

**UNIVERSIDADE FEDERA DE ALFENAS**

**JULIANA PEREIRA**

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE NOVAS FORMAS SÓLIDAS DE  
ATAZANAVIR A PARTIR DE MISTURAS BINÁRIAS**

**ALFENAS/MG**

**2022**

**JUIANA PEREIRA**

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE NOVAS FORMAS SÓLIDAS DE  
ATAZANAVIR A PARTIR DE MISTURAS BINÁRIAS**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Química, pela Universidade Federal de Alfenas. Área de concentração: Química Analítica.

Orientadora: Prof. Dra. Jerusa S. Garcia Trevisan.

Coorientador: Dr. André L. Soares Carneiro do Nascimento

**ALFENAS/MG**

**2022**

Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal de Alfenas Biblioteca Central

Pereira, Juliana.

Síntese e caracterização de novas formas sólidas de atazanavir a partir de misturas binárias / Juliana Pereira. - Alfenas, MG, 2022.

86 f.: il. -

Orientador(a): Jerusa Simone Garcia Trevisan.

Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal de Alfenas, Alfenas, MG, 2022.

Bibliografia.

1. Dispersão sólida. 2. Inibidor de Protease. 3. Atazanavir. 4. Solubilidade. 5. Teste de dissolução. I. Garcia Trevisan, Jerusa Simone, orient. II. Título.

Ficha gerada automaticamente com dados fornecidos pelo autor.

JULIANA PEREIRA

SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE NOVAS FORMAS SÓLIDAS DE ATAZANAVIR  
A PARTIR DE MISTURAS BINÁRIAS

A Banca examinadora abaixo-assinada aprova a Dissertação apresentada como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestra em Química pela Universidade Federal de Alfenas. Área de concentração: Química Analítica.

Aprovada em: 28 de abril de 2022

Profa. Dra. Jerusa Simone  
Garcia Trevisan Instituição:  
Universidade Federal de  
Alfenas

Prof. Dr. Eduardo Tonon de  
Almeida Instituição:  
Universidade Federal de  
Alfenas

Prof. Dr. Marlus Chorilli  
Instituição: Universidade  
Estadual Paulista -  
Araraquara.



Documento assinado eletronicamente por **Jerusa Simone Garcia Trevisan, Professor do Magistério Superior**, em 04/05/2022, às 15:51, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015.



Documento assinado eletronicamente por **Marlus Chorilli, Usuário Externo**, em 05/05/2022, às 16:02, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015.



Documento assinado eletronicamente por **Eduardo Tonon de Almeida, Professor do Magistério Superior**, em 06/05/2022, às 02:49, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015.



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [https://sei.unifal-mg.edu.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](https://sei.unifal-mg.edu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **0712712** e o código CRC **91C5DAA7**.

Dedico esse trabalho à minha querida avó Iara, mulher inspiradora que me presenteou com o bem mais precioso: a capacidade de olhar para o mundo com ternura.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a minha querida avó Iara que desde muito cedo se dedicou a me ensinar o valor dos conhecimentos, formais e informais, e a responsabilidade que se carrega ao alcançá-los.

Aos amigos que sempre estiveram presentes e que de alguma maneira contribuíram para que a trajetória se tornasse mais leve e divertida.

Aos meus professores e professoras pela dedicação e paciência que tiveram ao me oferecer a oportunidade de aprender, em especial a minha orientadora Jerusa e ao meu coorientador André, por me auxiliarem em cada etapa e contribuírem para que a conclusão deste trabalho fosse a melhor possível.

Aos meus companheiros de laboratório, incluindo meu grupo de pesquisa, com os quais compartilhei, para além desta jornada, valores de coletividade, reciprocidade e solidariedade, enriquecendo ainda mais meu processo de aprendizagem.

À UNIFAL e ao Programa de Pós-graduação em Química pela oportunidade de ser discente de uma instituição pública comprometida com uma educação de qualidade.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

## RESUMO

O presente trabalho buscou obter/estudar novas formas sólidas do antirretroviral atazanavir (ATV) a partir de sua mistura binária com os coformadores manitol (MAN), ácido cítrico (ACT), nicotinamida (NC), ácido nicotínico (ACN), ácido mandélico (ACM), eritritol (ERT) e xilitol (XLT) utilizando métodos mecânico, térmico e de evaporação lenta de solvente. O fármaco em questão pertence à classe dos inibidores de protease que atuam inibindo a maturação dos vírus HIV, e como todas as moléculas que compõem esta classe, o ATV possui baixa solubilidade aquosa, e conseqüentemente, baixa biodisponibilidade. Partindo deste contexto, o trabalho buscou pela modificação da forma sólida de ATV por meio de síntese de cocristais farmacêuticos para otimização das suas propriedades físico-químicas. Entretanto, a maior parte dos produtos obtidos ao fim da aplicação de cada metodologia resultaram em interações de natureza física, amorfização ou em algum outro tipo de interação química diferente da buscada. O uso das técnicas termoanalíticas, em especial, permitiu investigar os resultados oriundos do método assistido por solvente e mecanoquímicos, bem como possibilitou a obtenção de uma dispersão sólida (DS) por meio do emprego de calorimetria diferencial de varredura (DSC) cíclica. A DS de ATV foi obtida por meio de fusão simultânea utilizando a DSC e essa mesma técnica foi indispensável para a determinação de sua estequiometria. A análise termogravimétrica (TG) forneceu informações sobre a estabilidade térmica de ATV em uma matriz hidrofílica (MAN) demonstrando um aumento em aproximadamente 17°C em comparação ao ATV puro. As técnicas complementares, espectroscopia na região do infravermelho (FTIR) e difração de raios-x de pó (DRXP), forneceram indícios da formação de uma DS em que ATV encontra-se amorfizado por meio de comparação das bandas de absorção e dos valores dos picos de difração entre o sistema binário e componentes da mistura analisados isoladamente. A amostra de DS de ATV+MAN foi submetida à testes de solubilidade e dissolução sob condições de pH e temperatura fisiológicas, e os resultados demonstraram que DS obtida comparada ao ATV base livre foi capaz de aumentar a solubilidade aquosa em aproximadamente 6 vezes no pH que simula o ambiente estomacal (pH 1,4), em 55 vezes em pH que representa o duodeno (4,5 e 6,8) e em aproximadamente 23 vezes no pH que simula o pH sanguíneo. Comparado ao sulfato de ATV (ATVs), a solubilidade foi maior nos pH 4,5, 6,8 e 7,5 em aproximadamente 30, 10 e 36 vezes, respectivamente. Através do teste dissolução, realizado usando o método USP II foi possível constatar que a DS-ATV exibiu uma taxa de liberação que satisfaz os critérios BCS (>85% em até 30 minutos) no pH 1,4. Assim, de acordo com esses resultados, a DS de

ATV+MAN adquirida neste trabalho pode ser uma alternativa às demais formas de ATV disponíveis.

Palavras chaves: dispersão sólida; inibidores de protease; atazanavir; solubilidade; teste de dissolução.

## ABSTRACT

The present work aimed to investigate new solid forms of the antiretroviral atazanavir (ATV) from its binary mixture with the coformers mannitol (MAN), citric acid (ACT), nicotinamide (NC), nicotinic acid (ACN), mandelic acid (ACM), erythritol (ERT) and xylitol (XLT) using mechanical, thermal and slow solvent evaporation methods. The drug belongs to the class of protease inhibitors that inhibits the maturation of the HIV virus and, like all molecules in this class, ATV has poor aqueous solubility, and consequently, low bioavailability. Based on this context, the research planned to modify the solid form of ATV through the synthesis of pharmaceutical cocrystals to optimize its physicochemical properties. Most of the products obtained at the end of each methodology resulted in physical interactions, amorphization or in some other type of chemical interaction different from the one sought. However, the use of thermoanalytical techniques allowed not only to investigate results obtained through the solvent and mechanochemical-assisted method, but also to obtain a solid dispersion (SD) through cyclic DSC. The SD was obtained by means of simultaneous melting using the differential scanning calorimetry (DSC) and this same technique was indispensable for the determination of its stoichiometry. The thermogravimetric technique (TG) provided information on the thermal stability of ATV in a hydrophilic matrix (MAN) that increased by approximately 17°C compared to pure ATV. The complementary techniques, spectroscopy in the infrared region (FTIR) and X-ray powder diffraction (XRD), provided evidence of the SD formation which ATV is amorphized by comparing the absorption bands and the values of the diffraction peaks between the binary system and components of the mixture. Sample of ATV+MAN SD was subjected to solubility and dissolution tests under physiological pH and temperature conditions, and the results showed that SD was able to increase aqueous solubility by approximately 6-fold at a pH that simulates the stomach environment (pH 1.4), by 55-fold at pH that represents the duodenum (4.5 and 6.8) and by approximately 23-fold at pH that simulates blood pH, compared to ATV free base. Compared to ATV Sulfate (ATVs), the solubility was higher at pH 4.5, 6.8 and 7.5 by approximately 30, 10 and 36-fold, respectively. The dissolution test, performed using the USP II method, showed that DS exhibited a release rate according BCS criteria (>85% within 30 minutes) at pH 1.4. Thus, the ATV+MAN SD obtained in this work can be an alternative to other solid forms available of ATV.

Keywords: solid dispersion; protease inhibitors; atazanavir; solubility; dissolution test.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Ilustração esquemática do sistema de classificação Biofarmacêutica de substâncias bioativas .....	16
Figura 2 – Representação esquemática da replicação viral .....	19
Figura 3 – Estrutura química do atazanavir.....	20
Figura 4 – Representação esquemática dos arranjos físicos de uma dispersão sólida .....	21
Figura 5 – Representação esquemática de um cocristal farmacêutico.....	24
Figura 6 – Representação esquemática do ensaio de solubilidade.....	36
Figura 7 – Representação esquemática do ensaio de dissolução .....	37
Figura 8 – Atazanavir base livre obtido pela extração líquido-líquido.....	39
Figura 9 – Curvas TG/DTA e DTG do Atazanavir base livre .....	40
Figura 10 – Curva DSC de ATV base livre.....	41
Figura 11 – Espectro FTIR de ATV base livre.....	42
Figura 12 – Difratoograma do ATV em pó.....	43
Figura 13 – Curvas TG/DTG dos coformadores .....	45
Figura 14 – Imagem dos cristais obtidos pós síntese por evaporação lenta de solvente..... (metanol) na proporção 1:1 (mol/mol).....	46
Figura 15 – Curvas DSC das amostras que resultaram em interação física e seus componentes puros.....	48
Figura 16 – Curvas DSC das amostras e seus componentes puros .....	50
Figura 17 – Padrão de DRXP das amostras e seus componentes puros .....	51
Figura 18 – Curvas DSC das amostras e seus componentes puros .....	53
Figura 19 – Padrão de DRXP das amostras e seus componentes puros .....	54
Figura 20 – Curvas DSC das misturas na razão 1:1 (mol/mol) após moagem.....	56
Figura 21 – Curva DSC cíclica do sistema na razão 1:3 (mol/mol) .....	57
Figura 22 – Curva DSC cíclica do sistema ATV+MAN nas razões .....	58
Figura 23 – Curvas cíclicas DSC da etapa de reaquecimento obtidas.....	60
Figura 24 – Curva cíclica DSC de ATV+MAN 1:4 (mol/mol) .....	61
Figura 25 – Curvas TG/DTG de MAN, ATV e ATV+MAN 1:4 (mol/mol) .....	62
Figura 26 – Espectros FTIR de MAN, ATV e ATV+MAN.....	64
Figura 27 – Difratoogramas de MAN, ATV e ATV+MAN.....	65
Figura 28 – Curvas DSC obtidas pelo aquecimento e resfriamento controlado da mistura.....	

física ATV+MAN .....	66
Figura 29 – Difractogramas de pó de (a) MAN fundido e resfriado de maneira..... controlada comparado aos resultados anteriores.....	67
Figura 30 – Curvas de calibração de ATV em diferentes meios.....	69
Figura 31 – Solubilidade de DS-ATV em 24, 48 e 72 horas .....	73
Figura 32 – Comparação entre o perfil de dissolução de ATVs, ATV, DS-ATV e MF..... nos pH 1,4 e 6,8.....	76

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Relação de massa entre atazanavir base livre e dos coformadores empregada..... na obtenção das novas formas sólidas.....	33
Tabela 2 – Figuras de mérito e linearidade da quantificação de ATV por meio ..... de espectrofotometria de absorção molecular.....	70
Tabela 3 – Concentração de ATV ( $\text{mg.mL}^{-1}$ ) de todas as amostras submetidas aos..... diferentes meios ao longo de 72h. ....	70

## LISTA DE SIGLAS

BCS	<i>Biopharmaceutics Classification System</i>
CAS	<i>Chemical Abstracts Service</i>
DRXP	Difração de Raios-X de Pó
DS	Dispersão Sólida
DSC	Calorimetria Diferencial de Varredura
DTA	Análise Térmica Diferencial
EMA	<i>European Medicines Agency</i>
FDA	<i>Federal Drug Administration</i>
FTIR	<i>Fourier Transform Infrared</i>
GRAS	<i>Generally Recognized as Safe</i>
HIV	<i>Human Immunodeficiency Virus</i>
HME	<i>Hot-melt extrusion</i>
IP	Inibidor de Protease
IFA	Insumo Farmacêutico Ativo
LabIQ	Laboratório Interdisciplinar de Química
LACFar	Laboratório de Análise e Caracterização de Fármacos
LATIG	Laboratório de Análise Térmica Ivo Giolito
LAG	<i>Liquid-Assisted Grinding</i>
NCBI	<i>National Center for Biotechnology Information</i>
TARV	Terapia antirretroviral
TG	Análise termogravimétrica
UNESP	Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”
UNIFAL-MG	Universidade Federal de Alfenas
UV/VIS	Ultravioleta/Visível

## LISTA DE ABREVIATURAS

ACT	Ácido Cítrico
ACM	Ácido Mandélico
ACN	Ácido Nicotínico
ATV	Atazanavir
ATVs	Sulfato de Atazanavir
DS-ATV	Dispersão Sólida de Atazanavir
ERT	Eritritol
GLI	Glicina
MAN	Manitol
MF	Mistura física
NC	Nicotinamida
XLT	Xilitol

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>15</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>18</b>
2.1	INIBIDORES DE PROTEASE.....	18
2.2	ATAZANAVIR.....	20
2.3	DISPERSÕES SÓLIDAS .....	21
2.4	EUTÉTICOS.....	23
2.5	COCRISTAIS .....	24
2.6	MÉTODOS DE SÍNTESE .....	26
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>28</b>
3.1	OBJETIVOS GERAIS.....	28
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	28
<b>4</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>29</b>
4.1	CARACTERIZAÇÃO .....	29
4.1.1	Análise Termogravimétrica (TG).....	29
4.1.2	Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) .....	30
4.1.3	Espectroscopia Vibracional da região do Infravermelho (FTIR) .....	30
4.1.4	Difratometria de Raios-x de pó (DRXP).....	30
4.2	OBTENÇÃO DE ATAZANAVIR LIVRE A PARTIR DE SULFATO .....	
	DE ATAZANAVIR.....	31
4.2.1	Etapa de obtenção das novas formas sólidas .....	32
4.2.2	Método evaporação lenta de solvente .....	34
4.2.3	Método por fusão da mistura física .....	34
4.2.4	Método mecanoquímico por moagem assistida por líquido (LAG).....	35
4.3	DETERMINAÇÃO DE SOLUBILIDADE PELO MÉTODO ( <i>SHAKE-FLASK</i> ).....	35
4.4	PERFIL DE DISSOLUÇÃO DE ATAZANAVIR <i>IN VITRO</i> .....	36
4.5	ANÁLISE ESPECTROFOTOMÉTRICA NA REGIÃO UV/VISÍVEL .....	38

<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>39</b>
5.1	OBTENÇÃO DE ATAZANAVIR LIVRE A PARTIR DE SULFATO ..... DE ATAZANAVIR.....	39
5.2	CARACTERIZAÇÃO DO ATAZANAVIR.....	39
5.3	ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA DOS COFORMADORES.....	43
5.4	SÍNTESE POR EVAPORAÇÃO LENTA DE SOLVENTE.....	46
5.5	SÍNTESE POR MOAGEM ASSISTIDA POR LÍQUIDO (LAG).....	54
5.6	SÍNTESE POR FUSÃO.....	56
5.7	CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA ATV+MAN.....	62
<b>5.7.1</b>	<b>Análise Termogravimétrica.....</b>	<b>62</b>
<b>5.7.2</b>	<b>Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho (FTIR) .....</b>	<b>62</b>
<b>5.7.3</b>	<b>Difração de raios X pelo método do pó (PXRD).....</b>	<b>64</b>
5.8	SOLUBILIDADE DA AMOSTRA DS-ATV E COMPARAÇÃO COM ..... OUTRAS FORMAS SÓLIDAS.....	68
5.9	PERFIL DE DISSOLUÇÃO DA DS-ATV.....	74
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>78</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>79</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O desenvolvimento de novos insumos farmacêuticos ativos (IFA) representa para a indústria farmacêutica um caminho longo e dispendioso que na maior parte dos casos levam a resultados poucos promissores. Desde a descoberta de determinada substância com atividade terapêutica até sua liberação pelas agências regulatórias e posterior introdução no mercado, existem várias etapas que perpassam por uma série de estudos pré-clínicos e clínicos que podem demorar entre 10 e 15 anos (WILLMANN *et al.*, 2008). Para exemplificar o quão longo pode ser este caminho, de acordo com Willmann *et al.* (WILLMANN *et al.*, 2008), para cada novo IFA aprovado nos Estados Unidos pela FDA (do inglês *Food and Drug Administration*) a estimativa é de que dez mil compostos em média são investigados até a fase pré-clínica e deste volume total uma média de apenas 5 são aprovadas para as fases clínicas. O tempo médio de todo esse processo é de 14,2 anos (WILLMANN *et al.*, 2008). Por esse motivo, métodos que buscam melhorar perfis farmacocinéticos sem alterar as propriedades farmacológicas dos IFAs que já estão no mercado é uma estratégia bastante atrativa tanto no âmbito de desenvolvimento quanto de pesquisa (ÉVORA *et al.*, 2016).

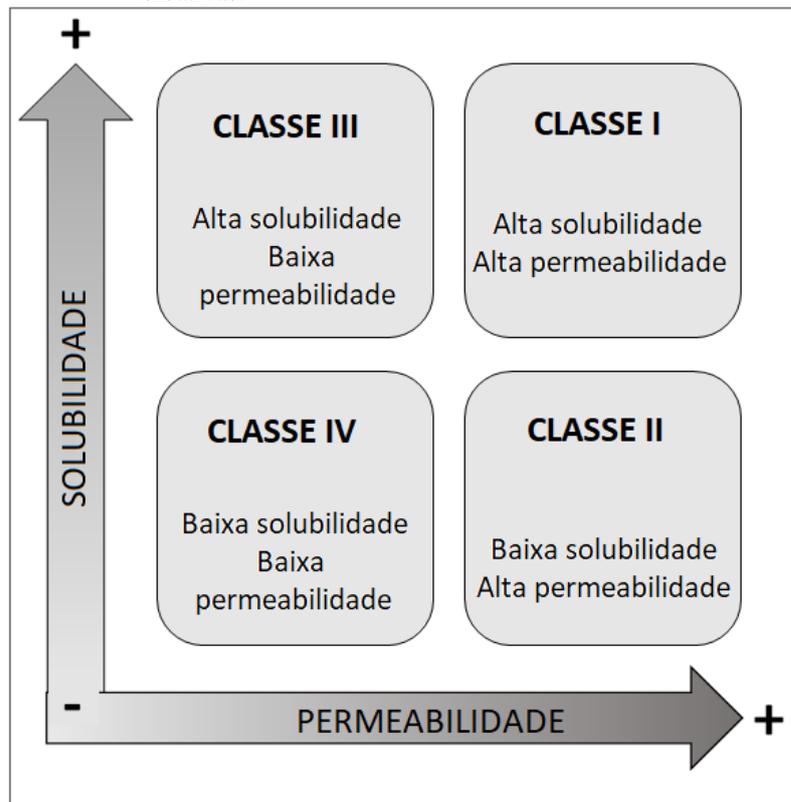
Estas estratégias vão desde a modificação física e molecular à aplicação de sistemas de liberação e carreamento de IFAs. Existe uma gama de métodos que podem ser empregados a depender da natureza molecular destes. Dentre estes métodos pode-se citar a formação de sais farmacêuticos (BONGIOANNI *et al.*, 2019), formação de nanopartículas (SHARMA *et al.*, 2019), amorfização (HESPELER; KALTENBACH; PYO, 2019), micronização (SOSNA *et al.*, 2019), cocristalização (KUMAR; KUMAR; NANDA, 2018), dispersões sólidas (MIR; KHAN, 2017) dentre outros exemplos descritos na literatura que buscam melhorar a biodisponibilidade dos compostos com ação farmacológica que possuem baixa solubilidade aquosa.

Por meio destas estratégias é possível alterar propriedades físicas, químicas, térmicas e mecânicas que acabam refletindo em performances mais efetivas de solubilidade, taxa de dissolução, estabilidade química, higroscopicidade, compressibilidade, dentre outros parâmetros que influenciam diretamente na sua eficácia terapêutica (LU; ROHANI, 2009; SINGH; WALIA; HARIKUMAR, 2013). A solubilidade aquosa de um composto é um fator importante a se considerar para garantir maior biodisponibilidade uma vez que a água é o principal solvente em sistemas biológicos, além do fato de que a baixa solubilidade aquosa de

um composto também é critério que dificulta a introdução deste no mercado (KOROTKOVA; KRATOCHVÍL, 2014).

O termo biodisponibilidade se refere à quantidade e velocidade com que determinado IFA atinge a circulação sistêmica para alcançar local de ação terapêutica. O sistema de classificação biofarmacêutica (BCS do inglês, *Biopharmaceutics Classification System*), leva em consideração dois critérios para classificação da biodisponibilidade de fármacos administrados oralmente: a solubilidade aquosa e a permeabilidade de membranas. Tendo como base ambos os critérios, os IFAS podem ser classificados o em quatro classes (FIGURA 1) (AMIDON *et al.*, 1995; CHARALABIDIS *et al.*, 2019).

Figura 1 – Ilustração esquemática do sistema de classificação Biofarmacêutica de substâncias bioativas.



Fonte: Adaptado de Amidon *et al.* (1995).

Na literatura a formação de dispersão sólida (DS) como estratégia para melhorar características como solubilidade aquosa, aumentar taxa de liberação e estabilizar composições farmacêuticas amorfas, já está bem consolidada (MIR; KHAN, 2017), e existem casos de fármacos já inseridos no mercado que foram aprovados por agências regulatórias, tais como FDA, há alguns anos. Esse é o caso do medicamento Kaletra®, que se trata de uma

DS contendo dois inibidores de protease em sua composição Ritonavir e Lopinavir, aprovado em 2007; Norvir®, uma DS de Ritonavir aprovada em 2010, e um mais recentemente o Mavyret™, aprovado em 2017, que trata-se de uma DS de Glecaprevir e Pibrentasvir, que são antivirais usados no tratamento de hepatite-C crônica (JERMAIN; BROUGH; WILLIAMS, 2018; UTTARO *et al.*, 2021).

Kaletra® é um exemplo que retrata o tipo de melhoria que alcança com o emprego de sistema de carregamento. Esse medicamento é um composto farmacêutico formulado com dois inibidores de protease, lopinavir e ritonavir, administrado oralmente na forma de capsulas ou de comprimidos (BREITENBACH, 2006; JERMAIN; BROUGH; WILLIAMS, 2018). Os comprimidos são produzidos usando um processo de extrusão por fusão onde os compostos encontram-se dispersos em uma matriz amorfa. Essa dispersão sólida amorfa de Lopinavir/ritonavir, ao ser comparado com as capsulas apresenta uma maior solubilidade aquosa e maior estabilidade térmica, que refletem tanto nas condições de armazenamento quanto na posologia: os comprimidos além de não necessitarem de refrigeração representam duas doses diárias à menos, reduzindo de 6 para 4 doses de 800/200mg (lopinavir/ritonavir) (BREITENBACH, 2006; UTTARO *et al.*, 2021). A dispersão sólida desses inibidores de protease contribuiu para que pacientes vivendo com HIV usuários desse composto conseguisse a mesma eficiência terapêutica com uma menor dosagem diária e assim, um tratamento mais simplificado que garante maior adesão.

É dentro deste contexto que esse trabalho se propôs a pesquisar estratégias para melhorar a solubilidade aquosa do inibidor de protease, atazanavir (ATV), na tentativa de propor melhores alternativas às formulações atuais, cápsulas de 300 e 400 mg em sua forma de sulfato de atazanavir.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

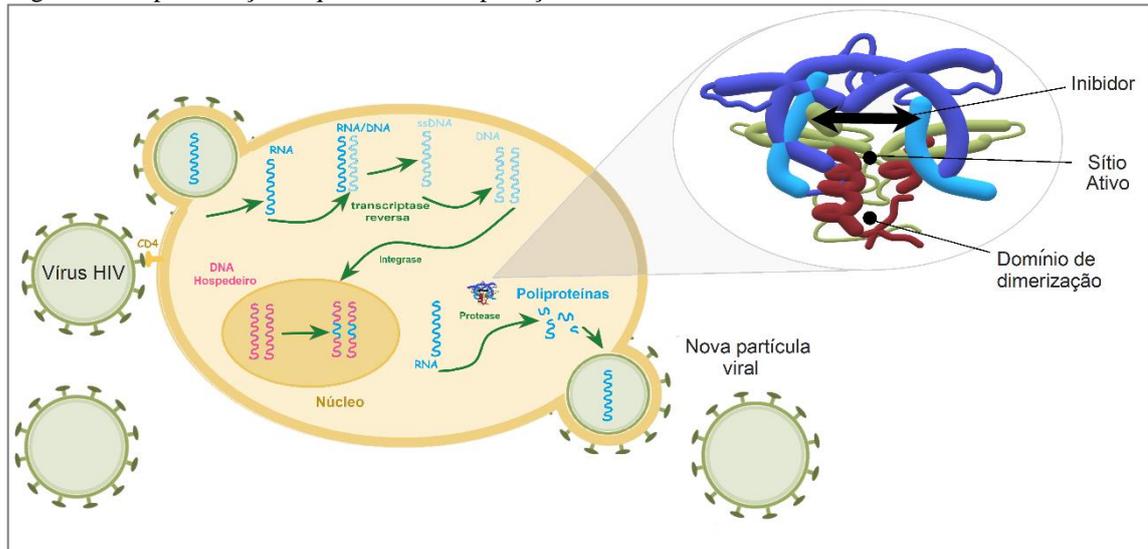
Nessa seção serão descritos conceitos relativos às classes dos inibidores de protease do vírus da imunodeficiência humana (HIV, do inglês *human immunodeficiency virus*) com ênfase no IFA escolhido, Atazanavir, bem como conceitos relativos às estratégias de melhorar a sua solubilidade, desde a definição dos métodos até os mecanismos de síntese.

### 2.1 INIBIDORES DE PROTEASE

Os inibidores de Protease (IP) do vírus da imunodeficiência humana (HIV) são uma classe de fármaco que em associação a outros compõe a lista dos medicamentos da terapia antirretroviral (TARV) também conhecidos popularmente como “coquetel anti-HIV” (BRASIL, 2018). Este vírus é responsável por produzir uma infecção caracterizada pelo enfraquecimento do sistema imunológico dos pacientes infectados, resultado do declínio da contagem de células-T (linfócitos T-CD4+), e do aparecimento de infecções oportunistas (DESAI; LANDAY, 2018; SPERK; DOMSELAAR; NEOGI, 2018)

A atividade antirretroviral dos IP está relacionada à capacidade que estes possuem de inibir uma enzima específica chamada protease que é responsável por catalisar o processo de hidrólise das ligações peptídicas das poliproteínas Gag e Gag/Pol e partir destas dar origem a proteínas importantes para a etapa de maturação do vírus HIV. Ao impedir que o vírus atinja sua maturação, o ciclo de replicação viral (FIGURA 2) fica comprometido, resultando na produção de partículas virais não infecciosas (ABDEL-RAHMAN *et al.*, 2002; NASCIMENTO *et al.*, 2020).

Figura 2 – Representação esquemática da replicação viral



Fonte: Nascimento (2020, p.1020).

Para que a replicação viral seja controlada é necessário que os níveis de antirretrovirais se mantenham elevados por um período prolongado no plasma e nos tecidos. Isso implica que os medicamentos usados na TARV necessitem de administração em altas dosagens, e em muitos casos, mais de uma vez ao dia. A própria natureza de um IP traz consigo desafios ainda a serem superados. Por serem semelhantes a um peptídeo, a molécula de um IP apresenta suscetibilidade à proteólise (degradação de proteína) e a alta massa molecular contribui para a baixa solubilidade aquosa da molécula, que conseqüentemente diminui sua biodisponibilidade. Estas características fazem com que a dosagem terapêutica seja necessariamente alta e por isso responsável por produzir vários efeitos colaterais em seus usuários (ABDEL-RAHMAN *et al.*, 2002; NASCIMENTO *et al.*, 2020).

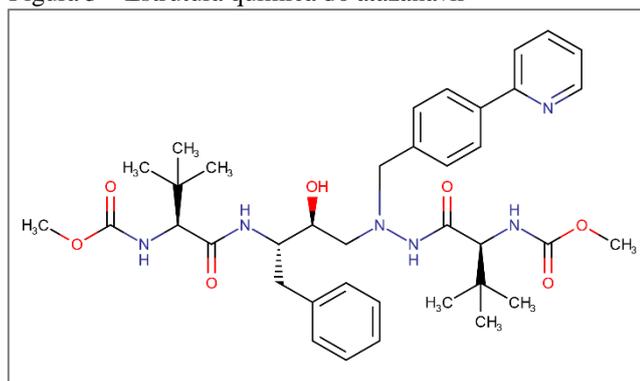
Este é o caso de Atazanavir (ATV), um inibidor de protease usado para o controle de todas as formas do vírus da imunodeficiência humana. Ele pertence à classe II do Sistema de Classificação Biofarmacêutica (BCS, do inglês *The Biopharmaceutical Classification System*), o que significa que ATV apresenta baixa solubilidade aquosa e alta permeabilidade pelas membranas biológicas. Além de apresentar baixa biodisponibilidade em função da natureza pouco solúvel da molécula, o ATV por ser administrado via oral possui biodisponibilidade reduzida em cerca de 60% por sofrer metabolismo rápido de primeira passagem no fígado. Este último fato é graças à ação da glicoproteína-p (P-gP), que é uma transportadora de membrana relacionada ao gene de multirresistência à fármacos (MDR1), que diminui significativamente a concentração do fármaco antes que este atinja a circulação sistêmica (HUBER; MARUIAMA; ALMEIDA, 2010). Sua dose terapêutica diária

recomendada a adultos tem sido reportada como capaz de causar hepatotoxicidade, que é um dano no fígado causado por substâncias tóxicas (SINGH, GURINDER; PAI, 2016), e nefrotoxicidade, dano à função renal devido capacidade de deposição de cristais em tecidos renais e urina pelo fato do atazanavir possuir alta excreção urinária associado à baixa solubilidade aquosa (FROCHOT *et al.*, 2016; HARA *et al.*, 2015).

## 2.2 ATAZANAVIR

O princípio ativo atazanavir (ATV) é um azaeptídeo de fórmula molecular  $C_{38}H_{52}N_6O_7$  e massa molecular de  $704,87 \text{ g.mol}^{-1}$ , cuja estrutura química encontra-se representada na Figura 3.

Figura 3 – Estrutura química do atazanavir



Fonte: PubChem (2021).

Ele é produzido pelo laboratório Bristol Myers Squibb, sob a marca Reyataz®, e teve seu registro aprovado em 2003 na FDA (ABDEL-RAHMAN *et al.*, 2002). Em 2012, o Reyataz, encontrava-se entre os três antirretrovirais líderes de vendas globais, dividindo 48% das vendas no mercado mundial de antirretrovirais com os medicamentos Atripla e Truvada, ambos da Gilead (SILVEIRA; CORRÊA; BARROSO, 2016).

Considerado um IFA de segunda geração dentro da classe dos inibidores de protease, juntamente com o lopinavir e o darunavir, o atazanavir teve sua produção no Brasil efetuada através da Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz), que possui o registro válido para o Sulfato de Atazanavir (SILVEIRA; CORRÊA; BARROSO, 2016). A recomendação da dosagem de atazanavir para adultos dada pela FDA (do inglês, *Food and Drug Administration*) é de 300 mg quando este estiver em associação à 100 mg de Ritonavir ou de 400 mg ao dia quando administrado sozinho (NASCIMENTO *et al.*, 2020).

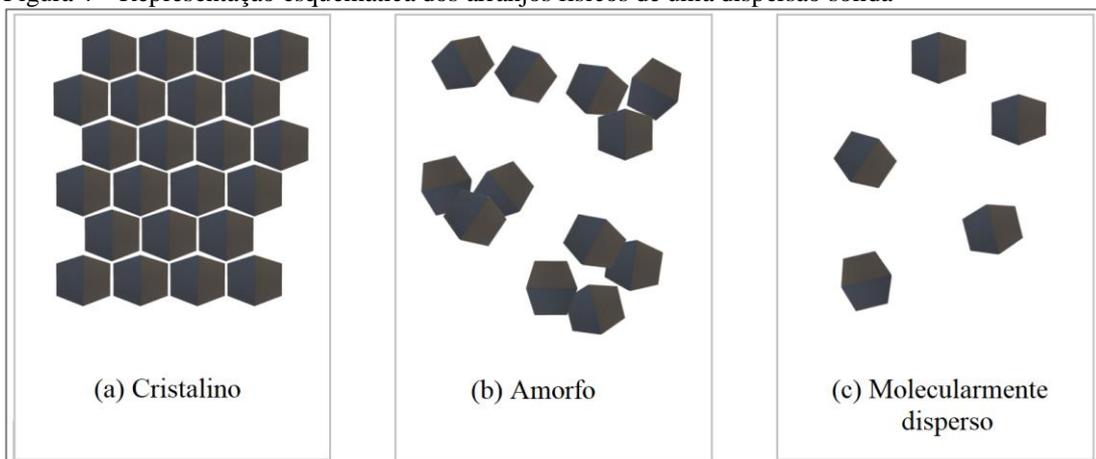
ATV apresenta natureza lipofílica, com um valor de coeficiente de partição ( $\log P$ ) igual a 5,20 (XIA *et al.*, 2012). Sua estrutura cristalina apresenta dimensões de cela unitária  $a= 15,2650$ ,  $b=5,8604$  e  $c=21,365$ , (KADUK; GINDHART; BLANTON, 2020; PATEL *et al.*, 2018). Em sua estrutura molecular, atazanavir possui quatro doares clássicos de hidrogênio, apresentando constante de dissociação ácida ( $K_a$ ) igual  $3,98 \times 10^{-5}$ , que equivale ao  $pK_a$  de 4,4 (BERLIN *et al.*, 2015).

Por se tratar de fármaco imprescindível no tratamento de pacientes vivendo com HIV, a busca por estratégias que consigam no fim melhorar a ação terapêutica pode oferecer aos usuários um tratamento que diminua possibilidade de efeitos colaterais em decorrência de alta dosagem e um tratamento simplificado, em termos de posologia.

### 2.3 DISPERSÕES SÓLIDAS

Dispersão sólida é uma estratégia bastante utilizada quando se trata de aumentar a biodisponibilidade de fármacos que possuem baixa solubilidade aquosa (BHUIBAL *et al.*, 2021). O termo dispersão sólida (DS) refere-se a um grupo de produtos sólidos constituídos por, pelo menos, dois componentes diferentes, geralmente uma matriz hidrofílica, também chamada de carreador, e um fármaco hidrofóbico. Essa matriz pode se apresentar como um material tanto de natureza cristalina quanto de natureza amorfa, onde o fármaco encontra-se disperso em partículas cristalinas (FIGURA 4a), amorfas (clusters) (FIGURA 4b) ou disperso em nível molecular (FIGURA 4c) (VAN DUONG; VAN DEN MOOTER, 2016).

Figura 4 – Representação esquemática dos arranjos físicos de uma dispersão sólida



Fonte: Autora (2022).

Legenda: a) cristalino;

b) amorfo;

c) molecularmente disperso.

As DS cristalinas são aquelas constituídas por componentes cristalinos, tanto a matriz quanto o fármaco. As misturas eutéticas são um exemplo de DS cristalina (SINGH, G *et al.*, 2017). As DS com arranjo físico amorfo são aquelas em que um ou ambos os componentes da composição se encontram em estado amorfo. Quando o fármaco cristalino está disperso em uma matriz amorfa, a DS é classificada como uma suspensão vítrea cristalina e suspensão vítrea amorfa quando ambos os componentes são amorfos. Já quando o fármaco em estado amorfo se encontra disperso em uma matriz cristalina, a classificação da DS é autoexplicativa, precipitação amorfa em matriz cristalina. Por último, as chamadas soluções sólidas são aquelas em que o fármaco está molecularmente disperso (THIRY *et al.*, 2016).

Além da classificação com base nos arranjos físicos, as DS podem ser classificadas como sendo de primeira, segundo ou de terceira geração com base no tipo de carreador utilizado na composição de sua formulação (AWAD *et al.*, 2018). As DS de primeira geração são aquelas preparadas com materiais cristalinos tais como nicotinamida (bases orgânicas), manitol (açúcares) e ácido nicotínico (ácidos orgânicos). As de segunda geração, ou ainda dispersão sólida amorfa, são aquelas preparadas com polímeros em geral de grau alimentício, seja de origem natural ou sintética, como etilcelulose, polietilenglicol, polivinilpirrolidona (PVP), ciclodextrina dentre outros. Por fim, as DS classificadas como de terceira geração são aquelas constituídas por agentes tensoativos, auto emulsificantes tais como Poloxamer 188, Tween 80 e Gelucire® 44/14 (MIR; KHAN, 2017).

A biodisponibilidade de fármacos de administração oral quando disperso em um carreador (matriz) tende a ser maior em decorrência de alguns fatores: aumento da solubilidade aquosa e da taxa de dissolução do fármaco em virtude da diminuição da natureza hidrofóbica graças à matriz hidrofílica e à extrema redução da partícula do fármaco, podendo alcançar totalmente ou parcialmente o nível molecular (MIR; KHAN, 2017; SCHITTNY; HUWYLER; PUCHKOV, 2020). No caso das DS, suspensão vítrea amorfa e precipitação amorfa, a maior liberação do fármaco também está relacionada ao fato de que o IFA em sistema amorfo não requer nenhuma energia para quebrar a rede cristalina durante o processo de dissolução (MANKAR; RACH, 2018; THIRY *et al.*, 2016).

A metodologia relativamente simples de síntese de uma DS é um ponto bastante atrativo que contribui para seu uso recorrente. DS podem ser obtidas por meio de fusão, solvente, fusão-solvente, entre outros (THIRY *et al.*, 2016). Não é incomum que dispersões sólidas preparadas usando carreadores cristalinos (DS de primeira geração) produza uma

mistura eutética, quando IFA e carreador cristalizam simultaneamente em uma determinada composição. Isso significa que a mistura eutética pode ser um resultado alternativo durante o processo de preparo de uma DS (SINGH; WALIA; HARIKUMAR, 2013; SINHA *et al.*, 2010).

## 2.4 EUTÉTICOS

Considerando que a formação de eutéticos é uma possibilidade durante a etapa de síntese de uma DS em que ambos os componentes sejam cristalinos, essa seção se destina a discorrer um pouco sobre eles.

Os eutéticos formam uma classe de compostos que compreendem desde ligas metálicas, que são bastante conhecidas e possuem diversas aplicações em nosso dia a dia, incluindo uma série de medicamentos produzidos pela indústria farmacêutica. De maneira geral, as misturas eutéticas são aquelas obtidas a partir da união de dois componentes que não são miscíveis entre si no estado sólido, mas que quando em estado líquido se comportam como uma substância pura, apresentando a característica de ter um único ponto de fusão em temperatura menor do que os pontos de fusão dos componentes puros (ASKELAND; WRIGHT, 2013). A formação deste é dada a partir de uma proporção específica entre seus componentes que é denominada composição eutética.

A definição proposta por Cherukuvada (2016) aproxima bastante as misturas eutéticas de uma classe de materiais cristalinos, os cocristais, uma vez que para o autor a definição dos eutéticos “são compostos cristalinos multifásicos de dois ou mais elementos ou compostos diferentes em uma razão estequiométrica fixa”. Como a razão estequiométrica de uma mistura eutética é fixa, existe a possibilidade de mistura em proporções distintas seja capaz de produzir um eutético e um cocrystal.

Na literatura é comum a publicação de trabalhos que relatam a obtenção tanto de cocristais e eutéticos farmacêuticos durante processo de otimização da forma sólida a partir da mistura binária contendo pelo menos um IFA. Isso ocorre, segundo Cherukuvada e Nangia (2014), por cocristais e eutéticos serem duas possibilidades dentro de um mesmo processo de cocrystalização, graças à parâmetros que dizem respeito à natureza dos componentes presentes no sistema como compatibilidade supramolecular, tamanho, estrutura molecular, e ainda à fatores externos como pressão, temperatura, o meio (solvente). E no fim das contas, tanto

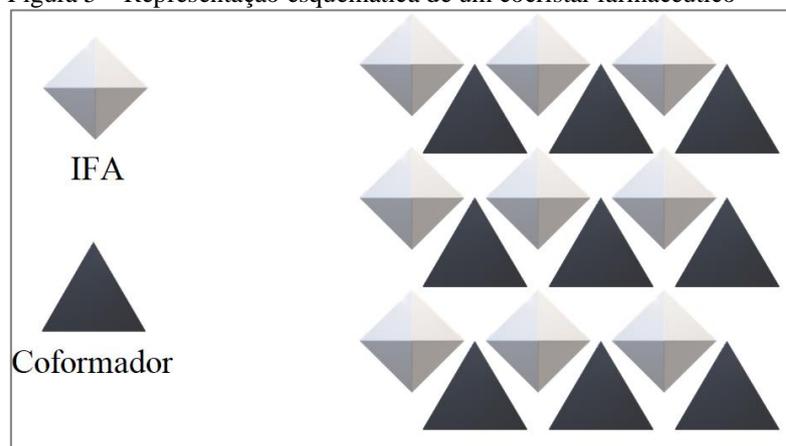
cocristais quanto eutéticos se apresentam como sólidos cristalinos multicomponentes e oferecem aplicações promissoras na área farmacêutica (CHERUKUVADA; NANGIA, 2014).

## 2.5 COCRISTAIS

Embora exista um desafio para definir de forma mais específica o que vem a ser um cocrystal (BOND, 2007; ROCHA *et al.*, 2016), a proposta trazida pela FDA descreve de forma mais geral um cocrystal como sendo “um sólido cristalino multicomponente composto por dois ou mais componentes dentro de um mesmo retículo cristalino onde os componentes estão em seu estado neutro e interagem via interações não iônicas” (THIPPARABOINA *et al.*, 2016). Para um cocrystal farmacêutico Almarsson e Zaworotko (2004) propuseram que “cocristais são aqueles que se formam entre um IFA e um coformador, também chamado de formador de cristal, que em condições ambientais são sólidos. Esta definição não se limita a dois componentes, pois cocrystal pode ser multicomponente”.

Para a obtenção de um cocrystal farmacêutico é necessário a presença de pelo menos dois componentes, sendo eles um IFA e um coformador como ilustrado na Figura 5, embora cocristais farmacêuticos contendo mais de um IFA e mais de um coformador estão comumente descritos na literatura (THIPPARABOINA *et al.*, 2016). Estes componentes são mantidos por interações não covalentes como interações de van der Waals, interações  $\pi$ - $\pi$ , interações de halogênio, mas principalmente por ligações de hidrogênio que ocorrem entre os grupos funcionais da estrutura que apresenta atividade farmacológica e do coformador (KUMINEK *et al.*, 2016; MUKHERJEE; TOTHADI; DESIRAJU, 2014).

Figura 5 – Representação esquemática de um cocrystal farmacêutico



Fonte: Autora (2022).

Os coformadores, também chamados de agentes cristalizadores, são muito versáteis pois além da vantagem de serem acessíveis, contam com uma ampla gama de moléculas que engloba vitaminas, adoçantes, excipientes farmacêuticos, aminoácidos e várias substâncias alimentícias que não oferecem risco quanto à ingestão pois são reconhecidas como seguras de acordo com a lista GRAS (do inglês *Generally recognized as safe*) que é regulada pela FDA (MIROSHNYK; MIRZA; SANDLER, 2009). Tamanha diversidade de coformadores implica em uma série de possibilidades para síntese de cocrystal farmacêuticos, e como isso, amplia as características que um IFA pode adquirir e/ou otimizar na medida em que se varia os componentes do seu sistema uma vez que cada coformador apresentará uma característica físico-química diferente. Além de composições distintas, cocrystal também podem ser constituídos por diferentes estequiometrias que interferirão no arranjo das moléculas e, conseqüentemente, em diferentes empacotamentos cristalinos (MIROSHNYK; MIRZA; SANDLER, 2009).

O aumento da solubilidade aquosa de um cocrystal é resultado do balanço entre a solvatação dos componentes e da força de rede cristalina (KUMINEK *et al.*, 2016). A inserção de um coformador na rede cristalina pode favorecer a solubilidade por alterar as características superficiais do cristal devido sua natureza hidrofílica e ainda promover a diminuição da energia de rede cristalina. Outra questão interessante é o fato dos coformadores serem constituídos por moléculas ionizáveis, tais como moléculas ácidas, básicas e anfóteras que oferecem aos cocrystal a habilidade de modular a solubilidade em função da variação pH do meio (BETHUNE *et al.*, 2009). De acordo com BETHUNE *et al.* (2009), existem cocrystal que em determinado pH apresenta solubilidade aquosa até 1000 vezes maior quando comparado ao IFA isolado. O contrário também foi observado, onde em função do pH o cocrystal apresentou performances de solubilidade menor que a do IFA isolado (CHEN; RODRÍGUEZ-HORNEDO, 2018).

De forma geral, cocrystal se apresentam como uma alternativa promissora por proporcionar maior estabilidade com relação à armazenagem e umidade devido sua forma cristalina, a capacidade de formar cocrystal a partir de moléculas de IFA pouco ionizável ou não ionizável, a ausência de necessidade em produzir ou quebrar ligações covalentes no processo de síntese, a melhoria de propriedades físico-químicas sem comprometer a atividade farmacológica do IFA e ainda possuir menor propensão à sofrer transições de fase. (BAVISHI; BORKHATARIA, 2016).

Como ainda não está elucidado como a formação dos cocrystalis são formados, ou seja, não se sabe exatamente se há fases intermediárias durante o processo de cocrystalização, os métodos usados ainda são de natureza empírica, e dentre eles estão os métodos assistido por solvente, térmico, mecanoquímicos (KARAGIANNI; MALAMATARI; KACHRIMANIS, 2018; KUMINEK *et al.*, 2016).

## 2.6 MÉTODOS DE SÍNTESE

Neste trabalho foram utilizados métodos descritos na literatura que satisfaziam tanto a síntese de cocrystalis quanto a produção de dispersão sólidas que se baseiam nos métodos assistidos por solvente e métodos térmicos.

Os métodos assistidos por solvente são bastante frequentes na síntese de cocrystalis e se fundamentam no processo de cristalização por meio de evaporação lenta de solvente. Neste método ambos os componentes, IFA e coformador, são dissolvidos em razões estequiométricas específicas em um solvente em que os dois sejam solúveis, e são então deixados para evaporação completa do solvente (CHIARELLA; DAVEY; PETERSON, 2007). Na produção de dispersões sólidas, os métodos que envolvem solvente são aqueles em que carreador e IFA são dissolvidos em um solvente em comum seguido de etapas de evaporação deste que podem variar entre lenta, rápida, à vácuo e rotativa (HU; LOU; HAGEMAN, 2018). Esse método é empregado quando os componentes da dispersão sólida merecem uma atenção especial devido sua baixa estabilidade térmica.

Os métodos térmicos consistem na obtenção de um cocrystal a partir do resfriamento simultâneo de dois compostos fundidos (PERPÉTUO *et al.*, 2017), sendo realizados por meio de microscopia *hot-stage* chamado de método de *Kofler* (BERRY *et al.*, 2008) e por extrusão a quente HME (do inglês, *hot-melt extrusion*) (LIU *et al.*, 2012). O método HME também pode ser utilizado para produzir dispersões sólidas por meio da fusão da mistura física de IFA e carreador/carreadores. Esse método usa a técnica que é atualmente a mais empregada na indústria devido a sua escalabilidade (THIRY *et al.*, 2016). O método utilizando DSC cíclica é um método baseado tanto no método *Kofler* quanto no HME, que é um método eficiente tanto como método de triagem e seleção de substâncias para síntese quanto para síntese de cocrystalis escala reduzida. Embora não seja um método comumente descrito na literatura, sua aplicação apresenta vantagens frente ao demais métodos um vez que DSC cíclica permite investigar possibilidades de síntese a partir de uma quantidade pequena (cerca de 2 mg) de

precursores, e que após êxito, pode ser escalonado para produção industrial. Além deste, para dispersões sólidas ainda existem os métodos fusão-solvente, que unem um pouco de cada método: mistura-se o carreador fundido ao fármaco dissolvido em solvente adequado e, então, deixado para evaporação seguida de solidificação da DS (PATEL *et al.*, 2018). Não é incomum que as dispersões sólidas preparadas usando carreadores cristalinos (DS de primeira geração) produzam uma mistura eutética quando IFA e carreador cristalizam-se simultaneamente em uma determinada composição. Isso significa que a mistura eutética pode ser um resultado alternativo durante o processo de preparo de uma DS (ASHOL, *et al.*, 2018; ARGADE, 2013).

Por fim, os métodos mecanoquímicos são aqueles que consistem na indução de reações de componentes em estado sólido por meio de energia mecânica produzida por moagem. Este método tem se tornado cada vez mais popular na síntese de cocristais em especial por ser sustentável já que necessitam de muito pouco ou nenhum uso de solvente, serem rápidos e dispensar controle de temperatura (DOUROUMIS; ROSS; NOKHODCHI, 2017).

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 OBJETIVOS GERAIS

Melhorar solubilidade aquosa e taxa de dissolução de Atazanavir a partir da obtenção de nova forma sólida por meio de método térmico (DSC cíclico), assistido por solvente e/ou moagem assistida por líquido (LAG, do inglês *liquid-assisted grinding*).

#### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

São objetivos específicos deste trabalho:

- a) avaliar a reprodutibilidade do método empregado;
- b) realizar caracterização físico-química das novas formas sólidas obtidas;
- c) investigar a solubilidade das novas formas sólidas;
- d) comparar a solubilidade das novas formas sólidas adquiridas com o inibidor de protease puro.

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

O sulfato de atazanavir (ATVs –  $C_{38}H_{54}N_6O_{11}S$ , MM: 802,9  $g \cdot mol^{-1}$ ) usado neste trabalho foi doado pelo Instituto de Tecnologia em Fármacos (Farmanguinhos) da Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brasil. Para a obtenção das novas formas sólidas foram selecionados 8 coformadores para a síntese sendo eles: nicotinamida P.A. (NC –  $C_6H_6N_2O$ , MM: 122,12  $g \cdot mol^{-1}$ ) da Supelco, manitol P.A. (MAN –  $C_6H_{14}O_6$ , MM: 182,17  $g \cdot mol^{-1}$ ) da Vetec, ácido cítrico P.A. (ACT –  $C_6H_8O_7$ , MM: 192,12  $g \cdot mol^{-1}$ ) da Êxodo Científica, ácido mandélico P.A. (ACM –  $C_8H_8O$ , MM: 152,15  $g \cdot mol^{-1}$ ) da Supelco, ácido nicotínico P.A. (ACN –  $C_6H_5NO_2$ , MM: 123,11  $g \cdot mol^{-1}$ ) da Supelco, glicina (GLI –  $C_2H_5NO_2$ , MM: 75,07  $g \cdot mol^{-1}$ ) 99,7% da GE Healthcare, eritritol adquirido na FarUni (Farmácia Universitária da UNIFAL-MG) (ERT –  $C_4H_{10}O_4$ , MM: 122,12  $g \cdot mol^{-1}$ ) e xilitol (XLT –  $C_5H_{12}O_5$ , MM: 152,15  $g \cdot mol^{-1}$ ) adquirido na FarUni (Farmácia Universitária da UNIFAL-MG).

Foram usados ainda os solventes metanol anidro ( $CH_3OH$ , MM: 32,04  $g \cdot mol^{-1}$ ) 99,8% de pureza de Macron Fine Chemicals, etanol P.A. ( $CH_3CH_2OH$ , MM: 46,07  $g \cdot mol^{-1}$ ) 99,5% de pureza da Proquímios, acetato de etila P.A. ( $C_4H_8O_2$ , MM: 88,12  $g \cdot mol^{-1}$ ) adquirido da Synth.

### 4.1 CARACTERIZAÇÃO

A caracterização de componentes presentes nesta dissertação foi uma etapa importante durante todo o processo, desde a seleção dos materiais precursores até a etapa de análise dos materiais obtidos.

#### 4.1.1 Análise Termogravimétrica (TG)

Considerando que tanto para dispersão sólida quanto para cocrystalis uma das metodologias utilizadas inclui a fusão dos materiais presentes na mistura física, foi necessário determinar a estabilidade térmica do IFA e demais materiais cristalinos por meio de análise termogravimétrica. Sendo assim, foram obtidas curvas TG a partir do sistema Termobalança TG/DTA D600 (TA Instruments, Estados Unidos), locado no Laboratório Interdisciplinar de Química, LabIQ, UNIFAL-MG. Para isso, cerca de 10,0 mg de cada material colocada em

cadinho de  $\alpha$ -alumina foi submetido à aquecimento controlado em uma razão de  $10^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ , sob atmosfera dinâmica de nitrogênio com fluxo de  $50\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ . Dado a natureza orgânica das substâncias avaliadas, a faixa de temperatura empregada foi de 40 a  $600^{\circ}\text{C}$  para todos, exceto ATV em que a faixa foi de 40 a  $1000^{\circ}\text{C}$ ,

#### **4.1.2 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)**

A análise calorimétrica foi a técnica termoanalítica mais utilizada neste trabalho, usada tanto na caracterização dos compostos puros quanto na etapa de triagem dos resultados que se apresentavam como os mais promissores.

As curvas DSC foram obtidas a partir do instrumento DSC Q20 (TA Instruments, Estados Unidos), calibrado usando padrão de índio, alocado no Laboratório Interdisciplinar de Química – LabIQ, UNIFAL-MG. Nestes experimentos, cerca de 2,0 mg de cada amostra foi inserida em cadinho de alumínio selado com tampa perfurada e submetido à aquecimento controlado de razão de aquecimento de  $10^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ , sob atmosfera dinâmica de nitrogênio com fluxo de  $50\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ . A faixa de temperatura foi de 40 a  $220^{\circ}\text{C}$  para todos os compostos, exceto para glicina e ácido nicotínico, onde a faixa de temperatura precisou ser ampliada até  $300^{\circ}\text{C}$ .

#### **4.1.3 Espectroscopia Vibracional da região do Infravermelho (FTIR)**

As análises FTIR (do inglês, *Fourier transform infrared spectroscopy*), foram usadas tanto na caracterização dos componentes puros quanto nas formas sólidas obtidas. Os espectros de infravermelho foram adquiridos utilizando o espectrofotômetro Nicoletis50 FTIR (Thermo Scientific, Estados Unidos) alocado no Laboratório de Análise e Caracterização de Fármacos – LACFar, UNIFAL-MG, equipado com acessório ATR de diamante monolítico de reflexão única e dispositivo de alta pressão. A região de varredura para cada espectro foi compreendida entre  $400\text{-}4000\text{ cm}^{-1}$ , e na análise foi empregando 32 varreduras por espectro com resolução de  $4\text{ cm}^{-1}$ . As medições foram normalizadas e registradas em transmitância.

#### **4.1.4 Difratometria de Raios-x de pó (DRXP)**

As análises difratométricas foram utilizadas para a obtenção do padrão de difração apenas das amostras que foram consideradas com resultados promissores. Assim, as medidas de DRXP foram executadas em um difratômetro de raios-x Ultima IV (Rigaku, Japão) alocado no Laboratório de Cristalografia, UNIFAL-MG, em temperatura ambiente (25°C), sob radiação de Cu-K $\alpha$  ( $\lambda = 1.5406 \text{ \AA}$ ), com voltagem de 40 kV e corrente elétrica de 30 mA. Os padrões de difração das amostras foram obtidos com varredura de raios-x de ângulo aberto  $2\theta$  entre 5° e 80° e velocidade 0,02°/5s (FUKUSHIMA *et al.*, 2007).

#### 4.2 OBTENÇÃO DE ATAZANAVIR LIVRE A PARTIR DE SULFATO DE ATAZANAVIR

Sulfato de atazanavir foi o IFA de partida utilizado neste trabalho. Por tratar-se de um sal, para a síntese de cocristais em especial, seria necessário que o IFA estivesse em sua forma cristalina e não em associação ao íon sulfato. Assim, antes de submeter o IFA a qualquer tentativa de síntese, primeiro foi necessário realizar a separação do ATV de seu contraíon.

Em busca de trabalhos disponíveis na literatura, verificou-se que Indulkar *et al.* (2015) obtiveram o ATV livre em sua forma amorfa a partir do sulfato de atazanavir. Entretanto, o procedimento empregado pelos autores não poderia ser usado já que era necessário o ATV livre na forma cristalina. Sendo assim, foi necessário desenvolver uma metodologia por meio de extração líquido-líquido para adquirir a forma cristalina do ATV, considerando também o grau de pureza alcançado.

Inicialmente, realizou-se um teste rápido de solubilidade, em temperatura ambiente, do sal sulfato de atazanavir em solventes com diferentes graus de polaridade (metanol, acetato de etila e hexano). Este teste foi realizado adicionando uma quantidade de 5,0 mg do sulfato de atazanavir em 10,0 mL dos solventes contidos em béqueres separados e, então, com auxílio de um bastão de vidro agitou-se a solução. No béquer contendo metanol o sal foi totalmente dissolvido. No béquer contendo acetato de etila o sal foi dissolvido deixando o solvente turvo, sugerindo a presença de partículas em suspensão. No béquer contendo hexano o sal foi parcialmente dissolvido restando corpo de fundo. Devido à alta miscibilidade de metanol em água, o acetato de etila foi escolhido para realizar a extração líquido-líquido.

Antes de iniciar a extração, pesou-se uma massa de 2,0012 g do sal e dissolveu-a em 100,0 mL de acetato de etila usando béquer de 150 mL. Em seguida, transferiu-se o volume total para um funil de separação tipo pera. No funil adicionou-se 25,0 mL de água destilada,

misturou-se vigorosamente abrindo a torneira da pera nos intervalos de agitação para aliviar a pressão e, então, aguardou-se por 3 minutos até que duas fases bem definidas fossem visualmente perceptíveis. A fase aquosa ficou na parte inferior, sendo extraída do funil. Nesta fase realizou-se teste qualitativo de pH com auxílio de uma fita indicadora de pH que inicialmente apresentou valor próximo de 2,0. O pH ácido era esperado já que o contraíon sulfato é uma espécie química que se origina do ácido sulfúrico. Assim, repetiu-se esse processo por mais três vezes até que o pH da fase aquosa ficasse próximo a neutralidade. A fase orgânica foi coletada e, então, removeu-se a água remanescente com a adição de 10,0003 g de sulfato de magnésio anidro. A solução contendo a fase orgânica foi deixada em capela por três dias até que todo o solvente fosse evaporado, obtendo-se um pó branco opaco. Esse pó branco foi novamente dissolvido em 100,0 mL de metanol, o béquer foi tampado com plástico filme com pequenos furos e deixado sobre bancada, em temperatura ambiente, para a recristalização. Esta última etapa durou cerca de 5 dias. Os cristais obtidos foram transferidos para um almofariz de ágata e delicadamente moídos até que atingisse um aspecto homogêneo de pó fino colocado em frasco de vidro com tampa e acondicionado em geladeira para posterior caracterização.

#### **4.2.1 Etapa de obtenção das novas formas sólidas**

Para a formação das novas formas do atazanavir, foram realizados ensaios usando aproximadamente 30,0 mg da mistura binária de atazanavir base livre e coformadores nas razões equimolares de 1:1, 1:2 e 1:3 (mol/mol) para os métodos de evaporação lenta de solvente. Para a síntese pelo método de fusão (DSC cíclica) foi usado uma massa menor de 2,0 mg de mistura binária nas três razões equimolares dos coformadores GLI, ERT, MAN e XLT. Para a síntese mecanoquímica usou-se mesma quantidade, porém apenas na razão estequiométrica 1:1 (mol/mol) para os mesmos coformadores. A relação das massas utilizadas está descrita na Tabela 1.

Inicialmente foram testadas estas proporções estequiométricas na síntese de cocrystalis pelo método térmico (DSC cíclica) mas que no decorrer do desenvolvimento do trabalho houve a necessidade de investigar outras proporções.

Tabela 1 – Relação de massa entre atazanavir base livre e dos coformadores empregada na obtenção das novas formas sólidas.

(continua)

Coformadores	Razão molar	Massa <sub>ATV</sub> (mg)	Massa <sub>COF</sub> (mg)
	1:1	23,7	6,3
Manitol (MAN)	1:2	19,8	10,2
	1:3	16,9	13,1
	1:1	23,8	6,2
Ac. Cítrico (ACT)	1:2	19,4	10,6
	1:3	16,9	13,1
	1:1	25,6	4,4
Nicotinamida (NC)	1:2	22,3	7,7
	1:3	19,8	10,2
	1:1	25,5	4,5
Ac. Nicotínico (ACN)	1:2	22,2	7,8
	1:3	19,7	10,3
	1:1	24,7	5,3
Ac. Mandélico (ACM)	1:2	20,9	9,1
	1:3	18,2	11,8
	1:1	27,1	2,9
Glicina (GLI)	1:2	24,7	5,3
	1:3	22,7	7,3
	1:1	25,6	4,4
Eritritol (ERT)	1:2	27,8	2,2
	1:3	19,7	10,3

Tabela 1 – Relação de massa entre atazanavir base livre e dos coformadores empregada na obtenção das novas formas sólidas.

(conclusão)			
Coformadores	Razão molar	Massa <sub>ATV</sub> (mg)	Massa <sub>COF</sub> (mg)
	1:1	24,7	5,34
Xilitol (XLT)	1:2	20,9	9,1
	1:3	18,2	11,8

Fonte: Elaborada pela autora (2019).

A seguir serão descritas as três metodologias empregadas neste trabalho, baseada nos três métodos de síntese mais encontrados na literatura: assistido por solvente, térmico e mecânico (KUMINEK *et al.*, 2016).

#### 4.2.2 Método evaporação lenta de solvente

A metodologia utilizada foi baseada no procedimento adotado por Van Eerdenbrugh *et al.* (2010), com algumas modificações. Entretanto, inicialmente, realizou-se um ensaio de solubilidade feito por meio de agitação manual em tubos de ensaio empregando 5,0 mL de solvente para cerca 1,0 mg de cada coformador e ATV separadamente. Os solventes utilizados foram etanol, metanol, acetato de etila e hexano. Dentre os solventes testados o que apresentou melhor desempenho em solubilizar tanto ATV quanto coformadores foi o metanol e, portanto, este solvente foi escolhido.

Após a definição do solvente, foram adicionados em frascos de vidro a quantidade de 30,0 mg da mistura de Atazanavir e coformador nas proporções conforme descrito na Tabela 1 e, em seguida, adicionados 10,0 mL de solvente. Em seguida, os frascos de vidro foram tampados, vedados com parafilme e, então, colocados em banho maria à 60°C e deixados por um período de 18h. Após esta etapa, os frascos foram destampados e cobertos com uma camada de filme plástico com pequenos furos, e deixado por 7 dias a temperatura ambiente em capela para evaporação lenta do solvente.

#### 4.2.3 Método por fusão da mistura física

O método por fusão foi realizado por meio da técnica de DSC utilizando a massa de aproximadamente 2,0 mg das misturas binárias nas razões estequiométricas 1:1, 1:2 e 1:3 (mol/mol) citadas na Tabela 1. Para isso, as misturas binárias foram colocadas em cadinho de alumínio fechado com a tampa perfurada e submetidas as condições descritas na seção 4.1.2. O diferencial neste método é que se realizou a análise em ciclo, de forma a acompanhar os eventos endotérmicos e exotérmicos no resfriamento e no reaquecimento após fusão dos dois componentes presentes na mistura. No ciclo as misturas foram aquecidas até 220°C seguido por resfriamento até 40°C e com novo reaquecimento também até 220°C. O método por fusão utilizando DSC foi embasado no método de *Kofler*, que utiliza a técnica de microscopia de *hot-stage* na etapa de triagem e síntese de cocristais (BERRY *et al.*, 2008), e no método extrusão por fusão à quente, que se trata de um método amplamente utilizado na produção de dispersões sólidas em escala industrial.

#### 4.2.4 Método mecanoquímico por moagem assistida por líquido (LAG)

A moagem assistida por líquido (LAG do inglês *liquid-assisted grinding*) foi realizada usando apenas a razão equimolar 1:1 devido a limitação de quantidade disponível de IFA, uma vez que cada amostra submetida ao método possuía uma massa de 30,0 mg de ATV e coformadores. A moagem ocorreu utilizando 10 µL de etanol em um moinho de bolas vibratório MM400 (Retsch, Alemanha) alocado no Laboratório de Análise Térmica Ivo Giolito - LATIG, UNESP-Araraquara. Em um recipiente de aço inox de 10 mL foi adicionado a mistura e duas bolas de 7 mm de diâmetro e, então, deixado por 60 minutos à 15 Hz (MAZIVILA *et al.*, 2019).

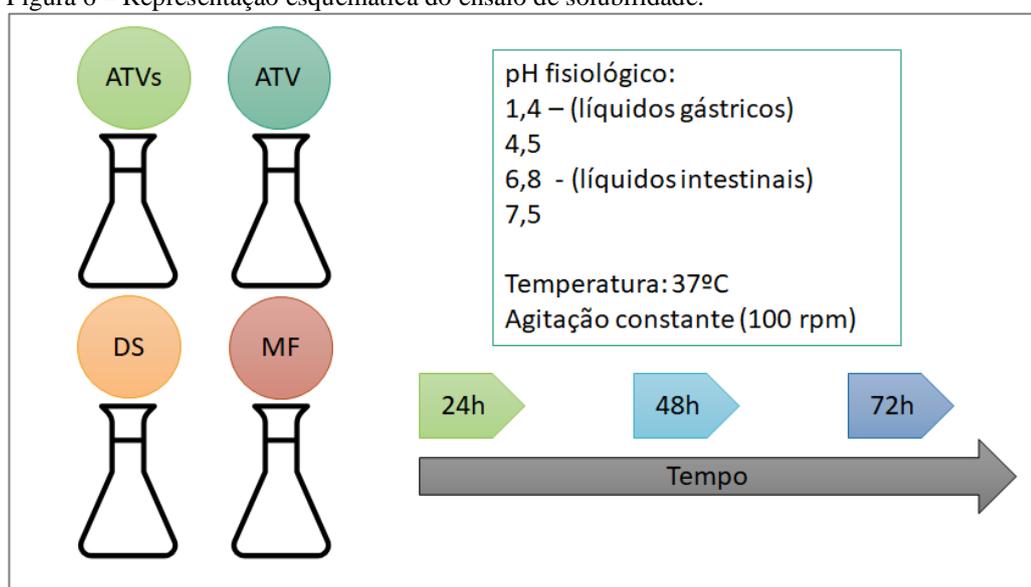
#### 4.3 DETERMINAÇÃO DE SOLUBILIDADE PELO MÉTODO (*SHAKE-FLASK*)

A solubilidade de ATV base livre, ATVs, da forma sólida obtida que apresentou o resultado mais promissor e de sua mistura física (MF) dos componentes da amostra foi estudada através do método recomendado pela BSC chamado de *shake-flask*. Como este método é baseado no equilíbrio de solubilidade entre o composto químico e a fase aquosa, sua execução requer a adição em excesso das amostras até que estas atinjam o limite da sua saturação. De acordo com a BSC, o estudo deve ser conduzindo em meios aquosos que simulem o pH fisiológico do percurso que o fármaco administrado oralmente percorre,

compreendido entre 1,2 e 8,0. Desta forma, foram produzidas soluções de acordo com as descritas na FDA, sendo estas: solução de HCl (pH 1,4), solução-tampão de ácido acético e acetato de sódio 0,1 mol.L<sup>-1</sup> (pH 4,5) e solução tampão de ácido fosfórico monoprótico e diprótico 0,1 mol.L<sup>-1</sup> (pH 6,8 e 7,5) (DAVIT *et al.*, 2016; DEZANI *et al.*, 2013).

As amostras para o ensaio de solubilidade foram preparadas em frascos erlenmeyer de 50 mL contendo 10,0 mL do meio aquoso e um excesso do analito para que um corpo de fundo fosse formado. Os frascos foram colocados em um banho com agitação SL-157 (Solab, Brasil) em temperatura de 37°C±0,5°C e agitação de 100 rpm. O período de incubação foi de 24, 48 e 72 horas (FIGURA 6). Após cada um destes períodos uma alíquota de até 3,0 mL foi recolhida das soluções encubadas e o mesmo volume da solução da fase aquosa foi repostado. As alíquotas então foram filtradas usando uma membrana hidrofílica de 0,45 µm (Merck-Millipore), diluídas em seus respectivos meios e a concentração foi determinada por meio de espectrofotometria de absorção molecular UV/VIS. Todas as amostras foram preparadas em triplicatas (NINGRUM; ILHAMY; WIBOWO, 2021).

Figura 6 – Representação esquemática do ensaio de solubilidade.



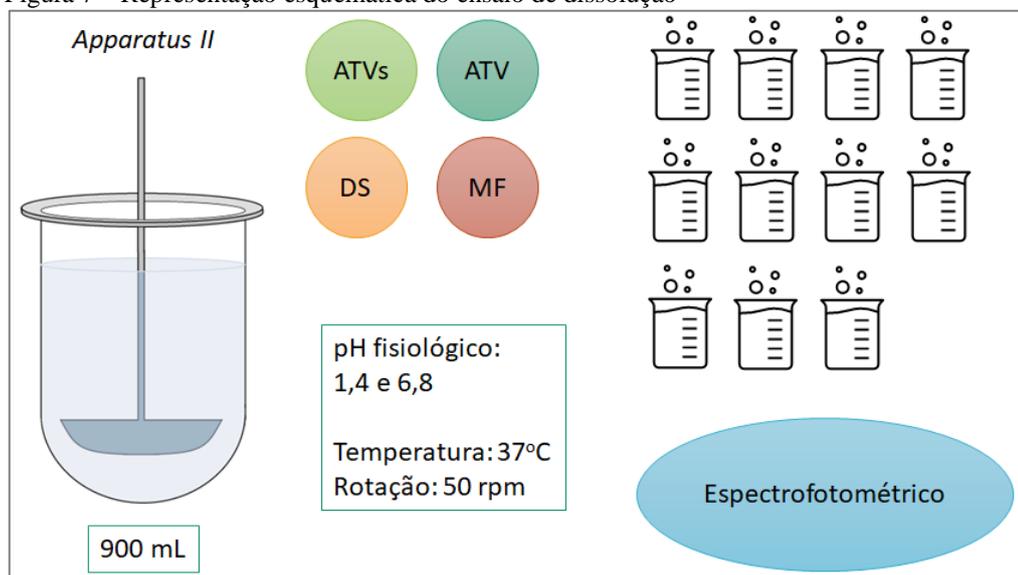
Fonte: Autora (2022).

#### 4.4 PERFIL DE DISSOLUÇÃO DE ATAZANAVIR *IN VITRO*

A fim de compreender, para além da solubilidade aquosa da nova forma sólida, ensaios de dissolução foram realizados com ATV, ATVs, a nova forma sólida e da mistura física dos componentes, na tentativa de estudar o comportamento de liberação da nova forma

sólida em meio aquoso. O ensaio foi performed usando o equipamento dissolutor Q850 (Quimis, São Paulo) com os aparatos USP tipo II, alocado no Laboratório de Tecnologia Farmacêutica, UNIFAL-MG, seguindo as recomendações descritas na farmacopeia (ESTADOS UNIDOS, 2017). Dada a quantidade limitada da amostra, optou-se por realizar o ensaio em apenas dois pHs, 1,4 (solução de HCl) e 6,8 (tampão fosfato 0,1 mol.L<sup>-1</sup>). O ensaio foi realizado a 37,0°C, com rotação contínua de 100 rpm. A quantidade de amostra usada em cada ensaio continha aproximadamente 50,0 mg de ATV adicionadas simultaneamente à três cubas contendo 900 mL de solução. As alíquotas foram recolhidas a cada 2 minutos até atingir 15 minutos e depois 1 alíquota coletada em 30 e 60 minutos, totalizando 10 alíquotas. O volume coletado de 5,0 mL foi repostado com o meio correspondente imediatamente após sua retirada para manter as condições iniciais do ensaio. O sobrenadante recolhido foi filtrado usando filtros quantitativos e a concentração de ATV foi determinada também por meio de espectrofotometria de absorção molecular UV/VIS. O ensaio de dissolução foi realizado em triplicata (FIGURA 7).

Figura 7 – Representação esquemática do ensaio de dissolução



Fonte: Autora (2022).

A similaridade dos perfis de dissolução foi calculada através do fator de diferença (F1) e o fator de similaridade (F2). Seguem abaixo suas respectivas equações:

$$F1 = \left\{ \left[ \sum_{t=1}^n |R_t - T_t| \right] \right\} / \left\{ \left[ \sum_{t=1}^n R_t \right] \right\} \times 100 \quad (1)$$

$$F2 = 50 \times \log\left\{\left[\left(1 + \frac{1}{n}\right) \sum_{t=1}^n (R_t - T_t)^2\right]^{-0.5} \times 100\right\} \quad (2)$$

Onde  $R_t$  corresponde ao percentual do fármaco dissolvido em cada ponto,  $T_t$  corresponde ao percentual da amostra testada em cada ponto, e  $n$  é o número de pontos total.

Para que dois perfis de dissolução sejam considerados similares, os valores de  $F1$  precisam estar próximos de 0 (0-15) e os valores de  $F2$ , o mais próximo de 100 (50-100) (GRAY, 2018; MOORE; FLANNER, 1996).

#### 4.5 ANÁLISE ESPECTROFOTOMÉTRICA NA REGIÃO UV/VISÍVEL

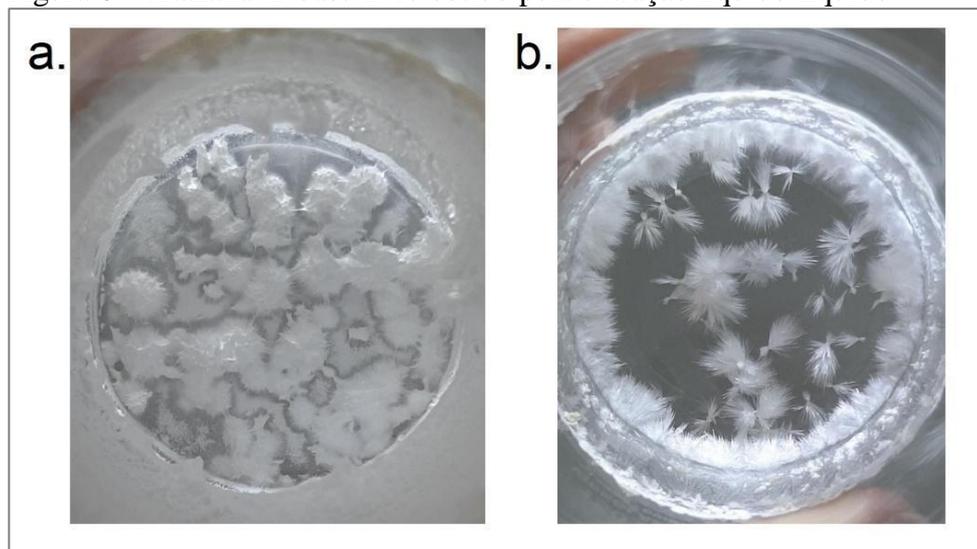
Neste trabalho a técnica de espectrofotométrica de absorção molecular na região do UV foi utilizada para a quantificação de ATV tanto no ensaio de solubilidade quanto no ensaio de dissolução. A análise foi realizada no espectrofotômetro UV/Vis UV-1900 (Shimadzu, Japão) alocado no LACFar, UNIFAL-MG. Antes da análise quantitativa, foi necessário realizar uma varredura para determinar a região de máximo de absorção do analito (ATV). Para isso, realizou-se a análise de solução-padrão de ATV preparada nos diferentes pH utilizados no teste de solubilidade em uma faixa de comprimento de onda de 190-400 variando-se em 5 nm. Após a varredura realizada, três comprimentos de ondas foram fixados para as quantificações posteriores: 300 nm, 289 nm e 279 nm para as amostras em solução de HCl, solução-tampão de ácido acético e acetato de sódio e solução tampão de fosfato, respectivamente. A mesma varredura foi realizada com os coformadores a fim de se averiguar a seletividade do método de quantificação do IFA e garantir que os coformadores não interferissem na análise das amostras nos comprimentos de onda selecionados. Uma curva de calibração foi construída para cada meio a partir da uma solução-estoque de concentração conhecida em balão volumétrico de 100,0 mL, a diluição seriada desta produziu outras cinco soluções de menor concentração. A concentração da solução estoque de pH 1,4 foi de 0,30 mmol.L<sup>-1</sup>, a de pH 4,5 foi de 0,042 mmol.L<sup>-1</sup>, a de pH 6,5 foi de 0,042 mmol.L<sup>-1</sup> e de pH 7,5 foi de 0,040 mmol.L<sup>-1</sup>.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 OBTENÇÃO DE ATAZANAVIR LIVRE A PARTIR DE SULFATO DE ATAZANAVIR

Na Figura 5 estão as imagens do ATV base livre obtido após evaporação da fase orgânica da extração líquido-líquido (FIGURA 8a) e do ATV obtido após recristalização por evaporação lenta em metanol. Foram obtidos cristais transparentes em formato de agulha (FIGURA 8b), como descrito na literatura sobre a morfologia dos cristais de ATV (PARKER; TAYLOR; BEAUDOIN, 2020). O rendimento da extração líquido-líquido foi de aproximadamente 77,0% (massa final de 1,53g).

Figura 8 – Atazanavir base livre obtido pela extração líquido-líquido



Fonte: Autora (2019).

Legenda: a) Atazanavir após evaporação de fase orgânica;

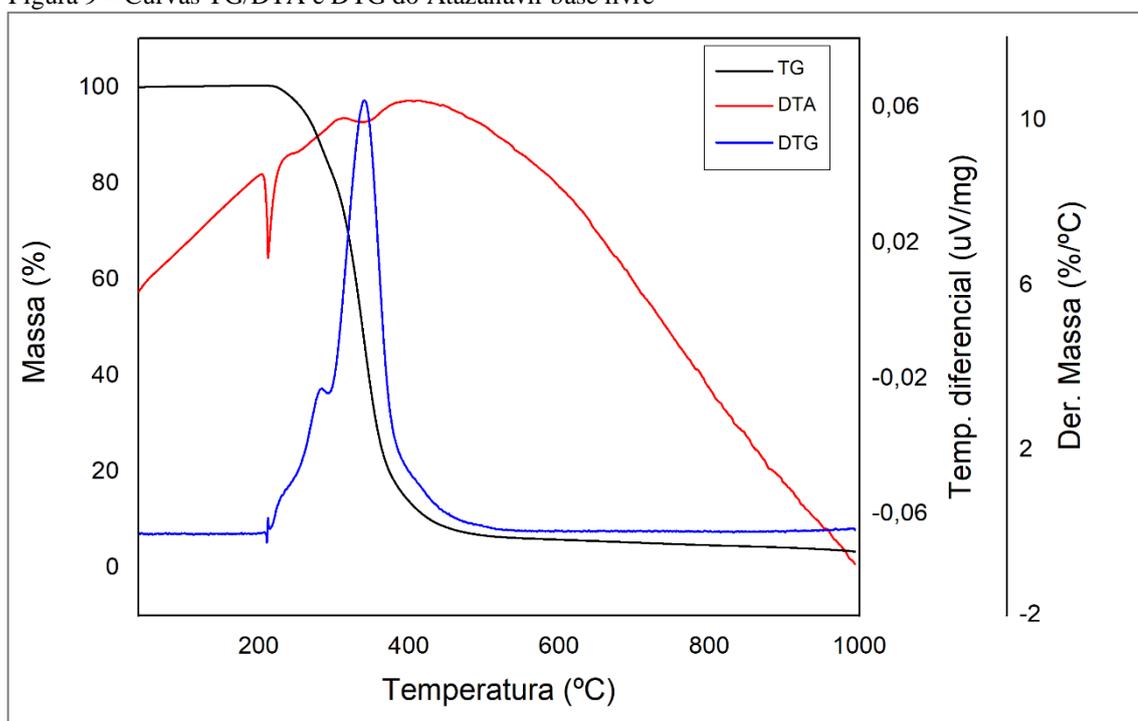
b) Atazanavir recristalizado em metanol.

### 5.2 CARACTERIZAÇÃO DO ATAZANAVIR

Para conhecer o comportamento térmico do atazanavir base livre, a primeira etapa foi submetê-lo a análise termogravimétrica. Na Figura 9 estão representadas as curvas simultâneas TG/DTA e DTG obtidas sob atmosfera de nitrogênio. A curva TG mostra um componente anidro com estabilidade térmica até de 223°C e, a partir desta temperatura, a degradação térmica ocorre em duas etapas sobrepostas que podem ser melhor visualizadas pela curva DTG. No primeiro evento ( $\Delta m_1$ ) a perda foi de aproximadamente 19% da massa

inicial entre as temperaturas de 223 e 318°C. Um pouco antes desse intervalo de temperatura, a curva DTA apresentou um evento endotérmico com início em aproximadamente 204°C que pode ser atribuído ao início da fusão de ATV, já que nesta temperatura nenhum evento foi registrado na curva TG. No segundo evento ( $\Delta m_2$ ) a perda foi de aproximadamente 76% entre o intervalo de temperatura de 318 a 420°C. Dentro deste mesmo intervalo de temperatura, na curva DTA foi observado dois eventos endotérmicos consecutivos, que dada a perda de massa (TG), pode estar associado às etapas de degradação de ATV. A massa remanescente, em torno de 5% da massa inicial, foi diminuindo lentamente ao longo da análise. Ao fim do aquecimento não foi percebido massa residual no cadinho. Este comportamento de perda de massa também foi obtido por Hate *et al.* (2020).

Figura 9 – Curvas TG/DTA e DTG do Atazanavir base livre

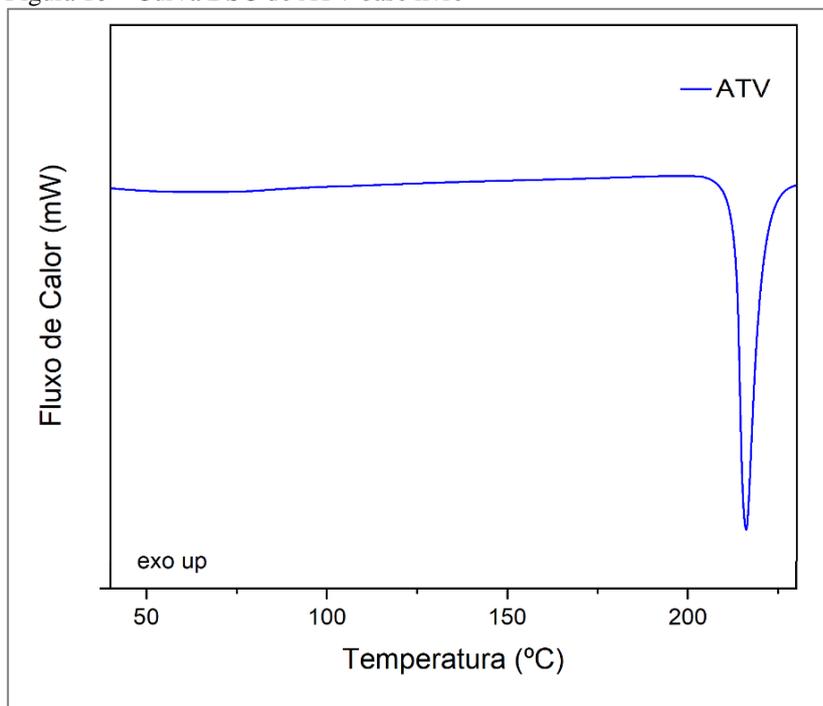


Fonte: Autora (2020).

Legenda: TG (curva cor preto);  
DTG (curva azul);  
DTA (curva vermelha);  
Massa: 8,98 mg.

A curva DSC na Figura 10 mostra o comportamento calorimétrico de ATV base livre. Nesta curva há apenas um evento endotérmico na forma de um pico característico de fusão de ATV ( $T_{\text{onset}} = 207^\circ\text{C}$ ,  $\Delta H = 99,91 \text{ J.g}^{-1}$ ). A temperatura que dá início ao evento na curva DSC coincide com a faixa de temperatura onde o evento endotérmico de mudança física de ATV ocorre na curva DTA (FIGURA 6) (HATE; REUTZEL-EDENS; TAYLOR, 2020).

Figura 10 – Curva DSC de ATV base livre



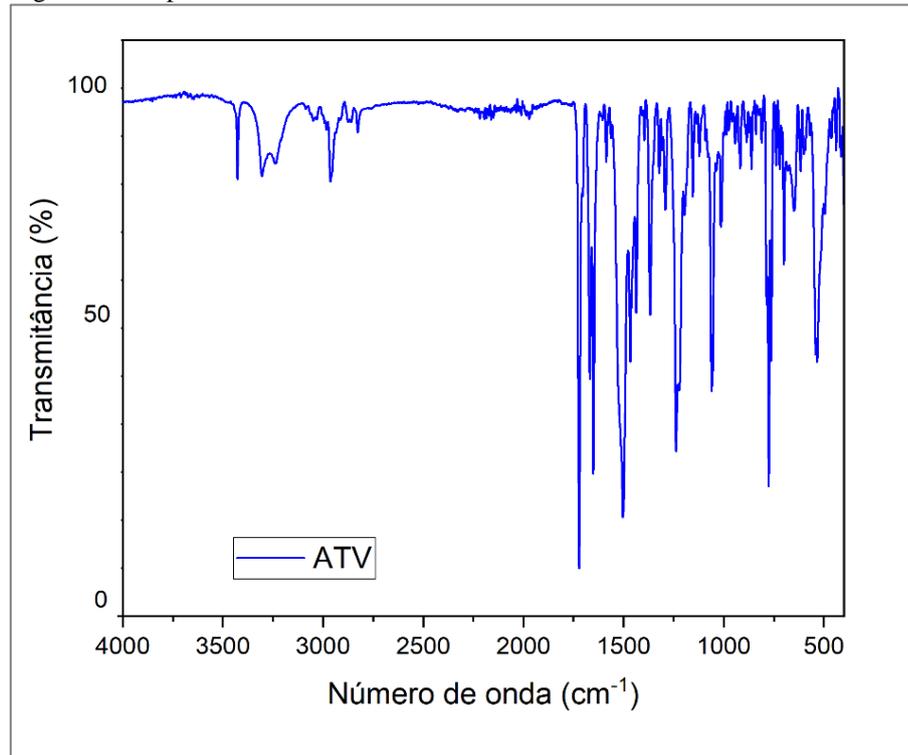
Fonte: Autora (2020).

Legenda: massa: 2,01 mg.

Além das análises termoanalíticas, amostras dos ATV base livre recém separados também foram submetidos à análise espectroscópica FTIR.

A Figura 11 apresenta o espectro FTIR de ATV, onde é possível verificar as principais bandas que o caracterizam, sendo elas: a banda com dois picos em  $3428\text{ cm}^{-1}$  característica à estiramento de N-H de amida secundária, bandas em  $1707$ ,  $1688$  e  $1670\text{ cm}^{-1}$  atribuídas à estiramento de C=O e  $1053\text{ cm}^{-1}$  atribuída à estiramento de C-O (FROCHOT *et al.*, 2016; HATE; REUTZEL-EDENS; TAYLOR, 2020).

Figura 11 – Espectro FTIR de ATV base livre

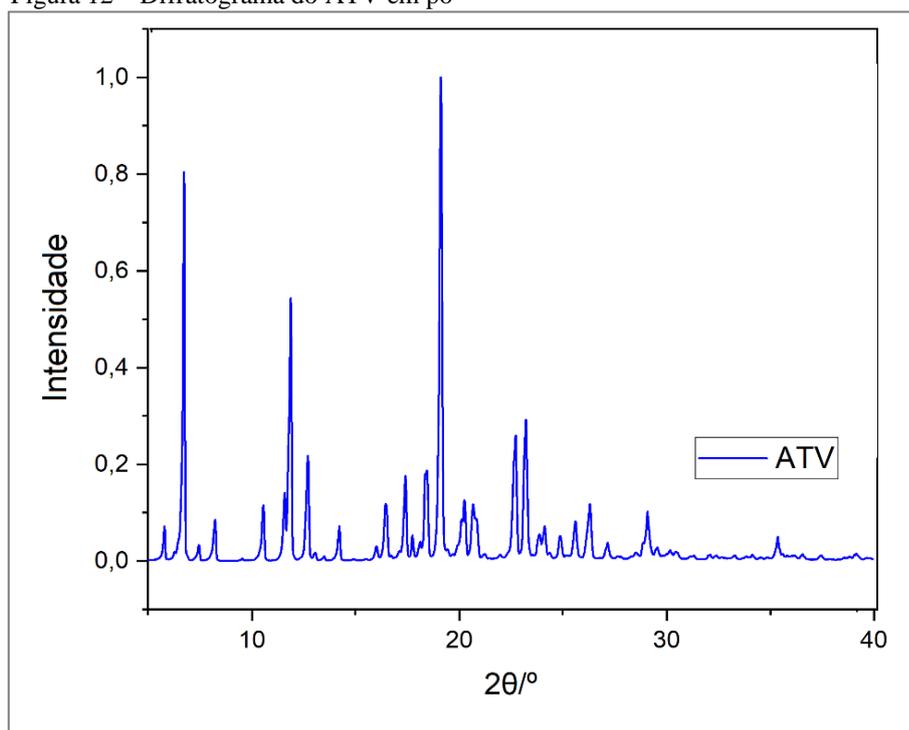


Fonte: Autora (2020).

Com o resultado obtidos por meio das três técnicas e com base na literatura foi possível confirmar a obtenção do ATV base livre puro, e então para finalizar, por se tratar de um material cristalino, a amostra também foi submetida à difração de raios-x.

O difratograma (FIGURA 12) mostra o padrão de difração de um material cristalino que apresenta uma série de picos em 5 e 30°, sendo os picos mais intensos 6,74°, 11,88°, 19,12°, 22,70° e 23,22° (INDULKAR *et al.*, 2017; XIA *et al.*, 2012).

Figura 12 – Difratoograma do ATV em pó



Fonte: Autora (2020).

Com o IFA caracterizado, antes de iniciar as etapas de obtenção das formas sólidas, os demais compostos utilizados também foram submetidos às técnicas termoanalíticas que serão apresentados na próxima seção.

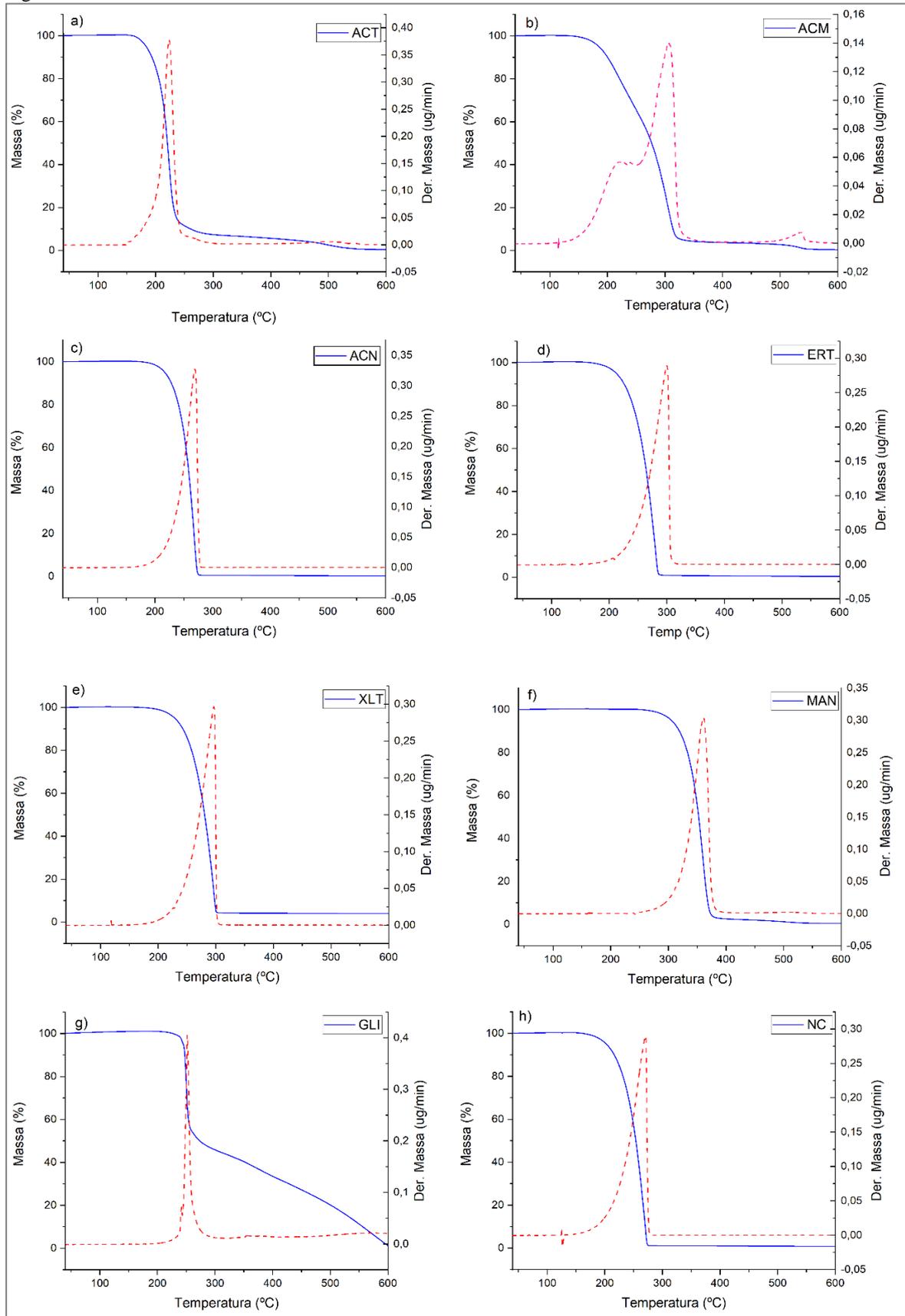
### 5.3 ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA DOS COFORMADORES

Esta análise foi realizada para conhecer o comportamento térmico, em especial a estabilidade térmica dos coformadores a fim de contribuir para uma melhor discussão dos eventos térmicos que ocorrerão nas análises calorimétricas em que ATV e coformadores serão submetidos. Na Figura 13 estão representadas as curvas termogravimétricas dos coformadores utilizados neste trabalho. Pode-se notar que a maioria das curvas, com exceção de glicina e ácido mandélico, ocorrem apenas uma etapa sem a presença de massa residual ao final do experimento.

Na curva que representa o ácido mandélico, percebe-se que a perda de sua massa se dá em três eventos, sendo os dois primeiros eventos ( $\Delta m_1$  e  $\Delta m_2$ ) sobrepostos e apresentando uma perda de massa equivalente a 96% e o último evento ( $\Delta m_3$ ) apresentado uma perda de 4% da massa. Na curva que representa a glicina ocorre a perda de massa em um evento bem definido, em que a primeira perda de massa ( $\Delta m_1$ ) corresponde à 47% da massa total e um

evento de perda gradativa da massa restante até o final do experimento. O início da perda de massa dos coformadores ocorreram nas seguintes temperaturas: para ácido cítrico (160°C), ácido mandélico (140°C), ácido nicotínico (175°C), eritritol (204°C), xilitol (200°C), manitol (255°C), glicina (235°C) e nicotinamida (163°C). Conhecer a temperatura em que cada coformador inicia sua perda de massa foi importante para ajudar a selecionar aqueles que apresentaram estabilidade térmica até a faixa de temperatura de fusão de ATV para o método de síntese por fusão, caso do manitol e glicina.

Figura 13 – Curvas TG/DTG dos coformadores



Fonte: Autora (2019).

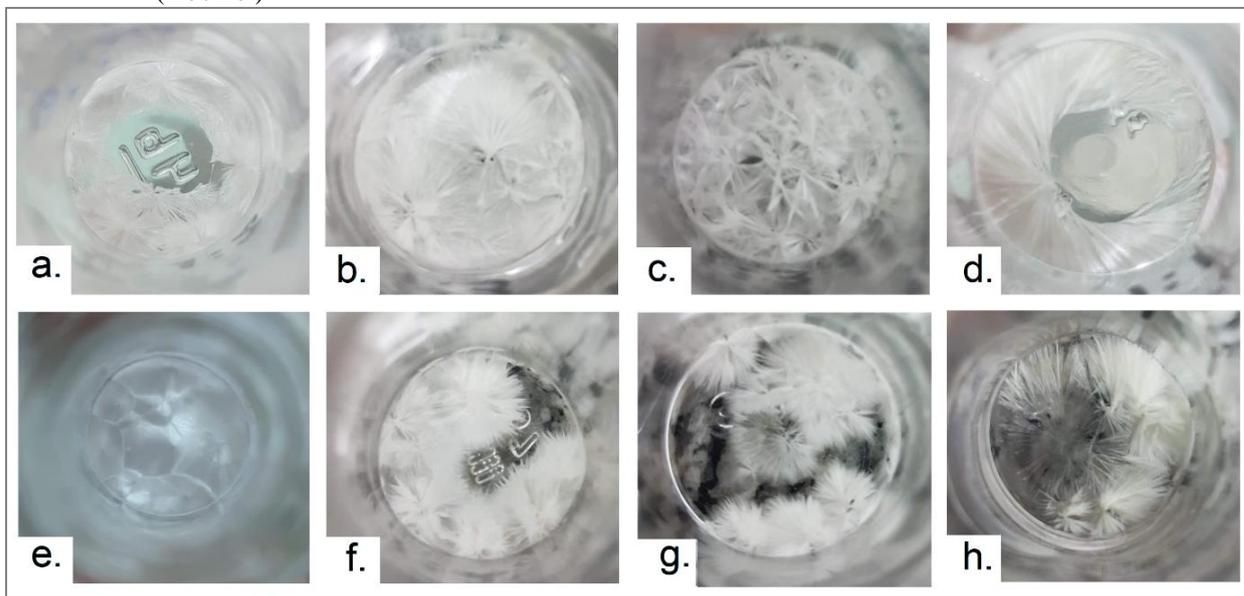
Legenda: TG (linha contínua azul); DTG (linha tracejada vermelha);

- a) ACT (8,529 mg);
- b) ACM (9,097 mg);
- c) ACN (8,135 mg);
- d) ERT (8,557 mg);
- e) XLT (8,162 mg);
- f) MAN (8,561 mg);
- g) GLI (6,754mg);
- h) NC (8,217 mg).

#### 5.4 SÍNTESE POR EVAPORAÇÃO LENTA DE SOLVENTE

Após o processo de evaporação lenta do solvente, dentre as 24 misturas testadas (Tabela 1), não foi verificado a formação de cristais em apenas 5 amostras sendo elas: ATV+ACT nas proporções 1:2 e 1:3, ATV+ACM nas proporções 1:2 e 1:3, e ATV+GLI na proporção 1:2 (mol/mol). Todos os cristais obtidos foram submetidos a análise por DSC nas condições descritas na seção 4.1.2. Na Figura 14 é possível visualizar os cristais obtidos. Como os cristais de mesma composição química eram visualmente semelhantes, nesta figura estão apenas os que possuem estequiometria 1:1 (mol/mol).

Figura 14 – Imagem dos cristais obtidos pós síntese por evaporação lenta de solvente (metanol) na proporção 1:1 (mol/mol)

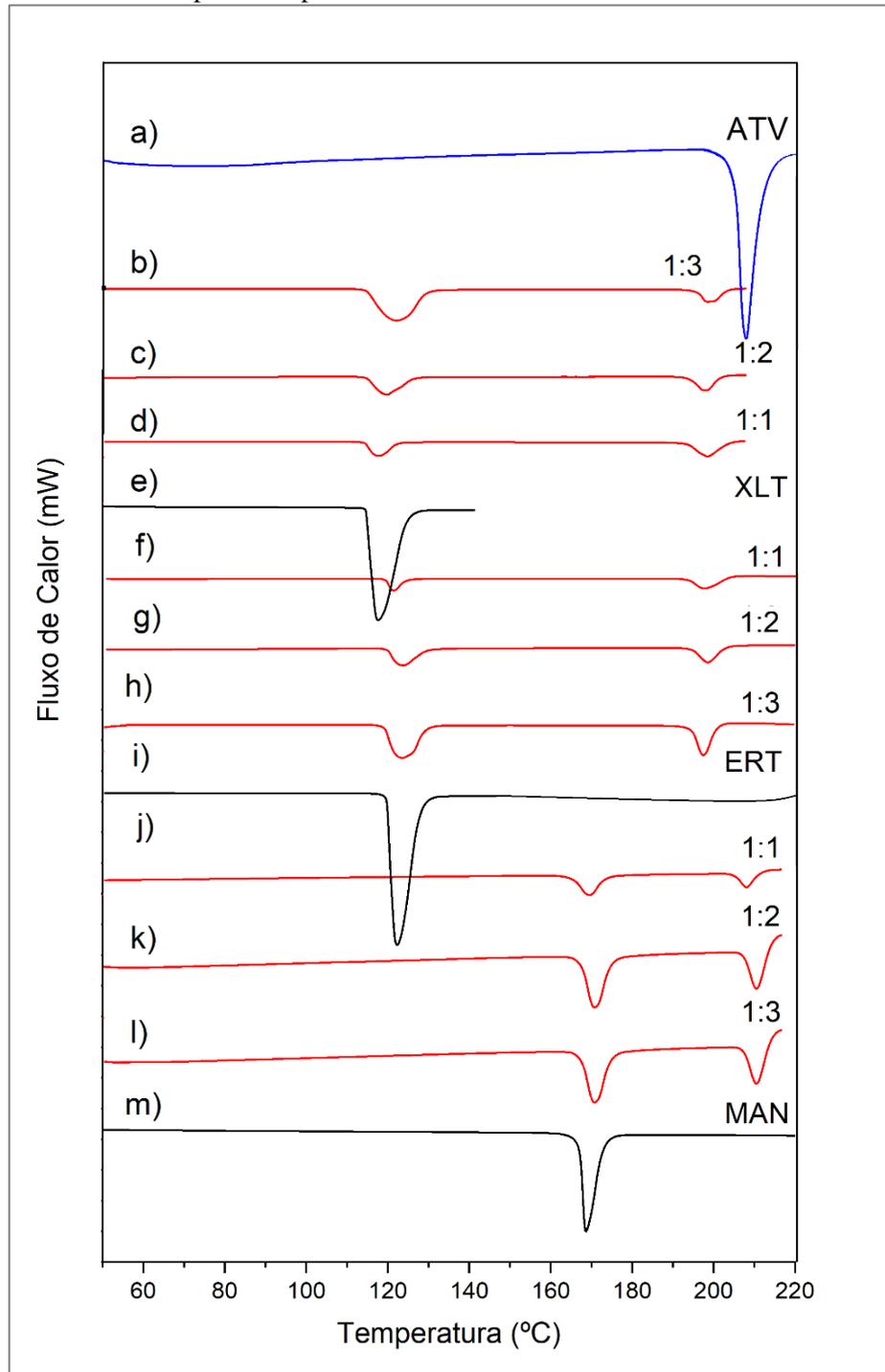


Fonte: Autora (2020).

Legenda: a) ATV+MAN;  
 b) ATV+ACT;  
 c) ATV+NC;  
 d) ATV+ACN;  
 e) ATV+ACM;  
 f) ATV+ERT;  
 g) ATV+XLT;  
 h) ATV+GLI.

A partir das curvas DSC foi realizada uma triagem para inferir a natureza das interações das misturas binárias que foram submetidas à síntese de obtenção de forma sólida por evaporação lenta de solvente. Na Figura 15 podem ser observadas as curvas DSC das misturas entre ATV e MAN, ERT e XLT. A primeira curva DSC (FIGURA 15a) descreve o comportamento de ATV em que existe apenas um evento endotérmico na temperatura de  $T_{\text{onset}} = 207^{\circ}\text{C}$  que pode ser atribuído à temperatura de fusão do fármaco (ARCHANA *et al.*, 2014). As curvas (e), (i) e (m) (FIGURA 15), mostram o comportamento de XLT, ERT e MAN, consecutivamente, e nelas apenas o evento endotérmico característicos de suas respectivas fusões é mostrado, com um evento ocorrendo em  $T_{\text{onset}} = 118^{\circ}\text{C}$  (ANISH *et al.*, 2020), o outro em  $T_{\text{onset}} = 119^{\circ}\text{C}$  (AGYENIM; EAMES; SMYTH, 2011), e o último em  $T_{\text{onset}} = 168^{\circ}\text{C}$  (GIL *et al.*, 2013). As demais curvas DSC reunidas na Figura 15, são as curvas obtidas a partir das misturas 1:1, 1:2 e 1:3 (mol/mol) onde é possível visualizar dois eventos endotérmicos que podem ser atribuídos à fusão dos componentes da mistura. As curvas (b), (c) e (d) (FIGURA 15), são da mistura entre ATV e XLT, as (f), (g) e (h) (FIGURA 15), são das misturas ATV e ERT e as (i), (j) e (k) (FIGURA 15), da mistura entre ATV e MAN. Os resultados demonstram que a natureza da interação entre as misturas binárias após submetidos ao método de evaporação lenta de solvente é apenas de natureza física.

Figura 15 – Curvas DSC das amostras que resultaram em interação física e seus componentes puros



Fonte: Autora (2020).

Legenda: a) ATV;

b) 1:3 ATV+XLT;

c) 1:2 ATV+XLT;

d) 1:1 ATV+XLT;

e) XLT;

f) 1:1 ATV+ERT;

g) 1:2 ATV+ERT;

h) 1:3 ATV+ERT;

i) ERT;

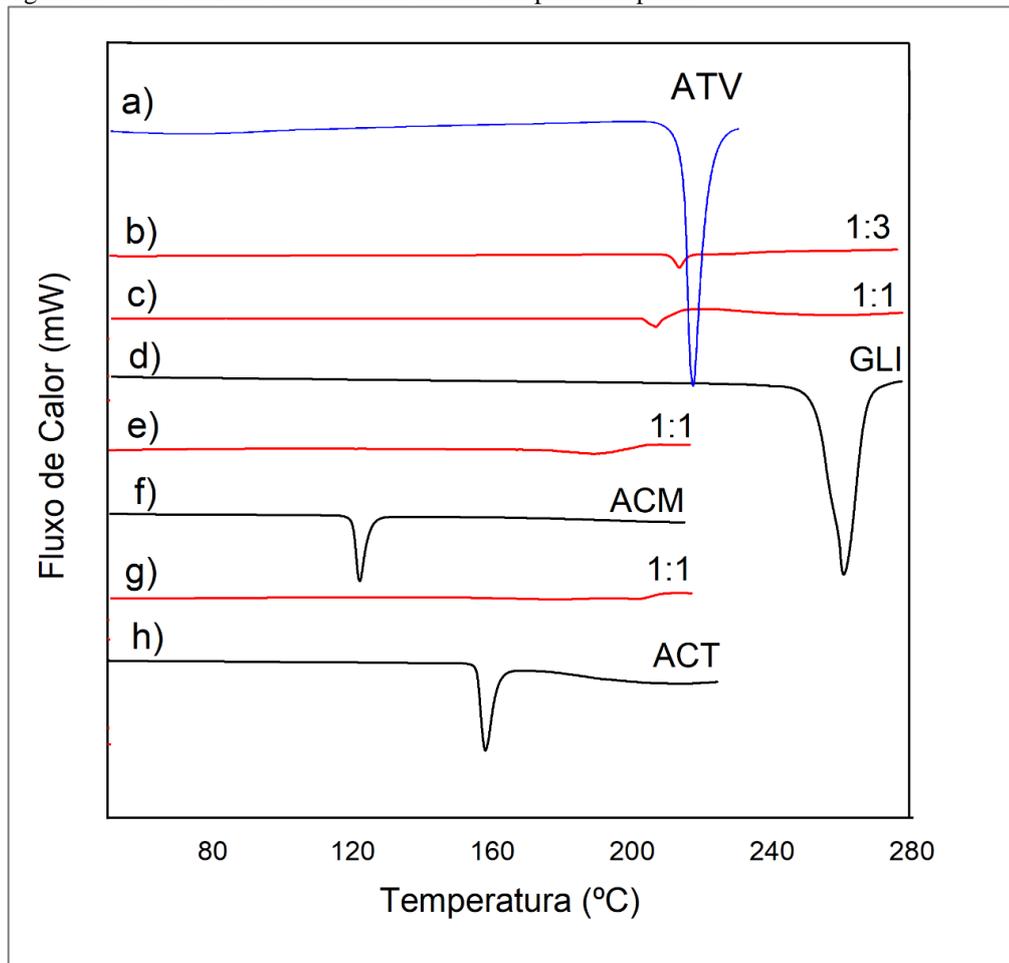
- j) 1:1 ATV+MAN;
- k) 1:2 ATV+MAN;
- l) 1:3 ATV+MAN;
- m) MAN.

Na Figura 16 estão as curvas DSC das amostras cuja mistura não originou em materiais visualmente cristalinos nas três proporções submetidas à síntese. Na Figura 16(b) e Figura 16(c) estão demonstradas as curvas da mistura ATV-GLI nas proporções 1:3 e 1:1 (mol/mol), respectivamente, e na figura 16(d) a curva DSC apenas de GLI. Na curva de GLI (FIGURA 16d) existe apenas um evento endotérmico em  $T_{\text{onset}} = 258^{\circ}\text{C}$  característico do ponto de fusão da forma polimórfica  $\alpha$  de GLI (SRINIVASAN, 2008). Nas curvas (b) e (c) (FIGURA 16) também ocorre apenas um evento endotérmico em aproximadamente  $T_{\text{onset}} = 206^{\circ}\text{C}$  e  $202^{\circ}\text{C}$ , consecutivamente. A ausência do pico representante do ponto de fusão da GLI e a ligeira diferença dos picos comparado com o pico de fusão de ATV (FIGURA 16a) sugere a ocorrência de interação química. A amostra obtida pela mistura 1:2 (mol/mol) formou um produto bastante viscoso e, portanto, foi descartado.

No caso da mistura entre ATV+ACT a única amostra que visualmente parecia ter formado cristais após evaporação total do solvente foi a amostra cuja razão estequiométrica era de 1:1 (mol/mol), as demais proporções 1:2 e 1:3 formaram uma espécie de suspensão incolor/esbranquiçada de textura bastante viscosa e por isso foram descartadas. As curvas (e) e (f) (FIGURA 16) descrevem o comportamento da mistura ATV+ACT 1:1 (mol/mol) e do ACT puro, respectivamente. Na curva que demonstra o comportamento do ACT puro (FIGURA 16f) existem dois eventos, sendo o primeiro um pico endotérmico em  $T_{\text{onset}} = 156^{\circ}\text{C}$  que pode ser atribuído à temperatura de fusão da substância seguido de uma curva endotérmica que pode estar associada à início de perda de massa pós-fusão, de acordo com curva TG da Figura 13. A curva DSC referente à mistura (FIGURA 16e) não apresenta nenhum evento endotérmico, nem característico de fusão e nem uma mudança de linha base característica de transição de vítrea ( $T_g$ ) (ABU-SEHLY; ALAMRI; JORAID, 2009).

As curvas DSC (h) e (g) (FIGURA 16) apresentam o comportamento de ACM e da mistura equimolar 1:1 de ATV+ACM, respectivamente. Na curva (h) (FIGURA 16) existe apenas um evento endotérmico em  $T_{\text{onset}} = 122^{\circ}\text{C}$  que corresponde à temperatura de fusão de ACM (GOMES *et al.*, 2012). Na curva que descreve o comportamento da mistura (g) da Figura 16 não existe nenhum evento endotérmico, assim como no caso anterior (FIGURA 16e).

Figura 16 – Curvas DSC das amostras e seus componentes puros



Fonte: Autora (2020).

Legenda: a) ATV;

b) 1:3 ATV+GLI;

c) 1:1 ATV+GLI;

d) GLI;

e) 1:1 ATV+ACM;

f) ACM;

g) 1:1 ATV+ACT;

h) ACT.

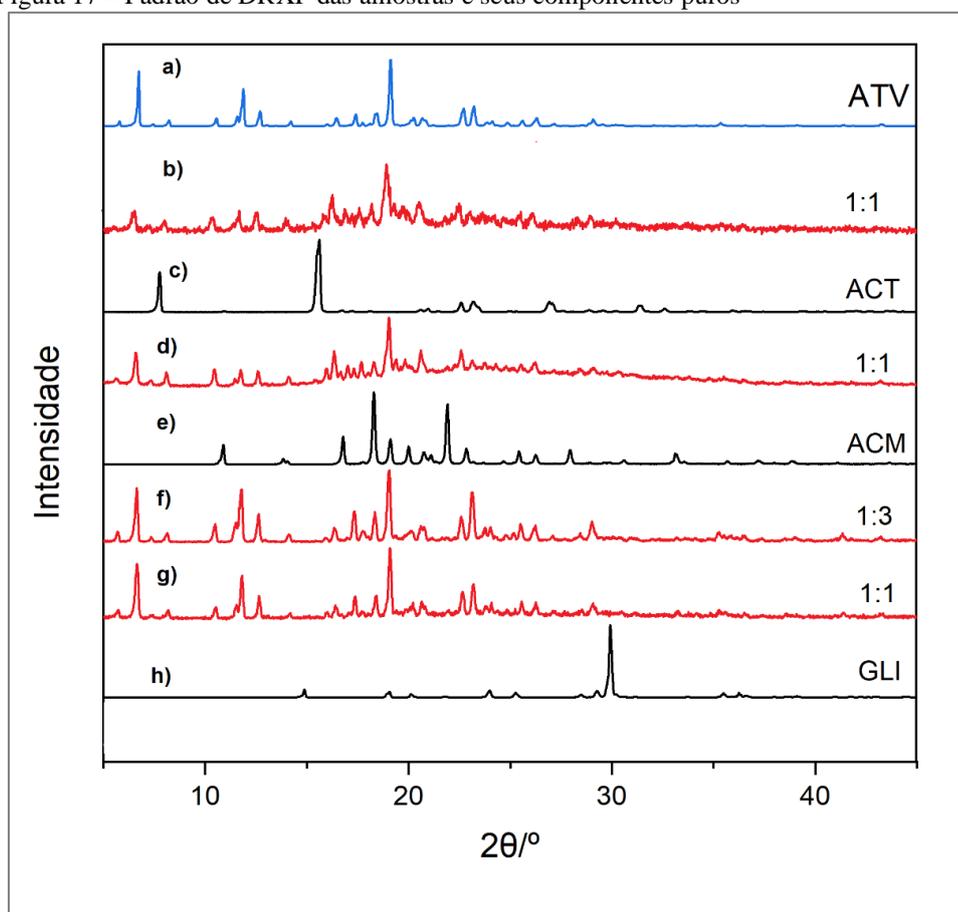
A ausência de pico de fusão de ambos os componentes da mistura ou de apenas um deles faz com que uma outra técnica seja necessária para inferir sobre a natureza da interação que ocorreu entre eles. Por se tratar de amostras que visivelmente eram materiais cristalinos, estas foram submetidas à DRXP e os padrões de difração estão representados na Figura 17.

Na Figura 17 estão disponíveis o padrão de difração do ATV (FIGURA 17a), já discutido na seção 5.2, de ACT, ACM e GLI, (c), (e) e (h) respectivamente (FIGURA 17), e das misturas entre estes e o ATV.

O padrão de difração exibido pela mistura 1:1 (mol/mol) entre ATV+ACT (FIGURA 17b) apresenta o mesmo padrão de difração de ATV isolado, exibindo os mesmos picos com

menor intensidade e um halo na base, indicando que parte da amostra submetida DRXP encontrava-se amorfizada. O mesmo padrão de difração foi obtido pela mistura 1:1 (mol/mol) entre ATV+ACM (FIGURA 17d), onde o padrão de difração apenas de ATV é exibido com um halo indicando presença de materiais amorfos na amostra. Em ambos os casos, a ausência dos picos de ACT (FIGURA 17c) e ACM (FIGURA 17e) sugere que estes sofreram amorfização durante a tentativa de síntese. Os padrões de difração obtidos pela mistura entre ATV+GLI 1:3 e 1:1 (mol/mol) estão representado na Figura 17(f) e Figura 17(g), respectivamente, e nestes é possível ver que, assim como nos exemplos anteriores, trata-se do padrão de difração de ATV (FIGURA 17a) com ausência do padrão de difração de GLI (FIGURA 17h), no entanto com halo de menor intensidade.

Figura 17 – Padrão de DRXP das amostras e seus componentes puros



Fonte: Autora (2021).

Legenda: a) ATV;

b) 1:1 ATV+ACT;

c) ACT;

d) 1:1 ATV+ACM;

e) ACM;

f) 1:3 ATV+GLI;

g) 1:1 ATV+GLI;

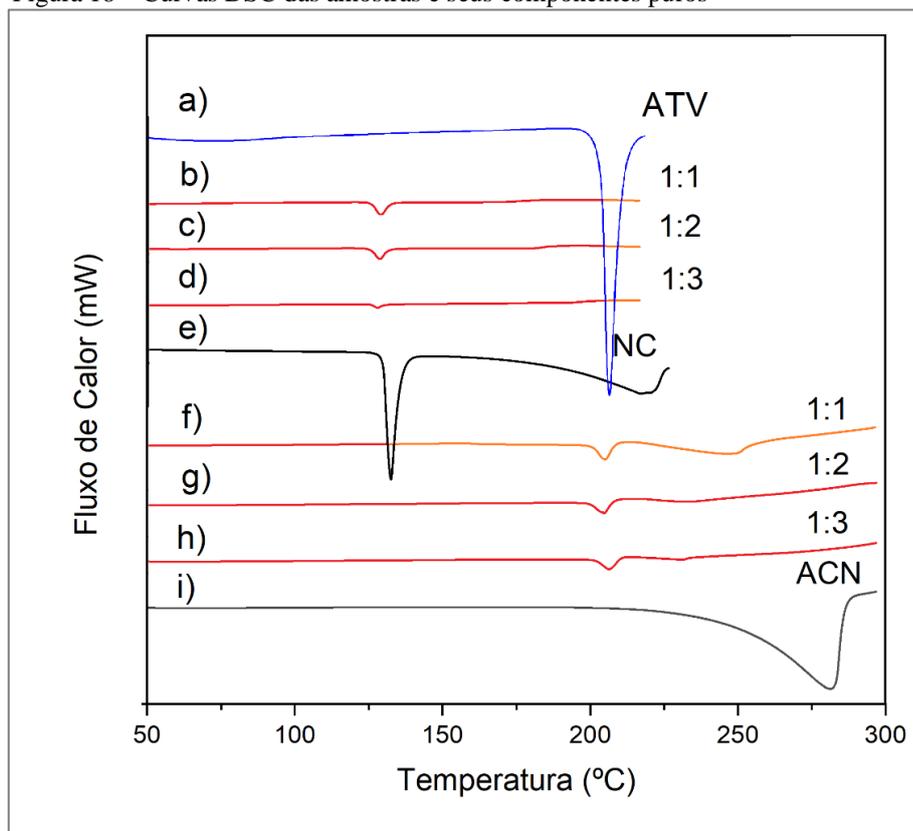
h) GLI.

Aliando os resultados contidos nas Figuras 16 e 17, pode-se afirmar que a síntese por evaporação lenta de solvente nas condições usadas não produziu resultados satisfatórios.

As curvas DSC (b), (c), (d) e (e) (FIGURA 18) descrevem o comportamento das misturas de ATV+NC nas proporções 1:1, 1:2 e 1:3 (mol/mol) e NC pura, respectivamente. Na curva que descreve comportamento de NC (FIGURA 18e) existe um evento endotérmico apresentado na forma de pico e um segundo evento endotérmico em aproximadamente  $T_{\text{onset}}=186^{\circ}\text{C}$ . NC apresenta três formas polimórficas e o pico endotérmico em  $T_{\text{onset}}=129^{\circ}\text{C}$  é característico do ponto de fusão da forma I, de acordo com Hino, Ford e Powell (2001). O segundo evento pode estar associado à temperatura de decomposição de NC, já que esta temperatura coincide com a temperatura em que este começa a perder massa na curva TG (FIGURA 13). Ao realizar comparação entre as substâncias puras e as misturas, é possível verificar a presença de um evento endotérmico que ocorre em temperatura um pouco menor que à temperatura de fusão da NC, aproximadamente em  $T_{\text{onset}}=125^{\circ}\text{C}$ , mas que não coincide com as temperaturas de fusão das formas polimórficas II e III que são em  $111^{\circ}\text{C}$  e  $103^{\circ}\text{C}$ , respectivamente (HINO; FORD; POWELL, 2001). Também ocorreu o desaparecimento do pico de fusão do ATV.

As curvas DSC (f), (g), (h) e (i) (FIGURA 18) descrevem o comportamento de ATV+ACN na proporção 1:1, 1:2 e 1:3 (mol/mol) e do ACN puro, respectivamente. Imediatamente ao visualizar a curva referente ao comportamento do ACN (FIGURA 15i) já pode-se notar um comportamento inesperado para a substância. Além da ocorrência de um evento endotérmico bastante largo, diferente do evento endotérmico que representa uma temperatura de fusão de uma substância pura. Este evento apresenta um pico endotérmico na temperatura de  $T_{\text{onset}}=248^{\circ}\text{C}$  que é superior à temperatura de fusão do ácido nicotínico de  $236^{\circ}\text{C}$  (NASCIMENTO *et al.*, 2014). De qualquer modo, as misturas binárias parecem reproduzir os mesmos comportamentos de suas substâncias em seu estado puro, o que sugere que a interação entre ambos, aparentemente, seja apenas do tipo física.

Figura 18 – Curvas DSC das amostras e seus componentes puros



Fonte: Autora (2020).

Legenda: a) ATV;

b) 1:1 ATV+NC;

c) 1:2 ATV+NC;

d) 1:3 ATV+NC;

e) NC;

f) 1:1 ATV+ACN;

g) 1:2 ATV+ACN;

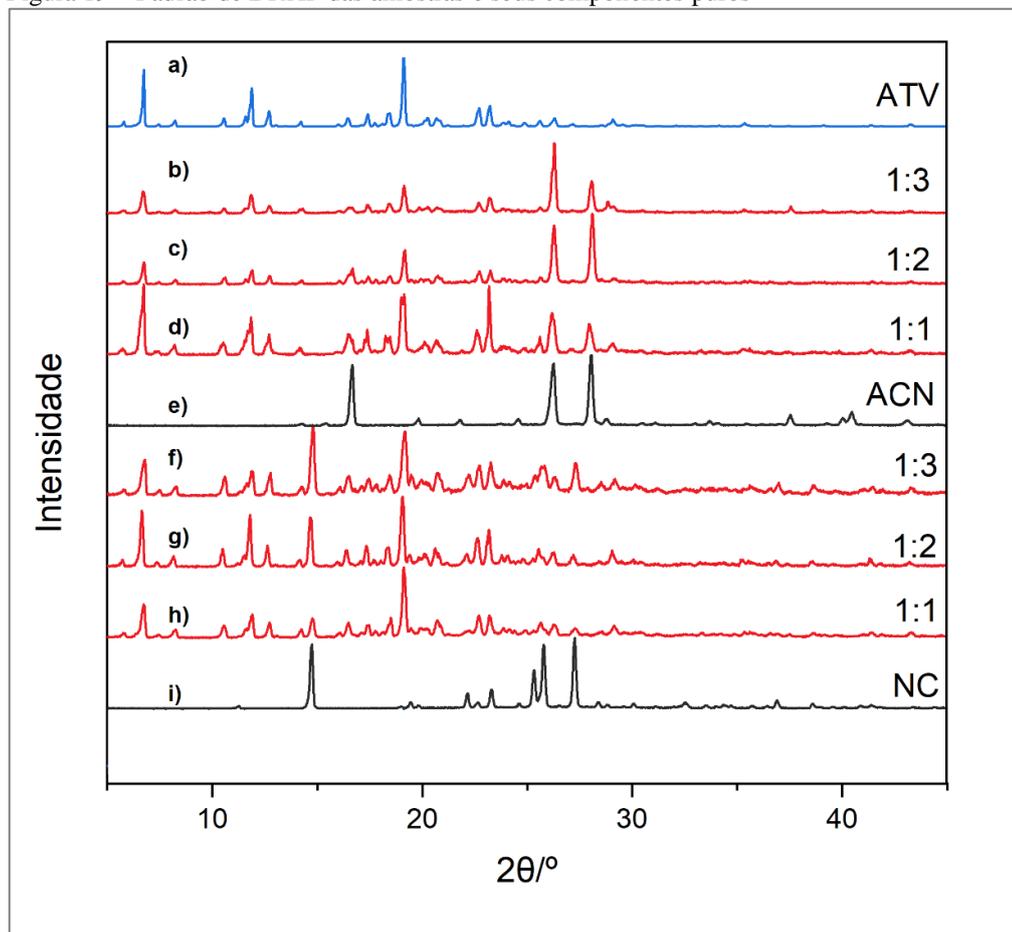
h) 1:3 ATV+ACN;

i) ACN.

Para tentar inferir se o menor ponto de fusão das misturas entre ATV e NC produziram uma nova entidade química, estes foram submetidos à DRXP e os padrões de difração obtidos estão exibidos na Figura 19.

Nesta figura estão contidos os padrões de difração tanto dos materiais puros, (a), (e) e (i) (FIGURA 19) quanto das misturas binárias entre eles (b), (c), (d), (f), (g) e (h) (FIGURA 19). De forma sucinta, o que é possível verificar ao comparar os padrões dos precursores puros com os da mistura, é que se trata de uma somatória de ambos para as três proporções estequiométricas, e que, portanto, a ausência de pico de fusão de ATV e o deslocamento dos picos de fusão das misturas entre ATV+NC (FIGURA 18) não são resultados de uma nova entidade química. Para as misturas ATV+ACN, DRXP apenas confirmou a natureza física da interação.

Figura 19 – Padrão de DRXP das amostras e seus componentes puros



Fonte: Autora (2021).

Legenda: a) ATV;

b) 1:3 ATV+ACN;

c) 1:2 ATV+ACN;

d) 1:1 ATV+ACN;

e) ACN;

f) 1:3 ATV+NC;

g) 1:2 ATV+NC;

h) 1:1 ATV+NC;

i) NC.

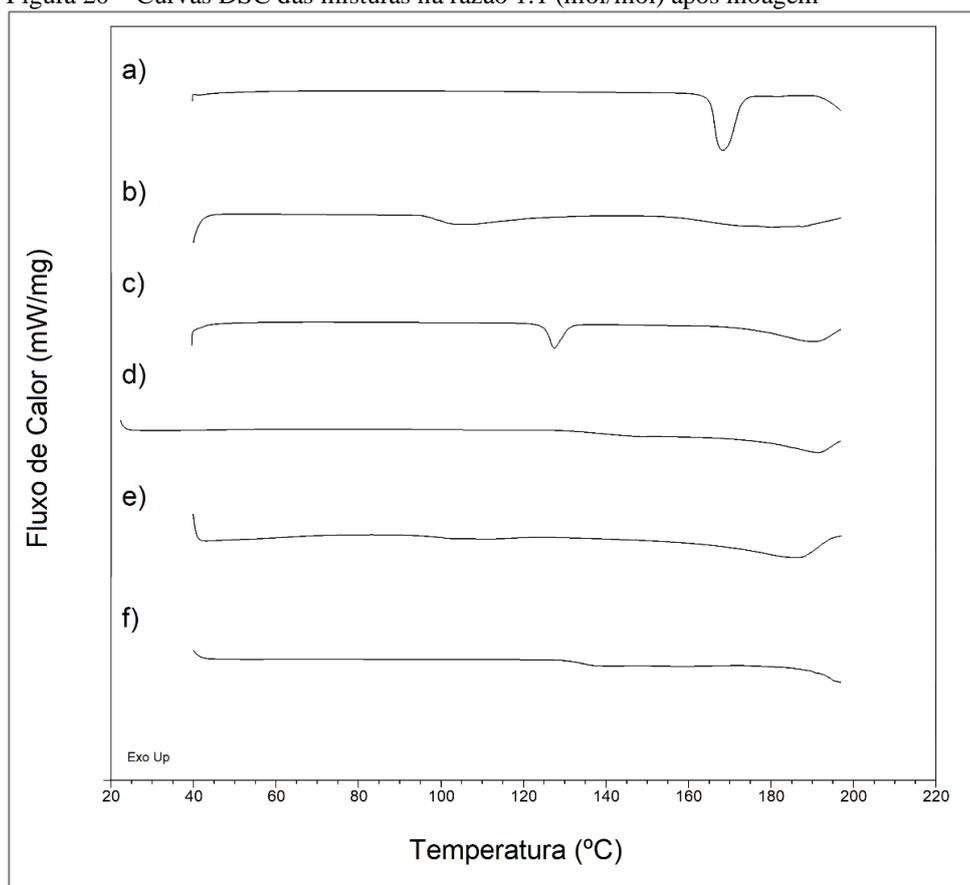
De forma geral, a metodologia de evaporação lenta de solvente entre ATV e os coformadores resultou, em sua maioria, em produtos que ou não se comportavam como materiais cristalinos ou que apresentaram interação física entre os componentes. Os demais produtos não satisfizeram a intenção inicial de obtenção de um cocrystal.

### 5.5 SÍNTESE POR MOAGEM ASSISTIDA POR LÍQUIDO (LAG)

Para a síntese por moagem assistida por líquido foram utilizadas misturas de ATV e dos coformadores na razão equimolar 1:1 por limitação de ATV na forma livre, já que para essa técnica também foram utilizados 30,0 mg de cada mistura. A investigação mais aprofundada variando a composição da mistura seria apenas realizada caso houvesse indícios de que tivesse ocorrido ainda que parcialmente a formação de cocristais. Pela falta de evidência de interação nas tentativas de síntese descritas na seção 4.3.3 optou-se por não testar os coformadores ERT e XLT no método mecanoquímico.

Na Figura 20 estão descritas as curvas DSC das misturas. A curva que descreve o comportamento de MAN, 20(a), apresenta apenas um pico endotérmico em  $T_{\text{onset}} = 168^{\circ}\text{C}$  como mencionado anteriormente. Nas curvas (b), (d), (e), (g) e (f) (FIGURA 20) os únicos eventos descritos são característicos de transição vítrea em  $T_{\text{onset}} = 98^{\circ}\text{C}$ ,  $T_{\text{onset}} = 120^{\circ}\text{C}$ ,  $T_{\text{onset}} = 101^{\circ}\text{C}$  e  $T_{\text{onset}} = 132^{\circ}\text{C}$ , respectivos às misturas ATV+ACT, ATV+ACN, ATV+ACM e ATV+GLI. Estas transições vítreas, características de materiais amorfos, podem indicar que durante o processo de moagem houve amorfização parcial ou integral das amostras (IONASHIRO; CAIRES; GOMES, 2005). Por fim, na curva (c) da Figura 20 referente ao ATV+NC pode-se verificar um evento endotérmico em  $T_{\text{onset}} = 125^{\circ}\text{C}$  diferente da temperatura de fusão de NC, porém é um resultado similar ao obtido na seção anterior (5.4), contido na Figura 18.

Figura 20 – Curvas DSC das misturas na razão 1:1 (mol/mol) após moagem



Fonte: Autora (2021).

Legenda: a) ATV+MAN;  
 b) ATV+ACT;  
 c) ATV+NC;  
 d) ATV+ACN;  
 e) ATV+ACM;  
 f) ATV+GLI.

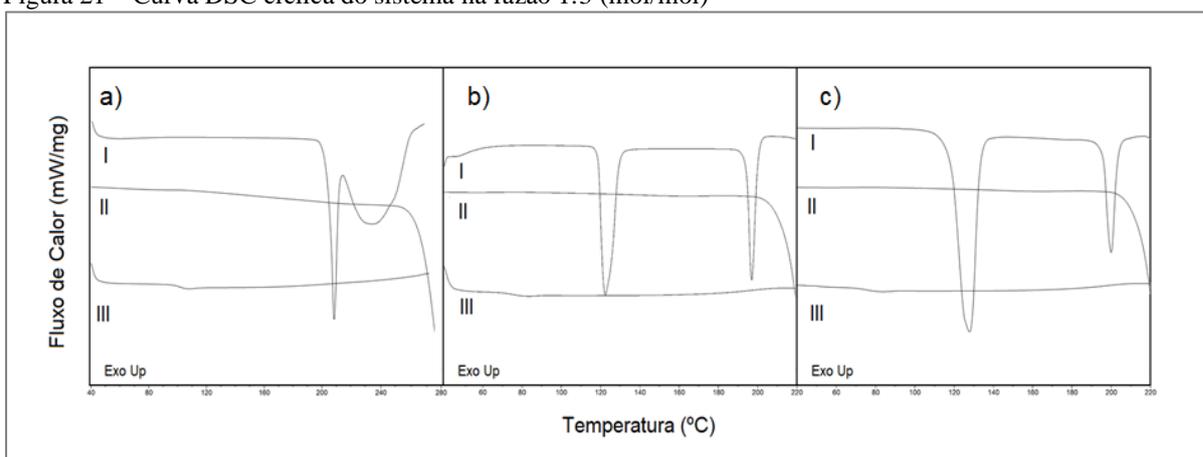
A metodologia empregada para a síntese de cocristais de ATV por meio de moagem mecanoquímica não foi eficiente.

## 5.6 SÍNTESE POR FUSÃO

Para a síntese a partir de fusão simultânea com ATV, foram selecionados os conformadores que apresentaram estabilidade térmica acima da temperatura de fusão de ATV que é 207°C. Assim, de acordo com seção 5.2 (FIGURA 10), foram utilizados neste experimento o MAN e a GLI. Além desses, os conformadores ERT e XLT também foram submetidos à cocrystalização por fusão, embora apresentassem perda de massa alguns graus abaixo da temperatura de fusão do ATV.

Na Figura 21 estão as curvas DSC em ciclo das misturas binárias de ATV+GLI (FIGURA 21a), ATV+ERT (FIGURA 21b) e ATV+XLT (FIGURA 21c) nas razões estequiométricas 1:3 (mol/mol). Embora as três razões tenham sido submetidas, a escolha de apresentar somente essa razão 1:3 foi feita considerando que os resultados alcançados foram similares independente da proporção empregada. As curvas DSC da Figura 21 apresentam os ciclos de aquecimento e resfriamento das misturas binárias, em que (I) corresponde ao aquecimento onde ocorre a fusão dos componentes da mistura, (II) refere-se ao resfriamento e (III) corresponde ao reaquecimento da mistura. No primeiro aquecimento (I) os picos endotérmicos em aproximadamente  $T_{\text{onset}} = 207^{\circ}\text{C}$  pode ser atribuído à fusão de ATV. Na curva 21(a), logo após o pico de fusão ocorre em seguida um evento endotérmico que pode ser atribuído à decomposição do próprio ATV, já que para fundir GLI a composição foi aquecida até  $280^{\circ}\text{C}$ . No aquecimento até  $230^{\circ}\text{C}$  somente era possível verificar o início do segundo evento endotérmico. Nas curvas (b) e (c) (FIGURA 21) os eventos que ocorrem em  $T_{\text{onset}} = 119^{\circ}\text{C}$  e  $122^{\circ}\text{C}$  são, respectivamente, referentes às temperaturas de fusão de ERT e XLT. Nas curvas que descrevem o comportamento de resfriamento das misturas (II), não foi verificado nenhum pico exotérmico característico de cristalização, assim como também não se verificou nenhum evento endotérmico característico das temperaturas de fusão dos componentes das misturas.

Figura 21 – Curva DSC cíclica do sistema na razão 1:3 (mol/mol)



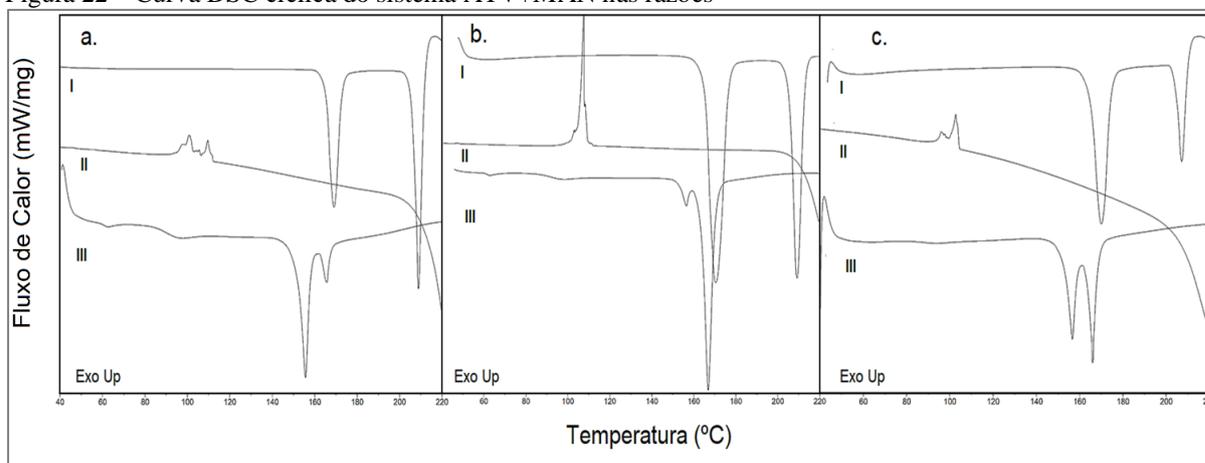
Fonte: Autora (2020).

Legenda: a) ATV+GLI;  
b) ATV+ERT;  
c) ATV:XLT.

Os resultados referentes as misturas binárias com MAN apresentaram comportamento diferenciado e, por este motivo, estão destacadas a seguir. As curvas DSC da Figura 22

apresentam os ciclos de aquecimento e resfriamento das misturas ATV+MAN nas três proporções avaliadas em que (I) corresponde ao aquecimento onde ocorrem a fusão dos componentes da mistura, (II) ao resfriamento e (III) ao reaquecimento da mistura. Nas curvas (a), (b) e (c) (FIGURA 22), no primeiro aquecimento (I) foi possível observar dois picos endotérmicos, sendo o primeiro atribuído à fusão do MAN em  $T_{\text{onset}} = 168^{\circ}\text{C}$  e o segundo à fusão de ATV em  $T_{\text{onset}} = 207^{\circ}\text{C}$ . Durante o resfriamento (II) nas curvas (a) e (c) (FIGURA 22) nota-se uma série de picos exotérmicos sobrepostos quando a temperatura atinge cerca de  $103^{\circ}\text{C}$  que podem ser atribuídos à cristalização da mistura. Na curva (b) (FIGURA 22) ocorrem eventos exotérmicos que estão sobrepostos entre as temperaturas de  $100$  e  $110^{\circ}\text{C}$ , cuja entalpia não é possível determinar em função desta sobreposição. Na última etapa do ciclo, no reaquecimento (III) nas três curvas da Figura 22 é possível visualizar dois picos endotérmicos que podem ser associados à fusão de duas novas entidades químicas, sendo o primeiro pico em  $T_{\text{onset}} = 152^{\circ}\text{C}$  e o segundo pico de fusão em  $T_{\text{onset}} = 166^{\circ}\text{C}$  que podem ser resultados da formação de uma nova entidade química, dada a diferença destes eventos em relação aos eventos da mistura física.

Figura 22 – Curva DSC cíclica do sistema ATV+MAN nas razões



Fonte: Autora (2020).

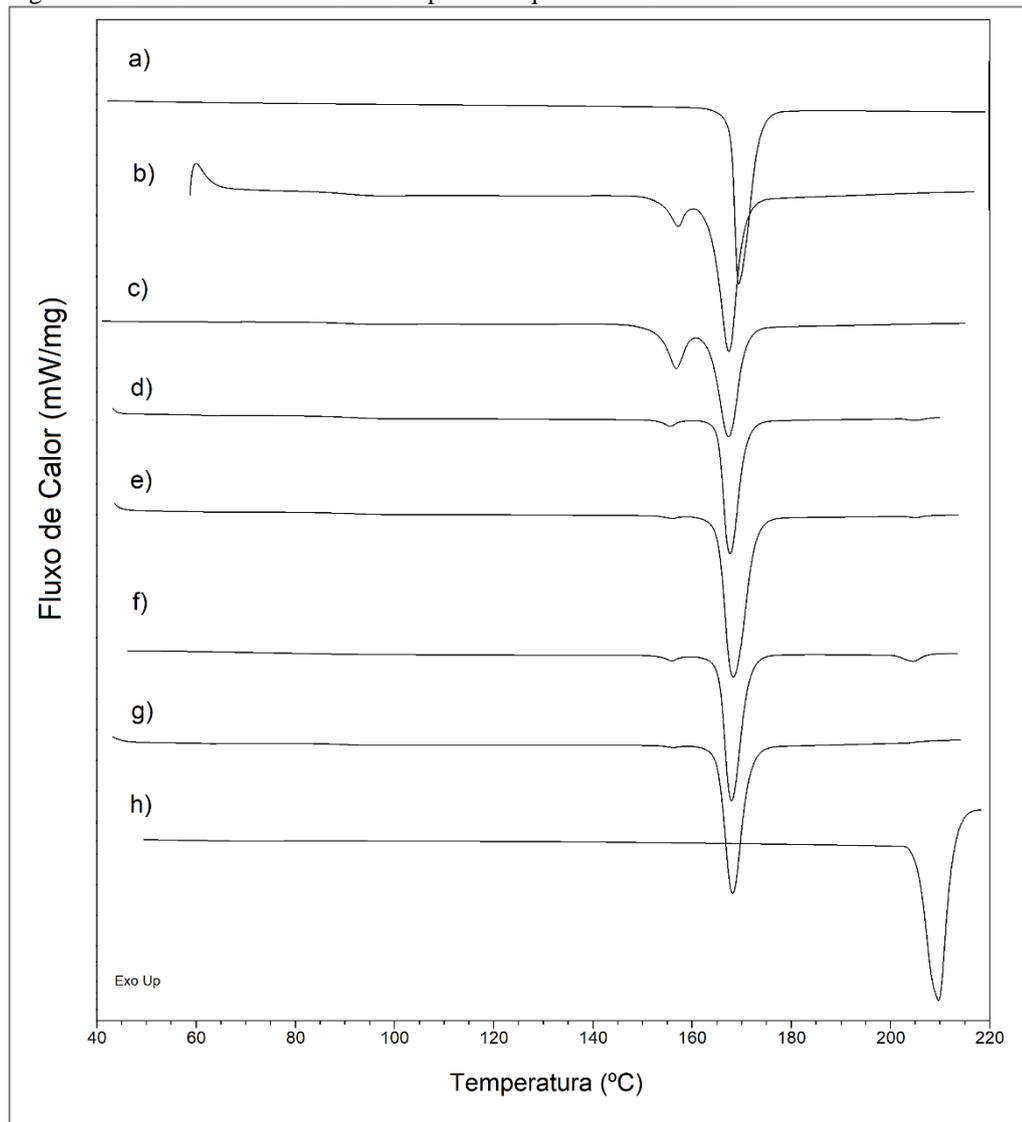
Legenda: a) 1:1 (mol/mol);  
 b) 1:2 (mol/mol);  
 c) 1:3 (mol/mol).

Como a área dos picos endotérmicos demonstrados no reaquecimento (III) parece aumentar ou diminuir conforme a composição da mistura ATV+MAN varia, foi necessário realizar novas curvas DSC cíclicas com razões estequiométricas variadas na tentativa de otimizar em qual proporção é possível a formação de apenas um dos produtos. Observando que na curva (a) no reaquecimento (III), a estequiometria 1:1 parece ter favorecido a formação

da espécie química que funde em 152°C, na curva (b) a estequiometria 1:2 aparentemente favoreceu a espécie que funde à 165°C e na curva (c) volta a favorecer a espécie que funde em 152°C, imaginou-se a princípio de que a proporção correta de MAN na mistura binária estaria entre as razões ATV+MAN 1:2 e 1:3 (mol/mol) (FIGURA 22). Deste modo, foram feitas novas misturas binárias em diferentes razões molares considerando este intervalo sendo as mesmas então submetidas ao experimento de fusão e resfriamento (DSC cíclica).

Na primeira curva, Figura 23(a), o pico endotérmico em  $T_{\text{onset}} = 168^\circ\text{C}$  descreve a temperatura de fusão do MAN puro. Nas Figuras 23(b), (c), (d), e (e), estão as curvas obtidas a partir da fusão simultânea das misturas binárias ATV+MAN nas razões estequiométricas 4:7, 4:9, 4:10 e 4:11 (mol/mol), respectivamente. Nestas curvas ainda é possível visualizar os dois eventos endotérmicos, embora a área do pico de fusão que corresponde à espécie que funde à 152°C seja cada vez menor na medida em que se aumenta a proporção de MAN em relação à ATV. Apesar das curvas da Figura 23(b) a Figura 23(e) possuírem razões estequiométrica compreendidas entre 1:2 e 1:3 (mol/mol) não foi possível obter apenas uma das espécies isoladas e, por isso, a investigação precisou seguir com razões estequiométricas acima de 1:3 (mol/mol). As curvas da Figura 23(f) e Figura 23(g) correspondem às razões 2:7 e 1:4 (mol/mol), respectivamente. Na primeira delas, além dos dois eventos endotérmicos já vistos anteriormente ainda foi possível visualizar um terceiro evento endotérmico em  $T_{\text{onset}} = 207^\circ\text{C}$  que pode indicar a presença de ATV remanescente. Na curva seguinte, Figura 23(g), há a ocorrência de apenas um evento endotérmico em  $T_{\text{onset}} = 165^\circ\text{C}$  indicando que nesta proporção é possível a obtenção isolada de apenas uma das espécies. O fato de a nova espécie apresentar temperatura de fusão abaixo das temperaturas de fusão dos componentes puros também contribui para a dúvida acerca da natureza desta espécie química, pois além de composições eutéticas, cocristais também podem apresentar o mesmo fenômeno (CHERUKUVADA; NANGIA, 2014). Por fim, apenas para fins de comparação visual, tem-se a curva DSC Figura 23(h) que apresenta evento endotérmico único atribuído à temperatura de fusão de ATV puro em  $T_{\text{onset}} = 207^\circ\text{C}$ .

Figura 23 – Curvas cíclicas DSC da etapa de reaquecimento obtidas



Fonte: Autora (2021).

Legenda: a) MAN;

b) ATV:MAN 4:7;

c) ATV:MAN 4:9;

d) ATV:MAN 4:10;

e) ATV:MAN 4:11;

f) ATV:MAN 2:7;

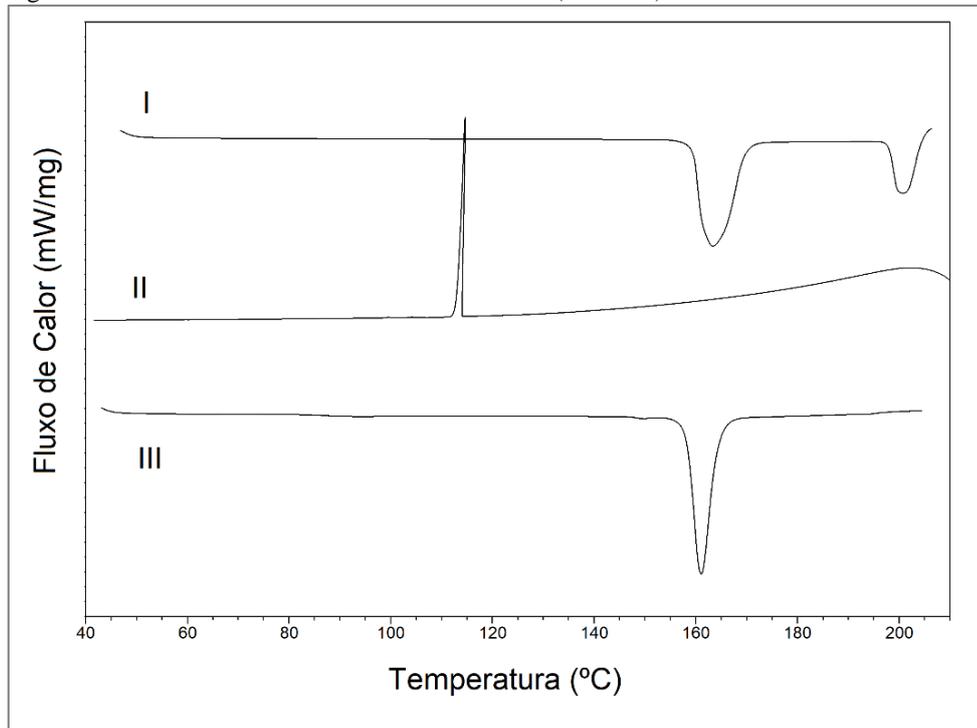
g) ATV:MAN 1:4;

h) ATV puro.

Na Figura 24 estão representadas as curvas DSC do ciclo completo de ATV:MAN, 1:4 (mol/mol) para demonstrar todos os eventos que levaram conclusão da estequiometria correta do sistema, sendo a curva (I) o resultado do aquecimento controlado da mistura binária ATV+MAN, a curva (II) o resultado obtido pelo resfriamento após fusão de ambos os componentes, e a curva (III), o resultado obtido após reaquecimento controlado da amostra. Na primeira curva (I) os dois eventos endotérmicos são resultados da fusão separada dos

componentes da mistura, em  $T_{\text{onset}} = 168^{\circ}\text{C}$  atribuído ao MAN e o outro em  $T_{\text{onset}} = 207^{\circ}\text{C}$  atribuído ao ATV. Na segunda curva (II) (FIGURA 24) há a ocorrência de um único evento exotérmico característico de cristalização, com pico máximo em  $114^{\circ}\text{C}$  com características diferentes dos obtidos durante resfriamento das misturas demonstradas na Figura 24, onde os picos de cristalização ocorriam pela sequência de dois ou mais eventos exotérmicos sobrepostos (IONASHIRO; CAIRES; GOMES, 2005). Na terceira curva (III) (FIGURA 24), é possível visualizar apenas um evento endotérmico em  $T_{\text{onset}} = 166^{\circ}\text{C}$  e também diferente dos resultados obtidos durante o aquecimento controlado das misturas. Este método de síntese por fusão em DSC cíclica foi realizado em triplicata e em todas elas obteve-se o mesmo resultado (dados não apresentados).

Figura 24 – Curva cíclica DSC de ATV+MAN 1:4 (mol/mol)



Fonte: Autora (2021).

Legenda: I) aquecimento;  
II) resfriamento;  
III) reaquecimento.

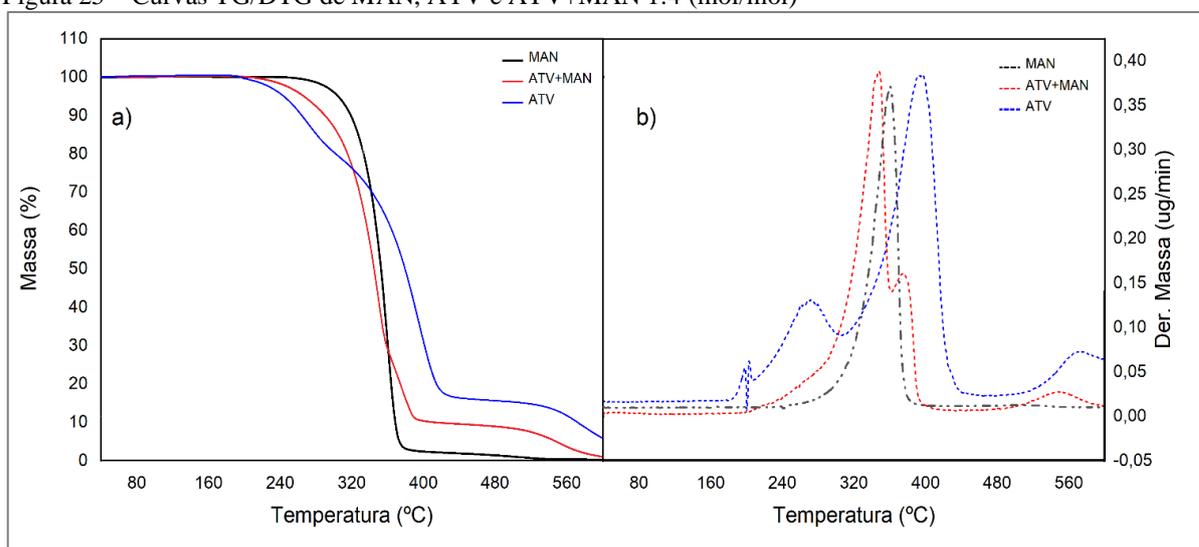
A amostra obtida pela fusão da mistura física ATV+MAN, por ser considerada a mais promissora, foi então submetida às demais técnicas de caracterização, cujos resultados estão apresentados na seção a seguir (5.7).

## 5.7 CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA ATV+MAN

### 5.7.1 Análise Termogravimétrica

As curvas TG/DTG do sistema ATV+MAN (1:4, mol/mol), estão disponíveis na Figura 25 onde observa-se que os eventos de perda de massa ocorrem em três etapas, sendo duas delas sobrepostas. A primeira perda de massa ( $\Delta m_1$ ) em aproximadamente 240°C e a segunda perda de massa ( $\Delta m_2$ ) ocorre sobrepondo o primeiro evento e, portanto, não é possível determinar a temperatura de início. A massa total perdida nos dois primeiros eventos corresponde à aproximadamente 88% da massa inicial. O terceiro evento ( $\Delta m_3$ ) inicia-se em aproximadamente 505°C e a perda corresponde à 12% da massa inicial. Não ocorre formação de resíduo ao final da análise. Ao comparar as curvas do ATV e do coformador com a curva do sistema TG/DTG é possível verificar que ocorreu um aumento na estabilidade térmica do IFA, que de acordo com a Figura 9 (seção 5.2), é de até 223°C.

Figura 25 – Curvas TG/DTG de MAN, ATV e ATV+MAN 1:4 (mol/mol)



Fonte: Autora (2020).

Legenda: a) curvas TG;

b) DTG de

MAN (7,96 mg) (preto);

ATV (8,98 mg) (azul);

ATV+MAN 1:4 (mol/mol, 8,02 mg) (vermelho).

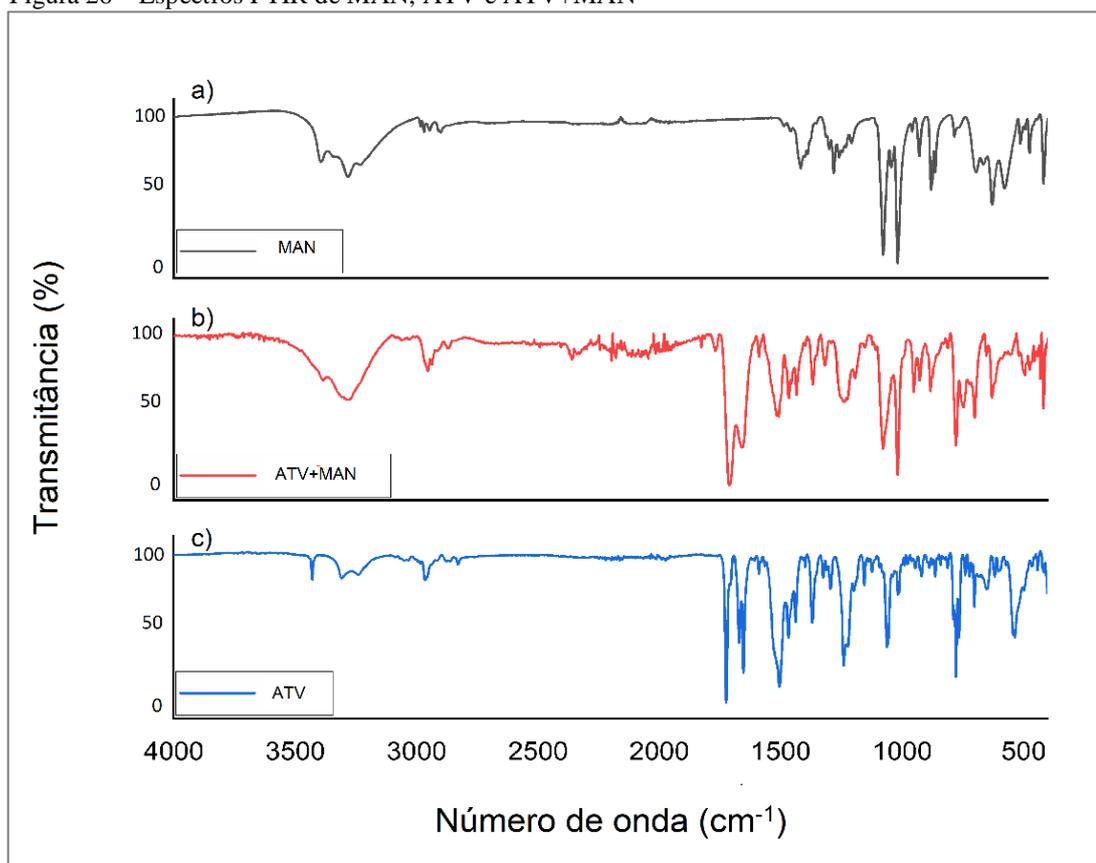
### 5.7.2 Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho (FTIR)

Os espectros FTIR presentes na Figura 26 teve como intuito avaliar por meio de comparação entre os espectros qual tipo de interação ocorreu entre MAN e ATV pelo desaparecimento ou deslocamento das bandas de absorção.

No espectro FTIR onde estão descritas as bandas de MAN (FIGURA 26a) as principais bandas são:  $3478\text{ cm}^{-1}$  referentes à estiramento de O-H de álcool,  $3000\text{ cm}^{-1}$  originada pelo estiramento de C-H e de  $1400$  a  $1200\text{ cm}^{-1}$  referentes às vibrações de deformação de C-O (BURGER *et al.*, 2000). Já as principais bandas do ATV (FIGURA 26c), conforme descritas na seção 5.2, são:  $3428\text{ cm}^{-1}$  atribuída à estiramento de N-H de amida secundária,  $1707$ ,  $1688$  e  $1670\text{ cm}^{-1}$  atribuídas à estiramento de C=O e  $1053\text{ cm}^{-1}$  atribuída à estiramento de C-O (FROCHOT *et al.*, 2016; HATE; REUTZEL-EDENS; TAYLOR, 2020). Além destas, ainda podem ser citar as bandas  $1502\text{ cm}^{-1}$  e  $1429\text{ cm}^{-1}$  de C=C e C=N de estiramento do anel piridina, respectivamente (MELIKOVA *et al.*, 2012).

O espectro FTIR da amostra ATV+MAN (FIGURA 26b) exhibe um resultado intrigante. Ao comparar os espectros de MAN (FIGURA 26a) e ATV (FIGURA 26c) com o espectro ATV+MAN (FIGURA 26b), o esperado seria que ocorresse o deslocamento de alguma banda e/ou ainda a diminuição da intensidade das bandas relacionadas à ligação de H, uma vez que a formação de um cocrystal ocorre pela formação de sítions, que nada mais é do que a formação de uma nova entidade química gerada pela ligação de hidrogênio entre as funções orgânicas presentes na estrutura molecular dos componentes envolvidos. Como é possível verificar, o resultado demonstra que não houve qualquer alteração no espectro FTIR de ATV+MAN, pois estão presentes todas as bandas características de ATV e MAN, e essa sobreposição de bandas evidencia que a natureza da interação entre os componentes da amostra é do tipo física, se contrapondo aos resultados obtidos nas análises anteriores que indicavam a formação de um novo composto.

Figura 26 – Espectros FTIR de MAN, ATV e ATV+MAN



Fonte: Autora (2021).

Legenda: a) MAN (preto);

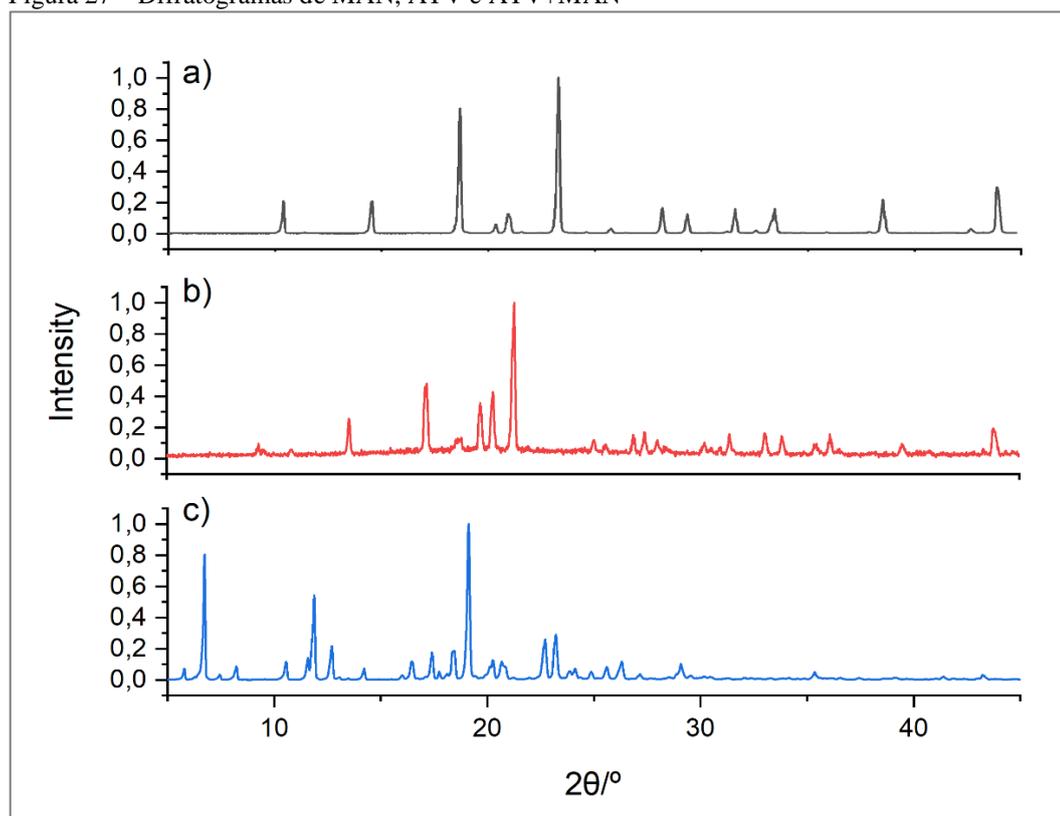
b) amostra ATV:MAN (vermelho);

c) ATV (azul).

### 5.7.3 Difração de raios X pelo método do pó (PXRD)

Os difratogramas da amostra ATV+MAN 1:4 (mol/mol), ATV e MAN estão apresentados na Figura 27. De acordo com a Figura 27(a) os valores dos picos de difração  $2\theta$  mais intensos para o MAN são em aproximadamente  $10,44^\circ$ ,  $14,60^\circ$ ,  $18,74^\circ$ ,  $23,38^\circ$ ,  $36,68^\circ$  e  $44,06^\circ$  e no difratograma de ATV (FIGURA 27c) os valores dos picos de difração  $2\theta$  mais intensos são em aproximadamente  $6,74^\circ$ ,  $11,88^\circ$ ,  $19,12^\circ$ ,  $22,70^\circ$  e  $23,22^\circ$ . No padrão de difração obtida pela fusão dos dois componentes da mistura binária (FIGURA 27b), os picos de difração  $2\theta$  mais intensos são  $13,56^\circ$ ,  $17,12^\circ$ ,  $19,74^\circ$ ,  $20,32^\circ$ ,  $21,28^\circ$  e  $43,82^\circ$ . Esse padrão de difração diferente dos encontrados nas Figura 27 (a) e Figura 27 (c), demonstra que após a fusão de ambos, o material obtido apresenta uma nova forma cristalina.

Figura 27 – Difratomogramas de MAN, ATV e ATV+MAN



Fonte: Autora (2021).

Legenda: a) padrão de difração de MAN (preto);

b) padrão de difração ATV+MAN 1:4 (vermelho);

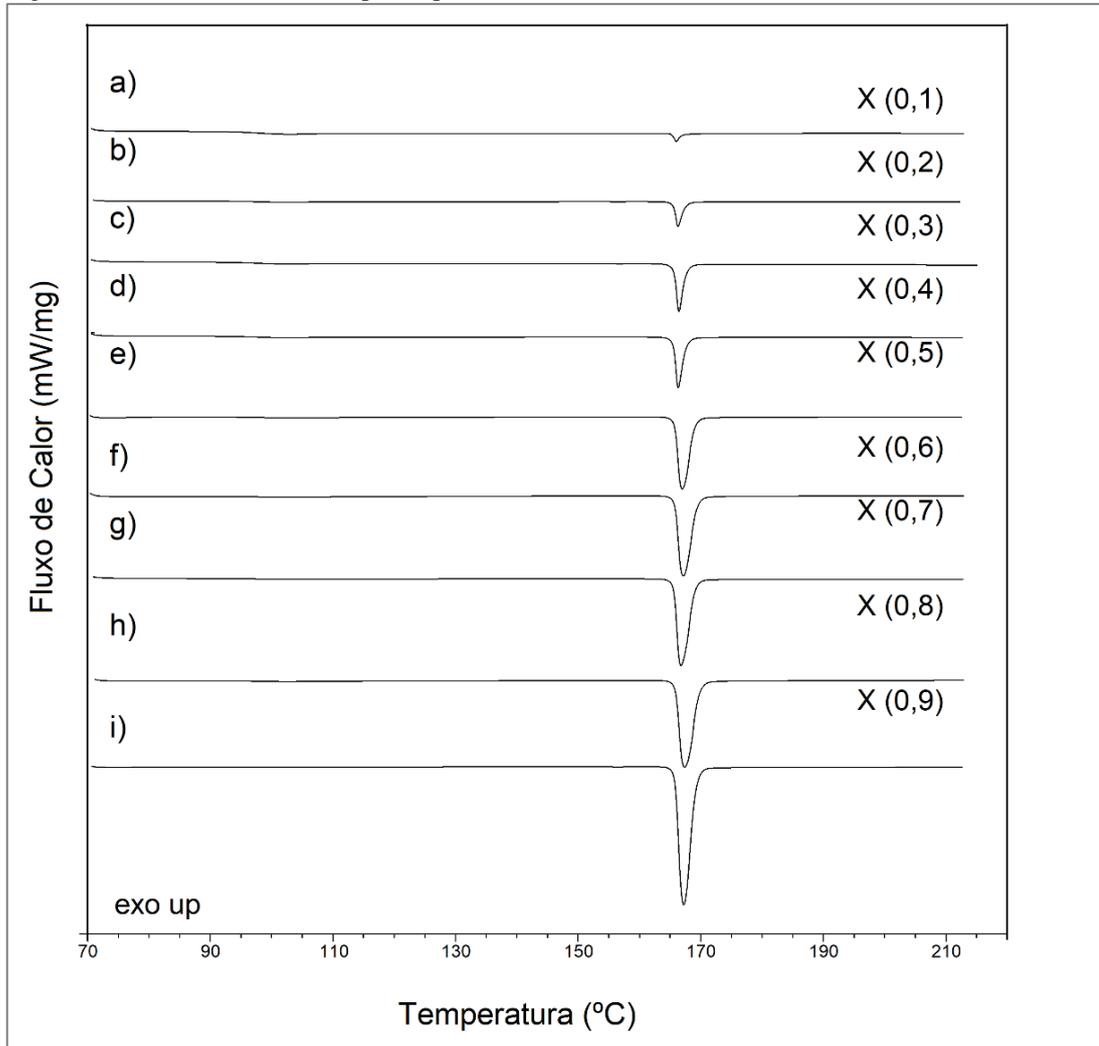
c) padrão de difração ATV (azul).

Os resultados exibidos nas Figuras 24, 25, 26 e 27, obtidos pelas técnicas DSC, TG, FTIR e por fim DRXP, não levaram a uma conclusão definitiva e, portanto, foi necessário uma outra investigação por meio da técnica de DSC em ciclo, no entanto desta vez, com resfriamento controlado.

Na Figura 28 estão os resultados obtidos por meio do aquecimento das misturas ATV+MAN, em várias proporções, seguido de resfriamento controlado ( $5^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ ). A relação proporcional entre os materiais está em termos de fração molar (X) apresentada em função de manitol, sendo por exemplo, X (0,1) relativo a 10% MAN e 90% ATV; X (0,2) relativos à 20% MAN e 80% ATV, X (0,5) relativo a 50% de cada um e assim sucessivamente. Com o resfriamento controlado é possível verificar que os eventos endotérmicos observados em  $T_{\text{onset}}=153^{\circ}\text{C}$  (FIGURAS 22 e 23) não ocorrem em nenhuma das curvas abaixo. Outra coisa rapidamente observada é que a área do evento endotérmico aumenta proporcionalmente com o aumento da fração molar de MAN na mistura. Em nenhuma curva existe evento associado à

usão de ATV e a presença de uma  $T_g$ , perceptível pela ligeira mudança de linha base em aproximadamente  $T=96^\circ\text{C}$ , sugere que este se encontra amorfizado.

Figura 28 – Curvas DSC obtidas pelo aquecimento e resfriamento controlado da mistura física ATV+MAN



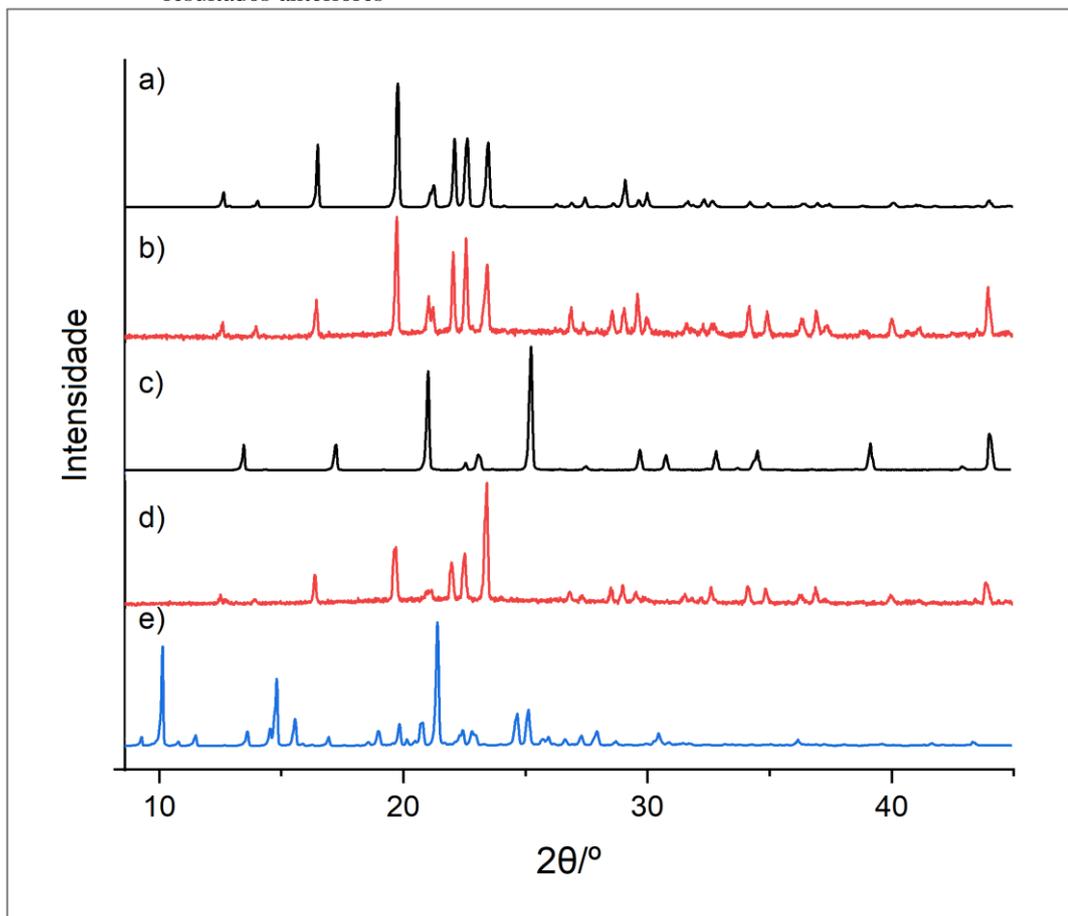
Fonte: Autora (2021).

Legenda: a)  $X_{\text{MAN}} (0,1)$ ;  
 b)  $X_{\text{MAN}} (0,2)$ ;  
 c)  $X_{\text{MAN}} (0,3)$ ;  
 d)  $X_{\text{MAN}} (0,4)$ ;  
 e)  $X_{\text{MAN}} (0,5)$ ;  
 f)  $X_{\text{MAN}} (0,6)$ ;  
 g)  $X_{\text{MAN}} (0,7)$ ;  
 h)  $X_{\text{MAN}} (0,8)$ ;  
 i)  $X_{\text{MAN}} (0,9)$ .

Assim, a hipótese mais provável ao contrastar esses novos dados com os obtidos pela DRXP (FIGURA 27b), é que o padrão de difração da amostra ATV+MAN (1:4 mol/mol) trata-se de um polimorfo do manitol.

Para suportar esta hipótese, a amostra fração molar  $X_{\text{MAN}}$  (0,8) e uma amostra de MAN submetidos ao aquecimento seguido de resfriamento controlado, foram submetidos à DRXP e os padrões de difração destes estão na Figura 29. Na figura 26(a), o padrão de difração exibido foi obtido a partir do MAN que foi fundido e resfriado, cujo picos de difração  $2\theta$  mais intensos são  $13,56^\circ$ ,  $17,12^\circ$ ,  $19,74^\circ$ ,  $20,32^\circ$ ,  $21,28^\circ$  e  $43,82^\circ$ . Esse mesmo padrão se repete para a amostra ATV+MAN ( $X_{\text{MAN}}=0,8$ ) (FIGURA 29b) e para a amostra ATV+MAN 1:4 (mol/mol) (FIGURA 29d) obtida pela fusão seguida de resfriamento não controlado. O diferencial para ambos os padrões está na presença do halo, indicando a existência de material amorfo na amostra, que agora conclui-se referir-se ao ATV. Os demais padrões de difração correspondem ao manitol (FIGURA 29c) e ATV (FIGURA 29e).

Figura 29 – Difratomogramas de pó de (a) MAN fundido e resfriado de maneira controlada comparado aos resultados anteriores



Fontes: Autora (2022).

Legenda: a) MAN fundido e resfriado de maneira controlada, (preto);

b) amostra ATV+MAN ( $X_{\text{MAN}}=0,8$ ) fundido e resfriado de maneira controlada;

c) MAN puro;

d) amostra ATV+MAN 1:4 (mol/mol) fundido e resfriado em temperatura ambiente;

e) ATV (azul).

Na literatura foram encontradas formas de três estados sólidos em que MAN pode existir, sendo eles  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$ -manitol (CORNEL; KIDAMBI; MAZZOTTI, 2010). O polimorfo  $\beta$ -manitol é a forma usada na mistura física e seu padrão de difração corresponde ao item (c) da figura 29. O polimorfo  $\alpha$ -manitol foi a forma obtida pela fusão com resfriamento controlado e pela fusão sem controle de resfriamento na mistura física de proporção 1:4 (mol/mol). Seus respectivos padrão de difração estão exibidos nos itens (a), (b) e (d) da figura 29. O  $\gamma$ -manitol, a forma menos estável, pode ser o responsável pelo evento endotérmico de fusão  $T_{\text{onset}}=153^{\circ}\text{C}$  (seção 5.6), pela característica fusão incongruente que essa forma polimórfica apresenta em uma temperatura próxima desta ( $155^{\circ}\text{C}$ ) (HUANG; DALI, 2013).

A partir dos resultados, pode-se concluir que ao submeter a mistura física ATV+MAN na proporção estequiométrica 1:4 (mol/mol) ao método de fusão, obteve-se uma dispersão sólida em que ATV encontra-se disperso em partículas amorfas em uma matriz cristalina. Além de apresentar baixo custo, Choi *et al.* (2019) apontam o MAN como uma opção atrativa no preparo de DS devido as suas características físico-químicas e alta tolerabilidade fisiológica, resultando em DS em que os fármacos apresentam maior solubilidade, melhor performance de dissolução e maior estabilidade (CHOI; PARK; PARK, 2019; OHREM *et al.*, 2014).

Essa dispersão sólida de ATV (denominada DS-ATV) foi submetida à testes de solubilidade e dissolução a fim de se verificar o tipo de comportamento esta DS apresenta comparado às outras formas de ATV.

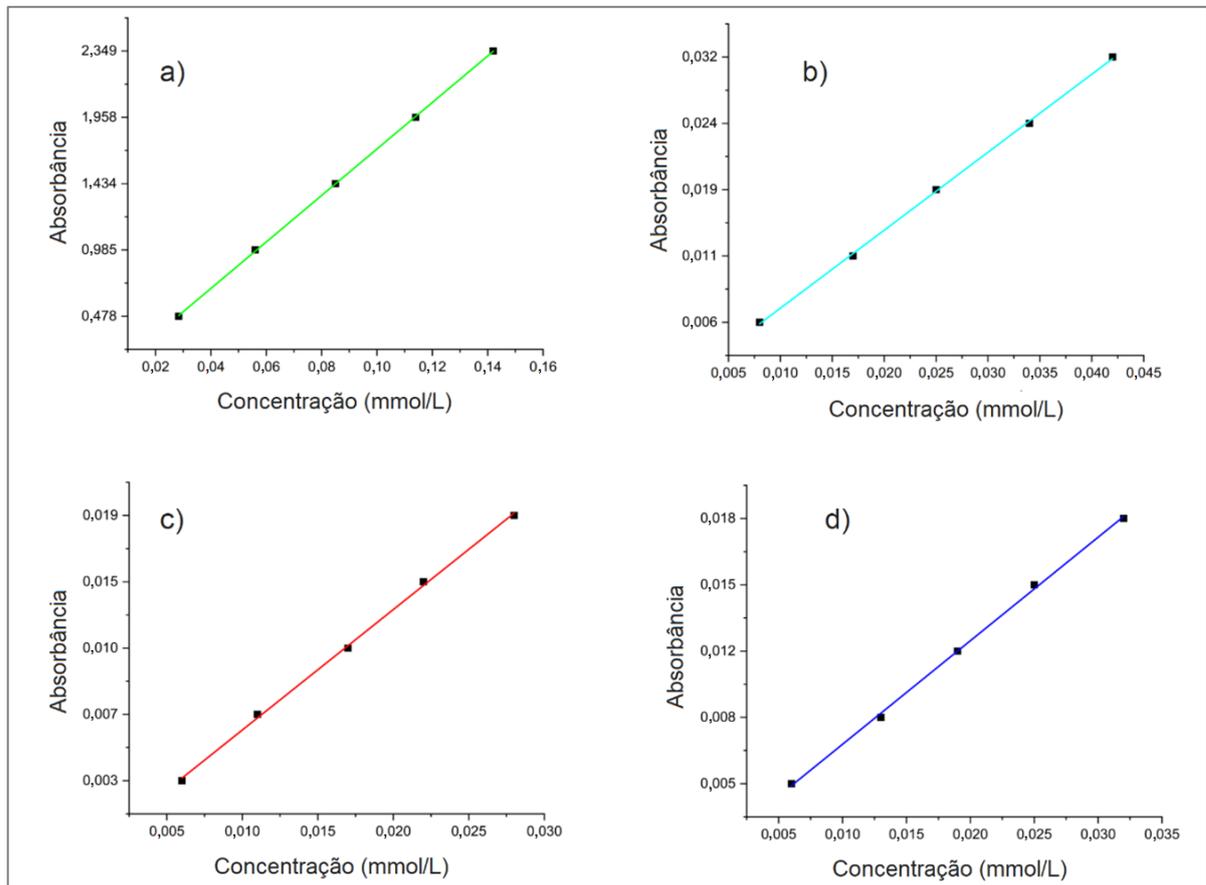
## 5.8 SOLUBILIDADE DA AMOSTRA DS-ATV E COMPARAÇÃO COM OUTRAS FORMAS SÓLIDAS

Uma vez caracterizada, a dispersão sólida do ATV (DS-ATV) foi submetida a um ensaio de solubilidade, bem como as demais formas de ATV (ATVs e ATV base livre). Também foi submetida ao ensaio de solubilidade a mistura física (MF) composta por ATV e MAN na mesma proporção estequiométrica da DS-ATV.

Com este objetivo foram feitas curvas de calibração (FIGURA 30). para quantificar a concentração das mostras submetidas ao ensaio de solubilidade e também de dissolução (seção 5.9) na faixa de pH de 1.4 a 7.5. A curva de calibração foi construída para cada meio (pH) a partir da diluição seriada da solução-estoque. A concentração da solução-estoque de

pH 1,4 foi de 0,30 mmol.L<sup>-1</sup>, pH 4,5 foi de 0,042 mmol.L<sup>-1</sup>, pH 6,5 foi de 0,042 mmol.L<sup>-1</sup> e pH 7,5 foi de 0,040 mmol.L<sup>-1</sup>.

Figura 30 – Curvas de calibração de ATV em diferentes meios



Fonte: Autora (2021).

Legenda: a) pH 1,4 análise em  $\lambda = 300$  nm;  
 b) pH 4,5 análise em  $\lambda = 279$  nm;  
 c); pH 6,8 análise em  $\lambda = 289$  nm;  
 d) pH 7,5 análise em  $\lambda = 289$  nm.

As soluções-padrão foram quantificadas usando comprimento de onda onde a amostra exibiu maior absorvância. Os dados de absorvância e concentração (mmol.L<sup>-1</sup>), inclinação na reta e intercepto, limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ) e coeficiente de correlação linear ( $R^2$ ) do método desenvolvido estão exibidos na Tabela 2.

Tabela 2 – Figuras de mérito e linearidade da quantificação de ATV por meio de espectrofotometria de absorção molecular.

pH	LD	LQ	R <sup>2</sup>	Coefficiente Angular	Coefficiente Linear
1,4	7,27x10 <sup>-8</sup>	2,42x10 <sup>-8</sup>	0,99992	35060,42	0,01706
4,5	1,08x10 <sup>-8</sup>	3,59x10 <sup>-8</sup>	0,99958	117598,23	0,03652
6,8	1,04x10 <sup>-8</sup>	3,48x10 <sup>-8</sup>	0,99901	181638,04	-0,05152
7,5	1,22x10 <sup>-8</sup>	4,05x10 <sup>-8</sup>	0,99902	156097,56	0,003415

Fonte: Elaborada pela autora (2021).

Na tabela 3 estão os resultados obtidos no ensaio de solubilidade das diferentes formas sólidas de ATV que foram realizados nos quatro pHs testados nos tempos de 24, 48 e 72h.

Tabela 3 – Concentração de ATV (mg.mL<sup>-1</sup>) de todas as amostras submetidas aos diferentes meios ao longo de 72h.

(continua)

Amostra	Tempo (h)	pH			
		1,4	4,5	6,8	7,5
ATV	24	0,78±0,04	0,025±0,001	0,020±0,002	0,015±0,002
	48	0,83±0,02	0,040±0,003	0,022±0,001	0,039±0,003
	72	0,85±0,02	0,027±0,002	0,023±0,002	0,034±0,003
ATVs	24	7,75±0,03	0,0434±0,002	0,030±0,002	0,024±0,002
	48	7,81±0,09	0,050±0,005	0,029±0,001	0,027±0,002
	72	7,49±0,21	0,047±0,004	0,044±0,001	0,022±0,002
DS-ATV	24	6,33±0,25	1,55±0,07	0,79±0,04	0,78±0,00
	48	5,12±0,03	1,47±0,03	0,51±0,02	0,87±0,03
	72	5,11±0,02	1,49±0,03	0,47±0,02	0,80±0,03

Tabela 3 – Concentração de ATV ( $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) de todas as amostras submetidas aos diferentes meios ao longo de 72h.

Amostra	Tempo (h)	pH			
		1,4	4,5	6,8	7,5
MF	24	1,36±0,03	0,059±0,006	0,020±0,001	0,021±0,003
	48	1,38±0,01	0,061±0,006	0,017±0,001	0,013±0,001
	72	1,38±0,02	0,060±0,008	0,017±0,001	0,019±0,001

Fonte: Elaborada pela autora (2022).

Legenda: valor médio± desvio padrão (D.P.), n=3.

Conforme dados mostrados na Tabela 3, é possível perceber que ao longo das 72h em diferentes pH, todas as amostras apresentaram maior solubilidade em condições mais ácidas de pH. De acordo com o teste *t de student*, a comparação entre das concentrações em 24h, 48h e 72h de uma mesma amostra não apresenta diferença estatisticamente significantes.

No pH 1,4, que representa as condições de um estômago em jejum, ATVs apresentou a maior solubilidade nos três tempos medidos. A maior concentração atingida ocorreu em 48h de incubação ( $7,81\pm 0,09 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ), indicando uma solubilidade 9,4 vezes maior do que ATV ( $0,83\pm 0,02 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) e 1,5 vezes maior do que a DS-ATV ( $5,12\pm 0,03 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) durante o mesmo período.

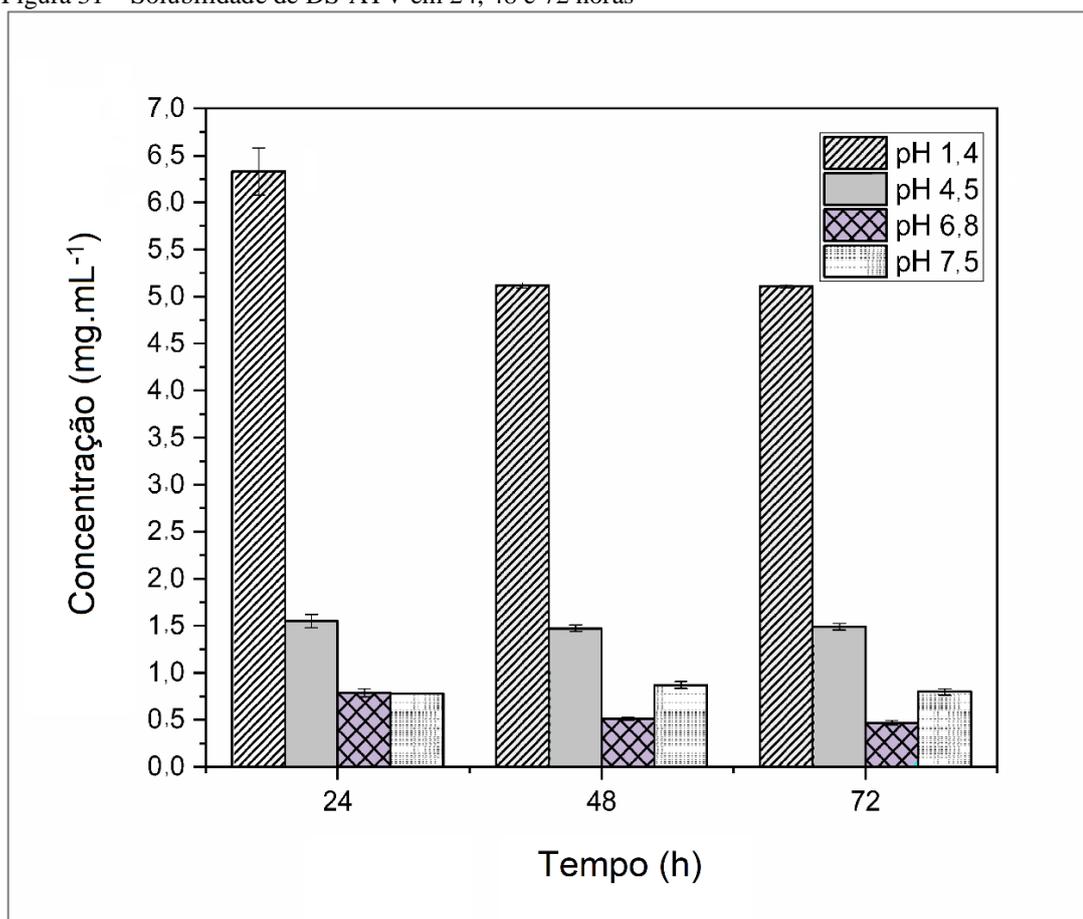
Nos pH 4,5 e 6,8, meios que representam as condições de pH do duodeno, a solubilidade diminui conforme o pH se torna menos ácido e mais próximo do pH neutro. Isso ocorre pois neste pH as espécies não ionizadas são favorecidas, considerando o  $\text{pK}_a$  do atazanavir que é 4,4 (INDULKAR *et al.*, 2017; PLÖGER; HOFSSÄSS; DRESSMAN, 2018), por isso é perceptível a menor concentração nesses pHs. Neste contexto, a amostra que apresentou maior solubilidade dentre todas foi a DS-ATV, atingido a maior solubilidade em 24h ( $1,55\pm 0,07 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ), concentração que corresponde a 35 vezes mais solúvel do que ATVs ( $0,043\pm 0,002 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ), e 64 vezes mais solúvel do que ATV ( $0,025\pm 0,001 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) no mesmo período. No pH 6,8, comparado ao pH 4,5, houve uma diminuição da solubilidade em quase 50% no mesmo período ( $0,79\pm 0,04 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ), no entanto, DS-ATV ainda demonstrou a maior solubilidade dentre eles, aproximadamente 26 vezes ( $0,030\pm 0,002 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) e 38 vezes ( $0,020\pm 0,002 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) superior que ATV e ATVs, respectivamente.

No pH 7,5, meio que representa o pH de intestino delgado e muito próximo do pH sanguíneo, DS-ATV foi a amostra que mostrou a maior solubilidade comparado as demais, inclusive em 24h. Neste período a solubilidade foi de  $0,87 \pm 0,03 \text{ mg.mL}^{-1}$  que representa uma concentração 26 vezes maior do que ATV ( $0,039 \pm 0,003 \text{ mg.mL}^{-1}$ ) e 32 vezes maior do que ATVs ( $0,027 \pm 0,002 \text{ mg.mL}^{-1}$ ).

O teste T de *Student* foi realizado para comparar duas amostras, ATV comparado com ATVs, e ATVs com DS-ATV, e todos os resultados se apresentaram significativamente diferentes no intervalo de confiança de 95%. O resultado foi confirmado também pelo p-valor.

Interessante mencionar que DS-ATV atingiu sua maior solubilidade dentro das primeiras 24h em todos os meios usados no ensaio, exceto no meio de pH 7,5, como mostra Figura 31. Esse resultado é interessante, especialmente considerando que ATV é um fármaco de absorção rápida. Depois que a dose de 400 mg é oralmente administrada, a concentração máxima ( $C_{\max}$ ) de  $2,2 \text{ mg.L}^{-1}$  é atingida no plasma sanguíneo em cerca de 2,9 horas (FOISSAC *et al.*, 2011). Uma vez que  $C_{\max}$  é atingida, o tempo de meia-vida de ATV é de  $6,5 \pm 2,6$  horas, o que significa que melhorar a solubilidade de ATV nas primeiras horas após ingestão, pode contribuir para melhorar a biodisponibilidade do fármaco ou mesmo contribuir para diminuir a dose diária, que é responsável por tantos efeitos colaterais em pacientes (FOISSAC *et al.*, 2011; NASCIMENTO *et al.*, 2020).

Figura 31 – Solubilidade de DS-ATV em 24, 48 e 72 horas



Fonte: Autora (2022).

Legenda: (listrado) pH 1,4;  
 (cinza sólido) pH 4,5;  
 (quadrado) pH 6,8;  
 (pontilhado) pH 7,5.

A solubilidade média para os pH de 6,8 e 7,5 em 24h demonstrou que os valores não foram significativamente diferentes do ponto de vista estatístico, 95% de confiança, de acordo com teste *t de student*. Comparando estes resultados, a solubilidade média no pH 4,5 em 24h demonstrou ser duas vezes maior. Foi precisamente neste pH que DS-ATV atingiu o melhor resultado comparado ao ATV e ATVs. É importante garantir a solubilidade nesses pH fisiológicos, considerando que ATV é um fármaco oralmente administrado, e o trajeto até o plasma sanguíneo enfrenta uma série de pH diferentes. O intestino delgado é o primeiro lugar de absorção importante e possui pH em uma faixa de 4,5 a 6,8 e o do plasma 7,35 a 7,45 (GERVASONI *et al.*, 2017). Antes de atingir o plasma, ATV sofre metabolismo de primeira passagem no fígado, o que significa que sofre uma eliminação pré-sistêmica. A baixa solubilidade de ATV, além do efeito do metabolismo de primeira passagem, são as principais razões para a baixa biodisponibilidade deste inibidor de protease. (GERVASONI *et al.*, 2017;

LE TIEC *et al.*, 2005). Desta forma, melhorar a solubilidade de ATV para além do pH estomacal é uma possível estratégia para melhorar a biodisponibilidade, e os resultados de DS-ATV demonstraram o aumento da solubilidade em pelo menos 20 vezes nos pH 4,5, 6,8 e 7,5.

Considerando o critério para o IFA ser considerável de alta solubilidade aquosa – a maior dose do fármaco dissolvido em um volume de 250 mL de meio aquoso na faixa de pH 1,0 a 7,5, a razão em  $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$  para ATV, usando a maior dose como referência (400 mg), um resultado satisfatório precisa ser igual ou maior do que o valor de  $1,6 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ . Assim, ATV base livre não atingiu o valor mínimo sob nenhum pH, ATVs exibiu valor satisfatório apenas nas condições de pH 1,4. O DS-ATV foi o único que apresentou resultados satisfatórios tanto em pH 1,4 quanto em pH 4,5.

### 5.9 PERFIL DE DISSOLUÇÃO DA DS-ATV

O teste de perfil de dissolução é um importante teste físico-químico que demonstra *in vitro* a performance de fármacos que requerem dissolução para absorção. Para fármacos que pertencem à classe I da BCS (alta permeabilidade e alta solubilidade) um simples teste *in vitro* em que a dissolução atinja 85% de liberação em um período de 15 minutos é suficiente para garantir a biodisponibilidade (AMIDON *et al.*, 1995; HELMY; BEDAIWY, 2016). Para os fármacos da classe II (alta permeabilidade e baixa solubilidade), a dissolução no trato gastrointestinal é o passo limitante para a absorção e, portanto, uma correlação *in vivo/in vitro* só é satisfeita quando a taxa de dissolução *in vitro* é igual à do *in vivo*. No entanto, o perfil de dissolução neste caso é um importante etapa para avaliar e planejar os passos que envolvem a modificação de fármacos orais (AMIDON *et al.*, 1995; TSUME *et al.*, 2014).

Por se tratar de uma base fraca, o Atazanavir é subcategorizado pela BCS como classe II-b, e como os demais IFA pertencentes à essa subcategoria, exibem melhor taxa de dissolução em pH gástrico e quando em pH intestinal, possuem a tendência de precipitar (FABER *et al.*, 2017; TSUME *et al.*, 2014). Este comportamento foi verificado no teste de dissolução das quatro formas sólidas de Atazanavir avaliadas, como pode ser vista na Figura 32.

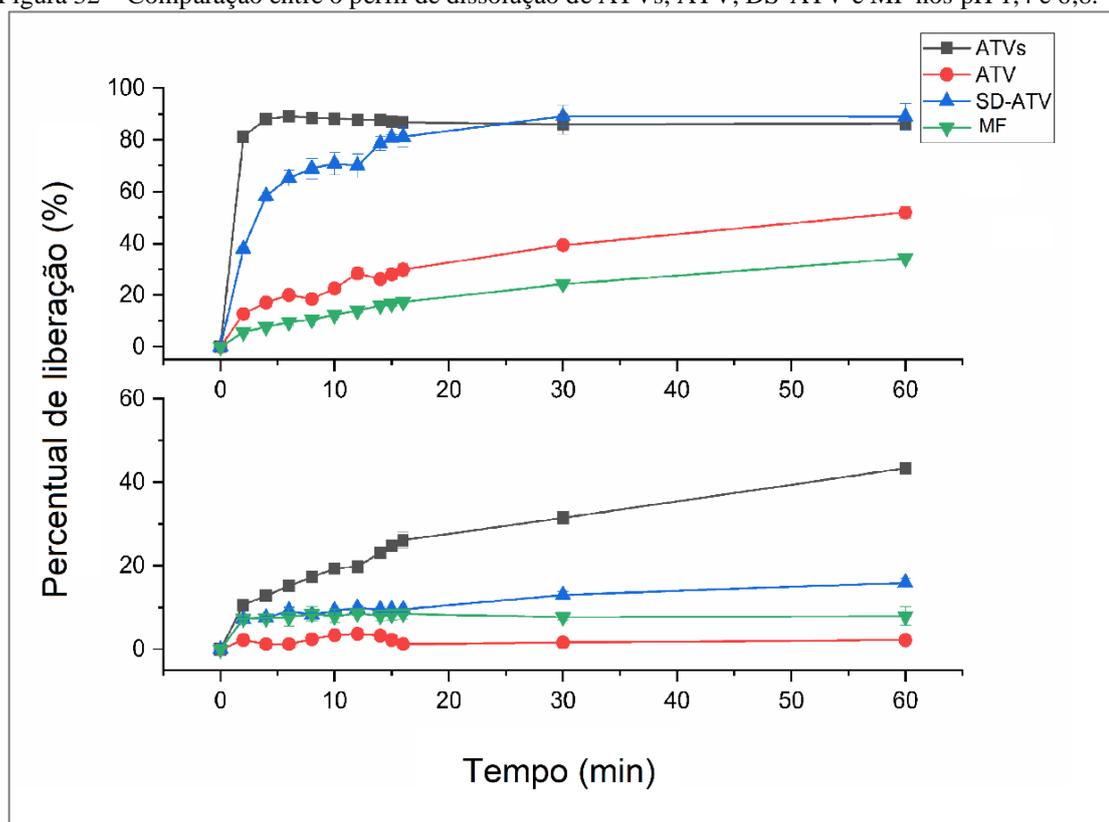
No pH 1,4, o ATV base livre não atingiu a taxa de dissolução de 85%. A maior taxa atingida foi  $58\pm 5\%$  durante o período de 60 minutos. Por outro lado, ATVs conseguiu atingir a taxa de dissolução ultrapassando os 85% ( $89,0\pm 0,2\%$ ) nos primeiros 2 minutos, exibindo um

comportamento categorizado como de “dissolução muito rápida”. Embora a taxa de liberação de DS-ATV não tenha ocorrido tão rápido quanto a do ATVs, o mesmo atingiu um percentual acima de 85% ( $89,1 \pm 4,1\%$ ) em 30 minutos, que também se enquadra na categoria de “dissolução rápida”.

Os fatores que afetam a absorção gastrointestinal de um medicamento oral estão diretamente relacionados ao pH, à presença de comida ou não, à permeabilidade, à motilidade e a taxa de esvaziamento gástrico (MITRA; FADDA, 2014). Para os dois últimos casos, a absorção é diretamente influenciada pelo tempo em que o IFA permanece neste ambiente, e por isso, a garantia de equivalência de uma taxa de dissolução é apenas assegurada quando está apresentada uma taxa superior à 85% dentro de 30 minutos (AMIDON *et al.*, 1995; SALEHI *et al.*, 2021; VRBANAC *et al.*, 2020). Neste contexto, tanto ATVs quanto DS-ATV apresentaram taxas que satisfizeram os critérios adotados pela BCS.

No pH 6,8, a maior taxa de dissolução de ATVs e DS-ATV foi  $43,4 \pm 0,5\%$  e  $15,9 \pm 1,1\%$  em 60 minutos, respectivamente. A taxa mais alta que ATV base livre atingiu foi de  $3,7 \pm 0,1\%$  em 12 minutos. Embora nenhuma amostra tenha exibido uma taxa de liberação superior a 85%, no trato intestinal o IFA permanecerá por um período maior do que o período do teste (ENOMOTO *et al.*, 2021; WASHINGTON, N.; WASHINGTON, C.; WILSON, 2000). Considerando que a solubilidade de DS-ATV exibiu a melhor solubilidade neste pH nas primeiras 24h (FIGURA 31), isso pode representar que embora a taxa de liberação em 60 minutos não atingiu 85%, a maior solubilidade aquosa encontrada pode contribuir diretamente para uma melhor absorção.

Figura 32 – Comparação entre o perfil de dissolução de ATVs, ATV, DS-ATV e MF nos pH 1,4 e 6,8.



Fonte: Autora (2022).

Legenda: (quadrado) ATVs;  
(círculo) ATV;  
(triângulo) DS-ATV;  
(triângulo invertido) MF.

DS-ATV exibiu a maior taxa de dissolução comparado à ATV e MF em ambos os pHs testados. Mesmo que MF tenha a mesma composição que DS-ATV, o fato de DS-ATV seja liberado em partículas amorfas contribui para este desempenho, considerando que amorfos não requerem nenhuma energia de rede para ser rompida durante o processo de dissolução, diferente dos materiais cristalinos (MANKAR; RACH, 2018; SCHITTNY; HUWYLER; PUCHKOV, 2020)

Muitos métodos têm sido propostos para uma avaliação comparativa entre os perfis de dissolução, mas o modelo mais consolidado, e sugerido pelas agências regulatórias como EMA (do inglês *European Medicines Agency*) e FDA, é a combinação de dois testes: o fator de diferença (F1) e o fator de similaridade (F2), uma vez que esse modelo compara a diferença entre o percentual do IFA dissolvido em uma unidade de tempo para amostra e produto referências (DAVIT *et al.*, 2016; GRAY, 2018; MOORE; FLANNER, 1996).

Comparando os perfis de dissolução através dos testes F1 e F2, os resultados entre ATV e DS-ATV no pH 6,8 foi F1= 61,37 e F2= 16,04, e os resultados obtidos pela

comparação entre ATV e ATVs para o mesmo pH foi  $F_1 = 26,28$  e  $F_2 = 30,18$ . Assim sendo, pela combinação dos fatores de diferença e de similaridade, é possível assegurar que esses perfis de dissolução não são equivalentes, e, portanto, a bioequivalência entre ambos não é assegurada, ainda que individualmente DS-ATV satisfaça os critérios de dissolução definidos pela BCS.

## 6 CONCLUSÃO

A nova forma sólida obtida neste trabalho, a dispersão sólida de atazanavir em matriz hidrofílica de manitol produzida por meio do método de fusão, demonstrou ser uma nova forma de simples produção que possui um método altamente reprodutível. Além disso, os resultados alcançados demonstraram que DS-ATV aumentou a solubilidade nos quatro pH avaliados comparados aos resultados de ATV base livre e da MF, e comparado com ATVs, o aumento de solubilidade de DS-ATV foi observado em todos os pHs, exceto o pH que representa o ambiente estomacal. Além da solubilidade, também foi investigado por meio de um ensaio *in vitro* o perfil de dissolução das quatro amostras: ATV, ATVs, DS-ATV e da MF que compõe a DS, e dentre estes resultados, apenas ATVs e DS-ATV foram capazes de exibir uma taxa de dissolução de acordo com os critérios BSC (>85% dentro de 30 minutos) no pH que simula o ambiente estomacal. Os resultados exibidos neste trabalho, demonstram que a dispersão sólida pode ser uma alternativa às demais formas de ATV disponíveis para pacientes, contribuindo para redução da dosagem diária e para uma terapia antirretroviral mais simplificada.

## REFERÊNCIAS

ABDEL-RAHMAN, Hamdy M. *et al.* HIV protease inhibitors: peptidomimetic drugs and future perspectives. **Current Medicinal Chemistry**, v. 9, n. 21, p. 1905-1922, Nov. 2002.

ABU-SEHLY, A. A.; ALAMRI, S. N.; JORAID, A. A. Measurements of DSC isothermal crystallization kinetics in amorphous selenium bulk samples. **Journal of Alloys and Compounds**, v. 476, n. 1-2, p. 348-351, May 2009.

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

AMIDON, Gordon L. *et al.* A theoretical basis for a biopharmaceutic drug classification: the correlation of in vitro drug product dissolution and in vivo bioavailability. **Pharmaceutical Research**, v. 12, n. 3, p. 413-420, Mar. 1995.

ASKELAND, Donald R.; WRIGHT, Wendelin J. **Essentials of materials science and engineering**. Boston: Cengage Learning, 2013.

AWAD, Atheer *et al.* 3D printed medicines: A new branch of digital healthcare. **International Journal Of Pharmaceutics**, v. 548, n. 1, p. 586-596, Sept. 2018.

BAVISHI, Dhara D.; BORKHATARIA, Chetan H. Spring and parachute: how cocrystals enhance solubility. **Progress in Crystal Growth and Characterization of Materials**, v. 62, n. 3, p. 1-8, Sept. 2016.

BERLIN, Mark *et al.* Advances and challenges in PBPK modeling—analysis of factors contributing to the oral absorption of atazanavir, a poorly soluble weak base. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 93, p. 267-280, June 2015.

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

BETHUNE, Sarah J. *et al.* Understanding and predicting the effect of cocrystal components and pH on cocrystal solubility. **Crystal Growth & Design**, v. 9, n. 9, p. 3976-3988, Sept. 2009.

BHUJBAL, Sonal V. *et al.* Pharmaceutical amorphous solid dispersion: A review of manufacturing strategies. **Acta Pharmaceutica Sinica B**, v. 11, n. 8, p. 2505-2536, Aug. 2021.

BOND, Andrew D. What is a co-crystal?. **CrystEngComm**, v. 9, n. 9, p. 833-834, July 2007.

BONGIOANNI, Agustina *et al.* Investigating a soluble pharmaceutical salt: Albendazole Hydrochloride. **Crystal Growth & Design**, v. 19, n. 8, p. 4538-4545, Aug. 2019.

BREITENBACH, Jörg. Melt extrusion can bring new benefits to HIV therapy. **American Journal of Drug Delivery**, v. 4, n. 2, p. 61-64, Aug. 2006.

BURGER, Artur *et al.* Energy/temperature diagram and compression behavior of the polymorphs of D-mannitol. **Journal Of Pharmaceutical Sciences**, v. 89, n. 4, p. 457-468, Apr. 2000.

CHARALABIDIS, Aggelos *et al.* The biopharmaceutics classification system (BCS) and the biopharmaceutics drug disposition classification system (BDDCS): beyond guidelines. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 566, p. 264-281, July 2019.

CHEN, Yitian M.; RODRÍGUEZ-HORNEDO, Naír. Cocrystals mitigate negative effects of high pH on solubility and dissolution of a basic drug. **Crystal Growth & Design**, v. 18, n. 3, p. 1358-1366, Mar. 2018.

CHERUKUVADA, Suryanarayan. On the issues of resolving a low melting combination as a definite eutectic or an elusive cocrystal: A critical evaluation. **Journal of Chemical Sciences**, v. 128, n. 4, p. 487-499, Apr. 2016.

CHERUKUVADA, Suryanarayan; NANGIA, Ashwini. Eutectics as improved pharmaceutical materials: design, properties and characterization. **Chemical Communications**, v. 50, n. 8, p. 906-923, Oct. 2014.

CHIARELLA, Renato A.; DAVEY, Roger J.; PETERSON, Matthew L. Making co-crystals the utility of ternary phase diagrams. **Crystal Growth & Design**, v. 7, n. 7, p. 1223-1226, July 2007.

CHOI, Jin-Seok; PARK, Ji-Won; PARK, Jeong-Sook. Design of coenzyme Q10 solid dispersion for improved solubilization and stability. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 572, p. 118832, Dec. 2019.

CORNEL, Jeroen; KIDAMBI, Piran; MAZZOTTI, Marco. Precipitation and transformation of the three polymorphs of d-mannitol. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 49, n. 12, p. 5854-5862, May 2010.

DAVIT, Barbara M. *et al.* BCS biowaivers: similarities and differences among EMA, FDA, and WHO requirements. **The AAPS Journal**, v. 18, n. 3, p. 612-618, May 2016.

DESAI, Seema N.; LANDAY, Alan L. HIV and aging: role of the microbiome. **Current Opinion in HIV and AIDS**, v. 13, n. 1, p. 22-27, Jan. 2018.

DEZANI, André Bersani *et al.* Equilibrium solubility versus intrinsic dissolution: characterization of lamivudine, stavudine and zidovudine for BCS classification. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 49, p. 853-863, Dec. 2013.

DOUROUMIS, Dennis; ROSS, Steven A.; NOKHODCHI, Ali. Advanced methodologies for cocrystal synthesis. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 117, p. 178-195, Aug. 2017.

- ENOMOTO, Hiroko *et al.* In vivo assessment of a delayed release formulation of larazotide acetate indicated for celiac disease using a porcine model. **Plos One**, v. 16, n. 4, p. e0249179, Apr. 2021.
- ÉVORA, António O. L. *et al.* Co-crystals of diflunisal and isomeric pyridinecarboxamides—a thermodynamics and crystal engineering contribution. **CrystEngComm**, v. 18, n. 25, p. 4749-4759, Feb. 2016.
- FABER, Kathleen P. *et al.* Meal effects confound attempts to counteract rabeprazole-induced hypochlorhydria decreases in atazanavir absorption. **Pharmaceutical Research**, v. 34, n. 3, p. 619-628, Mar. 2017.
- FOISSAC, Frantz *et al.* Population pharmacokinetics of atazanavir/ritonavir in HIV-1-infected children and adolescents. **British Journal of Clinical Pharmacology**, v. 72, n. 6, p. 940-947, Dec. 2011.
- FROCHOT, Vincent *et al.* Nephrotoxicity induced by drugs: the case of foscarnet and atazanavir—a SEM and  $\mu$ FTIR investigation. **Comptes Rendus Chimie**, v. 19, n. 11-12, p. 1565-1572, Nov. 2016.
- FUKUSHIMA, Keizo *et al.* Pharmaceutical approach to HIV protease inhibitor atazanavir for bioavailability enhancement based on solid dispersion system. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 30, n. 4, p. 733-738, Jan. 2007.
- GERVASONI, Cristina *et al.* The impact of gastrectomy on the pharmacokinetics of atazanavir and tenofovir. **European Journal of Clinical Pharmacology**, v. 73, n. 6, p. 789-790, June 2017.
- GOMES, D. J. C. *et al.* Thermal behaviour of mandelic acid, sodium mandelate and its compounds with some bivalent transition metal ions. **Thermochimica Acta**, v. 533, p. 16-21, Apr. 2012.
- HARA, Masaki *et al.* Atazanavir nephrotoxicity. **Clinical Kidney Journal**, v. 8, n. 2, p. 137-142, Apr. 2015.
- HATE, Siddhi S.; REUTZEL-EDENS, Susan M.; TAYLOR, Lynne S. Interplay of adsorption, supersaturation and the presence of an absorptive sink on drug release from mesoporous silica-based formulations. **Pharmaceutical Research**, v. 37, n. 8, p. 1-18, Aug. 2020.
- HELMY, Sally A.; EL BEDAIWY, Heba M. In vitro dissolution similarity as a surrogate for in vivo bioavailability and therapeutic equivalence. **Dissolution Technologies**, v. 23, n. 3, p. 32-39, Aug. 2016.
- HESPELER, David; KALTENBACH, Jonas; PYO, Sung Min. Glabridin smartPearls—Silica selection, production, amorphous stability and enhanced solubility. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 561, p. 228-235, Apr. 2019.

HINO, Tomoaki; FORD, James L.; POWELL, Mark W. Assessment of nicotinamide polymorphs by differential scanning calorimetry. **Thermochimica Acta**, v. 374, n. 1, p. 85-92, Jun. 2001.

HU, Xian-Yue; LOU, Hao; HAGEMAN, Michael J. Preparation of lapatinib ditosylate solid dispersions using solvent rotary evaporation and hot melt extrusion for solubility and dissolution enhancement. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 552, n. 1-2, p. 154-163, Dec. 2018.

HUANG, Jun; DALI, Manisha. Evaluation of integrated Raman-DSC technology in early pharmaceutical development: characterization of polymorphic systems. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 86, p. 92-99, Dec. 2013.

HUBER, Paula C.; MARUIAMA, Cintia H.; ALMEIDA, Wanda P. Glicoproteína-P, resistência a múltiplas drogas (MDR) e relação estrutura-atividade de moduladores. **Química Nova**, v. 33, p. 2148-2154, Aug. 2010.

INDULKAR, Anura S. *et al.* Origin of nanodroplet formation upon dissolution of an amorphous solid dispersion: a mechanistic isotope scrambling study. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 106, n. 8, p. 1998-2008, Aug. 2017.

IONASHIRO, Massao; CAIRES, Flávio J.; GOMES, D. J. C. **Giolito: fundamentos da termogravimetria e análise térmica diferencial/calorimetria exploratória diferencial**. São Paulo: Giz, 2005.

JERMAIN, Scott V.; BROUGH, Chris; WILLIAMS III, Robert O. Amorphous solid dispersions and nanocrystal technologies for poorly water-soluble drug delivery—an update. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 535, n. 1-2, p. 379-392, Jan. 2018.

KADUK, James A.; GINDHART, Amy M.; BLANTON, Thomas N. Crystal structure of atazanavir, C<sub>38</sub>H<sub>52</sub>N<sub>6</sub>O<sub>7</sub>. **Powder Diffraction**, v. 35, n. 2, p. 129-135, June 2020.

KARAGIANNI, Anna; MALAMATARI, Maria; KACHRIMANIS, Kyriakos. Pharmaceutical cocrystals: New solid phase modification approaches for the formulation of APIs. **Pharmaceutics**, v. 10, n. 1, p. 18, Jan. 2018.

KOROTKOVA, Elena I.; KRATOCHVÍL, B. Pharmaceutical cocrystals. **Procedia Chemistry**, v. 10, p. 473-476, Nov. 2014.

KUMAR, Arun; KUMAR, Sandeep; NANDA, Arun. A review about regulatory status and recent patents of pharmaceutical co-crystals. **Advanced Pharmaceutical Bulletin**, v. 8, n. 3, p. 355, Aug. 2018.

KUMINEK, Gislaine *et al.* Cocrystals to facilitate delivery of poorly soluble compounds beyond-rule-of-5. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 101, p. 143-166, Jun. 2016.

TIEC, Clotilde Le *et al.* Clinical pharmacokinetics and summary of efficacy and tolerability of atazanavir. **Clinical Pharmacokinetics**, v. 44, n. 10, p. 1035-1050, Sept. 2005.

- LIU, Xu *et al.* Improving the chemical stability of amorphous solid dispersion with cocrystal technique by hot melt extrusion. **Pharmaceutical Research**, v. 29, n. 3, p. 806-817, Mar. 2012.
- LU, Jie; ROHANI, Sohrab. Polymorphism and crystallization of active pharmaceutical ingredients (APIs). **Current Medicinal Chemistry**, v. 16, n. 7, p. 884-905, Mar. 2009.
- MANKAR, S. D.; RACH, Punit R. Solubility enhancement of poor water soluble drugs by solid dispersion: A review. **Journal of Drug Delivery and Therapeutics**, v. 8, n. 5, p. 44-49, Sept. 2018.
- MAZIVILA, Sarmiento J. *et al.* At-line green synthesis monitoring of new pharmaceutical co-crystals lamivudine: theophylline polymorph I and II, quantification of polymorph I among its APIs using FT-IR spectroscopy and MCR-ALS. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 169, p. 235-244, May 2019.
- MELIKOVA, S. M. *et al.* FTIR study of the hydrogen bond symmetry in protonated homodimers of pyridine and collidine in solution. **Journal of Molecular Structure**, v. 1018, p. 39-44, June 2012.
- MIR, Khalid Bashir; KHAN, Nisar Ahmed. Solid dispersion: Overview of the technology. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v. 8, n. 6, p. 2378-2387, Jan. 2017.
- MIROSHNYK, Inna; MIRZA, Sabiruddin; SANDLER, Niklas. Pharmaceutical co-crystals—an opportunity for drug product enhancement. **Expert Opinion on Drug Delivery**, v. 6, n. 4, p. 333-341, Apr. 2009.
- MITRA, A.; FADDA, H. M. Effect of surfactants, gastric emptying, and dosage form on supersaturation of dipyridamole in an in vitro model simulating the stomach and duodenum. **Molecular Pharmaceutics**, v. 11, n. 8, p. 2835-2844, Aug. 2014.
- MOORE, J. W.; FLANNER, H. H. Mathematical comparison of dissolution profiles. **Pharmaceutical Technology**, v. 20, n. 6, p. 64-74, Feb. 1996.
- MUKHERJEE, Arijit; TOTHADI, Srinu; DESIRAJU, Gautam R. Halogen bonds in crystal engineering: like hydrogen bonds yet different. **Accounts of Chemical Research**, v. 47, n. 8, p. 2514-2524, Aug. 2014.
- NASCIMENTO, André L. C. S. *et al.* Thermal behaviour of nicotinic acid, sodium nicotinate and its compounds with some bivalent transition metal ions. **Thermochimica Acta**, v. 575, p. 212-218, Jan. 2014.
- NASCIMENTO, André L. C. S. *et al.* Pharmacokinetic Parameters of HIV-1 Protease Inhibitors. **ChemMedChem**, v. 15, n. 12, p. 1018-1029, June 2020.
- NINGRUM, Vitarani Da; ILHAMY, Rahma Nur; WIBOWO, Ari. The stability testing of carbamazepine in spiked-saliva using HPLC-UV. **Aip Conference Proceedings**, v. 2370, n. 1, p. 030005, Sept. 2021.

OHREM, H. Leonhard *et al.* Why is mannitol becoming more and more popular as a pharmaceutical excipient in solid dosage forms?. **Pharmaceutical Development and Technology**, v. 19, n. 3, p. 257-262, May 2014.

PARKER, Andrew S.; TAYLOR, Lynne S.; BEAUDOIN, Stephen P. The role of surface energy heterogeneity on crystal morphology during solid-state crystallization at the amorphous atazanavir–water interface. **CrystEngComm**, v. 22, n. 18, p. 3179-3187, Apr. 2020.

PATEL, Mitulkumar A. *et al.* Assessing the risk of salt disproportionation using crystal structure and surface topography analysis. **Crystal Growth & Design**, v. 18, n. 11, p. 7027-7040, Nov. 2018.

PERPÉTUO, Glaucio L. *et al.* A combined approach using differential scanning calorimetry with polarized light thermomicroscopy in the investigation of ketoprofen and nicotinamide cocrystal. **Thermochimica Acta**, v. 651, p. 1-10, May 2017.

PLÖGER, Gerlinde F.; HOFSSÄSS, Martin A.; DRESSMAN, Jennifer B. Solubility determination of active pharmaceutical ingredients which have been recently added to the list of essential medicines in the context of the biopharmaceutics classification system–biowaiver. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 107, n. 6, p. 1478-1488, June 2018.

PUBCHEM Bethesda: US National Library of Medicine, National Center for Biotechnology Information. [2004]. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/148192>. Acesso em: 11 mar. 2020.

ROCHA, Alanny B. O. *et al.* Cocristsais: uma estratégia promissora na área farmacêutica. **Química Nova**, v. 39, p. 1112-1125, Aug. 2016.

SALEHI, Niloufar *et al.* Improving dissolution behavior and oral absorption of drugs with pH-dependent solubility using pH modifiers: a physiologically realistic mass transport analysis. **Molecular Pharmaceutics**, v. 18, n. 9, p. 3326-3341, Sept. 2021.

SCHITTNY, Andreas; HUWYLER, Jörg; PUCHKOV, Maxim. Mechanisms of increased bioavailability through amorphous solid dispersions: a review. **Drug Delivery**, v. 27, n. 1, p. 110-127, Jan. 2020.

SHARMA, Mayank *et al.* Enhancement of oral bioavailability of poorly water soluble carvedilol by chitosan nanoparticles: optimization and pharmacokinetic study. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 135, p. 246-260, Aug. 2019.

SILVEIRA, Carla C. F.; CORRÊA, Marilena C. D. V.; BARROSO, Wanise B. G. Estratégia de proteção de patentes farmacêuticas: o caso do atazanavir. **Revista Eletrônica de Comunicação, Informação e Inovação em Saúde**, v. 10, n. 1, p. 1-21, Mar. 2016.

SINGH, G. *et al.* Enhancement of the solubility of poorly water soluble drugs through solid dispersion: a comprehensive review. **Indian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 79, n. 5, p. 674-687, July 2017.

SINGH, Jaskirat; WALIA, Manpreet; HARIKUMAR, S. L. Solubility enhancement by solid dispersion method: a review. **Journal of Drug Delivery and Therapeutics**, v. 3, n. 5, p. 148-155, Sept. 2013.

SINHA, Shilpi *et al.* Solid dispersion as an approach for bioavailability enhancement of poorly water-soluble drug ritonavir. **AAPS Pharmscitech**, v. 11, n. 2, p. 518-527, June 2010.

SOSNA, Tomáš *et al.* Micronization of ibuprofen particles using supercritical fluid technology. **Journal of Nanoscience and Nanotechnology**, v. 19, n. 5, p. 2814-2820, May 2019.

SPERK, Maike; DOMSELAAR, Robert V.; NEOGI, Ujjwal. Immune checkpoints as the immune system regulators and potential biomarkers in HIV-1 infection. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, n. 7, p. 2000, July 2018.

SRINIVASAN, K. Crystal growth of  $\alpha$  and  $\gamma$  glycine polymorphs and their polymorphic phase transformations. **Journal of Crystal Growth**, v. 311, n. 1, p. 156-162, Dec. 2008.

THIPPARABOINA, Rajesh *et al.* Multidrug co-crystals: towards the development of effective therapeutic hybrids. **Drug Discovery Today**, v. 21, n. 3, p. 481-490, Mar. 2016.

THIRY, Justine *et al.* Investigation of a suitable in vitro dissolution test for itraconazole-based solid dispersions. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 85, p. 94-105, Mar. 2016.

TSUME, Yasuhiro *et al.* The Biopharmaceutics Classification System: subclasses for in vivo predictive dissolution (IPD) methodology and IVIVC. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 57, p. 152-163, June 2014.

UNITED STATES PHARMACOPEIAL CONVENTION. US Pharmacopeia National Formulary 2017: USP 40 NF 35. **United States Pharmacopeial USA**, 2017.

UTTARO, Elizabeth *et al.* To crush or not to crush: a brief review of novel tablets and capsules prepared from nanocrystal and amorphous solid dispersion technologies. **American Journal of Health-System Pharmacy**, v. 78, n. 5, p. 389-394, Feb. 2021.

VAN DUONG, Tu; VAN DEN MOOTER, Guy. The role of the carrier in the formulation of pharmaceutical solid dispersions. Part I: crystalline and semi-crystalline carriers. **Expert Opinion on Drug Delivery**, v. 13, n. 11, p. 1583-1594, Nov. 2016.

VAN EERDENBRUGH, Bernard; BAIRD, Jared A.; TAYLOR, Lynne S. Crystallization tendency of active pharmaceutical ingredients following rapid solvent evaporation—classification and comparison with crystallization tendency from under cooled melts. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 99, n. 9, p. 3826-3838, Sept. 2010.

VRBANAC, Helena *et al.* The biorelevant simulation of gastric emptying and its impact on model drug dissolution and absorption kinetics. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 149, p. 113-120, Apr. 2020.

WASHINGTON, Neena; WASHINGTON, Clive; WILSON, Clive. **Physiological pharmaceuticals: barriers to drug absorption**. London: CRC Press, 2000.

WILLMANN, Jürgen K. *et al.* Molecular imaging in drug development. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 7, n. 7, p. 591-607, July 2008.

XIA, Xin *et al.* In vivo Enhancement in Bioavailability of Atazanavir in the Presence of Proton-Pump Inhibitors using Mesoporous Materials. **ChemMedChem**, v. 7, n. 1, p. 43-48, 2012.