



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
Fundação Instituída nos termos da lei nº 5.152, de 21/10/1966 – São Luís – MA
Centro de Ciências Sociais, da Saúde e Tecnologia – CCSST
Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Materiais – PPGCM



Marcus Lima Sousa

**OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE NOVAS
DISPERSÕES SÓLIDAS DO HANSENOSTÁTICO
CLOFAZIMINA**

Imperatriz - MA

2018

MARCUS LIMA SOUSA

**OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE NOVAS DISPERSÕES SÓLIDAS DO
HANSENOSTÁTICO CLOFAZIMINA**

Dissertação apresentada à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Materiais da Universidade Federal do Maranhão, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciência dos Materiais.

Área de concentração: Ciências exatas e da Terra

Orientador: Prof. Dr. Paulo Roberto da Silva Ribeiro

Imperatriz - MA

2018

MARCUS LIMA SOUSA

OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE NOVAS DISPERSÕES SÓLIDAS DO
HANSENOSTÁTICO CLOFAZIMINA

Dissertação apresentada à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Materiais da Universidade Federal do Maranhão, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciência dos Materiais.

Área de concentração: Ciências exatas e da Terra

13 de dezembro de 2018.

Resultado: _____

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Paulo Roberto da Silva Ribeiro
Universidade Federal do Maranhão – UFMA
(Orientador)

Prof. Dr. Adenilson Oliveira dos Santos
Universidade Federal do Maranhão – UFMA

Prof^a. Dr^a. Ana Angélica Mathias Macedo
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Maranhão – IFMA

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Núcleo Integrado de Bibliotecas/UFMA

Sousa, Marcus Lima.

Obtenção e caracterização de novas dispersões sólidas do hansenostático clofazimina / Marcus Lima Sousa. - 2018. 143 f.

Orientador(a): Paulo Roberto da Silva Ribeiro.

Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em Ciência dos Materiais/ccsst, Universidade Federal do Maranhão, Imperatriz, 2018.

1. Ácido para-aminobenzóico. 2. Clofazimina. 3. Espectroscopia. 4. Hanseníase. 5. Sal. I. Ribeiro, Paulo Roberto da Silva. II. Título.

AGRADECIMENTOS

Embora uma dissertação seja pela sua finalidade acadêmica um trabalho individual, há contribuições de naturezas diversas que não podem nem devem deixar de ser realçadas. Mesmo correndo risco de omissão, quero manifestar minha gratidão:

Ao Prof. e orientador Dr. Paulo Roberto, pela amizade, sabedoria, pelos conselhos, incentivo e apoio à minha pesquisa;

Ao Prof. Dr. Jorge Sarraguça e a professora Dra. Mafalda Sarraguça por compartilhar seus conhecimentos, e pelas análises de espectroscopia no infravermelho realizadas na Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto;

Ao Prof. Dr. João Lopes pelos seus ensinamentos no período de estágio o qual me supervisionou, e pela oportunidade de utilizar o laboratório do Departamento de Farmácia galênica e Tecnologia farmacêutica da Universidade de Lisboa para realizar as análises de DSC.

Ao Prof. Dr. Alan Silva pela colaboração na execução das medidas Difração de Raios-X na Universidade Federal do Maranhão, Campus Bacanga;

Ao Grupo de Preparação e Caracterização de Materiais e Biocombustíveis, e a Universidade Federal do Maranhão, que proporcionou a estrutura para realização dos experimentos; a Fundação de Amparo à Pesquisa e Desenvolvimento Científico do Maranhão pela concessão de auxílios;

Aos colegas do mestrado em Ciência dos Materiais Silvério Ferreira, Francisca Célia, Mônica Rodrigues e Raychimam Douglas por compartilhar suas experiências, conhecimentos e amizade.

Aos meus pais por terem sempre me proporcionado a melhor educação possível, por sempre terem sido dedicados. Agradeço de forma muito carinhosa a minha mãe, pela sua paciência infinita e sua crença absoluta em minha capacidade de realização que, indubitavelmente, foram elementos propulsores no decorrer de minha trajetória acadêmica;

A minha querida namorada Mayanny Gomes, meu porto seguro para elaboração deste trabalho, por ela cuidadosamente lido e às vezes digitado. Agradeço pelo incentivo, apoio, confiança, companheirismo, carinho e amor dedicados em minha jornada e mesmo estando tão longe, se fez presente todos os dias na minha vida.

Muito obrigado!

RESUMO

A clofazimina (CFZ) é um antibiótico amplamente utilizado para o tratamento da hanseníase. Ela apresenta elevada permeabilidade membranar e baixa solubilidade aquosa, contribuindo para redução da eficácia terapêutica, quando administrada por via oral. Para os insumos farmacêuticos ativos que exibem baixa solubilidade e baixa biodisponibilidade, a estratégia que tem se mostrada satisfatória é a obtenção de novas dispersões de fármacos, tais como sais, cocristais e co-amorfos. Neste contexto, este trabalho objetivou a obtenção e a caracterização de uma nova dispersão sólida de CFZ, utilizando o ácido para-aminobenzoico (PABA) como coformador. As novas dispersões sólidas foram obtidas usando o método de moagem líquida assistida (LAG) e caracterizadas por Difração de Raios X em pó (DRXP), Espectroscopia por Reflectância Difusa (ERD), Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR), Termogravimetria e Análise Térmica Diferencial simultânea (TG-DTA) e Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC). A aplicação da LAG em razões molares definidas de CFZ e PABA resultou em um material de coloração violeta, diferente das cores dos compostos de partida. Por meio dos resultados obtidos por DRXP verificou-se a formação de duas novas dispersões sólidas, um sal cristalino na razão de CFZ-PABA (1:1) e um sal amorfo em CFZ-PABA (1:2,68). A estrutura resolvida para o sal CFZ-PABA (1:1) demonstrou que a interação ocorreu pela formação do sinton $R_2^1(7)$. Os resultados de FTIR sugeriram que o mecanismo de interação para formar o sal CFZ-PABA (1:1) e CFZ-PABA (1:2,68) ocorreu por protonação do grupo imino (porção isopropil) da CFZ pelo PABA, e em CFZ-PABA 1:2,68 ocorre uma segunda protonação do grupo imino (porção fenazina) da CFZ. As análises de ERD evidenciaram duas bandas relacionadas com a presença das fases CFZ-PABA (1:1) e (1:2,68) como razões molares ótimas de interação. Os resultados obtidos por DTA mostraram a presença de eventos térmicos relacionados com a transição vítrea e cristalização da CFZ-PABA (1:2,68), confirmando o surgimento da fase amorfa. Por meio das análises de DSC, foi possível construir o diagrama de fases binário que confirma a formação do sal CFZ-PABA (1:1). O estudo de solubilidade demonstrou o aumento da solubilidade da CFZ quando inserida nas dispersões sólidas (5,0 vezes maior na razão 1:1 e 17,8 vezes maior em 1:2,68). Além disso, a metodologia aplicada apresenta-se vantajosa em relação a outras metodologias de cristalização, sendo que as dispersões também se mostram possíveis de obter pelo método da fusão. Com isto as dispersões requerem pequeno tempo de síntese e menor ou nenhuma quantidade de solvente. Portanto, as dispersões sólidas sintetizadas neste trabalho apresentam-se promissoras para a produção de medicamentos mais seguros e eficazes na terapia da hanseníase.

Palavras chaves: Sal, clofazimina, ácido para-aminobenzoico, espectroscopia, hanseníase.

ABSTRACT

Clofazimine (CFZ) is an antibiotic widely used to treat leprosy. It has high membrane permeability but low aqueous solubility, contributing to a reduction in therapeutic efficacy when administered orally. For active pharmaceutical ingredients that exhibit poor solubility and low bioavailability, the strategic which has proved to be satisfactory is the attainment of novel drug dispersions, such as salts, cocrystals, and co-amorphous. Thus, this work aimed at obtaining and characterizing a new solid dispersion of CFZ, using para-aminobenzoic acid (PABA) as coformer. The new solid dispersions were obtained using the Assisted Liquid Grinding (LAG) method and characterized by X-ray Powder Diffraction (XRPD), Diffuse Reflectance Spectroscopy (DRS), Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR), Thermogravimetry and Differential Thermal Analysis Simultaneous (TG-DTA), and Differential Exploratory Calorimetry (DSC). Application of the LAG in defined molar ratios of CFZ and PABA resulted in a dark purple coloring material, different from the colors of the starting compounds. It observed from the results obtained by XRPD the formation of two new salt-type solid dispersions, one crystalline in the ratio of CFZ-PABA (1:1) and the other amorphous of CFZ-PABA (1:2.68). The structure solved for the salt CFZ-PABA (1:1) showed that the interaction occurred by the formation of the $R_2^1(7)$ synthon. FTIR results suggested that the interaction mechanism form the salt CFZ-PABA (1: 1) and CFZ-PABA (1: 2.68) occurred by protonation of the imino group (isopropyl portion) of CFZ by PABA, and in CFZ PABA 1: 2.68 a second protonation of the imino group (phenazine portion) of the CFZ. The DRS analyzes showed two bands related to the presence of the CFZ-PABA (1:1) and (1:2.68) phases as optimal interaction mole ratios. The results obtained by DTA showed the presence of thermal events related to the glass transition and crystallization in the CFZ-PABA (1:2.68), confirming the presence of the amorphous phase. Through the DSC analysis, it was possible to construct the binary phase diagram that confirms the formation of the salt CFZ-PABA (1:1). The solubility study demonstrated the increased solubility of CFZ when inserted into the solid dispersions (an increase of 5.0 fold for 1: 1 and of 17.8 fold for 1:2.68). Besides, the applied methodology is more advantageous concerning other crystallization methodologies, since it requires less time of synthesis and less amount of solvent, and the dispersion is also to be possible the getting by melting method. With this, the dispersions require less synthesis time and less or no amount of solvent. Therefore, the solid dispersions synthesized in this work are promising for the production of safer and more effective drugs in leprosy therapy.

Keywords: Salt, clofazimine, para-aminobenzoic acid, spectroscopy, leprosy.

TRABALHOS APRESENTADOS EM EVENTOS CIENTÍFICOS

SOUSA, M. L.; RIBEIRO, P. R. S.; SANTOS, A. O. Estudo da transição sólido-sólido da sulfanilamida por difração de raios x em pó. **23° Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciência dos Materiais**. Foz do Iguaçu, Paraná, Brasil. 2018.

SOUSA, M. L.; SILVA, F. C.; FAÇANHA FILHO, P. F.; SARRAGUÇA, J. M. G.; SANTOS, A. O.; RIBEIRO, P. R. S. Caracterização espectroscópica de um novo cocristal de gliclazida. **23° Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciência dos Materiais**. Foz do Iguaçu, Paraná, Brasil. 2018.

DOS SANTOS, E. A.; COSTA, A. O.; DO CARMO, D.; DOS REIS, D. C.; FRANÇA, J. P.; DIAS, A. L.; SANTOS, A. O.; SOUSA, M. L.; DA SILVA, L. M. Efeitos da pressão e da temperatura nas propriedades estruturais do composto $Mn_{0,9}Co_{0,1}NiGe$. **23° Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciência dos Materiais**. Foz do Iguaçu, Paraná, Brasil. 2018.

SOUSA, L. M.; SARRAGUCA, J. M. G.; SARRAGUCA, M. S. C. C.; LOPES, J. P. M. A.; FACANHA FILHO, P. F.; SANTOS, A. O.; RIBEIRO, P. R. S. Preparation and characterization of a novel cocystal of hydrochlorothiazide with sulfanilamide. **11 th International Congress of Pharmaceutical Sciences**. Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil. 2017.

LIMA, K. T. S.; SOUSA, L. M.; RIBEIRO, P. R. S. Solid dispersion: an investigation of interaction of chlorpropamide with caffeine by differential scanning calorimetry and x-ray diffraction. **11 th International Congress of Pharmaceutical Sciences**. Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil. 2017.

PEREIRA, W. F. S.; SOUSA, L. M.; RIBEIRO, P. R. S. A new analytical method for the spectrophotometric determination of chlorpropamide in pharmaceutical formulations. **11 th International Congress of Pharmaceutical Sciences**. Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil. 2017.

SOUSA, L. M.; RIBEIRO, P. R. S. Novo método espectrofotométrico para a determinação de besilato de anlodipino em medicamentos. **III Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química - PA e I Escola de Verão Paraense de Química**. Marabá, Pará, Brazil. 2017.

SOUSA, L. M.; CAIRES, F. J.; RIBEIRO, P. R. S. Dispersão sólida fármaco-excipiente: estudo termoanalítico e espectroscópico da interação da hidroclorotiazida com o ácido glutâmico. **III Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química - PA e I Escola de Verão Paraense de Química**. Marabá, Pará, Brazil. 2017.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Número de citações de palavras-chave relacionadas as dispersões sólidas no indexador <i>Web of Science</i>	21
Figura 2: Exemplos de formas cristalinas, amorfos e dispersões sólidas possíveis para um API.....	22
Figura 3: Síntons de ligações de hidrogênio comuns e suas notações. a) Homosínton ácido-ácido, <i>R22(8)</i> . b) Homosínton amida-amida, <i>R22(8)</i> . c) Heterosínton ácido-amida, <i>R22(8)</i> . d) Heterosínton ácido-piridina, <i>R22(7)</i>	26
Figura 4: Exemplos demonstrando a aplicação da notação proposta por Etter e McDonald. a) Sínton com dímero; b) Síntons com cadeias infinitas; c) Conjunto de síntons cíclicos (anéis) em cadeia infinita; d) Sínton com anéis; e) Síntons intermoleculares; f) Conjunto de síntons cíclicos em cadeia infinita. *N = nome do sínton; A = Aceptor de hidrogênio; D = Doador de hidrogênio.....	27
Figura 5: Diagrama de fases ternário dos compostos hipotéticos A e B a) congruentemente e b) incongruentemente solúveis em um solvente. As regiões de composição correspondentes aos experimentos em fase líquida e por moagem são destacadas em azul e róseo, respectivamente.	32
Figura 6: Estrutura química da CFZ, com destaque para os grupos funcionais existentes na molécula.	33
Figura 7: Célula unitária da CFZ na forma I (triclínica), e padrão de DRXP teórico.	36
Figura 8: Mecanismo de protonação da CFZ. a) monoprotionada b) diprotionada.....	38
Figura 9: Estrutura química do PABA, com destaque para os grupos funcionais existentes na molécula.	39
Figura 10: Célula unitária do PABA na forma α (monoclínica), e padrão de DRXP teórico. .	40
Figura 11: Informações gerais contidas em um espectro de DRXP.	42
Figura 12: Limites de interação entre duas ondas com vetores de propagação paralelos. Em a) interferência construtiva e b) interferência destrutiva.	43
Figura 13: Representação de raios X difratados por planos paralelos de átomos em um cristal.	44
Figura 14: Fluxograma representando o processo para resolução de uma estrutura cristalina. *FIPS, <i>software</i> para tratamento de reflexões sobrepostas.	45
Figura 15: Modos vibracionais comuns de um grupo CH ₂ (os sinais + e - indicam o movimento perpendicular ao plano da página).....	52

Figura 16: À esquerda: a) curva sem perda de produtos voláteis; b) dessorção ou secagem; c) decomposição em única etapa; d) decomposição em vários estágios com produtos intermediários estáveis; e) decomposição em vários estágios com produtos intermediários não estáveis; f) reação da amostra com a atmosfera; g) reação de oxidação e em seguida decomposição. À direita, efeitos termogravimétricos na fusão: h) amostra com baixa pressão de vapor; i) fusão volátil (a amostra líquida evapora); j) perda de umidade com a fusão; l) fusão e decomposição concomitantes.....	54
Figura 17: Esquema ilustrativo de eventos em uma curva DTA. a) estabilização inicial do sistema; b) transição vítrea; c) cristalização; d) fusão; e) decomposição exotérmica. Destaque para as temperaturas de: início da transição vítrea (T_g); início da cristalização (T_x); início de um evento térmico (T_{onset}); máxima de reação em um evento térmico (T_{pico}) e; fim de um evento térmico (T_{onset}).....	55
Figura 18: Diagramas de fases binários a) de um sistema congruente e b) incongruente, que evidencia a formação de novas fases. Em c), um sistema que não evidencia a formação de nova fase. L, líquido; S_A , componente A sólido; S_B , componente B sólido; S_C , nova fase; E, ponto eutético; E_m , ponto eutético metaestável; P, ponto peritético; T_{Em} , temperatura eutética metaestável; T_E , temperatura eutética; T_P , temperatura peritica; T_A , temperatura de fusão do componente A; T_B , temperatura de fusão do componente B; T_C , temperatura de fusão da nova fase.....	58
Figura 19: Estrutura química da CFZ. Em 1N e 2N, aminas secundárias acíclicas, e em 3, amina secundária cíclica. Os retângulos pontilhados em azul e verde indicam o conjunto de melhores doadores e receptores para interação.	70
Figura 20: Estruturas da CFZ com SPE a) sólida e b) semitransparente, evidenciando as diferenças de potencial eletrostático. Em c), legendas dos átomos da molécula de CFZ.	76
Figura 21: Estruturas do PABA com SPE a) sólida e b) semitransparente mostrando as diferenças de potencial eletrostático. Em c), as legendas dos átomos da molécula do PABA.	77
Figura 22: Superfície de potencial eletrostático para o estado monoprotonado do a) PABA e da b) CFZ.....	78
Figura 23: Mecanismo de reação sugerido para a interação de CFZ e PABA na razão molar de 1:1.	78
Figura 24: Dispersões sólidas de CFZ com PABA obtidos por LAG. Aumento da concentração de CFZ da esquerda para a direita.	79

Figura 25: Difratomogramas da a) CFZ; b) CFZ _{REC} ; c) PABA e; d) PABA _{REC} refinados pelo método de Rietveld.....	81
Figura 26: Difratomogramas da a) CFZ-PABA (1:1) _{MF} e b) CFZ-PABA (1:2,68) _{MF} refinados pelo método de Rietveld. Em cada gráfico, a intensidade calculada (I_{calc}) e observada (I_{obs}) sobrepostas; diferença entre a intensidade calculada e observada; e os espectros referentes as contribuições das fases CFZ e PABA, extraídos por decomposição de intensidades do espectro calculado.....	83
Figura 27: Difratomogramas das interações binárias de diferentes proporções de CFZ e PABA, sintetizados pelo método de LAG.	85
Figura 28: Difratomogramas dos compostos de partida, sal cristalino CFZ-PABA (1:1) e sal amorfo CFZ-PABA (1:2,68), e respectivas misturas físicas. (*) Indica um novo pico, não existente nos espectros de CFZ ou PABA e; (†) indica picos de CFZ e PABA ausentes no espectro de CFZ-PABA (1:1).....	86
Figura 29: a) Difrátograma de CFZ-PABA (1:1) refinado pelo método de Le Bail e b) pelo método de Rietveld.....	86
Figura 30: a) Interação de CFZ-PABA (1:1), formando o sinton $R21(7)$; b) rede de interação envolvendo CFZ-PABA (1:1); c) Célula unitária de CFZ-PABA (1:1), evidenciado a sobreposição das “camadas”, em cinza e verde, de CFZ e PABA; d) arranjo das moléculas de CFZ na célula unitária.	88
Figura 31: Difratomogramas de CFZ-PABA (1:2,68) e razões molares próximas (1:1,5, 1:2, 1:3 e 1:4), refinados pelo método de Rietveld. Em cada figura, a contribuição da banda amorfa é destacada em cinza, e logo abaixo, a contribuição de cada fase cristalina extraída do espectro calculado são destacadas.	90
Figura 32: Grau de cristalinidade obtido por meio do refinamento, em função da concentração de CFZ.....	91
Figura 33: a) Padrões de DRXP da mistura física CFZ-PABA (1:1) _{MF} antes e após aquecimento (CFZ-PABA (1:1) _{MF} FUS.) refinados pelo método de Rietveld, demonstrando sua similaridade com os espectros obtidos via LAG para a mesma proporção. b) Padrões de DRXP da mistura física CFZ-PABA (1:2,68) _{MF} antes e após aquecimento (CFZ-PABA (1:2,68) _{MF} FUS.), demonstrando a amorfização do material.....	92
Figura 34: a) Estrutura da CFZ, evidenciando os dímeros (A) C-H...N; (B) uma interação C-H... π e; (C) empilhamentos aromáticos. b) Estrutura do PABA, com destaque para as interações (D) N-H...O, C-H...N; (E) C-H...N; (F) empilhamentos aromáticos.....	93

Figura 35: Espectro de refletância difusa da CFZ e do PABA.....	94
Figura 36: a) ERD das misturas de CFZ e PABA e; b) derivada dos espectros ilustrados em a), com destaque para o deslocamento de banda entre 600 e 750 nm.	95
Figura 37: a) Intensidade Kubelka-Munk em função da concentração de CFZ, para o comprimento de onda 382 nm. b) Variação do comprimento de onda máximo na região de 415 a 435 nm. c) Variação do comprimento de onda máximo da primeira derivada dos espectros ERD, na região de 625 a 665 nm.....	96
Figura 38: Espectros experimentais de FTIR da CFZ, PABA, e das dispersões sólidas obtidas entre CFZ e PABA por LAG em diferentes razões estequiométricas.	99
Figura 39: Espectros de FTIR da CFZ, PABA, CFZ-PABA (1:1) e CFZ-PABA (1:1) _{MF} com identificação de bandas referentes a interação de CFZ com PABA para formação do sinton R21(7).....	101
Figura 40: Curvas de TG/DrTG-DTA simultâneas da CFZ, PABA, CFZ _{REC} e PABA _{REC} . Os parâmetros sobre cada evento se encontram resumidos nos apêndices B1 e B2.....	103
Figura 41: Acima, curvas de TG/DrTG-DTA simultâneas da CFZ-PABA (1:1) _{MF} e CFZ-PABA (1:2,68) _{MF} para região de 30 a 900 °C. Abaixo, ampliação das curvas de TG/DrTG-DTA simultâneas da CFZ-PABA (1:1) _{MF} e CFZ-PABA (1:2,68) _{MF} na região de 30 a 300 °C. Os parâmetros sobre cada evento se encontram resumidos nos apêndices B1 e B2.	105
Figura 42: a) Curvas de DTA das várias razões molares de CFZ-PABA, sintetizadas por LAG. b) Ampliação das curvas DTA ilustradas em a) na região de 30 a 180 °C. Os parâmetros sobre cada evento se encontram resumidos no apêndice B1.....	107
Figura 43: Temperaturas de início da transição vítrea (T_g), início da cristalização (T_x) e região de estabilidade à cristalização (T_x-T_g) das dispersões em função da concentração de CFZ...	108
Figura 44: Diagrama de fases binário das dispersões sólidas de CFZ e PABA, sintetizadas por LAG, construído a partir das temperaturas T_{onset} das curvas DTA.....	109
Figura 45: Curvas de a) TG e b) DrTG das proporções de várias razões molares de CFZ e PABA, sintetizadas por LAG. Os parâmetros sobre cada evento se encontram resumidos no apêndice B2.	110
Figura 46: a) Estabilidade térmica dos produtos obtidos por LAG em função da concentração de CFZ. b) Variação de massa referente ao primeiro evento de perda de massa observado na curva TG em função da concentração de PABA para as dispersões sólidas obtidas por LAG.	111

Figura 47: Curvas de DSC com aquecimento e resfriamento obtidas para os compostos de partida a) CFZ e b) PABA, os sais sintetizados na proporção c) CFZ-PABA (1:1) e e) CFZ-PABA (1:2,68) e as respectivas misturas físicas d) CFZ-PABA (1:1) _{MF} e f) CFZ-PABA (1:2,68) _{MF}	113
Figura 48: a) Curvas de DSC das várias razões molares de CFZ e PABA, sintetizadas por LAG. b) Detalhe das curvas de DSC ilustradas em a) na região de 30 a 180 °C. Os parâmetros sobre cada evento se encontram resumidos no apêndice B3.	114
Figura 49: Diagrama de fases binário das dispersões sólidas de CFZ e PABA, obtidas por LAG, construído a partir das temperaturas T_{onset} das curvas de DSC. T_C : Temperatura de fusão do sal CFZ-PABA (1:1); T_E : Temperatura eutética; T_{Em} : Temperatura eutética metaestável (obtida a partir das misturas físicas CFZ-PABA (1:1) _{MF} e CFZ-PABA (1:2,68) _{MF}).	115
Figura 50: a) Estabilidade da solução de CFZ em meio de 60% EtOH-H ₂ O. b) Espectro UV-VIS da solução de CFZ em meio de 60% EtOH-H ₂ O, PABA em meio de 60% EtOH-H ₂ O e do branco de reagentes (apenas solução 60% EtOH-H ₂ O).....	116
Figura 51: Curva de taxa de solubilidade da CFZ, CFZ-PABA (1:1) e CFZ-PABA (1:2,68) em função do tempo.	117
Figura 52: Solubilidade da CFZ e produtos CFZ-PABA (1:1) e CFZ-PABA (1:2,68), obtidos neste trabalho, comparadas à CFZ, CFZ amorfa, CFZ mesilato (1:1) (sal de CFZ e ácido metanossulfônico), CFZ-INS (1:1) (sal de CFZ e ácido isonicotínico) e CFZ-NIC (1:1) (sal de CFZ e ácido nicotínico) obtidas por Bolla e Nangia (2012) ^[82] para o tempo de 5 min.	119

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Exemplos de fatores intrínsecos ao API, fisiológicos e a forma de dosagem que afetam o desempenho do API.....	19
Tabela 2: Esquema de classificação de fármacos, de acordo com o SCB.....	20
Tabela 3: Solubilidade da CFZ em meio aquoso e mistura de água e etanol.....	34
Tabela 4: Dados cristalográficos, temperatura de resolução da estrutura cristalina e códigos CSD das formas polimórficas da CFZ.....	35
Tabela 5: Coformadores usados para obter de dispersões sólidas com CFZ, informações estruturais, síntons reportados e forma da dispersão.....	37
Tabela 6: API's usados para obter dispersões sólidas com PABA, estequiometria, síntons reportados e técnica de síntese.....	41
Tabela 7: Compostos utilizados neste trabalho e informações sobre: formula química, fabricante, massa molar e pureza.....	60
Tabela 8: Razão molar e massa utilizada para obter as dispersões sólidas de CFZ com PABA.....	63
Tabela 9: Potenciais doadores e receptores para formação de ligações de hidrogênio.....	70
Tabela 10: Resultado da busca por síntons com similaridade geométrica a fragmentos de síntons da CFZ já reportados.....	72
Tabela 11: Resultado da frequência de ocorrência e potenciais compostos, obtidos pela ferramenta <i>motif</i> , para interação envolvendo os síntons selecionados.....	74
Tabela 12: Lista de coformadores com boas possibilidades de interação com a CFZ. Em destaque, compostos que não foram utilizados em estudos para obtenção de dispersões sólidas de CFZ.....	75
Tabela 13: Parâmetros cristalográficos obtidos por meio do refinamento Rietveld da CFZ, CFZ _{REC} , PABA e PABA _{REC}	82
Tabela 14: Porcentagem mássica adicionada (experimental) e calculada (pelo método de Rietveld) para CFZ-PABA (1:1) _{MF} e CFZ-PABA (1:2,68) _{MF}	84
Tabela 15: Parâmetros cristalográficos do sal CFZ-PABA (1:1) obtidos pelo método de Le Bail e refinados pelo método de Rietveld.....	87
Tabela 16: Identificação de algumas absorções do espectro FTIR características da CFZ, PABA e dos produtos de interação CFZ-PABA (1:1) e CFZ-PABA (1:2,68).....	100
Tabela 17: Dados das curvas analíticas da CFZ e dos sais CFZ-PABA (1:1) e CFZ-PABA (1:2,68) obtidos neste estudo.....	117

Tabela 18: Dados das taxas de solubilidade da CFZ e dos sais CFZ-PABA (1:1) e CFZ-PABA (1:2,68) obtidos neste estudo.	118
Tabela 19: Análise dos eventos térmicos observados nas curvas de DTA.	135
Tabela 20: Análise dos eventos térmicos observados nas curvas de TG.	139
Tabela 21: Análise dos eventos térmicos observados nas curvas de DSC.	142

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

API – Insumo farmacêutico ativo

CFZ – Clofazimina

CSD – *Cambridge Structural Database*

DrTG – Termogravimetria Derivada

DRXP – Difração de Raios X em pó.

DSC – Calorimetria Exploratória Diferencial

DTA – Análise Térmica diferencial

ERD – Espectroscopia por Reflectância Difusa

FTIR – Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier

GI – Gastrointestinal

GRAS – *Generally Recognized As Safe*

HCT – Hidroclorotiazida

LAG – Moagem Líquida Assistida

MF – Mistura física

MM – Massa Molecular

PABA – Ácido para-aminobenzóico

REC – Recristalizado

SCB – Sistema de Classificação Biofarmacêutico

SFA – Sulfanilamida

SPE – Superfície de potencial eletrostático

TG – Termogravimetria

UV – Ultravioleta

VIS – Visível

LISTA DE SÍMBOLOS

Å – Angstrom

dm/dT – Diferencial da massa em função da temperatura

g – gramas

h – horas

I_{calc} – Intensidade calculada

I_{obs} – Intensidade observada

mg – miligramas

min – minutos

mL – Mililitros

mMol – Milimolar

°C – Temperatura em graus célsius

R_{exp} – Fator residual esperado

R_p – Resíduo dos mínimos quadrados

RPM – Rotações por minuto

R_{wp} – Fator residual do perfil ponderado

s – Segundos

T_{endset} – Temperatura de fim de um evento térmico

T_g – Temperatura de início da transição vítrea

T_{mid} – Temperatura de maior variação de massa

T_{onset} – Temperatura de início de um evento térmico

T_{pico} – Temperatura de máximo de um evento térmico

T_x – Temperatura de início da cristalização

ΔH – variação de entalpia.

θ – Ângulo de difração dos raios X

λ – Comprimento de onda de radiação

χ – Parâmetro de qualidade de ajuste de refinamento (*goodness of fit*)

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
2	OBJETIVOS	18
2.1	Objetivo geral	18
2.2	Objetivos específicos	18
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	19
3.1	Baixa solubilidade de Insumos Farmacêuticos Ativos (API): recentes abordagens e soluções propostas	19
3.2	Dispersões sólidas farmacêuticas	21
3.2.1	<i>Sais farmacêuticos</i>	24
3.2.2	<i>Química supramolecular aplicada a API's</i>	25
3.2.3	<i>Estudos de modelagem molecular</i>	28
3.3	Técnicas de obtenção de dispersões sólidas farmacêuticas	30
3.3.1	<i>Moagem Líquida Assistida (LAG)</i>	31
3.4	Características gerais do API e Coformador	33
3.4.1	<i>A Clofazimina (API)</i>	33
3.4.2	<i>O ácido para-aminobenzóico (Coformador)</i>	39
3.5	Técnicas de caracterização	42
3.5.1	<i>Técnicas espectroscópicas</i>	42
3.5.1.1	Difração de Raios X em pó (DRXP)	42
3.5.1.2	Resolução de estrutura por DRXP	45
3.5.1.2.1	Refinamento de estruturas pelo método de Le Bail	46
3.5.1.2.2	Método de otimização de estrutura <i>Simulated Annealing</i>	47
3.5.1.2.3	Refinamento de estruturas pelo método de Rietveld	47
3.5.1.3	Espectroscopia UV-VIS por Reflectância Difusa (ERD)	49
3.5.1.4	Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)	51
3.5.2	<i>Técnicas termoanalíticas</i>	53
3.5.2.1	Termogravimetria (TG) e Análise Térmica Diferencial (DTA)	54
3.5.2.2	Calorimetria exploratória diferencial (DSC)	56
3.5.2.2.1	Diagramas de fases binários	57
4	MATERIAIS E MÉTODOS	60
4.1	Materiais	60
4.2	Métodos	60
4.2.1	<i>Estudos teóricos</i>	60
4.2.1.1	Guia teórico para seleção do coformador	60
4.2.1.2	Estudos de simulação da superfície de potencial eletrostático (SPE)	62
4.2.2	<i>Protocolos de síntese</i>	62
4.2.2.1	Obtenção do sal de CFZ com PABA pelo método de LAG	62
4.2.2.2	Recristalização dos compostos de partida CFZ e PABA	63
4.2.2.3	Obtenção da mistura física de CFZ com PABA nas razões molares (1:1) e (1:2,68)	63

4.2.2.4	Obtenção dos sais de CFZ com PABA pelo método da fusão	64
4.2.2.5	Obtenção do solvato de CFZ e Acetona.....	64
4.2.3	<i>Caracterizações dos materiais obtidos neste estudo</i>	64
4.2.3.1	Caracterização estrutural.....	64
4.2.3.1.1	Difração de Raios X em pó (DRXP)	64
4.2.3.1.2	Resolução da estrutura cristalina de CFZ-PABA (1:1).....	65
4.2.3.2	Caracterização vibracionais	66
4.2.3.2.1	Espectroscopia UV-VIS por Refletância Difusa	66
4.2.3.2.2	Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR).....	66
4.2.3.3	Caracterizações térmicas.....	67
4.2.3.3.1	Termogravimetria e Análise Térmica Diferencial simultânea (TG-DTA)	67
4.2.3.3.2	Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC).....	67
4.2.4	<i>Estudo de solubilidade das dispersões sólidas obtidas</i>	68
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	69
5.1	Seleção do coformador	69
5.1.1	<i>Estudos de simulação da superfície de potencial eletrostático (SPE)</i>	75
5.2	Sais de CFZ e PABA obtidos	79
5.3	Caracterização espectroscópica dos materiais obtidos neste estudo	80
5.3.1	<i>Difração de Raios X em pó (DRXP)</i>	80
5.3.1.1	Análise dos compostos de partida (CFZ e PABA) e de suas misturas físicas.....	80
5.3.1.2	Análise dos sais de CFZ e PABA obtidos.....	84
5.3.1.3	Estrutura cristalina do sal de CFZ-PABA (1:1)	86
5.3.1.4	Análise do sal amorfo CFZ-PABA (1:2,68)	89
5.3.1.5	Obtenção dos sais de CFZ com PABA pelo método da fusão	91
5.3.2	<i>Espectroscopia UV-VIS por refletância difusa</i>	92
5.3.3	<i>Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)</i>	97
5.4	Caracterização térmica dos materiais obtidos neste estudo	102
5.4.1	<i>Termogravimetria, Termogravimetria Derivada e Análise Térmica Diferencial simultânea (TG/DrTG-DTA)</i>	102
5.4.1.1	Análise dos compostos de partida e misturas físicas.....	102
5.4.1.2	Análise térmica dos sais de CFZ e PABA obtidos neste trabalho.....	106
5.4.2	<i>Calorimetria exploratória diferencial (DSC)</i>	111
5.5	Estudo do perfil de solubilidade	115
6	CONCLUSÕES	120
7	PERSPECTIVAS FUTURAS	121
APÊNDICE A	135
A.1	Eventos térmicos detectados nas análises de DTA	135
A.2	Eventos térmicos detectados nas análises de TG	139
A.3	Eventos térmicos detectados nas análises de DSC	142

1 INTRODUÇÃO

Uma das formas mais práticas, seguras e eficazes para administração de um Insumo Farmacêutico Ativo (API, do inglês *active pharmaceutical ingredient*) é a via oral, através dos medicamentos sólidos, comumente conhecidos como “comprimidos”^[1]. Segundo Thayer (2010)^[2], mais de 80% dos API’s utilizados para terapia medicamentosa apresentam-se na forma sólida e podem ser administrados por esta via. No entanto, cerca de 40% dos API’s sólidos disponíveis, e cerca de 80 a 90% dos que ainda estão em desenvolvimento apresentam baixa solubilidade aquosa^[2]. Essa baixa solubilidade aquosa pode acarretar problemas como redução da taxa de absorção gastrointestinal do API, resultando em menor biodisponibilidade, diminuindo o efeito do medicamento que está sendo usado^[3].

A estratégia que tem apresentado grande destaque no ramo dos produtos farmacêuticos sólidos, e que se mostra promissora, é a obtenção de novas dispersões sólidas de fármacos tais como: sais, cocristais, coamorfos, entre outras dispersões sólidas. O interesse nestas novas formas é evidenciado pelo considerável número de publicações recentes sobre o tema, depósitos de patentes e cadastro de dados cristalográficos das dispersões sólidas em bancos de dados especializados^[4]. As dispersões sólidas farmacêuticas, são constituídas de dois ou mais componentes, sendo um API e um ou mais coformadores.

Os coformadores são substâncias consideradas seguras para o consumo humano e a sua interação com o API não altera a sua funcionalidade^[5]. Contudo, essa interação gera novos materiais com as mesmas propriedades farmacológicas do API quando considerado isoladamente, mas com diferentes características físico-químicas. No caso de dispersões sólidas cristalinas, como sais e cocristais, o API e o coformador encontram-se na mesma célula unitária, com uma estrutura cristalina homogênea diferente da observada nos compostos precursores e proporções estequiométricas definidas. Além disso, ambos estão ligados por interações não covalentes fracas, geralmente ligações de hidrogênio e/ou interações eletrostáticas^[5].

A clofazimina (CFZ) é um corante riminofenazínico lipossolúvel, quimicamente conhecida como N,5-bis(4-clorofenil)-3,5-diidro-3-[(1-metiletil)imino]-2-fenazinamina^[6]. Este API atua como antibiótico e anti-inflamatório (embora seu efeito anti-inflamatório seja inibido por fármacos como a dapsona), sendo amplamente utilizado no tratamento da hanseníase, também conhecida como doença de Hansen ou lepra. Essa infecção crônica é associada a ação do bacilo *Mycobacterium leprae*, uma bactéria patogênica que invade o sistema nervoso periférico, predominantemente a pele, vias aéreas superiores e os olhos,

causando modificações patológicas e induzindo lesões nervosas, perda sensorial^[7]. Segundo dados da Organização Mundial da Saúde (2016)^[8], em 2015 o Brasil, Indonésia e Índia somam 81% dos novos casos de hanseníase no mundo, sendo estes os países com dados mais críticos, o que alerta para o quão grave encontra-se o quadro desta mazela nestas regiões. Embora a CFZ tenha sido frequentemente utilizada na terapia medicamentosa de hanseníase, trabalhos recentes também sugerem redução do tempo de quimioterapia contra HIV e câncer, quando a CFZ é administrada em conjunto no tratamento^[9].

Devido à sua baixa solubilidade e alta permeabilidade membranar, a CFZ é classificada pelo Sistema de Classificação Biofarmacêutico (SCB) como classe II. Além disso, a CFZ apresenta taxa de absorção no organismo de apenas 70%, levando a excreção da parcela não solubilizada e conseqüentemente perda de eficácia do tratamento medicamentoso. Com o propósito de aumentar a eficácia terapêutica de fármacos pouco solúveis em água, eventualmente aumenta-se a dosagem e/ou frequência de administração dos medicamentos, entretanto, esta alternativa pode provocar o aumento dos efeitos colaterais no organismo humano^[10]. No caso da CFZ, a maior dosagem/frequência de administração, pode causar efeitos colaterais como aumento da pigmentação na pele, cristalização no intestino do paciente, ocorrência de fortes dores abdominais, diarreias, náuseas e vômitos^[11].

Dessa forma, a elaboração de novas dispersões sólidas desde fármaco com interesse de aumentar a solubilidade aquosa, potencializaria o aumento da velocidade de dissolução e maior biodisponibilidade. Assim, possibilitará a redução da dose administrada, melhoria da eficácia da terapia medicamentosa, redução de efeitos colaterais, e ainda menor custo para o consumidor, porque seria necessária uma dose com menor concentração do API. Diante desse contexto, torna-se necessários estudos envolvendo a síntese e a caracterização de novas dispersões sólidas de CFZ, visando melhorar suas características físico-químicas com intenção de elevar seu potencial de uso na terapia medicamentosa.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Este trabalho objetivou a obtenção e a caracterização de novas dispersões sólidas de Clofazimina (CFZ).

2.2 Objetivos específicos

- Avaliar coformadores com maiores possibilidades de sucesso em obter uma nova dispersão sólida de CFZ.
- Sintetizar uma nova dispersão sólida de CFZ, utilizando o método de moagem líquida assistida (LAG);
- Caracterizar estruturalmente a nova dispersão sólida obtida utilizando técnica Difração de Raios X em pó (DRXP) e resolver a sua estrutura (caso seja cristalina);
- Caracterizar as interações da nova dispersão sólida utilizando Espectroscopia de reflectância difusa (ERD) e; Espectroscopia de absorção na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR);
- Caracterizar o perfil térmico por meio da Calorimetria exploratória diferencial (DSC); Termogravimetria e Análise térmica diferencial simultânea (TG-DTA);
- Estudar o perfil de solubilidade da nova dispersão sólida obtida.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Baixa solubilidade de Insumos Farmacêuticos Ativos (API): recentes abordagens e soluções propostas

O sucesso de um regime terapêutico de dosagem, utilizando API's, depende da concentração alcançada no sítio de ação pretendido. Para tanto, é necessário garantir que o medicamento escolhido para a terapia medicamentosa tenha boa biodisponibilidade, e consiga atingir concentrações adequadas no órgão ou no sistema suscetível ao efeito benéfico requerido^[12]. Para API's com biodisponibilidade limitada, é um desafio desenvolver tecnologias para melhorar esta característica, sem comprometer a estabilidade, o sítio farmacológico ativo, além de outras características de desempenho do fármaco. As técnicas aplicadas com o objetivo de melhorar a biodisponibilidade de fármacos têm como alvos fatores que afetam o desempenho dos API's. Alguns exemplos destes fatores encontram-se listados na Tabela 1. Fatores relacionados a forma de administração podem ser facilmente controlados, pois, dependem apenas de como se pretende administrar o medicamento.

Tabela 1: Exemplos de fatores intrínsecos ao API, fisiológicos e a forma de dosagem que afetam o desempenho do API.

Fatores físico-químicos	Fatores fisiológicos	Formas de administração
pKa	pH gastrointestinal	Cápsula
Solubilidade	Esvaziamento gástrico	Solução
Lipofilía	Tempo de trânsito intestinal	Emulsão
Difusividade	Mecanismos de permeação	Suspensão
Estabilidade química		

Fonte: Adaptado de Dahan *et al.* (2016)^[13].

A maneira mais comum de administração de formulações farmacêuticas é a via oral, na forma sólida em cápsulas ou comprimidos, pois, é a modo mais conveniente, segura e de baixo custo^[1]. Neste caso, a eficácia do fármaco está diretamente ligada a fatores físico-químicos no estado sólido e também fisiológicos. Muitas vezes, não é simples ou cômodo controlar fatores fisiológicos, o que direciona pesquisas científicas para a modificação das características físico-químicas de API's de modo a aumentar a sua biodisponibilidade.

A solubilidade e a permeabilidade membranar gastrointestinal (GI) são importantes parâmetros que atraem a atenção da comunidade científica, por influenciar drasticamente os níveis de concentração adequados do API no organismo e conseqüentemente a ação do medicamento sobre a enfermidade^[13]. Devido à tamanha importância destes fatores, eles são utilizados como parâmetros para classificação de API's pelo Sistema de Classificação Biofarmacêutico (SCB). O SCB pode auxiliar na previsão da absorção, além de identificar se a biodisponibilidade de determinado produto farmacêutico é sensível a alterações do processo produtivo, dos constituintes da formulação ou da concentração do fármaco^[14]. Os API's são classificados pelo SCB em quatro grupos principais, de acordo com o perfil de solubilidade e permeabilidade, conforme descrito na Tabela 2^[15].

Tabela 2: Esquema de classificação de fármacos, de acordo com o SCB.

		Solubilidade	
		Alta	Baixa
Permeabilidade	Alta	Classe I Alta solubilidade Alta permeabilidade	Classe II Baixa solubilidade Alta permeabilidade
	Baixa	Classe III Alta solubilidade Baixa permeabilidade	Classe IV Baixa solubilidade Baixa permeabilidade

Fonte: Adaptado de Dressman *et al.* (1998)^[15].

Na Classe I, encontram-se os fármacos altamente solúveis e muito permeáveis como, por exemplo, metoprolol, diltiazem e propranolol. A Classe II é composta por API's que são pouco solúveis e altamente permeáveis, tais como: a nifedipina, fenitoína, danazol, ibuprofeno e clofazimina. Na Classe III, estão agrupados os fármacos altamente solúveis e com baixa permeabilidade, exemplos desta classe são: cimetina, aciclovir, fluconazol e captopril. A Classe IV é formada por fármacos pouco solúveis e pouco permeáveis, que estão incluídos a hidroclorotiazida, taxol e furosemida^[16]. Os API's pertencentes à Classe II em especial, apresenta-se como modelo para aplicação de tecnologias para melhoria da biodisponibilidade, tendo em vista sua alta permeabilidade, o aprimoramento da solubilidade terá impacto direto sobre a biodisponibilidade do API.

Os API's da Classe II têm sido foco de pesquisas e várias técnicas têm sido empregadas para melhorar a solubilidade dos fármacos pertencentes a esta classe^[16]. Dentre estas técnicas podem ser destacadas: redução do tamanho de partícula (moagem, trituração,

micronização, nanonização, etc.); cosolvecência; hidrotropia; ajuste de pH; sonocristalização; processos utilizando fluidos supercríticos; complexos de inclusão; nanosuspensões; nanocristais; lipossomas e a obtenção de dispersões sólidas (que incluem cocristais, sais, coamorfos, solvatos, hidratos, etc.)^[17, 18].

Dentre estes mecanismos de melhoramento de solubilidade de API's, a obtenção de dispersões sólidas tem ganhado destaque, o que é evidenciado pelo número de publicações crescentes nos últimos anos^[19, 20] (Figura 1), principalmente pelo desenvolvimento de formas sólidas como: sais, cocristais e coamorfos que aumentam significativamente a solubilidade de API's^[21].

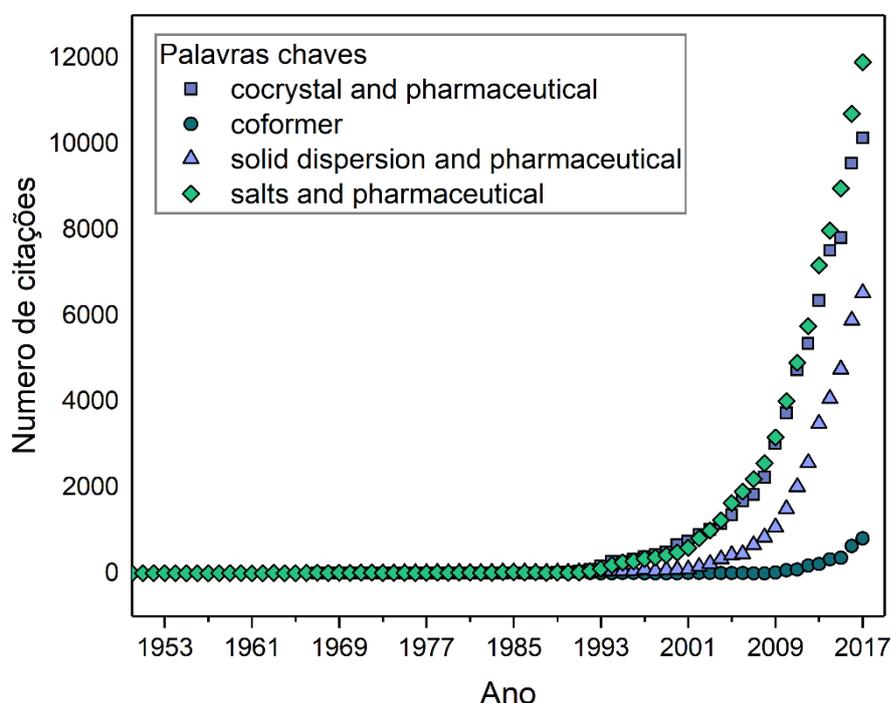


Figura 1: Número de citações de palavras-chave relacionadas as dispersões sólidas no indexador *Web of Science*.

3.2 Dispersões sólidas farmacêuticas

A utilização de dispersões sólidas é uma ferramenta largamente empregada na indústria de produtos farmacêuticos. Por exemplo, um medicamento consiste em uma dispersão sólida de API e excipientes. Um sistema sólido disperso consiste em partículas pouco solúveis ou apenas ligeiramente solúveis tidas como uma fase dispersa, que se encontra dispersa em um meio contínuo^[22]. No caso de estudos com o objetivo de melhorar a solubilidade de fármacos, utiliza-se como fase dispersa os API's que têm perfil de solubilidade limitado como, por exemplo, os que pertencem às Classes II e IV do sistema

SCB, e como meio contínuo, substâncias com potencial de aprimorar a solubilidade do API. Estas substâncias utilizadas como meio contínuo não alteram a funcionalidade farmacológica do API e, principalmente, não podem apresentar toxicidade, sendo seguras para o consumo humano^[22, 23]. Dessa forma, é comum utilizar excipientes já aprovados^[24, 25], polímeros^[26] ou outros compostos descritos pelo comitê *Generally Recognized As Safe* (GRAS) da organização *Food & Drug Administration* (FDA)^[27] como meio contínuo. Em casos específicos de algumas dispersões sólidas, os compostos utilizados como meio contínuo têm recebido o nome de coformador, especialmente quando se tratam de formas sólidas especiais como sais, cocristais e coamorfos^[23, 24].

A literatura descreve diferentes formas sólidas e dispersões sólidas que os API's podem assumir (Figura 2). Cada forma sólida descrita possui diferentes características estruturais e químicas, que podem influenciar o processamento, estabilidade térmica, e absorção do API. Dessa forma, a escolha do tipo adequado de forma sólida para aplicação em um medicamento é um dos fatores determinantes para obtenção de sucesso na melhoria da solubilidade do mesmo^[21, 28, 29].

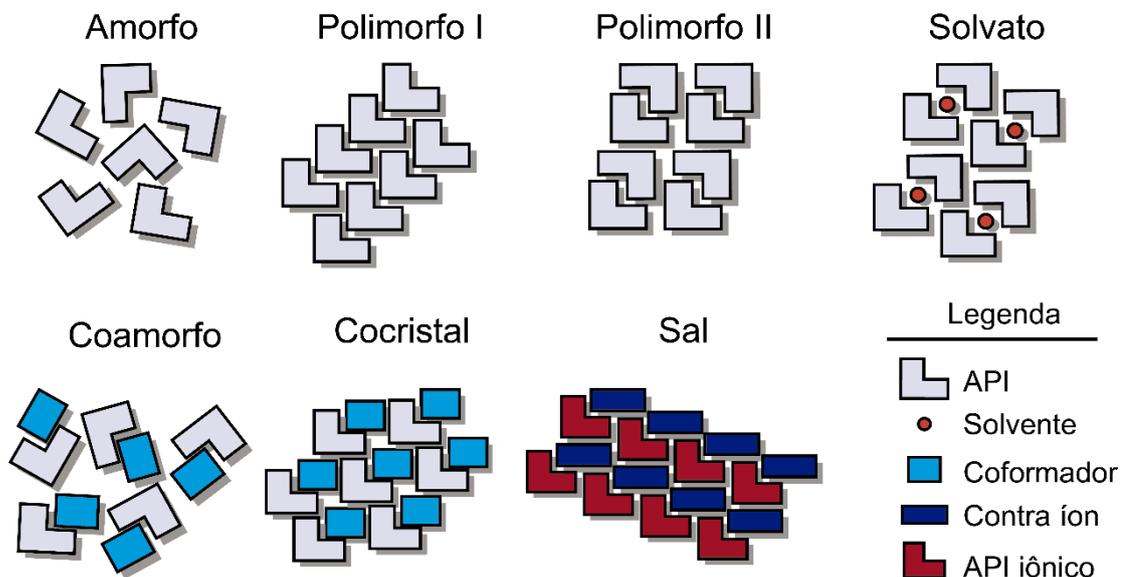


Figura 2: Exemplos de formas cristalinas, amorfas e dispersões sólidas possíveis para um API.

Fonte: Adaptado de Shan e Zaworotko (2008)^[21].

O API pode ser identificado na forma amorfa, ou seja, sem ordem a longo alcance no arranjo das moléculas, e cristalino, com uma rede estrutural das moléculas ordenada a longo alcance. A amorfização de API muitas vezes é usada como uma alternativa para melhorar a biodisponibilidade de APIs, sem a necessidade de modificar a estrutura molecular do composto^[30, 31].

No estado amorfo, as moléculas encontram-se em um estado de energia maior que em sua forma cristalina, devido à redução ou ausência do arranjo cristalino^[32]. Assim, menos energia é necessária para solvatar completamente as moléculas. Entretanto, o API apresentar o estado “metaestável” de energia aumentada, também significa que sua forma amorfa é inerentemente mais instável, com uma tendência a recrystalizar em seu estado cristalino termodinamicamente mais estável, e de menor energia^[33]. Desse modo, normalmente não é viável aplicar uma forma amorfa pura de um API como produto final, por isso são utilizados coformadores para obtenção de fases amorfas mais estáveis chamadas coamorfos.

Os polimorfos são formas sólidas cristalinas que possuem a capacidade de existir em duas ou mais configurações cristalinas, quando em estado sólido. Diferentes polimorfos podem apresentar propriedades físico-químicas distintas, como solubilidade, densidade, ponto de fusão, entre outras^[34]. Isto acontece devido principalmente as ligações intermoleculares que se arranjam de forma a estabilizar a fase. Contudo, estas propriedades diferentes entre polimorfos de um API podem causar alterações indesejáveis na eficácia e qualidade farmacológica do produto final^[35], por isso é importante o estudo desses polimorfos. O termo solvato é usado para designar formas sólidas que apresentam moléculas de um solvente inserida na estrutura cristalina do API, seja de forma estequiométrica ou não. Como estruturas cristalinas contendo água representam a maior quantidade desta classe, o termo hidrato é utilizado como uma espécie de subclasse dos solvatos^[36].

Os coamorfos, assim como API's amorfos, não apresentam estrutura espacial ordenada. São obtidos a partir da interação do API com um coformador, preparados geralmente através de métodos como fusão, recrystalização em solvente ou a combinação de ambos os métodos^[37]. Esta classe de materiais tem sido extensivamente investigada por exibir melhoria na solubilidade em relação ao equivalente cristalino do API, com a vantagem de melhorar instabilidade de fases que apresenta tendência a recrystalização^[38].

Os sais são complexos moleculares compostos de um API e um ou mais coformadores que se encontram no estado sólido à temperatura ambiente. Esta dispersão sólida apresenta uma estrutura cristalina homogênea (API e coformador bem arranjados dentro da célula unitária), diferentes da observada nos compostos precursores, além de uma estequiometria bem definida. Geralmente as interações que ocorrem entre o API e o coformador para formação de sais são do tipo não covalente, tais como as ligações de hidrogênio^[19, 39]. No caso dos sais, devido à força das ligações de hidrogênio, é possível que o próton envolvido na interação seja transferido do doador (ácido) para o receptor (base)^[40].

O conceito de cocristais é bem similar ao dos sais, no entanto, não há transferência de prótons e ambos os compostos formadores se encontram em estado neutro^[40]. A obtenção de sais farmacêuticos tem sido objetivada principalmente por sua capacidade de melhorar consideravelmente o perfil de solubilidade. Enquanto os cocristais podem aumentar tipicamente de 4 a 160 vezes, um sal pode elevar de 100 a 1000 vezes a solubilidade^[40, 41]. Dessa forma, os sais de fármacos geralmente tem a possibilidade de proporcionar um perfil de solubilidade superior aos cocristais, polimorfos, e ao próprio API em estudo^[23, 40].

3.2.1 Sais farmacêuticos

Os sais, segundo a União Internacional de Química Pura e Aplicada (IUPAC, do inglês *International Union of Pure and Applied Chemistry*), são definidos como um “composto químico formado por um conjunto de cátions e ânions”^[42]. Dessa forma, um sal farmacêutico multicomponente se trata de um API, catiônico ou aniônico, e um segundo componente, o coformador que atua como contra íon (catiônico ou aniônico), que mantém o equilíbrio de carga no complexo. Como consequência da interação por transferência de prótons, um sal farmacêutico apresenta estequiometria bem definida^[23].

Quando aplicadas estratégias de síntese para a formação de uma dispersão sólida, baseada e ligações de hidrogênio, é possível que haja transferência de prótons, sendo transferidos do ácido (doador) para a base (receptor) formando o sal^[43]. Como distinção entre sal ou cocrystal é feita com base na carga dos componentes moleculares do API e coformador, os sais farmacêuticos são muitas vezes confundidos com cocristais, devido à dificuldade em comprovar a transferência de próton entre as espécies formadoras e, consequente a existência destas cargas^[39]. Para que se possa prever o estado final de ionização de uma dispersão sólida, é comumente considerada a constante de ionização conhecida como pKa. Para um ácido qualquer HA, a constante é definida como^[44]:

Eq. 1

$$pKa = -\log\left(\frac{[A^-] \cdot [H_3O^+]}{[HA]}\right).$$

Embora os valores de pKa sejam adequadamente definidos apenas em solução, a formação de um sal em estado sólido é estabelecida de forma confiável quando a diferença de pKa entre o API e coformador é suficientemente grande. Comumente, é adotado o conceito de que o sal é formado quando a diferença de pKa entre o ácido e a base conjugada for maior que três^[23]. Li e colaboradores (2006)^[43] consideraram uma melhoria para esta regra empírica,

observando que existe uma região com ocorrência de apenas uma transferência parcial de próton, de pKa entre 2 e 3, sendo que para uma estimativa confiável de distinção considera uma diferença de pKa de 2. A facilidade de transferência de um próton em uma dispersão sólida pode variar em função das condições fornecidas na experimentação. Estudos relatam que o comportamento de transferência de prótons em cristais é influenciado, além do pKa, pelo hábito cristalino^[45] pelos sítios moleculares expostos para interação e também pela temperatura^[46] devido à atuação na magnitude da força da ligação de hidrogênio na interação.

As dispersões sólidas discutidas neste tópico, apresentam em comum arranjos de interações intermoleculares que envolvem a formação destas formas sólidas. O entendimento das espécies de ligações intermoleculares que ocorrem entre as moléculas de API e coformador, bem como os sítions observados (discutidos no item 3.2.2), são essenciais para compreender e explicar os comportamentos físicos e químicos intrínsecos ao material em estudo.

3.2.2 *Química supramolecular aplicada a API's*

Para obter sucesso na síntese de novas formas sólidas, estudos foram realizados sobre a estrutura molecular do API e do coformador, especialmente das possíveis ligações de hidrogênio ou outras ligações fracas que podem ocorrer, com o objetivo de aumentar as possibilidades de sucesso da síntese. Esses estudos são importantes por permitirem o estudo dos grupos funcionais complementares responsáveis pela interação entre o API e o coformador, conhecido como sítions^[1]. Os sítions podem ser definidos como arranjos espaciais de interações intermoleculares que ocorrem frequentemente dentro das estruturas cristalinas. Dessa forma, conceito de sinton combina elementos químicos de cunho molecular e de geometria e empacotamento de cristais^[47]. Alguns exemplos de sítions são ilustrados na Figura 3.

No caso das dispersões sólidas como: sais, cocrystalis, coamorfos e solvatos, que apresentam ligações de hidrogênio ou outras forças fracas de interação, tendem a formar estes sítions entre as moléculas formadoras (API e coformador), pois, elas são energeticamente mais favoráveis de ocorrer que entre espécies químicas similares (API e API, por exemplo). O conceito de sinton não faz nenhuma suposição quanto à natureza das interações ou energia associada a elas, sendo algo probabilístico, que se preocupa com a frequências de ocorrência. Com base em um quantitativo de estruturas cristalinas escolhidas, quanto maior a frequência de ocorrência, maior a probabilidade do sinton específico ser formado^[49]. Dessa forma, para a

formação de uma nova dispersão sólida, os sintonos mais desejáveis são os observados com altas taxas de frequência, sendo possível ocorrer quando todos os grupos funcionais necessários para a formação do sinton estiverem presentes no sistema.

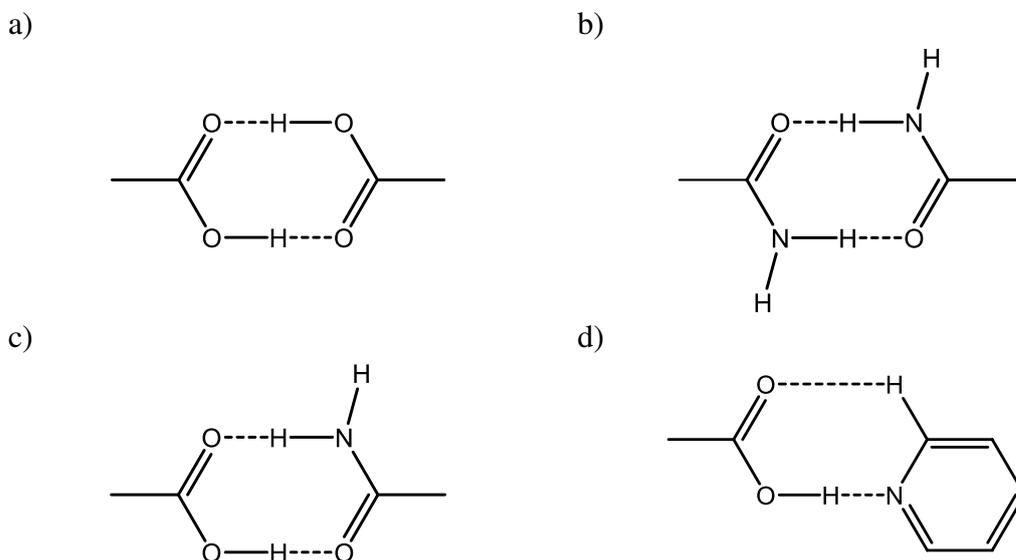


Figura 3: Síntons de ligações de hidrogênio comuns e suas notações. a) Homosínton ácido-ácido, $R_2^2(8)$. b) Homosínton amida-amida, $R_2^2(8)$. c) Heterosínton ácido-amida, $R_2^2(8)$. d) Heterosínton ácido-piridina, $R_2^2(7)$.

Fonte: Adaptado de Thakuria *et al.* [24] e Qiao *et al.* [48].

Para aplicação da abordagem por meio dos sintonos, um requisito necessário é uma coleção abrangente de estruturas cristalinas que podem ser utilizadas para identificação de sintonos e assim obter as frequências de ocorrência de determinada interação. Esta função é atendida pela base de dados *Cambridge Structural Database* (CSD). A CSD tem sido utilizada em muitos estudos para prever a formação de dispersões sólidas. Além disso, várias interações têm sido estudadas quando o API e coformador estão ligados por forças de Van der Waals, empilhamento π - π e ligações de hidrogênio^[17]. Não obstante, é notável o número de revisões que descrevem o seu papel na pesquisa científica^[21, 50 - 53]. A CSD é distribuída junto a uma suíte de *softwares* com várias funcionalidades. Em particular, os *softwares Mercury*^[54, 55] e *ConQuest*^[56] contêm funções que auxiliam as pesquisas de informações cristalográficas, tornando possível identificar combinações de grupos funcionais ou estruturas cristalinas contendo um arranjo geométrico similar aos do composto tido como objeto de estudo. Para entendimento dos tipos de interações envolvidas e realização de análises com a base de dados CSD, se faz necessário conhecer previamente a notação proposta por Etter e MacDonald (1990)^[57], em relação aos padrões de interações intermoleculares.

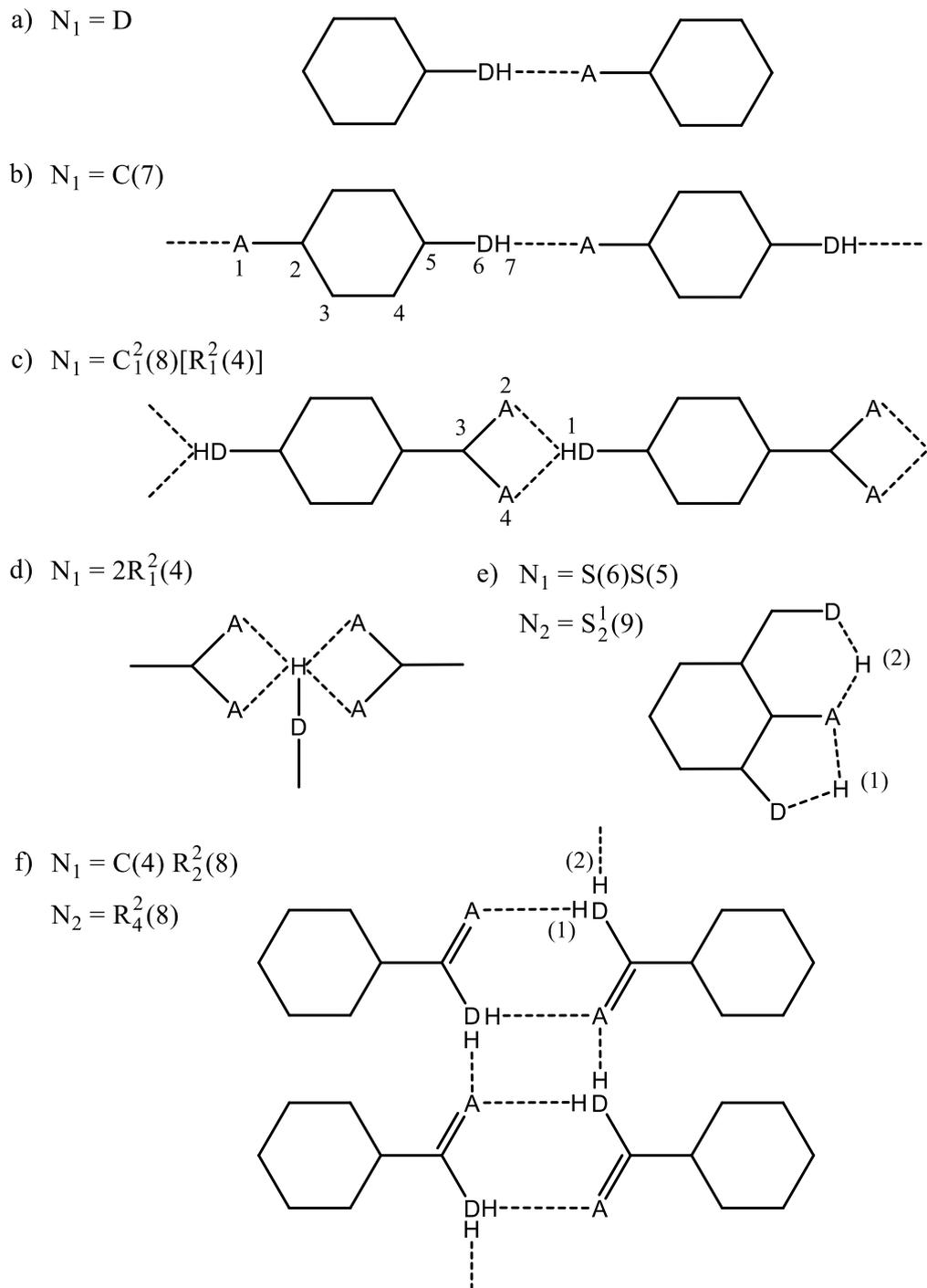


Figura 4: Exemplos demonstrando a aplicação da notação proposta por Etter e McDonald. a) Sínton com dímero; b) Síntons com cadeias infinitas; c) Conjunto de síntons cíclicos (anéis) em cadeia infinita; d) Sínton com anéis; e) Síntons intermoleculares; f) Conjunto de síntons cíclicos em cadeia infinita. *N = nome do sínton; A = Aceptor de hidrogênio; D = Doador de hidrogênio.

Fonte: Adaptado de Etter e MacDonald (1990)^[57].

A notação proposta por Etter e MacDonald^[57] permite a análise de padrões complexos de ligações de hidrogênio pela combinação de quatro formas gerais de síntons, representados pelas letras: *S*, *C*, *R* e *D*. Cada letra designa uma interação específica, por

exemplo: *S*, ligações intramoleculares; *C*, cadeias infinitas; *R*, ligações cíclicas (ou anéis); e *D*, dímeros não cíclicos. O método propõe a representação utilizando estas letras em conjunto com outros três parâmetros: *a*, *d* e *r*, na forma geral: $G_d^a r$, em que *G* refere-se à espécie do sinton, (por exemplo, *S*, *C*, *R* ou *D*), *d* indica o número de doadores, *a* o número de aceptores e *r* o número de átomos envolvidos no sinton contendo as ligações de hidrogênio (também são contabilizados os átomos de hidrogênio). Quando *d* ou *a* forem iguais a 1, estes termos são omitidos. A Figura 4 oferece uma visualização de exemplos de aplicação deste sistema^[57].

3.2.3 Estudos de modelagem molecular

Além da possibilidade de análise de estruturas via CSD, a modelagem molecular também fornece ferramentas para encontrar coformadores propícios de interação, avaliação da viabilidade de formação do sinton e até mesmo simulação da interação entre API e coformador^[1]. Enquanto a análise utilizando bases de dados extrai informações por estimativas de frequências de ocorrência em estruturas reais, a modelagem molecular fundamenta-se em métodos teóricos que necessitam do uso de *softwares* específicos para realização de cálculos. Os programas de modelagem molecular partem de uma proposta inicial da estrutura da molécula e utilizam algum método teórico para produzir um modelo otimizado dessa estrutura.

As funções usadas na otimização da energia de estruturas moleculares têm como base predominantemente duas aproximações teóricas: a aproximação clássica, que inclui os métodos da mecânica molecular e da dinâmica molecular, e a aproximação quântica, que abrange os métodos *ab initio* e semiempíricos. Para os métodos *ab initio*, são feitas aproximações com base em princípios mecânico quânticos, nas aproximações de Born Oppenheimer e combinação linear de orbitais atômicos, não usando parâmetros experimentais. A escolha entre estas aproximações dependem das propriedades que se deseja avaliar, da precisão desejada e da capacidade computacional disponível para a realização dos cálculos^[58].

Para descrever estruturas por métodos quânticos, é necessário considerar o comportamento de dualidade partícula-onda. O cálculo de propriedades como a energia requer uma expressão matemática que considere o comportamento ondulatório, o que foi desenvolvido por E. Schrödinger^[59, 60] conforme descreve a equação:

$$E\Psi(R, r) = H\Psi(R, r), \quad \text{Eq. 2}$$

onde, E é a energia, H é o operador Hamiltoniano (a soma de operadores para a energia cinética e para a energia potencial) e $\psi(R, r)$ é a função de onda, que depende das coordenadas de todos os núcleos (R), e os elétrons (r). Para ser resolvida para sistemas moleculares, em geral, a Eq. 2 necessita de uma série de simplificações^[1].

Um modelo para resolução da Eq. 2, que tem base nos orbitais moleculares é o modelo do funcional de densidade (DFT), formulado a partir dos trabalhos de Hohenberg e Kohn (1964)^[61] e Kohn e Sham (1965)^[62]. Neste modelo, considera-se que a energia de um conjunto de elétrons sob influência de um campo externo é um funcional único da função densidade eletrônica. Esta dependência aparece em dois termos da energia eletrônica, chamados funcional de troca e funcional de correlação. Há formas diferentes de funcionais, alguns desenvolvidos a partir da mecânica quântica fundamental e outros baseados na parametrização de funções para reproduzir melhor os resultados experimentais. Atualmente, um dos modelos mais utilizados é o modelo do funcional de troca híbrido de três parâmetros de Becke e do funcional de correlação de Lee-Yang-Parr (B3LYP), devido à qualidade dos seus resultados, particularmente para moléculas orgânicas^[58].

Por meio da aplicação dos métodos teóricos é possível obter mapas tridimensionais que representam a distribuição do potencial eletrostático na superfície molecular (ou superfície de potencial eletrostático, SPE) através de diferenças de cores. Nesse procedimento, define-se uma grade de pontos ao redor da molécula, situada a uma distância adequada, geralmente na superfície de van der Waals. O potencial eletrostático é calculado, determinando-se a distribuição da energia de interação de uma carga pontual positiva com cada ponto da grade associada com a superfície molecular. O potencial muda significativamente quando obtido por métodos diferentes, mas há uma boa concordância qualitativa. A análise destes mapas sobre fármacos é útil para o delineamento de interação com ligantes, considerando-se que deve existir uma complementaridade eletrostática adequada entre o API e o coformador para que haja uma interação^[58].

Embora teoricamente seja possível estimar possíveis interações entre API e coformador, para que haja de fato a interação e seja comprovada sua ocorrência se faz necessário a aplicação de uma metodologia experimental adequada de forma a proporcionar uma interação bem-sucedida entre API e coformador. Para tanto, a escolha da técnica de síntese adequada é um passo decisivo para obtenção de uma nova fase.

3.3 Técnicas de obtenção de dispersões sólidas farmacêuticas

As técnicas abordadas para a obtenção de dispersões sólidas podem ser aplicadas para vários sistemas, por exemplo, uma técnica para síntese de cocristais pode ser facilmente adaptada e aplicada para a síntese de sais, solvatos e polimorfos. Dentre as técnicas frequentemente utilizadas podem ser citadas a evaporação de solvente, cristalização em solução, adição de anti-solvente, método da suspensão (*slurry*), moagem mecanoquímica, moagem líquida assistida, além de outros métodos emergentes, como o método de síntese assistida por ultrassom, liofilização, atomização com fluido supercrítico e *spray drying*^[63, 64].

O método mais comum para a obtenção de dispersões sólidas de dois ou mais componentes, especificamente na forma de monocristais, é por meio da evaporação lenta de solvente (EVL). Neste método, o API e o coformador são dissolvidos, em razão estequiométrica específica, em um solvente que facilite a interação entre o API e o conformador. Após a solução estar preparada, a mesma é levada para evaporar, e lentamente os cristais vão sendo depositados no fundo do recipiente^[24]. A condição para aplicação da EVL é que o API e coformador estejam congruentemente solúveis no solvente. Após a solubilização, a formação dos cristais segue pelo menos três etapas principais, assim como qualquer processo de cristalização: supersaturação, nucleação e crescimentos dos cristais^[65]. Outra técnica, considerada convencional para a obtenção de dispersões sólidas, é o método da suspensão (ou *slurry*, do inglês pasta ou lama), em que uma pequena quantidade de solvente é adicionada na mistura de API e coformador e depois agitada até a formação da nova fase. Neste caso, o API e coformador não necessariamente devem estar congruentemente solúveis no meio. Dessa forma, o solvente funcionará apenas como um meio mediador da interação^[66, 67].

Quando se trata de técnicas relacionadas a moagem, é útil subdividir em duas principais, moagem a seco e moagem assistida à líquido (LAG, do inglês *Liquid Assisted Grinding*). A moagem a seco consiste em misturar o API e coformador e moê-los manualmente, usando almofariz e pistilo, moinho de bolas, ou moinho vibratório^[68]. Já para a LAG, é adicionado junto à mistura uma pequena quantidade de solvente, em seguida é realizada a moagem^[69]. Os métodos envolvendo a moagem são mais eficientes para formar novas dispersões sólidas comparadas a EVL, em relação ao tempo e quantidade de produto final obtido^[70]. Além disso, eles apresentam como vantagem indiscutível a redução drástica de solvente necessário para a síntese, tornando-se atrativo principalmente nesta era da “química verde”^[71]. Já com relação aos métodos envolvendo moagem, quando comparados os

métodos de moagem a seco e moagem líquido assistida (LAG), trabalhos relatam que o método de moagem a seco fazem com que os compostos não interajam com eficácia e a nova fase obtida é incompleta (contém resíduos de API ou coformador), sendo uma desvantagem comparada à LAG^[70].

3.3.1 Moagem Líquida Assistida (LAG)

Quando dispersões sólidas são sintetizadas por LAG, o fato de se adicionar uma pequena gota de solvente à mistura de API e coformador, resulta em uma cinética de formação significativamente mais elevada^[48]. Nesse processo, o solvente pode atuar como catalisador, como meio que facilita a difusão molecular ou também como um fator importante para inclusão dos componentes na estrutura multicomponente^[72]. Assim, a reação mediada pela fase líquida é facilitada, subsequentemente, e se torna parte da dispersão sólida, sendo gradualmente evaporada à medida que a reação é concluída^[73]. Haja vista seu grande benefício, ainda tem havido uma preocupação com a formação de solvatos durante o processo^[70], uma vez que apresentam diferentes características físico-químicas, menor estabilidade térmica e estrutural, e algumas vezes, solventes tóxicos.

Chiarella, Davey e Peterson (2007)^[74] sugeriram que o resultado obtido por LAG independe do solvente utilizado, quando realizaram a síntese de cocrystalis de nicotinamida e ácido cinâmico em meio aquoso e em meio orgânico (metanol). A partir dos resultados dos diagramas de fase, os autores explicaram a dificuldade em se obter cocrystalis apenas no meio líquido (utilizando apenas o método de EVL, por exemplo). De acordo com Chiarella e colaboradores (2007)^[74], a interação entre API e coformador em meio líquido em que estes componentes apresentam perfil de solubilidades muito diferentes (incongruente insolúveis), provavelmente ocorrerá a precipitação de um dos componentes junto com a nova fase desejada. Por outro lado, quando API e coformador possuir solubilidades similares (congruente solúveis) têm maiores possibilidades de produzir uma nova fase com maior pureza. A Figura 5 ilustra dois diagramas correspondentes a cada caso, em (a) os componentes teóricos A e B são congruente solúveis e em (b) incongruente solúveis.

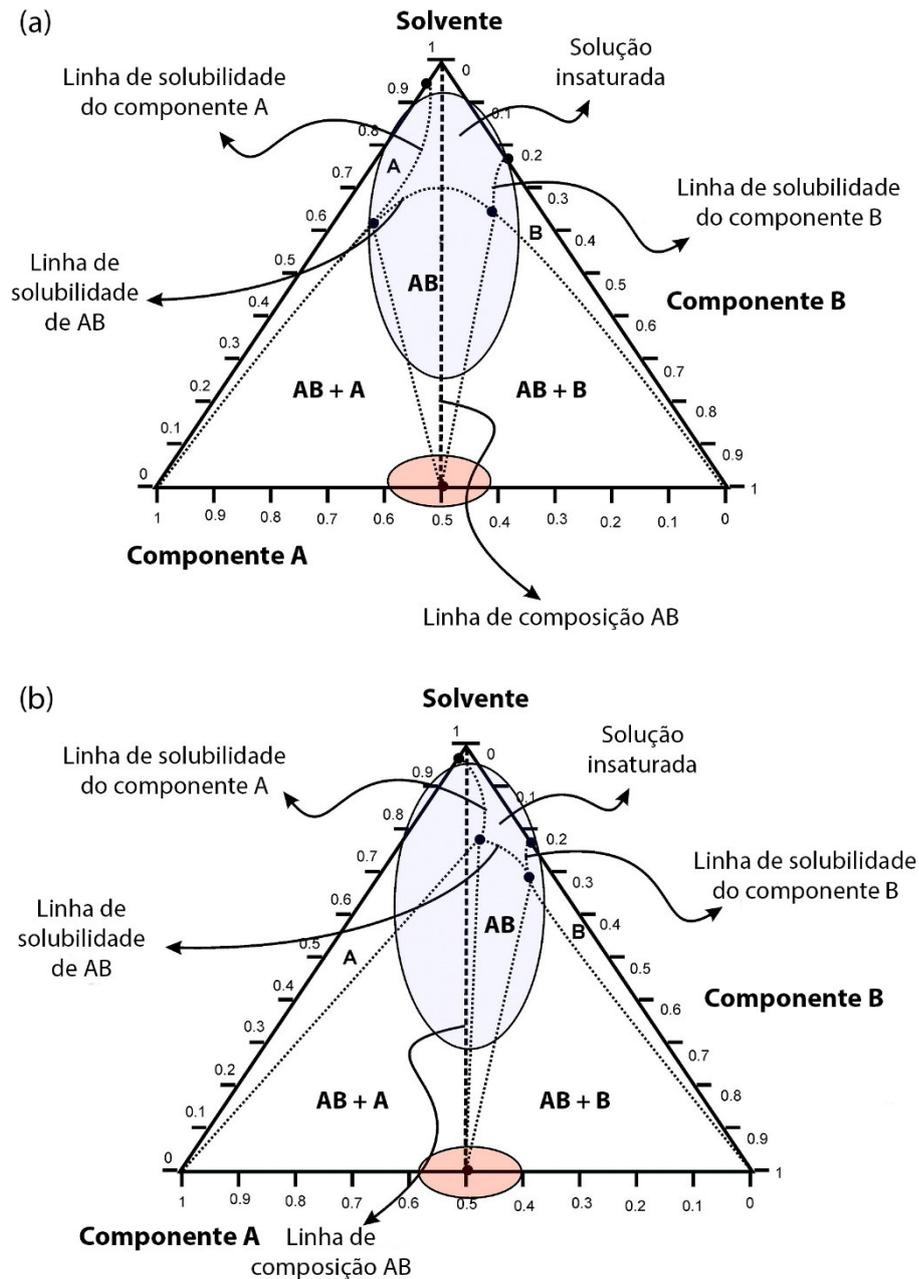


Figura 5: Diagrama de fases ternário dos compostos hipotéticos A e B a) congruente e b) incongruente solúveis em um solvente. As regiões de composição correspondentes aos experimentos em fase líquida e por moagem são destacadas em azul e róseo, respectivamente.

Fonte: Adaptado de Chiarella *et al.* (2007)^[74] por Frišćić e Jones (2009)^[72].

Em ambos os diagramas existem uma linha vertical pontilhada, que corresponde ao processo de evaporação do solvente na proporção ótima de formação da fase AB. Para o caso (a) em que as solubilidades são semelhantes, à medida que o solvente é reduzido, a linha pontilhada passa da região insaturada para uma região que AB é solúvel. Dessa forma, a aplicação de EVL, por exemplo, resultaria no sucesso de obtenção da fase AB. Já no caso em que os componentes A e B apresentam solubilidade muito diferente (Figura 5b), a linha

pontilhada passa primeiro na região correspondente a solubilidade de um dos componentes menos solúvel. Neste caso, a evaporação do solvente resultaria na precipitação de A, por exemplo^[72].

No entanto, quando aplicada a metodologia de LAG, a utilização de uma quantidade de solvente muito pequena, (região de coloração rósea, Figura 5 a e b) prevê-se que a fase AB será a termodinamicamente mais estável. Dessa forma, como é utilizado uma pequena fração de solvente em LAG, a solubilidade relativa de cada componente é de pouca importância para o resultado, portanto, a fase líquida pode ser considerada como um meio para aumentar a difusão molecular do API e coformador^[72].

3.4 Características gerais do API e Coformador

3.4.1 A Clofazimina (API)

A clofazimina (CFZ), comercializada pelo nome de Lamprene^[75], é conhecida quimicamente como N,5-Bis(4-clorofenil)-3,5-diidro-3-[(1-metiletil)imino]-2-fenazinamina^[6], (C₂₇H₂₂Cl₂N₄; CAS 2030-63-9) (Figura 6). A CFZ é um pó cristalino vermelho, de massa molar 473,40 g · mol⁻¹, ponto de fusão entre 217 °C a 219 °C^[6] e pKa entre 8,35 e 8,51^[75]. Ela é um antibiótico e anti-inflamatório^[76] pertencente à classe das riminofenazinas^[6].

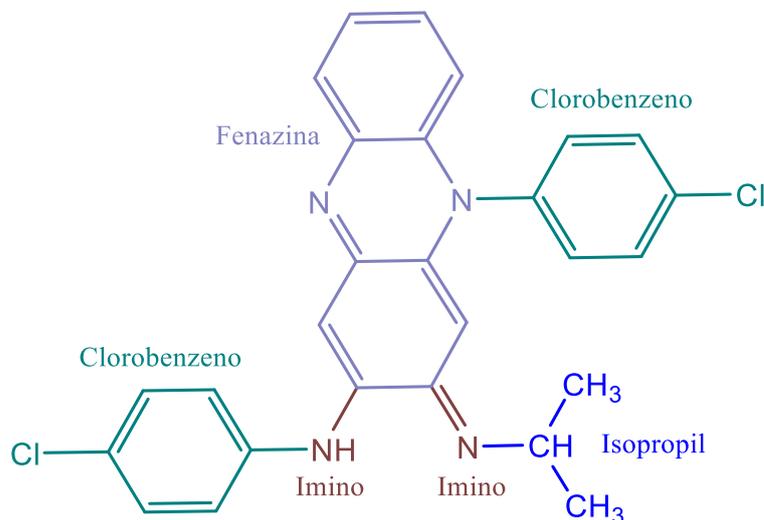


Figura 6: Estrutura química da CFZ, com destaque para os grupos funcionais existentes na molécula.

Fonte: Adaptado de Brasil (2010)^[6].

A CFZ é eficaz contra microbactérias de crescimento lento e rápido, bem como contra a maioria das bactérias Gram-positivas^[77]. Devido às suas propriedades antibacterianas, a CFZ é utilizada na terapia medicamentosa da hanseníase, sendo

administrada em uma combinação múltipla de fármacos por via oral. No caso, para esta terapia múltipla, CFZ e dapsona são administradas diariamente, em conjunto com doses mensais de rifampicina, ou outras variações dependendo da forma como a doença se manifesta^[78]. A hanseníase é uma doença infecciosa de processo destrutivo crônico, de evolução lenta, envolvendo nervos periféricos (especialmente as células de Schwann), pele e membranas mucosas, causada pelo microrganismo *Mycobacterium leprae*^[7]. As manifestações clínicas da hanseníase estão relacionadas à resposta imune celular do hospedeiro e à carga de bacilos, sendo classificadas como tuberculoide ou lepromatosa. A hanseníase tuberculoide é caracterizada por uma carga paucibacilar (poucos bacilos) e o desenvolvimento de uma vigorosa resposta celular. Por outro lado, a hanseníase lepromatosa apresenta lesões generalizadas, uma carga multibacilar (cerca de 10^{10} bacilos por grama de tecido) e nenhuma resposta imune celular específica^[7, 78].

A CFZ apresenta coeficiente de partição (log P) de 7,48, o que a caracteriza praticamente como hidrofóbica, acarretando uma absorção limitada do API em meio aquoso^[75]. A biodisponibilidade da CFZ está em torno de 40%, quando administrada via oral, no entanto, este valor é variável^[79]. Quando ingerida, a absorção de CFZ é duplicada junto a refeições ricas em gordura e reduzida em 30% por antiácidos^[11]. Entretanto, é um valor consideravelmente baixo, o que leva a um aumento nas doses administradas para atingir níveis farmacocinéticos adequados e garantir os efeitos terapêuticos. Ela apresenta baixa solubilidade aquosa e é solúvel em solventes orgânicos, como acetona, clorofórmio, éter etílico e pouco solúvel em etanol^[6]. Além disso, a hidrossolubilidade da CFZ varia significativamente com o pH do meio, apresentando maior solubilidade em meio ácido e menor em meio básico^[75]. A Tabela 3 exibe resultados de estudos de solubilidade da CFZ.

Tabela 3: Solubilidade da CFZ em meio aquoso e mistura de água e etanol.

Temperatura	mg L⁻¹	Meio	Referência
ne	<1,00	Aquoso	Bevan (2000) ^[80]
ne	10,00	Aquoso	Kasim (2004) ^[14]
ne	94,68	Aquoso	O'Reilly (1994) ^[81]
37 °C	183,75	Água e etanol (1:1,5)	Bolla e Ashwini (2012) ^[82]

ne: não especificada.

Devido à baixa solubilidade da CFZ, problemas gastrointestinais são encontrados em 40–50% dos pacientes medicados com ela, em consequência da sua bioacumulação no tecido adiposo do corpo, resultando em uma meia-vida em humanos de 70 dias, causando dor abdominal, diarreia, náuseas, vômitos e cardiotoxicidade^[79]. Além disso, em pacientes que faleceram após relatarem dor abdominal, demonstrou-se a deposição de cristais de CFZ na mucosa intestinal, fígado, baço e linfonodos abdominais. De fato, tem sido relatado que CFZ pode originar precipitação *in vivo*, formando complexos com membranas intracelulares, e precipitando como agregados cristalinos, que são fagocitados pelo sistema mononuclear fagocitário^[83, 84]. Não obstante, alteração da cor da pele, olho e secreção corporal ocorre na maioria dos pacientes, podendo levá-los a depressão^[11]. Estudos reportaram pelo menos quatro formas polimórficas da CFZ designadas como forma I^[85], II^[85], III^[86] e IV^[86], obtidas pela cristalização em diferentes condições experimentais, sendo que duas destas somente foram reportadas em 2016 (forma III e IV). A Tabela 4, apresenta informações cristalográficas sobre estes polimorfos.

Tabela 4: Dados cristalográficos, temperatura de resolução da estrutura cristalina e códigos CSD das formas polimórficas da CFZ.

	Polimorfo			
	I	II	III	IV
Configuração da célula	triclínico	monoclínico	ortorrômbico	monoclínico
Grupo espacial	$P\bar{1}$	$P21/a$	$Pbca$	$P21/c$
a (Å)	10,705	7,788	23,233	12,908
b (Å)	12,852	22,960	8,110	23,303
c (Å)	9,601	13,362	25,580	8,309
α (graus)	95,96	90,00	90,00	90,00
β (graus)	97,22	98,58	90,00	95,16
γ (graus)	69,73	90,00	90,00	90,00
Volume (Å³)	1204,01	2362,55	4820,01	2489,27
Z	2	4	8	4
Temperatura* (°C)	10 a 30	10 a 30	26	180
Código CSD	DAKXUI01 ^[85]	DAKXUI ^[85]	DAKXUI03 ^[87]	DAKXUI02 ^[87]

*Temperatura na qual a estrutura foi resolvida.

Diferentes polimorfos apresentam propriedades físico-químicas distintas causadas pelas diferentes energias de rede, vacâncias, ligações intermoleculares, etc. Estas características podem alterar o perfil de solubilidade do fármaco, no entanto, por não terem boa estabilidade, e geralmente não apresentarem melhorias significantes, não são recorridos como estratégia para melhoria de biodisponibilidade^[36].

A CFZ também foi preparada na forma amorfa por Nie (2016)^[87], no entanto, a fase não se mantém estável e tende a cristalizar novamente. Dentre as formas polimórficas da CFZ, a forma I que cristaliza com configuração de célula triclínica, é a forma termodinamicamente mais estável e comumente comercializada. A Figura 7 detalha o posicionamento das moléculas de CFZ dentro da célula unitária e o padrão teórico convencional de DRXP (para radiação CuK α) da CFZ.

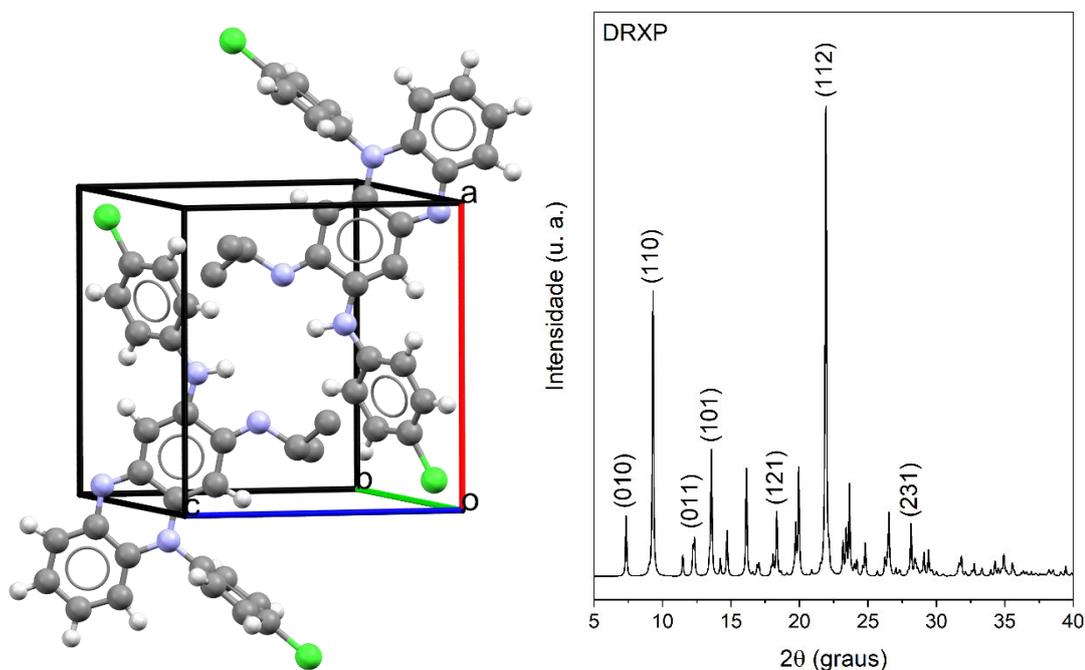


Figura 7: Célula unitária da CFZ na forma I (triclínica), e padrão de DRXP teórico.
Fonte: CSD, código de referência DAKXUI01^[85].

Estudos têm sido realizados para melhorar a solubilidade da CFZ como, por exemplo: a formação dispersões sólidas amorfa^[87] e cristalinas (sais)^[82, 88], complexação com ciclodextrinas^[79], polímeros^[89, 90] ou outras macromoléculas^[91, 92], uso de co-solventes ou surfactantes^[81], formulação de lipossomas^[93], encapsulamento^[94] e nanossuspensões^[95]. Entre estas abordagens, a obtenção de dispersões sólidas tem se mostrada promissora, e até o momento apenas três trabalhos reportaram sais e solvatos da CFZ (Tabela 5).

Tabela 5: Coformadores usados para obter de dispersões sólidas com CFZ, informações estruturais, síntons reportados e forma da dispersão.

Ano	Coformador/solvente	Configuração da célula	Grupo espacial	Síntons reportados/Região da CFZ envolvida	Forma
1984 ^[96]	Dimetilformamida	Triclínico	$P\bar{1}$	-	Solvato
2012 ^[82]	Ácido metanossulfônico	Monoclínico	P 21/n	$R_2^1(7)$ / Ambas as Iminas	Sal
2012 ^[82]	Ácido maleico	Monoclínico	P 21/n	$R_2^1(7)$ / Ambas as Iminas	Sal
2012 ^[82]	Ácido isonicotínico	Triclínico	$P\bar{1}$	$R_2^1(7)$ / Ambas as Iminas	Sal
2012 ^[82]	Ácido nicotínico	Triclínico	$P\bar{1}$	$R_2^1(7)$ / Ambas as Iminas	Sal
2012 ^[82]	Ácido salicílico	Triclínico	$P\bar{1}$	$R_2^1(7)$ / Ambas as Iminas	Sal
2012 ^[82]	Ácido malônico	Triclínico	$P\bar{1}$	$R_2^2(9)$ / Ambas as Iminas	Sal
2012 ^[82]	Acetona	Triclínico	$P\bar{1}$	D / Imina ligada ao clorobenzeno	Solvato
2017 ^[88]	Ácido clorídrico	Nd	Nd	Nd	Solvato
2017 ^[88]	Ácido sulfúrico	Monoclínico	$C2/c$	Nd	Solvato
2017 ^[88]	Ácido nítrico	Nd	Nd	Nd	Solvato
2017 ^[88]	Ácido oxálico	Nd	Nd	Nd	Sal
2017 ^[88]	Ácido fosfórico	Triclínico	$P\bar{1}$	Nd	Solvato
2017 ^[88]	Ácido cítrico	Triclínico	$P\bar{1}$	Nd	Sal
2017 ^[88]	Ácido fórmico	Nd	Nd	Nd	Sal

Nd: não determinado.

Entretanto, até o momento, nenhum trabalho foi reportado demonstrando a formação de cocristais de CFZ que apresenta forte tendência à protonação nas regiões que contêm grupamentos imina. Segundo Keswani *et al.* (2016)^[97], ela pode ser encontrada em estado monoprotonado ou diprotonada, de acordo com o pH do meio (Figura 8). Por apresentar um valor pKa relativamente alto, apresenta tendência a interagir recebendo prótons quando interage com coformadores ácidos, resultando na formação de dispersões sólidas do tipo sal. As estruturas destes sais foram resolvidas e comprovaram que estas dispersões apresentam cargas e o mecanismo de interação geralmente envolve o sinton $R_2^1(7)$ (monoprotonação) (Tabela 5).

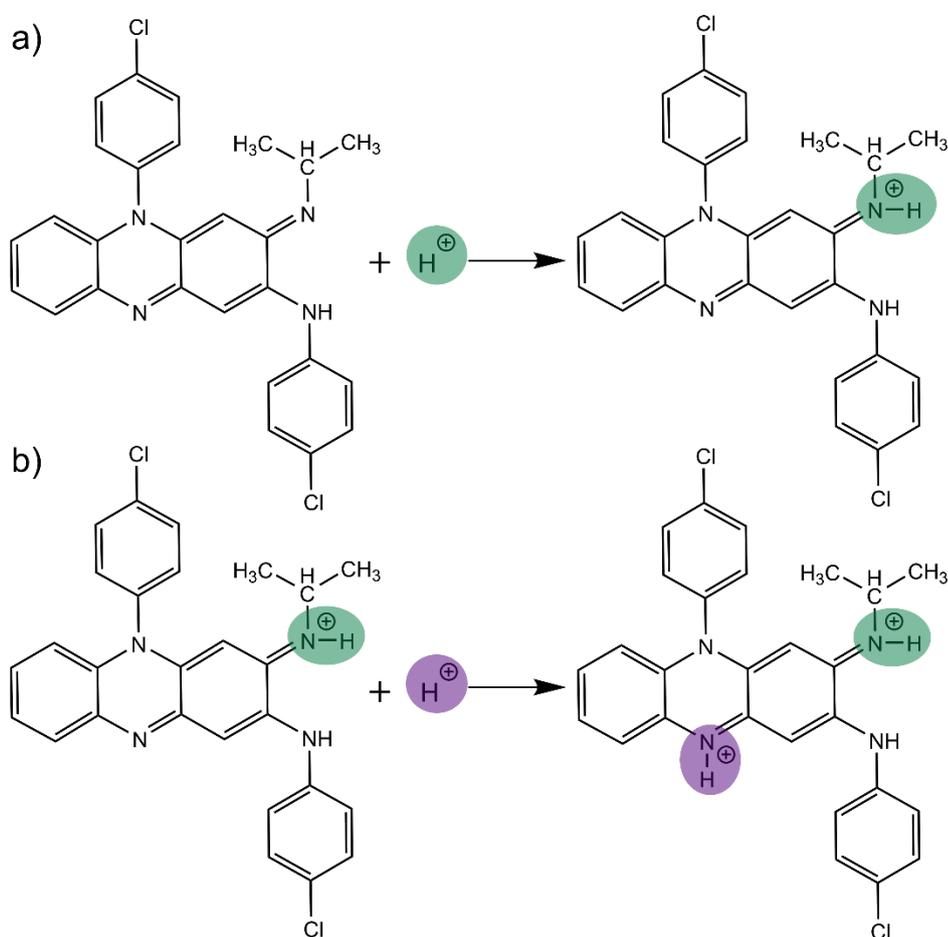


Figura 8: Mecanismo de protonação da CFZ. a) monoprotonada b) diprotonada.

Fonte: Adaptado de Keswani *et al.* (2016)^[97].

3.4.2 O ácido para-aminobenzóico (Coformador)

Os coformadores são utilizados para obtenção de dispersões sólidas para atuarem diminuindo a barreira de solvatação de APIs hidrofóbicos, por ligação de hidrogênio estáveis que se formam. Além disso, a inclusão de um coformador em complexos supramoleculares tende a diminuir a energia da rede e aumentam a afinidade do solvente com a nova dispersão sólida^[17].

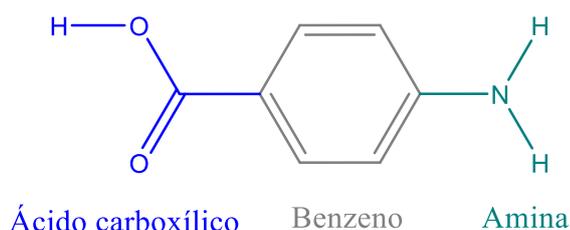


Figura 9: Estrutura química do PABA, com destaque para os grupos funcionais existentes na molécula.

Fonte: Adaptado de Brasil (2010)^[6].

O PABA, ou ácido para-aminobenzóico^[6] tem sido um dos coformadores mais utilizados para a obtenção de cocrystal devido à sua facilidade de interagir por ligações de hidrogênio com o API. Sua aplicação na indústria farmacêutica tem sido concentrada na produção de filtros solares (embora recentemente tenha sido substituído por outros compostos) e na preparação de anestésicos e pomadas^[98]. O PABA é classificado pelo GRAS^[27] como um composto do Tipo 1, ou seja, quando consumido não há perigos imediatos ou futuros, sendo considerado seguro para consumo humano^[99].

Sua estrutura química (C₇H₇NO₂; CAS 150-13-0) (Figura 9) consiste em um anel benzênico ligado a uma carboxila (uma região receptora de hidrogênio e uma doadora) e uma amina (uma região receptora de hidrogênio e duas doadoras), com massa molar de 137,14 g mol⁻¹. Visualmente apresenta-se como pó cristalino ou agulhas, brancas ou branco-amareladas que escurecem quando exposto ao ar e à luz^[6]. Apresenta ponto de fusão entre 186 e 189,5 °C^[6], com pKa em torno de 4,86^[100]. As formas polimórficas comuns do PABA são conhecidas como α e β ^[101], sendo a forma α costumeiramente encontrada e termodinamicamente mais estável. Na Figura 10, encontra-se ilustrada a célula unitária e o difratograma teórico da forma polimórfica α , no qual os parâmetros cristalográficos são: a = 18,55 Å; b = 3,86 Å; c = 18,64 Å e; β = 93,56° (monoclínica).

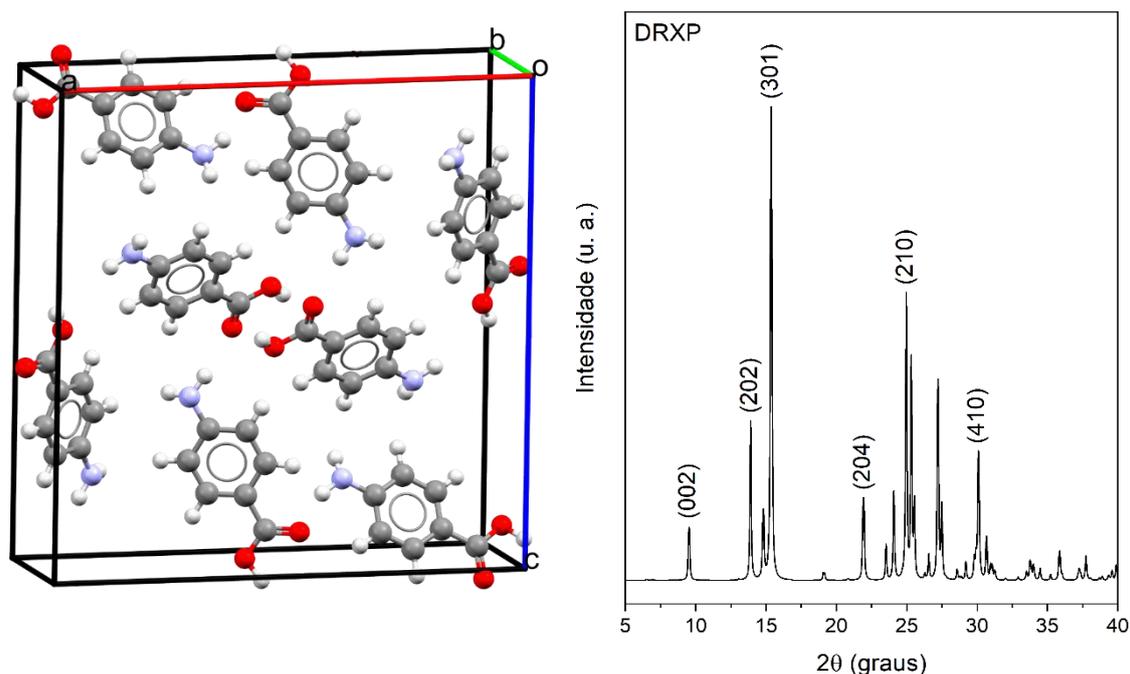


Figura 10: Célula unitária do PABA na forma α (monoclínica), e padrão de DRXP teórico. Fonte: CSD código de referência AMBNAC01^[101].

Os trabalhos envolvendo a síntese de dispersões sólidas de API's com PABA, demonstraram ocorrer proporções molares de 3:1, 2:1, 1:1 e 1:2, de API e PABA respectivamente (Tabela 6). Estas diferentes razões molares indicam uma grande possibilidade de formas que o PABA pode se combinar com API's. Não existe uma relação clara entre os tipos de sintons que se formam e a proporção molar de interação, uma vez que as ligações podem ocorrer de diferentes formas de acordo com a molécula a qual está interagindo. No entanto, ainda assim, pode-se estimar que a região carboxílica tem propensão a formar sintons do tipo R, pela possibilidade de combinações da carboxila, e a amina, geralmente do tipo D (Tabela 6).

Embora grande parte das publicações de dispersões sólidas com PABA tenham sido obtidas utilizando a metodologia de EVL, a LAG também tem sido utilizada em conjunto para garantir a interação. A explicação para ocorrência de tantas sínteses envolvendo a EVL nos trabalhos relatados na Tabela 6, se deve a busca pela resolução da estrutura cristalina do novo material. Tendo em vista que a informação cristalográfica é muito importante, e é mais fácil de ser obtida através de monocristais, a técnica de EVL acaba sendo a mais desejada, tendo em vista que garante a formação destes monocristais, embora não seja eficiente em relação à produtividade.

Tabela 6: API's usados para obter dispersões sólidas com PABA, estequiometria, síntons reportados e técnica de síntese.

Ano	API	Razão molar (API:Coformador)	Síntons reportados/Região do PABA envolvido		Técnica de síntese
			Região Carbolina	Região Amina	
2010 ^[102]	Alprazolam	1:1	$C(8)$	D	LAG e EVL
2005 ^[103]	Carbamazepina	2:1	$R_2^2(8)R_4^2(8)$	D	EVL
2016 ^[104]	Cloreto de tróspio	1:1	$D_2^2(7)$	$C_2^1(4)$	EVL
2012 ^[105]	Etenzamida	2:1	$D_2^2(7)$	$D_2^2(5)$	EVL
2012 ^[106]	Fenazona	1:1	$C_2^2(16)$	$D_2^2(5)$	Moagem mecanoquímica
2014 ^[107]	Furosemida	1:1	$R_2^2(8)$	D	EVL
2014 ^[108]	Hidroclorotiazida	1:2	$R_2^2(8)$	D	LAG e EVL
2016 ^[109]	Nitazoxanida	1:1	$R_2^2(8)$	$C_2^2(11)$	EVL
2011 ^[110]	Nitrofurantóina	1:1	$R_2^2(8)$	$D_2^2(5)$	EVL
2014 ^[111]	Ornidazol	1:1	$D_2^2(7)$	$R_1^2(4)$	EVL
2014 ^[112]	Paliperidona	1:1	D	D	LAMA
2015 ^[113]	Sulfametizol	1:1	$R_2^2(8)$	$D_2^2(5)$	LAG e EVL
2012 ^[114]	Temozolomida	3:1	$R_3^3(10)$	D	EVL
2015 ^[115]	Teofilina	1:1	$R_2^2(9)$	-	LAG e moagem mecanoquímica
2014 ^[116]	Voriconazol	1:1	D	D	LAG e EVL

3.5 Técnicas de caracterização

As técnicas para caracterização de dispersões sólidas se concentram em técnicas consagradas como DRXP e DRX em monocristal, análise térmica com TG, DTA e DSC (principalmente DSC), FTIR, espectroscopia Raman, Microscopia, além de outras utilizadas para casos específicos como a Espectroscopia de Ressonância Magnética nuclear RMN (especialmente útil para discernir o estado de ionização), espectroscopia de absorção molecular na região do visível (especialmente para compostos que apresentam coloração)^[23]. Algumas destas técnicas serão aplicadas para o entendimento do material estudado neste trabalho, e serão descritas com mais detalhes a seguir.

3.5.1 Técnicas espectroscópicas

3.5.1.1 Difração de Raios X em pó (DRXP)

A Difração de Raios X se mostra como uma das técnicas mais eficazes para identificação da formação de novas fases em dispersões sólidas, uma vez que estes materiais se rearranjam produzindo novas características cristalográficas^[48]. Além disso, pode ser utilizada em conjunto com análise térmica para definir a melhor razão estequiométrica de reação, na identificação de polimorfos, e resolução de estrutura cristalina^[117]. A Figura 11 resume as principais informações que podem ser extraídas de um espectro de DRXP.

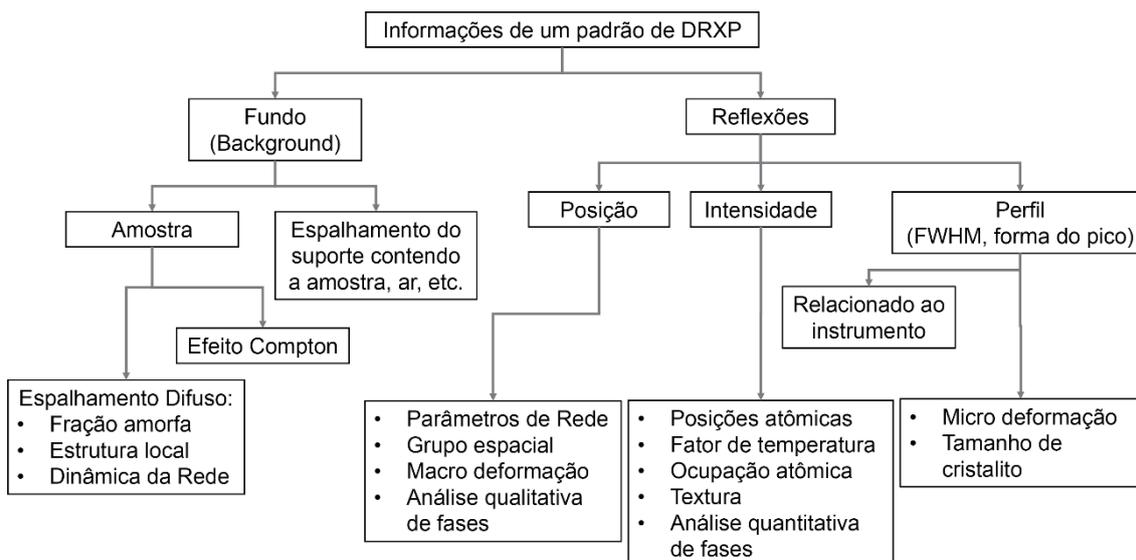


Figura 11: Informações gerais contidas em um espectro de DRXP.

Fonte: Adaptado de Dinnebier e Billinge (2008)^[118].

Os raios X são ondas eletromagnéticas de comprimento localizado entre a região do ultravioleta e os raios γ (0,1 a 100 Å)^[118]. Quando uma onda de raios X interage com um objeto ela é espalhada, e se não ocorrer perda de energia, a onda resultante terá a mesma frequência que a onda incidente, ou seja, um espalhamento elástico^[119]. Quando dois ou mais feixes de raios X são incididos em um objeto, eles produzem ondas com o mesmo comprimento de onda que interferem entre si, (devido ao efeito da diferença de caminho dos feixes) adicionando suas amplitudes. Se as duas ondas espalhadas com vetores de propagação paralelos estiverem completamente em fase, a onda resultante terá sua amplitude duplicada (Figura 12a), enquanto as ondas que estão completamente fora de fase são anuladas (Figura 12b)^[119].

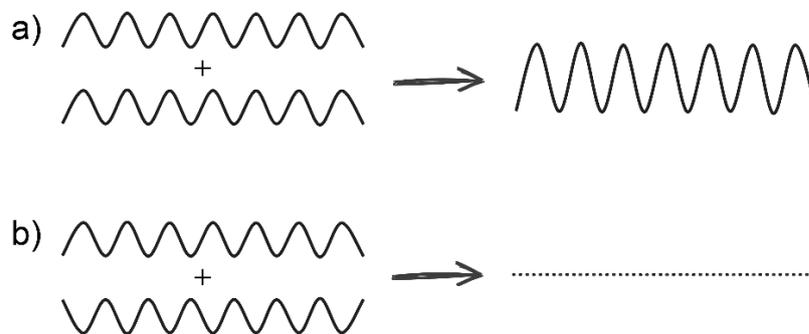


Figura 12: Limites de interação entre duas ondas com vetores de propagação paralelos. Em a) interferência construtiva e b) interferência destrutiva.

Fonte: Adaptado de Pecharsky (2008)^[119].

O primeiro caso visto na (Figura 12a) é chamado de interferência construtiva, e o segundo caso (Figura 12b) interferência destrutiva. Dessa forma, um feixe difratado pode ser definido como um feixe composto por um grande número de raios espalhados que se reforçam mutuamente, e este fenômeno é um dos pilares da teoria da DRX^[120]. Bragg e Bragg (1913)^[121] apresentaram uma explicação simples para feixes difratados por um cristal.

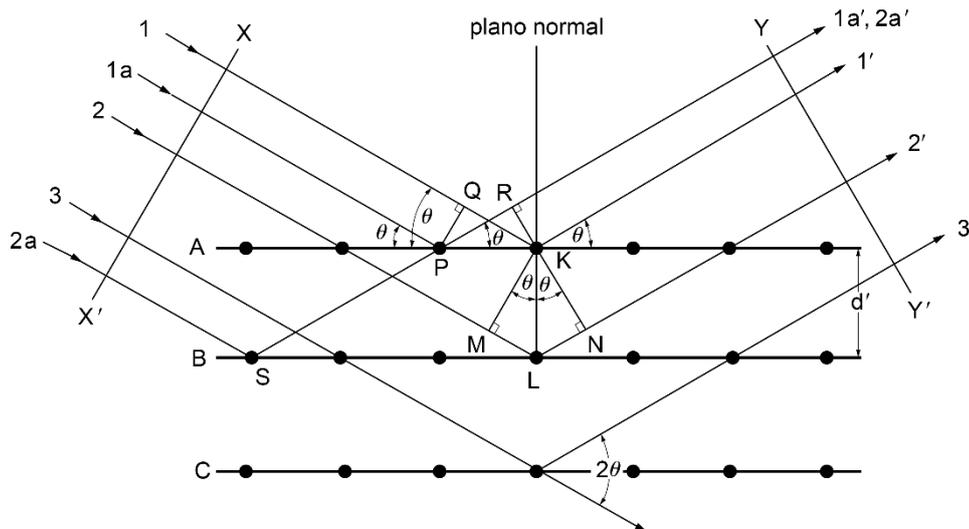


Figura 13: Representação de raios X difratados por planos paralelos de átomos em um cristal. Fonte: Cullity (2001)^[120].

Considerando a Figura 13, em que um feixe de raios X é incidido em um cristal, com ângulo de saída em relação aos planos de difração igual ao ângulo de incidência, para os raios 1 e 1a espalhados pelos átomos P e K do plano A, a diferença de caminho entre os planos XX' e YY' é dada por $QK - PR = PK \cdot \cos \theta - PK \cdot \cos \theta = 0$. Esta mesma observação pode ser feita para os raios 2 e 2a, com resultados similares. Já os raios 1 e 2, por exemplo, são espalhados pelos átomos K e L, e a diferença de caminho para os raios 1K e 2L é tida como:

$$ML + LN = d' \operatorname{sen} \theta + d' \operatorname{sen} \theta, \quad \text{Eq. 3}$$

sendo que esta também é a diferença de caminho para os raios espalhados por S e P^[120]. Dessa forma, os raios X espalhados estarão completamente em fase quando diferença de caminho é igual a um número inteiro n de comprimentos de onda, ou seja:

$$n\lambda = 2d' \operatorname{sen} \theta. \quad \text{Eq. 4}$$

A Eq. 4 é conhecida como lei de Bragg^[121]. A Difração de Raios X é observada somente quando o comprimento de onda é da mesma ordem de grandeza que a distância repetitiva entre planos atômicos. Assim, para os cristais, o comprimento de onda deve estar na mesma faixa que as distâncias interatômicas mais curtas, algo entre $\sim 0,5$ a $\sim 2,5 \text{ \AA}$ ($1 \text{ \AA} = 1 \cdot 10^{-10} \text{ m}$). Esta condição é satisfeita quando se usa radiação eletromagnética, dentro da faixa mencionada de comprimentos de onda, os Raios X. É importante ressaltar que os raios X são espalhados pelos elétrons, dessa forma, os centros de espalhamento ativos não são os núcleos, mas os elétrons, ou mais precisamente a densidade eletrônica, distribuída periodicamente na rede cristalina^[119].

3.5.1.2 Resolução de estrutura por DRXP

A estrutura cristalina de um novo produto cristalino é, sem dúvida, a informação mais importante para avaliação do novo material. Diferentes passos podem ser tomados para se obter esta informação, a depender dos dados que podem ser coletados. Uma das formas mais eficazes para resolução da estrutura cristalina é por meio da difração em monocristal. Infelizmente, o tamanho de partícula obtido numa interação através de moagem proíbe a caracterização estrutural por este caminho. Em alguns casos, o produto obtido via moagem também pode ser obtido por EVL, facilitando a análise^[122]. Nos casos em que o crescimento de monocristais falha, os avanços recentes nos tratamentos de dados de DRXP permitem uma abordagem da solução de estrutura cristalina^[123]. Os passos a serem seguidos para a resolução de uma estrutura a partir da DRXP são descritos na Figura 14.

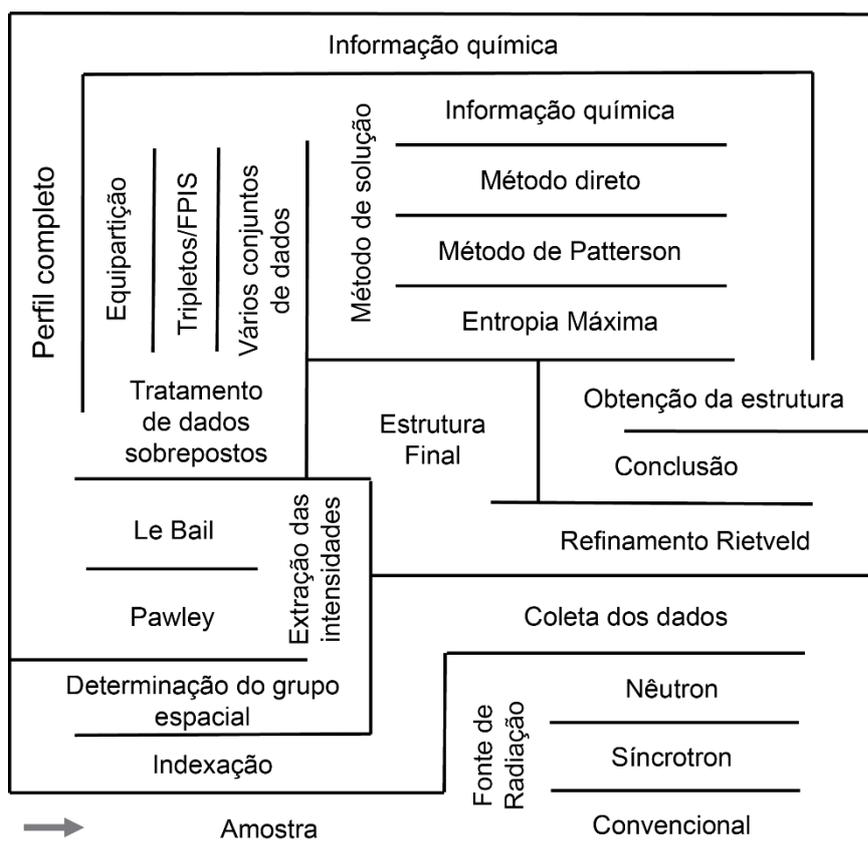


Figura 14: Fluxograma representando o processo para resolução de uma estrutura cristalina. *FIPS, *software* para tratamento de reflexões sobrepostas. Fonte: Adaptado de Shankland (2006)^[124].

A escolha da fonte de radiação é um passo importante para obtenção de um dado de qualidade, e facilitar a resolução. De forma geral, a radiação síncrotron e de nêutrons são oferece dados de excelente qualidade comparada a radiação convencional, no entanto,

recentes avanços em equipamentos de radiação convencional para obtenção de dados em alta resolução têm se mostrado vantajoso^[119].

Após a coleta de dados, o passo seguinte é a indexação do padrão de difração. A indexação é o processo pelo qual os índices de reflexão (hkl) são atribuídos aos picos nos dados de difração. Tão logo um número suficiente de índices de reflexão tenha sido atribuído a picos específicos, o grupo espacial e os parâmetros de rede da célula unitária (a , b , c , α , β , γ) podem ser determinados. No processo de indexação, as informações dos padrões de difração são convertidas do espaço unidimensional para o tridimensional, por *softwares* que realizam cálculos com base nas posições dos picos observados. Exemplos de *softwares* que tem sido utilizados para indexação são: ITO^[125], McMaille^[126], DICVOL^[127] e N-TREOR^[128]. Cada *software* citado apresenta características distintas em seus algoritmos, que podem se mostrar eficaz a depender do dado analisado.

Após a indexação da estrutura, se faz necessário a extração das intensidades integradas e dos fatores de estrutura das reflexões e para isto, são aplicados algoritmos de decomposição (ou deconvolução) das reflexões. Os métodos de decomposição, aos quais são baseados esses algoritmos, foram sugeridos por Pawley (1981)^[129] e Le Bail e colaboradores (1988)^[130], este último utilizado neste trabalho. Para finalização da estrutura, se faz necessário a determinação das coordenadas atômicas na célula unitária, e esta tarefa pode ser realizada por métodos que se baseiam em informações químicas prévias, como o método de otimização de estrutura *Simulated Annealing*. Por fim, o refinamento de estruturas pelo método de Rietveld conclui o procedimento.

3.5.1.2.1 Refinamento de estruturas pelo método de Le Bail

As origens do método de Le Bail podem ser encontradas no trabalho de Rietveld (1969)^[131]. Rietveld propôs uma abordagem de soma simples para a avaliação da magnitude do fator de estrutura, observada para reflexões parcialmente e de fato completamente sobrepostas. Após a publicação deste trabalho, Le Bail e colaboradores (1988)^[130] observou que a abordagem de Rietveld para a obtenção de estimativas de grandezas de fator de estrutura poderia ser estendida à situação em que não há um modelo estrutural definido. Se a estrutura é desconhecida e, como resultado, nenhum fator de estrutura calculado pode ser gerado, então o mais simples de presumir é que todas as intensidades integradas são inicialmente iguais.

Dessa forma, para a execução do ajuste, enquanto o método de Rietveld utiliza as intensidades calculadas a partir do modelo da estrutura cristalina, o método de Le Bail usa as intensidades observadas no padrão de difração medido. Assim, forma simples, o método de Le Bail consiste em ajustar o padrão de difração calculado ao padrão observado sem o uso de um modelo estrutural^[124]. O método de Le Bail geralmente é incorporado nos códigos padrões Rietveld, uma vez que é uma adaptação iterativa do método original de Rietveld para estimar as magnitudes dos fatores estruturais observados. A maioria dos códigos Rietveld principais inclui esta pequena modificação, que assegurou a ampla utilização do método Le Bail. Os principais programas disponíveis para aplicação do método são: EXPO^[132], FullProf^[133] e GSAS^[134, 135].

3.5.1.2.2 Método de otimização de estrutura *Simulated Annealing*

A obtenção de mapas de densidade atômica de alta qualidade para estruturas usando DRXP pode exigir certo esforço. Devido à sobreposição de reflexões, a localização direta de posições atômicas a partir de mapas de densidade é uma tarefa mais difícil para os dados obtidos em pó do que métodos diretos em monocristais (ou pelo método de Patterson). Com os métodos de otimização, esse processo é contornado tendo em vista que o objetivo não é identificar a densidade atômica, mas sim adequar a densidade atômica as posições atômicas em uma estrutura^[124].

O *Simulated Annealing* (SA) é um método Monte Carlo^[136] que tem sido atualmente mais aplicado para a resolução de estruturas a partir de dados de DRXP. As simulações que utilizam o método de Monte Carlo são baseadas em estatísticas de amostragens massivas e aleatórias para chegar a resultados próximos dos reais. Ou seja, estes métodos permitem que sejam realizados testes em número suficientemente grande para se ter com maior precisão a possibilidade de o melhor resultado ocorrer. Dessa forma, o método *Simulated Annealing* consiste na realização testes consecutivos das posições atômicas com base nas informações químicas das estruturas previamente carregadas^[124]. Exemplos de *softwares* que podem ser utilizados para aplicação deste método são EXPO^[132], EXPOIR^[137] e Dash^[138].

3.5.1.2.3 Refinamento de estruturas pelo método de Rietveld

A técnica de refinamento de estruturas cristalinas comumente empregada hoje, baseia-se na ideia sugerida em meados da década de 1960 por Rietveld^[131]. O método foi

aplicado inicialmente para a difração de nêutrons^[139], e posteriormente adaptado para a difração de raios X^[131, 140]. Nesse método, os parâmetros de uma estrutura cristalina já conhecida são ajustados para reproduzir os resultados obtidos experimentalmente. No processo são fornecidas informações estruturais como, por exemplo, coordenadas atômicas, parâmetros de rede, parâmetros térmicos, estequiometria da amostra analisada entre outras. Estes parâmetros são refinados através do procedimento de minimização da soma de quadrados (método de mínimos quadrados) até obter a melhor concordância possível do padrão de difração calculado com o obtido experimentalmente. A quantidade minimizada no refinamento é dada pela somatória das diferenças de intensidade sobre todos os pontos medidos, escrita como:

$$S = \sum_{i=0}^{n-1} w_i (Y_i^{obs} - Y_i^{calc})^2. \quad \text{Eq. 5}$$

O método de Rietveld ajustará os parâmetros refináveis de forma a minimizar o valor de S, e para isso, é necessário estabelecer fatores que serão utilizados para estimar a concordância entre os resultados experimentais e o modelo assumido. Os seguintes fatores são costumeiramente usados para caracterizar tanto a decomposição completa do padrão quanto a qualidade do refinamento Rietveld:

Perfil residual, R_p :

$$R_p = \frac{\sum_{i=1}^n |Y_i^{obs} - Y_i^{calc}|}{\sum_{i=1}^n Y_i^{obs}}; \quad \text{Eq. 6}$$

Perfil ponderado residual, R_{wp} :

$$R_{wp} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n w_i (Y_i^{obs} - Y_i^{calc})^2}{\sum_{i=1}^n w_i (Y_i^{obs})^2}}, w_i = \frac{1}{Y_i^{obs}}; \quad \text{Eq. 7}$$

Perfil esperado residual, R_{exp} :

$$R_{exp} = \sqrt{\frac{n-p}{\sum_{i=1}^n w_i (Y_i^{obs})^2}}; \quad \text{Eq. 8}$$

Goodness-of-fit, χ^2 (as vezes chamado de qui-quadrado):

$$GOF = \chi = \frac{R_{wp}}{R_{exp}} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n w_i (Y_i^{obs} - Y_i^{calc})^2}{n - p}}, \quad \text{Eq. 9}$$

em que n é o número total de pontos medidos no padrão de difração; Y_i^{obs} é a intensidade observada no i -ésimo ponto; Y_i^{calc} é a intensidade calculada do i -ésimo ponto e; p o número de parâmetros ajustados. O fator R_{wp} é estatisticamente mais significativo dessas quantidades e reflete melhor o progresso do refinamento, pois, nele é usada a técnica de minimização da soma de quadrados. O *goodness-of-fit* (GOF) deve ser equivalente a 1,0 em um refinamento perfeito, no entanto, na prática, valores inferior a cinco refletem um refinamento otimizado^[119].

3.5.1.3 Espectroscopia UV-VIS por Reflectância Difusa (ERD)

A espectroscopia de absorção molecular é uma técnica consagrada para medir propriedades espectrais em amostras transparentes na região do espectro eletromagnético ultravioleta e visível (UV-VIS), e acompanhar o curso das reações para as quais mudanças de cor foram detectadas^[141]. Por meio desta metodologia, é possível medir a absorção de substâncias dissolvidas em um solvente por meio da transmissão de luz monocromática através da amostra. No entanto, esta abordagem é dificilmente pode ser aplicada para obtenção de espectros de uma superfície sólida ou de substâncias incorporadas/adsorvidas em superfícies sólidas. No caso de substâncias sólidas, a solução que pode ser adotada é a aplicação da espectroscopia de refletância difusa^[142].

Para utilizar a reflectância como técnica analítica, se faz necessário entender dois tipos de reflexão da radiação sobre superfícies: a reflexão especular (ou tipo espelho) e a difusa. A reflexão especular ou tipo espelho ocorre em superfícies lisas ou polidas e pode ser definida pela lei de reflexão de Fresnel. Neste processo, os ângulos de incidência e de reflexão são idênticos e não há transmissão da radiação através da superfície. Ao contrário da reflexão especular, a reflexão difusa acontece em superfícies foscas ou opacas e ocorre por reflexões múltiplas a partir das superfícies das partículas que constituem o meio. A reflexão difusa compreende um processo complexo que ocorre quando a radiação penetra em um substrato sólido. Parte desta radiação retorna à superfície do substrato, ocorrendo também dispersão

múltipla e absorção parcial da radiação pelas partículas que constituem o substrato sólido^[142]. Por definição, a reflectância ou poder de reflexão (R) é dada por:

$$R = \frac{I}{I_0}, \quad \text{Eq. 10}$$

em que R é a fração refletida; I_0 a intensidade da radiação incidente e; I a intensidade da radiação refletida. Os valores de R geralmente são expressos em reflectância percentual, e considera-se R igual a 1 (ou 100%) quando o sinal de reflectância é igual ao da radiação incidente, condição que pode ser conseguida utilizando um padrão de reflectância máxima, comumente pastilhas de BaSO₄ ou MgO^[142].

Diversos modelos foram desenvolvidos para descrever, em termos quantitativos, a intensidade da radiação refletida difusamente^[143]. A teoria de Kubelka-Munk^[144, 145] é o modelo mais aceito que relaciona concentração da amostra e reflectância. Sua importância para a espectroscopia de reflectância difusa é comparável à lei de Lambert Beer utilizada para espectroscopia de transmissão convencional^[142]. Esta teoria descreve a relação entre coeficiente de absorção molar, coeficiente de dispersão e poder de reflectância em um meio semi-infinito (infinitamente fino) de acordo com a Eq. 11^[146]:

$$f(R) = \frac{(1-R)^2}{2R} = \frac{k}{s}, \quad \text{Eq. 11}$$

em que k , é o coeficiente de absorção molar e; s o coeficiente de dispersão. Para a aplicação adequada da equação de Kubelka-Munk é necessária a determinação da reflectância absoluta do material usado como referência^[146]. Vale mencionar que a relação linear entre a intensidade Kubelka-Munk (designada por $f(R)$, ou M-K) e concentração do analíto somente é observada, na prática, para substâncias que absorvem fracamente e quando o tamanho das partículas que constituem o meio é relativamente pequeno (1 μm de diâmetro interno)^[142, 146].

Diversos gráficos têm sido descritos para análises quantitativas, e para suas representações são utilizadas transformações matemáticas da variável dependente (sinal) e/ou independente (concentração, C), como por exemplo: Log (R) em função de C^2-R ; R em função de $[C/(1-C)^2]$; Log R em função de $1/C$ e; R em função de Log C ^[147]. Em análises por espectroscopia de reflectância difusa, o sinal de reflectância pode ser representado em diferentes formas, por exemplo: absorbância (A), reflectância (%) e Kubelka-Munk, e convertido a partir de relações específicas, como a Eq. 11 e a Eq. 12.

$$A = \text{Log} \left(\frac{1}{R} \right). \quad \text{Eq. 12}$$

3.5.1.4 Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

A radiação infravermelha (IR) corresponde aproximadamente à parte do espectro eletromagnético situado entre as regiões do visível e das micro-ondas (700 a 50.000 nm)^[148]. A IR é dividida em três regiões: IR próximo (NIR, do inglês *Near IR*), IR médio (MIR, do inglês *Mid IR*) e IR distante (FIR, do inglês *Far IR*), sendo que a região intermediária MIR que varia de 4000 a 200 cm⁻¹ (2500 a 5000 nm) é a mais utilizada para estudos de compostos orgânicos^[148, 149]. Essa radiação quando absorvida por uma molécula orgânica promoverá a excitação de vibrações moleculares, e certos grupos de átomos dão origem a bandas em frequências específicas, e é justamente a presença destas bandas características que permite a obtenção de informações estruturais úteis^[148].

Uma molécula poliatômica genérica contendo n átomos apresenta $3n-6$ graus de liberdade vibracionais, no entanto, nem todos os modos normais de vibração iram dar origem às transições vibracionais no espectro no IR. Este fato ocorre devido à existência de uma regra de seleção específica que impõe como condição para a atividade de qualquer modo vibracional no espectro de IR, que o mesmo cause variação do momento de dipolo elétrico da molécula, de acordo com a Eq. 13^[150]:

$$\left(\frac{\partial \mu}{\partial Q_i} \right)_0 \neq 0, \quad \text{Eq. 13}$$

em que μ é o momento dipolo e Q_i é a coordenada normal associada ao i -ésimo modo normal da molécula.

Dessa forma, somente as vibrações que levam a alteração rítmica do momento dipolo da molécula são observadas no IR e há a possibilidade do seu acoplamento com o campo elétrico da radiação eletromagnética. Esta característica justifica porque grupamentos moleculares tais como OH, C=O, C=N entre outros, comumente dão origem a bandas intensas de absorção no espectro IR, pois, esses grupos apresentam ligações covalentes bastante polarizadas. Estas ligações polarizadas, durante a transição vibracional (envolvendo estiramento ou deformação de ligações), são as responsáveis por dar origem a valores apreciáveis de $\partial \mu / \partial Q_i$, cujo quadrado é diretamente proporcional à intensidade da correspondente banda de absorção IR^[151].

As vibrações moleculares podem ser classificadas em deformações axiais e deformações angulares (Figura 15). Uma vibração de deformação axial é um movimento rítmico ao longo do eixo de ligação que faz com que as distâncias interatômicas aumentem e

diminuem alternadamente. As deformações angulares, correspondem a vibrações ritmadas de ligações que tem um átomo em comum ou o movimento de um grupo de átomos em relação ao resto da molécula sem que as posições relativas dos átomos do grupo se alterem. Assim, por exemplo, as vibrações de deformação angular envolvem alteração dos ângulos de ligação em relação a um conjunto arbitrário de coordenadas da molécula^[148].

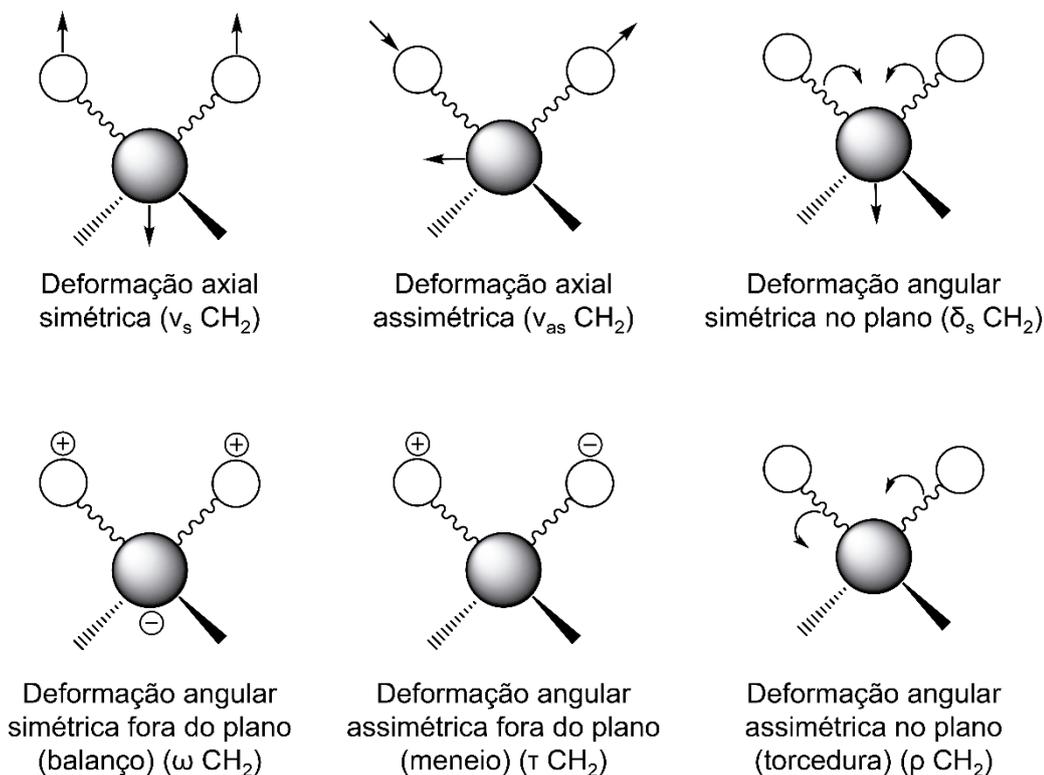


Figura 15: Modos vibracionais comuns de um grupo CH₂ (os sinais + e - indicam o movimento perpendicular ao plano da página).
 Fonte: Adaptado de Silverstain (1994)^[148].

Os equipamentos utilizados para obtenção de espectros de IR não mais os obtêm no domínio da frequência, mas sim no domínio do tempo, utilizando como artifício a função matemática de transformada de Fourier, passando a ser chamada de Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR, do inglês *Fourier Transform Infra Red*). A FTIR é uma técnica de análise que coleta o espectro mais rapidamente, pois, ao invés de coletar os dados variando-se a frequência da radiação IR (com todos os comprimentos de onda da faixa usada), é usado um interferômetro, sendo um modo mais eficiente de fazer medições espectroscópicas^[152].

Além disso, os espectrômetros têm sido produzidos com o recurso de Reflexão Interna ou Refletância Total Atenuada (ATR). Este artifício é utilizado quando se deseja obter espectros de amostras em estados de pastas, adesivos e pó, que não podem ser analisados pelo

método convencional, que utiliza pastilhas ou filmes. O princípio desta espectroscopia baseia-se no fato de que quando um feixe de radiação passa de um meio mais denso (cristal de ATR) para um meio menos denso (amostra), ocorre reflexão. A fração do feixe de luz incidente que é refletida é maior conforme aumenta o ângulo de incidência, e quando excede um determinado ângulo crítico a reflexão é completa. Dessa forma, é possível obter o espectro sem preparo adicional na amostra, apenas a posicionando sobre um cristal de ATR, por exemplo^[150].

3.5.2 Técnicas termoanalíticas

A análise térmica compreende uma classe de técnicas no qual um evento físico ou químico é medido em função da temperatura, enquanto um material é submetido a um programa de aquecimento ou resfriamento controlado. O programa de temperatura controlada é descrito de acordo com os parâmetros da Eq. 14:

$$T(t) = T_0 + \beta_0 \cdot t, \quad \text{Eq. 14}$$

em que T_0 é a temperatura inicial, β_0 corresponde a taxa de aquecimento e t o tempo. Para os casos em que $\beta_0 \neq 0$, tem-se o modo dinâmico (ou varredura), e quando o valor de $\beta_0 = 0$, a medida está sendo feita em modo isotérmico.

Os princípios de análise térmica são amplamente utilizados em função do elevado grau de sofisticação, da aplicação prática crescente, e adicional a isto, é uma importante ferramenta de trabalho em setores de pesquisa que é focado no desenvolvimento de novos produtos e controle de qualidade da produção^[153]. A análise térmica é utilizada para observar eventos como fusão, cristalização, sublimação, decomposição, quantificação de componentes voláteis (solvente residual ou subprodutos voláteis). Especificamente, também pode ser usada para prever a formação de novas formas sólidas (como cocrystalis, sais, coamorfos, etc.), definir a razão estequiométrica ótima de sua formação, e informações importantes como estabilidade térmica e formação de polimorfos em fármacos^[154].

A caracterização do comportamento de fusão, por exemplo, é particularmente importante ao selecionar um sal ou um cocrystal para um medicamento, uma vez que as etapas de processamento, tais como moagem ou micronização, podem gerar calor considerável que nem todas as formas de sal e cocrystal são igualmente capazes de tolerar. Entre as técnicas de análise térmica mais comuns utilizadas para estas aplicações estão a Análise Térmica Diferencial (DTA), a Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) e a Termogravimetria (TG), descritas a seguir.

3.5.2.1 Termogravimetria (TG) e Análise Térmica Diferencial (DTA)

A TG é uma técnica em que a variação de massa de uma substância é medida em função da temperatura (ou do tempo), em uma atmosfera controlada, submetida a um controle programado de temperatura. Tipicamente, as amostras são colocadas em uma termobalança, que permite a pesagem contínua da amostra quando aquecidas ou resfriadas. As amostras analisadas são colocadas em “painelas”, as quais comportam entre 1 a 40 mg, que podem estar abertas, hermeticamente fechadas ou com um furo na tampa para permitir uma fuga lenta de gases produzidos. Comumente, curvas de TG são obtidas variando-se a temperatura dos fornos de condições ambiente até 1200 °C, no entanto, existem fornos que chegam a temperaturas em torno de 2400 °C^[153]. Os principais eventos térmicos que a análise de TG pode descrever são: evaporação de constituintes, perda de água de cristalização, decomposição oxidativa, formação de produtos gasosos, pirolises ou carbonização, entre outros (Figura 16).

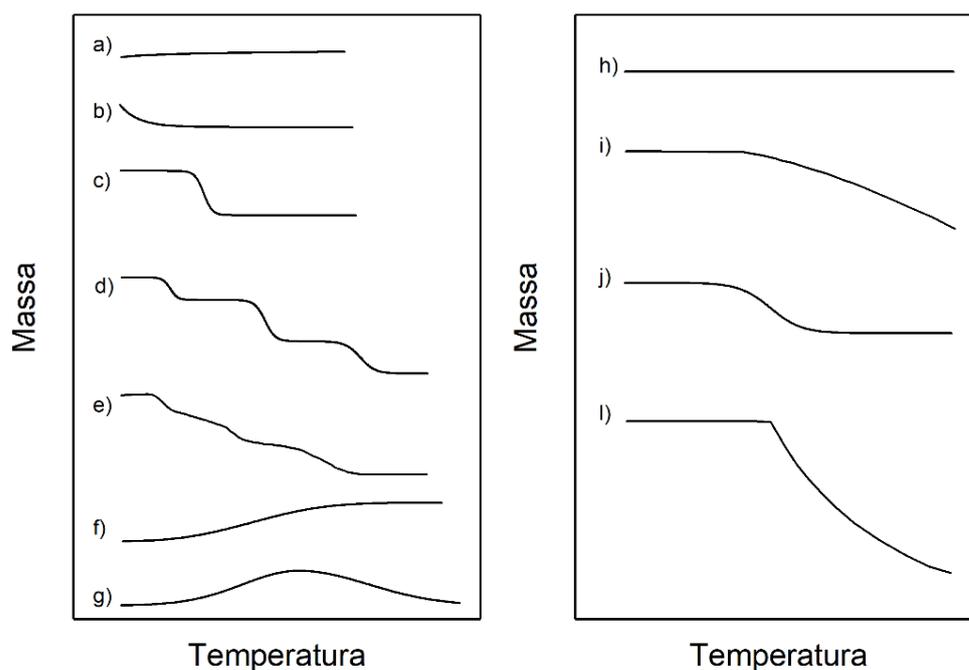


Figura 16: À esquerda: a) curva sem perda de produtos voláteis; b) dessorção ou secagem; c) decomposição em única etapa; d) decomposição em vários estágios com produtos intermediários estáveis; e) decomposição em vários estágios com produtos intermediários não estáveis; f) reação da amostra com a atmosfera; g) reação de oxidação e em seguida decomposição. À direita, efeitos termogravimétricos na fusão: h) amostra com baixa pressão de vapor; i) fusão volátil (a amostra líquida evapora); j) perda de umidade com a fusão; l) fusão e decomposição concomitantes.

Fonte: Adaptados de Brown e Gallagher (2011)^[155] e Mothé e Azevedo (2009)^[156].

Frequentemente a curva TG é apresentada em conjunto com a sua primeira derivada (DTG), que pode ser em função da temperatura: dm/dT ou; do tempo: dm/dt , em que m é a

massa, T temperatura e t o tempo. Observando os dados de TG junto com DTG, é possível visualizar de forma clara o início e fim de eventos sobrepostos ou sutis. Atualmente, o mercado oferece equipamentos que executam simultaneamente a análise de TG e de análise térmica diferencial (DTA), tornando possível explicar eventos que seriam complicados com apenas uma curva TG em mãos.

Na DTA, mede-se a diferença de temperatura:

$$\Delta T = T_A - T_R, \quad \text{Eq. 15}$$

entre uma amostra (T_A) e um material de referência (T_R) inerte, e em seguida, é traçada em função do tempo ou da temperatura. Os eventos térmicos, como a fusão ou a cristalização, entre outros ilustrados na Figura 17, irão fazer com que a diferença de temperatura mude conforme o calor da amostra é absorvido (endotérmico) ou liberado (exotérmico)^[155]. Devido às limitações inerentes do DTA, para a obtenção de entalpias de transição, esta técnica é geralmente usada para determinar as temperaturas nas quais os eventos térmicos ocorrem; A análise térmica quantitativa é reservada para a técnica de DSC, que mede a energia entre uma amostra e uma referência inerte^[156].

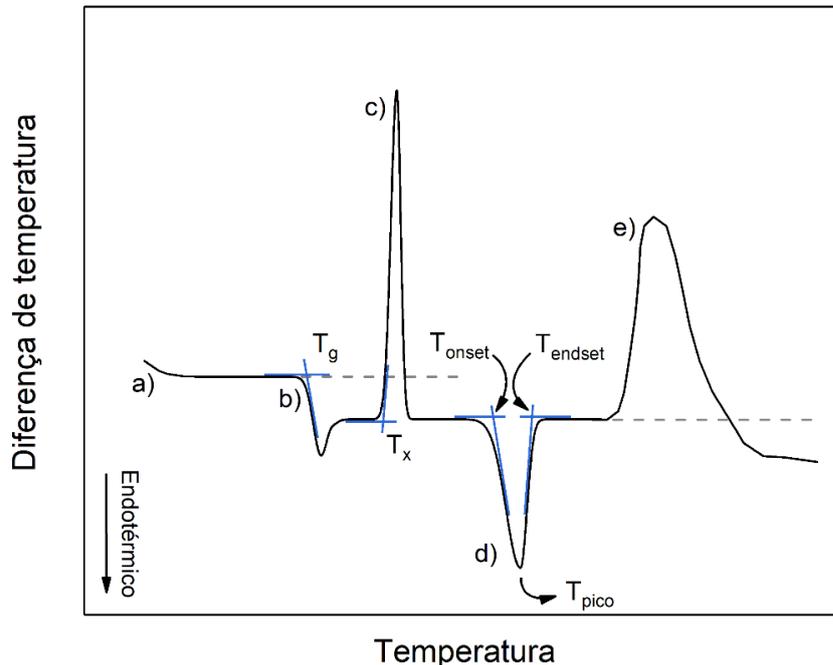


Figura 17: Esquema ilustrativo de eventos em uma curva DTA. a) estabilização inicial do sistema; b) transição vítrea; c) cristalização; d) fusão; e) decomposição exotérmica. Destaque para as temperaturas de: início da transição vítrea (T_g); início da cristalização (T_x); início de um evento térmico (T_{onset}); máxima de reação em um evento térmico (T_{pico}) e; fim de um evento térmico (T_{endset}).

Fonte: Adaptado de Brown e Gallagher (2011)^[155].

3.5.2.2 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

A DSC fornece informações úteis para avaliação do comportamento de fármacos, tais como formação de sais, cocristais, polimorfismo, temperatura de fusão, sublimação, desidratação, evaporação e pureza. A principal diferença entre a DTA e DSC está centrada nas variáveis que ambos estão medindo. A DSC detecta o calor da amostra e respectiva referência em função da temperatura (ou tempo), enquanto a DTA detecta a diferença da temperatura entre a amostra e respectiva referência em função da temperatura (ou tempo). No caso do DTA, a diferença de temperatura indica uma modificação no calor de forma qualitativa^[157]. Dessa forma, DSC é uma técnica para medir a diferença de taxa de fluxo de calor de uma amostra e respectiva referência, enquanto são submetidas a um controle programado de temperatura^[157]. As análises são realizadas mantendo tanto a amostra quanto a referência a mesma temperatura ao longo de um ciclo térmico, medindo a compensação térmica através do aumento do suprimento de energia elétrica às micro resistências conectadas à amostra e à referência^[153].

Várias reações químicas e transições físicas de compostos podem ser descritas por meio da interpretação da geração e consumo de calor, dependendo das condições a qual um material é submetido^[157]. Estes eventos térmicos são classificados como:

- Transições de primeira ordem: formam picos nas curvas DSC (fusão, cristalização, sublimação, decomposição, pirólise e combustão), em que a área do pico representa a variação de entalpia, sofrida pela amostra.
- Transições de segunda ordem: são acompanhadas de variação de capacidade calorífica, mas não apresentam necessariamente variações de entalpia, não gerando picos bem definidos.

O comportamento destes eventos térmicos nas curvas de DSC é similar ao que ocorre em uma curva de DTA, representada na Figura 17. No equipamento de DSC, o sinal medido é proporcional a taxa de fluxo de calor Φ e os eventos térmicos são observados numa curva como função do tempo $\Phi(t)$, ou temperatura $\Phi(T)$. Quando um forno é aquecido, o calor flui para a amostra, e quando o arranjo é idealmente simétrico, o mesmo calor flui para a referência. O sinal diferencial da temperatura, normalmente na forma de uma diferença de potencial elétrico, é zero. Se o equilíbrio em estado estacionário for perturbado por uma transição da amostra, é gerado um sinal diferencial que é proporcional à diferença entre as taxas de fluxo de calor para a amostra e referência^[157], ou seja:

$$\Phi_A - \Phi_R \sim \Delta T, \quad \text{Eq. 16}$$

sendo que:

$$\Delta T = T_A - T_R. \quad \text{Eq. 17}$$

No DSC, o sinal sempre é obtido como tensão elétrica e a taxa de fluxo de calor é internamente atribuída ao sinal ΔT por um fator (representado na Eq. 18 por k) previamente instalado e calibrado. O resultado é então apresentado ao usuário em mW ou μW .

$$\Phi = -k \cdot T\Delta, \quad \text{Eq. 18}$$

Uma curva de DSC é influenciada por três fatores principais descritos na Eq. 19. O primeiro termo, $\Phi_0(T)$, é está associado a assimetria intrínseca dos termopares do equipamento. O segundo, $\Phi_{Cp}(T)$, é causado pela diferença na capacidade calorífica entre a amostra e a referência. Já o terceiro, $\Phi_r(T,t)$, é a contribuição de uma reação ou transição que ocorrem na amostra. As duas primeiras variáveis definem a linha de base e a terceira a parte do pico da curva medida^[157].

$$\Phi(T, t) = \Phi_0(T) + \Phi_{Cp}(T) + \Phi_r(T, t), \quad \text{Eq. 19}$$

sendo que:

$$\Phi_{Cp} = C_p \cdot dT / dt. \quad \text{Eq. 20}$$

3.5.2.2.1 Diagramas de fases binários

A previsibilidade da formação de um composto multicomponente, como sais e cocristais, frequentemente são avaliadas de acordo com análises de combinações de grupos funcionais e conceitos de formação de síntons. A análise termodinâmica, que pode ser obtida por meio dos diagramas de fases, oferece uma abordagem complementar para o desenvolvimento de dispersões sólidas e melhorar a predição de formação, como também a otimização da preparação. Estes diagramas são utilizados para visualizar as relações termodinâmicas e simplificar o entendimento e aplicação dos novos materiais obtidos^[43].

Pelo menos três sistemas são frequentemente descritos em trabalhos que descrevem a aplicação de diagramas de fase binários para o desenvolvimento de dispersões sólidas farmacêuticas. Dois destes sistemas se mostram capazes de fornecer detalhes para identificar a formação de novas fases, conhecidos como sistemas congruentes e incongruentes^[99]. Para o caso do sistema congruente, ilustrado na Figura 18a, quando uma mistura física de dois componentes (no exemplo, componente A e B) numa razão molar $x_A:y_B$ é aquecida, o componente A e uma parte de B fundem quando atingem o ponto eutético metaestável, na

temperatura T_{Em} . Para este sistema, novo produto C (ou nova fase) gerado funde na temperatura T_C . Comumente, um pico endotérmico associado a fusão metaestável seguido por um exotérmico associado a formação da nova fase são observados na curva de DSC da mistura física neste sistema.

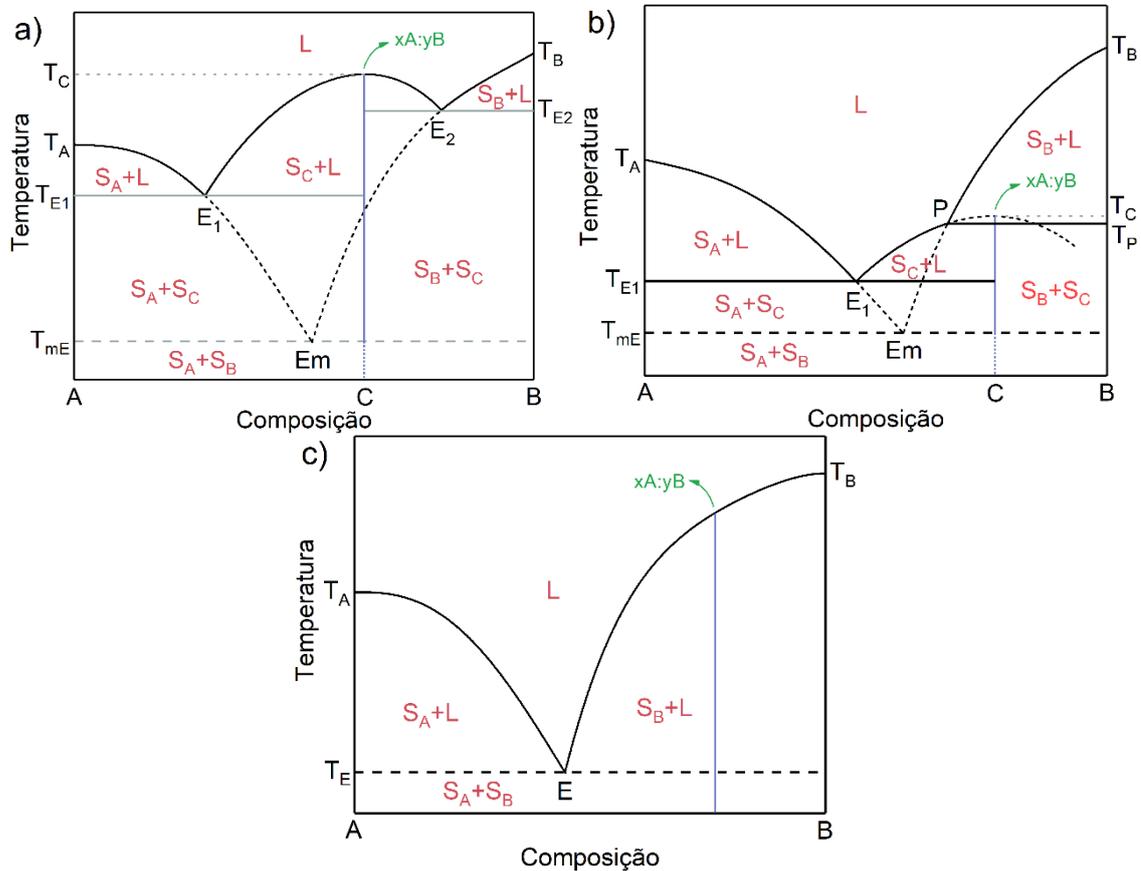


Figura 18: Diagramas de fases binários a) de um sistema congruente e b) incongruente, que evidencia a formação de novas fases. Em c), um sistema que não evidencia a formação de nova fase. L, líquido; S_A , componente A sólido; S_B , componente B sólido; S_C , nova fase; E, ponto eutético; E_m , ponto eutético metaestável; P, ponto peritético; T_{Em} , temperatura eutética metaestável; T_E , temperatura eutética; T_P , temperatura peritica; T_A , temperatura de fusão do componente A; T_B , temperatura de fusão do componente B; T_C , temperatura de fusão da nova fase.

Fonte: Adaptado de Yamashita (2013)^[158] e Yamashita (2014)^[99].

No sistema incongruente (Figura 18b), o comportamento é semelhante, no qual primeiramente um pico endotérmico na curva DSC é observado e está associado à fusão eutética metaestável, e em seguida é verificado um pico exotérmico associado à formação da nova fase C. Continuando no sistema incongruente, os eventos térmicos observados quando se continua a aquecer a razão molar $x_A:y_B$, são pico endotérmico associado à fusão de C e outro pico exotérmico associado à recristalização do componente B em T_P , seguido por uma ampla deflexão endotérmica em temperaturas acima de T_P . Em ambos os sistemas são possíveis

identificar a formação da nova fase, como também prever facilmente no sistema congruente a condição ótima de interação^[99, 158].

Já o diagrama de fases de uma combinação de API e coformador incapaz de formação de nova fase é ilustrado na Figura 18c. Neste caso quando uma proporção molar $x_A:y_B$ é aquecida, o componente A e parte do componente B fundem à temperatura eutética (T_E), e o excesso de B continua a fundir à medida que a temperatura aumenta. Na prática, um pico endotérmico claro em T_E seguido por uma deflexão endotérmica ampla em temperaturas acima de T_E é observado nas curvas de DSC. Outra forma simples e rápida de identificar os casos dos diagramas da Figura 18, é observando sua aparência geral. Geralmente um típico diagrama de fase binário correspondente a formação de uma nova fase (como cocristais ou sal) assume um formato de ‘W’, enquanto de um eutético observa-se a forma de ‘V’^[154].

Para auxiliar na interpretação dos diagramas de fases binários, podem ser utilizadas curvas ideais que simulam os diagramas binários. Estas curvas podem ser calculadas usando as equações de Schroeder-van Laar ou de Prigogine Defay, quando não há interação entre os compostos de partida, mas sim, formação de eutéticos, por exemplo^[23].

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Materiais

Os reagentes utilizados neste trabalho são de grau analítico, e estão resumidos na Tabela 7 junto com algumas informações obtidas do fornecedor.

Tabela 7: Compostos utilizados neste trabalho e informações sobre: fórmula química, fabricante, massa molar e pureza.

Função	Composto	Fórmula molecular	Fabricante	Massa molar (g Mol ⁻¹)	Pureza (%)
API	Clofazimina	C ₂₇ H ₂₂ Cl ₂ N ₄	Sigma-Aldrich	473,40	> 99,5
Coformador	Ácido para-aminobenzóico	C ₇ H ₇ NO ₂	Sigma-Aldrich	137,14	> 99,5
Solvente	Acetona	C ₃ H ₆ O	Sigma-Aldrich	58,08	> 99,0
Solvente	Etanol	C ₂ H ₅ OH	Sigma-Aldrich	46,07	>99,0

4.2 Métodos

4.2.1 Estudos teóricos

4.2.1.1 Guia teórico para seleção do coformador

Para a obtenção de uma nova forma sólida, como sal ou cocrystal, se faz necessário estudar a formação de possíveis sítios de interações nos compostos investigados. As interações químicas para obtenção de um novo material cristalino geralmente envolvem a formação de ligações de hidrogênio, forças de Van der Waals ou interações eletrostáticas^[58]. Assim, para a formação de sítios entre as moléculas do API e do coformador, se faz necessário um estudo prévio das possibilidades de interação, para maximizar as possibilidades de sucesso da síntese. Neste estudo, foram realizadas buscas em bases de dados cristalográficas verificando a probabilidade de ocorrência de determinadas interações, com propósito de selecionar o coformador que apresenta maior viabilidade de interação com a CFZ.

Estes estudos foram realizados utilizando o *software* Mercury versão 3.10.1 da suíte de CCSD, aplicando a metodologia descrita por Silva (2015)^[159]. Para tanto, foram utilizadas as funções da classe *CSD-Materials* do *software* Mercury, especificamente *hydrogen bond propensities* (propensão a ligação de hidrogênio), *crystal packing feature* (características da

rede cristalina), e *motifs* (síntons moleculares), onde as pesquisas foram realizadas no banco de dados CSD versão 5.39 (de 2018).

✓ *hydrogen bond propensities*

A análise foi realizada na molécula de CFZ extraída do arquivo de informações cristalográfica DAKXUI01, em regiões doadoras e aceptoras pré-selecionadas pelo algoritmo de reconhecimento automático.

✓ *crystal packing feature*

A busca foi realizada utilizando como base inicial a geometria (distâncias, ângulos) dos arquivos de informação cristalográficas GESGUI, GESGOC e GESGAO, e para a busca, foram consideradas as seguintes restrições atômicas no sínton:

- Considerou-se a forma de ligação dos átomos envolvidos no sínton (restrições de cadeia), cíclica ou acíclica, conforme posição na molécula;
- Desconsiderou-se o número de hidrogênios presentes, pois, em alguns casos, as estruturas cristalinas são cadastradas na base cristalográfica sem contabilizar hidrogênios e;
- Desconsiderou-se o tipo de ligação entre átomos formadores de cada fragmento do sínton.

O nível de similaridade geométrica foi obtido considerando tolerâncias de $\pm 30\%$ em relação à distância atômica e de $\pm 20\%$ ao ângulo de ligação, devido à oscilações nas posições atômicas que variam de estrutura para estrutura. Para as análises, levou-se em conta cinco aspectos principais, sendo eles: frequência de ocorrência; número de síntons entre moléculas equivalentes (homointerações); número de síntons entre moléculas diferentes (heterointerações); número de síntons envolvendo o API; número de síntons envolvendo grupos sulfonil; e número de síntons envolvendo grupos carboxílicos. Durante a análise, algumas estruturas foram excluídas da contagem por não apresentar similaridade com os compostos estudados, sendo utilizado como critério de exclusão: compostos contendo ligantes metálicos, síntons com torção que descaracteriza a molécula do API e síntons intramoleculares.

✓ *motifs*

Os sítions buscados e selecionados na pesquisa *crystal packing feature* foram construídos por meio da ferramenta de desenho de molécula implementada no *software* Mercury, sendo examinados sítions envolvendo grupos carboxílicos e sulfetos. Após obtenção das sugestões de coformadores, foi verificada a possibilidade de aplicação por meio do banco de dados GRAS^[27] de substâncias consideradas seguras para consumo humano.

4.2.1.2 Estudos de simulação da superfície de potencial eletrostático (SPE)

As moléculas de CFZ e PABA foram desenhadas a partir do *software* Avogadro versão 1.2.0 e as superfícies de potencial eletrostáticos obtidas por meio do *software* Gaussian versão 9, utilizando o método B3LYP, onde foi utilizado a base 6-31(d,p) para otimização e cálculo da superfície. As ilustrações das superfícies SPE foram obtidas pelo *software* GausView versão 5.0.

4.2.2 *Protocolos de síntese*

4.2.2.1 Obtenção do sal de CFZ com PABA pelo método de LAG

Os ensaios de síntese foram realizados adaptando a metodologia descrita por Bolla e Nangia (2012)^[82]. Para tanto, foi empregada a técnica de LAG em diferentes misturas binárias de CFZ e PABA, com propósito de obter a estequiometria ótima de formação das dispersões sólidas conforme a Tabela 8.

A massa total de amostra (API e coformador) utilizada foi de 101,00 mg para todas as razões molares. Após a pesagem, as massas de ambos os compostos foram transferidas para um gral de ágata, onde foram adicionadas 5 a 7 gotas de acetona e triturados manualmente durante 20 min para cada ensaio. Em seguida, as dispersões sólidas resultantes em forma de pó foram levadas a um dessecador e mantidas sob vácuo, onde permaneceram até a realização das caracterizações. As sínteses em cada razão molar foram realizadas em pelo menos três repetições.

Tabela 8: Razão molar e massa utilizada para obter as dispersões sólidas de CFZ com PABA.

Nome	Razão molar (mol)		Massa (mg)*		Porcentagem de CFZ (% mol)
	CFZ	PABA	CFZ	PABA	
CFZ _{REC}	1	0	101,00	0,00	100,00
CFZ-PABA (3:1)	3	1	92,11	8,89	75,00
CFZ-PABA (2:1)	2	1	88,22	12,78	66,67
CFZ-PABA (1,5:1)	3	2	84,65	16,35	60,00
CFZ-PABA (1:1)	1	1	78,31	22,69	50,00
CFZ-PABA (1:1,5)	2	3	70,41	30,59	40,00
CFZ-PABA (1:2)	1	2	63,95	37,05	33,34
CFZ-PABA (1:2,5)	2	5	58,58	42,42	28,57
CFZ-PABA (1:2,68)	25	67	56,86	44,14	27,17
CFZ-PABA (1:3)	1	3	54,04	46,96	25,00
CFZ-PABA (1:4)	1	4	46,79	54,21	20,00
CFZ-PABA (1:7)	1	7	33,36	67,64	12,50
PABA _{REC}	0	1	0,00	101,00	0,00

* Massas calculadas considerando pureza de CFZ >99,5% e PABA >99,5%.

4.2.2.2 Recristalização dos compostos de partida CFZ e PABA

Massas equivalentes a 101,00 mg de CFZ e de PABA foram pesadas (Tabela 8) e transferidas separadamente para um gral de ágata. Em seguida, foram adicionadas 5 gotas de acetona e trituradas manualmente durante 20 min e armazenadas em dessecador (sob vácuo) à temperatura ambiente (25 °C). Posteriormente, os compostos recristalizados foram nomeados de CFZ_{REC} e PABA_{REC}.

4.2.2.3 Obtenção da mistura física de CFZ com PABA nas razões molares (1:1) e (1:2,68)

As misturas físicas de CFZ com PABA foram obtidas nas razões (1:1) e (1:2,68), pois, de acordo com os dados de DRXP foram as concentrações ótimas de formação das dispersões sólidas. Dessa forma, massas de CFZ e PABA foram aferidas para as razões estequiométricas de 1:1 e 1:2,68, conforme Tabela 8, e homogêneas manualmente. As misturas binárias foram nomeadas de CFZ-PABA (1:1)_{MF} e CFZ-PABA (1:2,68)_{MF}.

4.2.2.4 Obtenção dos sais de CFZ com PABA pelo método da fusão

Esta metodologia foi definida após observar o comportamento do perfil térmico das misturas físicas CFZ-PABA (1:1)_{MF} e CFZ-PABA (1:2,68)_{MF}. Para obtenção dos sais CFZ-PABA (1:1) e CFZ-PABA (1:2,68) pelo método da fusão, 100 mg de cada respectiva mistura física (CFZ-PABA (1:1)_{MF} e CFZ-PABA (1:2,68)_{MF}) foi aquecida a $150 \pm 0,1$ °C por 10 min para CFZ-PABA (1:1)_{MF} e 3 min para CFZ-PABA (1:2,68)_{MF}. O aquecimento das amostras foi realizado em um reator para demanda química de oxigênio Biothec, modelo 750/25. Após finalizado o procedimento, as amostras foram nomeadas de CFZ-PABA (1:1)_{MF}FUS e CFZ-PABA (1:2,68)_{MF}FUS.

4.2.2.5 Obtenção do solvato de CFZ e Acetona

Para a obtenção do solvato de CFZ e acetona, foi adotada a metodologia descrita por Bolla e Nangia (2012)^[82]. Para tanto, 200,00 mg de CFZ foram pesados e posteriormente dissolvidos em 30 mL de acetona. Após verificar a completa dissolução do reagente, a solução foi levada para uma estufa a $25 \text{ °C} \pm 1 \text{ °C}$ durante 48h. Antes da evaporação completa do solvente, os cristais do solvato de CFZ foram coletados e mantidos em dessecador à temperatura ambiente (25 °C) até o momento da análise.

4.2.3 Caracterizações dos materiais obtidos neste estudo

4.2.3.1 Caracterização estrutural

4.2.3.1.1 Difração de Raios X em pó (DRXP)

Os padrões de DRXP foram coletados no laboratório CBMAT da UFMA *campus* Bacanga. Para tanto, foi utilizado um difratômetro Bruker, modelo D8 *Discover*, com radiação Cu K α ($\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$), tensão e corrente elétrica de 40 kV e 40 mA, respectivamente. Os difratogramas das dispersões sólidas foram obtidos numa varredura 2 θ continua entre 5 e 50°, com 1129 passos no intervalo, e tempo de contagem de 0,4 segundos por passo, à temperatura ambiente ($\sim 23 \text{ °C}$).

A avaliação do comportamento das misturas físicas dos respectivos sais obtidos frente à variação de temperatura foi realizado. Foram coletados padrões de DRXP a temperatura ambiente ($\sim 27 \text{ °C}$) de CFZ-PABA (1:1)_{MF} e CFZ-PABA (1:2,68)_{MF} como

também de CFZ-PABA (1:1)_{MFUS} e CFZ-PABA (1:2,68)_{MFUS}. Os padrões de DRXP foram coletados usando o difratômetro Rigaku, modelo Mini Flex II, com radiação Cu K α ($\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$). A tensão e corrente elétrica utilizada foi de 40 kV e 30 mA, respectivamente. Os difratogramas das amostras foram configurados para uma varredura 2θ contínua entre 2 e 45 graus, com passo de 0,02 graus e tempo de contagem de 2 segundos por passo.

O refinamento de estruturas das fases predominantemente cristalinas foi realizado utilizando o *software General Structure Analysis System (GSAS)*^[134], versão 2012. Para tanto, foram refinados os parâmetros de rede, posições atômicas, fator de escala e perfil dos picos. Para executar o ajuste da linha de base do difratograma foi utilizado o polinômio de Chebyshev^[160] e para o perfil dos picos a função pseudo-Voigt de Thompson-Cox-Hastings modificada^[161]. O refinamento dos padrões de DRXP das dispersões sólidas que apresentaram uma porção de fase amorfa, foi utilizado o *software TOPAS*[®] versão 4.2, com aplicação de funções Gaussianas para estimar o grau de cristalinidade.

Em todos os refinamentos que continham a fase CFZ foi utilizado os parâmetros do arquivo de informações cristalográficas (CIF) DAKXUI01^[85] e para o PABA, AMBNAC01^[101]. Os arquivos de informações cristalográficos utilizados foram obtidos a partir do banco de dados de *Cambridge*, por meio do *software ConQuest* versão 1.18.

4.2.3.1.2 Resolução da estrutura cristalina de CFZ-PABA (1:1)

Para a resolução da estrutura cristalina foi utilizado um padrão de difração coletado no difratômetro Bruker, modelo D8 *Discover*, com radiação Cu K α ($\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$), tensão e corrente elétrica de 40 kV e 40 mA, respectivamente. Os dados foram obtidos numa varredura 2θ entre 5 e 50°, com 2200 passos no intervalo e tempo de contagem de 1,6 segundos por passo, obtendo-se intensidades superiores a 60 000 *counts*.

Inicialmente, o padrão de difração foi indexado utilizando o algoritmo de DICVOL06^[127] implementado nas rotinas do *software Dash*^[138] da suíte do CCDC. A extração das intensidades de reflexão foi realizada pelo método de Le Bail implementado no *software GSAS*^[134]. Em seguida, foi utilizado o *software Expo*^[132] versão 1.16.09 através do método *simulated annealing*, para ajuste das posições atômicas. Os fragmentos de moléculas, inseridos para realizar o método *simulated annealing*, foram obtidos a partir do arquivo de informações cristalográficas GESGIW^[82] (sal de clofazimina e ácido nicotínico). Este arquivo foi obtido pela CSD, e a molécula de ácido nicotínico foi modificada e otimizada para ter similaridade com o PABA. Após obtenção do arquivo de informações cristalográficas da

estrutura resolvida, os tamanhos de ligação, ângulos de ligação, diedros, e anéis aromáticos foram analisados com *software* Mogul^[162], integrado a base de dados CSD. Por fim, a estrutura foi refinada pelo método de Rietveld por meio do *software* TOPAS^[163] versão 4.2.

4.2.3.2 Caracterização vibracionais

4.2.3.2.1 Espectroscopia UV-VIS por Refletância Difusa

As análises por espectroscopia UV-VIS por Refletância Difusa foram realizadas no laboratório LABAFARMA (Laboratório de Síntese e Caracterização de Materiais Farmacêuticos) da UFMA – Campus Imperatriz. Os espectros foram coletados num espectrômetro *Termo Scientific* modelo *Evolution 220*, com acessório para refletância difusa, na região de 190 a 1100 nm, com tempo de permanência de 1 s e passo de 1 nm.

As análises foram realizadas em três repetições com o material pulverizado, em um porta amostra com janela de quartzo, posicionado para retro espalhamento. A partir dos resultados, foram obtidos espectros de refletância cujas bandas foram ajustadas utilizando o *software* PeakFit versão 4, com o objetivo de determinar a posição exata de máximo de cada pico. Os ajustes foram realizados utilizando o método de resíduos mínimos, com função Voigt (amplitude), e foram considerados ajustes com coeficiente de determinação (R^2) acima de 0,9998. Esta modelagem foi necessária por considerar o perfil completo da formação da banda, uma vez que o valor de máximo pode variar devido a ruídos no espectro bruto.

4.2.3.2.2 Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

Os espectros FTIR foram obtidos no Laboratório de Química Aplicada (LAQV/REQUIMTE), Universidade do Porto – Portugal, usando um espectrômetro PerkinElmer, modelo *Frontier* com acessório de refletância total atenuada (ATR), equipado com um detector de sulfato de triglicina deuterada. Os espectros foram coletados na região de 4000 a 600 cm^{-1} com 32 acúmulos de varreduras.

4.2.3.3 Caracterizações térmicas

4.2.3.3.1 Termogravimetria e Análise Térmica Diferencial simultânea (TG-DTA)

As curvas de TG-DTA foram obtidas em um analisador térmico da *Shimadzu Instruments* modelo DTG-60, equipado com balança do tipo “*Top plan*”, no laboratório LAT (Laboratório de Análise Térmica) da UFMA – Campus Imperatriz. As medidas foram realizadas com massas de amostras entre 2 a 2,5 mg em cadinhos de α -alumina, sob atmosfera de ar seco com vazão de 50 mL min⁻¹, taxa de aquecimento de 10 °C min⁻¹. O intervalo de aquecimento foi estabelecido de acordo com a estabilidade térmica de cada composto. A determinação dos parâmetros relacionados às curvas (T_{pico} , T_{onset} , T_{endset} , T_x , T_g e variação de massa) foi obtido através do *software* TA-60, versão 2.1, da *Shimadzu Scientific Instruments*.

4.2.3.3.2 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

As curvas de DSC de aquecimento e resfriamento em sequência foram obtidas em um analisador da *TA instruments*, modelo DSC Q200, no laboratório do Departamento de Farmácia galênica e Tecnologia farmacêutica da Universidade de Lisboa. Foram realizadas análises com massas de amostras entre 3 a 4 mg em cadinhos de alumínio fechados com furo na tampa. Atmosfera inerte (nitrogênio) foi utilizada com vazão de 50 mL min⁻¹, e taxa de aquecimento e resfriamento de 10 °C min⁻¹. O limite inferior de arrefecimento foi definido em -50 °C, e o de aquecimento de acordo com estabilidade e térmica de cada composto. Posteriormente os dados foram tratados utilizando o *software* *TA instruments Universal Analysis* 2000 versão 4.5A.

Já as curvas de DSC apenas com programa de aquecimento foram obtidas em um analisador da *Shimadzu Instruments* modelo DSC-60, com arranjo de detecção por fluxo de calor, no laboratório LAT da UFMA – Campus Imperatriz. As medidas foram realizadas com massas de amostras entre 2,0 a 2,5 mg em cadinhos de alumínio fechados, com tampa furada. Foi utilizada atmosfera de ar seco com vazão de 50 mL min⁻¹, taxa de aquecimento de 10 °C min⁻¹ e intervalo de aquecimento de acordo com a estabilidade térmica de cada composto. A determinação dos parâmetros relacionados as curvas (variação de entalpia, T_{pico} , T_{onset} , T_{endset} , T_x , T_g) foi realizada pelo *software* TA-60 versão 2.1 da *Shimadzu Scientific Instruments*.

4.2.4 Estudo de solubilidade das dispersões sólidas obtidas

Para o estudo do perfil de solubilidade dos sais CFZ-PABA (1:1) e CFZ-PABA (1:2,68), foi utilizada a metodologia descrita por Bolla e Nangia (2012)^[82], para determinar o equilíbrio de solubilidade. O meio utilizado neste estudo foi de 60 % de etanol e água deionizada (EtOH-H₂O) devido à pouca solubilidade da CFZ em meio puramente aquoso. Dessa forma, inicialmente a estabilidade de uma solução contendo CFZ, em meio de 60% EtOH-H₂O, foi avaliada em função do tempo a 488 nm (λ_{\max}). Posteriormente, uma curva analítica (7 pontos, em três repetições) foi construída para cada forma sólida (CFZ, CFZ-PABA (1:1) e CFZ-PABA (1:2,68)), de absorvância em função concentração. As medidas de absorvância foram realizadas usando um espectrômetro UV-Vis Thermo Scientific, modelo Evolution 220, em um comprimento de onda de 488 nm (λ_{\max}) para soluções de concentração conhecidas.

Para determinação do coeficiente de extinção (ϵ), foi aplicada lei de Lambert-Beer. As medidas de taxa de solubilidade das dispersões sólidas obtidas foram realizadas usando um banho maria Termostático da Cienlab, modelo CE-160/6, programado para 37 °C acoplado a um agitador Fisatom 713D com agitação de 150 RPM. Para se ter conhecimento da quantidade de material necessário para obter a condição de supersaturação do sistema, uma quantidade excessiva do material sólido foi agitada por 3 h em 50 mL de uma solução 60% EtOH-H₂O.

Para obtenção da curva de solubilidade em função do tempo, uma quantidade excessiva de cada composto (40 mg para CFZ, 700 mg para CFZ-PABA (1:1) e 1200 mg para CFZ-PABA (1:2,68)) foram dissolvidas em 300 mL de meio 60% EtOH-H₂O a 37 °C com agitação de 150 RPM. Em intervalos regulares de 5, 10 e 15 minutos, 3 mL do meio de dissolução foram retirados e substituídos por um volume igual de meio, para manutenção do volume constante no sistema. As amostras foram filtradas com filtro de 0,2 μm de *nylon* e mantidas em frascos em banho maria por 2h a 37 °C e, posteriormente, foram analisadas à 488 nm com diluição adequada. A quantidade de CFZ dissolvida em cada intervalo de tempo foi calculada usando a curva analítica.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Seleção do coformador

Para seleção do coformador com maior probabilidade de sucesso de interação com a CFZ, utilizaram-se as informações obtidas a partir de análises estatísticas por meio da base de dados CSD. Para a pesquisa dos compostos com sítios de interação mais propícios, foram utilizadas três ferramentas principais de busca, integradas no conjunto de ferramentas *CSD-Materials* presentes no software *Mercury* versão 3.10.1. Especificamente foram analisadas por meio das ferramentas:

- a) *hydrogen bond propensities*, utilizada com a intenção de definir as regiões mais propícias da molécula para ocorrência de ligações de hidrogênio;
- b) *crystal packing feature*, utilizada com o objetivo de verificar a ocorrência de sítions em moléculas com grupos similares aos do API, e assim definir quais os melhores sítions para estudo e;
- c) *motifs*, utilizada com o propósito de investigar a ocorrência de sítions específicos pré-selecionados, e assim obter sugestões de compostos com melhores probabilidades de interação.

✓ *hydrogen bond propensities*

Quando aplicada a ferramenta *hydrogen bond propensities* foi possível verificar os melhores sítios de interação e selecionar os grupos doadores e receptores mais adequados na molécula de CFZ. Para tanto, analisou-se a frequência de ocorrência das ligações de hidrogênio na molécula de CFZ. Esta frequência de ocorrência é definida como o número de ocorrência de ligações intermoleculares no respectivo grupo, dividido pelo número total de estruturas contendo o grupo analisado. Os átomos selecionados e incluídos na pesquisa como potenciais sítios de interação foram os átomos 1Cl, 2Cl, 1N, 2N e 3N indicados na Figura 19.

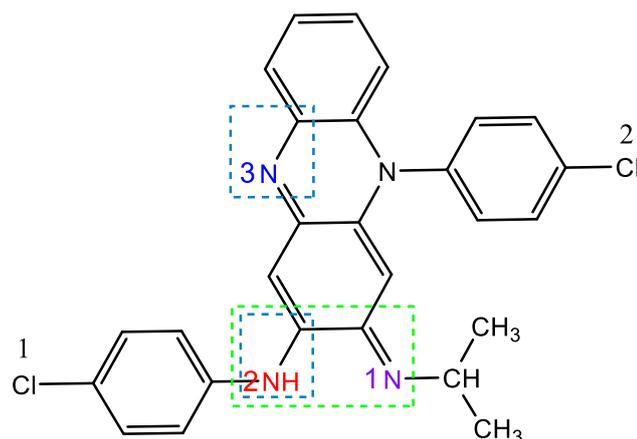


Figura 19: Estrutura química da CFZ. Em 1N e 2N, aminas secundárias acíclicas, e em 3, amina secundária cíclica. Os retângulos pontilhados em azul e verde indicam o conjunto de melhores doadores e receptores para interação.

Os resultados obtidos a partir do estudo, utilizando os átomos 1Cl, 2Cl, 1N, 2N e 3N indicados na Figura 19, estão dispostos na Tabela 9.

Tabela 9: Potenciais doadores e receptores para formação de ligações de hidrogênio.

Propensão para formar ligações de hidrogênio		Frequência (%)
Doador	Receptor	
2N	3N	30,8
2N	1N	40,0
2N	1Cl	3,5
2N	2Cl	3,5

*Modelo construído com base em 1327 estruturas.

Os átomos de cloro apresentaram uma baixa frequência de ocorrência, comparada aos nitrogênios, e, portanto, serão descartados como potenciais sítios de interação. Já as regiões da molécula de CFZ envolvendo átomos de nitrogênio apresentaram uma boa frequência de ocorrência, indicando que nestas regiões é mais fácil obter uma interação. As regiões envolvendo os nitrogênios 2N (átomo acíclico, doador) e 3N (cíclico, receptor), apresentaram frequência de ocorrência menor que os átomos 2N (acíclico, doador) e 1N (acíclico, receptor), indicando maior facilidade de interação nestes dois últimos. De fato, quando observadas as interações dos sais descritos na revisão bibliográfica (Tabela 5), a maioria das interações envolve os átomos 1N e 2N, o que dá suporte para este resultado.

✓ *crystal packing feature*

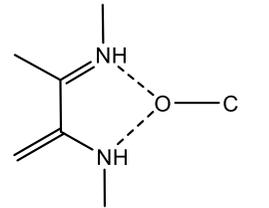
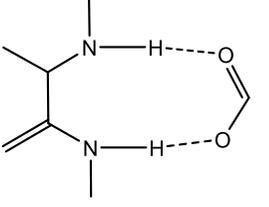
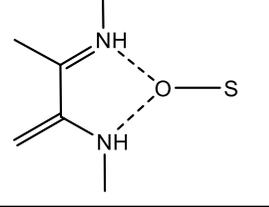
Para seleção dos tipos de síntons mais propícios a interação com a CFZ, utilizou-se a ferramenta *crystal packing feature*, com o intuito de verificar a ocorrência de síntons na região dos átomos 1N, 2N e 3N da CFZ (selecionados anteriormente). Para aplicar a busca, foram utilizados fragmentos de síntons de sais, solvatos e polimorfos envolvendo a CFZ cadastrados no CSD. Inicialmente foi dada preferência para a investigação de síntons envolvendo os grupos ácido carboxílico e sulfeto, pela existência de sais de CFZ e estes grupos. Além disso, estudos prévios avaliaram estes grupos funcionais e mostraram que são ótimos para obtenção de novas fases com outros API's^[23, 164]. Dessa forma, com base nestas premissas e nos resultados do tópico anterior (*hydrogen bond propensities*), foi possível construir um modelo com cinco síntons, sendo eles:

- Sínton A: tipo $R_2^1(7)$, interação das iminas em 1N e 2N com ácido carboxílico;
- Sínton B: tipo $R_2^2(9)$, interação das iminas em 1N e 2N com ácido carboxílico;
- Sínton C: tipo $R_2^1(7)$, da interação das iminas em 1N e 2N com sulfeto;
- Sínton D: tipo D, da interação da amina cíclica em 3N e imina em 2N com ácido carboxílico;
- Sínton E: tipo D, da interação da amina cíclica em 3N e imina em 2N com sulfeto.

Os resultados obtidos a partir da busca estão dispostos na Tabela 10, e de acordo com os dados, o sínton C apresentou maior frequência de ocorrência (89,47 %). Ressalta-se que esta alta frequência é composta integralmente pelos grupos sulfato e sulfono (do total 24,45 % de sulfato e 74,55% de sulfono). O grupo sulfono é frequentemente encontrado em API's como dapsona, hidroclorotiazida, gliclazida, glibenclamida e, quando associado com coformadores, eles tendem a participar das interações como bom formador síntons^[164].

O sínton A apresentou a segunda maior frequência de ocorrência (47,65 %), sendo também um bom candidato. Ademais, notou-se uma maior variabilidade de estruturas para o sínton A quando comparado ao C (concentrado apenas em sulfatos e sulfonos). Já foram relatadas estruturas contendo o sínton tipo A envolvendo a CFZ^[82], indicando que ela interage bem nesta geometria de sínton. Por isso, compostos com tendência a formar o sínton A podem ser mais atraentes para ser experimentado que os de sínton C.

Tabela 10: Resultado da busca por síntons com similaridade geométrica a fragmentos de síntons da CFZ já reportados.

Sínton	Estrutura	Código de referência	Número de estruturas do modelo	Frequência (%)	Número de estruturas excluídas	Número de estruturas contendo o API	Número de síntons contendo ácido carboxílico
A		GESGUI	298	47,65	17	5	83
B		GESGOC	573	21,31	9	1	25
C		GESGAO	57	89,47	0	1	-

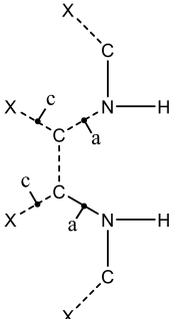
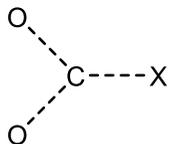
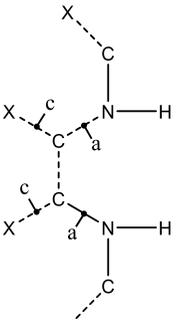
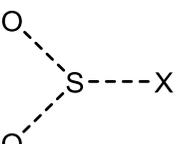
O sinton B foi o que apresentou menor frequência de ocorrência, e, por isto, presume-se que seja mais difícil obter uma estrutura com esta geometria de interação. Não foram encontrados resultados significativos para síntons formados envolvendo as regiões 2N e 3N (síntons D e E), e, além disso, não foi encontrada nenhuma referência que apresentasse formação de ligações de hidrogênio envolvendo estas regiões. Verificou-se também que, frequentemente, apenas interações mais fracas que ligações de hidrogênios ocorrem em estruturas similares a CFZ que contém os síntons D e E. Dessa forma, apenas os síntons A, B e C foram considerados para a análise seguinte, tendo em vista que apresentaram os resultados mais relevantes.

✓ *motifs*

Após definir os melhores síntons e as regiões da molécula de CFZ com maiores probabilidades de interação, prosseguiu-se com a busca pelos coformadores que apresentam possibilidade de formar síntons considerando as condições obtidas (sinton A, B e C, nas regiões de 1N e 2N da CFZ). Os resultados da investigação estão descritos na Tabela 11. Foram observadas boas frequências de ocorrência tanto para síntons envolvendo ácidos carboxílicos (52,81%) quanto envolvendo sulfetos (78,89%) e, novamente, a frequência de ocorrência de síntons envolvendo sulfetos demonstrou-se maior. Na Tabela 11 também são apresentados potenciais coformadores obtidos a partir da análise, após excluir compostos não permitidos para administração em humanos, conforme o GRAS.

Após a determinação dos potenciais coformadores propícios para experimentação, uma nova busca por literatura foi realizada para certificação que não tenham sido previamente utilizados em estudos, descrita na Tabela 12. De acordo com o resultado apresentado, o ácido benzoico, ácido fumárico, ácido mandélico, carbonato e o ácido para-aminobenzóico (PABA) se mostraram bons candidatos. Por ser descrito como um composto com facilidade de interação^[24], o PABA foi escolhido como primeiro candidato a ser testado se mostrando promissor. Conforme a Tabela 12, outros compostos tidos como potenciais coformadores na triagem (ácido cítrico e ácido oxálico) foram descritos na literatura como coformadores bem-sucedidos para CFZ, embora não estejam cadastrados na base de dados CSD.

Tabela 11: Resultado da frequência de ocorrência e potenciais compostos, obtidos pela ferramenta *motif*, para interação envolvendo os sítios selecionados.

Regiões de sítios analisados		Número de estruturas do modelo	Frequência (%)	Potenciais compostos encontrados, após filtragem pelo banco de dados GRAS
API	Coformador			
		852	52,81	<p>Ácido benzoico, Ácido cítrico, Ácido fumárico, Ácido maleico, Ácido malônico, Ácido mandélico, Ácido oxálico, Ácido p-aminobenzóico, Ácido salicílico, Ácido Isonicotínico, Ácido nicotínico.</p>
		90	78,89	Mesilato

Legenda: -----, ligação qualquer; X, átomo qualquer; $\overset{c}{\curvearrowright}$ Ligação do tipo cíclica; $\overset{a}{\curvearrowright}$ Ligação do tipo acíclica.

Tabela 12: Lista de coformadores com boas possibilidades de interação com a CFZ. Em destaque, compostos que não foram utilizados em estudos para obtenção de dispersões sólidas de CFZ.

Coformador	Solubilidade aquosa (g L⁻¹)^[165]	pKa	Alvo de estudos para interação com CFZ?	Estrutura cadastrada no CSD?
Ácido benzóico	3,419	4,19	Não	Não
Ácido cítrico	383,1	3,1	Sim ^[88]	Não
Ácido fumárico	6,951	3,00	Não	Não
Ácido maleico	440,7	1,92	Sim ^[82]	Sim
Ácido malônico	623,3	2,83	Sim ^[82]	Sim
Ácido mandélico	1,338	3,37	Não	Não
Carbonato (de sódio)	307,0	10,33	Não	Não
Ácido isonicotínico	6,0	1,94	Sim ^[82]	Sim
PABA	4,975	4,86	Não	Não
Ácido oxálico	9,800	1,27	Sim ^[88]	Não
Ácido salicílico	2,240	2,97	Sim ^[82]	Sim
Ácido nicotínico	44,96	4,85	Sim ^[82]	Sim
Mesilato	-	-1,92	Sim ^[82]	Sim

O grupo fosfato foi ocasionalmente encontrado durante o estudo, apresentou altas frequências de ocorrência e não se encontra cadastrado na CSD. No entanto, o fosfato foi alvo de estudos para interação com CFZ^[88]. Ainda há uma certa escassez de dados sobre o sítio na região imino da CFZ. Dessa forma, à medida que forem cadastrados mais dados cristalográficos e a base de dados se expandir, maiores as possibilidades de relacionar posições geométricas possíveis de interação ou atribuir novas substâncias coformadoras. Também é válido ressaltar que podem ser analisadas outras espécies de sítios para os coformadores, envolvendo diferentes grupos químicos, como também melhorar a especificidade do critério de busca.

5.1.1 Estudos de simulação da superfície de potencial eletrostático (SPE)

Para investigar os sítios presentes na CFZ e no coformador selecionado (PABA) que apresentam maior probabilidade de interação, foi realizado o estudo teórico, por meio da obtenção da superfície de potencial eletrostático (SPE). Estes estudos são essenciais para a determinação dos possíveis sítios doadores e receptores de hidrogênio, possibilitando presumir a formação de sítions a partir da interação das espécies químicas investigadas. Em uma SPE, podem ser visualizadas regiões com cores variando em uma escala cromática do vermelho ao azul, que representam as regiões nucleofílicas e eletrofílicas respectivamente. Na Figura 20 estão ilustradas as SPE's obtidas para a molécula de CFZ.

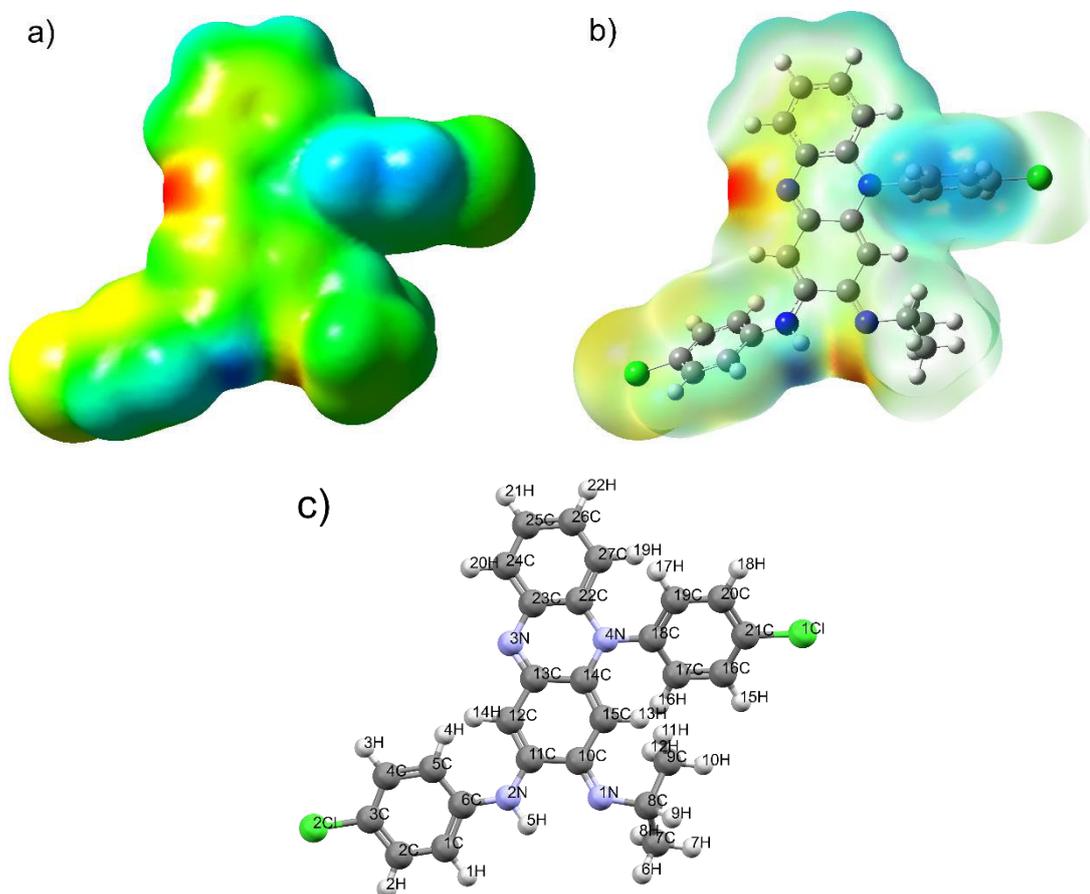


Figura 20: Estruturas da CFZ com SPE a) sólida e b) semitransparente, evidenciando as diferenças de potencial eletrostático. Em c), legendas dos átomos da molécula de CFZ.

A CFZ apresentou quatro regiões principais, duas nucleofílicas, indicadas em vermelho (Imina 2N e clorobenzeno ligado ao nitrogênio lateral da fenazina) e duas eletrofílicas indicadas em azul (3N e imina 1N). Estas regiões têm maior probabilidade de interação com outras substâncias, tendo em vista suas densidades eletrônicas. Além disso, estas regiões são envolvidas nas interações da CFZ com outros coformadores, resultado, por

exemplo, na formação de sais deste fármaco com ácidos carboxílicos^[82]. Em geral, os coformadores interagem nas regiões contendo aminas (átomos 1N e 2N) para formar sais, enquanto o solvato de CFZ com acetona resulta da interação da região eletrofílica do clorobenzeno (átomos 16C a 21C)^[82] da CFZ com o solvente. Esta análise também está de acordo com os resultados da propensão a ligações de hidrogênio (*hydrogen bond propensities*) descrita no item 5.1, o que concorda com este resultado teórico.

O PABA apresentou três regiões eletrofílicas, uma em 1O e duas em 1N, e uma região nucleofílica em 2O, como ilustra a Figura 21. Como o grupo ácido carboxílico apresenta uma região doadora e uma aceptora, o PABA tende a formar síntons do tipo R_2^2X , ou seja, do tipo anel (veja item 3.4.2). Este resultado também concorda com os trabalhos que reportaram interações intermoleculares com o PABA^[106].

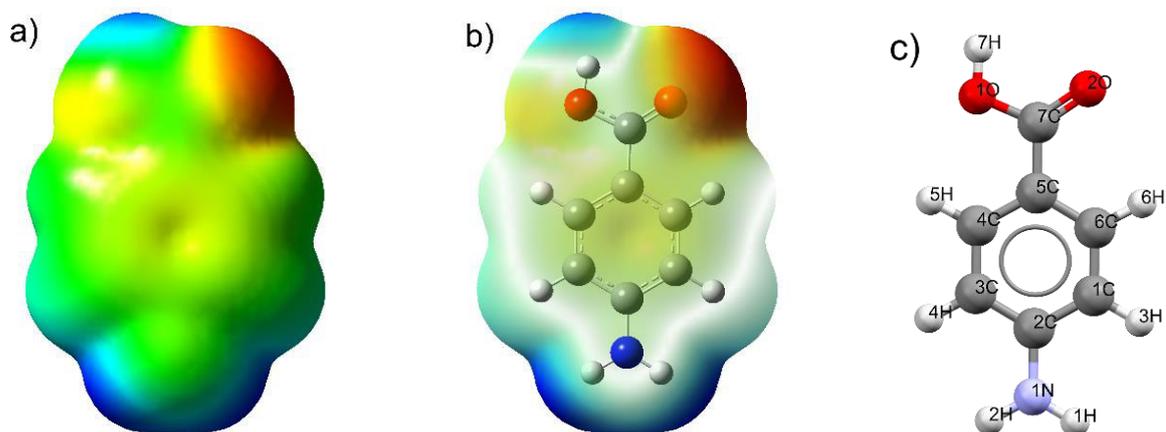


Figura 21: Estruturas do PABA com SPE a) sólida e b) semitransparente mostrando as diferenças de potencial eletrostático. Em c), as legendas dos átomos da molécula do PABA.

A maioria das interações em novas dispersões sólidas de CFZ reportadas até o momento envolverem a transferência de próton do coformador para a CFZ, e devido a isto, foi realizado o estudo considerando o estado iônico da CFZ e do PABA. Como todos os trabalhos que reportaram a formação de sais de CFZ sugeriram a monoprotocação da região imina 1N, ela foi considerada para o estudo. A Figura 22 ilustra o resultado da SPE obtido para cada composto.

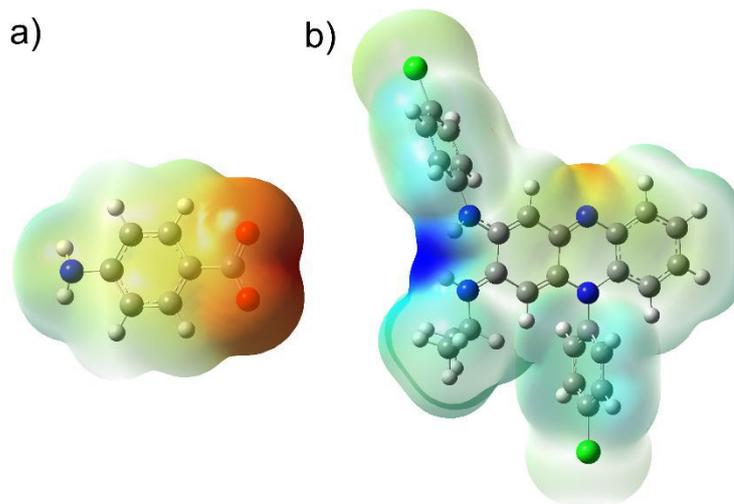


Figura 22: Superfície de potencial eletrostático para o estado monoprotonado do a) PABA e da b) CFZ.

Quando a CFZ se encontra em estado protonado, a região imina 1N passa a apresentar caráter eletrofílico. Complementar, o PABA em estado desprotonado, passa a apresentar duas regiões nucleofílicas na região do grupo carboxílico. Neste estado, a interação entre ambas as espécies provavelmente resultariam em um sinton R_2^17 , pela transferência de próton do PABA para a CFZ (Figura 23), conforme estudos reportados em interações da CFZ para formação de sais (Tabela 5). Além disso, como a diferença de pK_a entre o PABA e a CFZ é maior que três ($\Delta pK_a = 3,65$), possivelmente ocorrerá a formação de um sal e, conseqüentemente, a ocorrerá a transferência de próton. Esta característica é muito importante para entender o mecanismo de interação entre a CFZ e PABA, observados nas análises de FTIR, DRXP e ERD.

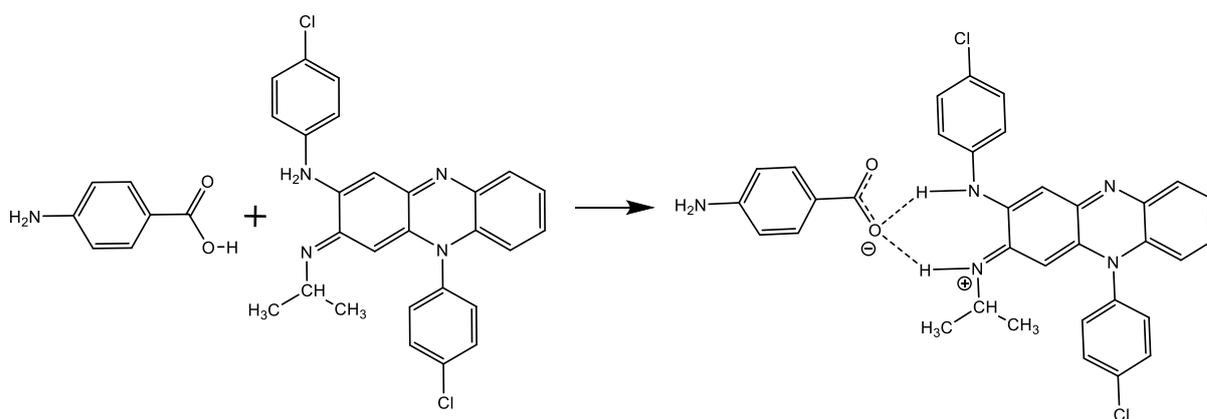


Figura 23: Mecanismo de reação sugerido para a interação de CFZ e PABA na razão molar de 1:1.

5.2 Sais de CFZ e PABA obtidos

A síntese dos sais de CFZ e PABA foi baseada no método de moagem líquida assistida (LAG), adaptada de Bolla e Nangia (2012)^[82], que sintetizaram sais de CFZ com outros coformadores. Os produtos obtidos da interação de CFZ com PABA apresentaram colorações escurecidas, cujas tonalidades foram intensificadas com a redução da concentração da CFZ, sendo diferentes da coloração observadas nos compostos de partida, como ilustrado na Figura 24.

PABA	1-7	1-4	1-3	1-2.68	1-2	1-1.5	1-1	1.5-1	2-1	3-1	CFZ
0	12,5	20	25	28,6	33,4	40	50	60	66,7	75	100
Porcentagem de CFZ (% mol)											

Figura 24: Dispersões sólidas de CFZ com PABA obtidos por LAG. Aumento da concentração de CFZ da esquerda para a direita.

A CFZ apresenta naturalmente uma coloração vermelha^[6] em sua forma encontrada comercialmente, como também nos demais polimorfos e em sua forma amorfa relatada na literatura^[87]. O PABA é um pó branco ou branco amarelado, como descrito por outros estudos que usaram esse mesmo coformador^[98]. Logo, o fato da coloração dos novos materiais obtidos se apresentar muito diferente do que foi observado na CFZ e PABA, sugere a ocorrência da interação entre estes compostos.

Estudos têm relatado a interação de compostos modificando a ressonância de anéis aromáticos do API para formação de sais e cocristais^[166 - 168]. A CFZ apresenta em sua estrutura os anéis da fenazina, responsáveis por sua coloração vermelha. Por sua cor sofrer alteração, indica que o PABA está interagindo com a CFZ alterando alguma propriedade de ressonância relacionada a porção fenazina, modificando a região de absorção molecular^[149]. Segundo Nier e colaboradores (2016)^[87], este fenômeno de mudança de coloração envolvendo a CFZ também pode ser observado quando se recristaliza a CFZ utilizando ácido acético glacial ou ácido fórmico como solvente. Curiosamente, nenhuma mudança de cor foi detectada para dispersões sólidas de CFZ preparadas com polímeros que não possuem o grupo ácido carboxílico em sua estrutura (por exemplo, PVP/VA ou HPMC)^[87].

As misturas físicas de CFZ com PABA (CFZ-PABA (1:1)_{MF} e CFZ-PABA (1:2,68)_{MF}), apresentaram apenas uma redução da intensidade da cor vermelha da CFZ. Frente a esta característica, fica evidente a interação de CFZ com PABA por LAG. Também se constata que é necessário a presença do solvente para facilitar a redução da energia da rede cristalina e atuar na difusão das moléculas de API e coformador, favorecendo a interação entre estes compostos.

Não foram observadas modificações no aspecto do PABA recristalizado (PABA_{REC}). Durante a recristalização da CFZ em meio de acetona, solvente usado para a síntese das dispersões sólidas, observou-se a formação imediata de um produto de cor vermelho-escuro (inspecionado visualmente), sendo possivelmente o solvato reportado na literatura^[82]. À medida que a trituração prossegue a cor da CFZ retorna ao seu estado inicial em função da evaporação do solvente. Logo, o produto enegrecido obtido a partir da interação da CFZ com o PABA não é intrínseco ao solvente, mas sim da interação entre os dois compostos que é facilitada pelo solvente.

5.3 Caracterização espectroscópica dos materiais obtidos neste estudo

5.3.1 Difração de Raios X em pó (DRXP)

5.3.1.1 Análise dos compostos de partida (CFZ e PABA) e de suas misturas físicas

A CFZ e o PABA apresentam diferentes formas polimórficas com características estruturais, físico-químicas e térmicas distintas, e estes polimorfos são induzidos por condições em que os compostos são submetidos tais como: temperatura, pH e recristalização em solvente^[23]. Dessa forma, se faz necessário submeter a CFZ e o PABA às mesmas condições experimentais na qual as dispersões sólidas foram sintetizadas e caracterizá-los. Assim, é possível garantir que o processo de obtenção não induz à formação de polimorfos, eliminando resultados falso-positivos de formação de uma nova fase. Iniciar uma análise para obter uma nova dispersão sólida desconhecida, e obter um polimorfo em meio ao processo (que apresenta padrão de DRXP diferente do composto de partida) comprometer a compreensão dos resultados. Além disso, tomou-se um cuidado especial sobre as análises, tendo em vista que Bolla e Nangia (2012)^[82] reportaram um solvato da CFZ com acetona, solvente adotado para esta metodologia.

Os padrões de DRXP obtidos para CFZ, CFZ_{REC}, PABA e PABA_{REC}, mostrados na Figura 25, foram refinados pelo método de Rietveld, utilizando os arquivos de informação cristalográficas DAKXUI01^[85] e AMBNAC01^[101], respectivamente.

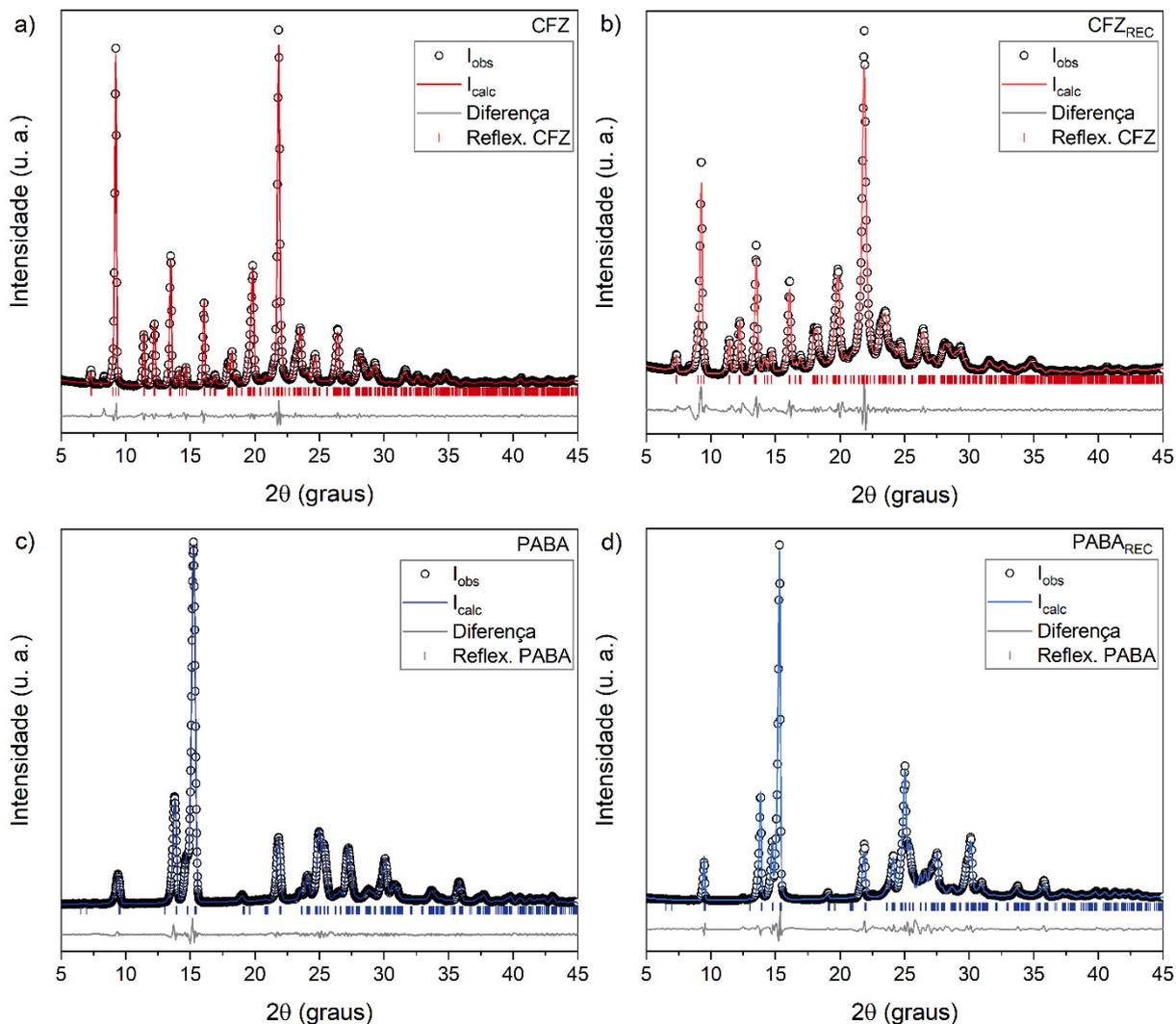


Figura 25: Difratomogramas da a) CFZ; b) CFZ_{REC}; c) PABA e; d) PABA_{REC} refinados pelo método de Rietveld.

Bons parâmetros estatísticos foram obtidos para os refinamentos de CFZ ($R_{wp}= 5,74\%$; $R_p= 3,83\%$; $\chi = 2,36$), CFZ_{REC} ($R_{wp}= 6,70\%$; $R_p= 4,33\%$; $\chi = 2,87$), PABA ($R_{wp}= 5,70\%$, $R_p= 4,03\%$, $\chi = 1,50$) e PABA_{REC} ($R_{wp}= 8,58\%$; $R_p= 6,10\%$; $\chi = 2,92$), indicando uma boa concordância entre os dados observados (obtidos experimentalmente) e calculadas (obtidos pela aproximação matemática). Os parâmetros de rede também apresentaram boa concordância^[85, 101], exibindo coeficientes de variação menores que 0,7 %, conforme descritos na Tabela 13.

Desse modo, é possível afirmar que as fases cristalinas de CFZ e CFZ_{REC} encontram-se na forma I, termodinamicamente mais estável e comumente utilizada para preparação de

medicamentos. O PABA e PABA_{REC} também se encontram em sua forma cristalina mais estável, conhecida como forma α . Por conseguinte, a metodologia de síntese adotada não afetou as formas cristalinas de CFZ ou PABA, e não levou a formação de polimorfos em meio ao processo. De forma geral, foi observada apenas uma maior largura à meia altura (ou FWHM, do inglês *Full Width Half Maximum*) nos picos dos espectros de CFZ_{REC} e PABA_{REC} quando comparados com CFZ e PABA. Uma maior FWHM está relacionado com o tamanho de cristalito que diminui por meio da moagem^[119], sendo um comportamento esperado.

Tabela 13: Parâmetros cristalográficos obtidos por meio do refinamento Rietveld da CFZ, CFZ_{REC}, PABA e PABA_{REC}.

Parâmetro	Experimental		Literatura	C.V.CFZ (%)	C.V.CFZ _{REC} (%)
	CFZ	CFZ _{REC}	DAKXUI01 ^[85]		
a (Å)	10,557(47)	10,542(33)	10,507	0,339	0,237
b (Å)	12,890(46)	12,868(41)	12,852	0,213	0,090
c (Å)	9,645(16)	9,611(16)	9,601	0,323	0,077
α (graus)	96,00(29)	96,05(29)	95,96	0,033	0,063
β (graus)	97,26(22)	97,27(21)	97,22	0,029	0,041
γ (graus)	69,57(34)	69,45(30)	69,73	0,168	0,286
Parâmetro	PABA	PABA _{REC}	AMBNAC01 ^[101]	C.V.PABA (%)	C.V.PABA _{REC} (%)
a (Å)	18,716(46)	18,552(64)	18,551	0,627	0,006
b (Å)	3,853(20)	3,836(13)	3,860	0,117	0,439
c (Å)	18,558(55)	18,608(67)	18,642	0,320	0,130
β (graus)	93,46(30)	93,62(23)	93,56	0,077	0,048

C.V.: Coeficiente de variação.

Para investigar a interação entre CFZ e PABA pelo simples contato, foi realizada uma mistura física (MF), na ausência de solvente, de acordo com a metodologia descrita no item 4.2.2.3. As proporções molares selecionadas para a realização da mistura física foram 1:1 (por ser estequiometria ótima de formação do sal CFZ-PABA (1:1)) e 1:2,68 (estequiometria ótima de formação do sal CFZ-PABA (1:2,68), valor obtido pela regressão linear dos dados de grau de cristalinidade do item 5.3.1.4). Os padrões de DRXP das misturas físicas binárias refinadas estão ilustrados na Figura 26.

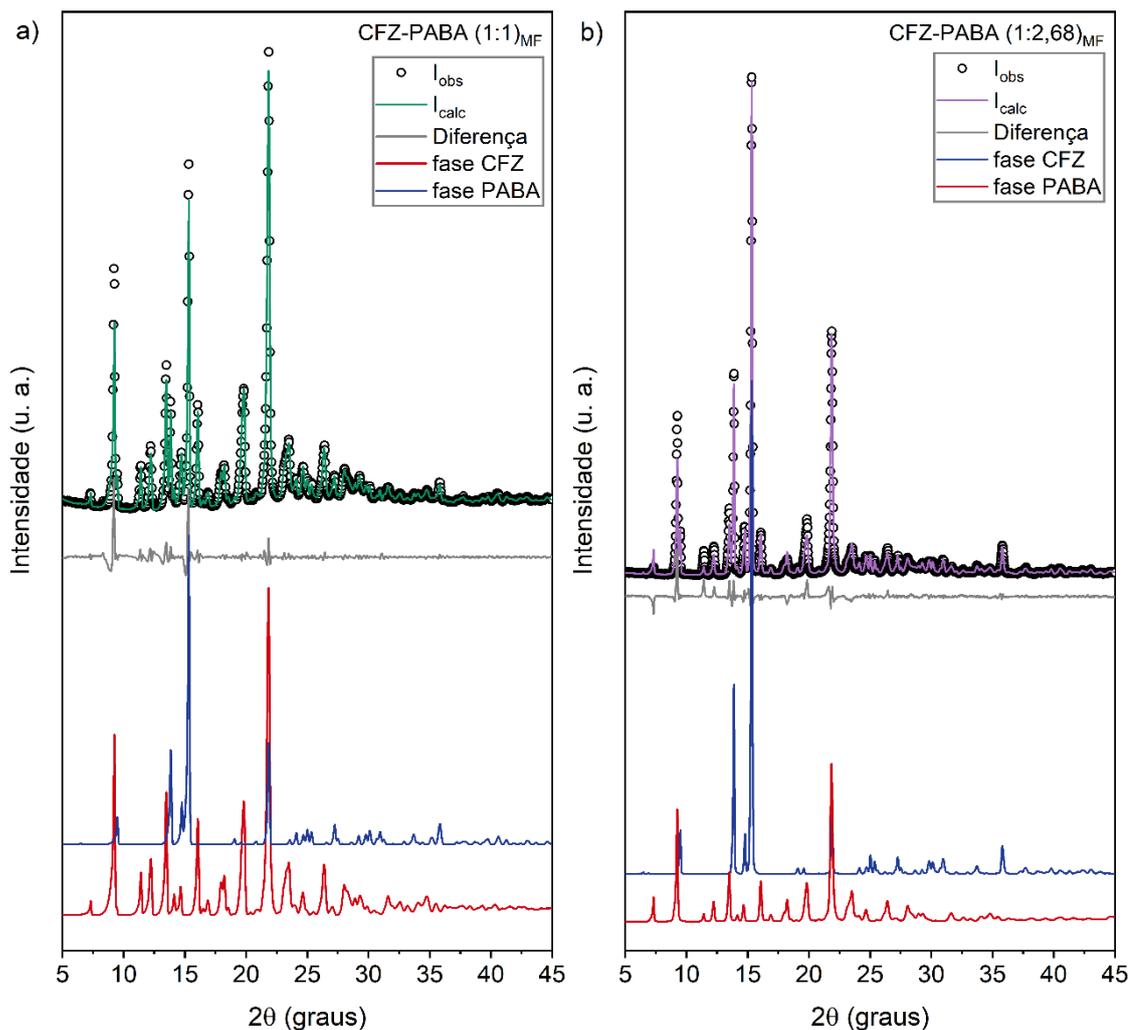


Figura 26: Difratomogramas da a) CFZ-PABA (1:1)_{MF} e b) CFZ-PABA (1:2,68)_{MF} refinados pelo método de Rietveld. Em cada gráfico, a intensidade calculada (I_{calc}) e observada (I_{obs}) sobrepostas; diferença entre a intensidade calculada e observada; e os espectros referentes as contribuições das fases CFZ e PABA, extraídos por decomposição de intensidades do espectro calculado.

Os refinamentos dos espectros apresentaram bons parâmetros estatísticos para CFZ-PABA (1:1)_{MF} ($R_{wp}= 11,12 \%$, $R_p= 5,90 \%$, $\chi = 5,84$) e CFZ-PABA (1:2,68)_{MF} ($R_{wp}= 12,50 \%$; $R_p= 7,77 \%$; $\chi = 4,80$), mostrando coerência do resultado. Para as intensidades observadas no espectro de CFZ-PABA (1:1)_{MF} e CFZ-PABA (1:2,68)_{MF}, foram constatadas a sobreposição dos espectros devido à contribuição das intensidades de reflexão da CFZ e do PABA, sugerindo que não houve alterações estruturais. Este comportamento é padrão de dispersões sólidas que não interagem ao nível molecular, ou seja, quando não há formação de novas fases. Dessa forma, o simples contato de CFZ e PABA não é suficiente para gerar novas fases, e não existe reatividade entre os compostos sem aplicação de técnicas de cristalização como LAG. Os resultados calculados de proporção mássica para cada mistura obtidos por meio do

refinamento Rietveld, também se mostraram condizentes com o adicionado, conforme descrito na Tabela 14.

Tabela 14: Porcentagem mássica adicionada (experimental) e calculada (pelo método de Rietveld) para CFZ-PABA (1:1)_{MF} e CFZ-PABA (1:2,68)_{MF}.

	Adicionado (% m/m)		Calculado (% m/m)	
	CFZ	PABA	CFZ	PABA
CFZ-PABA (1:1)_{MF}	77,92 ± 0,01	22,57 ± 0,01	78,58 ± 0,43	21,42 ± 0,43
CFZ-PABA (1:2,68)_{MF}	56,86 ± 0,01	42,21 ± 0,01	56,01 ± 0,12	43,99 ± 0,12

5.3.1.2 Análise dos sais de CFZ e PABA obtidos

Após a análise dos compostos de partida CFZ e PABA, e de CFZ_{REC} e PABA_{REC} para investigar a influência da metodologia de experimentação, foram realizadas sínteses para obtenção das dispersões sólidas. Com o propósito de otimizar a estequiometria ótima de formação, foram realizadas sínteses utilizando diferentes razões molares. A Figura 27 ilustra os padrões de difração das diferentes razões molares obtidas.

De acordo com os dados apresentados, à medida que a concentração de CFZ diminui nos produtos obtidos (proporções 3:1; 2:1 e; 1,5:1), os picos de difração relativos à fase CFZ tendem a reduzir sua intensidade, indicando conseqüentemente o desaparecimento gradativo da estrutura cristalina referente à CFZ. Por outro lado, picos referentes à nova fase (sal de CFZ-PABA (1:1)) surgem com maior intensidade. Assim, em CFZ-PABA (1:1), a intensidade dos picos relativos à nova fase é máxima, e os picos referentes às fases CFZ e PABA encontram-se ausentes, demonstrando que nesta razão molar está presente somente o sal CFZ-PABA (1:1).

A interação de dois compostos para obtenção de novas dispersões sólidas, comumente resultam em apenas uma estequiometria ótima de formação como, por exemplo, é relatado em estudos envolvendo a síntese de sais PABA usando outros API's^[154]. Por este motivo, esperava-se o aparecimento de picos relativos a fase cristalina PABA em razões molares cuja concentração de CFZ é menor que 50% (proporções 1:1,5; 1:2; 1:2,68; 1:3; 1:4 e 1:7). No entanto, este comportamento não foi observado, pois, foi detectada a amorfização das dispersões sólidas nestas proporções, com máximo de produto amorfo em CFZ-PABA (1:2,68). Assim, notou-se que CFZ e o PABA interagem nas estequiometrias de 1:1 e 1:2,68 resultando na formação de um sal cristalino e um sal amorfo, respectivamente. Estudos têm

reportado a existência de algumas exceções de cocrystalis que ocorrem em mais de uma razão molar^[23], que se devem à flexibilidade dos compostos para a formação de diferentes sintonis.

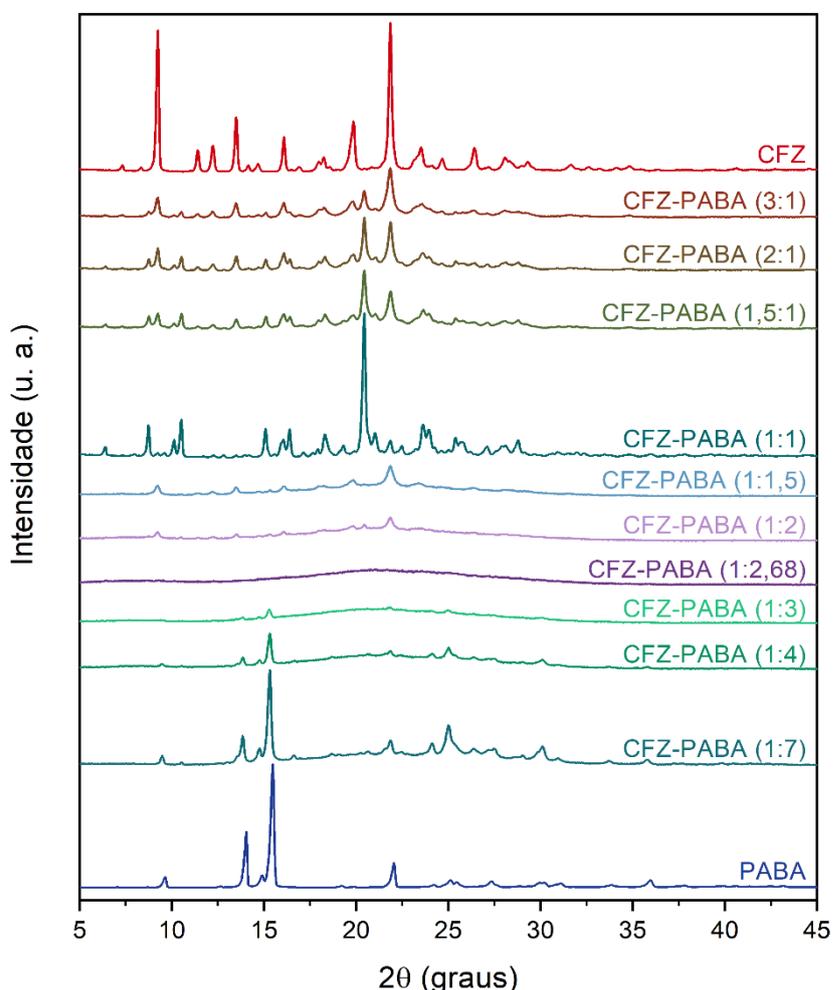


Figura 27: Difratogramas das interações binárias de diferentes proporções de CFZ e PABA, sintetizados pelo método de LAG.

Além disso, logo após o início da amorfização (de CFZ-PABA (1:1,5) à CFZ-PABA (1:2)), não é detectado excesso do sal CFZ-PABA (1:1), mas sim excesso da fase CFZ. Este comportamento pode ter ocorrido a partir da competição do PABA pelos sítios de interação e, aparentemente, é termodinamicamente mais favorável à interação para formar a fase CFZ-PABA (1:2,68). Detalhes do padrão de DRXP das proporções ótimas de formação são ilustrados na Figura 28. Comparando esses difratogramas com as respectivas misturas físicas, foi possível detectar diferenças de posição e intensidade dos picos. A posição dos picos em um espectro de DRXP é determinada pelos parâmetros de rede do material, devido às reflexões dos planos cristalográficos ali existentes, e suas intensidades pela posição atômica das moléculas dentro da rede^[119]. Desse modo, as modificações observadas nos difratogramas

de CFZ-PABA (1:1) e (1:2,68), permitem afirmar que houve a formação de uma nova fase cristalina, com arranjos moleculares diferentes.

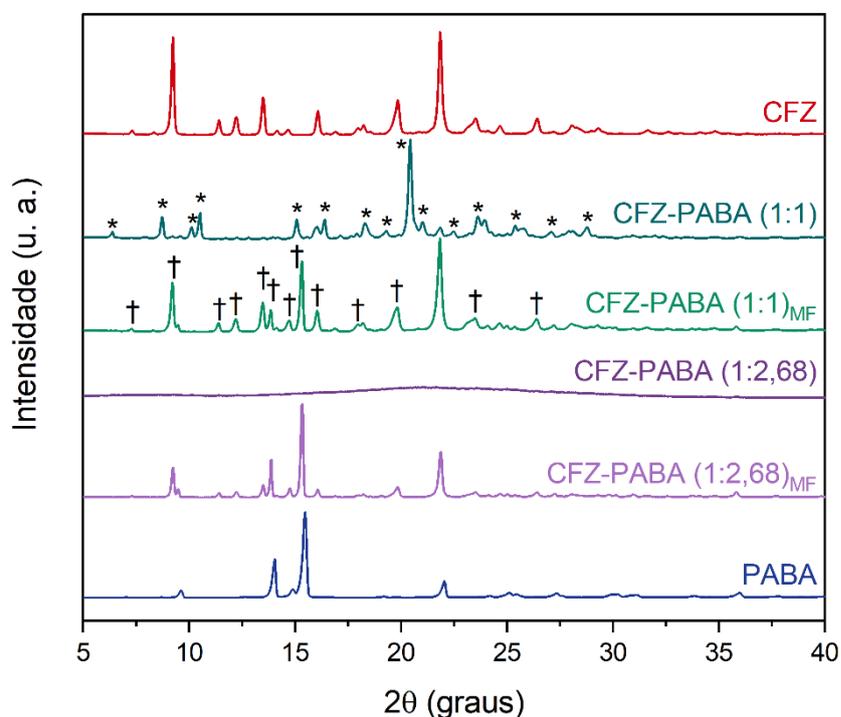


Figura 28: Difratogramas dos compostos de partida, CFZ-PABA (1:1), CFZ-PABA (1:2,68), e respectivas misturas físicas. (*) Indica um novo pico, não existente nos espectros de CFZ ou PABA e; (†) indica picos de CFZ e PABA ausentes no espectro de CFZ-PABA (1:1).

5.3.1.3 Estrutura cristalina do sal de CFZ-PABA (1:1)

Para melhor entender o comportamento do sal cristalino CFZ-PABA (1:1) obtido, estudos cristalográficos foram realizados, visando solucionar a sua estrutura cristalina.

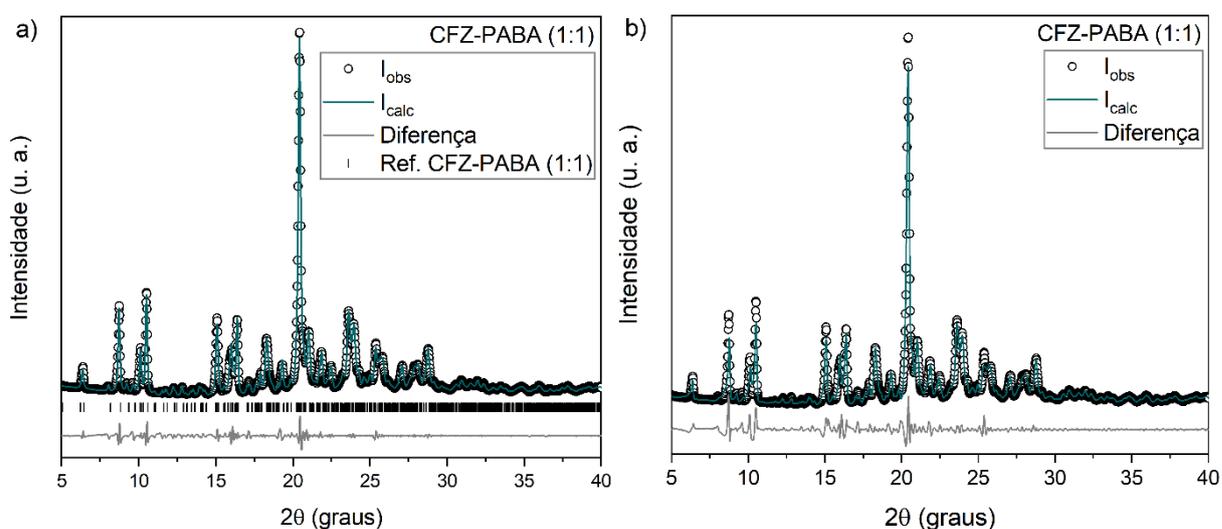


Figura 29: a) Difratograma de CFZ-PABA (1:1) refinado pelo método de Le Bail e b) pelo método de Rietveld.

Os parâmetros de rede do produto CFZ-PABA (1:1) obtido foram determinados a partir dos dados de DRXP, utilizando as rotinas do *software* DICVOL implementado nas rotinas do *software* Dash, e refinados por meio do método de Le Bail utilizando o *software* GSAS. O refinamento de estruturas utilizando o método de Le Bail é utilizado para confirmar os dados indexados, corrigir erros sistemáticos e de equipamento. Detalhes extraídos a partir dos refinamentos (Figura 29) estão descritos na Tabela 15.

Tabela 15: Parâmetros cristalográficos do sal CFZ-PABA (1:1) obtidos pelo método de Le Bail e refinados pelo método de Rietveld.

Fatores analisados	Parâmetros de rede	Parâmetros de rede
Método	Le Bail	Rietveld
Sistema cristalino	Triclínico	Triclínico
Grupo espacial	$P\bar{1}$	$P\bar{1}$
Temperatura (°C)	23 ± 2	23 ± 2
a (Å)	11,088(4)	11,086(67)
b (Å)	15,354(8)	15,365(96)
c (Å)	18,929(8)	18,936(11)
α (graus)	109,93(4)	109,9(17)
β (graus)	96,71(5)	96,69(23)
γ (graus)	97,13(5)	97,13(15)
Volume (Å³)	2962,26(23)	2964,34(31)
Região 2θ	5 – 45	5 – 45
Z	-	8
Reflexões observadas	2398	2398
R_{wp}	6,45 %	11,50 %
R_p	3,79 %	7,43 %
R_{exp}	1,78 %	1,67 %
χ	3,63	6,90

Após o refinamento utilizando o método de Le Bail, ilustrado na Figura 29a, a estrutura sugerida para CFZ-PABA (1:1) foi a triclínica, com grupo espacial $P\bar{1}$ e parâmetros de rede descritos na Tabela 15. Com estes dados extraídos, foi possível determinar as posições atômicas aplicando o método *Simulated annealing* nas rotinas do *software* Expo. Por fim, o

refinamento de estruturas considerando as posições atômicas foi realizado pelo método de Rietveld, ilustrado na Figura 29b.

De acordo com a estrutura obtida, a interação entre CFZ e PABA ocorre entre as iminas 1N e 2N e a carboxila do PABA, resultando em um sinton do tipo $R_2^1(7)$, como ilustra as Figura 30 a e b.

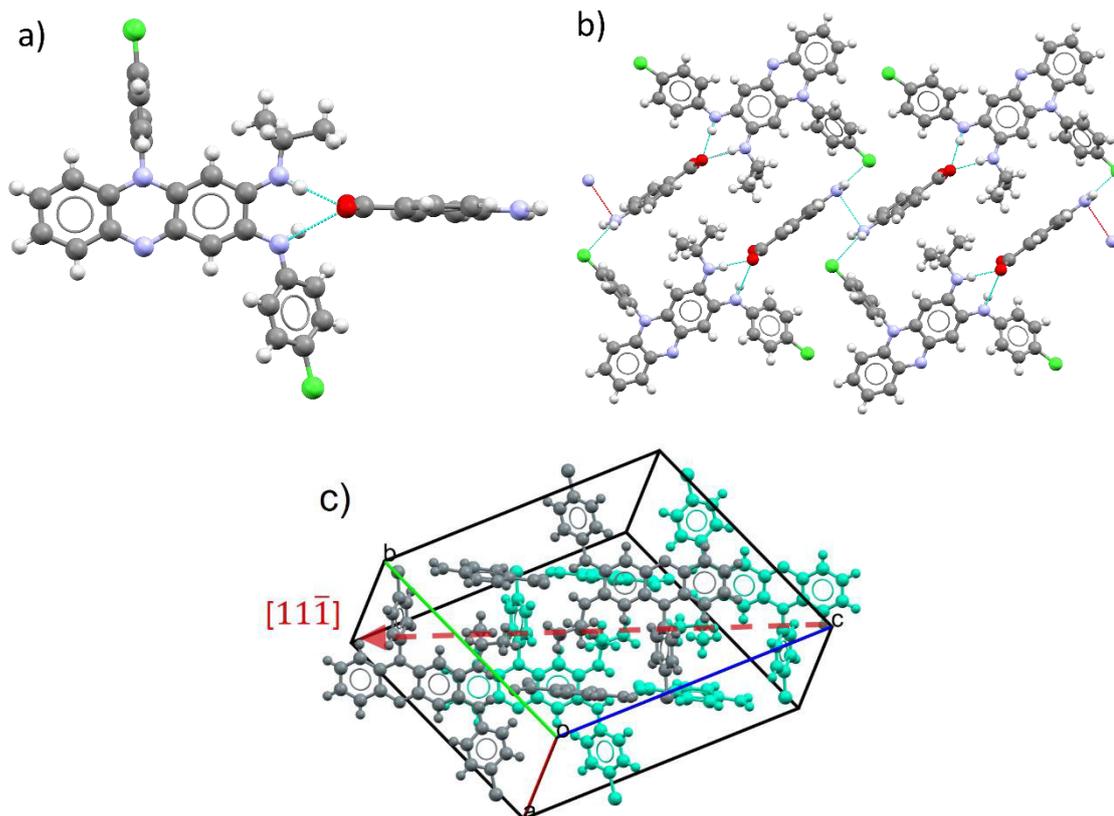


Figura 30: a) Interação de CFZ-PABA (1:1), formando o sinton $R_2^1(7)$; b) rede de interação envolvendo CFZ-PABA (1:1); c) Célula unitária de CFZ-PABA (1:1), evidenciado a sobreposição das “camadas”, em cinza e verde, de CFZ e PABA; d) arranjo das moléculas de CFZ na célula unitária.

Devido à diferença de pKa ($\Delta pK_a = 3,65$, item 3.2.1), e com base nos estudos de SPE (item 0) e referências de outras dispersões sólidas envolvendo CFZ e ácidos carboxílicos^[82, 87, 88], sugere-se que a CFZ se encontra na forma catiônica e o PABA na forma aniônica, e a transferência de próton ocorre entre a carboxila do PABA para a imina 1N da porção isopropil da CFZ.

Na célula unitária do sal CFZ-PABA (1:1) (Figura 30c), observam-se “camadas” alternadas da rede de moléculas ilustrada na Figura 30b. A camada superior (CFZ e PABA em cinza) se encontra deslocada em relação a inferior (CFZ e PABA em verde) na direção $[11\bar{1}]$. Uma consequência deste novo arranjo é a perda dos empilhamentos aromáticos, antes existentes nas estruturas de CFZ e PABA.

5.3.1.4 Análise do sal amorfo CFZ-PABA (1:2,68)

Além do sal cristalino obtido na razão molar 1:1, neste estudo também foi obtida uma fase amorfa em CFZ-PABA (1:2,68). Observou-se que o sal amorfo tem preferência de formação em relação ao sal cristalino, via LAG, tendo em vista que, imediatamente após concentrações molares de CFZ menor que 50 % mol (CFZ-PABA (1:1)), houve um excesso imediato de CFZ e não do sal cristalino CFZ-PABA (1:1) (Figura 27). Para confirmar a substância em excesso em cada proporção que apresentou amorfização, foram realizados refinamentos dos padrões dos DRXP (Figura 31). A ausência de picos no difratograma de CFZ-PABA (1:2,68), indicam uma fase amorfa completa. No estado amorfo as moléculas se encontram num estado de energia maior que a forma cristalina, o que embora a torna inerentemente instável, com tendência a recristalizar em seu estado termodinamicamente mais estável, costumam apresentar um melhor desempenho no que diz respeito a solubilidade^[32, 33].

O grau de cristalinidade de cada razão molar foi determinado a partir do refinamento de estrutura pelo método de Rietveld (Figura 31). De acordo com a análise, ilustrada na Figura 32, a razão 1:2,68 foi a que apresentou a maior quantidade de matéria amorfa.

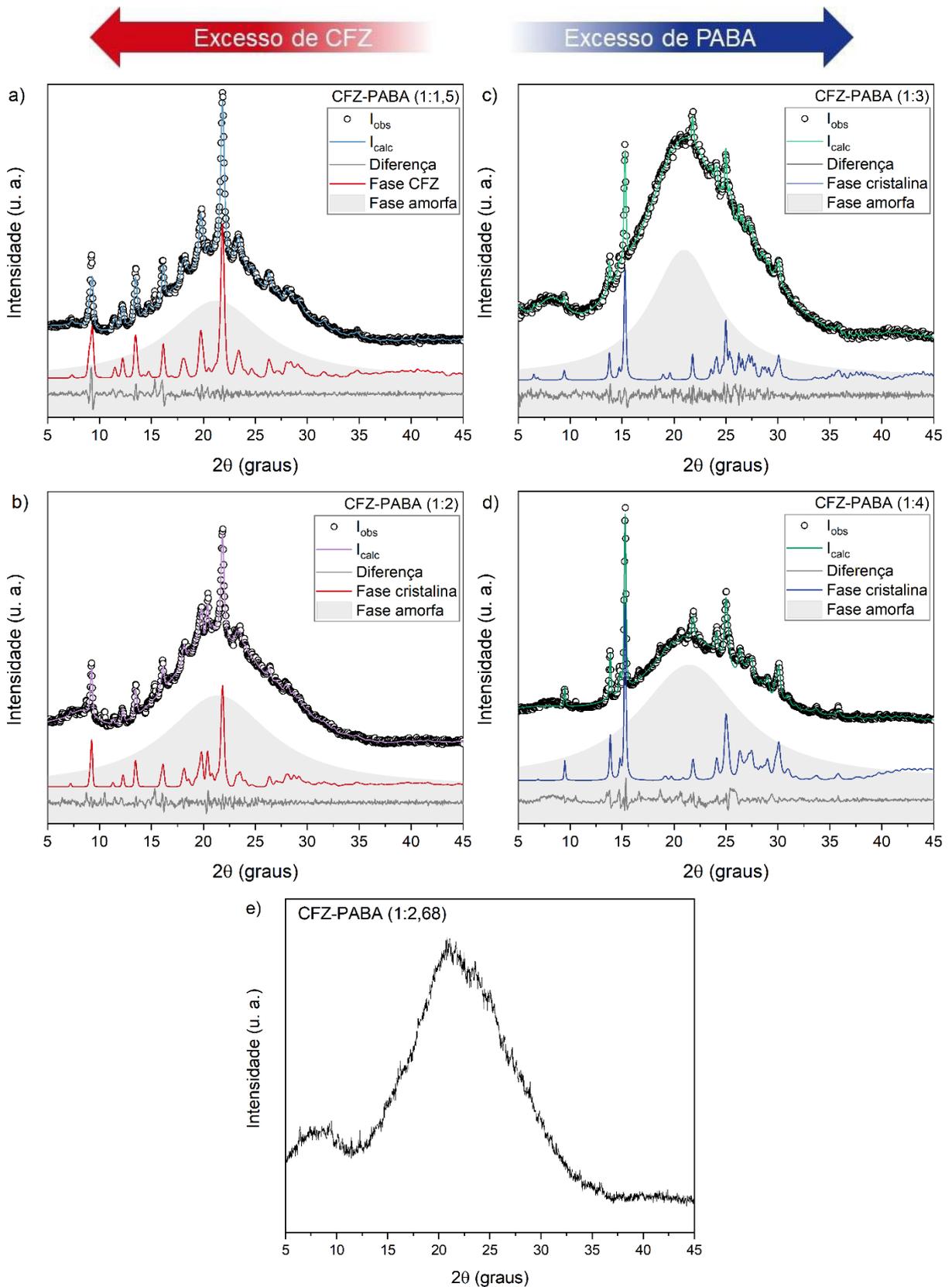


Figura 31: Difractogramas de CFZ-PABA (1:2,68) e razões molares próximas (1:1,5, 1:2, 1:3 e 1:4), refinados pelo método de Rietveld. Em cada figura, a contribuição da banda amorfa é destacada em cinza, e logo abaixo, a contribuição de cada fase cristalina extraída do espectro calculado são destacadas.

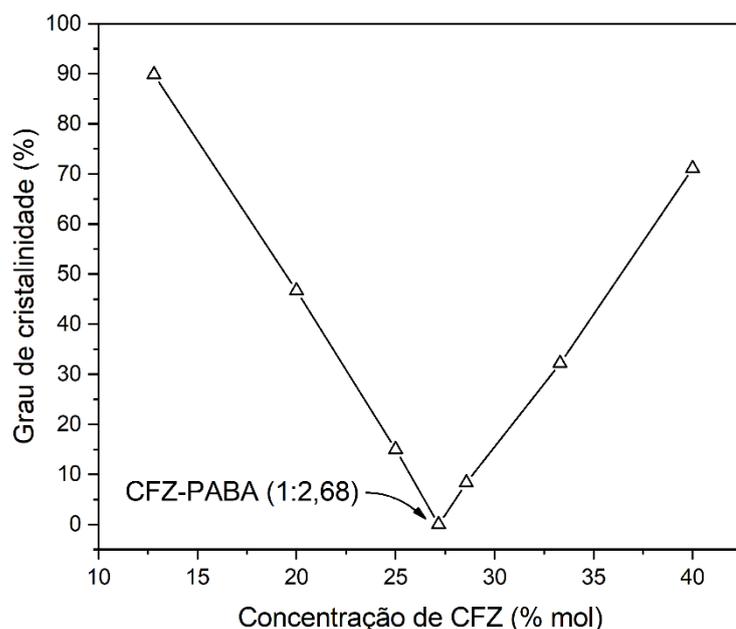


Figura 32: Grau de cristalinidade obtido por meio do refinamento, em função da concentração de CFZ.

5.3.1.5 Obtenção dos sais de CFZ com PABA pelo método da fusão

Além da técnica de LAG para obtenção dos produtos CFZ-PABA (1:1) e CFZ-PABA (1:2,68), também foi possível obter as mesmas dispersões sólidas utilizando o método da fusão. Quando aquecidos, CFZ-PABA (1:1)_{MF} e CFZ-PABA (1:2,68)_{MF} modificam sua coloração de vermelho para uma cor violeta intensa, assim como ocorre para as dispersões obtidas por LAG, indicando alguma reatividade. Os padrões de DRXP obtidos para as misturas físicas antes e após o aquecimento é ilustrado na Figura 33. Observa-se uma clara semelhança entre os padrões de DRXP de CFZ-PABA (1:1)_{MF}FUS e CFZ-PABA (1:2,68)_{MF}FUS com as dispersões sólidas CFZ-PABA (1:1) e CFZ-PABA (1:2,68) obtidas por LAG. Por esse motivo, foi utilizado o arquivo de informações cristalográficos obtido para CFZ-PABA (1:1) para aplicação do método de refinamento Rietveld no padrão de DRXP de CFZ-PABA (1:1)_{MF}FUS. Os resultados mostraram um bom ajuste das intensidades observadas e calculadas ($R_{wp}= 5,70 \%$, $R_p= 4,21 \%$, $\chi = 1,30$) e confirmam que a fase obtida pelo método da fusão é similar ao sal cristalino CFZ-PABA (1:1). Para a proporção 1:2,68 notou-se a amorfização do material, também semelhante ao obtido via LAG para esta proporção.

Como observado para LAG, a utilização de um solvente favorece a interação de CFZ e PABA por ajudar na difusão de moléculas do API e coformador. Quando aplicado o método

da fusão, que fornece energia para o sistema na forma de calor, a interação entre os componentes também é facilitada pela redução da energia da rede cristalina e difusão das moléculas.

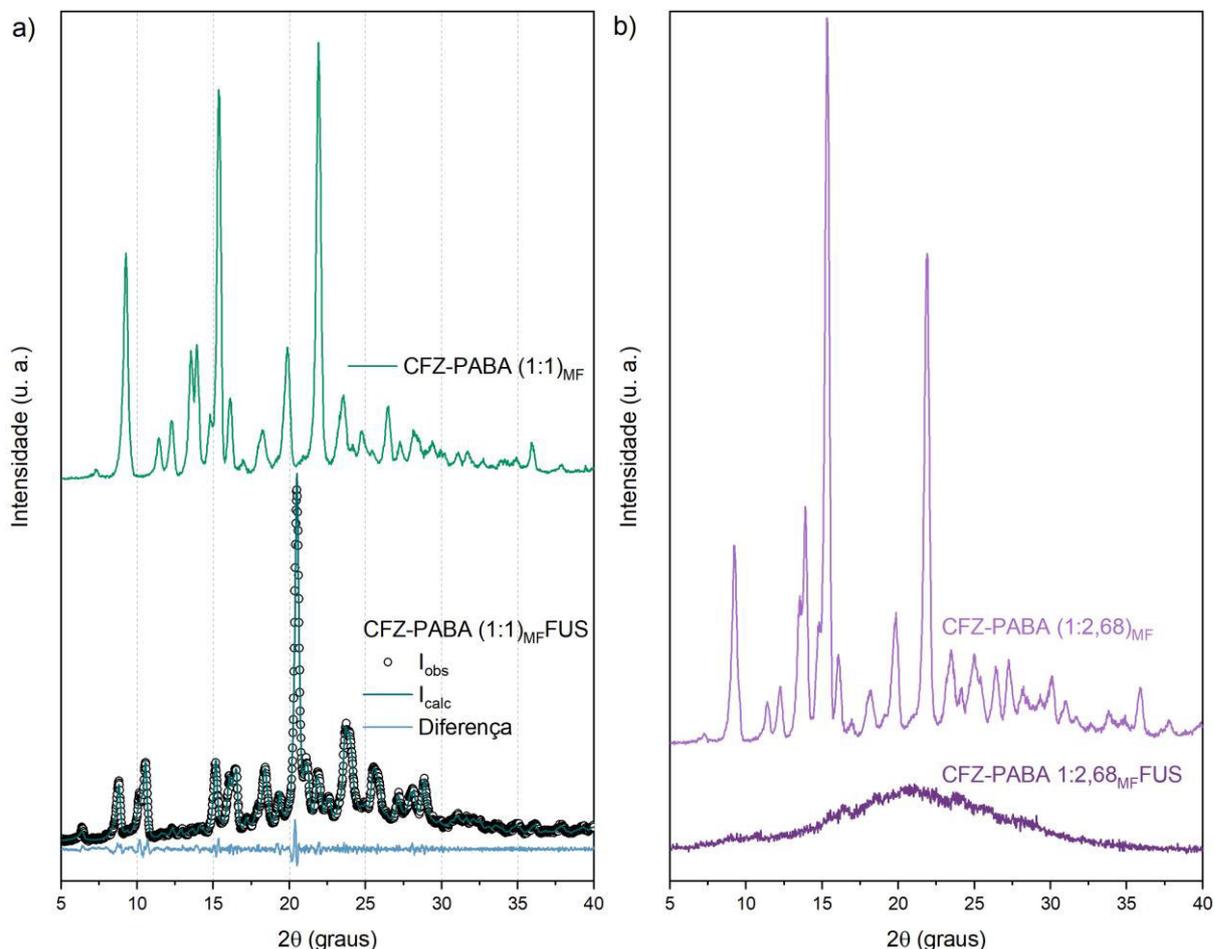


Figura 33: a) Padrões de DRXP da mistura física CFZ-PABA (1:1)_{MF} antes e após aquecimento (CFZ-PABA (1:1)_{MF}FUS.) refinados pelo método de Rietveld, demonstrando sua similaridade com os espectros obtidos via LAG para a mesma proporção. b) Padrões de DRXP da mistura física CFZ-PABA (1:2,68)_{MF} antes e após aquecimento (CFZ-PABA (1:2,68)_{MF}FUS.), demonstrando a amorfização do material.

5.3.2 Espectroscopia UV-VIS por refletância difusa

A coloração de um composto, e correspondente absorção molecular no espectro visível, é causada por transições eletrônicas entre níveis de energia do seu grupo cromóforo^[169]. A CFZ apresenta como grupo cromóforo a iminofenazina, que é responsável por sua coloração vermelha e consequente absorção na região do visível^[87]. Já o PABA, que apresenta coloração branca, exibe absorção no ultravioleta^[170]. Ambos os compostos também apresentam interações específicas em estado sólido, responsáveis por algumas bandas de absorção no espectro de ERD. Na Figura 34, são apresentadas as formas geométricas e

contatos intermoleculares existentes nas estruturas da CFZ e do PABA. O conhecimento do arranjo espacial destes compostos ajuda na compreensão do comportamento dos espectros de ERD, devido às transições eletrônicas que ocorrem entre grupos próximos, além das observadas nos grupos cromóforos^[141].

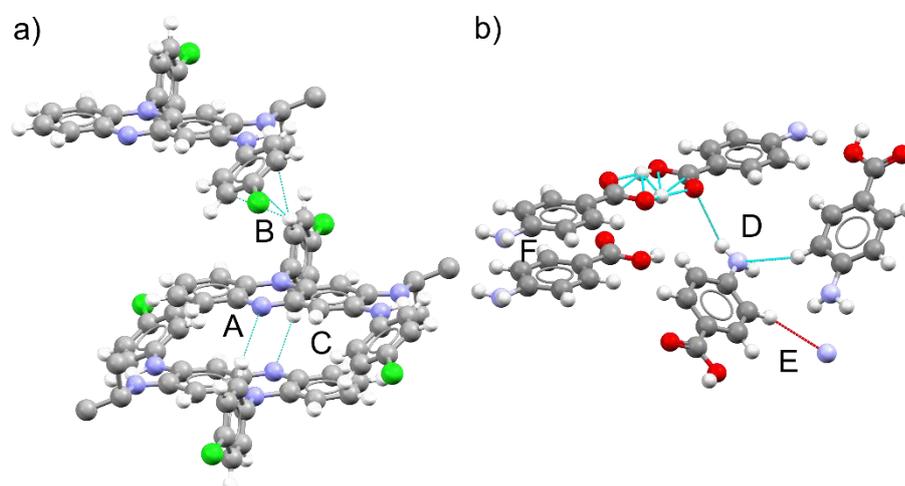


Figura 34: a) Estrutura da CFZ, evidenciando os dímeros (A) C-H...N; (B) uma interação C-H... π e; (C) empilhamentos aromáticos. b) Estrutura do PABA, com destaque para as interações (D) N-H...O, C-H...N; (E) C-H...N; (F) empilhamentos aromáticos.

Fonte: Arquivos de informações cristalográficas DAKXUI01^[185] e AMBNAC01^[1101].

As estruturas cristalinas da CFZ e do PABA apresentam, além das ligações de hidrogênio, outras forças intermoleculares fracas de interação. De acordo com a Figura 34a, o arranjo cristalino da CFZ apresenta: (A) interações fracas entre a amina secundária do grupo fenazina e o anel aromático do clorobenzeno; (B) interações entre anéis clorobenzeno; (C) empilhamento de anéis aromáticos do grupo fenazina. Para o PABA (Figura 34b) são observadas: (D) interações entre carboxila, amina e anel benzeno; (E) interação entre amina e anéis benzeno; (F) empilhamentos de anéis aromáticos. Transições associadas a estas interações e aos grupos cromóforos, são detectadas no espectro de ERD, ilustrado na Figura 35.

O espectro obtido para o PABA apresentou absorção apenas na região entre 190 nm a 400 nm. Nesta região, foram detectadas três bandas de absorção em 226, 269 e 343 nm. De acordo com Li e colaboradores (2016)^[170], as bandas observadas em 226 e 269 nm correspondem a uma mistura de transições $n-\pi^*$ e $\pi-\pi^*$, referentes às transferências de carga do grupo carboxila e amina em direção ao anel benzênico, em concordância com o observado na Figura 34b. Já a banda em 340 se deve principalmente às transições $\pi-\pi^*$ dos anéis benzenos.

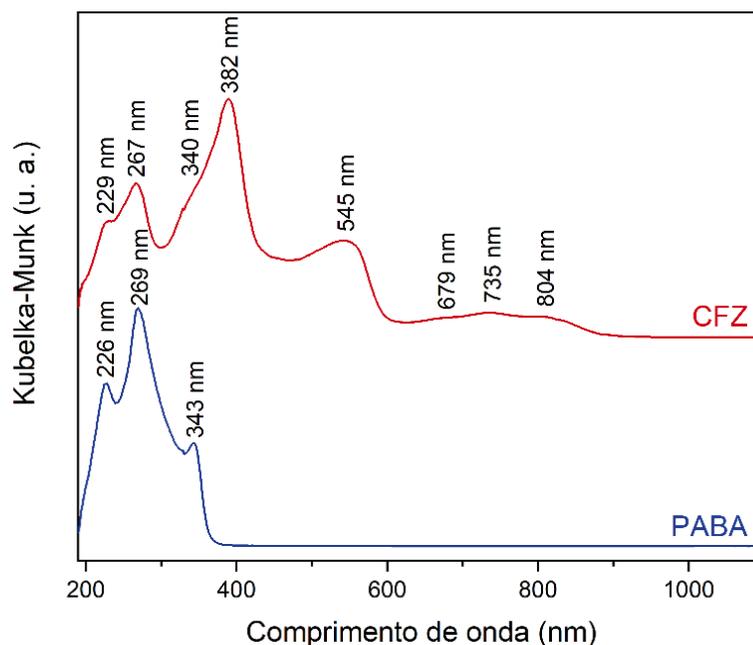


Figura 35: Espectro de refletância difusa da CFZ e do PABA.

No espectro de ERD obtido para a CFZ, nota-se quatro bandas intensas em 229, 267, 382 e 545 nm e outra adjacente em 340 nm, além de três bandas de menor intensidade em 679, 735 e 804 nm (Figura 35). Para a CFZ, não foram encontrados trabalhos que descrevem suas transições em estado sólido por meio da ERD. Estudos relataram que o espectro de absorção molecular da CFZ em solução metanólica apresenta pelo menos duas bandas características, a primeira próxima de 284 nm^[75] e uma segunda que varia de acordo com o estado de ionização. De acordo com o grau de ionização observam-se deslocamentos batocrômicos, sendo que para o estado de zwitterio (híbrido de cargas, eletricamente neutro), tem-se uma banda em 450 nm, para o monoprotonado em 487 nm e diprotonado em 550 nm^[97]. Embora estas bandas observadas para o meio líquido não sejam idênticas às da ERD (estado sólido), o comportamento é similar, principalmente para as bandas relacionadas ao grupo cromóforo^[141]. Os espectros de CFZ_{REC} e PABA_{REC} também foram obtidos demonstrando-se similares aos espectros de CFZ e PABA e, por este motivo, não foram apresentados.

Os espectros das razões molares de CFZ e PABA submetidas ao processo de LAG são ilustrados na Figura 36. As principais bandas observadas entre os espectros das dispersões sólidas obtidas estão localizadas na região entre 190 a 700 nm. As bandas em 220 e 270 nm aparentemente não sofrem deslocamentos em função da alteração na concentração dos constituintes da amostra. Já a banda adjacente em 340 nm da CFZ sofre deslocamento hipsocrômico e redução da intensidade quando próxima às proporções 1:1 e 1:2,68.

Possivelmente, essa banda está relacionada com empilhamentos π dos anéis benzenos^[171], sendo observada nos compostos de partida e, à medida que se aproxima da razão estequiométrica otimizada para a formação dos sais de CFZ com o PABA, perdem o arranjo, conforme ilustrado na estrutura resolvida da Figura 30c. A banda observada em 382 nm, no espectro da CFZ, não apresentou deslocamento significativo em todas as proporções analisadas. No entanto, quando fixado o comprimento de onda e avaliada a intensidade da banda, observou-se uma relação linear entre o valor de Kubelka-Munk e o logaritmo da concentração de CFZ, como ilustra Figura 37a.

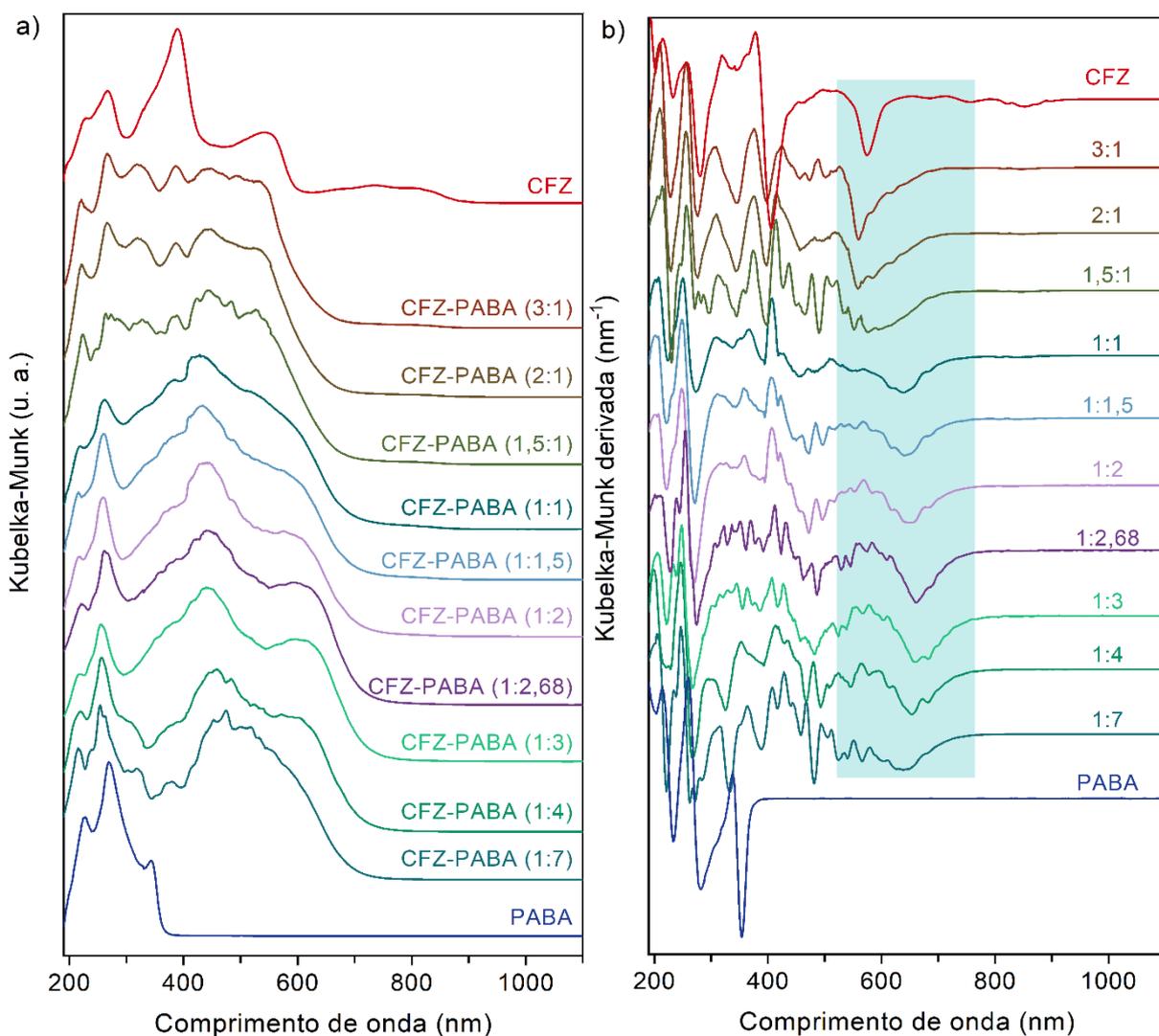


Figura 36: a) ERD das misturas de CFZ e PABA e; b) derivada dos espectros ilustrados em a), com destaque para o deslocamento de banda entre 600 e 750 nm.

As dispersões sólidas de CFZ e PABA apresentaram uma nova banda na região entre 415 a 435 nm, ilustrada na Figura 36a. Esta nova banda apresentou deslocamento hipsocrômico quando variada a concentração de CFZ, sendo que a variação máxima se encontra na razão CFZ-PABA (1:1), mostrada na Figura 37b.

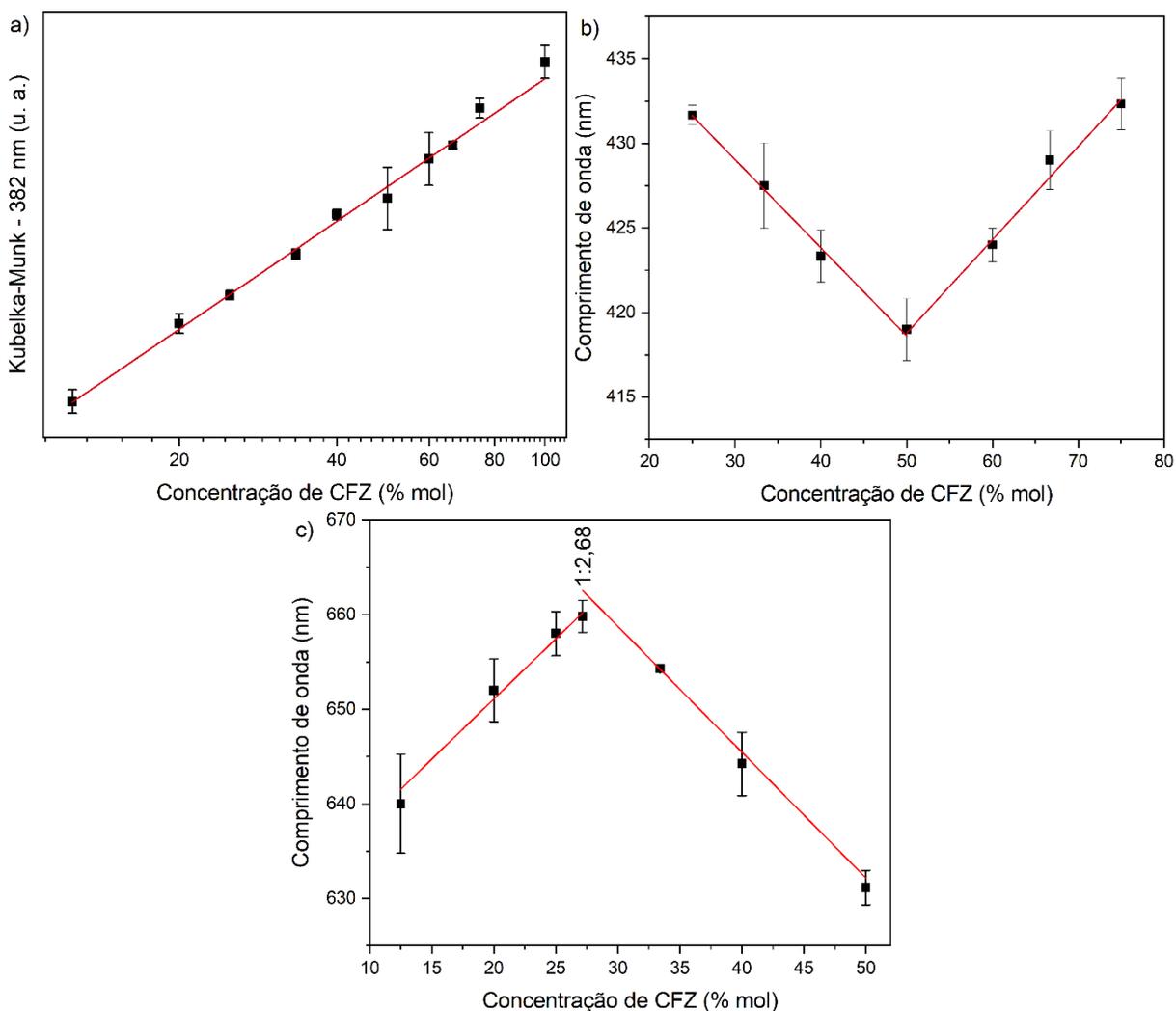


Figura 37: a) Intensidade Kubelka-Munk em função da concentração de CFZ, para o comprimento de onda 382 nm. b) Variação do comprimento de onda máximo na região de 415 a 435 nm. c) Variação do comprimento de onda máximo da primeira derivada dos espectros ERD, na região de 625 a 665 nm.

Como já observado anteriormente por DRXP, esta é uma das razões molares de formação do sal de CFZ. Nie e colaboradores (2016)^[87] quando estudaram dispersões sólidas amorfas de CFZ e ftalato de hipromelose (HPMCP), observaram que a interação entre as espécies gerou um novo material amorfo, de coloração violeta escura. Segundo os autores, o mecanismo de interação envolvia o sinton $R_2^1(7)$ entre a carboxíla do HPMCP e as iminas da CFZ. Quando analisado o espectro UV-VIS da CFZ HPMC no estado sólido, foi detectada uma banda em 450 nm, que apresentava deslocamento batocrômico para 487 nm ($\Delta\lambda = 37$ nm) à medida que se atingia a concentração ótima de interação. Os resultados observados por Nie e colaboradores (2016)^[87] de deslocamento batocrômico para a banda em 487 nm, são opostos ao observado para a banda mais próxima observada para CFZ-PABA (1:1) (deslocamento hipsocrômico relativo à banda em 419 nm). Quando há variação no

comprimento de onda máximo, como observada na Figura 37b, o deslocamento hipsocrômico está relacionado com uma maior energia para que a transição ocorra e, de maneira oposta, para o deslocamento batocrômico é necessária uma menor energia^[169]. Dessa forma, pode-se inferir que a transição ocorrida em 419 nm em CFZ-PABA (1:1) tende a ser mais energética.

Na região entre 625 a 665 nm, ilustrado na Figura 36a, também foram notados deslocamentos batocrômicos. Para melhor visualização do comprimento de onda máximo para a banda desta região, se fez necessário o uso do artifício matemático de derivada, conforme ilustrado na Figura 36b. O deslocamento de banda nesta região também segue um padrão, onde é máximo quando se aproxima da razão CFZ-PABA (1:2,68), conforme observado na Figura 36. O deslocamento batocrômico observado nesta razão molar está de acordo com os estudos realizados por Nie e colaboradores (2016)^[87] para o sal amorfo CFZ-HPMC, sugerindo que o deslocamento da banda pode estar relacionado ao estado sólido amorfo em que o material se encontra.

Como mostrado nas análises por DRXP, a interação da CFZ com o PABA na razão molar de 1:2,68 resultou na formação de uma dispersão sólida amorfa inédita. Presume-se que a obtenção desta nova dispersão de CFZ foi possível devido à forma diprotonada que a CFZ também pode assumir, de acordo com o pH do meio^[97]. A razão de interação de CFZ e PABA na proporção otimizada de 1:2,68, ocorre pela transferência parcial de próton do PABA em uma das regiões de interação com a CFZ.

5.3.3 Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

Os espectros obtidos pela FTIR das dispersões sólidas investigadas neste trabalho foram avaliados para elucidar o mecanismo de interação do API com o coformador, por meio das alterações dos modos vibracionais dos materiais obtidos. A FTIR é uma técnica muito útil para analisar a ocorrência de ligações de hidrogênios presentes entre as moléculas, e também tem sido utilizada para diferenciar o estado iônico do produto obtido, e validar a hipótese de formação sal (ou cocrystal)^[82, 87, 148]. As ligações iônicas não ressoam na presença de radiação infravermelha, dessa forma, para avaliar a formação de sal com CFZ, a FTIR pode ser utilizada para sondar interações na região do átomo 1N (Figura 19) como, por exemplo, a nova ligação 1N-H do sal e investigar o estiramento da ligação dupla C=1N do grupo iminas^[148].

Na Figura 38 são ilustrados os espectros da CFZ e PABA, junto com as demais proporções estequiométricas de interação. Os principais modos vibracionais necessários para

avaliar a formação de uma dispersão sólida do tipo sal, foram descritos por Bolla e Nangia (2012)^[82] e Nie e colaboradores (2016)^[87] para CFZ, e por Gunasekaran e Abitha (2005)^[172] e Samsonowicz e colaboradores (2005)^[173] para o PABA, conforme descrito na Tabela 16. O espectro de CFZ não foi completamente esclarecido, e por isto, alguns modos foram atribuídos com base no trabalho de Stammer e Taurins (1963)^[174] que avaliaram os modos vibracionais de 29 diferentes compostos análogos à CFZ, que contém o grupo fenazina. Os espectros de CFZ e PABA estão de acordo com os reportados na literatura^[88, 175]. Os espectros de CFZ_{REC} e PABA_{REC} também foram obtidos demonstrando-se similares aos espectros de CFZ e PABA e, por este motivo, não foram apresentados. Já os espectros de CFZ-PABA (1:1)_{MF} e CFZ-PABA (1:2,68)_{MF}, foram utilizados para fins de comparação e constatação das modificações nos espectros de CFZ-PABA (1:1) e CFZ-PABA (1:2,68), sendo que apresentaram apenas sobreposição das bandas relativas à CFZ e PABA.

A observação dos espectros das diferentes dispersões sólidas obtidas (Figura 38) relacionando com suas respectivas atribuições (Tabela 16) indica que as principais bandas que sofreram alterações. Estas alterações observadas estão relacionadas principalmente aos grupos carboxílico e imino, destacados anteriormente por meio dos estudos de SPE (item 0) como as regiões mais propícias para a interação.

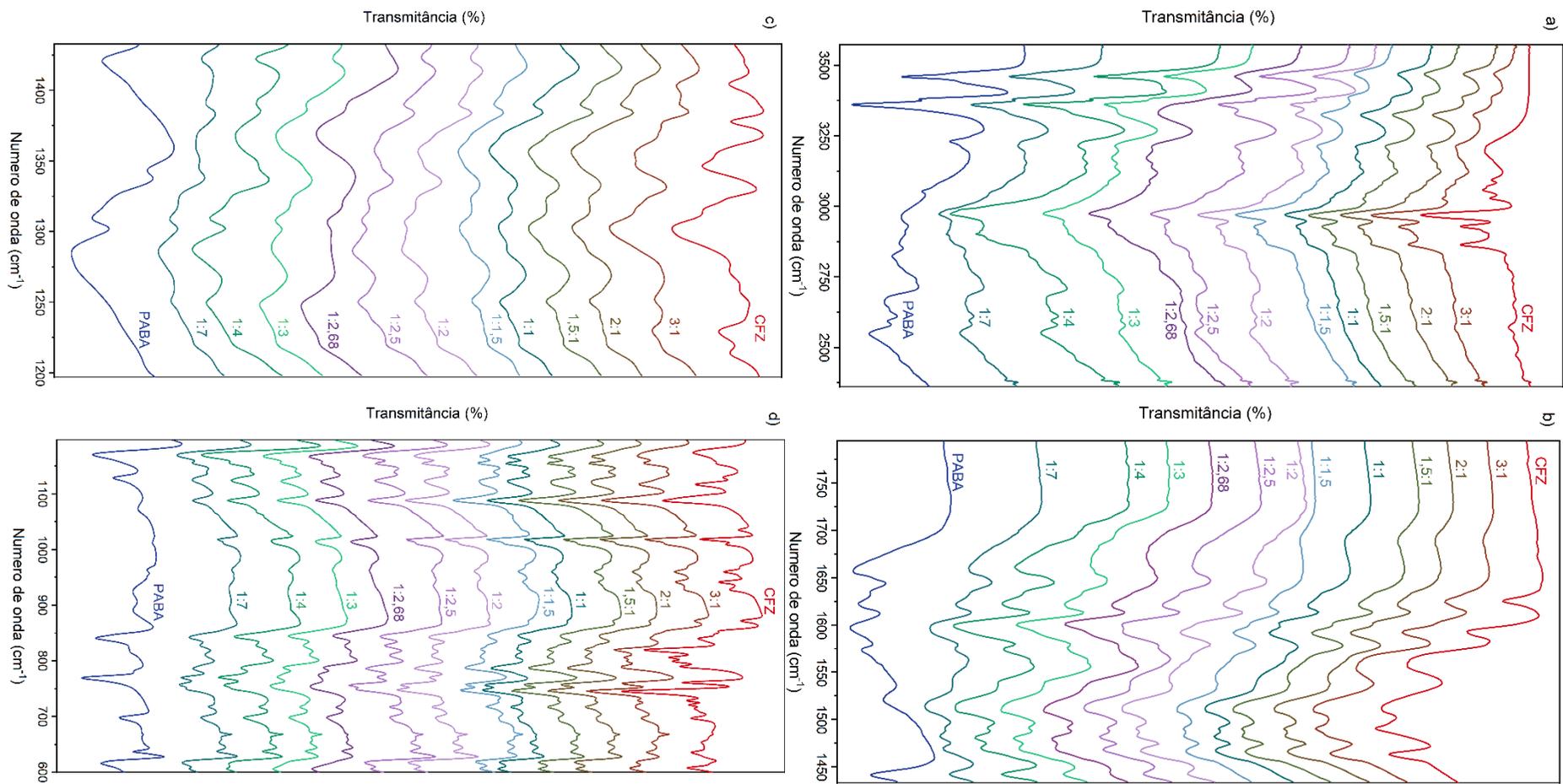


Figura 38: Espectros experimentais de FTIR da CFZ, PABA, e das dispersões sólidas obtidas entre CFZ e PABA por LAG em diferentes razões estequiométricas.

Tabela 16: Identificação de algumas absorções do espectro FTIR características da CFZ, PABA e dos produtos de interação CFZ-PABA (1:1) e CFZ-PABA (1:2,68).

Número de onda (cm ⁻¹)				Atribuição	Referência
CFZ	PABA	CFZ-PABA (1:1)	CFZ-PABA (1:2,68)		
-	3459	3468	3460	v _a NH ₂	Gunasekaran e Abitha (2005) ^[172]
-	3361	-	-	v _s NH ₂	Samsonowicz <i>et al.</i> (2005) ^[173]
-	-	3324	3330	N ⁺ -H	Bolla e Nangia (2012) ^[82] e Nie <i>et al.</i> (2016) ^[87]
-	3230	3212	3212	v _s NH	Gunasekaran e Abitha (2005) ^[172]
1625	-	1620	1620	C=N	Bolla e Nangia (2012) ^[82]
-	-	1602	1601	COO ⁻	Silverstain (1994) ^[148]
1560	-	-	-	v NH	Bolla e Nangia (2012) ^[82] e Nie <i>et al.</i> (2016) ^[87]
-	-	1544	1538	v _a COO ⁻	Silverstain (1994) ^[148]
-	-	1482	1480	N ⁺ -H	Bolla e Nangia (2012) ^[82] e Nie <i>et al.</i> (2016) ^[87]
-	-	1390	1390	v _s COO ⁻	Silverstain (1994) ^[148]
1346	-	1358	1368	C=N	Bolla e Nangia (2012) ^[82] e Nie <i>et al.</i> (2016) ^[87]

As regiões que contêm as principais alterações nos modos vibracionais, que permitem explicar o mecanismo de interação entre os componentes formadores das dispersões sólidas, são resumidos na Figura 39. A presença de uma nova banda em 3324 cm⁻¹ e 1482 cm⁻¹ no espectro de CFZ-PABA (1:1) e em 3330 cm⁻¹ e 1480 cm⁻¹ de CFZ-PABA (1:2,68), refere-se à nova ligação 1N⁺-H do grupo imina ligado ao isopropil da CFZ. Esta nova excitação vibracional ocorre devido à protonação da CFZ pelo grupamento carboxílico do PABA. Bolla e Nangia (2012)^[82], Nie e colaboradores (2016)^[87] e Bannigan e colaboradores (2017)^[88] também observaram comportamentos similares em dispersões sólidas de CFZ com compostos contendo grupos carboxílicos. Para o produto obtido na proporção 1:2,68, a banda que se refere ao N⁺-H encontra-se mais intensa e larga, e pode estar relacionada a uma segunda protonação do grupo imino (3N⁺-H) ligado a fenazina para forma a dispersão sólida amorfa.

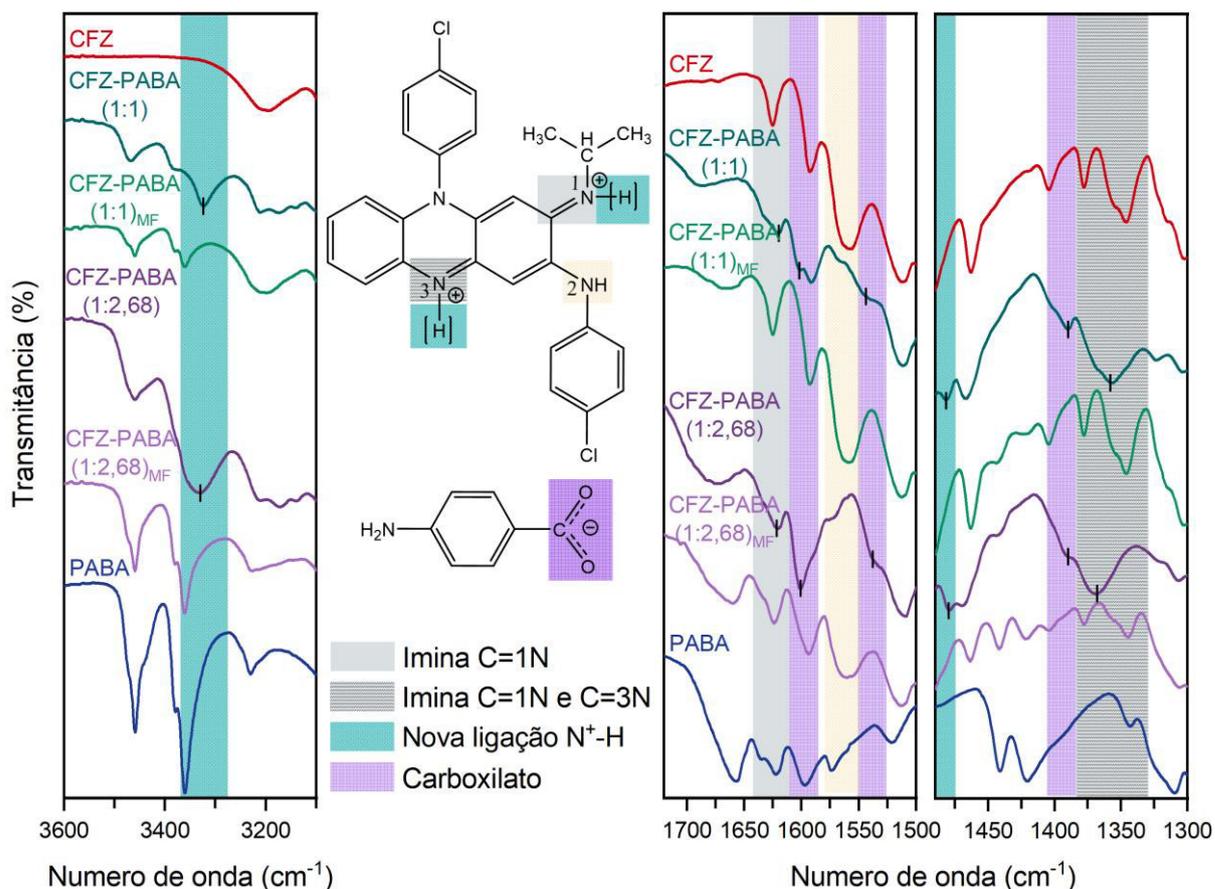


Figura 39: Espectros de FTIR da CFZ, PABA, CFZ-PABA (1:1) e CFZ-PABA (1:1)_{MF} com identificação de bandas referentes a interação de CFZ com PABA para formação do sinton $R_2^1(7)$.

A banda localizada em 1625 cm^{-1} no espectro da CFZ corresponde ao estiramento de $\text{C}=\text{N}$ do grupo imina ligado ao isopropil e, após a interação com o PABA, esta banda sofreu deslocamento para 1620 cm^{-1} para CFZ-PABA (1:1) e CFZ-PABA (1:2,68). Este deslocamento indica um enfraquecimento da ligação dupla $\text{C}=\text{N}$, evidenciando a protonação da CFZ pelo PABA. Estas observações são consistentes com os relatos de outros autores, onde nos seus estudos também foram observados deslocamentos da banda relativa a imina para frequências menores nos sais de CFZ preparados com ftalato de hipromelose^[87], e também com contra-íons de baixa massa molecular, tais como ácido maleico e ácido isonicotínico^[82].

A banda referente ao estiramento do carboxilato (COO^-) geralmente ocorre entre 1650 e 1550 cm^{-1} (assimétrica) e também tem uma banda de menor intensidade em torno de 1400 cm^{-1} (simétrica)^[148]. Nas dispersões sólidas obtidas neste trabalho, a carboxila do PABA sofre desprotonação e forma o carboxilato devido à sua interação com a CFZ. Esta interação pode ser observada no espectro das dispersões sólidas obtidas pela presença das novas bandas em 1602 cm^{-1} , 1544 cm^{-1} e 1390 cm^{-1} para CFZ-PABA (1:1) e 1601 cm^{-1} , 1538 cm^{-1} e 1390

cm^{-1} para CFZ-PABA (1:2,68) atribuídas ao estiramento assimétrico e simétrico do grupo carboxilato (COO^-), respectivamente. Nie colaboradores (2016)^[87] também observaram a ocorrência destas bandas quando obtiveram o sal de CFZ e ftalato de hipromelose. É importante ressaltar que existe uma certa dificuldade para atribuir as vibrações relativas à carbonila e ao grupamento NH de forma confiável, pois, elas geralmente aparecem próximas umas das outras^[148].

As bandas observadas em 1560 cm^{-1} no espectro de CFZ e nos espectros das misturas físicas CFZ-PABA (1:1)_{MF} e CFZ-PABA (1:2,68)_{MF} possivelmente estão relacionadas a vibrações do grupo NH da CFZ que se encontra ligado a porção clorobenzeno. Quando comparado as dispersões sólidas CFZ-PABA (1:1) e CFZ-PABA (1:2,68), esta banda se encontra ausente. Este comportamento pode ser explicado pela formação do sinton entre CFZ e PABA que utiliza os nitrogênios ligados a porção isopropil e clorobenzeno na ligação de hidrogênio, conforme ilustrado na resolução de estrutura de CFZ-PABA (1:1) (Figura 30a).

No espectro da CFZ e das misturas físicas CFZ-PABA (1:1) e CFZ-PABA (1:2,68), a banda em 1346 cm^{-1} é atribuída ao estiramento de $\text{C}=\text{N}$ ^[174]. Esta banda sofre um deslocamento hipsocrômico para 1358 cm^{-1} e 1368 cm^{-1} para CFZ-PABA (1:1) e CFZ-PABA (1:2,68), respectivamente. Geralmente quando ocorre a formação de ligações de hidrogênio, a banda relacionada ao grupo que está interagindo sofre deslocamento para menores frequências em função do enfraquecimento da ligação dupla, como observado anteriormente para a imina da CFZ ligada ao isopropil ($\text{C}=\text{N}$). No entanto, no caso das iminas, o deslocamento para valores de frequências mais altas pode significar que se trata da imina alicíclica ($\text{C}=\text{N}$), pois, a constante de força de ligação é aumentada pela ressonância com o anel aromático na ocorrência da ligação de hidrogênio^[148]. Esta evidência pode estar relacionada com a diprotonação que a CFZ sofre para formar a dispersão sólida amorfa na proporção 1:2,68.

5.4 Caracterização térmica dos materiais obtidos neste estudo

5.4.1 Termogravimetria, Termogravimetria Derivada e Análise Térmica Diferencial simultânea (TG/DrTG-DTA)

5.4.1.1 Análise dos compostos de partida e misturas físicas

Neste estudo foi investigado o comportamento térmico dos compostos de partida CFZ e PABA, visando auxiliar na interpretação e previsão de eventos que ocorrem nas dispersões sólidas de CFZ obtidas neste trabalho. Dessa forma, foram investigados a CFZ e o

PABA antes e após serem submetidos às mesmas condições experimentais na qual os sais foram sintetizados, nomeados de CFZ_{REC} e PABA_{REC}. Na Figura 40, estão ilustradas as curvas TG/DrTG-DTA da CFZ, CFZ_{REC}, PABA e PABA_{REC}.

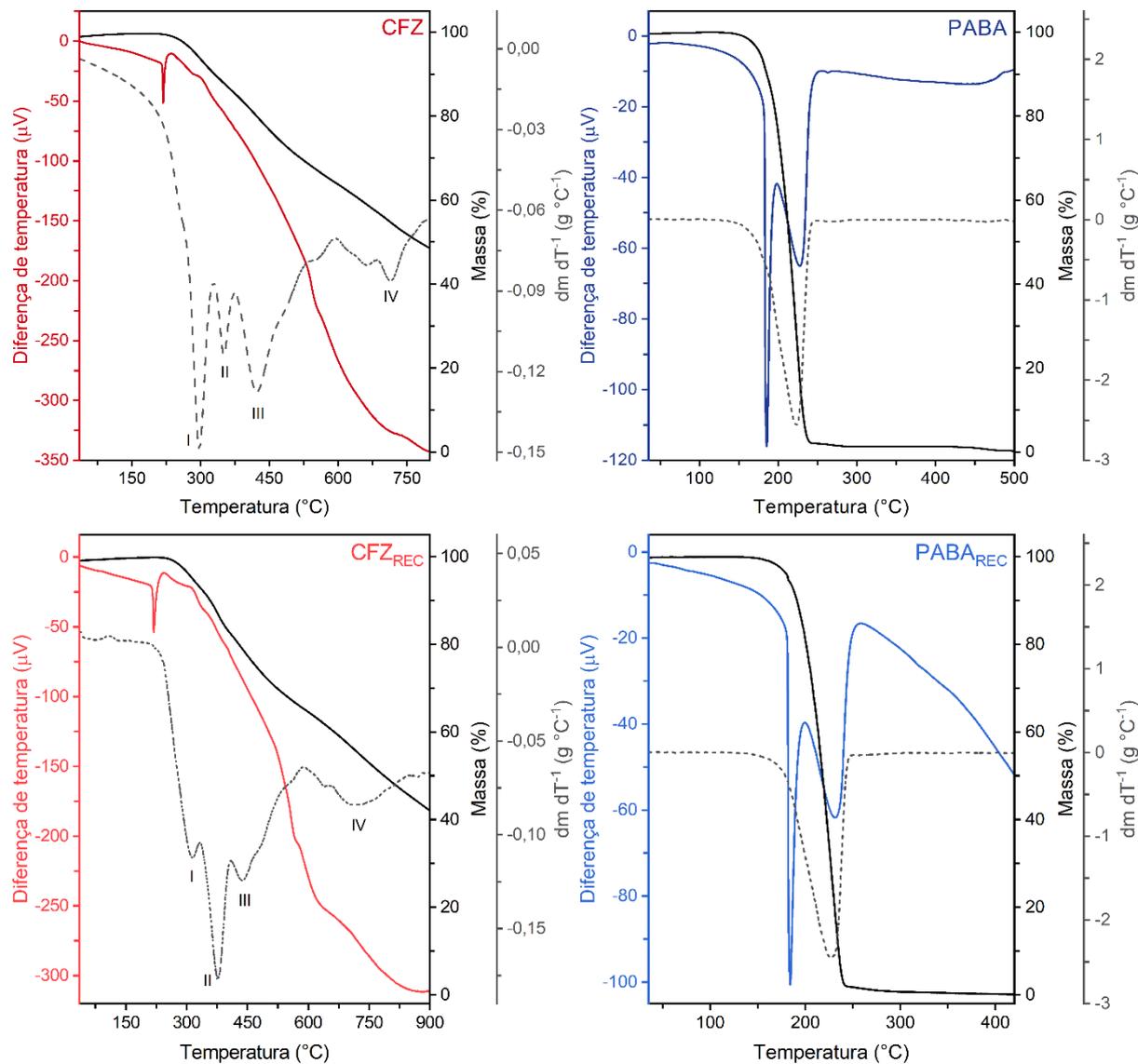


Figura 40: Curvas de TG/DrTG-DTA simultâneas da CFZ, PABA, CFZ_{REC} e PABA_{REC}. Os parâmetros sobre cada evento se encontram resumidos nos apêndices B1 e B2.

No caso da CFZ, não foram relatadas na literatura até o momento curvas de TG/DrTG-DTA descrevendo seu perfil térmico de decomposição por completo. Observa-se que os eventos térmicos nas curvas TG/DrTG-DTA da CFZ ocorrem em vários estágios, com produtos intermediários não estáveis principalmente após 220 °C. Para discernir os eventos térmicos, foi considerado principalmente a curva de DrTG que, entre as análises, demonstrou maior clareza.

Na curva de DTA da CFZ, o primeiro evento térmico, com $T_{pico} = 219,1$ °C, está relacionado à fusão^[6], e posteriormente se observa uma larga inflexão associada aos eventos de decomposição. Por meio da curva de DrTG, foi possível determinar quatro principais eventos com variação de massa: I: $T_{mid} = 296,4$ °C, $\Delta m = -9,48$ %; II: $T_{mid} = 347,7$ °C, $\Delta m = -7,41$ %; III: $T_{mid} = 423,4$ °C, $\Delta m = -16,07$ % e; IV: $T_{mid} = 423,4$ °C, $\Delta m = -17,56$ %. Com base no trabalho de He e colaboradores (2007)^[176], que descreve o perfil térmico de decomposição da 2,3-diaminofenazina, estima-se que o evento I refere-se a perda de amônia proveniente das iminas, e o evento IV à decomposição da porção fenazina.

O perfil térmico da CFZ comparado a CFZ_{REC} apresentou como principal diferença uma maior taxa de variação de massa, especialmente para o evento II em CFZ_{REC}. Embora o procedimento experimental não tenha afetado a molécula, estrutura cristalina, síntons, etc, possivelmente ocorreu alteração do tamanho de partículas, empacotamento (compactação) e consequentemente condutividade térmica de CFZ_{REC}. O aumento do tamanho de partículas pode provocar o aumento das temperaturas nas quais a reação de decomposição se inicia e termina, como também alterar a velocidade decomposição. Além disso, a condutividade térmica é dependente da densidade do material, que, no que lhe concerne, depende do tamanho de partículas e do empacotamento na qual a amostra foi submetida durante a experimentação.

O PABA apresenta um perfil de DTA simples, com apenas dois eventos térmicos bem definidos, como ilustra a Figura 40. O primeiro evento endotérmico em $T_{pico} = 185,2$ °C é decorrente da fusão, e o segundo, também endotérmico ($T_{pico} = 227,3$ °C) é atribuído a sua evaporação. A evaporação foi observada nas curvas DrTG/TG com $T_{onset} = 202,5$ °C e $T_{mid} = 214,0$ °C. Quando comparados os perfis térmicos entre CFZ e CFZ_{REC}, e entre PABA e PABA_{REC}, de uma forma geral foi observada boa concordância. O comportamento térmico das misturas físicas CFZ-PABA (1:1)_{MF} e CFZ-PABA (1:2,68)_{MF} também foram avaliados e são ilustrados na Figura 41.

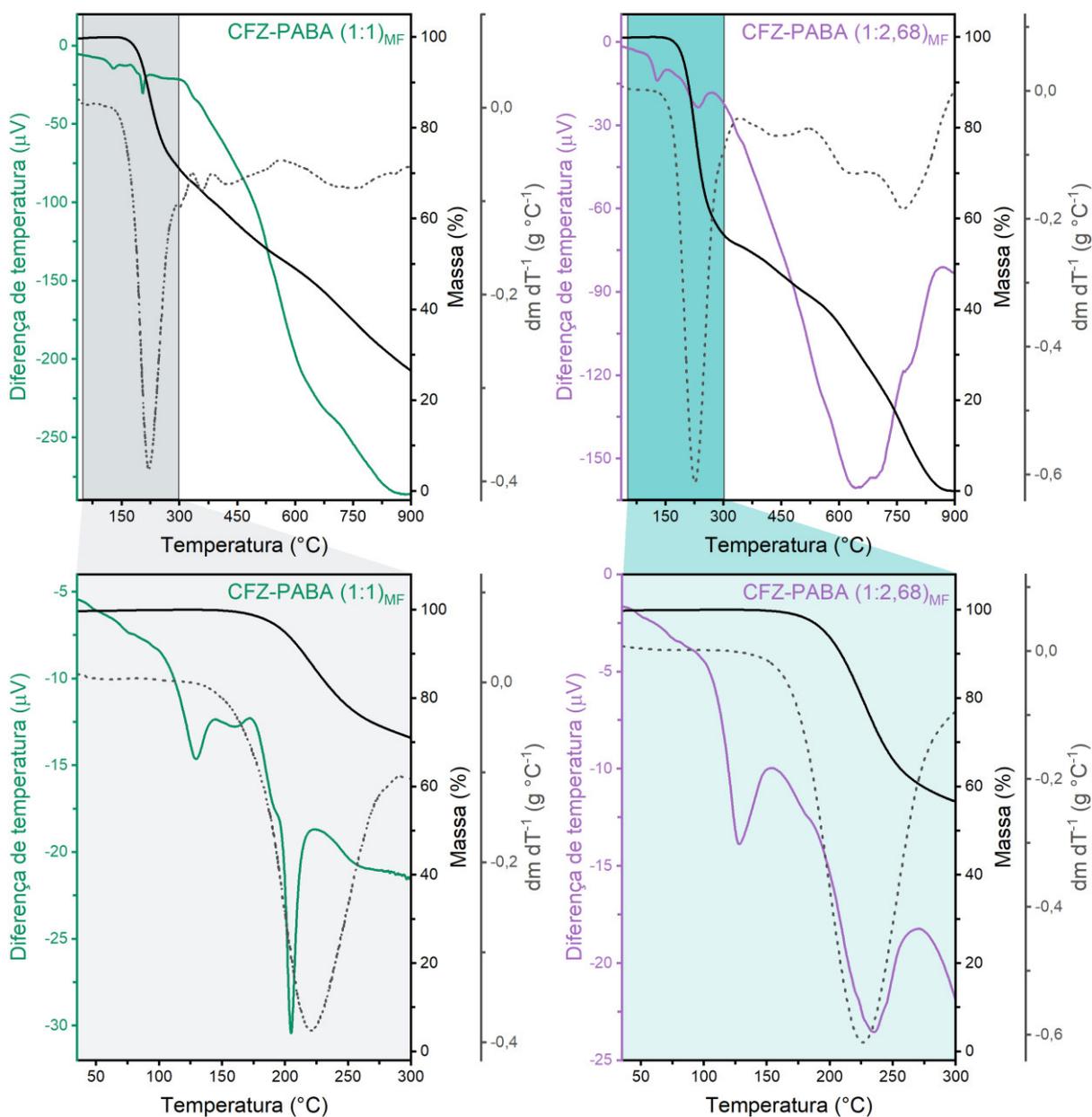


Figura 41: Acima, curvas de TG/DrTG-DTA simultâneas da CFZ-PABA (1:1)_{MF} e CFZ-PABA (1:2,68)_{MF} para região de 30 a 900 °C. Abaixo, ampliação das curvas de TG/DrTG-DTA simultâneas da CFZ-PABA (1:1)_{MF} e CFZ-PABA (1:2,68)_{MF} na região de 30 a 300 °C. Os parâmetros sobre cada evento se encontram resumidos nos apêndices B1 e B2.

A amostra CFZ-PABA (1:1)_{MF}, apresentou três eventos térmicos na região entre 30 a 300 °C, relacionados a uma fusão ($T_{pico} = 129,3$ °C), cristalização ($T_x = 162,0$ °C) e uma nova fusão com perda de massa ($T_{pico} = 204,8$ °C). Este comportamento está de acordo com o descrito por Yamashita e colaboradores (2013)^[158], quando avaliou misturas físicas de compostos potencialmente formadores de sais e cocrystalis. Para este caso, o primeiro pico ($T_{pico} = 129,3$ °C) ocorre devido à fusão metaestável do PABA, em seguida verifica-se a cristalização exotérmica ($T_x = 162,0$ °C) pela formação do sal cristalino CFZ-PABA (1:1), que posteriormente funde ($T_{pico} = 204,8$ °C).

Ainda com relação a CFZ-PABA (1:1)_{MF}, pelo fato do PABA não apresentar estabilidade térmica suficiente, inicia a evaporação sua evaporação junto desta segunda fusão. A interação observada na mistura física se dá pela fusão do primeiro componente e posterior solubilização do segundo, fazendo com que haja difusão das moléculas para formação da nova fase. Esta ideia reforça que o solvente empregado na metodologia tem maior função de facilitar a difusão molecular, ou seja, poderia ser substituído por outro facilmente, o que renderia maior flexibilidade para aplicação do método de síntese. Além disso, a própria fusão metaestável facilita a difusão de moléculas, o que torna viável a aplicação do método da fusão. Dentre os eventos acima de 300 °C na curva DTA de CFZ-PABA (1:1)_{MF}, observa-se uma larga inflexão associada à decomposição, e na curva TG, somente a primeira perda de massa em $T_{mid} = 219,7$ °C pode ser inferida como evaporação do PABA.

A CFZ-PABA (1:2,68)_{MF}, apresentou três eventos principais na curva DTA e quatro eventos de perda de massa na curva DrTG/TG, ilustrados na Figura 41. Para a curva de DTA, o evento endotérmico em $T_{pico} = 128,1$ °C também está associado à fusão metaestável do material, e o evento endotérmico em $T_{pico} = 234,9$ °C à evaporação do PABA. Em seguida, observou-se uma larga endotérma associada à decomposição dos compostos. Por meio da curva de DrTG/TG foi possível observar a primeira variação de massa em $T_{mid} = 227,8$ °C sugerida como evaporação do PABA. Outros três eventos de variação de massa foram observados em temperaturas acima de 350 °C nas curvas DrTG/TG, e são atribuídos a decomposição da CFZ.

5.4.1.2 Análise térmica dos sais de CFZ e PABA obtidos neste trabalho

Na Figura 42a são apresentadas as curvas DTA nas diferentes razões molares de CFZ e PABA obtidas por LAG. De acordo com os resultados, as razões 3:1, 2:1, 1,5:1 e 1:1 apresentaram fusões bem definidas em $T_{onset} = 204,1$ °C; 203,7 °C; 202,6 °C e 206,6 °C respectivamente. A redução da concentração de CFZ nas demais razões (1:2, 1:2,5, 1:3, 1:4 e 1:7), resultou no aparecimento de eventos térmicos característicos de transição vítrea e cristalização, observados na Figura 42b. O aparecimento de transições vítreas e posterior cristalização são típicos de materiais amorfos. Estes resultados estão de acordo com os obtidos por DRXP, que indicaram a presença de fase amorfa nestas razões molares.

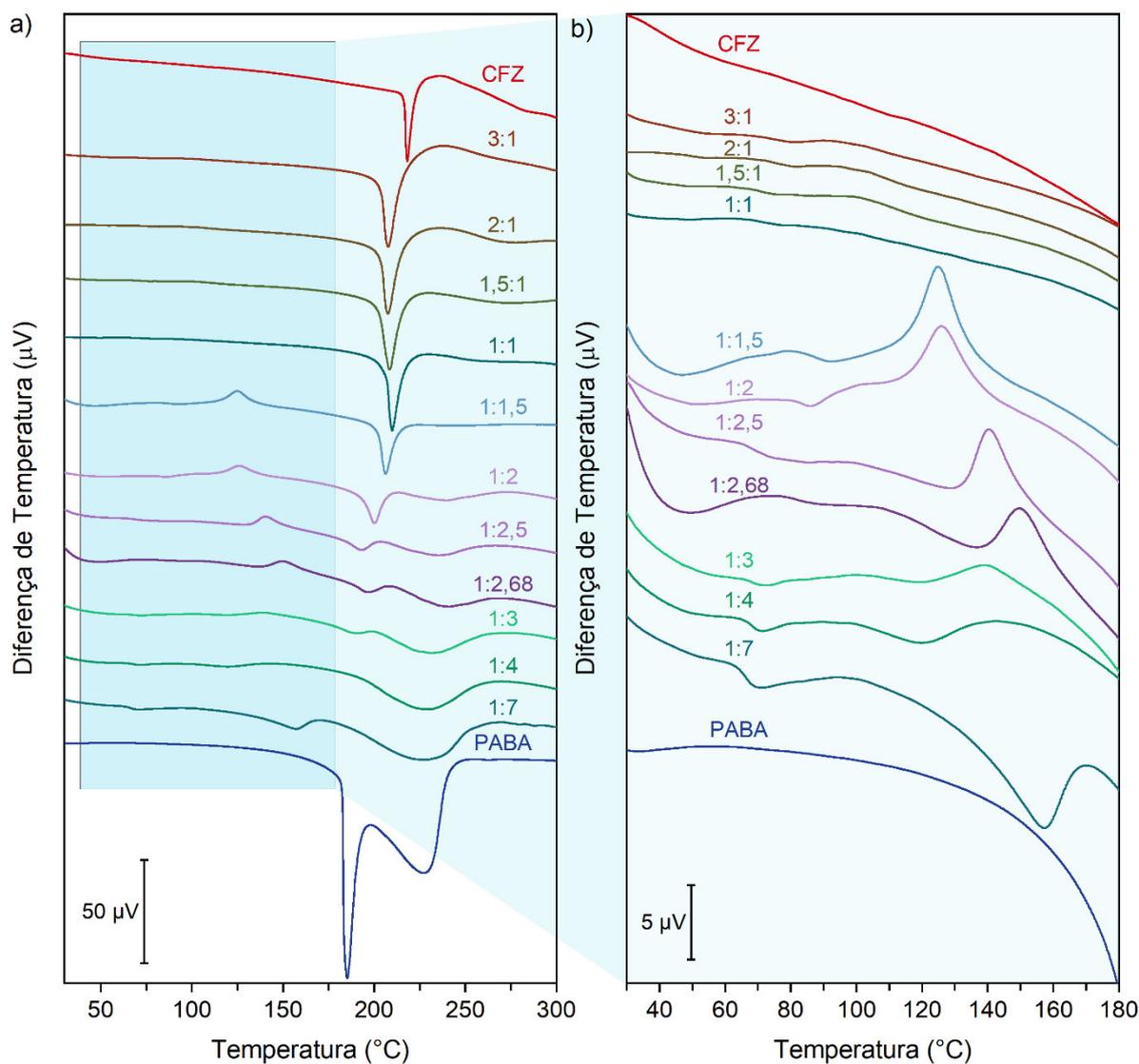


Figura 42: a) Curvas de DTA das várias razões molares de CFZ-PABA, sintetizadas por LAG. b) Ampliação das curvas DTA ilustradas em a) na região de 30 a 180 °C. Os parâmetros sobre cada evento se encontram resumidos no apêndice B1.

Entre as dispersões sólidas obtidas, CFZ-PABA (1:2,5) apresentou o menor valor para a temperatura de transição vítrea ($T_g = 64,1$ °C) e CFZ-PABA (1:2,68) a maior para a temperatura de cristalização ($T_x = 140,4$ °C) comparado às demais razões molares analisadas, como ilustrado na Figura 43.

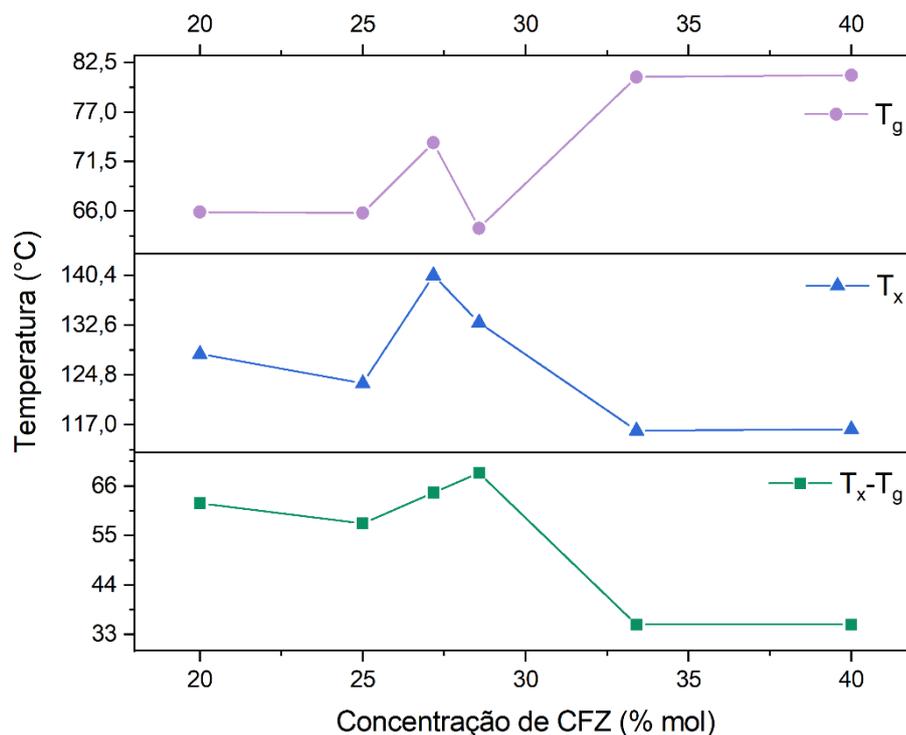


Figura 43: Temperaturas de início da transição vítrea (T_g), início da cristalização (T_x) e região de estabilidade à cristalização (T_x-T_g) das dispersões em função da concentração de CFZ.

Os sais CFZ-PABA (1:2,5) e CFZ-PABA (1:2,68) apresentaram, em relação as demais estequiometrias, os menores valores de T_g e maiores valores de T_x , indicando uma maior faixa de estabilidade em estado viscoelástico, dado por T_x-T_g . Um valor maior de T_x-T_g pode ser desejável em processos de síntese que envolvam a moagem com forte atrito, como a moagem mecanoquímica. Na moagem mecanoquímica utilizando moinho de bolas, o atrito entre as bolas e a parede do recipiente leva a um aumento de temperatura do material^[178]. Nesse sentido, o material apresentar uma maior faixa de temperatura entre a temperatura de transição vítrea e a cristalização pode ser útil para evitar a cristalização da fase amorfa durante o processo de moagem.

Os dados apresentados na Figura 44 mostram a temperatura de fusão dos produtos obtidos em função da concentração de CFZ. De acordo com os resultados, nota-se um aumento da temperatura de fusão em CFZ-PABA (1:1) quando comparado com as demais razões molares. Estes resultados direcionam para razão molar de CFZ-PABA (1:1) como ótima de obtenção da dispersão sólida. Além disso, a CFZ-PABA (1:2,8) também apresentou uma temperatura de fusão maior que as proporções 1:2,5 e 1:3. A Figura 44 também pode ser relacionada ao comportamento de um diagrama binário de fases congruente, comentado na seção 3.5.2.2.1. Ressalta-se que não foi possível definir os eventos relacionados às fusões das

razões molares 1:4 e 1:7 devido à decomposição do PABA, que se encontra em excesso nestas proporções.

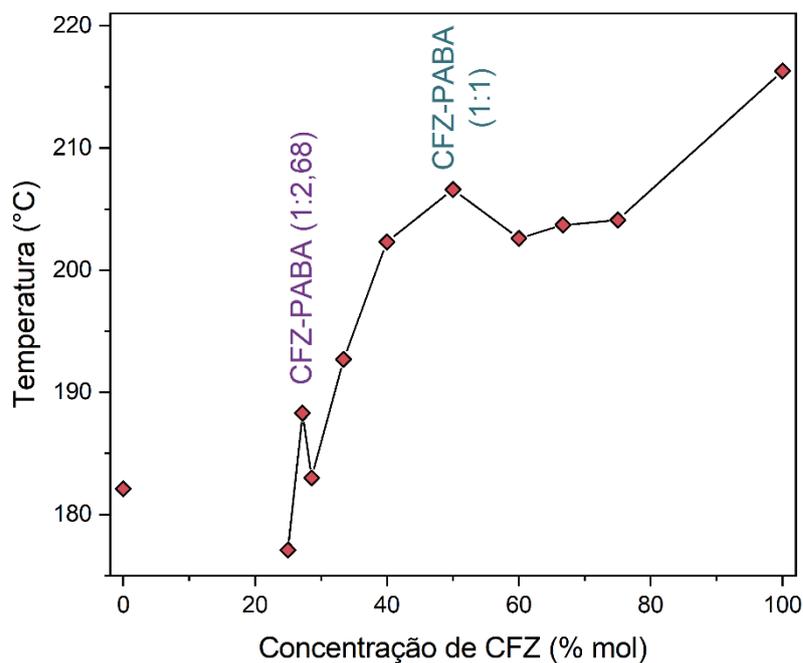


Figura 44: Diagrama de fases binário das dispersões sólidas de CFZ e PABA, sintetizadas por LAG, construído a partir das temperaturas T_{onset} das curvas DTA.

As curvas de DrTG/TG das diferentes razões de CFZ e PABA sintetizadas são mostradas na Figura 45. O evento destacado em I (Figura 45b), referente à primeira variação de massa, comum a todas as proporções analisadas, está associado à evaporação do PABA contido nas misturas. Os eventos correspondentes à região II, atribuído à liberação de amônia pela CFZ, apresentaram maior variação de temperatura de T_{onset} e T_{endset} entre as dispersões sólidas obtidas. O evento III está relacionado com a decomposição da CFZ. Os eventos na região de II e III perderam intensidade em amostras contendo concentrações menores de CFZ (1:2,5, 1:3, 1:4 e 1:7), o que concorda com a suposição de estarem associados à decomposição deste API. A análise do solvato de CFZ com acetona apresentou variação de massa entre 60 e 80 °C referente a evaporação do solvente. Dessa forma, como as dispersões sólidas obtidas não apresentaram estes eventos, podem ser consideradas isentas deste solvente.

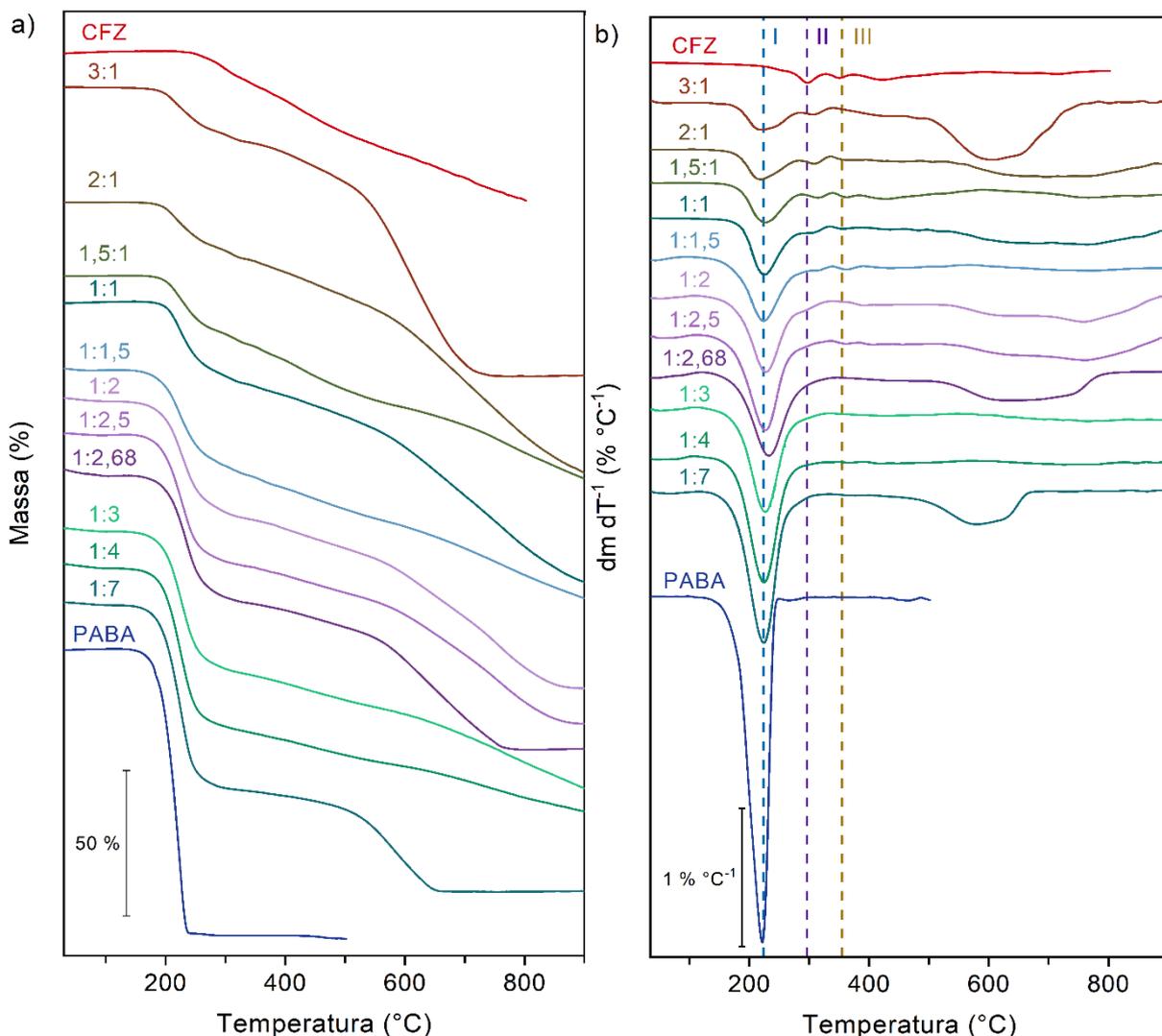


Figura 45: Curvas de a) TG e b) DrTG das proporções de várias razões molares de CFZ e PABA, sintetizadas por LAG. Os parâmetros sobre cada evento se encontram resumidos no apêndice B2.

A análise das temperaturas de T_{onset} referentes a primeira perda de massa em função da concentração de CFZ, para os diferentes produtos obtidos, revelou um aumento significativo da estabilidade térmica dos sais sintetizados nas razões molares 1:1 e 1:2,68 (Figura 46a). Ademais, com o aumento da concentração de PABA nos produtos, há um aumento correspondente de variação de massa no primeiro evento térmico observado nas curvas TG (Figura 46b). Esta observação dá suporte a sugestão de que a primeira variação de massa está relacionada a evaporação do PABA. O evento de evaporação do PABA é seguido da perda da amônia da CFZ. Possivelmente, pelo fato do PABA estar participando de interações na região imino da CFZ, como observado nos resultados de DRXP e FTIR, se faz necessário uma maior energia para que a liberação do PABA e da amônia ocorra, retardando a perda de massa do material nas razões molares 1:1 e 1:2,68.

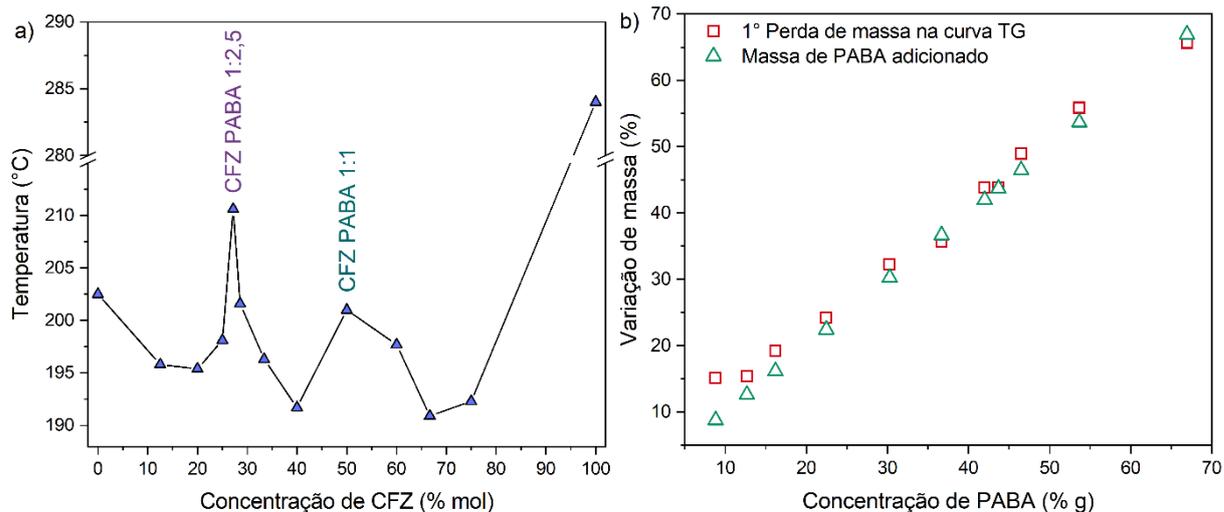


Figura 46: a) Estabilidade térmica dos produtos obtidos por LAG em função da concentração de CFZ. b) Variação de massa referente ao primeiro evento de perda de massa observado na curva TG em função da concentração de PABA para as dispersões sólidas obtidas por LAG.

5.4.2 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

Foi realizada a caracterização térmica dos compostos de partida (CFZ e PABA) e dos sais de CFZ-PABA (1:1) e de CFZ-PABA (1:2,68) obtidos por LAG, bem como as misturas físicas dos compostos de partida com ciclos de aquecimento e resfriamento (Figura 47).

Durante o primeiro aquecimento, a CFZ apresentou um evento endotérmico em $T_{pico} = 224,5$ °C e $\Delta H_{fus} = -73,47$ J g⁻¹, sendo este característico do processo de fusão desse componente^[75]. Logo após sua fusão, foi iniciado o resfriamento da CFZ, e foi detectada uma sutil T_g em 101,6 °C. No segundo aquecimento, uma T_g foi detectada em 93,5 °C, indicando a ocorrência da perda da rede cristalina da CFZ. Bolla e Nangia (2012)^[82] já haviam relatado anteriormente a forma amorfa da CFZ, também obtida após sua fusão.

O PABA apresentou um único evento endotérmico em $T_{pico} = 189,0$ °C com $\Delta H_{fus} = -167,6$ J g⁻¹ durante o primeiro aquecimento, correspondente à sua fusão. Em seguida, no resfriamento, foi detectado uma exotérma em $T_{pico} = 163,8$ °C com $\Delta H_{fus} = 109,6$ J g⁻¹ referente a sua cristalização. No segundo aquecimento, foi observado um evento endotérmico de fusão $T_{pico} = 186,8$ °C com $\Delta H_{fus} = 120,0$ J g⁻¹. As curvas DSC dos compostos de partida CFZ e PABA não apresentaram diferença significativa de CFZ_{REC} e PABA_{REC}, concordando com os resultados obtidos anteriormente por DRXP e FTIR.

As misturas físicas CFZ-PABA (1:1)_{MF} e CFZ-PABA (1:2,68) apresentaram comportamento semelhante ao descrito para nas curvas DTA, durante o primeiro aquecimento, confirmando a capacidade de a mistura física de formar sal (ou cocrystal)^[158].

Para CFZ-PABA (1:1)_{MF} (Figura 47c), o primeiro aquecimento foi interrompido em 173 °C e foi possível observar apenas os eventos de fusão metaestável do PABA ($T_{pico} = 122,6$ °C) e cristalização da dispersão sólida ($T_x = 135,5$ °C). Posteriormente no resfriamento não foram detectados eventos térmicos. Durante o segundo aquecimento, o perfil térmico da mistura física na proporção 1:1 apresentou apenas um único evento endotérmico em $T_{pico} = 212,2$ °C com $\Delta H_{fus} = 82,0$ J g⁻¹, que indica uma melhor estabilidade térmica da amostra à fusão. O perfil térmico do segundo aquecimento é similar ao observado para o sal cristalino CFZ-PABA (1:1). Como já descrito nas análises de DRXP de CFZ-PABA (1:1)_{MF}FUS obtido pelo método da fusão, uma nova fase é formada durante o primeiro aquecimento da mistura física na proporção 1:1 e se trata de CFZ-PABA (1:1), anteriormente sintetizado por LAG.

Assim como a mistura física CFZ-PABA (1:1)_{MF} interage quando aquecido para formar o sal cristalino CFZ-PABA (1:1), a mistura física CFZ-PABA (1:2,68)_{MF} também interage formando o sal amorfo CFZ-PABA (1:2,68). Durante o primeiro aquecimento (Figura 47d), a mistura física na proporção 1:2,68 apresenta uma única endotérma em $T_{pico} = 131,9$ °C com $\Delta H_{fus} = 50,0$ J g⁻¹ quando aquecida até 160 °C. Quando arrefecida, apresenta uma T_g em 80,1 °C, e no segundo aquecimento assume então um perfil térmico similar ao observado para CFZ-PABA (1:2,68). Durante o segundo aquecimento é observado uma transição vítrea em $T_g = 74,5$ °C e endotérma de fusão em $T_{pico} = 195,6$ °C, evidenciando o sal amorfo formado.

O sal cristalino CFZ-PABA (1:1) apresentou durante o primeiro aquecimento um evento exotérmico em $T_x = 96,8$ °C e $\Delta H_{fus} = 8,8$ J g⁻¹, possivelmente relacionado com a presença de “impurezas” referentes ao sal amorfo CFZ-PABA (1:2,68) que tem preferência para formação, conforme observado nos resultados de DRXP. O segundo evento térmico ocorre em $T_{pico} = 212,6$ °C com $\Delta H_{fus} = -95,2$ J g⁻¹, da absorção de calor referente a fusão do sal. Posteriormente, o resfriamento do material demonstrou uma T_g sutil em 103,6 °C indicando uma amorfização. No segundo aquecimento, o sal CFZ-PABA (1:1) apresentou uma única T_g em 78,9 °C reforçando a amorfização do material.

O sal amorfo CFZ-PABA (1:2,68) apresentou dois eventos térmicos durante o primeiro aquecimento, o primeiro com $T_g = 37,4$ °C correspondente a transição vítrea que confirma sua estrutura amorfa, o segundo em $T_x = 96,4$ °C relacionado a cristalização da fase amorfa. No arrefecimento, uma T_g é observada em torno de 44,8 °C. Durante o segundo aquecimento é detectada uma transição vítrea melhor definida em $T_g = 51,47$ °C e por fim a fusão do composto em $T_{pico} = 190,5$ °C.

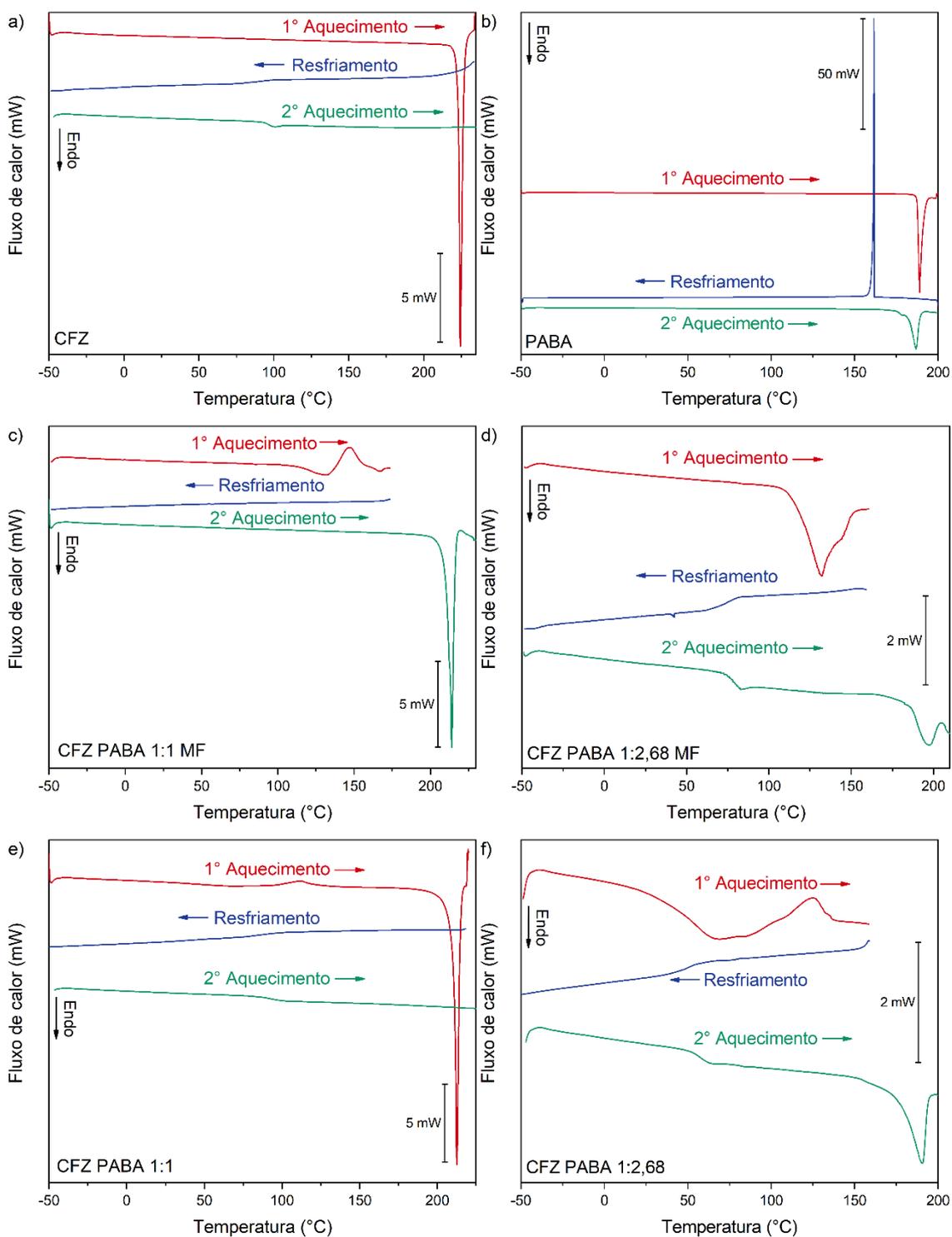


Figura 47: Curvas de DSC com aquecimento e resfriamento obtidas para os compostos de partida a) CFZ e b) PABA, os sais sintetizados na proporção c) CFZ-PABA (1:1) e e) CFZ-PABA (1:2,68) e as respectivas misturas físicas d) CFZ-PABA (1:1)_{MF} e f) CFZ-PABA (1:2,68)_{MF}.

Para confirmar a estequiometria de formação dos sais obtidos pela interação entre CFZ e PABA, foram preparadas diferentes razões molares de CFZ e PABA por LAG que foram então analisadas por DSC. Os resultados obtidos por meio das análises (Figura 48) foram similares aos já descritos por DTA. A exceção foi a presença de uma exotérma em $T_x = 98,8\text{ °C}$ para CFZ-PABA (1:1), associada à presença de resíduo de fase amorfa neste material, e eventos endotérmicos nas proporções 1:2,5, 1:3, 1:4 e 1:7 em $T_{pico} = 106,6\text{ °C}$, $103,3\text{ °C}$, $102,9\text{ °C}$ e $87,8\text{ °C}$, respectivamente.

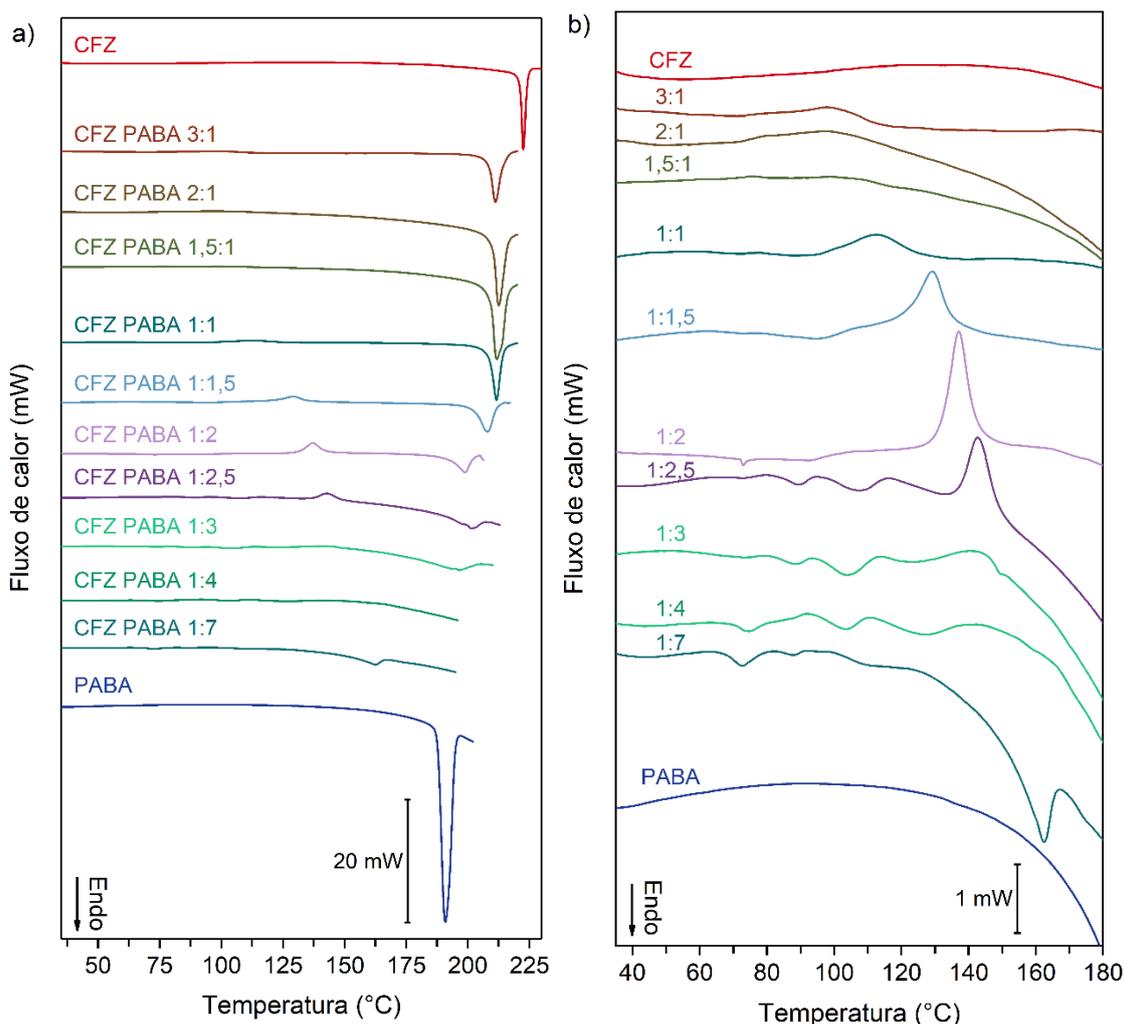


Figura 48: a) Curvas de DSC das várias razões molares de CFZ e PABA, sintetizadas por LAG. b) Detalhe das curvas de DSC ilustradas em a) na região de 30 a 180 °C. Os parâmetros sobre cada evento se encontram resumidos no apêndice B3.

As temperaturas de início das fusões observadas nas curvas DSC das diferentes razões molares obtidas foram utilizadas para preparação do diagrama de fases binário, conforme ilustra a Figura 49. A interpretação de um diagrama de fases com a formação de mistura eutética assume a forma característica de um "V" (Figura 18c), enquanto a ocorrência de formação de um sal apresenta forma característica de "W" (Figura 18a) apresentados

anteriormente. De fato quando observam-se as curvas teóricas, obtidas pela equação de Schroeder-van Laar^[22] que não considera a interação entre os compostos de partida, o resultado é um diagrama em forma de “V”. A curva obtida pela experimentação (Figura 49), mostra uma forma de “W” e demonstra ser um diagrama do tipo congruente, onde a razão molar CFZ-PABA (1:1) apresentou melhor estabilidade à fusão em relação às demais proporções analisadas. Dessa forma, foi possível concluir que no sistema estudado houve a formação do sal de CFZ-PABA (1:1). As proporções 1:4 e 1:7 não apresentaram estabilidade térmica suficiente à perda de massa (devido à evaporação do PABA) tornando inviável a determinação da temperatura de fusão nestas razões molares, portanto, o diagrama de fases é incompleto nesta região. Além disso, a região de baixa concentração de CFZ (1:7, 1:4, 1:3, principalmente) tende a não seguir o padrão de diagrama comumente estabelecido (veja item 3.5.2.2.1), devido à presença de eventos de transição vítrea e cristalização. No contexto de diagramas de fases, o efeito da ionização nos sistemas com sais tem potencial de causar desvios da idealidade, por conta de efeitos dependentes do pH^[179].

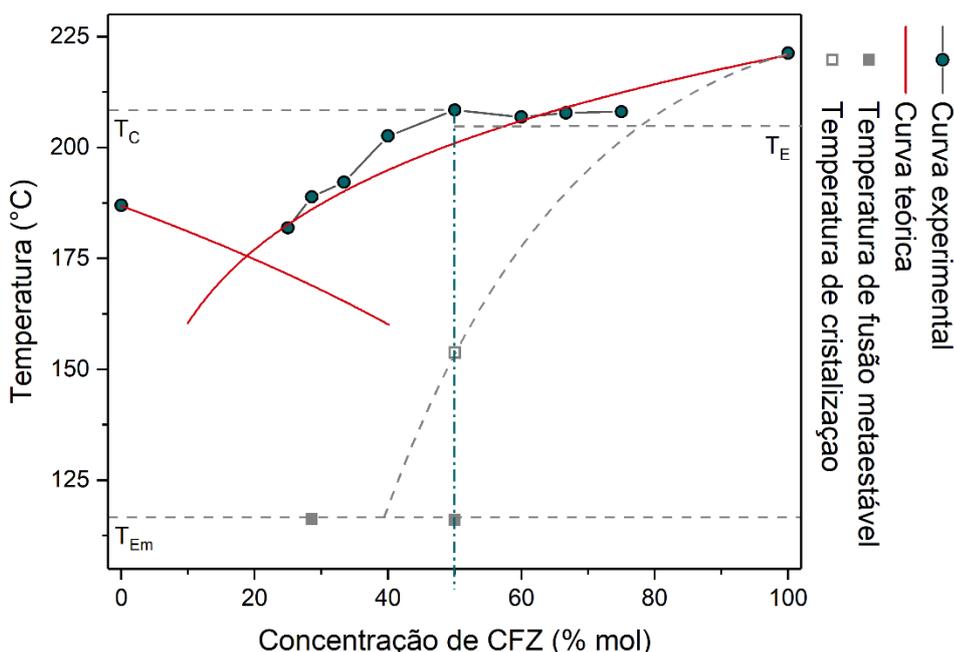


Figura 49: Diagrama de fases binário das dispersões sólidas de CFZ e PABA, obtidas por LAG, construído a partir das temperaturas T_{onset} das curvas de DSC. T_c : Temperatura de fusão do sal CFZ-PABA (1:1); T_E : Temperatura eutética; T_{Em} : Temperatura eutética metaestável (obtida a partir das misturas físicas CFZ-PABA (1:1)_{MF} e CFZ-PABA (1:2,68)_{MF}).

5.5 Estudo do perfil de solubilidade

O estudo da solubilidade das novas formas sólidas obtidas é necessário para verificar o seu desempenho e aplicabilidade, de modo a obter as especificações de biodisponibilidade

desejadas para um produto de boa performance. Para o estudo das propriedades de desempenho de solubilidade dos produtos obtidos, um estudo do perfil de solubilidade foi conduzido de acordo com a metodologia descrita por Bolla e Nangia (2012)^[82].

Bolla e Nangia consideraram a realização dos experimentos de solubilidade da CFZ em meio de etanol diluído (60% EtOH-H₂O), pois, a CFZ apresenta baixa solubilidade em meio puramente aquoso (Tabela 3), dificultando a obtenção de dados confiáveis. A Figura 50a mostra a estabilidade da CFZ numa solução 60% EtOH-H₂O por 180 min. De acordo com os dados, a CFZ apresentou aumento significativo de absorbância até cerca de 100 min (1,67 horas), e em seguida atingiu o equilíbrio.

Na Figura 50b é exibido o espectro na região do visível das soluções de CFZ em meio 60% EtOH-H₂O, PABA em 60% EtOH-H₂O e do branco de reagentes (60% EtOH-H₂O). O espectro de CFZ apresentou bandas com máximo de absorção em 488 nm, 378 nm e 285 nm. A banda em 488 nm não apresentou interferência do coformador (que absorve abaixo de 350 nm) ou do branco de reagentes (absorve abaixo de 250 nm), e de acordo com a metodologia proposta por Bolla e Nangia, foi usada para construção das curvas analíticas e determinações analíticas.

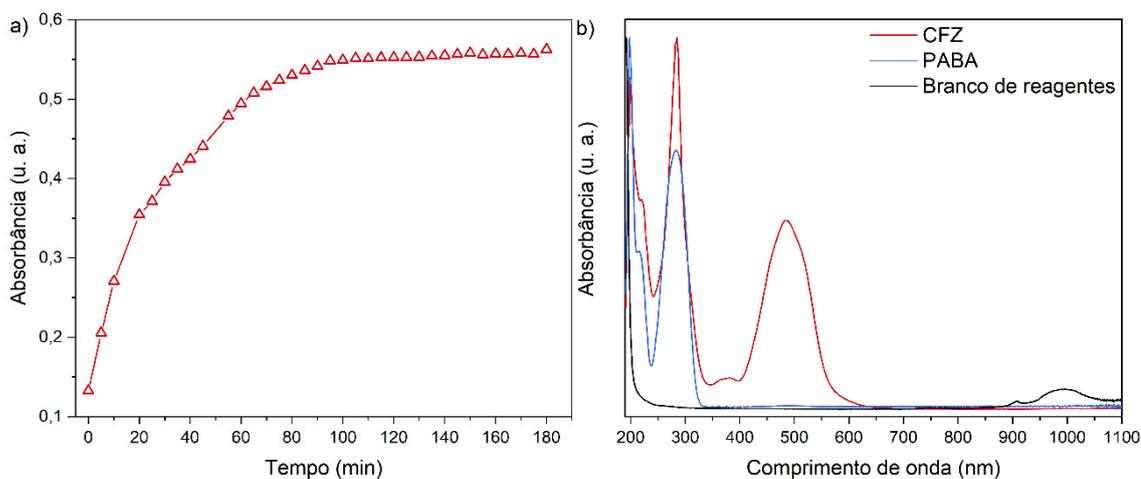


Figura 50: a) Estabilidade da solução de CFZ em meio de 60% EtOH-H₂O. b) Espectro UV-VIS da solução de CFZ em meio de 60% EtOH-H₂O, PABA em meio de 60% EtOH-H₂O e do branco de reagentes (apenas solução 60% EtOH-H₂O).

Curvas analíticas relacionando a concentração de CFZ com as absorbâncias foram construídas para a CFZ, e os produtos obtidos CFZ-PABA (1:1) e CFZ-PABA (1:2,68). De acordo com os dados apresentados na Tabela 17, todas as curvas apresentaram $R^2 > 0,999$, indicando uma boa correlação.

Tabela 17: Dados das curvas analíticas da CFZ e dos sais CFZ-PABA (1:1) e CFZ-PABA (1:2,68) obtidos neste estudo.

Forma sólida	Região de concentração (mMol L ⁻¹)	Coefficiente de absorção (mMol L ⁻¹ cm ⁻¹) (n = 7)	Coefficiente de determinação (R ²)
CFZ	8,0 x 10 ⁻³ a 8,0 x 10 ⁻²	12,36 ± 0,14	0,9992
CFZ-PABA (1:1)	3,6 x 10 ⁻³ a 3,6 x 10 ⁻²	31,26 ± 0,25	0,9996
CFZ-PABA (1:2,68)	3,5 x 10 ⁻³ a 4,0 x 10 ⁻²	28,13 ± 0,14	0,9998

Curvas de solubilidade em função do tempo foram construídas num intervalo de 3,4 horas, tempo considerado suficiente para que os sistemas avaliados atingissem o equilíbrio de solubilidade, conforme ilustra a Figura 51. Na Tabela 18 são expostos alguns valores extraídos das curvas de solubilidade apresentadas na Figura 51.

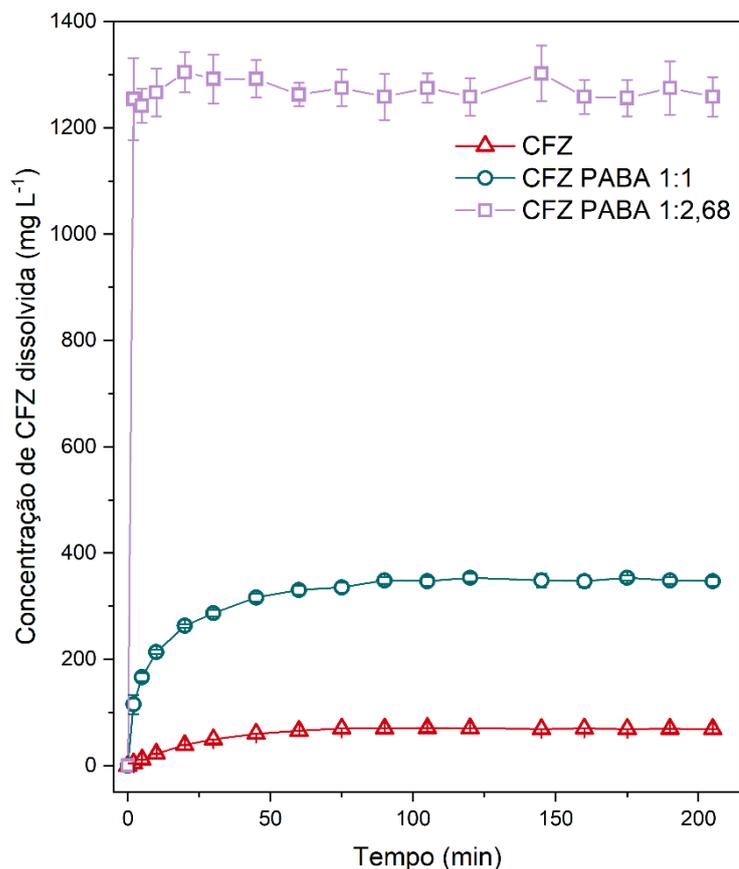


Figura 51: Curva de taxa de solubilidade da CFZ, CFZ-PABA (1:1) e CFZ-PABA (1:2,68) em função do tempo.

De acordo com os resultados, a CFZ apresentou solubilidade de 11,6 mg L⁻¹ aos 5 min de solubilização. Os produtos CFZ-PABA (1:1) e CFZ-PABA (1:2,68) apresentaram solubilidade de 166,6 mg L⁻¹ e de 1241,4 mg L⁻¹ de CFZ, respectivamente para o tempo de 5 min. Estes dados evidenciam um aprimoramento de solubilidade equivalente a 14,4 vezes e

107,0 vezes quando a CFZ está inserida nas dispersões sólidas CFZ-PABA (1:1) e CFZ-PABA (1:2,68) neste tempo de solubilização, respectivamente.

Tabela 18: Dados das taxas de solubilidade da CFZ e dos sais CFZ-PABA (1:1) e CFZ-PABA (1:2,68) obtidos neste estudo.

Forma sólida		Solubilidade após 5 min (mg L ⁻¹)	Solubilidade após 2 h (mg L ⁻¹)
Este trabalho	CFZ	11,6	70,5
	CFZ-PABA (1:1)	166,6 (x 14,4)	353,4 (x 5,0)
	CFZ-PABA (1:2,68)	1241,4 (x 107,0)	1258,2 (x 17,8)

Ao atingir o equilíbrio de solubilidade (após 2 horas) a CFZ apresentou solubilidade de 70,5 mg L⁻¹. Já as dispersões sólidas, decorridas 2 horas, apresentam solubilidade de 353,4 mg L⁻¹ (aumento de 5,0 vezes) e 1258,2 mg L⁻¹ (aumento de 17,8 vezes), para CFZ-PABA (1:1) e CFZ-PABA (1:2,68) respectivamente. Como esperado, o sal amorfo CFZ-PABA (1:2,68) apresentou maior solubilidade e maior taxa de solubilidade (inclinação da curva cinética) que o sal cristalino CFZ-PABA (1:1). Além disso, fica evidente a maior taxa de solubilidade dos produtos CFZ-PABA (1:1) e CFZ-PABA (1:2,68) comparado a CFZ, devido a maior facilidade de solvatação das dispersões sólidas.

O aumento da solubilidade nas condições de equilíbrio também é maior mesmo comparado aos produtos obtidos por Bolla e Nangia (2012)^[82] (Figura 52). Valetti e colaboradores (2017)^[94] realizou o encapsulamento de CFZ em partículas de sílica com nanoporos, e observou um aumento de 20 vezes em meio simulado de fluido gástrico (CFZ apresenta solubilidade melhorada em meio ácido^[75]). Narang e Srivastava (2016)^[89] obtiveram aumento de 0,6 a 16 vezes usando dispersões sólidas com polímeros e Li e colaboradores (2016)^[92] um aumento de 0,53 vezes usando macromoléculas, ambos os estudos de solubilidade realizados em solução aquosa acidificada.

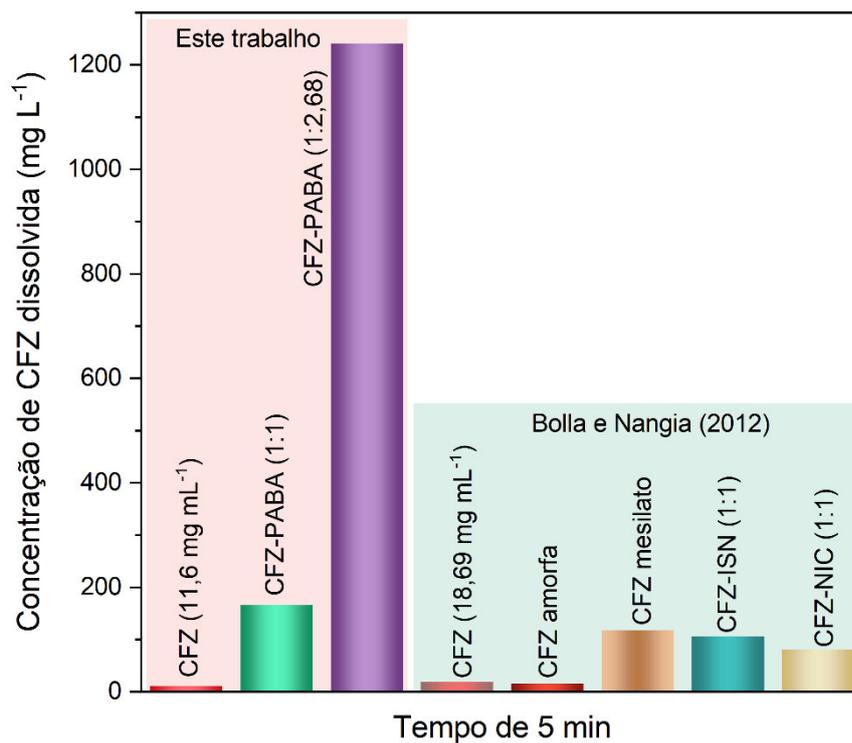


Figura 52: Solubilidade da CFZ e produtos CFZ-PABA (1:1) e CFZ-PABA (1:2,68), obtidos neste trabalho, comparadas à CFZ, CFZ amorfa, CFZ mesilato (1:1) (sal de CFZ e ácido metanossulfônico), CFZ-INS (1:1) (sal de CFZ e ácido isonicotínico) e CFZ-NIC (1:1) (sal de CFZ e ácido nicotínico) obtidas por Bolla e Nangia (2012)^[82] para o tempo de 5 min.

6 CONCLUSÕES

Neste trabalho foi investigada a obtenção de novas dispersões sólidas de CFZ utilizando o PABA como coformador, por meio da técnica de LAG. Os resultados obtidos por meio das análises de DRXP, ERD, FTIR, TG, DTA e DSC corroboram e confirmam que houve a formação de um sal cristalino de CFZ e PABA na razão molar 1:1 e um sal amorfo na razão molar 1:2,68. Os estudos teóricos e dados experimentais demonstraram concordância e comprovaram a tendência para formação de sinton entre o grupo ácido carboxílico do coformador e o grupo imino da CFZ.

A obtenção dos sais de CFZ e PABA pelo método LAG demonstrou boa reprodutibilidade, presumindo que o método adotado foi eficaz. Além disso, o método empregado se mostrou simples, rápido e de baixo custo. Também foi possível constatar a flexibilidade para obtenção destas dispersões sólidas pelo método da fusão, sendo uma alternativa para eliminar o uso de solventes e mostrando ser promissor no que diz respeito a “química verde”, proporcionando menor custo e sustentabilidade.

Os novos produtos obtidos apresentaram excelente desempenho quando avaliadas a solubilidade da CFZ inserida nas dispersões sólidas. Os materiais apresentaram aumento de 5 vezes (sal cristalino) e 17,8 vezes (sal amorfo) da solubilidade, o que direciona para possível aplicabilidade real das dispersões sólidas. Por apresentar uma excelente melhoria solubilidade, a administração de um medicamento contendo estas dispersões sólidas têm potencial para melhorar a taxa de absorção, tornando possível redução da dose administrada e diminuir a parcela não solubilizada de CFZ, o que favorece a redução dos efeitos colaterais (por exemplo, cristalização).

Desse modo, as novas dispersões sólidas obtidas neste trabalho apresentam-se promissoras para a produção de medicamentos mais seguros e eficazes para a terapia medicamentosa da hanseníase.

7 PERSPECTIVAS FUTURAS

Para dar continuidade a este trabalho, sugere-se como perspectiva futura, a realização das seguintes atividades:

- Melhoramento dos parâmetros estatísticos de refinamento da estrutura resolvida para o sal CFZ-PABA (1:1) obtido;
- Caracterizar os sais CFZ-PABA (1:1) e CFZ-PABA (1:2,68) por ressonância magnética nuclear em estado sólido para complementar os dados sobre o mecanismo de interação;
- Avaliar a estabilidade do sal amorfo CFZ-PABA (1:2,68) em função do tempo por DRX.
- Caracterizar os sais CFZ-PABA (1:1) e CFZ-PABA (1:2,68) por espectroscopia Raman;
- Avaliar a interação da CFZ com outros coformadores obtidos por meio do estudo teórico, bem como avaliação da eficácia de outros métodos de obtenção.

REFERÊNCIAS

- 1 FORTE, C. A. D. **Estudos de formação de co-cristais com o diflunisal e isômeros de piridina-carboxamida**. 2010. 61 p. Dissertação de mestrado. Departamento de química, Universidade de Coimbra, Coimbra.
- 2 THAYER, A. M. Finding solutions. **Chemical & Engineering News Archive**, v. 88, n. 22, p. 13-18, 2010.
- 3 SHAN, N.; PERRY, M. L.; WEYNA, D. R.; ZAWOROTKO, M. J. Impact of pharmaceutical cocrystals: the effects on drug pharmacokinetics. **Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology**, v. 10, n. 9, p. 1255-1271, 2014.
- 4 BOLLA, G.; NANGIA, A. Pharmaceutical cocrystals: walking the talk. **Chemical Communications**, v. 52, n. 54, p. 8342-8360, 2016.
- 5 TRASK, A. V. An overview of pharmaceutical cocrystals as intellectual property. **Molecular pharmaceutics**, v. 4, n. 3, p. 301-309, 2007.
- 6 BRASIL. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Farmacopeia Brasileira: Volume 2 - Monografias**. 5 ed. Brasília: Anvisa, 2010.
- 7 TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM, F. **Microbiologia**. 5 ed. São Paulo: Atheneu, 2009.
- 8 MONDIALE DE LA SANTÉ, O.; ORGANIZATION, W. H. Global leprosy update, 2015: time for action, accountability and inclusion. **Weekly Epidemiological Record**, v. 91, n. 35, p. 405-416, 2016.
- 9 LEVIS, W.; RENDINI, T. Clofazimine Mechanisms of Action in Mycobacteria, HIV, and Cancer. **The Journal of infectious diseases**, v. 215, n. 9, p. 1488-1488, 2017.
- 10 HALL, A. J.; LOGAN, J. E.; TOBLIN, R. L.; ET AL. Patterns of abuse among unintentional pharmaceutical overdose fatalities. **JAMA**, v. 300, n. 22, p. 2613-2620, 2008.
- 11 BRUNTON, L. L.; CHABNER, B. A.; KNOLLMANN, B. C. **As Bases Farmacológicas da Terapêutica de Goodman & Gilman-12**. AMGH Editora, 2012.
- 12 BALIMANE, P. V.; CHONG, S.; MORRISON, R. A. Current methodologies used for evaluation of intestinal permeability and absorption. **Journal of pharmacological and toxicological methods**, v. 44, n. 1, p. 301-312, 2000.
- 13 DAHAN, A.; BEIG, A.; LINDLEY, D.; MILLER, J. M. The solubility–permeability interplay and oral drug formulation design: two heads are better than one. **Advanced drug delivery reviews**, v. 101, p. 99-107, 2016.
- 14 KASIM, N. A.; WHITEHOUSE, M.; RAMACHANDRAN, C.; BERMEJO, M.; LENNERNÄS, H.; HUSSAIN, A. S.; JUNGINGER, H. E.; STAVCHANSKY, S. A.; MIDHA, K. K.; SHAH, V. P. Molecular properties of WHO essential drugs and provisional biopharmaceutical classification. **Molecular pharmaceutics**, v. 1, n. 1, p. 85-96, 2004.

- 15 DRESSMAN, J. B.; AMIDON, G. L.; REPPAS, C.; SHAH, V. P. Dissolution testing as a prognostic tool for oral drug absorption: immediate release dosage forms. **Pharmaceutical research**, v. 15, n. 1, p. 11-22, 1998.
- 16 KHADKA, P.; RO, J.; KIM, H.; KIM, I.; KIM, J. T.; KIM, H.; CHO, J. M.; YUN, G.; LEE, J. Pharmaceutical particle technologies: An approach to improve drug solubility, dissolution and bioavailability. **Asian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 9, n. 6, p. 304-316, 2014.
- 17 SINGH, D.; BEDI, N.; TIWARY, A. K. Enhancing solubility of poorly aqueous soluble drugs: critical appraisal of techniques. **Journal of Pharmaceutical Investigation**, 2017.
- 18 KUMAR, S.; SINGH, P. Various techniques for solubility enhancement: An overview. **The Pharma Innovation**, v. 5, n. 1, Part A, p. 23, 2016.
- 19 KARAGIANNI, A.; MALAMATARI, M.; KACHRIMANIS, K. Pharmaceutical Cocrystals: New Solid Phase Modification Approaches for the Formulation of APIs. **Pharmaceutics**, v. 10, n. 1, p. 18, 2018.
- 20 KUMAR, S. Pharmaceutical Cocrystals: An Overview. **Indian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 79, n. 6, p. 858-871, 2018.
- 21 SHAN, N.; ZAWOROTKO, M. J. The role of cocrystals in pharmaceutical science. **Drug discovery today**, v. 13, n. 9-10, p. 440-446, 2008.
- 22 KISSA, E. **Dispersions: Characterization, testing, and measurement**. New York: Dekker, 1999.
- 23 WOUTERS, J.; QUÉRÉ, L. **Pharmaceutical salts and co-crystals**. Royal Society of Chemistry, 2011.
- 24 THAKURIA, R.; DELORI, A.; JONES, W.; LIPERT, M. P.; ROY, L.; RODRÍGUEZ-HORNEDO, N. Pharmaceutical cocrystals and poorly soluble drugs. **International journal of pharmaceutics**, v. 453, n. 1, p. 101-125, 2013.
- 25 VAKA, S. R. K.; BOMMANA, M. M.; DESAI, D.; DJORDJEVIC, J.; PHUAPRADIT, W.; SHAH, N. Excipients for amorphous solid dispersions. In: (Ed.). **Amorphous Solid Dispersions**: Springer, 2014. p.123-161.
- 26 SHAH, N.; SANDHU, H.; CHOI, D. S.; CHOKSHI, H.; MALICK, A. W. **Amorphous solid dispersions: Theory and practice**. New York: Springer, 2014.
- 27 FDA. Select Committee on GRAS Substances. 2018. Disponível em: < <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/fdcc/?set=SCOGS> >. Acesso em: maio de 2018.
- 28 DATTA, S.; GRANT, D. J. Crystal structures of drugs: advances in determination, prediction and engineering. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 3, n. 1, p. 42, 2004.
- 29 RODRÍGUEZ-SPONG, B.; PRICE, C. P.; JAYASANKAR, A.; MATZGER, A. J.; RODRÍGUEZ-HORNEDO, N. R. General principles of pharmaceutical solid polymorphism: a supramolecular perspective. **Advanced drug delivery reviews**, v. 56, n. 3, p. 241-274, 2004.

- 30 BABU, N. J.; NANGIA, A. Solubility Advantage of Amorphous Drugs and Pharmaceutical Cocrystals. **Crystal Growth & Design**, v. 11, n. 7, p. 2662-2679, 2011.
- 31 LIM, R. T. Y.; ONG, C. K.; CHENG, S.; NG, W. K. Amorphization of crystalline active pharmaceutical ingredients via formulation technologies. **Powder Technology**, v. 311, p. 175-184, 2017.
- 32 GROHGANZ, H.; LÖBMANN, K.; PRIEMEL, P.; JENSEN, K. T.; GRAESER, K.; STRACHAN, C.; RADES, T. Amorphous drugs and dosage forms. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 23, n. 4, p. 403-408, 2013.
- 33 CHOKSHI, R. J.; SHAH, N. H.; SANDHU, H. K.; MALICK, A. W.; ZIA, H. Stabilization of low glass transition temperature indomethacin formulations: impact of polymer-type and its concentration. **Journal of pharmaceutical sciences**, v. 97, n. 6, p. 2286-2298, 2008.
- 34 ALMARSSON, Ö.; ZAWOROTKO, M. J. Crystal engineering of the composition of pharmaceutical phases. Do pharmaceutical co-crystals represent a new path to improved medicines? **Chemical communications**, n. 17, p. 1889-1896, 2004.
- 35 GIRON, D. Thermal analysis of drugs and drug products. **Encyclopedia of pharmaceutical technology**, v. 15, p. 12-17, 2002.
- 36 HILFIKER, R. **Polymorphism: in the pharmaceutical industry**. John Wiley & Sons, 2006.
- 37 DENGALÉ, S. J.; GROHGANZ, H.; RADES, T.; LÖBMANN, K. Recent advances in co-amorphous drug formulations. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 100, p. 116-125, 2016.
- 38 HANCOCK, B. C.; ZOGRAFI, G. Characteristics and significance of the amorphous state in pharmaceutical systems. **Journal of pharmaceutical sciences**, v. 86, n. 1, p. 1-12, 1997.
- 39 MOHAMED, S.; TOCHER, D. A.; VICKERS, M.; KARAMERTZANIS, P. G.; PRICE, S. L. Salt or cocrystal? A new series of crystal structures formed from simple pyridines and carboxylic acids. **Crystal Growth and Design**, v. 9, n. 6, p. 2881-2889, 2009.
- 40 SAMIE, A.; DESIRAJU, G. R.; BANIK, M. Salts and Cocrystals of the Antidiabetic Drugs Gliclazide, Tolbutamide, and Glipizide: Solubility Enhancements through Drug–Coformer Interactions. **Crystal Growth & Design**, v. 17, n. 5, p. 2406-2417, 2017.
- 41 GOOD, D. J.; RODRÍGUEZ-HORNEDO, N. R. Solubility advantage of pharmaceutical cocrystals. **Crystal Growth and Design**, v. 9, n. 5, p. 2252-2264, 2009.
- 42 WILKINSON, A.; MCNAUGHT, A. **IUPAC Compendium of Chemical Terminology, (the "Gold Book")**. International Union of Pure and Applied Chemistry, 1997.
- 43 LI, Z. J.; ABRAMOV, Y.; BORDNER, J.; LEONARD, J.; MEDEK, A.; TRASK, A. V. Solid-State Acid–Base Interactions in Complexes of Heterocyclic Bases with

- Dicarboxylic Acids: Crystallography, Hydrogen Bond Analysis, and ^{15}N NMR Spectroscopy. **Journal of the American Chemical Society**, v. 128, n. 25, p. 8199-8210, 2006.
- 44 SKOOG, D. A.; WEST, D. M.; HOLLER, F. J.; CROUCH, S. R. **Fundamentos de Química Analítica**. Tradução da 8ª ed. Editora Thomson, 2006.
- 45 STAHLY, G. P. Diversity in single- and multiple-component crystals. The search for and prevalence of polymorphs and cocrystals. **Crystal growth & design**, v. 7, n. 6, p. 1007-1026, 2007.
- 46 STEINER, T.; MAJERZ, I.; WILSON, C. C. First O–H–N hydrogen bond with a centered proton obtained by thermally induced proton migration. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 40, n. 14, p. 2651-2654, 2001.
- 47 DESIRAJU, G. R. Supramolecular synthons in crystal engineering—a new organic synthesis. **Angewandte Chemie International Edition in English**, v. 34, n. 21, p. 2311-2327, 1995.
- 48 QIAO, N.; LI, M.; SCHLINDWEIN, W.; MALEK, N.; DAVIES, A.; TRAPPITT, G. Pharmaceutical cocrystals: an overview. **International journal of pharmaceutics**, v. 419, n. 1, p. 1-11, 2011.
- 49 DESIRAJU, G. R. Crystal engineering: a holistic view. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 46, n. 44, p. 8342-8356, 2007.
- 50 ALLEN, F. H.; MOTHERWELL, W. S. Applications of the Cambridge Structural Database in organic chemistry and crystal chemistry. **Acta Crystallographica Section B: Structural Science**, v. 58, n. 3, p. 407-422, 2002.
- 51 CHISHOLM, J.; PIDCOCK, E.; VAN DE STREEK, J.; INFANTES, L.; MOTHERWELL, S.; ALLEN, F. H. Knowledge-based approaches to crystal design. **CrystEngComm**, v. 8, n. 1, p. 11-28, 2006.
- 52 GROOM, C. R.; ALLEN, F. H. Institutional profile: Crystal structure information in drug discovery and development: current perspectives and new possibilities from the Cambridge Crystallographic Data Centre. **Future medicinal chemistry**, v. 2, n. 6, p. 933-939, 2010.
- 53 THALLAPALLY, P. K.; NANGIA, A. A Cambridge Structural Database analysis of the C–H \cdots Cl interaction: C–H \cdots Cl– and C–H \cdots Cl–M often behave as hydrogen bonds but C–H \cdots Cl–C is generally a van der Waals interaction. **CrystEngComm**, v. 3, n. 27, p. 114-119, 2001.
- 54 MACRAE, C. F.; EDGINGTON, P. R.; MCCABE, P.; PIDCOCK, E.; SHIELDS, G. P.; TAYLOR, R.; TOWLER, M.; STREEK, J. V. D. Mercury: visualization and analysis of crystal structures. **Journal of Applied Crystallography**, v. 39, n. 3, p. 453-457, 2006.
- 55 MACRAE, C. F.; BRUNO, I. J.; CHISHOLM, J. A.; EDGINGTON, P. R.; MCCABE, P.; PIDCOCK, E.; RODRIGUEZ-MONGE, L.; TAYLOR, R.; STREEK, J. V.; WOOD, P. A. Mercury CSD 2.0—new features for the visualization and investigation of crystal structures. **Journal of Applied Crystallography**, v. 41, n. 2, p. 466-470, 2008.

- 56 BRUNO, I. J.; COLE, J. C.; EDGINGTON, P. R.; KESSLER, M.; MACRAE, C. F.; MCCABE, P.; PEARSON, J.; TAYLOR, R. New software for searching the Cambridge Structural Database and visualizing crystal structures. **Acta Crystallographica Section B: Structural Science**, v. 58, n. 3, p. 389-397, 2002.
- 57 ETTER, M. C.; MACDONALD, J. C.; BERNSTEIN, J. Graph-set analysis of hydrogen-bond patterns in organic crystals. **Acta Crystallographica Section B**, v. 46, n. 2, p. 256-262, 1990.
- 58 BARREIRO, E. J.; FRAGA, C. A. M. **Química Medicinal: As bases moleculares da ação dos fármacos**. 3 ed. Artmed Editora, 2015.
- 59 SCHRÖDINGER, E. An undulatory theory of the mechanics of atoms and molecules. **Physical review**, v. 28, n. 6, p. 1049, 1926.
- 60 BEREZIN, F. A.; SHUBIN, M. **The Schrödinger Equation**. Springer Science & Business Media, 2012.
- 61 HOHENBERG, P.; KOHN, W. Inhomogeneous electron gas. **Physical review**, v. 136, n. 3B, p. B864, 1964.
- 62 KOHN, W.; SHAM, L. J. Self-consistent equations including exchange and correlation effects. **Physical review**, v. 140, n. 4A, p. A1133, 1965.
- 63 DOUROUMIS, D.; ROSS, S. A.; NOKHODCHI, A. Advanced methodologies for cocrystal synthesis. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 117, p. 178-195, 2017.
- 64 KUMAR, S.; NANDA, A. Pharmaceutical Cocrystals: An Overview. **Indian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 79, n. 6, p. 858-871, 2017.
- 65 GAGNIÈRE, E.; MANGIN, D.; VEESLER, S.; PUEL, F. Co-crystallization in Solution and Scale-up Issues. In: (Ed.). **Pharmaceutical salts and co-crystals**, 2011. p.188-208.
- 66 KOTAK, U.; PRAJAPATI, V.; SOLANKI, H.; JANI, G.; JHA, P. Co-crystallization technique its rationale and recent progress. **World J Pharm Pharm Sci**, v. 4, n. 4, p. 1484-508, 2015.
- 67 CHILDS, S. L.; RODRÍGUEZ-HORNEDO, N.; REDDY, L. S.; JAYASANKAR, A.; MAHESHWARI, C.; MCCAUSLAND, L.; SHIPPLETT, R.; STAHLY, B. C. Screening strategies based on solubility and solution composition generate pharmaceutically acceptable cocrystals of carbamazepine. **CrystEngComm**, v. 10, n. 7, p. 856-864, 2008.
- 68 PEDIREDDI, V.; JONES, W.; CHORLTON, A.; DOCHERTY, R. Creation of crystalline supramolecular arrays: a comparison of co-crystal formation from solution and by solid-state grinding. **Chemical Communications**, n. 8, p. 987-988, 1996.
- 69 FRIŠČIĆ, T.; TRASK, A. V.; JONES, W.; MOTHERWELL, W. Screening for inclusion compounds and systematic construction of three-component solids by liquid-assisted grinding. **Angewandte Chemie**, v. 118, n. 45, p. 7708-7712, 2006.
- 70 MADUSANKA, N.; EDDLESTON, M. D.; ARHANGELSKIS, M.; JONES, W. Polymorphs, hydrates and solvates of a co-crystal of caffeine with anthranilic acid. **Acta Crystallographica Section B: Structural Science, Crystal Engineering and Materials**, v. 70, n. 1, p. 72-80, 2014.

- 71 WEYNA, D. R.; SHATTOCK, T.; VISHWESHWAR, P.; ZAWOROTKO, M. J. Synthesis and structural characterization of cocrystals and pharmaceutical cocrystals: mechanochemistry vs slow evaporation from solution. **Crystal Growth and Design**, v. 9, n. 2, p. 1106-1123, 2009.
- 72 FRIŠČIĆ, T.; JONES, W. Recent advances in understanding the mechanism of cocrystal formation via grinding. **Crystal Growth and Design**, v. 9, n. 3, p. 1621-1637, 2009.
- 73 BARIKAH, K. Z. A. Traditional and Novel Methods for Cocrystal Formation: A Mini Review. **Systematic Reviews in Pharmacy**, v. 9, n. 1, 2018.
- 74 CHIARELLA, R. A.; DAVEY, R. J.; PETERSON, M. L. Making Co-Crystals The Utility of Ternary Phase Diagrams. **Crystal Growth & Design**, v. 7, n. 7, p. 1223-1226, 2007.
- 75 O'DRISCOLL, C. M.; CORRIGAN, O. I. Clofazimine. In: BRITTAIN, H. G. (Ed.). **Analytical Profiles of Drug Substances and Excipients**: Academic Press, v.21, 1992. p.75-108.
- 76 YAWALKAR, S.; VISCHER, W. Lamprene (clofazimine) in leprosy. **Lepr Rev**, v. 50, n. 135, p. 44, 1979.
- 77 CHOLO, M. C.; STEEL, H. C.; FOURIE, P. B.; GERMISHUIZEN, W. A.; ANDERSON, R. Clofazimine: current status and future prospects. **Journal of antimicrobial chemotherapy**, v. 67, n. 2, p. 290-298, 2011.
- 78 CHAVES, L. L.; COSTA LIMA, S. A.; VIEIRA, A. C. C.; BARREIROS, L.; SEGUNDO, M. A.; FERREIRA, D.; SARMENTO, B.; REIS, S. Development of PLGA nanoparticles loaded with clofazimine for oral delivery: Assessment of formulation variables and intestinal permeability. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 112, p. 28-37, 2018.
- 79 SALEM, I. I.; STEFFAN, G.; DÜZGÜNES, N. Efficacy of clofazimine–modified cyclodextrin against Mycobacterium avium complex in human macrophages. **International journal of pharmaceutics**, v. 260, n. 1, p. 105-114, 2003.
- 80 BEVAN, C. D.; LLOYD, R. S. A high-throughput screening method for the determination of aqueous drug solubility using laser nephelometry in microtiter plates. **Analytical chemistry**, v. 72, n. 8, p. 1781-1787, 2000.
- 81 O'REILLY, J. R.; CORRIGAN, O. I.; O'DRISCOLL, C. M. The effect of mixed micellar systems, bile salt/fatty acids, on the solubility and intestinal absorption of clofazimine (B663) in the anaesthetised rat. **International journal of pharmaceutics**, v. 109, n. 2, p. 147-154, 1994.
- 82 BOLLA, G.; NANGIA, A. Clofazimine mesylate: a high solubility stable salt. **Crystal Growth & Design**, v. 12, n. 12, p. 6250-6259, 2012.
- 83 BAIK, J.; ROSANIA, G. R. Macrophages sequester clofazimine in an intracellular liquid crystal-like supramolecular organization. **PloS one**, v. 7, n. 10, p. e47494, 2012.
- 84 YOON, G. S.; SUD, S.; KESWANI, R. K.; BAIK, J.; STANDIFORD, T. J.; STRINGER, K. A.; ROSANIA, G. R. Phagocytosed clofazimine biocrystals can

- modulate innate immune signaling by inhibiting TNF α and boosting IL-1RA secretion. **Molecular pharmaceuticals**, v. 12, n. 7, p. 2517-2527, 2015.
- 85 RYCHLEWSKA, U.; BROOM, M. B. H.; EGGLESTON, D. S.; HODGSON, D. J. Antileprosy dihydrophenazines. Structural characterization of two crystal forms of clofazimine and of isoclofazimine, B. 3857. **Journal of the American Chemical Society**, v. 107, n. 16, p. 4768-4772, 1985.
- 86 BANNIGAN, P.; ZEGLINSKI, J.; LUSI, M.; O'BRIEN, J.; HUDSON, S. P. Investigation into the Solid and Solution Properties of Known and Novel Polymorphs of the Antimicrobial Molecule Clofazimine. **Crystal Growth & Design**, v. 16, n. 12, p. 7240-7250, 2016.
- 87 NIE, H.; SU, Y.; ZHANG, M.; SONG, Y.; LEONE, A.; TAYLOR, L. S.; MARSAC, P. J.; LI, T.; BYRN, S. R. Solid-state spectroscopic investigation of molecular interactions between clofazimine and hypromellose phthalate in amorphous solid dispersions. **Molecular pharmaceuticals**, v. 13, n. 11, p. 3964-3975, 2016.
- 88 BANNIGAN, P.; DURACK, E.; MADDEN, C.; LUSI, M.; HUDSON, S. P. Role of Biorelevant Dissolution Media in the Selection of Optimal Salt Forms of Oral Drugs: Maximizing the Gastrointestinal Solubility and in Vitro Activity of the Antimicrobial Molecule, Clofazimine. **ACS Omega**, v. 2, n. 12, p. 8969-8981, 2017.
- 89 NARANG, A. S.; SRIVASTAVA, A. K. Evaluation of solid dispersions of clofazimine. **Drug development and industrial pharmacy**, v. 28, n. 8, p. 1001-1013, 2002.
- 90 KRISHNAN, T.; ABRAHAM, I. Improved aqueous dissolution of clofazimine from coevaporates using polyvinylmethyl ether/maleic anhydride copolymer. **Drug development and industrial pharmacy**, v. 17, n. 13, p. 1823-1842, 1991.
- 91 HERNANDEZ-VALDEPEÑA, I.; DOMURADO, M.; COUDANE, J.; BRAUD, C.; BAUSSARD, J.-F.; VERT, M.; DOMURADO, D. Nanoaggregates of a random amphiphilic polyanion to carry water-insoluble clofazimine in neutral aqueous media. **European journal of pharmaceutical sciences**, v. 36, n. 2-3, p. 345-351, 2009.
- 92 LI, S.; CHAN, J. Y.-W.; LI, Y.; BARDELANG, D.; ZHENG, J.; YEW, W. W.; CHAN, D. P.-C.; LEE, S. M. Y.; WANG, R. Complexation of clofazimine by macrocyclic cucurbit [7] uril reduced its cardiotoxicity without affecting the antimycobacterial efficacy. **Organic & biomolecular chemistry**, v. 14, n. 31, p. 7563-7569, 2016.
- 93 PATEL, V.; MISRA, A. Encapsulation and stability of clofazimine liposomes. **Journal of microencapsulation**, v. 16, n. 3, p. 357-367, 1999.
- 94 VALETTI, S.; XIA, X.; COSTA-GOUVEIA, J.; BRODIN, P.; BERNET-CAMARD, M.-F.; ANDERSSON, M.; FEILER, A. Clofazimine encapsulation in nanoporous silica particles for the oral treatment of antibiotic-resistant Mycobacterium tuberculosis infections. **Nanomedicine**, v. 12, n. 8, p. 831-844, 2017.
- 95 PETERS, K.; LEITZKE, S.; DIEDERICHS, J.; BORNER, K.; HAHN, H.; MÜLLER, R.; EHLERS, S. Preparation of a clofazimine nanosuspension for intravenous use and evaluation of its therapeutic efficacy in murine Mycobacterium avium infection. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 45, n. 1, p. 77-83, 2000.

- 96 EGGLESTON, D. S.; MARSH, W. E.; HODGSON, D. J. Structures of the antileprosy phenazine derivatives clofazimine–N, N-dimethylformamide, C₂₇H₂₂Cl₂N₄. C₃H₇NO, and B1912, C₃₀H₂₇ClN₄. **Acta Crystallographica Section C: Crystal Structure Communications**, v. 40, n. 2, p. 288-292, 1984.
- 97 KESWANI, R. K.; TIAN, C.; PERYEA, T.; GIRISH, G.; WANG, X.; ROSANIA, G. R. Repositioning Clofazimine as a Macrophage-Targeting Photoacoustic Contrast Agent. **Scientific reports**, v. 6, p. 23528, 2016.
- 98 MACKIE, B. S.; MACKIE, L. E. The PABA story. **Australasian journal of dermatology**, v. 40, n. 1, p. 51-53, 1999.
- 99 YAMASHITA, H.; HIRAKURA, Y.; YUDA, M.; TERADA, K. Coformer Screening Using Thermal Analysis Based on Binary Phase Diagrams. **Pharmaceutical Research**, v. 31, n. 8, p. 1946-1957 2014.
- 100 LU, J.; LI, Y.-P.; WANG, J.; LI, Z.; ROHANI, S.; CHING, C.-B. Pharmaceutical cocrystals: a comparison of sulfamerazine with sulfamethazine. **Journal of Crystal Growth**, v. 335, n. 1, p. 110-114, 2011.
- 101 LAI, T. F.; MARSH, R. E. The crystal structure of p-aminobenzoic acid. **Acta Crystallographica**, v. 22, n. 6, p. 885-893, 1967.
- 102 VARUGHESE, S.; AZIM, Y.; DESIRAJU, G. R. Molecular complexes of alprazolam with carboxylic acids, boric acid, boronic acids, and phenols. Evaluation of supramolecular heterosynthons mediated by a triazole ring. **Journal of pharmaceutical sciences**, v. 99, n. 9, p. 3743-3753, 2010.
- 103 MCMAHON, J. A.; BIS, J. A.; VISHWESHWAR, P.; SHATTOCK, T. R.; MCLAUGHLIN, O. L.; ZAWOROTKO, M. J. Crystal engineering of the composition of pharmaceutical phases. 3. Primary amide supramolecular heterosynthons and their role in the design of pharmaceutical co-crystals. **Zeitschrift für Kristallographie-Crystalline Materials**, v. 220, n. 4, p. 340-350, 2005.
- 104 ROHLÍČEK, J.; SKOŘEPOVÁ, E.; BABOR, M.; ČEJKA, J. CrystalCMP: an easy-to-use tool for fast comparison of molecular packing. **Journal of Applied Crystallography**, v. 49, n. 6, p. 2172-2183, 2016.
- 105 AITIPAMULA, S.; WONG, A. B.; CHOW, P. S.; TAN, R. B. Pharmaceutical cocrystals of ethenzamide: structural, solubility and dissolution studies. **CrystEngComm**, v. 14, n. 24, p. 8515-8524, 2012.
- 106 ISSA, N.; BARNETT, S. A.; MOHAMED, S.; BRAUN, D. E.; COPLEY, R. C.; TOCHER, D. A.; PRICE, S. L. Screening for cocrystals of succinic acid and 4-aminobenzoic acid. **CrystEngComm**, v. 14, n. 7, p. 2454-2464, 2012.
- 107 HARRISS, B. I.; VELLA-ZARB, L.; WILSON, C.; EVANS, I. R. Furosemide cocrystals: Structures, hydrogen bonding, and implications for properties. **Crystal Growth & Design**, v. 14, n. 2, p. 783-791, 2014.
- 108 SANPHUI, P.; RAJPUT, L. Tuning solubility and stability of hydrochlorothiazide co-crystals. **Acta Crystallographica Section B: Structural Science, Crystal Engineering and Materials**, v. 70, n. 1, p. 81-90, 2014.

- 109 SURESH, K.; MANNAVA, M. C.; NANGIA, A. Cocrystals and alloys of nitazoxanide: enhanced pharmacokinetics. **Chemical Communications**, v. 52, n. 22, p. 4223-4226, 2016.
- 110 CHERUKUVADA, S.; BABU, N. J.; NANGIA, A. Nitrofurantoin-p-aminobenzoic acid cocrystal: Hydration stability and dissolution rate studies. **Journal of pharmaceutical sciences**, v. 100, n. 8, p. 3233-3244 2011.
- 111 PRASAD, K. D.; CHERUKUVADA, S.; STEPHEN, L. D.; ROW, T. N. G. Effect of inductive effect on the formation of cocrystals and eutectics. **CrystEngComm**, v. 16, n. 42, p. 9930-9938, 2014.
- 112 ZHANG, T.; YANG, Y.; ZHAO, X.; JIA, J.; SU, H.; HE, H.; GU, J.; ZHU, G. Dissolution and pharmacokinetic properties of two paliperidone cocrystals with 4-hydroxybenzoic and 4-aminobenzoic acid. **CrystEngComm**, v. 16, n. 33, p. 7667-7672, 2014.
- 113 SURESH, K.; MINKOV, V. S.; NAMILA, K. K.; DEREVYANNIKOVA, E.; LOSEV, E.; NANGIA, A.; BOLDYREVA, E. V. Novel synthons in sulfamethizole cocrystals: structure-property relations and solubility. **Crystal Growth & Design**, v. 15, n. 7, p. 3498-3510, 2015.
- 114 BABU, N. J.; SANPHUI, P.; NANGIA, A. Crystal engineering of stable temozolomide cocrystals. **Chemistry-An Asian Journal**, v. 7, n. 10, p. 2274-2285, 2012.
- 115 FERNANDES, J. A.; SARDO, M.; MAFRA, L.; CHOQUESILLO-LAZARTE, D.; MASCIOCCHI, N. X-ray and NMR crystallography studies of novel theophylline cocrystals prepared by liquid assisted grinding. **Crystal Growth & Design**, v. 15, n. 8, p. 3674-3683, 2015.
- 116 KUMAR, S. S.; THAKURIA, R.; NANGIA, A. Pharmaceutical cocrystals and a nitrate salt of voriconazole. **CrystEngComm**, v. 16, n. 22, p. 4722-4731, 2014.
- 117 CHADHA, R.; RANI, D.; GOYAL, P. Novel cocrystals of gliclazide: characterization and evaluation. **CrystEngComm**, v. 18, n. 13, p. 2275-2283, 2016.
- 118 DINNEBIER, R. E.; BILLINGE, S. J. **Powder diffraction: theory and practice**. Royal Society of Chemistry, 2008.
- 119 PECHARSKY, V.; ZAVALIJ, P. **Fundamentals of powder diffraction and structural characterization of materials**. 2 ed. Springer Science & Business Media, 2008.
- 120 CULLITY, B. D. S., S. R. . **Elements of X-ray Diffraction**. third edition. New Jersey: Prentice Hall, 2001.
- 121 BRAGG, W. H.; WL BRAGG, B. The reflection of X-rays by crystals. **Proc. R. Soc. Lond. A**, v. 88, n. 605, p. 428-438, 1913.
- 122 CINČIĆ, D.; FRIŠČIĆ, T.; JONES, W. Isostructural Materials Achieved by Using Structurally Equivalent Donors and Acceptors in Halogen-Bonded Cocrystals. **Chemistry-A European Journal**, v. 14, n. 2, p. 747-753, 2008.

- 123 KARKI, S.; FÁBIÁN, L.; FRIŠČIĆ, T.; JONES, W. Powder X-ray diffraction as an emerging method to structurally characterize organic solids. **Organic letters**, v. 9, n. 16, p. 3133-3136, 2007.
- 124 SHANKLAND, K.; DAVID, W.; MCCUSKER, L.; BAERLOCHER, C. **Structure determination from powder diffraction data**. Oxford University Press, Incorporated, 2006.
- 125 VISSER, J. A fully automatic program for finding the unit cell from powder data. **Journal of Applied Crystallography**, v. 2, n. 3, p. 89-95, 1969.
- 126 LE BAIL, A. Monte carlo indexing with mcmaile. **Powder Diffraction**, v. 19, n. 3, p. 249-254, 2004.
- 127 BOULTIF, A.; LOUËR, D. Indexing of powder diffraction patterns for low-symmetry lattices by the successive dichotomy method. **Journal of Applied Crystallography**, v. 24, n. 6, p. 987-993, 1991.
- 128 WERNER, P.-E.; ERIKSSON, L.; WESTDAHL, M. TREOR, a semi-exhaustive trial-and-error powder indexing program for all symmetries. **Journal of Applied Crystallography**, v. 18, n. 5, p. 367-370, 1985.
- 129 PAWLEY, G. Unit-cell refinement from powder diffraction scans. **Journal of Applied Crystallography**, v. 14, n. 6, p. 357-361, 1981.
- 130 LE BAIL, A.; DUROY, H.; FOURQUET, J. Ab-initio structure determination of LiSbWO₆ by X-ray powder diffraction. **Materials Research Bulletin**, v. 23, n. 3, p. 447-452, 1988.
- 131 RIETVELD, H. A profile refinement method for nuclear and magnetic structures. **Journal of applied Crystallography**, v. 2, n. 2, p. 65-71, 1969.
- 132 ALTOMARE, A.; BURLA, M. C.; CAMALLI, M.; CARROZZINI, B.; CASCARANO, G. L.; GIACOVAZZO, C.; GUAGLIARDI, A.; MOLITERNI, A. G.; POLIDORI, G.; RIZZI, R. EXPO: a program for full powder pattern decomposition and crystal structure solution. **Journal of Applied Crystallography**, v. 32, n. 2, p. 339-340, 1999.
- 133 RODRIGUEZ-CARVAJAL, J.; ROISNEL, T. Laboratoire leon brillouin (cea-cnrs). **France Tel:(33)**, v. 169083343, 2009.
- 134 TOBY, B. H. EXPGUI, a graphical user interface for GSAS. **Journal of applied crystallography**, v. 34, n. 2, p. 210-213, 2001.
- 135 TOBY, B. H.; VON DREELE, R. B. GSAS-II: the genesis of a modern open-source all purpose crystallography software package. **Journal of Applied Crystallography**, v. 46, n. 2, p. 544-549, 2013.
- 136 HARRIS, K. D.; TREMAYNE, M.; LIGHTFOOT, P.; BRUCE, P. G. Crystal structure determination from powder diffraction data by Monte Carlo methods. **Journal of the American Chemical Society**, v. 116, n. 8, p. 3543-3547, 1994.
- 137 LE BAIL, A. ESPOIR: a program for solving structures by Monte Carlo from powder diffraction data. **7th European Powder Diffraction Conference**, 2000.

- 138 SHANKLAND, K.; PIDCOCK, E.; VAN DE STREEK, J.; DAVID, W. I.;
MOTHERWELL, W. S.; COLE, J. C. DASH: a program for crystal structure
determination from powder diffraction data. **Journal of Applied Crystallography**, v.
39, n. 6, p. 910-915, 2006.
- 139 RIETVELD, H. Line profiles of neutron powder-diffraction peaks for structure
refinement. **Acta Crystallographica**, v. 22, n. 1, p. 151-152, 1967.
- 140 YOUNG, R.; MACKIE, P. T.; VON DREELE, R. Application of the pattern-fitting
structure-refinement method of X-ray powder diffractometer patterns. **Journal of
Applied Crystallography**, v. 10, n. 4, p. 262-269, 1977.
- 141 BRITTAIN, H. G. **Spectroscopy of pharmaceutical solids**. CRC Press, 2006.
- 142 FREI, R. W.; MACNEIL, J. D. **Diffuse reflectance spectroscopy in environmental
problem-solving**. Cleveland: CRE-Press, 1973.
- 143 HECHT, H. G. The interpretation of diffuse reflectance spectra. **Jornal of research of
the National Bureau of Standards**, v. 80a, n. 4, p. 567-583, 1976.
- 144 KUBELKA, P.; MUNK, F. An article on optics of paint layers. **Z. Tech. Phys**, v. 12,
n. 593-601, 1931.
- 145 KUBELKA, P. New contributions to the optics of intensely light-scattering materials.
Part I. **Josa**, v. 38, n. 5, p. 448-457, 1948.
- 146 BARRÓN, V.; TORRENT, J. Use of the Kubelka—Munk theory to study the
influence of iron oxides on soil colour. **European Journal of Soil Science**, v. 37, n. 4,
p. 499-510, 1986.
- 147 TUBINO, M.; ROSSI, A. V.; DE MAGALHÃES, M. E. Quantitative spot tests of Fe
(III), Cr (VI) and Ni (II) by reflectance measurements. **Analytical letters**, v. 30, n. 2,
p. 271-282, 1997.
- 148 SILVERSTAIN, R.; BASSLER, G.; MORRIL, T. **Identificação espectroscópica de
compostos orgânicos**. 5 ed. São Paulo: Guanabara, 1994.
- 149 HOLLER, F. J.; SKOOG, D. A.; CROUCH, S. R.; PASQUINI, C. **Princípios de
análise instrumental**. 6 ed. Porto Alegre: Bookman, 2009.
- 150 LARKIN, P. **Infrared and Raman spectroscopy: principles and spectral
interpretation**. Elsevier, 2017.
- 151 COLTHUP, N. **Introduction to infrared and Raman spectroscopy**. Elsevier, 2012.
- 152 GRIFFITHS, P. R.; DE HASETH, J. A. **Fourier transform infrared spectrometry**.
John Wiley & Sons, 2007.
- 153 IONASHIRO, M.; CAIRES, F.; GOMES, D. **Princípios básicos da
termogravimetria e análise térmica diferencial/calorimetria exploratória
diferencial**. São Paulo: Giz Editorial, 2005. 80 p.
- 154 CHERUKUVADA, S.; GURU ROW, T. N. Comprehending the Formation of
Eutectics and Cocrystals in Terms of Design and Their Structural Interrelationships.
Crystal Growth & Design, v. 14, n. 8, p. 4187-4198, 2014.

- 155 BROWN, M. E.; GALLAGHER, P. K. **Handbook of thermal analysis and calorimetry: recent advances, techniques and applications**. Elsevier, 2011.
- 156 MOTHÉ, C.; AZEVEDO, A. **Análise térmica de materiais**. São Paulo: Artliber Editora, 2009.
- 157 HOHNE, G. W. H.; HEMMINGER, W. F.; FLAMMERSHEIM, H. J. **Differential Scanning Calorimetry**. 2° ed. New York: Springer-Verlag, 2003. 301 p.
- 158 YAMASHITA, H.; HIRAKURA, Y.; YUDA, M.; TERAMURA, T.; TERADA, K. Detection of Cocrystal Formation Based on Binary Phase Diagrams Using Thermal Analysis. **Pharmaceutical Research**, v. 30, n. 1, p. 70-80, 2013.
- 159 SILVA, C. C. P. D. **Supramolecular synthesis and characterization of new solid forms of the drugs 5-fluorocytosine and 5-fluorouracil**. 2015. 113 p. (Doutorado). Biomolecular Physics, Universidade de São Paulo, São Carlos.
- 160 TCHEBYCHEV, P. L. **Théorie des mécanismes connus sous le nom de parallélogrammes**. Imprimerie de l'Académie impériale des sciences, 1853.
- 161 THOMPSON, P.; COX, D.; HASTINGS, J. Rietveld refinement of Debye–Scherrer synchrotron X-ray data from Al₂O₃. **Journal of Applied Crystallography**, v. 20, n. 2, p. 79-83, 1987.
- 162 BRUNO, I. J.; COLE, J. C.; KESSLER, M.; LUO, J.; MOTHERWELL, W. S.; PURKIS, L. H.; SMITH, B. R.; TAYLOR, R.; COOPER, R. I.; HARRIS, S. E. Retrieval of crystallographically-derived molecular geometry information. **Journal of chemical information and computer sciences**, v. 44, n. 6, p. 2133-2144, 2004.
- 163 BRUKER, A. Topas V4. 2: General profile and structure analysis software for powder diffraction data. **Bruker AXS, Karlsruhe, Germany**, 2009.
- 164 CAIRA, M. R. Sulfa drugs as model cocrystal formers. **Molecular pharmaceutics**, v. 4, n. 3, p. 310-316, 2007.
- 165 YALKOWSKY, S. H.; HE, Y.; JAIN, P. **Handbook of aqueous solubility data**. CRC press, 2016.
- 166 JONES, C. L.; WILSON, C. C.; THOMAS, L. H. Turning colour on and off using molecular disorder and proton transfer in multi-component molecular complexes. **CrystEngComm**, v. 16, n. 26, p. 5849-5858, 2014.
- 167 KHAN, A.; WANG, M.; USMAN, R.; SUN, H.; DU, M.; XU, C. Molecular Marriage via Charge Transfer Interaction in Organic Charge Transfer Co-Crystals toward Solid-State Fluorescence Modulation. **Crystal Growth & Design**, v. 17, n. 3, p. 1251-1257, 2017.
- 168 LIU, J.-J.; LIU, T.; XIA, S.-B.; HE, C.-X.; CHENG, F.-X.; LIN, M.-J.; HUANG, C.-C. Cocrystals of naphthalene diimide with naphthalene derivatives: A facile approach to tune the luminescent properties. **Dyes and Pigments**, v. 149, p. 59-64, 2018.
- 169 HOUSECROFT, C. E.; SHARPE, A. G. **Inorganic chemistry**. 4 ed. São Paulo: Person, 2012.

- 170 LI, Y.; TANG, L.-P.; ZHOU, W.; WANG, X.-R. Fabrication of intercalated p-aminobenzoic acid into Zn-Ti layered double hydroxide and its application as UV absorbent. **Chinese Chemical Letters**, v. 27, n. 9, p. 1495-1499, 2016.
- 171 ROY, S.; TITI, H. M.; GOLDBERG, I. Supramolecular organic frameworks (SOFs) of tetrakis (4-hydroxyphenyl) porphyrin with efficient guest inclusion. **CrystEngComm**, v. 18, n. 19, p. 3372-3382, 2016.
- 172 GUNASEKARAN, S.; ABITHA, P. Fourier transform infrared and FT-Raman spectra and normal coordinate analysis of aminobenzoic acid. **Indian Journal of Pure & Applied Physics**, v. 43, p. 329-334, 2005.
- 173 SAMSONOWICZ, M.; HRYNASZKIEWICZ, T.; ŚWISŁOCKA, R.; REGULSKA, E.; LEWANDOWSKI, W. Experimental and theoretical IR, Raman, NMR spectra of 2-, 3- and 4-aminobenzoic acids. **Journal of Molecular Structure**, v. 744-747, p. 345-352, 2005.
- 174 STAMMER, C.; TAURINS, A. Infrared spectra of phenazines. **Spectrochimica Acta**, v. 19, n. 10, p. 1625-1654, 1963.
- 175 CHAVES, L. L.; LIMA, S.; VIEIRA, A. C.; FERREIRA, D.; SARMENTO, B.; REIS, S. Overcoming clofazimine intrinsic toxicity: statistical modelling and characterization of solid lipid nanoparticles. **Journal of The Royal Society Interface**, v. 15, n. 139, p. 20170932, 2018.
- 176 HE, D.; WU, Y.; XU, B.-Q. Formation of 2, 3-diaminophenazines and their self-assembly into nanobelts in aqueous medium. **European polymer journal**, v. 43, n. 9, p. 3703-3709, 2007.
- 177 HUANG, Y.; ZHANG, Q.; WANG, J.-R.; LIN, K.-L.; MEI, X. Amino acids as co-amorphous excipients for tackling the poor aqueous solubility of valsartan. **Pharmaceutical development and technology**, v. 22, n. 1, p. 69-76, 2017.
- 178 TAKACS, L.; MCHENRY, J. S. Temperature of the milling balls in shaker and planetary mills. **Journal of Materials Science**, v. 41, n. 16, p. 5246-5249, 2006.
- 179 COOKE, C. L.; DAVEY, R. J.; BLACK, S.; MURYN, C.; PRITCHARD, R. G. Binary and ternary phase diagrams as routes to salt discovery: ephedrine and pimelic acid. **Crystal Growth & Design**, v. 10, n. 12, p. 5270-5278, 2010.

APÊNDICE A

TABELAS DE RESULTADOS DETALHADOS SOBRE A ANÁLISE TÉRMICA, ENVOLVENDO MISTURAS CFZ E PABA SINTETIZADAS POR LAG

A.1 Eventos térmicos detectados nas análises de DTA

Tabela 19: Análise dos eventos térmicos observados nas curvas de DTA.

Amostra	Evento	Tipo de evento	Intervalo (°C)					Calor (kJ g ⁻¹)
			T_g	T_x	T_{onset}	T_{Pico}	T_{endset}	
CFZ	I	Fusão	-	-	216,8	218,2	222,4	-1,13
CFZ _{REC}	I	Fusão	-	-	216,3	219,1	227,1	-0,60
PABA	I	Fusão	-	-	182,1	185,2	191,3	-0,20
	II	Decomp. End.	-	-	201,0	227,3	240,4	-1,82
PABA _{REC}	I	Fusão	-	-	181,1	184,1	190,7	-0,34
	II	Decomp. End.	-	-	203,3	231,5	246,0	-2,12
CFZ-PABA (3:1)	I	Fusão	-	-	204,1	207,8	215,9	-0,88
	II	Decomp. Exo.	-	-	216,5	237,9	252,9	1,04
	III	Decomp. End.	-	-	306,5	310,7	316,0	-0,38
	IV	Decomp. End.	-	-	335,6	495,5	540,6	-14,37
	V	Decomp. End.	-	-	595,6	626,3	660,9	-1,29
	VI	Decomp. Exo.	-	-	681,9	696,5	733,0	2,84
CFZ-PABA (2:1)	I	Fusão	-	-	203,7	207,6	215,1	-0,87
	II	Decomp. Exo.	-	-	215,1	236,2	268,6	0,85
	III	Decomp. Exo.	-	-	282,9	297,5	331,0	0,48
	IV	Decomp. Exo.	-	-	351,3	356,6	379,1	0,50

Amostra	Evento	Tipo de evento	Intervalo (°C)					Calor (kJ g ⁻¹)
			T_g	T_x	T_{onset}	T_{Pico}	T_{endset}	
	V	Decomp. End.	-	-	501,0	734,5	891,4	-62,11
CFZ-PABA (1,5:1)	I	Fusão	-	-	202,6	208,6	214,9	-0,66
	II	Decomp. Exo.	-	-	214,3	230,6	265,0	0,73
	III	Decomp. Exo.	-	-	290,6	304,1	333,3	0,59
	IV	Decomp. Exo.	-	-	340,9	336,3	360,3	0,15
CFZ-PABA (1:1)	I	Fusão	-	-	206,6	209,8	216,7	-0,79
	II	Decomp. Exo.	-	-	258,3	245,0	330,6	0,73
	III	Decomp. Exo.	-	-	353,1	358,9	373,0	0,16
	IV	Decomp. End.	-	-	467,5	712,5	908,0	-72,35
CFZ-PABA (1:1,5)	I	Trans. Vítrea	81,1	-	-	-	95,2	-
	II	Cristalização	-	116,3	-	125,0	134,4	0,23
	III	Fusão	-	-	202,3	206,3	212,8	-0,63
	IV	Decomp. Exo.	-	-	217,0	277,9	330,9	0,97
	V	Decomp. End.	-	-	467,0	874,7	893,3	-27,66
CFZ-PABA (1:2)	I	Trans. Vítrea	80,9	-	-	-	94,7	-
	II	Cristalização	-	116,1	-	125,8	135,9	0,18
	III	Fusão	-	-	192,7	200,2	206,7	-0,37
	IV	Decomp. Exo.	-	-	240,3	272,3	332,0	1,06
	V	Decomp. End.	-	-	408,4	635,7	759,8	-45,33
CFZ-PABA (1:2,5)	I	Trans. Vítrea	64,1	-	-	-	89,4	-
	II	Cristalização	-	133,0	-	140,4	150,5	0,17
	III	Fusão	-	-	183,0	193,3	200,5	-0,20

Amostra	Evento	Tipo de evento	Intervalo (°C)					Calor (kJ g ⁻¹)
			T_g	T_x	T_{onset}	T_{Pico}	T_{endset}	
	IV	Decomp. End.	-	-	206,7	235,8	257,1	-0,45
	V	Decomp. End.	-	-	416,5	654,2	863,1	-77,9
CFZ-PABA (1:2,68)	I	Trans. Vítreas	75,9	-	-	-	88,0	-
	II	Cristalização	-	140,4	-	149,8	160,4	0,13
	III	Fusão	-	-	188,3	196,9	206,3	-0,16
	IV	Decomp. End.	-	-	215,6	241,4	262,7	-0,43
	V	Decomp. End.	-	-	306,6	539,3	559,5	-2,97
	VI	Decomp. End.	-	-	588,4	622,1	752,9	-12,19
CFZ-PABA (1:3)	I	Trans. Vítreas	65,8	-	-	-	77,9	-
	II	Cristalização	-	123,5	-	139,1	168,4	0,13
	III	Fusão	-	-	177,1	191,5	198,1	-0,07
	IV	Decomp. End.	-	-	203,3	231,4	259,1	-0,73
	V	Decomp. End.	-	-	423,9	836,0	899,9	-27,84
CFZ-PABA (1:4)	I	Trans. Vítreas	65,9	-	-	-	74,6	-
	II	Fusão	-	-	101,1	119,9	131,2	-0,05
	III	Cristalização	-	128,1	-	142,9	169,1	0,06
	IV	Decomp. End.	-	-	193,9	230,6	258,6	-1,53
	V	Decomp. End.	-	-	511,1	871,5	921,7	-22,1
CFZ-PABA (1:7)	I	Trans. Vítreas	63,2	-	-	-	67,6	-
	II	Fusão	-	-	130,7	157,2	166,2	-0,20
	III	Decomp. End.	-	-	185,6	227,5	254,3	-1,60
	IV	Decomp. End.	-	-	305,7	503,4	539,2	-3,59

Amostra	Evento	Tipo de evento	Intervalo (°C)					Calor (kJ g ⁻¹)
			<i>T_g</i>	<i>T_x</i>	<i>T_{onset}</i>	<i>T_{Pico}</i>	<i>T_{endset}</i>	
	V	Decomp. End.	-	-	561,1	601,9	647,0	-2,05
CFZ-PABA (1:1) _{MF}	I	Fusão	-	-	113,0	129,3	139,1	-0,16
	II	Cristalização	-	162,0	-	171,9	189,6	0,12
	III	Fusão	-	-	199,1	204,8	211,1	-0,26
CFZ-PABA (1:2,68) _{MF}	I	Fusão	-	-	110,9	128,1	149,0	-0,32
	II	Decomp. End.	-	-	196,6	234,9	258,3	-0,72
	III	Decomp. End.	-	-	409,6	641,5	791,1	-68,50

A.2 Eventos térmicos detectados nas análises de TG

Tabela 20: Análise dos eventos térmicos observados nas curvas de TG.

Amostra	Evento	Intervalo (°C)			Variação de massa (%)	Resíduo (%)
		T_{onset}	T_{mid}	T_{endset}		
CFZ	I	266,9	296,4	310,1	9,48	49,48
	II	332,1	347,7	374,8	7,41	
	III	384,6	423,4	500,2	16,07	
	IV	612,3	712,4	-	17,56	
CFZ _{REC}	I	273,5	297,5	330,9	7,28	40,56
	II	357,7	366,7	390,4	10,80	
	III	424,9	454,9	502,8	17,39	
	IV	636,7	735,1	874,2	23,97	
PABA	I	202,5	214,0	233,9	100	0
PABA _{REC}	I	201,4	217,8	238,1	100	0
CFZ-PABA (3:1)	I	192,3	222,8	252,3	15,19	0
	II	297,6	303,2	321,9	4,00	
	III	397,8	421,0	476,2	11,23	
	IV	544,1	608,5	692,9	70,15	
CFZ-PABA (2:1)	I	190,9	220,8	248,1	15,44	6,62
	II	296,6	305,1	323,2	4,09	
	III	395,6	425,7	503,7	14,42	
	IV	597,6	706,8	853,5	59,43	
CFZ-PABA (1,5:1)	I	197,7	226,4	254,5	19,28	29,57
	II	302,5	310,2	326,7	4,46	
	III	348,4	356,9	370,7	4,20	
	IV	397,8	445,7	504,0	17,69	
	V	686,7	763,4	882,8	24,80	
CFZ-PABA (1:1)	I	201,0	225,3	248,7	24,23	2,52
	II	266,9	300,7	320,3	4,44	
	III	339,6	350,5	380,1	3,88	

Amostra	Evento	Intervalo (°C)			Variação de massa (%)	Resíduo (%)
		T_{onset}	T_{mid}	T_{endset}		
	IV	481,2	457,2	513,0	9,93	
	V	604,9	711,9	861,6	55,00	
CFZ-PABA (1:1,5)	I	191,7	221,6	251,4	32,26	21,10
	II	221,4	307,4	322,5	4,25	
	III	352,1	358,0	374,8	3,94	
	IV	403,4	450,8	513,3	12,25	
	V	647,8	743,1	880,2	26,20	
CFZ-PABA (1:2)	I	196,3	222,8	251,4	35,68	0
	II	243,8	285,9	298,3	6,02	
	III	374,9	378,8	408,7	10,64	
	IV	572,7	606,8	666,9	22,92	
	V	722,3	764,8	831,8	26,40	
CFZ-PABA (1:2,5)	I	201,6	224,8	255,2	43,9	3,82
	II	347,0	354,2	368,7	2,37	
	III	396,3	410,4	431,0	6,23	
	IV	580,7	611,2	673,7	16,46	
	V	759,8	711,7	838,2	27,22	
CFZ-PABA (1:2,68)	I	210,6	232,3	261,0	43,92	0
	II	391,6	314,0	448,4	9,10	
	III	557,3	642,8	750,2	45,10	
CFZ-PABA (1:3)	I	198,1	224,9	253,9	48,97	11,43
	II	378,5	400,0	462,6	12,06	
	III	645,9	745,0	867,2	27,54	
CFZ-PABA (1:4)	I	195,4	222,2	249,6	55,90	16,04
	II	334,5	401,9	441,6	11,81	
	III	646,1	739,1	866,0	16,25	
CFZ-PABA (1:7)	I	195,8	220,8	248,2	65,65	0
	II	519,7	573,9	642,0	34,26	
CFZ-PABA	I	191,0	219,7	248,3	27,23	25,66

Amostra	Evento	Intervalo (°C)			Variação de massa (%)	Resíduo (%)
		T_{onset}	T_{mid}	T_{endset}		
(1:1) _{MF}	II	279,8	306,8	336,0	5,34	0
	III	348,3	452,6	367,1	3,90	
	IV	393,5	442,2	507,6	12,88	
	V	648,3	731,0	869,4	24,99	
CFZ-PABA (1:2,68) _{MF}	I	197,3	227,8	258,7	45,76	
	II	378,7	416,2	378,8	11,50	
	III	581,2	598,0	645,5	17,22	
	IV	729,0	769,9	832,1	26,04	

A.3 Eventos térmicos detectados nas análises de DSC

Tabela 21: Análise dos eventos térmicos observados nas curvas de DSC.

Amostra	Evento	Tipo de evento	Intervalo (°C)					Calor (J g ⁻¹)
			T_g	T_x	T_{onset}	T_{Pico}	T_{endset}	
CFZ	I	Fusão	-	-	221,1	222,4	224,1	-218,3
CFZ _{REC}	I	Fusão	-	-	221,3	223,4	226,1	-149,9
PABA	I	Fusão	-	-	187,7	190,9	194,5	-156,1
PABA _{REC}	I	Fusão	-	-	187,0	188,4	193,3	-231,4
CFZ-PABA (3:1)	I	Fusão	-	-	208,1	211,2	214,7	-146,4
CFZ-PABA (2:1)	I	Fusão	-	-	209,8	212,4	216,2	-174,5
CFZ-PABA (1,5:1)	I	Fusão	-	-	208,9	211,7	216,4	-229,1
CFZ-PABA (1:1)	I	Cristalização	-	98,8	-	113,8	125,0	21,1
	II	Fusão	-	-	208,5	211,5	214,3	-128,1
CFZ-PABA (1:1,5)	I	Trans. Vítreas	67,8	-	-	-	99,0	-
	II	Cristalização	-	122,0	-	129,3	135,6	39,6
	III	Fusão	-	-	202,6	207,9	212,0	-95,6
CFZ-PABA (1:2)	I	Trans. Vítreas	69,3	-	-	-	95,2	-
	II	Cristalização	-	131,6	-	137,1	142,2	40,1
	III	Fusão	-	-	192,2	198,8	202,4	-54,7
CFZ-PABA (1:2,5)	I	Trans. Vítreas	82,6	-	-	-	101,1	-
	II	Endotérma	-	-	98,2	106,6	114,7	-6,2
	III	Cristalização	-	137,5	-	142,6	149,1	26,8
	IV	Fusão	-	-	188,9	201,6	206,5	-35,6
CFZ-PABA (1:3)	I	Trans. Vítreas	81,9	-	-	-	85,7	-
	II	Endotérma	-	-	95,2	103,3	111,7	-5,7
	III	Cristalização	-	128,3	-	141,6	146,6	20,8
	IV	Fusão	-	-	181,9	196,6	203,7	-42,9

Amostra	Evento	Tipo de evento	Intervalo (°C)					Calor (J g ⁻¹)
			T_g	T_x	T_{onset}	T_{Pico}	T_{endset}	
CFZ-PABA (1:4)	I	Trans. Vítrea	70,2	-	-	-	78,6	-
	II	Endotérma	-	-	94,7	102,9	109,2	-4,8
	III	Cristalização	-	129,4	-	137,2	155,6	9,7
CFZ-PABA (1:7)	I	Trans. Vítrea	67,7	-	-	-	76,0	-
	II	Endotérma	-	-	83,8	87,8	91,0	-0,7
	III	Cristalização	-	111,6	-	118,5	132,8	5,0
	IV	Fusão	-	-	153,5	162,5	166,1	-23,5
CFZ-PABA (1:1) _{MF}	I	Fusão	-	-	116,6	132,0	140,3	-44,1
	II	Cristalização	-	153,8	-	163,1	171,7	57,6
CFZ-PABA (1:2,68) _{MF}	I	Fusão	-	-	116,3	130,2	135,9	-46,8