doi:10.3390/pharmaceutics10040176.

99. Kudo, Y.; Yasuda, M.; Matsusaka, S. Effect of particle size distribution on flowability of granulated lactose. **Advanced Powder Technology**, 2020. doi:10.1016/j.appt.2019.10.004.
100. Noguera, P.; Abad, M.; Puchades, R.; Maquieira, A.; Noguera, V. Influence of Particle Size on Physical and Chemical Properties of Coconut Coir Dust as Container Medium. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, 2003. doi:10.1081/CSS-120017842.
101. Deng, Y.; Sun; Wang; Sui; She; Zhai; Wang. Effect of particle size on solubility, dissolution rate, and oral bioavailability: evaluation using coenzyme Q10 as naked nanocrystals. **International Journal of Nanomedicine**, 2012. doi:10.2147/IJN.S34365.
102. Zhang, Y.; Zhang, D.; Zhang, Y.; Liu, L.; Zhang, X.; Zhang, L.; Zhang, Y.; Chang, L.; Fan, Q.; Zhang, Y.; Xi, J.; Zhang, Q. Improving solubility and avoiding hygroscopicity of tetrahydroberberine by forming hydrochloride salts by introducing solvents: [HTHB]Cl, [HTHB]Cl·CH₃OH and [HTHB]Cl·CH₃COOH. **New Journal of Chemistry**, 2017. doi:10.1039/C7NJ02423A.
103. Worsfold, P. J. SPECTROPHOTOMETRY | Overview. *Encycl. Anal. Sci.*, Elsevier; 2005, p. 318–21. doi:10.1016/B0-12-369397-7/00714-7.
104. Oliveira, É. de F. S.; Azevedo, R. de C. P.; Bonfilio, R.; Oliveira, D. B. de; Ribeiro, G. P.; Araújo, M. B. de. Dissolution test optimization for meloxicam in the tablet pharmaceutical form. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, 2009. doi:10.1590/S1984-82502009000100008.
105. Mândrescu, M.; Spac, A. F.; Dorneanu, V. Spectrophotometry determination of meloxicam. **Revista de Chimie**, 2009.
106. Nemutlu, E.; Meloxicam, I. Validated Determination of Meloxicam in Tablets by Using UV Spectrophotometry 2004.
107. Dhandapani, B.; Eswara Murali, S.; Susrutha, N.; Swetha, R.; Rani, S. K. S.; Babu, T. S.; Seetharamanjaneyulu, G. V; Celestin Baboo, R. V. Spectrophotometric Estimation of Meloxicam in Bulk and Its Pharmaceutical Formulations. **International Journal of Pharma Sciences and Research (IJPSR)**, 2010.
108. ANVISA, A. N. de V. S.-M. da S. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada - RDC nº 166, de 24 de julho de 2017. Dispõe sobre a validação de métodos analíticos e dá outras providências. **Diário Oficial Da União Nº141, de 25 de Julho de 2017**, 2017.