



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
Fundação Instituída nos termos da lei nº5.152, de 21/10/1966 – São Luis –MA
Centro de Ciências Sociais, Saúde e Tecnologia - CCSST
Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Materiais - PPGCM



LUIS HENRIQUE SILVA QUEIROZ

OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE UM NOVO CO-AMORFO DE RIFAMPICINA
UTILIZANDO A TROMETAMINA COMO COFORMADOR

IMPERATRIZ

2020

LUIS HENRIQUE SILVA QUEIROZ

OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE UM NOVO CO-AMORFO DE RIFAMPICINA
UTILIZANDO A TROMETAMINA COMO COFORMADOR

Dissertação submetida à Coordenação do Programa de Pós-graduação em Ciência dos Materiais da Universidade Federal do Maranhão como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Ciência dos Materiais.

Área de concentração: Ciência dos Materiais
Orientador: Prof. Dr. Paulo Roberto da Silva Ribeiro

IMPERATRIZ

2020

LUIS HENRIQUE SILVA QUEIROZ

OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE UM NOVO CO-AMORFO DE RIFAMPICINA
UTILIZANDO A TROMETAMINA COMO COFORMADOR

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

04 de Dezembro de 2020.

Resultado: **APROVADO**

BANCA EXAMINADORA

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

Prof. Dr. Flávio Junior Caires
Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho
Faculdade de Ciências de Bauru – Departamento de Química
(Membro 1)

Prof. Dr. Mateus Ribeiro Lage
Universidade Federal do Maranhão – UFMA
Campus Balsas
(Membro 2)

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

Queiroz, Luis Henrique Silva.

OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE UM NOVO CO-AMORFO DE RIFAMPICINA UTILIZANDO A TROMETAMINA COMO COFORMADOR / Luis Henrique Silva Queiroz. - 2020.
92 f.

Orientador(a): Paulo Roberto daSilva Ribeiro.

Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em Ciência dos Materiais/ccsst, Universidade Federal do Maranhão, Imperatriz, 2020.

1. Análises Térmicas. 2. Aumento da hidrossolubilidade. 3. Difração de Raios X. 4. Dispersão sólida. 5. Rifampicina. I. Ribeiro, Paulo Roberto daSilva. II. Título.

“Poder nas mãos de um idiota não traz nada além
de destruição”

- Meruem

AGRADECIMENTOS

Ao professor Dr. Paulo Roberto da Silva Ribeiro, pela amizade e confiança desde a época da iniciação científica e pela oportunidade de estar trabalhando em um grupo de pesquisa de alta excelência.

Aos professores do Programa de Pós-graduação em Ciência dos Materiais pelo conhecimento e experiência compartilhada durante esse período.

Aos meus amigos colegas do grupo de pesquisa NUPFARQ/LABFARMA pela amizade e pela contribuição deste estudo.

Aos meus amigos que me ajudaram ao longo dessa jornada. Em especial à Andreza Leite, Ian Felipe, Jessica Kamilly, Carliana Rodrigues, Gleison Lopes e Raychimam Bezerra pelos anos de amizade e por todo companheirismo durante este tempo.

Ao Prof. Dr. Adenilson Oliveira dos Santos e ao doutorando Jaiton pelas análises de difração de Raios X realizadas no Laboratório de Difração de Raios X (LDRX) do programa de Pós-graduação em Ciência dos Materiais da Universidade Federal do Maranhão (UFMA).

Ao Núcleo de Pesquisa Farmacêutica e Química Analítica Aplicada/Laboratório de Análise Térmica (NUPFARQ/LAT) pelas análises realizadas.

Ao Prof. Dr. Francisco Ferreira de Sousa e a Dra. Kelly Miranda Costa pela análise de FTIR realizada no Laboratório de Espectroscopia Vibracional do programa de Pós-graduação em Física da Universidade Federal do Pará (UFPA).

À CAPES pela concessão da bolsa de mestrado.

RESUMO

Os fármacos são materiais com propriedades bioativas, sendo que, a maioria deles é desenvolvida de forma a permitir a sua administração por via oral. Muitos desses materiais apresentam baixa hidrossolubilidade e, conseqüentemente, uma baixa biodisponibilidade. A obtenção de dispersões sólidas de fármacos (DSFs), tais como os co-amorfos, tem sido uma alternativa para a melhoria da solubilidade aquosa desses princípios ativos. A Rifampicina (RIF) é um material bioativo usado como antibiótico oral no tratamento de doenças, tais como a tuberculose e a hanseníase. Este fármaco apresenta baixa hidrossolubilidade e alta permeabilidade membranar, pertencendo, portanto, à Classe II do Sistema de Classificação Biofarmacêutico. Este trabalho objetivou a obtenção e a caracterização de um novo co-amorfo de RIF utilizando a Trometamina (TRIS) como coformador, bem como avaliar a solubilidade aquosa e seu perfil de dissolução *in vitro* deste novo material. Inicialmente, realizou-se a modelagem molecular dos compostos de partida (RIF e TRIS) pelo método baseado na Teoria do Funcional da Densidade (DFT) para a obtenção do mapa de potencial eletrostático (MPE), energias dos orbitais HOMO, LUMO e *gap*, bem como dos índices de reatividade. A preparação da DS de RIF foi realizada pelo método de Evaporação Lenta do Solvente (ELS). Posteriormente, o co-amorfo foi caracterizado por Difração de Raios X pelo Método do Pó (DRXP), Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR), Termogravimetria, Termogravimetria Derivativa e Análise Térmica Diferencial Simultâneas (TG/DTG-DTA) e por Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC). A estabilidade da DS foi investigada por DRXP, em função do tempo. Também foram realizados os ensaios de solubilidade e do perfil de dissolução *in vitro* da RIF presente na DS. Os MPEs obtidos com estudo DFT dos compostos de partida mostraram regiões propensas a realizarem interações intermoleculares por ligações de hidrogênio entre os grupos funcionais 4-hidroxila e C=O da RIF e os grupos funcionais hidroxila e amino da TRIS. Os dados obtidos a partir das análises por DRXP mostraram a formação de uma DSF do tipo co-amorfo a partir da interação da RIF com a TRIS na razão molar de (2:1). O espectro FTIR do co-amorfo RIF-TRIS (2:1) indicou a formação da nova dispersão sólida por interações intermoleculares entre o grupo carbonila das moléculas de RIF (região nucleofílica) e os grupos amino e hidroxila da molécula de TRIS (região eletrofílica), conforme observado no estudo DFT. O comportamento térmico do co-amorfo observado a partir das curvas TG/DTG desta DS mostrou que este material apresenta boa estabilidade térmica até 153°C. Além disso, as curvas DTA e DSC deste material não apresentaram evento de fusão, confirmando a sua natureza amorfa da DS RIF-TRIS (2:1). A

natureza amorfa desta DSF mostrou-se estável por pelo menos cinquenta (50) dias. A solubilidade aquosa da RIF presente nesta DS apresentou-se 5,5 vezes maior quando comparada com a solubilidade da RIF base livre cristalina (RIF_{BLC}). Este aumento também foi observado na taxa de dissolução *in vitro* da RIF presente no co-amorfo. Assim, a DSF obtida neste estudo apresenta-se como uma alternativa muito promissora para a melhoria do tratamento da hanseníase e da tuberculose, visto que o aumento da hidrossolubilidade da RIF favorecerá o aumento da sua biodisponibilidade e da sua eficácia terapêutica, bem como a redução dos seus efeitos colaterais.

Palavras-chave: Dispersão sólida, Rifampicina, Difração de Raios X, Análises Térmicas, Aumento da hidrossolubilidade.

ABSTRACT

Drugs are materials with bioactive properties, and most of them are developed to allow their oral administration. Many of these materials have low water solubility and, consequently, low bioavailability. Obtaining solid drug dispersions (SDDs), such as co-amorphous, has been an alternative for improving the aqueous solubility of these drugs. Rifampicin (RIF) is a bioactive material used as an oral antibiotic in the treatment of diseases such as tuberculosis and leprosy. This drug has low water solubility and high membrane permeability, therefore belonging to Class II of the Biopharmaceutical Classification System. This work aimed to obtain and characterize a new co-amorphous of RIF using a Tromethamine (TRIS) as a coformer, as well as to evaluate the aqueous solubility and its dissolution *in vitro* profile of this new material. Initially, a molecular modeling of the starting compounds (RIF and TRIS) was performed by the method based on the Density Functional Theory (DFT) to obtain the electrostatic potential map, energies of the HOMO, LUMO and gap orbitals, as well as the reactivity indices. A preparation of the DSF of RIF was carried out by the Slow Solvent Evaporation. Subsequently, the co-amorphous was characterized by X-Ray Diffraction using the Powder Method (PXRD), Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR), Thermogravimetry, Derivative Thermogravimetry and Differential Analysis (TG/DTG-DTA) and by Differential Scanning Calorimetry (DSC). The material stability was investigated by this PXRD, in time function. The solubility and dissolution *in vitro* profile tests of the RIF present in the SDD were also performed. The results obtained from the DFT study of the starting compounds are indicating a possible intermolecular interaction by hydrogen bonds between the available 4-hydroxyl and C=O groups of RIF and the hydroxyl and amino derived groups of TRIS. The data obtained from the analysis by DRXP determined the formation of a co-amorphous from the interaction of the RIF with a TRIS in the molar ratio of (2:1). The FTIR spectrum of the co-amorphous RIF-TRIS (2:1) indicated the formation of the new solid dispersion by the intermolecular interactions between the ketone groups of the RIF molecules (nucleophilic region) and the amino and hydroxyl groups of the TRIS molecule (electrophilic region), as observed in DFT study. The thermal behavior of the co-amorphous observed from the TG/DTG curves of this SDD showed that this material has good thermal stability up to 153°C. In addition, the DTA and DSC curves did not show a melting event, confirming its amorphous nature. The amorphous nature of this SDD proved to be stable for at least fifty (50) days. The aqueous solubility of the RIF present in this SDD is 5.5 times greater when compared to the solubility of the crystalline free base RIF (RIF_{BLC}). This

increase was also observed in the dissolution *in vitro* rate of RIF present in the co-amorphous. Thus, a SDD obtained in this study presents itself as a very promising alternative for an improvement in the treatment of leprosy and tuberculosis, since the increase in RIF's water solubility will favor the increase of its bioavailability and its therapeutic efficacy, as well as the reduction side effects.

Keywords: Solid Dispersion, Rifampicin, X-Ray Diffraction, Thermal Analysis, Increased Water Solubility.

TRABALHOS APRESENTADOS EM EVENTOS CIENTÍFICOS

QUEIROZ, L. H. S.; RIBEIRO, P. R. S. Interação fármaco-fármaco visando o tratamento mais eficaz do diabetes mellitus tipo II a partir da obtenção e caracterização de um co cristal de glimepirida. In: III Congresso Norte-Nordeste de doenças crônicas e infectocontagiosas (III CONNEDOCI). Imperatriz – MA, 2019.

QUEIROZ, L. H. S.; RIBEIRO, P. R. S. Interação fármaco-fármaco: preparação e caracterização de uma mistura eutética de glimepirida com a metformina. In: International Conference for Academia and Industry Co-operation & 1st International Meeting in Materials Science and Engineering of Maranhão (ICAIC & 1st IMMSEM). São Luís – MA, 2019.

QUEIROZ, L. H. S.; RIBEIRO, P. R. S. Síntese e caracterização de um filme à base de amido de babaçu usando o sorbitol como plastificante. In: International Conference for Academia and Industry Co-operation & 1st International Meeting in Materials Science and Engineering of Maranhão (ICAIC & 1st IMMSEM). São Luís – MA, 2019.

SILVA, C. R.; **QUEIROZ, L. H. S.;** SANTOS, A. O.; CORDEIRO, A. J. P.; SANTANA, N. S.; OLIVEIRA NETO, J. G.; BEZERRA, R. D. S.; CARVALHO, J. O.; SOUSA, F. F. Síntese e caracterização polimórfica de Cristais de Azitromicina por DRX e Espectroscopia Raman. VI Encontro Brasileiro de Espectroscopia Raman (VI EnBraER). Belém – PA, 2019.

PATENTES DEPOSITADAS

QUEIROZ, L. H. S.; RIBEIRO, P. R. S. Dispersão sólida de fármacos utilizados no tratamento do diabetes mellitus tipo II. 2020, Brasil. Patente: Privilégio de Inovação. Número do registro: BR1020200175785. Depósito: 28/08/2020.

QUEIROZ, L. H. S.; RIBEIRO, P. R. S. Dispersão sólida amorfa de Rifampicina. 2020, Brasil. Patente: Privilégio de Inovação. Número do registro: BR1020200175840. Depósito: 28/08/2020.

OLIVEIRA NETO, J. G.; SILVA, G. L.; **QUEIROZ, L. H. S.;** FRANÇA, J. K. P.; STEIMACHER, A.; PEDROCHI, F.; CARVALHO, J. O. Sais de Tutton luminescentes do tipo $K_2Ni(H_2O)_6(SO_4)_2$ dopados com íons lantanídeos (Sm, Dy e Tb) para uso em sistemas ópticos emissores de luz visível. Número do registro: BR1020200119478. Depósito: 15/06/2020.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Representação esquemática de alguns tipos de dispersões sólidas.....	21
Figura 2 – Representação do padrão de difração de Raios X do sólido cristalino (vermelho) e sólido amorfo (azul) e das diferenças teóricas de energia livre entre materiais cristalinos, solvatos e amorfos. Essas diferenças de energia dão origem a diferentes propriedades físico-químicas e afeta seu desempenho <i>in vivo</i>	23
Figura 3 – Ilustração de algumas diferentes formas utilizadas para aplicação de fármacos. ...	24
Figura 4 – Representação esquemática de interações entre grupos funcionais: a) ácido-ácido; b) ácido-piridina; c) amida-amida e d) ácido-amida.	27
Figura 5 – Exemplos de alguns conformadores utilizados para preparação de dispersões sólidas de fármacos: a) Ácido Oxálico, b) Ácido p-Aminobenzóico, c) Ureia, d) Ácido Fumárico, e) Ácido Salicílico, f) Ácido Málico, g) Nicotinamida, h) Cafeína, i) Sacarina, j) Arginina e l) Lisina.....	28
Figura 6 – Estrutura química da Rifampicina (RIF) ⁶⁹	29
Figura 7 – a) Células unitárias da RIF e seus respectivos padrões de Difração de Raios X, a saber: (a) Forma I ⁶⁶ e (b) Forma II.5H ₂ O (hidrato) ⁷²	29
Figura 8 – Estrutura química da Trometamina (TRIS) ⁶⁹	30
Figura 9 – Célula unitária da TRIS na Forma α e o seu padrão de Difração de Raios X ⁷⁷	31
Figura 10 – Representação da difração de Raios X por dois planos paralelos de átomos (A-A' e B-B') separados por uma distância interplanar d_{hkl} ¹⁰⁴	35
Figura 11 – Representação do movimento vibracional dos átomos ¹¹⁵	38
Figura 12 – Curvas TG/DTG do oxalato de cálcio monohidratado ¹²³	40
Figura 13 - Curvas DTA do oxalato de cálcio monohidratado ¹²³	41
Figura 14 - Esquema de uma curva DSC hipotética que mostra alguns tipos de transições típicas. São indicados seis eventos térmicos, ampliação da faixa de temperatura do evento e a terminologia empregada ¹²⁹	43
Figura 15 – Esquema da obtenção do co-amorfo RIF-TRIS (2:1) pelo método de evaporação lenta de solvente.	47
Figura 16 – Estrutura química da (a) RIF e (b) TRIS derivadas da otimização de energia mostrando seus respectivos vetores de momento dipolar, utilizando o método ω B97x-D/6-31G(d).....	51
Figura 17 - Mapas de potencial eletrostático do orbital HOMO dos compostos de partida: (a) e (b) RIF e (c) e (d) TRIS.	52

Figura 18 – Compostos de partida recristalizados: (a) RIF _{REC} , (b) TRIS _{REC} e em diferentes proporções molares obtidos pelo método de evaporação lenta de solvente: (c) RIF-TRIS (3:1), (d) RIF-TRIS (2:1), (e) RIF-TRIS (1:1), (f) RIF-TRIS (1:2) e (g) RIF-TRIS (1:3).....	54
Figura 19 – Padrão de difração de Raios X: a) RIF _{nREC} e b) RIF _{REC} refinados pelo método de Rietveld.....	55
Figura 20 - Padrão de difração de Raios X: a) TRIS _{nREC} e b) TRIS _{REC} refinados pelo método de Rietveld.....	56
Figura 21 - Difratoformas da RIF _{REC} , proporções molares da mistura binária RIF-TRIS e TRIS _{REC} recristalizados pelo método de evaporação lenta de solvente.	57
Figura 22 - Difratoformas da RIF _{REC} , do co-amorfo RIF-TRIS (2:1), da mistura física RIF-TRIS _{MF} (2:1) e da TRIS _{REC} obtidos pelo método de evaporação lenta de solvente.....	58
Figura 23 - Difratoforma da mistura física RIF-TRIS _{MF} (2:1) com seu refinamento pelo método Rietveld.....	58
Figura 24 – Espectros no infravermelho da RIF _{REC} , co-amorfo RIF-TRIS (2:1), mistura física RIF-TRIS _{MF} (2:1) e TRIS _{REC}	59
Figura 25 – Curvas TG/DTG-DTA da rifampicina recristalizada (RIF _{REC}).	61
Figura 26 - Curvas TG/DTG-DTA da trometamina recristalizada (TRIS _{REC}).....	62
Figura 27 - Curvas TG/DTG-DTA da mistura física RIF-TRIS _{MF} (2:1).	63
Figura 28 - Curvas TG/DTG-DTA do co-amorfo RIF-TRIS (2:1).....	64
Figura 29 - Curvas de DSC obtidas para os compostos de partida RIF _{REC} e TRIS _{REC} e do co-amorfo (2:1) com sua respectiva mistura física.....	65
Figura 30 - Estudo da estabilidade do co-amorfo RIF-TRIS (2:1) realizado durante cinquenta e seis (56) dias.	67
Figura 31 – (a) Curva analítica obtida em três repetições para cada ponto (P) e utilizada para determinação de RIF e (b) Espectros médios de absorção molecular para cada um dos pontos (P) da curva analítica.	69
Figura 32 – Curvas dos perfis de dissolução <i>in vitro</i> da RIF _{BLC} , da mistura física RIF-TRIS _{MF} (2:1) e do co-amorfo RIF-TRIS (2:1) obtidas até 210 min.	71
Figura 33 - Síntese realizada por moagem líquida assistida. Em (a) RIF _{MLA} ; (b) RIF-TRIS (1:1) e (c) TRIS _{MLA}	88
Figura 34 - Síntese realizada por fusão: (a) RIF _{nREC} (esquerda); RIF-TRIS (1:1) (centro); TRIS _{nREC} (direita) e (b) RIF _{REC} (esquerda); RIF-TRIS (1:1) (centro); TRIS _{REC} (direita).....	88
Figura 35 - Difração de Raios X da RIF, TRIS e da mistura binária na proporção molar 1:1.	89

Figura 36- Difração de Raios X da RIF, TRIS e da mistura binária na proporção molar 1:1.	89
Figura 37 – Difratoograma da amostra RIF-TRIS (1:1) com seu refinamento pelo método Rietveld.....	90
Figura 38 - Espectros UV-Vis do branco e dos compostos de partida na concentração do ponto 5 da curva analítica ($5,0 \times 10^{-2}$ mg mL ⁻¹).	92

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Medicamentos comercializados cujos fármacos encontram-se na forma de dispersões sólidas amorfas com matrizes poliméricas	25
Tabela 2 – Termos descritivos de solubilidade em água e seus significados	44
Tabela 3 – Compostos utilizados neste trabalho e informações sobre: fórmula molecular, massa molar, temperatura de fusão e pureza	46
Tabela 4 - Identificação das propriedades eletrônicas do tipo índice de reatividade	46
Tabela 5 – Pontos da curva analítica com seus respectivas concentrações de RIF obtidas a partir da concentração da solução padrão (0,5 mg mL ⁻¹)	50
Tabela 6 – Valores dos principais índices de reatividade e energia dos compostos de partida RIF-TRIS	53
Tabela 7 – Frequências vibracionais FTIR (cm ⁻¹) da RIF _{REC} , do co-amorfo RIF-TRIS (2:1), da mistura física RIF-TRIS _{MF} (2:1) e da TRIS _{REC}	59
Tabela 8 - Eventos térmicos observados nas curvas DSC para os compostos de partida (RIF _{REC} e TRIS _{REC}), do co-amorfo RIF-TRIS (2:1) e mistura física RIF-TRIS _{MF} (2:1).....	65
Tabela 9 – Valores de absorbância em 472 nm para cada ponto da curva analítica para quantificação de RIF solúvel em tampão fosfato (pH = 6,80)	68
Tabela 10 – Estudo da solubilidade da RIF _{BLC} , da RIF presente na mistura física RIF-TRIS _{MF} (2:1) e da RIF presente no co-amorfo RIF-TRIS (2:1)	68
Tabela 11 – Concentrações da RIF dissolvida proveniente RIF _{BLC} , da mistura física RIF-TRIS _{MF} (2:1) e do co-amorfo RIF-TRIS (2:1) em função do tempo de dissolução <i>in vitro</i>	70
Tabela 12 – Eficiência de dissolução <i>in vitro</i> do co-amorfo RIF-TRIS (2:1) obtido neste estudo em comparação com outras dispersões sólidas	71
Tabela 13 - Eventos térmicos observados nas curvas TG/DTG para os compostos de partida RIF _{REC} e TRIS _{REC} e do co-amorfo (2:1) com sua respectiva mistura física	91
Tabela 14 - Eventos térmicos observados nas curvas DTA para os compostos de partida RIF _{REC} e TRIS _{REC} e do co-amorfo (2:1) com sua respectiva misturas física.....	91

LISTA DE ABREVIATURAS

BLC	Base livre cristalina
DSF	Dispersão Sólida de Fármacos
DE	Do inglês <i>Dissolution Efficiency</i> : Eficiência de dissolução
DRXP	Difração de Raios X pelo método do pó
DSC	Do inglês <i>Differential Scanning Calorimetry</i> : Calorimetria Exploratória Diferencial
DTA	Do inglês <i>Differential Thermal Analysis</i> : Análise Térmica Diferencial
DTG	Do inglês <i>Derivative Thermogravimetry</i> : Termogravimetria derivativa
ELS	Evaporação Lenta do Solvente
FDA	Do inglês <i>Food and Drug Administration</i>
FTIR	Do inglês <i>Fourier Transform Infra Red</i> : Espectroscopia no infravermelho com Transformada de Fourier
<i>gap</i>	Separação de energia entre os orbitais HOMO e o LUMO
HOMO	Do inglês <i>Highest Occupied Molecular Orbital</i> : Orbital Molecular de mais alta energia
IFA	Insumo farmacêutico ativo
LUMO	Do inglês <i>Lowest Unoccupied Molecular Orbital</i> : Orbital Molecular de mais baixa energia
MF	Mistura física
nREC	Não recristalizado
REC	Recristalizado
RIF	Rifampicina
SBC	Do inglês <i>Biopharmaceutical Classification System</i> : Sistema de Classificação Biofarmacêutica
SPE	Superfície de potencial eletrostático
TRIS	Trometamina
<i>T_g</i>	Temperatura de transição vítrea
TG	Termogravimetria
T _{onset}	Temperatura de início do evento térmico
UV	Ultravioleta
Vis	Visível

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	19
2. OBJETIVOS.....	20
2.1 Objetivo geral	20
2.2 Objetivos específicos.....	20
3. REVISÃO BIBLIOGRAFICA	21
3.1 Dispersões sólidas de fármacos	21
3.2 Co-amorfos	22
3.3 Escolha do Insumo Farmacêutico Ativo (IFA) e do Coformador	25
3.3.1 Seleção do Insumo Farmacêutico Ativo (IFA).....	25
3.3.2 Seleção do coformador	26
3.4 Rifampicina (RIF)	28
3.5 Trometamina (TRIS)	30
3.6 Química Computacional: Estudo de modelagem molecular	32
3.7 Obtenção de dispersões sólidas de fármacos pelo método de Evaporação Lenta do Solvente (ELS)	34
3.8 Técnicas utilizadas na Caracterização de Dispersões Sólidas de Fármacos.....	35
3.8.1 Difração de Raios X pelo método do pó (DRXP)	35
3.8.2 Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR).....	37
3.8.3 Caracterização por Análises Térmicas	39
3.8.4 – Ensaio de solubilidade e de perfil de dissolução “in vitro”	44
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	45
4.1 Reagentes.....	45
4.2 Modelagem molecular dos compostos de partida (RIF e TRIS), utilizando o método baseado na Teoria do Funcional da Densidade (DFT)	46
4.3 Procedimentos Experimentais	47
4.3.1 Obtenção do co-amorfo RIF-TRIS (2:1) via Evaporação Lenta de Solvente (ELS).....	47
4.3.2 Caracterizações do co-amorfo RIF-TRIS (2:1)	48

4.3.3 Ensaio de solubilidade e de perfil de dissolução “in vitro”	49
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	51
5.1 Modelagem molecular dos compostos de partida (RIF e TRIS) por DFT	51
5.2 Obtenção do co-amorfo de RIF-TRIS (2:1) via Evaporação Lenta do Solvente.....	54
5.3 Caracterizações do co-amorfo RIF-TRIS (2:1)	55
5.3.1 Difração de Raios X pelo método do pó (DRXP)	55
5.3.2 Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR).....	59
5.4 Caracterizações por Análises Térmicas	61
5.4.1 Termogravimetria, Termogravimetria derivativa e Análise Térmica Diferencial Simultâneas (TG/DTG-DTA).....	61
5.4.2 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC).....	64
5.5 Estabilidade do co-amorfo RIF-TRIS (2:1).....	66
5.6 Ensaio de solubilidade aquosa e de perfil de dissolução <i>in vitro</i>	67
5.6.1 Ensaio de solubilidade aquosa.....	67
5.6.2 Ensaio de perfil de dissolução “in vitro”	70
6. CONCLUSÃO.....	72
7. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....	73
REFERÊNCIAS	74

1. INTRODUÇÃO

Fármaco ou Insumo Farmacêutico Ativo (IFA) é definido como um material que apresenta propriedades com finalidades terapêuticas e que pode ser usado no diagnóstico, alívio ou tratamento de patologias, visando o reestabelecimento da saúde nos indivíduos a quem são prescritos¹. A maioria dos IFAs é desenvolvida de forma a permitir sua administração pela via oral, a qual traz grandes vantagens quanto à adesão do paciente ao tratamento². Entretanto, a solubilidade aquosa destes materiais constitui-se como um requisito prévio à absorção e obtenção de resposta clínica^{1;3;4}.

Estima-se que 40% dos princípios ativos aprovados e cerca de 90% das moléculas em desenvolvimento possuem fraca solubilidade aquosa⁵. Várias estratégias que visam melhorias nas propriedades físico-químicas de fármacos, tais como a hidrossolubilidade, são amplamente exploradas entre as quais podemos destacar a utilização de dispersões sólidas de fármacos (DSFs), tais como os co-amorfos^{6;7}. Estes compostos são obtidos por meio de processos tecnológicos que consistem em dispersar um IFA em uma matriz carreadora conhecida como coformador. Assim, é possível melhorar as propriedades físico-químicas tais como a hidrossolubilidade, resultando no aumento da sua taxa de dissolução, da sua biodisponibilidade e, conseqüentemente, da sua eficácia terapêutica¹.

A Rifampicina (RIF) é um fármaco que apresenta baixa solubilidade aquosa e alta permeabilidade membranar, sendo classificada como Classe II de acordo o Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB)⁸. Este IFA atua como antibiótico sendo amplamente utilizado no tratamento da tuberculose e da hanseníase. Há uma alta incidência destas enfermidades em países em desenvolvimento. Em 2015, segundo dados da Organização Mundial da Saúde (OMS), o Brasil, Indonésia e Índia somaram 81% dos novos casos de hanseníase no mundo⁹. O tratamento feito com RIF pode causar diversos efeitos colaterais ocasionados pela baixa disponibilidade causada pela sua baixa solubilidade aquosa, diminuindo sua eficácia terapêutica, levando ao abandono do paciente ao tratamento, contribuindo para aumentar a resistência bacteriana a esse IFA^{10;11}.

Uma das etapas mais importantes para obtenção de DSFs é a escolha do coformador. Este deve conter grupos funcionais complementares aos do IFA para que ocorram interações moleculares entre os compostos. A Trometamina (TRIS) é um composto que possui elevada solubilidade aquosa e alta permeabilidade membranar sendo classificado como Classe I do SCB. A sua aplicação como coformador têm se destacado nos últimos anos em virtude desta substância química possibilitar a melhoria de diversas propriedades físico-químicas dos

fármacos, como o aumento da velocidade de dissolução e, conseqüentemente, uma melhor biodisponibilidade¹²⁻¹⁴. Foram obtidas diversas DSFs utilizando a TRIS como coformador como, por exemplo, cocristais de Glibenclamida¹⁵ e de Gliclazida¹⁶ e co-amorfos de Clorpropamida¹⁷ e de Tolbutamida¹⁸.

Até o momento, poucos estudos foram relatados envolvendo a preparação de DSFs da RIF, sendo que estes trabalhos utilizaram matrizes poliméricas como coformadores¹⁹⁻²¹. DSFs obtidas a partir deste tipo de matriz apresentam várias desvantagens, pois são frequentemente hidrocópicos e, nesse caso, a umidade absorvida reduz a temperatura de transição vítrea (T_g) do sistema, levando a separação de fases e a recristalização. Além disso, devido à limitada miscibilidade de alguns fármacos no polímero, muitas vezes são necessárias grandes quantidades de polímero para dose suficiente do princípio ativo na formulação final, levando a grandes volumes das formas de dosagem finais²².

Diante deste contexto, é de suma importância a obtenção de uma nova dispersão sólida de RIF utilizando a TRIS como coformador, visando o aumento da solubilidade aquosa e da sua taxa de dissolução, melhorando assim sua biodisponibilidade e, conseqüentemente, a eficácia terapêutica no tratamento de doenças como tuberculose e hanseníase. O aumento da hidrossolubilidade também contribui para diminuição da dose administrada e redução dos efeitos colaterais do tratamento, contribuindo assim para um maior bem-estar do paciente e uma menor taxa de abandono ao tratamento medicamentoso.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Preparar e caracterizar um novo co-amorfo de Rifampicina (RIF), utilizando a Trometamina (TRIS) como coformador, bem como avaliar a solubilidade aquosa e o perfil de dissolução *in vitro* deste fármaco disperso no referido coformador.

2.2 Objetivos específicos

- ✓ Realizar a modelagem molecular dos compostos de partida (RIF e TRIS) utilizando a Teoria do Funcional da Densidade (DFT), visando presumir as possíveis interações intermoleculares entre estes compostos;
- ✓ Obter um co-amorfo da RIF utilizando a TRIS como coformador a partir da metodologia de Evaporação Lenta do Solvente;

- ✓ Caracterizar a dispersão sólida RIF-TRIS (2:1), do tipo co-amorfo, por Difração de Raios X pelo método do pó (DRXP) e por Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR);
- ✓ Caracterizar o comportamento térmico do co-amorfo por Termogravimetria, Termogravimetria Derivativa e Análise Térmica Diferencial Simultâneas (TG/DTG-DTA) e por Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC);
- ✓ Verificar a estabilidade da dispersão sólida obtida neste estudo em função do tempo por DRXP;
- ✓ Determinar a solubilidade aquosa e o perfil de dissolução *in vitro* da RIF presente na dispersão sólida obtida neste estudo e comparar com a RIF base livre cristalina (RIF_{BLC}).

3. REVISÃO BIBLIOGRAFICA

3.1 Dispersões sólidas de fármacos

As dispersões sólidas de fármacos (DSF), esquematizadas na Figura 1, podem ser utilizadas com a finalidade de aumentar a hidrossolubilidade ou retardar a sua liberação²³. O principal objetivo é obter um sistema no qual sua estrutura cristalina seja alterada a ponto de se obter sistemas capazes de mudar sua velocidade de dissolução e recobrir intimamente o mesmo com material hidrossolúvel²⁴. Estas podem ser obtidas por diversos métodos, que são escolhidos de acordo com as características dos compostos de partida utilizados juntamente com as características que se deseja obter para a forma farmacêutica final. Entre os métodos destacam-se: moagem mecanoquímica, evaporação lenta de solvente, fusão, liofilização e *spray-drying*²⁵.

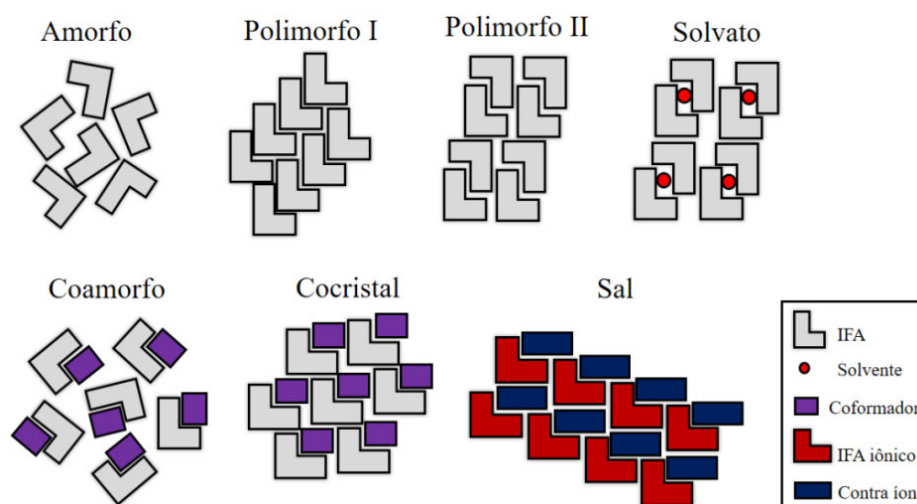


Figura 1 - Representação esquemática de alguns tipos de dispersões sólidas.

Fonte: Adaptado de Shan (2008)²⁶.

Os sólidos farmacêuticos apresentam-se no estado cristalino ou amorfo²⁶. O amorfo, contrariamente ao cristalino, consiste num arranjo desordenado de moléculas que não possui uma rede cristalina distintiva. A obtenção de um amorfo com propriedades terapêuticas é uma das abordagens mais promissoras para aumentar a baixa hidrossolubilidade destes compostos⁵. Os polimorfos são materiais que têm podem existir em pelo menos duas estruturas cristalinas diferentes com mesma composição química. O polimorfo com mais baixa energia será estável, enquanto que aquelas menos estáveis ou metaestáveis tenderão a se transformar em formas mais estáveis, como caso da formação de um solvato, dependendo das diferenças de energia²⁷. Quando um solvente associar-se com o sólido cristalino, podendo ligar-se à superfície ou à rede do sólido por meio de interações intermoleculares, este é chamado de solvato²⁸.

Os sais são constituídos por espécies sólidas carregadas negativamente e positivamente numa proporção estequiométrica. Estima-se que cerca de metade dos fármacos disponíveis no mercado estejam sob a forma de sais²⁹. Os cocristais são formas cristalinas constituídas de dois ou mais compostos moleculares neutros, sendo um deles o IFA, geralmente numa proporção estequiométrica, e que não se enquadram na classificação de sais ou solvatos³⁰.

3.2 Co-amorfos

O desenvolvimento de sistemas de administração de fármacos amorfos é de grande interesse de grupos de pesquisa e da indústria farmacêutica com objetivo de aumentar a solubilidade aquosa de muitos princípios ativos. Fármacos amorfos apresentam uma taxa de solubilidade e dissolução significativamente maior do que o mesmo fármaco em seu estado cristalino³¹. A principal desvantagem do uso destes materiais puramente amorfos e altamente solúveis é a sua instabilidade física com relação à tendência inerente de cristalizar no estado cristalino pouco solúvel³¹⁻³³.

Na Figura 2 podemos observar o padrão de difração de Raios X de um material cristalino e um amorfo e as diferenças teóricas da energia livre destes sistemas. Em um amorfo, há uma ausência de uma ordem molecular de longo alcance, devido a distribuição aleatória das unidades moleculares⁷.

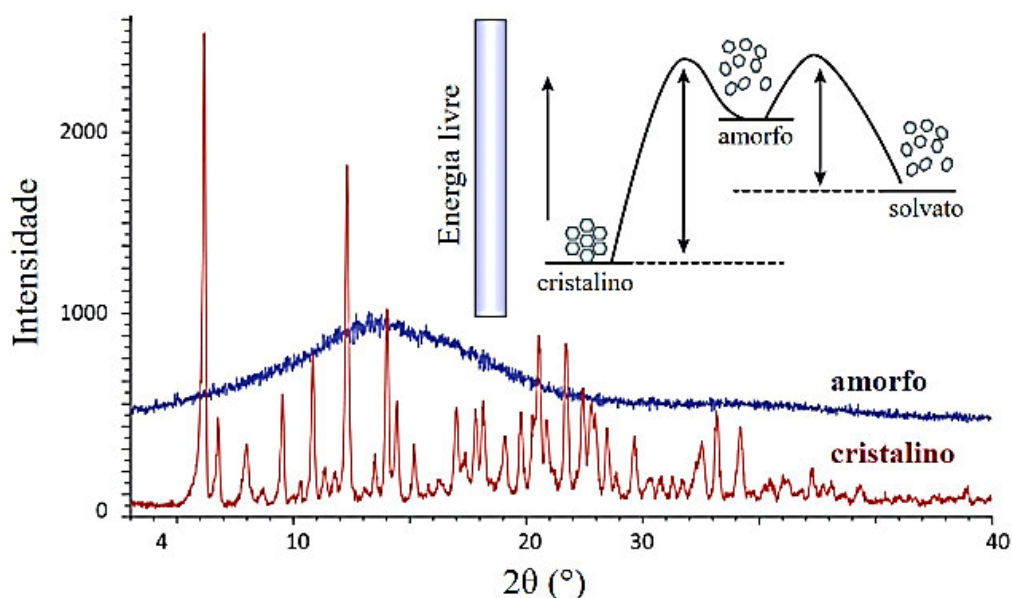


Figura 2 – Representação do padrão de difração de Raios X do sólido cristalino (vermelho) e sólido amorfo (azul) e das diferenças teóricas de energia livre entre materiais cristalinos, solvatos e amorfos. Essas diferenças de energia dão origem a diferentes propriedades físico-químicas e afeta seu desempenho *in vivo*.

Fonte: Adaptado de Shah et al. (2014)³⁴ e Newman et al. (2015)³⁵.

Como podemos observar na Figura 2, o estado amorfo apresenta ausência de picos de difração de Raios X, caracteristicamente dos compostos sólidos no estado cristalino^{34;35}. Em decorrência à falta de ordem de longo alcance dos compostos amorfos, eles são mais energéticos que seus equivalentes cristalinos. Estes materiais amorfos apresentam vantagens como um maior volume específico, maior solubilidade aquosa e biodisponibilidade, mas também certas desvantagens, incluindo risco de menor estabilidade física e química³⁵.

Os co-amorfos têm sido preparados com excipientes de baixo peso molecular (não polimérico) e/ou com matrizes poliméricas. Uma matriz polimérica pode aumentar a T_g do fármaco amorfo, podem agir como estabilizador, diminuir a mobilidade molecular, inibindo a nucleação e o crescimento de cristais, e, conseqüentemente, inibe a recristalização do IFA. Existe também algumas desvantagens como a baixa miscibilidade, exigindo grandes razões polímero/fármaco que levam a grandes dosagens do produto, a sensibilidade ao calor e à umidade devido à hidrosopicidade (a umidade reduz a T_g), podem ocorrer separação de fases e recristalização dos compostos de partida³⁶.

Os co-amorfos produzidos com excipientes de baixo peso molecular são caracterizados pela combinação de dois ou mais componentes que formam um sistema monofásico amorfo e homogêneo, onde um deles é de baixo peso molecular³⁷. Na Figura 3 podemos observar as principais diferenças entres os sistemas de um fármaco amorfo, um cristalino e um co-amorfo.



Figura 3 – Ilustração de algumas diferentes formas utilizadas para aplicação de fármacos.

Fonte: Adaptado de Dengale et al. (2016)³¹.

Há dois tipos de co-amorfos que se diferenciam pelos tipos de combinações. O primeiro é o fármaco-fármaco, que corresponde à combinação de dois fármacos farmacologicamente destinados às terapias multimedicamentosas, em que ambos os fármacos estabilizam-se mutuamente na forma amorfa formando monodímeros^{32;38}. O segundo é o fármaco-excipientes, onde se utiliza excipientes de baixo peso molecular para dispersar o fármaco pela formação de dímeros, aumentando a estabilidade e taxa de dissolução^{38;39}. Esses sistemas tendem a exibir uma maior estabilidade física do que os compostos individuais, principalmente pela existência de interações intermoleculares, tais como ligações de hidrogênio e/ou interações π - π ⁴⁰.

Yuan et al. (2013) obtiveram um co-amorfo de Repaglinina utilizando a sacarina como coformador. Este co-amorfo apresentou interações por meio de ligações de hidrogênio e mostrou grande melhoria na solubilidade aquosa e dissolução *in vitro*⁴¹. Chieng et al. (2009) realizaram um estudo de uma mistura binária amorfa altamente estável de dois medicamentos indometacina e ranitidina preparada pelo método da trituração em moinho de bolas³⁸. Allesø et al. (2009) sintetizaram um co-amorfo de cimetidina e naproxeno, sendo que este aumentou a taxa de dissolução de ambos os fármacos em comparação com os seus homólogos cristalinos. Além disso, a preparação do material resultou em uma liberação sincronizada, indicando que os fármacos podem ser liberados na proporção molar (1:1)³.

Algumas formulações de co-amorfos de Indometacina e Carbamazepina com aminoácidos foram fisicamente estáveis por um período de pelo menos seis (6) meses, enquanto os fármacos amorfos apresentaram estabilidade de apenas sete (7) dias⁴². Os co-amorfos surgem como uma abordagem promissora para questões relacionadas à baixa estabilidade de fármaco amorfo. Pode-se destacar que estes materiais apresentam melhoria da solubilidade aquosa, aumentando sua biodisponibilidade que interfere diretamente na absorção do princípio ativo no organismo implicando na eficácia terapêutica e melhorando a adesão do paciente no tratamento da doença^{35;43}.

A aprovação da organização FDA (*Food & Drug Administration*) de produtos que utilizam dispersões sólidas amorfas indica que essa tecnologia é um método viável para aumentar a baixa hidrossolubilidade dos fármacos, e esse tipo de material provavelmente continuará a ser utilizado como um meio para melhorar a solubilidade aquosa dos IFAs^{44;45}. Na Tabela 1 contém alguns exemplos de medicamentos aprovados pela FDA empregando o uso de dispersões sólidas amorfas com matrizes poliméricas (MPs).

Tabela 1 – Medicamentos comercializados cujos fármacos encontram-se na forma de dispersões sólidas amorfas com matrizes poliméricas⁴⁴⁻⁴⁶

Nome comercial	IFA ^a	MP ^b	Método de obtenção	FDA ^c
Cesamet®	Nabilona	PVP	Evaporação de solvente	1985
Progaf®	Tacrolimo	HPMC	<i>Spray drying</i>	1994
Kaletra®	Lopinavir, ritonavir	PVP	Extrusão (fusão)	2007
Intelence®	Etravirina	HPMC	<i>Spray drying</i>	2008
Zortress®	Everolimo	HPMC	<i>Spray drying</i>	2010
Norvir®	Ritonavir	PVP	Extrusão (fusão)	2010
Onmel®	Itraconazol	HPMC	Extrusão (fusão)	2010
Incivek®	Telaprevir	HPMCAS	<i>Spray drying</i>	2011
Zelboraf®	Vemurafenibe	HPMCAS	Solvente/precipitação por antissolvente	2011
Kalydeco®	Ivacaflor	HPMCAS	<i>Spray drying</i>	2012
Noxafil®	Posaconazol	HPMCAS	Extrusão (fusão)	2013
Astragal XL®	Tacrolimo	HPMC	Granulação úmida	2013

^a Insumo Farmacêutico Ativo; ^b Matriz polimérica; ^c Ano de aprovação pela FDA; Polivinilpirrolidona (PVP); Hidroxipropilmetilcelulose (HPMC); Succinato de acetato de hidroxipropilmetilcelulose (HPMCAS).

3.3 Escolha do Insumo Farmacêutico Ativo (IFA) e do Coformador

3.3.1 Seleção do Insumo Farmacêutico Ativo (IFA)

O IFA pode se apresentar em formas sólidas distintas de acordo com sua natureza química e composição. Existem algumas formas conhecidas como cocristais, hidratos, solvatos, sais, co-amorfos e alguns compostos de inclusão. As suas propriedades físico-químicas, como a biodisponibilidade, é um dos fatores importantes para manter a eficácia terapêutica do princípio ativo⁴⁷. A biodisponibilidade depende da entrada na corrente sanguínea (absorção) e do perfil farmacocinético do material ou do seu metabólito em função do tempo⁴⁸. Esta propriedade é determinante na eficácia clínica de um fármaco e depende diretamente da solubilidade aquosa e permeabilidade membranar.

Com isso, o Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB), consolidou-se como ferramenta de auxílio na predição da biodisponibilidade de fármacos. O SCB tem sido empregado no desenvolvimento de formas farmacêuticas devido às limitações técnicas e econômicas, assim sendo a avaliação das propriedades de hidrossolubilidade e permeabilidade membranar dos fármacos oferecem indicações sobre a eficácia dos medicamentos⁴⁹. O SCB estabelece quatro classes de fármacos que estão resumidos com alguns exemplos no Quadro 1⁵⁰.

Quadro 1- Classificação de fármacos de acordo com o SCB e fator limitante da absorção²

Classe	Solubilidade aquosa	Permeabilidade membranar	Fator limitante (absorção)	Fármacos
I (anfifílicos) ^a	Alta	Alta	Esvaziamento gástrico	Propranolol Captopril Nortriptina
II (lipofílicos) ^b	Baixa	Alta	Dissolução <i>in vivo</i>	Glibenclamida Carbamazepina Fenitoína
III (hidrofílicos) ^c	Alta	Baixa	Esvaziamento gástrico	Cimetidina Ranitidina Insulina
IV ^d	Baixa	Baixa	Dissolução <i>in vivo</i>	Cetoprofeno Hidroclorotiazida Furosemida

^a Velocidade de dissolução limita a absorção *in vivo*; ^b Hidrossolubilidade limita o fluxo do fármaco no processo de absorção. ^c Permeabilidade é a etapa determinante da absorção. ^d Não é esperada correlação entre o perfil *in vitro* versus *in vivo*.

Cerca de 40% das formulações orais comercializadas são praticamente insolúveis (<100 µg mL⁻¹), e destes, 30% são pertencentes à Classe II e 10% à Classe IV do SCB^{51;52}. Além disso, cerca de 70% das formulações candidatas a novos fármacos são pertencentes à Classe II e 20% à Classe IV, ambos apresentando baixa hidrossolubilidade^{52;53}. Sabendo destas informações e considerando que a baixa hidrossolubilidade está diretamente ligada com a sua biodisponibilidade de um fármaco, a sua escolha para investigação de obtenção de novas dispersões sólidas tem como base os dados disponível pelo SCB, visando o aumento da solubilidade de fármacos das Classes II e IV^{37;53-55}.

3.2.2 Seleção do coformador

A seleção do coformador é uma das etapas essenciais para investigação para obter novas dispersões sólidas. Para sua seleção, esta substância tem que ser farmacologicamente

aceitável, geralmente, considerada segura para consumo humano, de modo que sua interação com o fármaco origine um composto como nova formulação, mas que mantenha o princípio ativo, ele deve ser um composto atóxico e sem efeitos secundários adversos e deve estar incluído na lista da agência FDA que compreende mais de 3.000 substâncias adequadas como aditivos alimentares²⁶.

O coformador deve conter grupos funcionais complementares às interações moleculares com o IFA⁵⁶. Sua escolha deve ser baseada em partes da molécula, observando a presença dos grupos funcionais específicos, com vista à formação de interações entre as moléculas, sendo então criadas unidades estruturais básicas, constituintes da rede cristalina da dispersão sólida⁵⁷. Estas unidades conhecidas como sítions supramoleculares, mostrados na Figura 4, são responsáveis por promover alterações nas propriedades físico-químicas de seus compostos, sendo uma delas, o aumento na solubilidade aquosa⁵⁸.

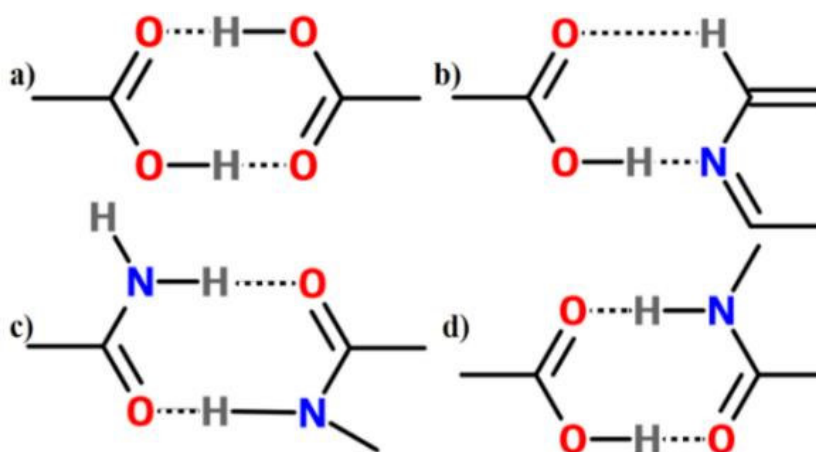


Figura 4 – Representação esquemática de interações entre grupos funcionais: a) ácido-ácido; b) ácido-piridina; c) amida-amida e d) ácido-amida.

Fonte: Adaptado de Miroshnyk et al. (2009)⁵⁹.

Os sítions supramoleculares podem ser divididos em duas categorias: homosítions – quando as interações ocorrem entre os compostos com um mesmo grupo funcional e heterosítions – em que interagem são grupos diferentes, mas complementares, possibilitando a síntese por meio da interação IFA-coformador⁶⁰. Os principais grupos funcionais receptivos à formação de sítions são: álcoois, ácidos carboxílicos e amidas, sendo estruturalmente ligados por ligações de hidrogênio. Estas são as interações atrativas entre um elemento mais eletronegativo e um hidrogênio com carga parcialmente positiva^{57;59;61}. A Figura 5 apresenta alguns dos coformadores já utilizados para obtenção de dispersões sólidas de fármacos.

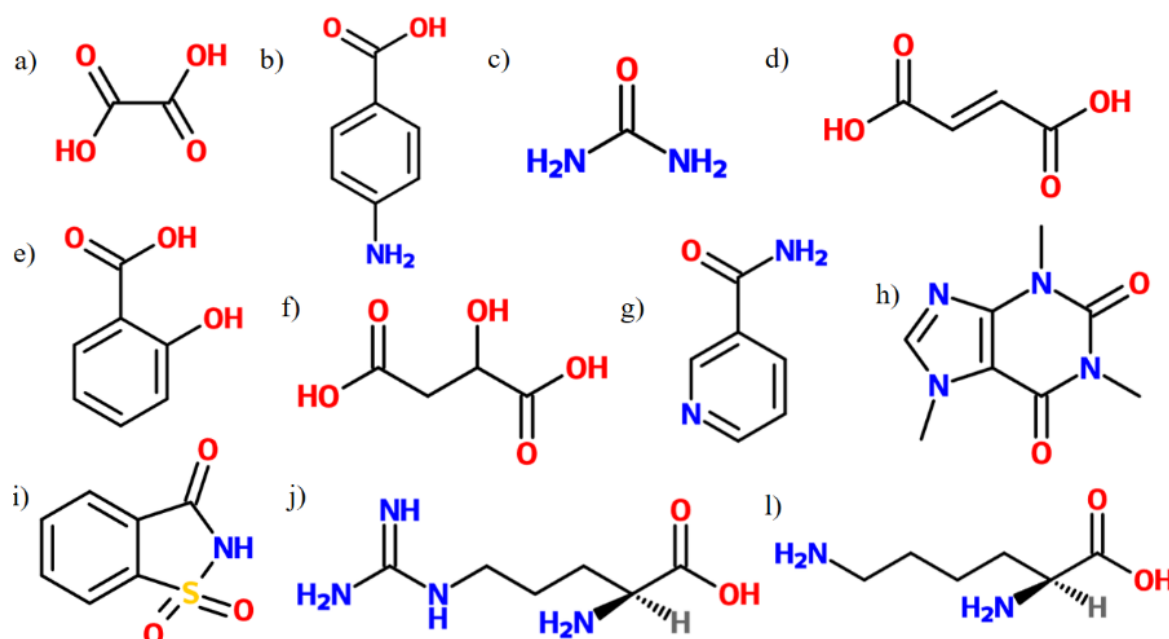


Figura 5 – Exemplos de alguns conformadores utilizados para preparação de dispersões sólidas de fármacos: a) Ácido Oxálico, b) Ácido p-Aminobenzóico, c) Ureia, d) Ácido Fumárico, e) Ácido Salicílico, f) Ácido Málico, g) Nicotinamida, h) Cafeína, i) Sacarina, j) Arginina e l) Lisina.

Fonte: Adaptado de Childs; Hardcastle (2007)⁶² e Goud et al. (2012)⁵⁸.

3.4 Rifampicina (RIF)

A Rifampicina (RIF) é um composto semissintético da rifampicina B 3-(4-metil-1-piperaziniliminometil), constituída por um complexo macrocíclico produzido pelo *Streptomyces mediterranei*. Possui ação bactericida de amplo espectro, atuando de forma específica na inibição da atividade da enzima RNA polimerase DNA-dependente por meio da formação de um complexo estável com a enzima⁶³. Este fármaco vem sendo efetivo no tratamento de enfermidades como tuberculose e hanseníase utilizando poliquimioterapia. O combate à tuberculose é realizado em combinação com Isoniazida e Pirazinamida, enquanto o tratamento da hanseníase é realizado com Dapsona e Clofazimina^{64;65}. Na Figura 6 apresenta a estrutura química deste fármaco.

Este composto apresenta uma molécula complexa, podendo existir em diferentes conformações devido às interações entre seus grupos funcionais, promovendo diferentes morfologias cristalinas com coloração vermelho-marrom⁶⁶. Este material apresenta fórmula molecular: C₄₃H₅₈N₄O₁₂ (62,76 % C; 7,10 % H; 6,81 % de N e 23,33 % de O), sendo classificado, de acordo com o SCB, como um fármaco de Classe II apresentando baixa solubilidade aquosa (<0,10 mg mL⁻¹)⁶⁷ e alta permeabilidade membranar^{1;68}.

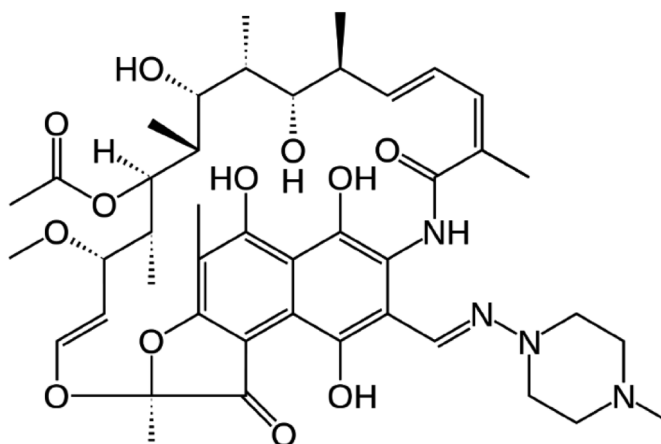
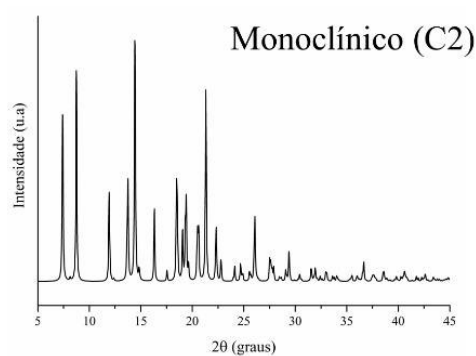
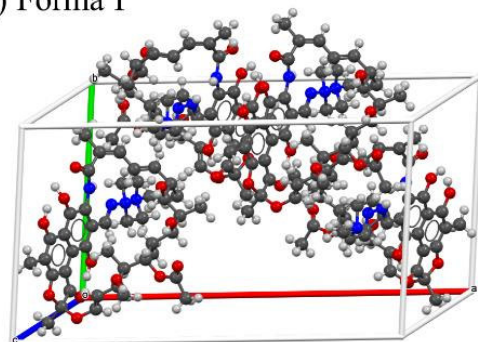


Figura 6 – Estrutura química da Rifampicina (RIF)⁶⁹.

A RIF possui massa molar igual a $822,94 \text{ g mol}^{-1}$ e apresenta características anfóteras ("zwitterion"), pois possui pKa 1,7 (relacionado ao grupamento 4-hidroxila) e pKa 7,9 (relacionado ao nitrogênio do grupo piperazina). Assim, em solução aquosa, o seu ponto isoelétrico é igual a 4,8⁷⁰. Este IFA existe em duas formas cristalinas anidras denominadas como Forma I e Forma II.5H₂O (pseudopolimorfo) como mostrado na Figura 7 (a) e 7 (b). Este material também pode apresentar-se em duas formas amorfas. A Forma I é a estável, enquanto a Forma II é metaestável. Além destas formas principais, ela é encontrada como solvatos, que converte à forma amorfa depois da remoção do solvente⁷¹.

a) Forma I



b) Forma II.5H₂O

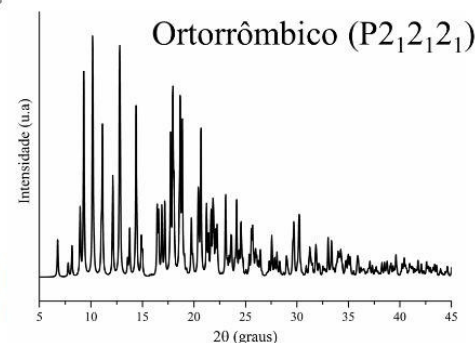
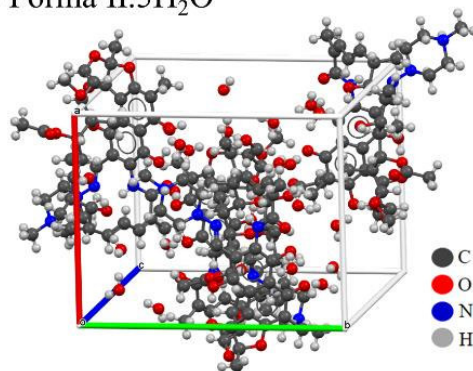


Figura 7 – a) Células unitárias da RIF e seus respectivos padrões de Difração de Raios X, a saber: (a) Forma I⁶⁶ e (b) Forma II.5H₂O (hidrato)⁷².

A Forma I apresenta estrutura cristalina referente ao sistema cristalino monoclinico, com quatro moléculas por célula unitária e pertence ao grupo espacial C2 com parâmetros de rede $a = 25,8844 (2) \text{ \AA}$, $b = 14,2964 (2) \text{ \AA}$, e $c = 14,2795 (2) \text{ \AA}$, $\alpha = \gamma = 90^\circ$ e $\beta = 122,98 (1)^\circ$, $V = 4432,7 (5) \text{ \AA}^3$, $Z = 4$, $Z' = 1^{66}$. Já a Forma II.5H₂O apresenta estrutura cristalina do sistema ortorrômbico com quatro moléculas por célula unitária e grupo espacial P2₁2₁2₁ com parâmetros de rede $a = 13,8506 (6) \text{ \AA}$, $b = 17,3867 (8) \text{ \AA}$, e $c = 19,7476 (8) \text{ \AA}$, $\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$, $V = 4755,5 (4) \text{ \AA}^3$, $Z = 4$, $Z' = 1^{72}$.

Este fármaco apresenta diferentes solubilidades em meio aquoso, sendo que esta propriedade varia de acordo com o pH devido a sua natureza anfótera^{71:73}. Estas diferenças na solubilidade em meio aquoso podem afetar a absorção e biodisponibilidade deste fármaco, quando no estado sólido para ingestão oral. Entretanto, esta biodisponibilidade é mais dependente do tamanho das partículas, com absorção ótima na faixa de distribuição de 100 μm , que do tipo de forma polimórfica utilizada⁷¹.

Os produtos disponíveis no mercado apresentam-se mais comumente como uma mistura da Forma II e da Forma amorfa em diferentes proporções⁷¹. Apesar da evidente importância da caracterização dos polimorfos da RIF e o seu impacto na biodisponibilidade, as farmacopeias não estipulam nem especificam o tipo de polimorfo que deveria ser usado pelos fabricantes do medicamento⁷⁴.

3.5 Trometamina (TRIS)

A Trometamina (TRIS) – Figura 8 - é um composto sólido com alta hidrossolubilidade ($5,5 \times 10^5 \text{ mg L}^{-1}$) e de interesse na bioquímica e biologia molecular no estudo para padronização de ácidos fortes e preparo de soluções tampão. Ela é bastante utilizada na área da medicina e farmácia pois possui aplicação no estudo das alterações do equilíbrio ácido-base e ajuste do pH dos fluidos corporais^{75:76}.

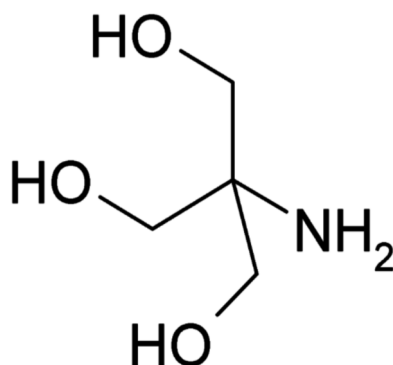


Figura 8 – Estrutura química da Trometamina (TRIS)⁶⁹.

Quimicamente, a TRIS corresponde ao tris(*hidroximetil*) aminometano, com massa molar de $121,14 \text{ g mol}^{-1}$ e fórmula molecular $\text{NH}_2\text{C}(\text{CH}_2\text{OH})_3$. Este composto se apresenta na forma de pó cristalino branco ou cristais incolores e é classificado como Classe I do SCB apresentando alta hidrossolubilidade. Esta molécula possui pKa 8,1, possibilitando sua aplicação como solução tampão pois possui uma faixa eficaz de pH entre 7,1 a 9,1, a qual coincide com o pH fisiológico típico do organismo humano¹². A Figura 9 apresenta a célula unitária da TRIS com padrão de difração de Raios X da Forma α .

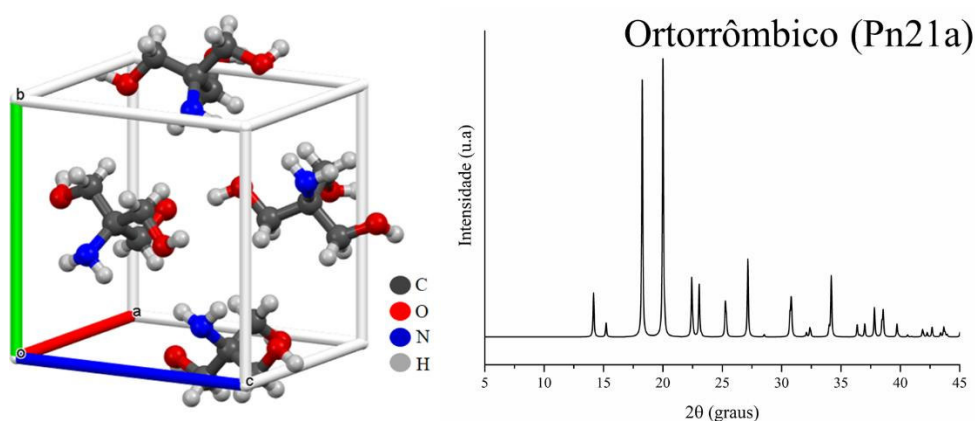


Figura 9 – Célula unitária da TRIS na Forma α e o seu padrão de Difração de Raios X⁷⁷.

A TRIS apresenta estrutura cristalina referente ao sistema cristalino ortorrômbico à temperatura ambiente (25°C) com quatro moléculas por célula unitária e pertence ao grupo espacial Pn21a com parâmetro de rede $a = 8,807 (6) \text{ \AA}$, $b = 8,872 (7) \text{ \AA}$, e $c = 7,709 (7) \text{ \AA}$, $\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$, $V = 602,348 \text{ \AA}^3$, $Z = 4$, $Z' = 1$ ⁷⁷. Este composto possui temperatura de fusão na faixa de 168 a 174°C ; sendo conhecida por existir em duas formas, com uma transição de fase sólido-sólido que ocorre próximo da temperatura de 134°C , passando da fase cristalina ortorrômbica para a fase cúbica de corpo centrado^{78;79}. Nessa transição a molécula sofre uma grande variação de entalpia, permitindo que a TRIS seja utilizada como um material orgânico de armazenagem de energia térmica, tendo aplicações em sistemas de células solares⁸⁰.

A TRIS possui uma estrutura com capacidade de auxiliar no aumento da hidrossolubilidade de fármacos. Sua aplicação como excipiente farmacêutico tem se destacado nos últimos anos, melhorando propriedades físico-químicas de fármacos pouco hidrossolúveis e, conseqüentemente, aprimorando a velocidade de dissolução, biodisponibilidade, e estabilidade⁸¹⁻⁸⁴. A TRIS foi utilizada como coformador para o preparo de cocrystalos de Gliclazida¹⁶ e Glibenclamida¹⁵ e de co-amorfos de Tolbutamida¹⁸ e Clorpropamida¹⁷.

3.6 Química Computacional: Estudo de modelagem molecular

Os avanços na área da química computacional, junto com desenvolvimento dos computadores, tornaram os métodos teóricos uma ferramenta fundamental da pesquisa em química. Com isso, o estudo na área de materiais também cresceu nas últimas décadas, pois com auxílio dos cálculos teóricos pode-se prever as energias de processos químicos, obter com exatidão as geometrias de sistemas, obter espectros vibracionais, eletrônicos e nucleares de estruturas moleculares, além de auxiliar na interpretação de resultados experimentais, e possivelmente, prever e solucionar novos fenômenos⁸⁵⁻⁸⁷.

Os métodos usados para determinação da energia das moléculas têm como base duas aproximações teóricas: clássica (métodos da mecânica molecular e de dinâmica molecular) e a quântica (métodos *ab initio*, semiempíricos e a Teoria do Funcional da Densidade – DFT). Assim, a escolha do tipo de aproximação depende das propriedades que se deseja avaliar, da precisão desejada e da capacidade computacional para realização dos cálculos².

As aplicações que englobam transições eletrônicas, transporte de elétrons e formação e/ou quebra de ligações estão além das possibilidades da aproximação clássica, porque estas partículas não são explicitamente consideradas nos métodos clássicos. Quando os elétrons precisam ser considerados, os métodos mais adequados são os quanto-mecânicos, pois consideram a estrutura molecular como um conjunto de núcleos e elétrons. Todavia, há uma problemática desses métodos, onde necessitam de uma expressão matemática que considere o comportamento ondulatório dos elétrons (dualidade partícula-onda). Deste modo, pode-se utilizar a Equação 1 para cálculo de propriedades como a energia E , que considera o comportamento ondulatório:

$$\hat{H}\Psi(R, r) = E\Psi(R, r) \quad (\text{Equação 1})$$

na qual H é o chamado 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 elétrons (r)².

A Equação 1 não apresenta uma solução exata para cálculo da energia quando vários átomos estão envolvidos, por isso se faz necessário realizar algumas aproximações. Uma dessas é a aproximação de Born-Oppenheimer, onde o tratamento dos movimentos nuclear e eletrônico é feito separadamente. Esta aproximação faz algumas simplificações no cálculo do \hat{H} , mas não há exatidão quando o cálculo envolve sistemas polieletrônicos^{88;89}. Portanto, também pode-se outra aproximação, conhecida como método Hartree-Fock (HF). No método

HF, a função de onda eletrônica é um produto de funções de onda monoelétrica, onde cada elétron interage com o potencial médio resultante da presença dos outros elétrons e núcleos do sistema^{90;91}.

Com os trabalhos realizados por Hohenberg e Kohn (1964)⁹² e por Kohn e Sham (1965)⁹³ desenvolveu-se uma teoria baseada no uso do funcional da densidade, a DFT (do inglês *Density Functional Theory*). Este modelo leva em consideração a energia de um conjunto de elétrons como sendo um funcional de uma única variável, a função de densidade eletrônica $\rho(r)$, estando em função de três coordenadas cartesianas que não se limita ao número de elétrons^{2;92;94}.

Quando um sistema apresenta uma ou mais moléculas com muitos elétrons é adequado o uso da DFT, como formação de novos materiais entre eles novas dispersões sólidas de fármacos, assim pode-se obter propriedades físico-químicas dos compostos de partida e da dispersão sólida obtida, como as energias de ligações químicas, afinidades eletrônicas, modos de vibrações moleculares, polarizabilidades e hiperpolarizabilidade, etc⁹⁵. As equações resultantes do modelo DFT são mais simples que as do método HF (variáveis formam um conjunto de funções para cada elétron presente) limitando-se a execução de cálculos com HF para moléculas que possuem poucos átomos^{2;94}.

As aproximações contidas na DFT podem utilizar funcionais híbridos desenvolvidos a partir da mecânica quântica fundamental ou da parametrização de funções para reproduzir melhor os resultados experimentais. Um desses funcionais é o modelo Becke-Perdew (BP ou BP86), que tem como base um procedimento de campo autoconsistente. O modelo Lee-Yang-Parr (B3LYP) é um dos modelos mais utilizados devido à qualidade dos seus resultados, particularmente para moléculas orgânicas^{2;96}. Alguns dos funcionais de troca são imprecisos no cálculos de interações intermoleculares, sendo que não são adequados para modelar processos tais como excitações eletrônicas para orbitais de mais alta energia. Para cálculos que inclui dispersão empírica e correções de longo alcance é indicado o uso do funcional ω B97x-D, mais preciso para sistemas com formação de ligações de hidrogênio⁹⁷.

Os programas utilizados para realizar os cálculos de modelagem molecular apresentam uma ferramenta que permite obter paras tridimensionais da distribuição de potencial eletrostático na superfície da molécula². A aplicação de estudos computacionais torna-se um grande aliado na tentativa de prever diversas propriedades de princípios ativos, viabilizando processos da pesquisa no estudo da obtenção de novas dispersões sólidas para melhoria da hidrossolubilidade de fármacos⁹⁸.

3.7 Obtenção de dispersões sólidas de fármacos pelo método de Evaporação Lenta do Solvente (ELS)

Diversos métodos podem ser utilizados para a obtenção de dispersões sólidas, como a cristalização a partir da fusão, sublimação, recristalização a partir de um solvente ou de uma mistura de solventes, alteração do pH da solução, adição ou presença de aditivos, secagem, moagem, entre outros. Os métodos em solução são mais comuns, onde se utiliza diferentes meios para alcançar a saturação, como resfriamento, evaporação do solvente e uso de antissolvente, porém vale a pena ressaltar que nem todos são facilmente escalonáveis^{25;99;100}.

A evaporação lenta do solvente (ELS) para preparação de dispersões sólidas de fármacos consiste em solubilizar uma mistura física de dois componentes (IFA e coformador) em um solvente ou mistura de solvente. Com a evaporação do solvente, esta solução se torna saturada, iniciando o crescimento de cristais, podendo ocorrer uma interação entre o fármaco e coformador. A principal vantagem é que a evaporação pode ocorrer em temperaturas mais baixas, condição ideal para fármacos instáveis em temperaturas elevadas. Entretanto, apresenta como desvantagem o custo elevado sendo um método mais utilizado em escala laboratorial²³.

A escolha deste método depende da estabilidade física da solução e das propriedades dos compostos de partida como estabilidade térmica, ponto de fusão e tendência de cristalização. A remoção completa do solvente é uma das etapas fundamentais nesta metodologia¹⁰¹. Para aplicar este método, é importante considerar as solubilidades dos reagentes, definindo se estes são solúveis no solvente ou mistura de solventes escolhidos, para que haja uma solubilização completa dos materiais. Outro passo fundamental é a escolha da estequiometria adequada, podendo influenciar na preparação do material e nas propriedades do produto formado. Portanto, o controle destes parâmetros do processo deve ser considerado para a reprodutibilidade na obtenção do material, definindo tempo de obtenção, temperatura, pressão e agitação necessária⁵⁷.

Este método permite favorecer a interação do IFA-coformador por meio da homogeneização obtida durante o processo de síntese. Este fato origina um aumento da relação entre o fármaco e coformador por meio de ligações intermoleculares, promovendo a indução das transformações estruturais e químicas destes materiais, mediante a formação de um composto amorfo⁵⁶. Foram obtidas diversas dispersões sólidas por meio desta metodologia, por exemplo: sal de clofazimina¹⁰², cocristal de glibenclamida¹⁵ e o co-amorfo de tolbutamida¹⁸.

3.8 Técnicas utilizadas na Caracterização de Dispersões Sólidas de Fármacos

A caracterização é uma etapa essencial para o desenvolvimento de dispersões sólidas de fármacos assim como para o desenvolvimento das demais formulações farmacêuticas. De maneira geral, o processo de caracterização é realizado para comparar as características do fármaco, coformador, mistura física e da nova dispersão sólida obtida podendo assim avaliar as vantagens da formulação²⁵. As principais técnicas de caracterização são: Difração de Raios X (DRX), Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), Termogravimetria (TG), Análise Térmica Diferencial (DTA) e Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC).

3.8.1 Difração de Raios X pelo método do pó (DRXP)

Os Raios X são definidos como radiação eletromagnética que pode ser produzida quando um feixe de elétrons de alta energia é acelerado e colide com um alvo metálico. Esta radiação apresenta comprimento de onda pequeno, com tamanhos de 0,1 a 100 Å, e se localizam entre a região dos raios γ e ultravioleta do espectro eletromagnético. A difração irá ocorrer quando um feixe destes raios incide sobre um material sólido e sofre uma dispersão ou espalhamento em todas as direções, originada pelos elétrons associados a cada átomo que se encontra no caminho óptico do feixe¹⁰³. A Figura 10 apresenta uma representação do fenômeno de difração de Raios X para materiais cristalinos.

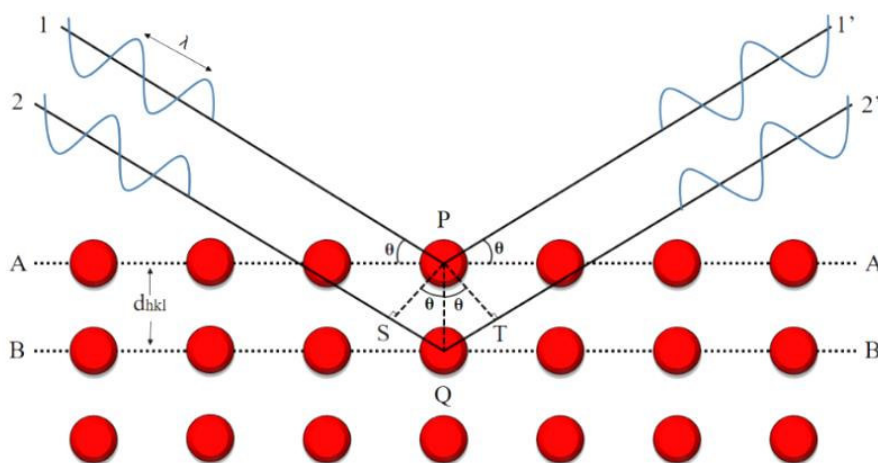


Figura 10 – Representação da difração de Raios X por dois planos paralelos de átomos (A-A' e B-B') separados por uma distância interplanar d_{hkl} ¹⁰⁴.

O espalhamento do feixe ocorrerá de modo coerente ou incoerente, no qual a difração de Raios X e a possível identificação das substâncias em análise ocorrerão quando o

espalhamento for coerente¹⁰⁵. No entanto, para que este fenômeno possa ser observado no estudo de materiais sólidos, ele deve acontecer segundo critérios estabelecidos por William Henry Bragg, os quais estabelecem a relação entre o ângulo de difração e a distância entre os planos que a originam¹⁰⁶.

Bragg observou que para ocorrer à interferência construtiva (colisão elástica ou espalhamento coerente) da radiação espalhada, seria necessário que o espalhamento obedecesse à condição expressa na Equação 2, sendo conhecida como Lei de Bragg:

$$n\lambda = 2 dhkl. \text{sen } \theta \quad (\text{Equação 2})$$

onde n representa a ordem de reflexão, que pode ser qualquer número inteiro consistente com o fato de que $\text{sen } \theta$ não pode exceder a unidade. Desta forma, temos uma expressão simples que relaciona o comprimento de onda dos Raios X com o espaçamento interatômico ao ângulo do feixe difratado.

A Lei de Bragg sugere que a diferença de caminho ótico entre os dois feixes espalhados pelos diversos planos cristalográficos é igual ao comprimento de onda λ ou a um múltiplo dele. Nas direções onde não se verifica esta relação, a interferência entre as ondas espalhadas é destrutiva e não se observa intensidade de espalhamento significativa¹⁰⁴. A difração de Raios X assume muitas funções nas análises farmacêuticas. A difração de policristais é uma ferramenta no estudo de polimorfos porque permite alta precisão nos resultados de estrutura cristalina e também o estudo de sistemas com mais de uma fase e conseqüentemente de diferentes polimorfos, podendo assim ser identificado à contribuição de cada fase¹⁰⁷.

3.8.1.1 Método Rietveld

O método Rietveld é um tratamento matemático utilizado para refinamento de estruturas cristalinas, desenvolvido por Hugo Rietveld em 1969, baseado nas intensidades do perfil de difração de Raios X das substâncias. Este método permite extrair uma grande quantidade de informações contidas nos difratograma de Raios X obtidos para os compostos policristalinos¹⁰⁸.

A análise da estrutura pelo método de Rietveld é realizada geralmente utilizando três etapas: (1) a geração de um perfil de difração de Raios X calculado por um modelo teórico, (2) a comparação do padrão de DRXP obtido experimentalmente com o padrão calculado, e (3) a minimização do erro entre o difratograma experimental e o difratograma calculado,

realizando o refinamento pelo método dos mínimos quadrados para os parâmetros selecionados. Assim, este método realiza um ajuste a cada passo do padrão de difração, refinando simultaneamente os parâmetros instrumentais, estruturais e os relacionados com as características físicas da amostra analisada¹⁰⁹.

O progresso do refinamento é monitorizado por uma série de índices de concordância, dentre os quais se destacam os denominados de fatores R. Destes, os fatores mais utilizados são o índice de perfil ponderado (Rwp) e o índice de qualidade do ajuste S. Sendo este ajuste a relação entre Rwp e Rexp (fator estatisticamente esperado), nos quais podem ser definidos pelas Equações 3, 4 e 5 como¹¹⁰:

$$R_{wp} = \sqrt{\frac{\sum w_i |Y_{obs} - Y_{calc}|^2}{\sum w_i (Y_{obs})^2}} \quad (\text{Equação 3})$$

$$R_{exp} = \sqrt{\frac{N - P}{\sum w_i (Y_{obs})^2}} \quad (\text{Equação 4})$$

$$GOF(S) = \frac{R_{wp}}{R_{exp}} \quad (\text{Equação 5})$$

onde W_i é o inverso da variância de cada respectiva observação ($= 1/Y_i$); Y_{obs} e Y_{calc} se referem aos padrões de intensidades observadas e calculadas, respectivamente; N é o número de pontos experimentais e P é o número de parâmetros ajustados.

Durante o refinamento, o valor de Rwp pode variar na faixa de 10 - 20%. Para o índice de qualidade, quando os valores de S se aproximam de 1,0 significa que o Rwp atingiu o valor estatisticamente esperado (Rexp) para aqueles dados e tem-se um padrão DRXP completamente ajustado para a molécula em análise¹¹¹.

3.8.2 Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)

A Espectroscopia de Infravermelho (IR) baseia-se no estudo das transições vibracionais moleculares que ocorrem quando uma espécie química absorve radiação na região do infravermelho do espectro eletromagnético^{112;113}. A IR envolve a interação ressonante entre os fótons da radiação incidente e os estados vibracionais dos átomos do material, sendo que a energia do fóton absorvido ($h\nu$) deve ser igual à diferença de energia entre dois estados vibracionais distintos E_1 e E_2 , conforme a Equação 6:

$$h\nu = E_2 - E_1 \quad (\text{Equação 6})$$

A radiação infravermelha corresponde aproximadamente à parte do espectro eletromagnético situado entre as regiões do visível e das micro-ondas (700 a 50.000 nm)¹¹⁴. Normalmente, ela é dividida em três regiões: IR próximo (NIR, do inglês *Near Infrared*), IR médio (MIR, do inglês *Mid Infrared*) e IR distante (FIR, do inglês *Far Infrared*), sendo a região do infravermelho médio, de 4000 a 200 cm^{-1} , a mais utilizada para o estudo dos compostos orgânicos, tais como os fármacos^{112;114}. A radiação absorvida pelas moléculas orgânicas converte-se em energia de vibração, onde certos grupos de átomos dão origem a bandas em frequência específica, e é justamente a presença destas bandas que permite a obtenção de informações estruturais úteis¹¹⁴.

As vibrações moleculares podem ser classificadas em deformações axiais e deformações angulares como representadas na Figura 11. Uma vibração de deformação axial é um movimento rítmico ao longo do eixo de ligação que faz com que as distâncias interatômicas aumentem e diminuam alternadamente. As deformações angulares, correspondem a vibrações ritmadas de ligações que tem um átomo em comum ou o movimento de um grupo de átomos de 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 molécula¹¹⁴.

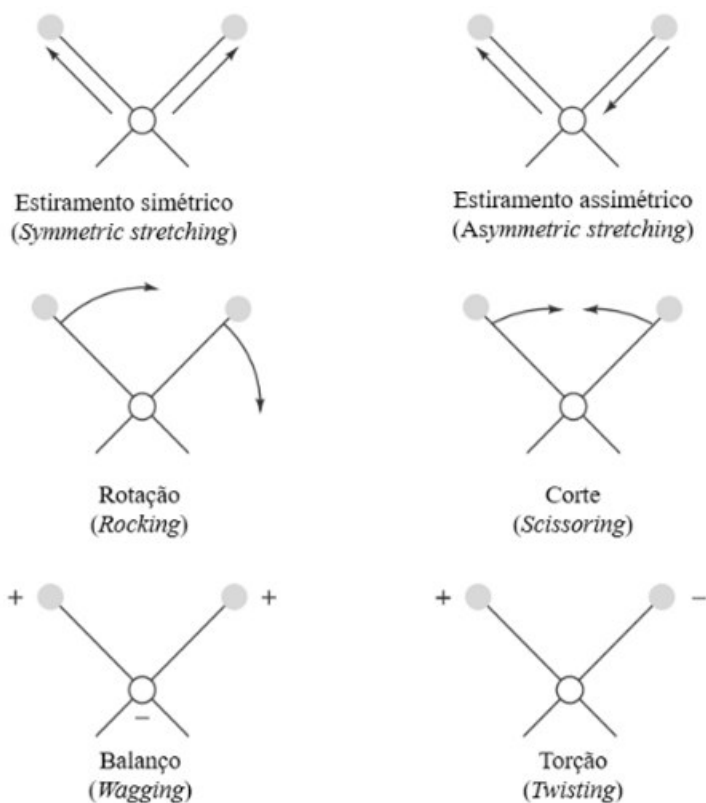


Figura 11 – Representação do movimento vibracional dos átomos¹¹⁵.

A Espectroscopia no Infravermelho Médio com Transformada de Fourier (FTIR do inglês *Fourier Transform Infrared*) consiste na obtenção do espectro a partir de uma função matemática que converte o domínio do tempo para o domínio da frequência. O FTIR compartilha do mesmo princípio da espectroscopia do IR diferindo apenas no domínio onde o espectro é mensurado¹¹⁶. Este processo de conversão de domínio é realizado por um interferômetro onde a radiação proveniente de uma fonte incide sobre um separador de feixes que o divide em duas partes iguais, estas então são dirigidas a dois espelhos planos que refletem estes feixes fazendo combinarem-se novamente rapidamente, pois não coleta os dados através da variação da frequência da radiação, mas é guiada através do interferômetro que torna as medições espectroscópicas mais eficientes¹¹⁷.

A espectroscopia FTIR destaca-se por apresentar rapidez, ser uma técnica não destrutiva, apresentar considerável facilidade na preparação das amostras, relativa facilidade de uso e pouco ou nenhum consumo de solvente para a análise das amostras. Portanto, o FTIR torna-se um instrumento de imprescindível no estudo de novos materiais, possibilitando a avaliação das alterações nas ligações de hidrogênio intermoleculares em sólidos mediante observação do deslocamento de bandas, e pela ajuda na elucidação em sólidos mediante observação do deslocamento de bandas, e pela ajuda na elucidação estrutural e identificação de compostos, sendo utilizada pela indústria para caracterização do estado sólido de formulações farmacêuticas, tais como polimorfos, cocristais, solvatos e co-amorfos^{73;112;117;118}.

3.8.3 Caracterização por Análises Térmicas

Define-se análise térmica como um "conjunto de técnicas por meio das quais uma propriedade física de uma substância e/ou de seus produtos de reação é medida em função da temperatura, enquanto essa substância é submetida a um programa de temperatura controlado e sob atmosfera específica". As vantagens da análise térmica são muitas, podendo ser destacadas: necessidade de uma pequena quantidade de amostra para a realização dos ensaios, fácil preparação da amostra e sua aplicabilidade em diversas áreas (alimentícia, catálise, cerâmica, engenharia, farmacêutica, inorgânica, orgânica, petroquímica, polímeros, vidros e outros¹¹⁹.

3.8.3.1 Termogravimetria (TG)

A Termogravimetria (TG) é uma das técnicas de análises térmicas mais usada para caracterização de materiais inorgânicos e orgânicos. Ela fornece resultados quantitativos em

relação à perda de massa de uma amostra em função da temperatura ou do tempo. Do mesmo modo, as medições de TG fornecem informações básicas sobre as propriedades térmicas do material e sua composição¹²⁰. A TG tem sido utilizada na área farmacêutica como ferramenta útil para avaliar rapidamente uma possível interação entre os componentes ativos e os excipientes em estudos de compatibilidade na pré-formulação, além de avaliar a existência de polimorfismo, compostos de inclusão e dispersões sólidas, determinação de pureza química, estudos de reações no estado sólido, análise de formas farmacêuticas sólidas e controle de qualidade¹²¹.

Esta técnica consiste no monitoramento da variação da massa da amostra em função da temperatura e/ou do tempo. A medida é realizada com uma termobalança e registrada em uma curva termogravimétrica como mostrado na curva de comportamento térmico do oxalato de cálcio monohidratado apresentado Figura 12^{122;123}. A termobalança é um instrumento que permite a pesagem contínua de uma amostra em função da temperatura, com sensibilidade da ordem de 0,1 µg até 1 g. Geralmente, a razão de aquecimento pode atingir de 1°C min⁻¹ até 100°C min⁻¹ dependendo do fabricante. A temperatura final depende do forno, podendo chegar até 2000°C¹²⁴.

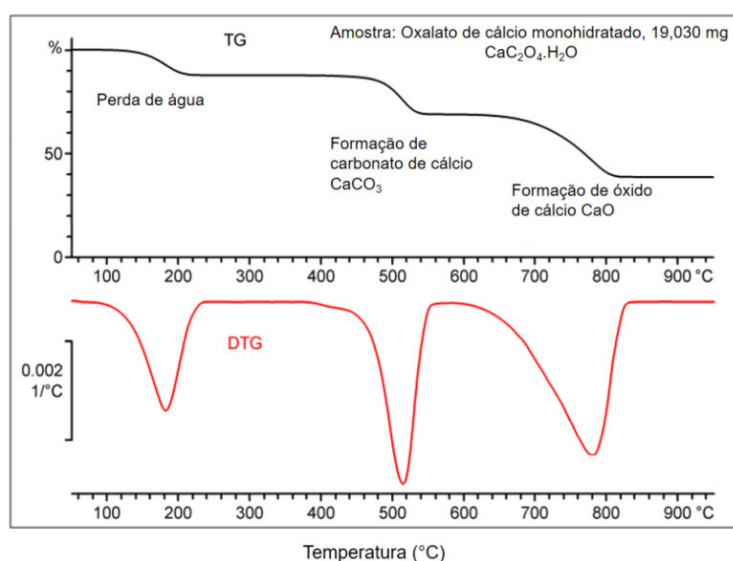


Figura 12 – Curvas TG/DTG do oxalato de cálcio monohidratado¹²³.

Determinadas perdas de massa podem estar sobrepostas na curva TG, podendo assim utilizar a Termogravimetria Derivativa (DTG), permitindo uma melhor visualização dos eventos térmicos correspondentes à variação de massa quando comparadas as curvas TG. Na curva DTG observa-se picos, em vez de uma curva gradual da TG, que determinam áreas proporcionais às variações de massa, tornando as informações com melhor resolução. Esta curva permite obter a razão de Δm (variação de massa) naquela temperatura, as temperaturas

correspondentes ao início e final da reação com maior exatidão e, na maioria das vezes, calcular a Δm no caso de sobreposição de reações¹²⁵.

As curvas termogravimétricas fornecem a informação sobre a composição e a estabilidade térmica da amostra, dos produtos intermediários e de resíduos finais¹²⁵. Existem alguns fatores que podem influenciar nos resultados experimentais que afetam o aspecto das curvas TG, sendo eles: os fatores instrumentais e os fatores relacionados à amostra. Os instrumentais é devido à razão de aquecimento e atmosfera do forno, geometria do suporte de amostras e do forno, já os fatores relacionados à amostra são devido ao tamanho de partículas e quantidade de amostra, solubilidade dos gases liberados, calor de reação e compactação¹²⁶.

3.8.3.2 Análise térmica diferencial (DTA)

A Análise Térmica Diferencial (DTA) determina continuamente a diferença entre as temperaturas de uma amostra e da referência termicamente inerte, à medida que ambos vão sendo aquecidos ou resfriados em um forno. Essas medições são diferenciais porque se registra a diferença entre a temperatura da referência T_r , e a da amostra T_a , ou seja, ($T_r - T_a = \Delta T$), em função da temperatura ou do tempo, dado que o aquecimento ou resfriamento são sempre feitos em ritmo linear¹²⁶. Uma curva DTA do oxalato de cálcio monohidratado pode ser observada na Figura 13.

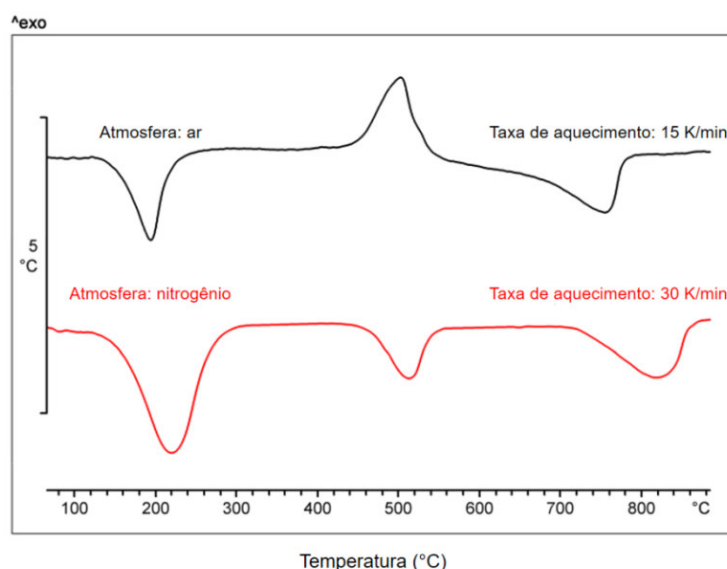


Figura 13 - Curvas DTA do oxalato de cálcio monohidratado¹²³.

As curvas de DTA fornecem informações tanto de alterações físicas (tais como vaporização, absorção, fusão) como de reações químicas (como por exemplo, oxidação, polimerização, desidratação e decomposição), induzidas por variações de temperatura na

amostra. As principais aplicações da DTA incluem: estudo e caracterização de polímeros; aplicação nas indústrias cerâmicas e metalúrgicas (no estudo da estabilidade térmica de produtos fabricados à temperatura elevada); e determinação do ponto de fusão ou decomposição de compostos orgânicos. Atualmente, existem no mercado equipamentos que realizam as medições de TG simultaneamente com as medições das curvas DTA (TG-DTA), tendo como principal objetivo obter maior resolução em temperaturas específicas, onde ocorrem pequenas e sucessivas variações de massa, na qual dificultam a observação ou interpretação das típicas curvas de TG por meio de sua simples visualização¹²⁶.

Além de mostrar a natureza energética dos eventos que envolvem perda de massa, o sinal DTA também pode mostrar efeitos térmicos que não são acompanhados por uma alteração na massa, por exemplo, fusão, cristalização ou transição vítrea. A avaliação é geralmente restrita à determinação do início e do pico de temperatura. Processos que envolvem uma perda de massa comum dão origem a efeitos DTA endotérmicos devido ao trabalho de expansão. Entretanto, se gases combustíveis são formados a uma temperatura suficientemente alta e oxigênio suficiente está disponível, a entalpia de combustão é maior e o efeito líquido é exotérmico¹²³.

3.8.3.3 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

A DSC mede a diferença de energia fornecida à substância em relação a um material de referência, termicamente inerte, em função da temperatura ou do tempo, enquanto a substância e a referência são submetidas a uma programação controlada de temperatura¹²⁶. A curva DSC obtida é uma função do fluxo de calor pela temperatura. Alguns parâmetros, tais como: temperatura *onset* (T_{onset}), temperatura *endset* (T_{endset}), temperatura de pico (T_{pico}) e a variação de entalpia (ΔH), são obtidas a partir das curvas com intuito de caracterizar os eventos¹²⁷.

No DSC de compensação de potência, o calor é fornecido à amostra ou ao material de referência para que as duas substâncias permaneçam na mesma temperatura. O calor é fornecido para amostra e material de referência por meio de aquecedores separados e são mantidos em temperatura iguais por meio de um sistema controlado através de termômetros de resistência de platina e resultando em diferentes quantidades de calor fornecidas a cada amostra. Os eventos térmicos na amostra aparecem como desvios da linha de base do DSC, em uma direção endotérmica ou exotérmica, dependendo se mais ou menos energia é fornecida à amostra em relação ao material de referência¹²⁸.

No DSC de compensação de potência, as respostas endotérmicas são geralmente representadas como positivas, ou seja, acima da linha de base, corresponde ao aumento da transferência de calor para a amostra em comparação com a referência. O oposto é o caso no DSC de fluxo de calor, no qual as respostas endotérmicas são representadas como diferenças negativas no fluxo de calor, abaixo da linha de base. Os equipamentos DSC comerciais podem operar de $-200,0^{\circ}\text{C}$ até $750,0^{\circ}\text{C}$, onde a temperatura de análise pode ser mantida isotérmica ou programada em uma razão de aquecimento de $0,1^{\circ}\text{C min}^{-1}$ até $500,0^{\circ}\text{C min}^{-1}$ ¹²⁸. Na Figura 14 apresentada um esquema da curva de DSC hipotética com as indicações de alguns eventos térmicos.

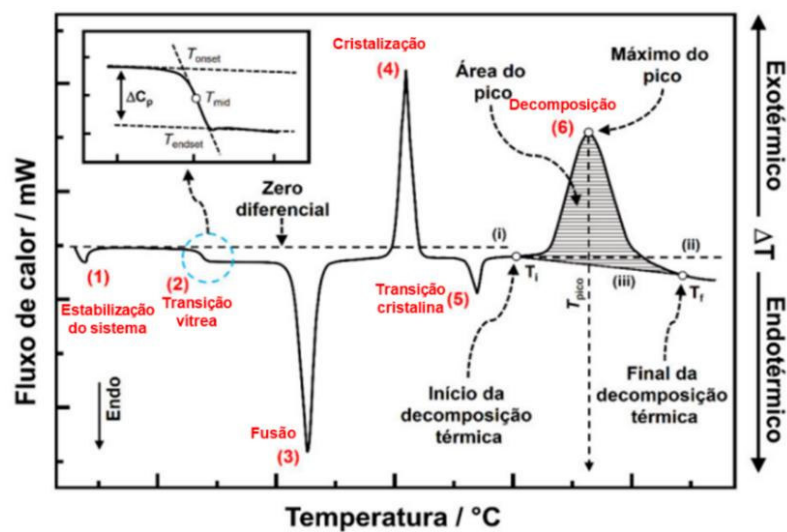


Figura 14 - Esquema de uma curva DSC hipotética que mostra alguns tipos de transições típicas. São indicados seis eventos térmicos, ampliação da faixa de temperatura do evento e a terminologia empregada¹²⁹.

O evento 1 está associado ao início do aquecimento e não é relacionado com nenhum comportamento térmico da amostra. Estes desvios na linha de base, em relação ao zero diferencial, ocorrem devido a diferença de capacidade calorífica entre a amostra e a referência e sua intensidade varia dependendo da razão de aquecimento empregada e das condições da cadinho utilizado¹³⁰. Esse evento é comumente observado na maioria das curvas DSC e são atribuídos à estabilização do sistema à custa da potência enviada para aquecer o forno.

O evento 2 ilustra uma pequena mudança de linha de base no sentido endotérmico característico de uma transição de fase de segunda ordem, conhecida também como temperatura de transição vítrea (T_g)^{131;132}. O pico endotérmico indicado pelo evento 3 é atribuído ao aparente processo de fusão da amostra. O evento 4 corresponde a um pico exotérmico abaixo da temperatura de decomposição, que pode ser decorrente da cristalização de um material¹³⁰. Ressalta que para uma interpretação mais precisa da curva DSC deve-se comparar às curvas TG-DTA. O evento 5 é endotérmico caracterizando uma transição

crystalina (pico estreito) ou pode estar associado ao início do processo de decomposição térmica iniciado com absorção de energia. O último evento é típico de processos oxidativos ou de processos térmicos associados a várias etapas de decomposição térmica¹³².

Podemos estudar os efeitos relacionados às alterações físicas ou químicas (ebulição, fusão, oxidação, desidratação e decomposição) da amostra, capazes de causar variações de calor. Assim, as constantes termodinâmicas, tais como o calor liberado ou absorvido (calor latente) em uma transformação de fase, a determinação do grau de cristalização, e identificação da temperatura de transições de segunda ordem (por exemplo, transição vítrea) são os principais efeitos que podem ser determinado por DSC^{5;34;133}. Na área farmacêutica, as análises de DSC são utilizadas na caracterização térmica e determinação da pureza de fármacos, estudos de compatibilidade entre os constituintes da formulação e identificação de polimorfismo com determinação das entalpias de cada forma cristalina¹³⁴.

3.8.4 – Ensaio de solubilidade e de perfil de dissolução “*in vitro*”

Solubilidade é uma propriedade física fundamental para o estudo do comportamento das substâncias químicas, principalmente dos compostos orgânicos. A solubilidade aquosa dos fármacos influencia as suas propriedades farmacocinéticas, tais como absorção do IFA^{135;136}. As substâncias podem ser classificadas de acordo com sua hidrossolubilidade, desde “muito solúvel” até “praticamente insolúvel ou insolúvel”, como observado na Tabela 2.

Tabela 2 – Termos descritivos de solubilidade em água e seus significados¹³⁶

Solvente	Termo descritivo*
Muito solúvel	Menos de 1 parte
Facilmente solúvel	De 1 a 10 partes
Solúvel	De 10 a 30 partes
Ligeiramente solúvel	De 30 a 100 partes
Pouco solúvel	De 100 a 1000 partes
Muito pouco solúvel	De 1000 a 10 000 partes
Praticamente insolúvel ou insolúvel	Mais de 10 000 partes

* quantidades aproximadas de solvente, em mililitros (mL), para um grama da substância.

A melhoria da solubilidade aquosa de um IFA com baixa hidrossolubilidade sem comprometer sua estabilidade é um desafio no desenvolvimento de DSFs¹³⁷. Para fármacos Classe II, o aumento da solubilidade aquosa contribui para uma maior absorção¹³⁸. O método de dissolução *in vitro* é utilizado para caracterização do mecanismo de liberação do fármaco, importante nos estudos de formulações e melhoramento para fármacos pouco solúveis, para

desenvolver e avaliar novas formulações, por meio do monitoramento da taxa de liberação do fármaco, avaliar estabilidade, verificar a consistência do produto, assegurar alterações na formulação e estabelecer correlações *in vitro/in vivo*¹³⁹.

Os ensaios de solubilidade aquosa e de perfil de dissolução são avaliados utilizando meios de ensaio dentro do intervalo de pH fisiológico (pH = 1,2 a 6,8). O ensaio é conduzido em equipamento que demonstre adequabilidade conforme a USP (do inglês *United States Pharmacopeia*. Pode-se utilizar dois métodos: 1) cestos, formas farmacêuticas sólidas orais com uma velocidade de agitação de 50 a 100 rpm, (*Apparatus I*), e, 2) pás, também pode ser utilizado, mas em uma rotação menor entre 50 a 75 rpm (*USP Apparatus II*)^{140;141}.

Para quantificação de fármaco solúvel nos ensaios de solubilidade aquosa e perfil de dissolução *in vitro* pode-se utilizar a técnica de Espectroscopia no Ultravioleta/Visível (UV-Vis). A UV-Vis detecta absorção da radiação nas regiões do ultravioleta ou visível onde é obtido um espectro da solução por meio de uma leitura numa cubeta de quartzo ou vidro. A intensidade depende da concentração das soluções e do comprimento do caminho óptico da medida¹⁴². Esses dois fatores são combinados numa relação de Beer-Lambert, o qual é normalmente expressa em termo de intensidade de luz incidente (I_0) por luz emergente (I) como observado na Equação 7:

$$I/I_0 = e^{-\varepsilon cl} \text{ ou } \log(I/I_0) = A = \varepsilon cl \quad (\text{Equação 7})$$

onde ε é o coeficiente da absorvidade molar, a qual é constante para a solução no comprimento que a medida é feita, c é a concentração da solução e l é a espessura da cubeta. A é a absorbância que é medida diretamente no espectrofotômetro de ultravioleta/visível. Então A relaciona-se linearmente com a concentração (c) porque ε e l são constantes nas condições experimentais dadas^{143;144}.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Reagentes

Neste trabalho foram utilizados reagentes de grau analítico da fabricante Sigma-Aldrich, onde informações básicas sobre estes compostos podem ser observadas na Tabela 3.

Tabela 3 – Compostos utilizados neste trabalho e informações sobre: fórmula molecular, massa molar, temperatura de fusão e pureza

Reagente	Função	Fórmula molecular	Massa molar (g mol ⁻¹)	T _{fusão} (°C)	Pureza (%)
Rifampicina	IFA	C ₄₃ H ₅₈ N ₄ O ₁₂	822,94	193	≥ 97,00
Trometamina	Coformador	C ₄ H ₁₁ NO ₃	121,14	168-172	≥ 99,00
Solvente	Função	Fórmula molecular	Massa molar (g mol ⁻¹)	T _{ebulição} (°C)	Pureza (%)
Metanol	Solvente	CH ₄ O	32,04	65	≥ 99,80

4.2 Modelagem molecular dos compostos de partida (RIF e TRIS), utilizando o método baseado na Teoria do Funcional da Densidade (DFT)

As estruturas químicas dos compostos de partida foram obtidas utilizando o *software ChemCraft* em uma visualização tridimensional (3D), gerando as matrizes de coordenadas cartesianas correspondentes para geração de arquivos de entrada para os cálculos computacionais. Realizou-se a otimização de geometria empregando-se a teoria do funcional da densidade (DFT), fazendo uso do funcional ω B97x-D com conjunto de funções de base 6-31G(d) com modelo contínuo polarizável de solvatação PCM (do inglês *Polarizable Continuum Model*), como implementado no *software Gaussian16*. Para confirmação da otimização de geometria obteve-se um sistema com mínimo de energia na curva de energia potencial para cada composto com todas as frequências positivas^{92,93,145-148}. Os cálculos foram processados no *cluster* de computadores da ComputeCanada.

Com as energias dos orbitais HOMO e LUMO, foram obtidos os índices de reatividade¹⁴⁹, que estão resumidos na Tabela 4, onde mostra a propriedade eletrônica com seu respectivo significado.

Tabela 4 - Identificação das propriedades eletrônicas do tipo índice de reatividade⁹⁸

Propriedades ^a	Significado
HOMO	Orbital molecular ocupado de mais alta energia
LUMO	Orbital molecular não ocupado de mais baixa energia
<i>gap</i>	Energia para retirar um elétron de um estado para outro
η	Dureza
S	Maciez
μ	Potencial químico
χ	Índice de eletronegatividade

^a Unidade utilizada é o elétron-Volt (eV).

4.3 Procedimentos Experimentais

4.3.1 Obtenção do co-amorfo RIF-TRIS (2:1) via Evaporação Lenta de Solvente (ELS)

Visando a obtenção de DSs de RIF, inicialmente, foram utilizadas as metodologias por moagem mecanoquímica líquido-assistida (MMLA) e pelo método da fusão (MFus). Entretanto, não foi possível a preparação de DSs deste fármaco utilizando estas metodologias, pois não houve evidência de interação entre a RIF e a TRIS nas condições experimentais utilizadas, conforme mostram os resultados de análises por DRXP das misturas binárias RIF-TRIS (1:1) descritos nos Apêndices I e II.

A Figura 15 mostra um esquema do método de obtenção do co-amorfo por evaporação lenta de solvente. Pesaram-se 95,94 mg de RIF e 6,92 mg de TRIS na razão molar (2:1) obtendo uma massa total de 102,86 mg que foram solubilizadas em 25 mL de MeOH. Esta solução foi colocada em repouso em uma incubadora, marca Biothec, modelo BT 60, à temperatura de $8,0^{\circ}\text{C} \pm 1,0^{\circ}\text{C}$ durante dezesseis (16) dias até evaporação total do solvente (béquer com plástico filme com 20 furos para saída do solvente)¹⁵. Para garantir a evaporação completa do solvente, o material obtido foi colocado em estufa com circulação forçada de ar marca ETHIK TECHNOLOGY modelo 400-3ND, a 50°C , durante duas (2) horas.

O material obtido foi recolhido e armazenado em dessecador para posterior caracterização. Este procedimento também foi realizado para proporções molares (3:1), (1:1), (1:2) e (1:3) para investigação da melhor estequiometria para formação do material. Para fins de comparação e verificação da ocorrência de polimorfismo, os compostos de partida (RIF e TRIS) individualizados foram recristalizados usando mesmo procedimento, sendo denominados como RIF_{REC} e TRIS_{REC}.

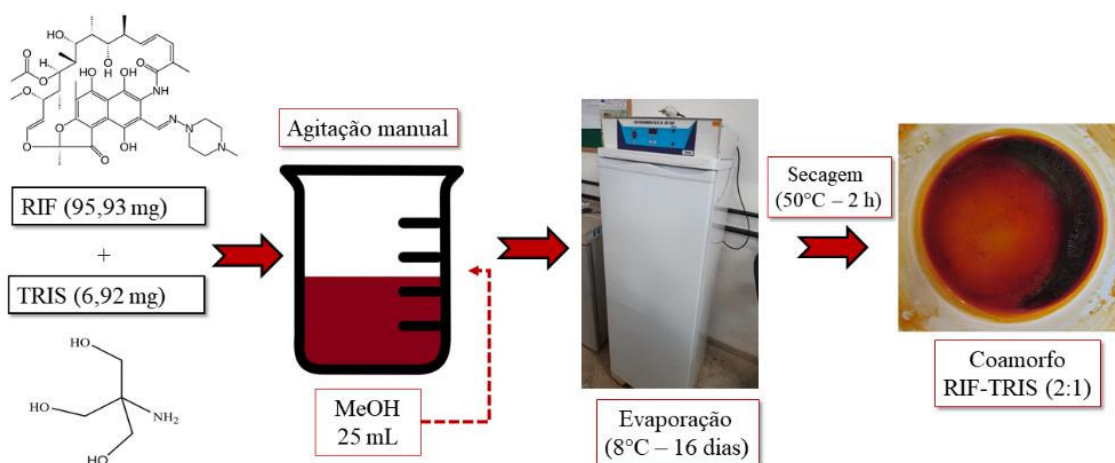


Figura 15 – Esquema da obtenção do co-amorfo RIF-TRIS (2:1) pelo método de evaporação lenta de solvente.

4.3.2 Caracterizações do co-amorfo RIF-TRIS (2:1)

4.3.2.1 Caracterização por Difração de Raios X pelo método do pó (DRXP)

Os padrões de DRX foram coletados no laboratório de Difração de Raios X (LDRX) da UFMA Campus Imperatriz - Unidade Avançada. As análises foram realizadas por meio de um difratômetro *PANalytical Empyrean*, utilizando geometria de reflexão Bragg-Brentano (θ - θ) e radiação Cu K α ($\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$), operando a uma tensão de 40 kV e corrente de 30 mA. As medidas foram realizadas utilizando um detector PIXcel^{3D}, com passo de $0,02^\circ$, tempo por passo de 2 segundos e varredura angular (2θ) de 5° a 45° . Os difratogramas foram avaliados pelo refinamento de estruturas cristalinas usando o método Rietveld, ajustando o padrão de difração dado na literatura dos compostos de partida, até obtermos a melhor concordância com o resultado experimental, a fim de identificar os polimorfos dos materiais. O método foi realizado utilizando o programa GSAS com interface EXPGUI¹⁵⁰.

4.3.2.2 Caracterização por Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

Os espectros de absorção no infravermelho foram obtidos usando amostras cristalinas em pó no Laboratório de Espectroscopia Vibracional do programa de Pós-graduação em Física da Universidade Federal do Pará (UFPA). As análises foram feitas no modo transmitância com o espectrômetro no infravermelho com transformada de Fourier Vertex 70v com cristal de Ge, na faixa espectral de 400 a 4000 cm^{-1} que está dentro da região considerada como infravermelho médio. Um módulo de reflectância total atenuada (ATR, *attenuated total reflectance*) A225/Q Platinum e um detector de ampla faixa RT-D1a TGS com abertura de 6 mm foram usados na amostra, permitindo, assim, medidas acima de 400 cm^{-1} com resolução espectral de aproximadamente 4 cm^{-1} para 240 varreduras.

4.3.2.4 Caracterização por análises térmicas

4.3.2.4.1 Termogravimetria, Termogravimetria Derivativa e Análise Térmica Diferencial Simultâneas (TG/DTG-DTA)

As curvas de TG/DTG-DTA foram obtidas simultaneamente utilizando um analisador térmico da Shimadzu Instruments modelo DTG-60, equipado com balança do tipo “*Top plan*”

no Laboratório de Análise Térmica (LAT) na UFMA Campus Imperatriz - Unidade Avançada. As análises foram realizadas com massas das amostras entre 4,00 a 5,50 mg em cadinho de α -alumina e intervalo de temperatura de 25 a 900°C com taxa de aquecimento de 10°C min⁻¹, sob atmosfera de nitrogênio com vazão de 50 mL min⁻¹.

4.3.2.4.2 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

As curvas de DSC dos compostos de partida e das sínteses foram obtidas em um analisador térmico no Laboratório de Análise Térmica (LAT) na UFMA Campus Imperatriz - Unidade Avançada, realizando ciclos únicos de aquecimento dentro da faixa de temperatura de estabilidade térmica de cada composto, sob atmosfera de nitrogênio com uma vazão de 50 mL min⁻¹ e com uma taxa de aquecimento de 10°C min⁻¹. Foram utilizados cadinhos de alumínio aberto para realização das análises. O equipamento de DSC foi previamente calibrado para a temperatura e energia utilizando como padrão o ponto e entalpia de fusão do Índio metálico ($T_{onset} = 156,4^\circ\text{C}$; $\Delta H_{fus} = 28,5 \text{ J g}^{-1}$) com pureza de 99,99%. Os fatores de correção foram calculados conforme procedimento e especificação do fabricante. Todas as medidas foram realizadas sob pressão atmosférica, utilizando-se massas de amostras aproximadamente de 2,00 mg.

4.3.2.5 Avaliação da estabilidade do co-amorfo RIF-TRIS (2:1)

O estudo da estabilidade do co-amorfo RIF-TRIS (2:1) foi realizado a 25,0°C±1,0°C, 60% umidade relativa (parâmetros do ambiente ao redor do dessecador) durante cinquenta e seis (56) dias. A amostra foi armazenada em dessecador a vácuo e em intervalos de sete (7) dias foi analisada por DRXP no laboratório de Difração de Raios X (LDRX) da UFMA Campus Imperatriz – Unidade Avançada.

4.3.3 Ensaios de solubilidade e de perfil de dissolução “in vitro”

4.3.4.1 Ensaio de solubilidade aquosa

A solubilidade da RIF, da RIF-TRIS_{MF} (2:1) e do co-amorfo RIF-TRIS (2:1) foram determinadas em solução tampão fosfato pH = 6,80. As soluções foram preparadas utilizando cerca de 10,00 mg do fármaco em 10 mL de solução tampão fosfato em um tubo de ensaio. Estes permaneceram em uma incubadora *shaker* a 100 rpm em temperatura de 37,0°C ± 1,0°C

durante vinte e quatro (24) horas. Posteriormente, estas soluções foram filtradas (0,45 μm) e este filtrado foi diluído e analisado utilizando o espectrofotômetro UV-Vis *Thermo Scientific Evolution 220* na região 580-380 nm. Para determinação de RIF solúvel no meio, foi preparada uma curva analítica em três repetições ($n=3$) em oito níveis (pontos) de concentrações conhecidas conforme mostrado na Tabela 5.

Tabela 5 – Pontos da curva analítica com seus respectivas concentrações de RIF obtidas a partir da concentração da solução padrão (0,5 mg mL⁻¹)

Ponto	Alíquota da solução padrão (μL)	Concentração final (mg mL ⁻¹)
1	100	$1,00 \times 10^{-2}$
2	200	$2,00 \times 10^{-2}$
3	300	$3,00 \times 10^{-2}$
4	400	$4,00 \times 10^{-2}$
5	500	$5,00 \times 10^{-2}$
6	600	$6,00 \times 10^{-2}$
7	800	$8,00 \times 10^{-2}$
8	900	$9,00 \times 10^{-2}$

4.3.4.2 Ensaio de perfil de dissolução *in vitro*

A taxa de dissolução *in vitro* da RIF, da RIF-TRIS_{MF} (2:1) e do co-amorfo RIF-TRIS (2:1) foram determinados em 900 mL de tampão fosfato de pH = 6,80 a $37^{\circ}\text{C} \pm 1,0^{\circ}\text{C}$ em agitador Fisatom 713D com rotação de 75 rpm. Em intervalos regulares de 0, 5, 10, 15, 30, 45, 60, 90, 105, 120, 135, 150, 180, 195 e 210 minutos foram retiradas alíquotas de 5 mL do meio de dissolução e substituídos por um volume igual ao meio, para manutenção constante do sistema.

As amostras foram adequadamente analisadas no espectrofotômetro UV-Vis *Thermo Scientific Evolution 220*. Os ensaios foram realizados em três repetições ($n=3$). A eficiência de dissolução *in vitro* (DE, do inglês *Dissolution Efficiency*) foi selecionada, como um parâmetro independente do modelo, para avaliar a taxa de dissolução *in vitro* da RIF. O ED é definido como a área sob a curva de dissolução até o tempo t , expressa como uma porcentagem da área do retângulo descrita por 100% de dissolução no mesmo tempo. A ED₃₀ e ED₆₀ (30 e 60 minutos) foram calculados a partir dos dados de dissolução e usados para comparação.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste tópico apresenta os principais resultados alcançados durante o desenvolvimento desta pesquisa, nos quais serão abordados os estudos de modelagem molecular dos compostos de partida (RIF e TRIS) a partir da Teoria do Funcional da Densidade (DFT) visando presumir as possíveis interações intermoleculares entre estes compostos, resultando assim na formação da dispersão sólida tipo co-amorfo RIF-TRIS (2:1). Também serão abordados, os resultados das caracterizações por DRXP, FTIR e da caracterização por análises térmicas por meio das técnicas de TG/DTG-DTA e DSC. Por fim, foi realizado o estudo da estabilidade em função do tempo e os ensaios de solubilidade aquosa e de perfil de dissolução *in vitro* da dispersão sólida obtida neste estudo.

5.1 Modelagem molecular dos compostos de partida (RIF e TRIS) por DFT

As propriedades eletrônicas dos compostos de partida RIF e TRIS foram modeladas com base em características estruturais. A Figura 16 mostra as geometrias otimizadas com seus momentos de dipolo da RIF e TRIS. Estas estruturas foram obtidas a partir de cálculos realizado com uso do método ω B97x-D/6-31G(d) no qual se encontra o estado de menor energia desta molécula. O vetor de momento dipolar está direcionado para a região com maior densidade eletrônica.

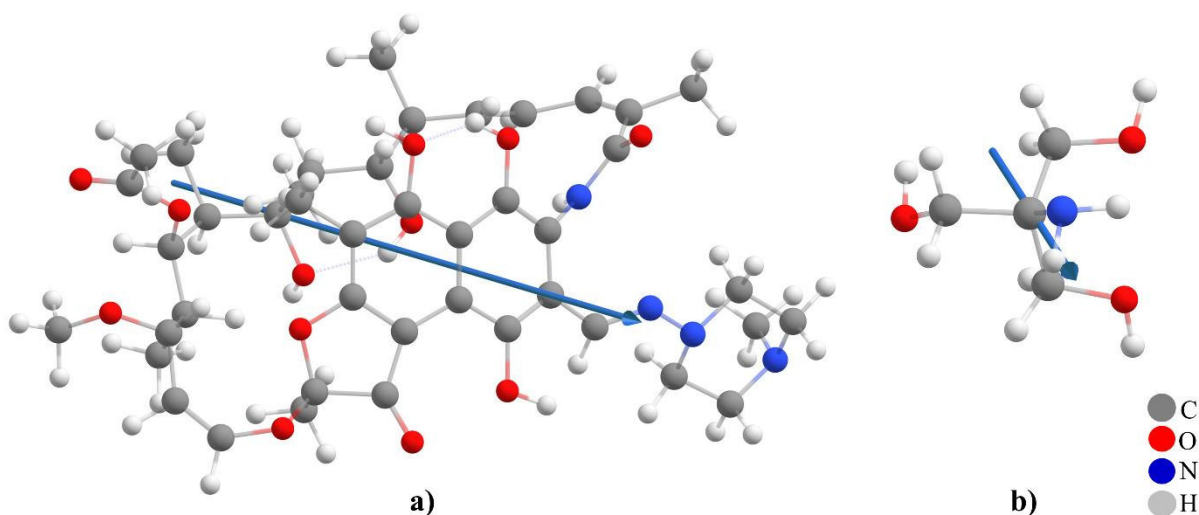


Figura 16 – Estrutura química da (a) RIF e (b) TRIS derivadas da otimização de energia mostrando seus respectivos vetores de momento dipolar, utilizando o método ω B97x-D/6-31G(d).

A estrutura da RIF e da TRIS apresentaram valores de momento de dipolo de 11,90 D e 1,82 D (Debye), respectivamente. Este momento de dipolo está relacionado com a soma vetorial dos momentos relacionados com as ligações polares individuais, estando, portanto,

relacionada também com a disposição espacial dos átomos e com a presença de elétrons não ligantes. Podemos concluir que estes materiais são substâncias orgânicas polares (momento dipolar $\neq 0$). A baixa solubilidade aquosa da RIF está relacionada à presença de átomos de carbono (parte hidrofóbica) tornando o material menos solúvel. Nesse caso, as ligações de hidrogênio não conseguem compensar as ligações de hidrogênio água-água, que precisam ser rompidas para que ocorra o processo de dissolução¹³⁵.

A ligação de hidrogênio pode ser definida como uma interação entre um doador de próton e um centro contendo alta densidade eletrônica (pares de elétrons desemparelhados ou ligações π)^{135;151}. Mediante isso, a obtenção do MPE dos compostos de partida auxilia na identificação dos grupos funcionais (doadores e aceptores de prótons) que podem participar de interações intermoleculares como as ligações de hidrogênio.

O mapa de potencial eletrostático (MPE) é uma ferramenta da química computacional capaz de fornecer a densidade de cargas de uma molécula, fornecendo regiões que concentram uma alta densidade eletrônica (carga parcial negativa δ^-), bem como regiões cuja a nuvem eletrônica está mais deslocada, apresentando, portanto, carga parcial positiva δ^+ ^{152;153}. A Figura 17 apresenta os mapas de potencial eletrostático dos compostos de partida com sua superfície transparente.

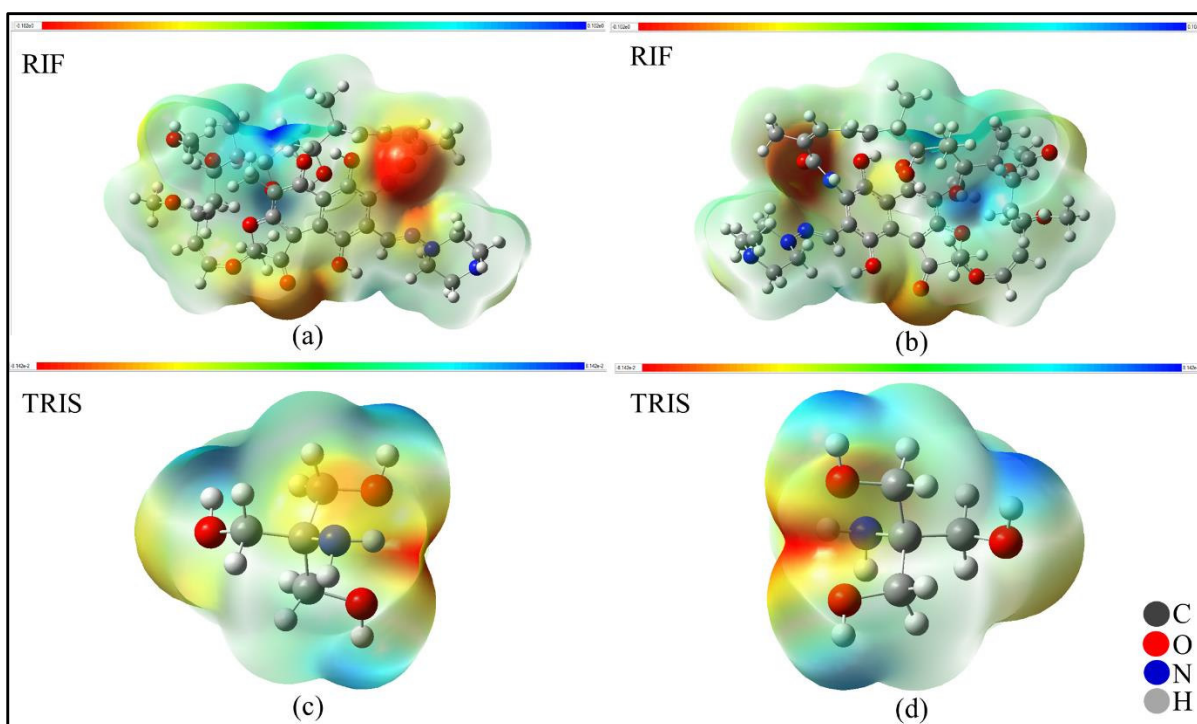


Figura 17 - Mapas de potencial eletrostático do orbital HOMO dos compostos de partida: (a) e (b) RIF e (c) e (d) TRIS.

A partir da análise das regiões mostradas no MPE da RIF na Figura 17 (a) e (b), foi possível identificar as regiões nucleofílicas (potencial eletrostático negativo) que estão apresentadas em vermelho, e as regiões eletrofílicas (potencial eletrostático positivo) representadas em azul¹⁵². Assim, conforme o MPE do orbital HOMO (estado fundamental) da RIF, pode-se presumir que os locais de ligação específicos com as regiões eletronegativas mais altas (destacadas em vermelho) são nos grupos funcionais 4-hidroxila (doador de próton) e carbonilas (aceptor de próton), viabilizando sua participação em interações intermoleculares do tipo ligações de hidrogênio com o coformador TRIS.

Analisando as regiões da Figura 17 (c) e (d), notam-se as regiões que apresentam mais alta densidade eletrônica na TRIS estão localizadas nos oxigênios das hidroxilas e no nitrogênio do grupo amino, propondo que essa região seja forte doadora de prótons, e, que conseqüentemente participe de interações com a molécula do fármaco como ligações de hidrogênio para formação do co-amorfo. Nota-se que as regiões dessa molécula apresentam baixa densidade eletrônica principalmente nos hidrogênios ligados aos oxigênios, logo sugere se que estes podem interagir com as regiões de alta densidade eletrônica da RIF.

Com a obtenção das energias dos orbitais HOMO (energia de ionização) e LUMO (afinidade eletrônica) e com base na Teoria do Funcional da Densidade (DFT) podem ser obtidas várias propriedades dos compostos de partida (RIF e TRIS) como os índices de reatividade⁹⁸. Na Tabela 6 estão reunidos os valores destas propriedades calculadas para os compostos de partida (RIF e TRIS), além também de apresentar os valores de suas respectivas energias livre de Gibbs.

Tabela 6 – Valores dos principais índices de reatividade e energia dos compostos de partida RIF-TRIS

Composto	HOMO	LUMO	gap	η	S	$\chi = (-\mu)$	G (10 ⁶) ^a
RIF	-7,000	-0,111	6,889	3,444	0,290	3,555	-1,75
TRIS	-8,724	4,028	12,752	6,376	0,156	2,348	-0,27

HOMO = Orbital molecular ocupado de mais alta energia; LUMO = Orbital molecular desocupado de mais baixa energia; *gap* = (LUMO – HOMO); η = dureza; μ = potencial químico; χ = índice de eletronegatividade; S = maciez; valores em eV; ^avalor em Kcal mol⁻¹.

A eletronegatividade de um elemento ligado ao hidrogênio pode ser utilizado para explicar a tendência das moléculas formarem ligações de hidrogênio¹⁵⁴. A condição para que ocorra interação entre moléculas são seus respectivos orbitais HOMO e LUMO, esta interação ocorre por meio de transferência de carga¹⁵¹. O *gap* é a energia necessária para ocorrer a transição eletrônica do orbital HOMO para o orbital LUMO, sendo definido como a diferença de energia entre estes orbitais. Quanto menor seu valor, menos energia é necessária para que

ocorra uma transição de um elétron^{152;155}. Os valores de *gap* dos compostos de partida (RIF e TRIS) mostraram que a RIF necessita de menos energia para que ocorra a transição eletrônica.

Os valores índices dos índices dureza (η) e maciez (S) mostrados na Tabela 7 corroboram com os valores de *gap* dos compostos de partida, demonstrando que na molécula da RIF pode ocorrer uma transição eletrônica mais facilmente e necessitando de menos energia. O potencial químico (μ) define a direção da transferência de cargas e estabilização do sistema quando duas moléculas se aproximam, o μ tende a ser igualado para que ocorra equilíbrio do sistema⁹⁸. Assim, analisando o índice de eletronegatividade de cada composto, a transição de elétrons ocorre da RIF para TRIS até equilíbrio do sistema. Em relação à energia livre de Gibbs, ambas as moléculas apresentaram valores negativos desta propriedade, demonstrando que na otimização da geometria obteve-se uma conformação estável.

5.2 Obtenção do co-amorfo de RIF-TRIS (2:1) via Evaporação Lenta do Solvente

Para obtenção do co-amorfo foi utilizado o método de evaporação lenta de solvente. Na Figura 18 são apresentados os aspectos macroscópicos dos compostos de partida recristalizados (RIF_{REC} e TRIS_{REC}) e das proporções molares investigadas na obtenção do co-amorfo RIF-TRIS.

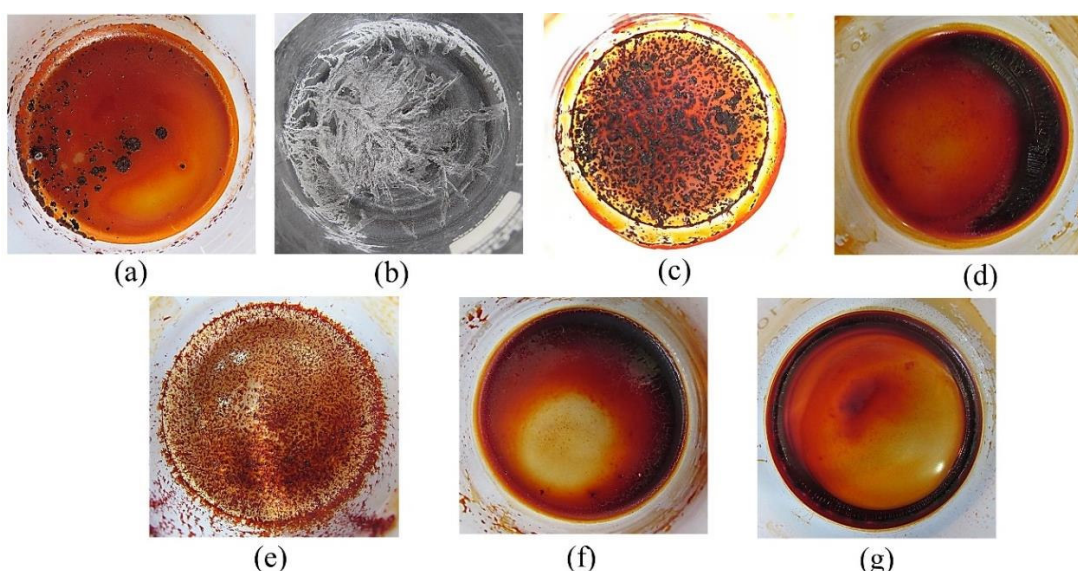


Figura 18 – Compostos de partida recristalizados: (a) RIF_{REC}, (b) TRIS_{REC} e em diferentes proporções molares obtidos pelo método de evaporação lenta de solvente: (c) RIF-TRIS (3:1), (d) RIF-TRIS (2:1), (e) RIF-TRIS (1:1), (f) RIF-TRIS (1:2) e (g) RIF-TRIS (1:3).

Na Figura 18 (a), a RIF_{REC} apresenta-se como um sólido vermelho escuro com cristais arredondados e com fundo do béquer com coloração vermelha do fármaco. Na Figura 18 (b), a TRIS_{REC} apresenta-se em cristais brancos com formato de ramificações no fundo do béquer.

Na Figura 18 (c) e (e), estas misturas binárias apresenta cristais vermelhos parecidos com a RIF_{REC}. Na Figura 18 (d), 18 (f) e 18 (g) mostram semelhanças entre si, apresentando como um material vermelho escuro, mais uniforme e homogêneo no fundo do béquer.

5.3 Caracterizações do co-amorfo RIF-TRIS (2:1)

5.3.1 Difração de Raios X pelo método do pó (DRXP)

Para avaliação de polimorfismo, o comitê do órgão de harmonização internacional, ICH (*International Conference on Harmonization*) estabeleceu protocolos para o controle da qualidade dos insumos farmacêuticos, que são publicados como guias ou leis em diversos países. São estabelecidos, os critérios para caracterizar a forma polimórfica e o grau de criticidade em relação ao produto. As técnicas indicadas nesta caracterização são: difração de Raios X, análise térmica e espectroscópicas¹³².

Como os compostos de partida (RIF e TRIS) apresentam polimorfismo, estes foram recristalizados em MeOH (RIF_{REC} e TRIS_{REC}) e os difratogramas foram comparados com os compostos não submetidos à recristalização (RIF_{nREC} e TRIS_{nREC}) para verificação de formação de polimorfos nas amostras. Os difratogramas das amostras RIF_{nREC} e RIF_{REC} podem ser observados na Figura 19 com seus respectivos refinamentos pelo método Rietveld.

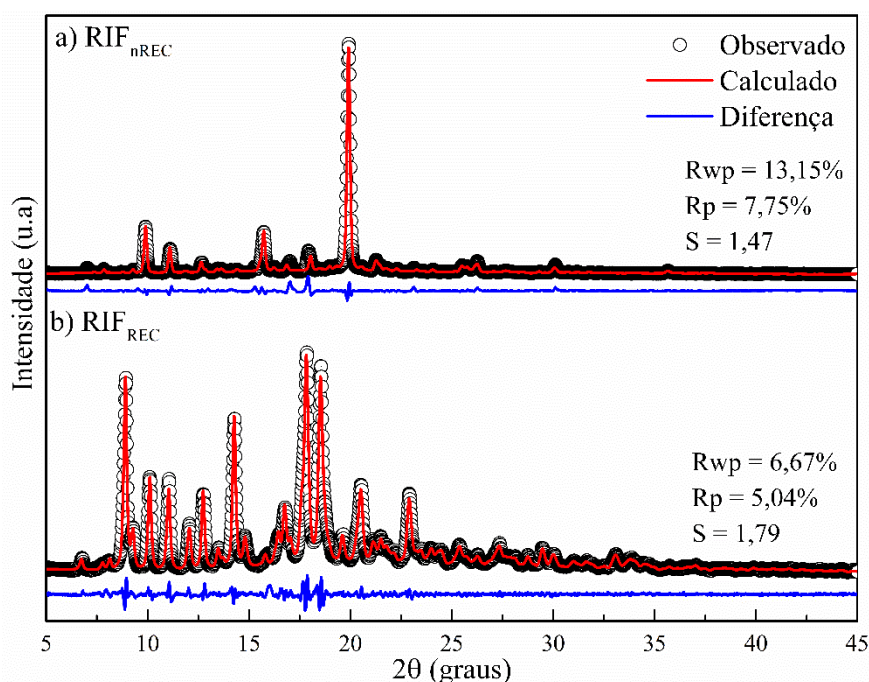


Figura 19 – Padrão de difração de Raios X: a) RIF_{nREC} e b) RIF_{REC} refinados pelo método de Rietveld.

O difratograma da RIF_{nREC} foi refinamento frente ao padrão de difração teórico da Forma I⁶⁶ e Forma II pentahidratada⁷². A Forma I é mais estável, apresentando estrutura

crystalina referente ao sistema monoclinico, com quatro moléculas por célula unitária e grupo espacial C2 e é caracterizado pela presença de picos de difração em $13,50^\circ$ e $14,50^\circ$ (2 θ). Enquanto a Forma II é metaestável com sistema cristalino ortorrômbico, com quatro moléculas por célula unitária e grupo espacial P2₁2₁2₁, e possui picos cristalográficos em de $9,93^\circ$ e $11,11^\circ$ (2 θ). Pelo resultado do Refinamento, foi possível observar que a concordância entre as intensidades observadas e calculadas pelo método para a RIF_{nREC} foram satisfatórias, comprovado pelo bom ajuste obtido apresentando valores médios de Rwp = 13,15 %, Rp = 7,75 % e S = 1,47, confirmando que a amostra consiste em 83,10 % da Forma I e 16,90 % da Forma II.5H₂O.

No difratograma da RIF_{REC} da Figura 19 (b) mostra que o processo de recristalização em meio de MeOH induz a formação do pseudopolimorfo na amostra (Forma II.5H₂O), confirmado pelo bom ajuste obtido pelo refinamento. A concordância entre as intensidades observadas e calculadas no método de Rietveld foram satisfatórias, apresentando valores médios de Rwp = 6,67%, Rp = 5,04% e S = 1,79. O coformador TRIS também foi submetido ao processo de recristalização via ELS. A partir da análise dos difratogramas obtidos foi possível constatar a semelhança entre os padrões de difração, indicando que as duas amostras (TRIS_{nREC} e TRIS_{REC}) apresentam o mesmo polimorfo e para confirmar este resultado foi realizado o refinamento pelo método Rietveld apresentado na Figura 20.

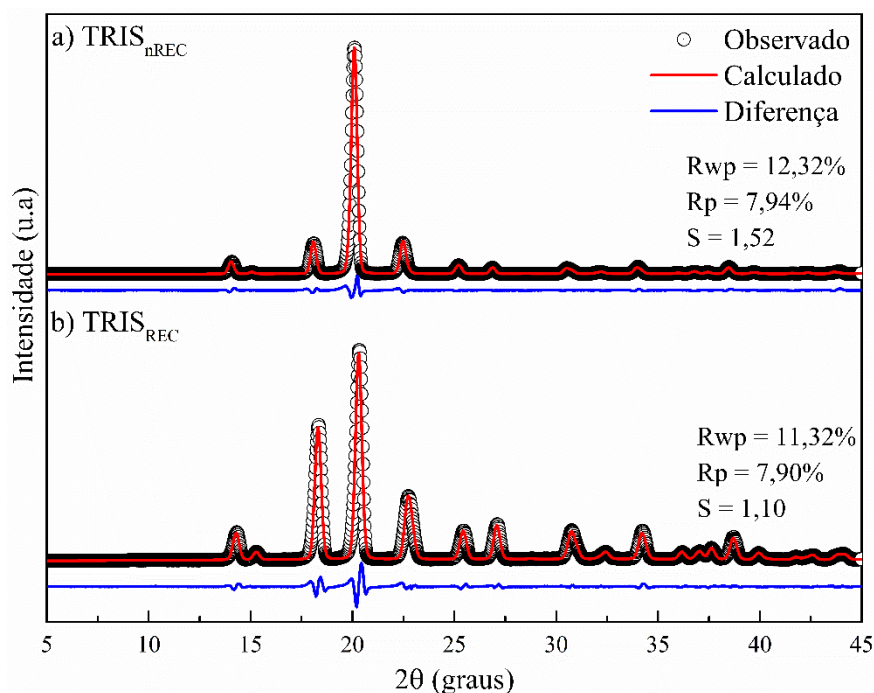


Figura 20 - Padrão de difração de Raios X: a) TRIS_{nREC} e b) TRIS_{REC} refinados pelo método de Rietveld.

A concordância entre as intensidades observadas e calculadas foram satisfatórias, permitindo obter fatores de qualidade Rwp = 12,32%, Rp = 7,94% e S = 1,52 para TRIS_{nREC} e

$R_{wp} = 11,32\%$, $R_p = 7,90\%$ e $S = 1,1$ para $TRIS_{REC}$. Podendo concluir que o processo de recristalização não gerou nenhuma alteração polimórfica nas condições utilizadas neste estudo, mantendo-se na Forma α de estrutura cristalina ortorrômbica.

Foi realizado a investigação da melhor proporção molar para formação do co-amorfo RIF-TRIS utilizando as razões molares de (3:1) a (1:3). Na Figura 21 são apresentados os difratogramas destas amostras. Estes resultados mostraram que para o sistema RIF-TRIS (1:1) observa-se a sobreposição de picos nos padrões de difração, caracterizando a identificação de duas fases cristalinas, evidenciando que nesta proporção não resultou em uma interação entre as moléculas e, conseqüentemente, na formação de uma nova dispersão sólida. Esta não interação foi confirmada pelo refinamento mostrado na Figura 37 (Apêndice III), mostrando valores de $R_{wp} = 7,69\%$, $R_p = 5,74\%$ e $S = 1,96$.

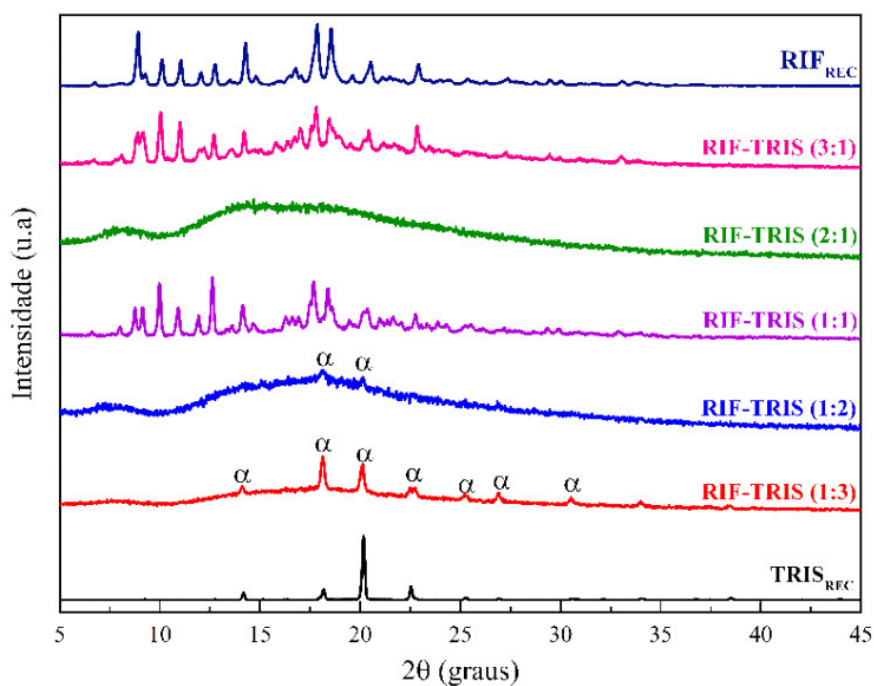


Figura 21 - Difratogramas da RIF_{REC} , proporções molares da mistura binária RIF-TRIS e $TRIS_{REC}$ recristalizados pelo método de evaporação lenta de solvente.

O difratograma da proporção molar (2:1) apresentou duas bandas largas caracterizando a formação de uma dispersão sólida do tipo co-amorfo, indicando a formação de um novo material nesta proporção molar. O sistema RIF-TRIS (3:1) apresentou excesso de fármaco, enquanto as proporções (1:2) e (1:3) apresentaram excesso do coformador com picos de difração observados em $18,13^\circ$ e $20,17^\circ$ (2θ) para RIF-TRIS (1:2) e em $14,10^\circ$, $18,13^\circ$, $20,12^\circ$, $22,61^\circ$, $25,17^\circ$, $26,84^\circ$ e $30,50^\circ$ (2θ) para RIF-TRIS (1:3).

Na Figura 22 são apresentados os difratogramas dos compostos de partida (RIF_{REC} e $TRIS_{REC}$), do co-amorfo RIF-TRIS (2:1) e da mistura física RIF-TRIS_{MF} (2:1). O

difratograma da RIF-TRIS_{MF} (2:1) mostrou que os compostos de partida não interagem com imediato mistura dos materiais, e sim, ao serem submetidos ao processo de ELS em meio de MeOH. Este resultado foi confirmado pelo refinamento apresentado na Figura 23.

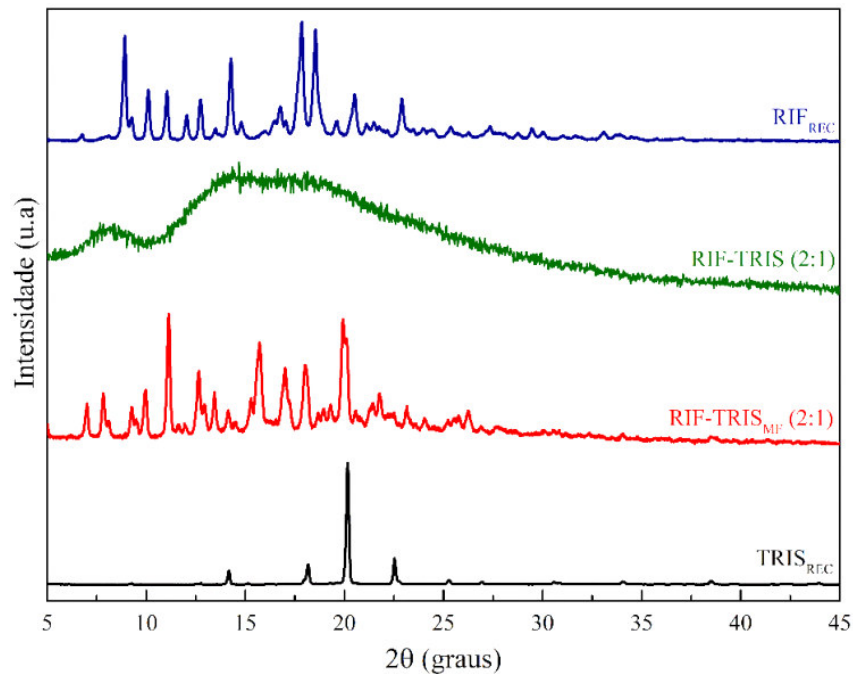


Figura 22 - Difratogramas da RIF_{REC}, do co-amorfo RIF-TRIS (2:1), da mistura física RIF-TRIS_{MF} (2:1) e da TRIS_{REC} obtidos pelo método de evaporação lenta de solvente.

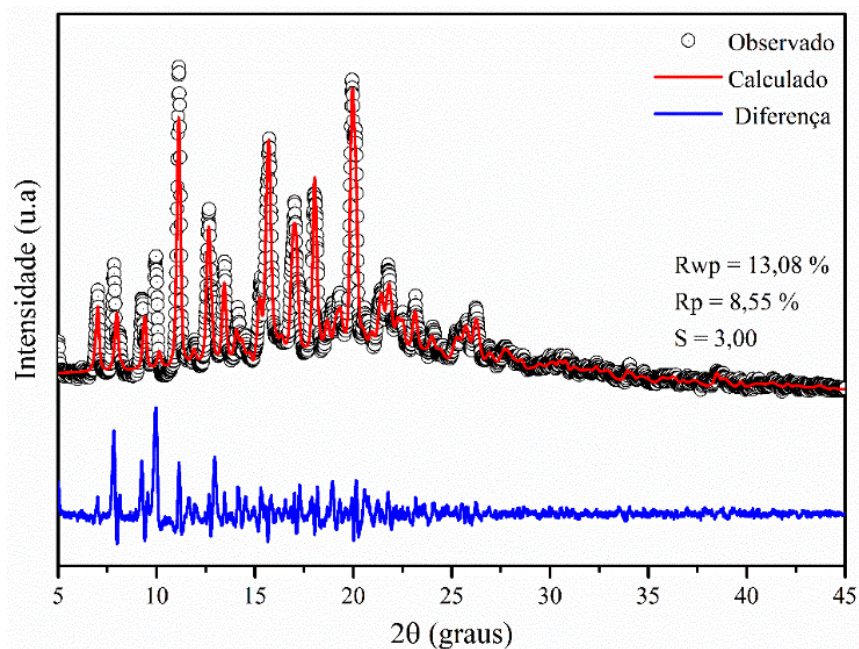


Figura 23 - Difratograma da mistura física RIF-TRIS_{MF} (2:1) com seu refinamento pelo método Rietveld.

5.3.2 Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)

Os espectros FTIR dos compostos de partida (RIF_{REC} e TRIS_{REC}), da mistura física $\text{RIF-TRIS}_{\text{MF}}$ (2:1) e do co-amorfo RIF-TRIS (2:1) são apresentados na Figura 24, onde as principais bandas de absorção estão reunidas na Tabela 7.

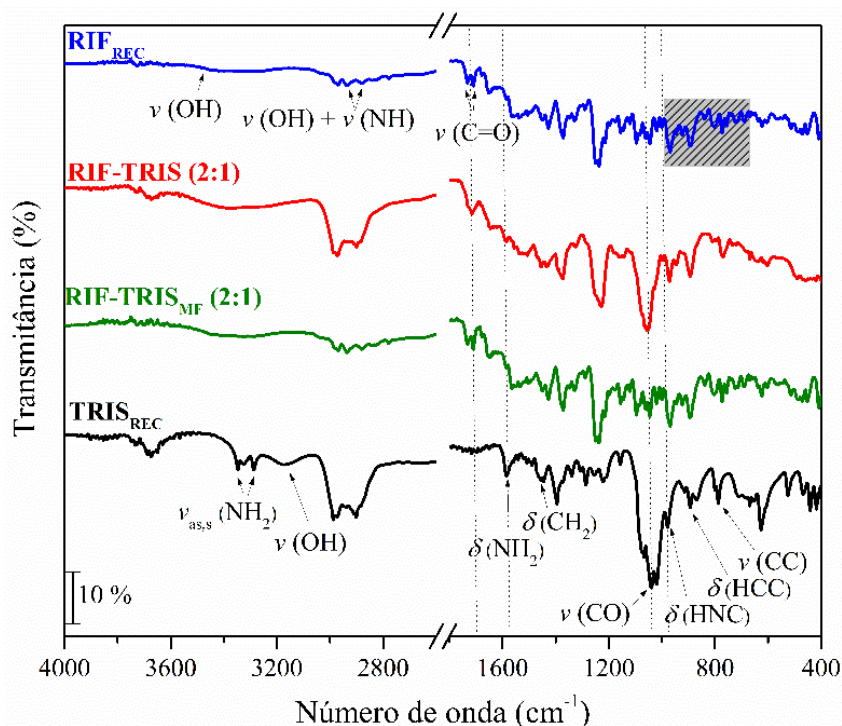


Figura 24 – Espectros no infravermelho da RIF_{REC} , co-amorfo RIF-TRIS (2:1), mistura física $\text{RIF-TRIS}_{\text{MF}}$ (2:1) e TRIS_{REC} .

Tabela 7 – Frequências vibracionais FTIR (cm^{-1}) da RIF_{REC} , do co-amorfo RIF-TRIS (2:1), da mistura física $\text{RIF-TRIS}_{\text{MF}}$ (2:1) e da TRIS_{REC}

Atribuições	Número de onda (cm^{-1})			
	RIF_{REC} 8;10;156;157	RIF-TRIS (2:1)	$\text{RIF-TRIS}_{\text{MF}}$ (2:1)	TRIS_{REC} 158;159;160
ν (OH)	3445	3399	3445	-
$\nu_{\text{as,s}}$ (NH_2)	-	-	-	3346, 3287
ν (OH)	-	-	-	3172
ν (OH) + ν (NH)	2936, 2881	-	2936, 2881	-
ν (C=O)	1732, 1710	1715	1732, 1710	-
δ (NH_2)	-	1585	-	1585
δ (CH_2)	-	-	-	1447
ν (CO)	-	1056	-	1039
ν (CO)	-		-	1020
δ (HNC)	-		-	980
δ (HCC)	-	893	-	893
ν (NH) + ν (OH)	896-657	896-657	896-657	-
ν (CC)	-	766	-	783

Os principais modos vibracionais da RIF_{REC} são característicos da Forma II.5H₂O, polimorfo gerado no processo de recristalização e identificado por DRXP. Podem-se observar vibrações de estiramento simétrico do grupamento (OH) em 3445 cm⁻¹, estiramento simétrico dos grupos funcionais (OH) e (NH) em 2936 e 2881 cm⁻¹, respectivamente. A banda de absorção causada pelo estiramento simétrico do grupo (C=O) pode ser observada em dois picos em 1732 cm⁻¹ e 1710 cm⁻¹. A região delimitada pelo retângulo na Figura 24 corresponde às deformações angulares do tipo rotação (*rocking*) dos grupos (OH) e (NH).

O espectro FTIR da TRIS apresentou modos vibracionais característicos da Forma α deste composto, já identificado por DRXP. O modo vibracional relacionado com a ligação CO mostra duas bandas de absorção com picos em 1039 cm⁻¹ e 1020 cm⁻¹. As absorções na região com números de ondas entre 3346 e 3287 cm⁻¹ foram observadas para o material, sendo atribuídas aos modos de estiramento antissimétrico e simétrico $\nu_{as,s}$ (NH₂) do grupo amina. A banda de absorção com pico em 3172 cm⁻¹ está relacionada ao modo de estiramento simétrico ν (OH). Também ocorrem deformações angulares em número de onda de 1447 cm⁻¹ atribuído à deformação do tipo corte (*scissoring*) do grupo CH₂, tipo torção (*twisting*) δ (HNC) em 980 cm⁻¹, tipo corte (*scissoring*) δ (HCC) em 893 cm⁻¹ e ν (CC) em 783 cm⁻¹.

Realizando a comparação dos espectros da Figura 24, podemos observar que no espectro FTIR da mistura física RIF-TRIS_{MF} (2:1) não ocorreu nenhum deslocamento significativo ou modificação nas bandas espectrais resultantes. Observa-se que as bandas vibracionais da RIF estão sobrepostas às bandas do coformador, devido ao maior tamanho da molécula, tendo assim uma maior contribuição para as vibrações moleculares. Nota-se ainda que o espectro FTIR do co-amorfo RIF-TRIS (2:1) apresenta diferenças em relação aos dos compostos de partida e mistura física, indicando assim uma interação intermolecular dos materiais para formação de uma nova dispersão sólida.

No espectro FTIR do co-amorfo é possível observar uma alteração no número de onda da banda de vibração do grupo C=O. Verifica-se o deslocamento da banda vibracional com dois picos em 1732 e 1710 cm⁻¹ da RIF_{REC} para 1715 cm⁻¹ no co-amorfo, estando evidente no espectro deste composto. Pode-se notar também que as vibrações do coformador em 1039, 1020 e 893 cm⁻¹ apresentam-se em uma banda única e um pouco alargada no espectro da dispersão sólida obtida neste estudo, indicando assim que à interação pode estar ocorrendo entre um centro com alta densidade eletrônica (grupo cetona) localizada na região nucleofílica da molécula da RIF e os grupos doadores de prótons (NH e OH) localizados na região eletrofílica da TRIS como mostrado pela DFT.

5.4 Caracterizações por Análises Térmicas

5.4.1 Termogravimetria, Termogravimetria derivativa e Análise Térmica Diferencial Simultâneas (TG/DTG-DTA)

Neste estudo foi investigado o comportamento térmico dos compostos de partida RIF e TRIS, visando auxiliar na interpretação e previsão de eventos que ocorrem no co-amorfo RIF-TRIS (2:1). A Figura 25 apresenta as curvas TG/DTG-DTA da RIF_{REC}. Os parâmetros termodinâmicos dos comportamentos térmicos obtidos para as amostras analisadas estão resumidos nas Tabelas 13 e 14 (Apêndice IV).

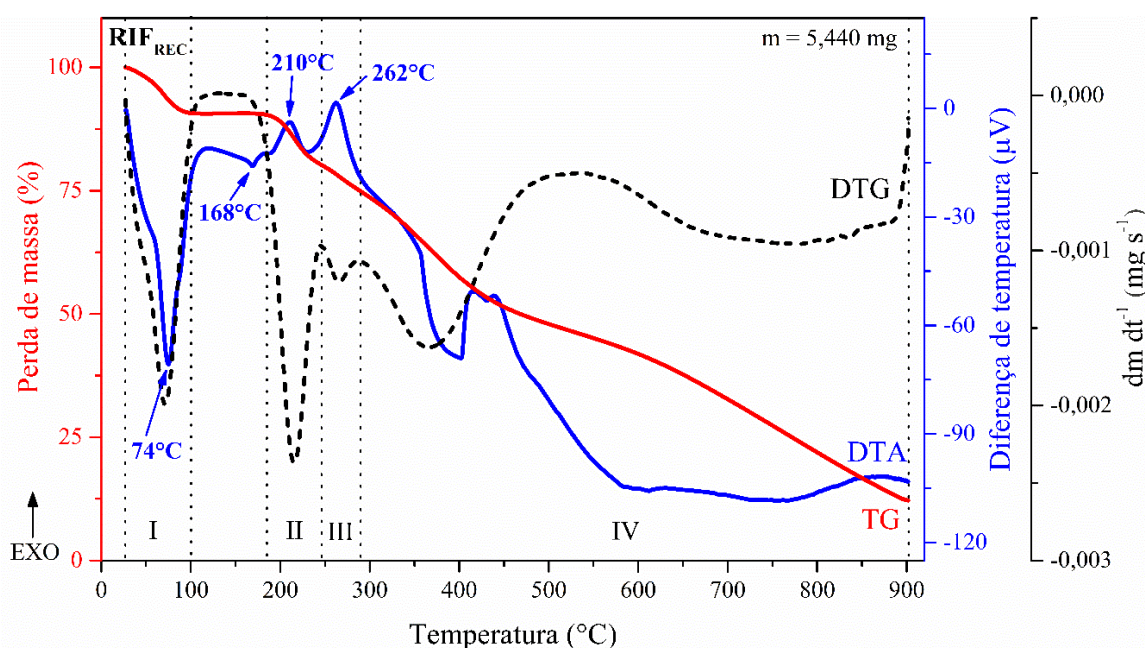


Figura 25 – Curvas TG/DTG-DTA da rifampicina recristalizada (RIF_{REC}).

O comportamento térmico da RIF foi investigado por Agrawal et al. (2004)⁸ cujos resultados obtidos por estes autores concordaram com aqueles obtidos neste trabalho. Assim, as curvas TG/DTG para RIF_{REC} apresentaram quatro eventos térmicos. A primeira etapa de perda de massa pode ser atribuída à desidratação do material correspondendo a 9,228% da massa total com temperatura de início (T_{onset}) em 27,72°C. A segunda etapa corresponde a 9,577% de perda de massa simultânea ao processo de início de decomposição do fármaco, conforme também foi relatado por Alves (2007)⁷⁰. A possibilidade de sublimação do material nesta etapa foi descartada a partir da realização do teste de sublimação no Laboratório de Análise Térmicas (LAT) da UFMA. A terceira etapa equivale à continuação da decomposição da amostra correspondendo a 6,618% de perda de massa, seguindo de sucessivas perdas de massa de 62,187% da massa total, formando cerca de 12,390% de resíduo carbonáceo.

A curva DTA da RIF_{REC} apresentou quatro eventos térmicos. O primeiro evento endotérmico é característico da desidratação da amostra com T_{onset} em 50,64°C. O segundo evento endotérmico iniciou em 163,91°C correspondendo à fusão do material. Em seguida, ocorreu o terceiro evento exotérmico característico do início da decomposição do material em 192,81°C e, posteriormente, outro evento exotérmico característico da decomposição do material em 245,72°C. Este comportamento térmico é característico da Forma II pentahidratada da RIF_{REC}, confirmando os resultados obtidos pelo DRXP e FTIR.

As curvas TG/DTG da TRIS_{REC} mostradas na Figura 26 apresentaram uma única etapa de perda de massa bem definida correspondente à decomposição do material. Esta etapa teve início em 152,69°C e foi responsável pela perda de 99,752% da massa total da amostra. Estes resultados estão de acordo com aqueles observados por Silva Filho (2018)¹⁵ ao investigar o comportamento térmico da TRIS.

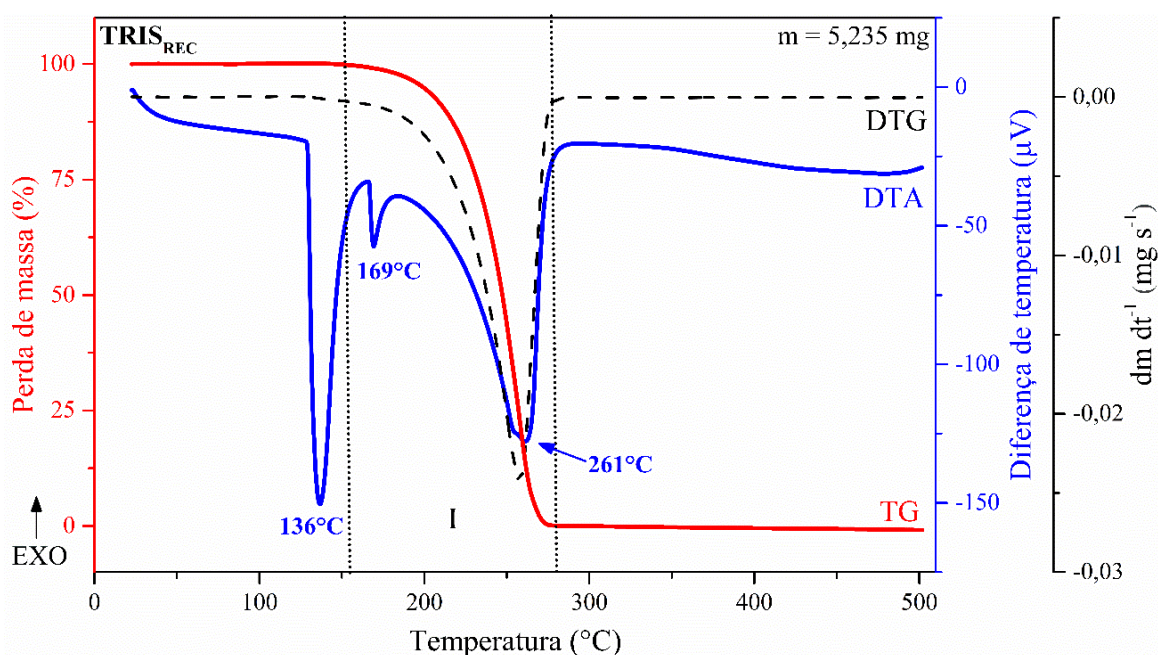


Figura 26 - Curvas TG/DTG-DTA da trometamina recristalizada (TRIS_{REC}).

A curva DTA apresentou três eventos endotérmicos. O primeiro evento ocorre com T_{onset} em 129,57°C e está em concordância com transição sólido-sólido do composto (α -ortorrômbico para γ -cúbico de corpo centrado)⁷⁹. O segundo evento ocorre em torno de 166,66°C atribuído à fusão do material de acordo com Zhai et al. (2017)¹⁶¹. O coformador ainda apresentou um terceiro evento característico da decomposição do material iniciando em 228,58°C, ressaltando que este evento é responsável pela perda de massa quase em sua totalidade observado pela curva TG/DTG. Este evento é característico da Forma α da TRIS, confirmando o resultado do DRXP.

A Figura 27 apresenta as curvas TG/DTG-DTA da RIF-TRIS_{MF} (2:1). Esta mistura física apresentou alguns eventos térmicos dos compostos de partida (RIF e TRIS). As curvas TG/DTG mostraram três eventos de perda de massa. A primeira etapa corresponde a uma pequena desidratação do material de cerca de 0,426% da massa total, observado na curva TG/DTG da RIF_{REC}. A segunda etapa corresponde a uma perda de massa simultâneas correspondente aos processos de início da decomposição dos compostos de partida iniciando em 147,70°C, correspondendo à uma perda de massa de 27,637%. O terceiro evento de perda de massa correspondente a continuação da decomposição do material iniciando em 294,27°C com perda de cerca de 59,208% da massa total.

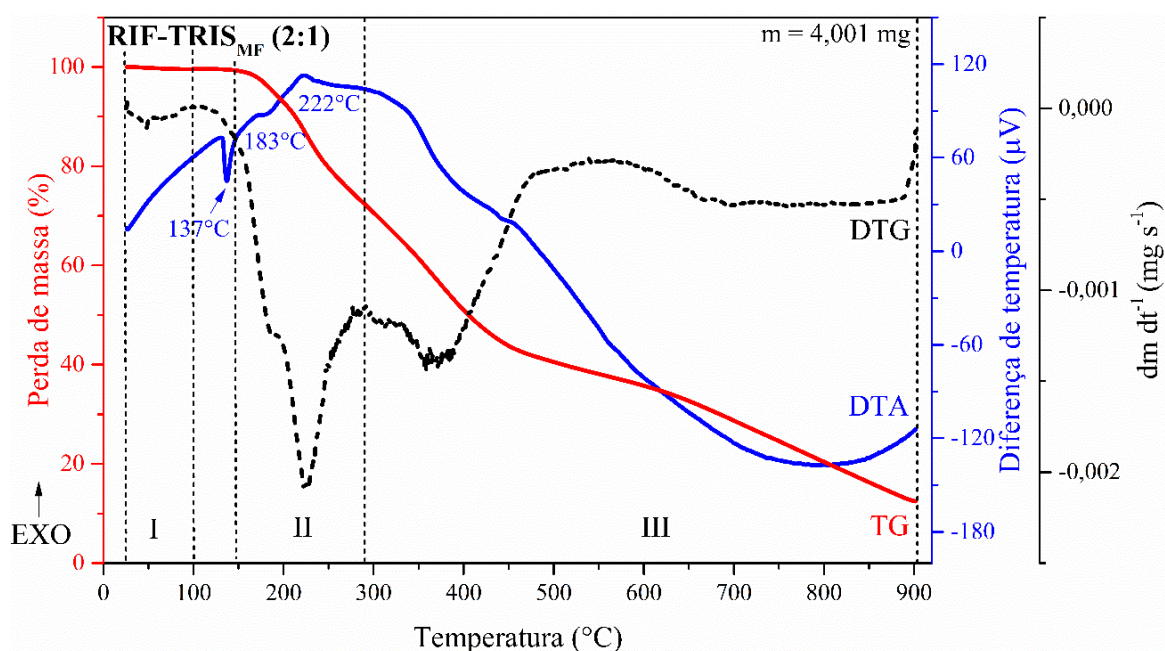


Figura 27 - Curvas TG/DTG-DTA da mistura física RIF-TRIS_{MF} (2:1).

A curva DTA também apresentou três eventos característicos dos compostos de partida (RIF e TRIS). O primeiro evento endotérmico é atribuído à transição sólido-sólido da TRIS (α -ortorrômbico para γ -cúbico de corpo centrado). O segundo evento térmico é atribuído à fusão simultânea da RIF_{REC} e TRIS_{REC} apresentando com um evento endotérmico mais largo iniciando em 132,65°C. O terceiro e último evento térmico é atribuído à decomposição exotérmica da RIF_{REC} ocorrendo em 222,79°C e posteriormente, a curva DTA tem comportamento endotérmico característico da continuação da decomposição da mistura física (2:1).

Na Figura 28 apresenta o comportamento térmico do co-amorfo RIF-TRIS (2:1). Ao analisar as curvas TG/DTG do co-amorfo RIF-TRIS (2:1), verificam-se três eventos térmicos relacionados aos três estágios de perda de massa do co-amorfo. O primeiro evento está

localizado na região I, iniciando em 31,54°C, cuja perda de massa corresponde à desidratação do material e equivalente cerca de 4,226% da massa inicial. A segunda etapa de perda de massa corresponde ao primeiro estágio de decomposição iniciando em 153,63°C com perda de massa de 19,781%. A terceira etapa corresponde ao segundo estágio da decomposição do material onde resultou na perda de massa de 51,051% e teve início em 288,72°C. Desse modo, a partir da análise verificou-se que o co-amorfo apresenta boa estabilidade térmica com início de decomposição em 153,63°C.

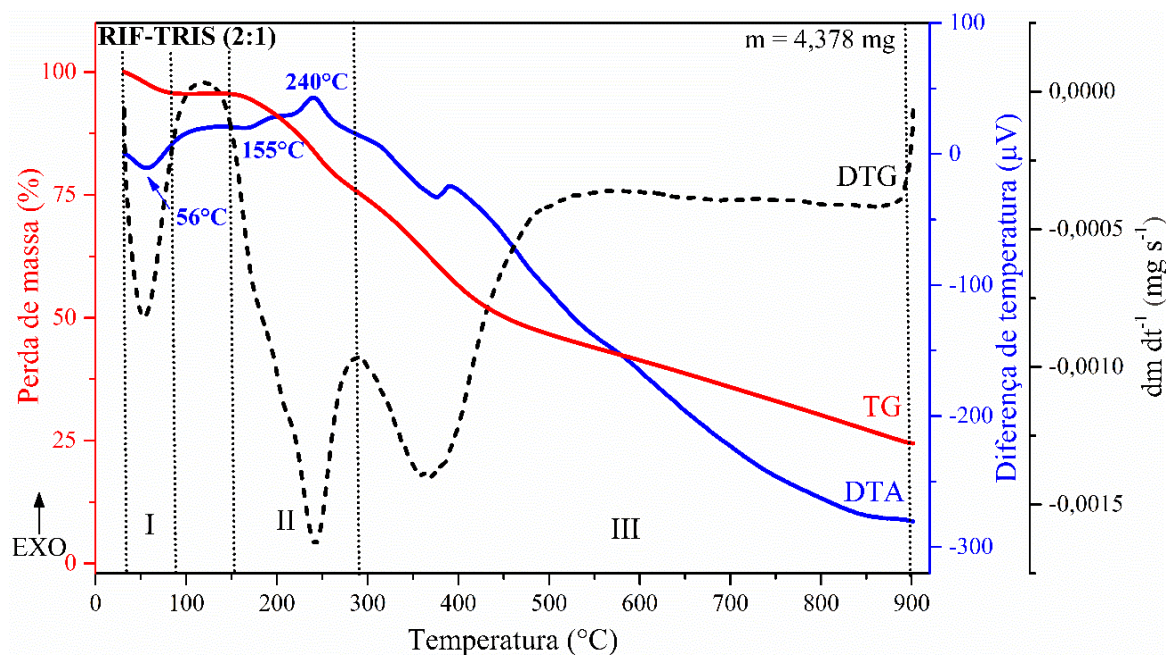


Figura 28 - Curvas TG/DTG-DTA do co-amorfo RIF-TRIS (2:1).

A Curva DTA do co-amorfo RIF-TRIS (2:1) mostrou três eventos térmicos. O primeiro é característico da desidratação iniciando em 36,66°C. O segundo evento pode ser atribuído a decomposição do material em 222,79°C, já que nesta faixa de temperatura ocorre perda de massa do material. O último evento é atribuído à decomposição da dispersão sólida obtida neste estudo.

5.4.2 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

Foi realizada a caracterização térmica da RIF_{REC}, co-amorfo RIF-TRIS (2:1), mistura física RIF-TRIS_{MF} (2:1) e TRIS_{REC} por Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC). A Figura 29 apresenta as curvas de DSC para estes compostos, no qual são indicadas as temperaturas T_{onset} de ocorrência dos eventos térmicos observados, cujos principais parâmetros termodinâmicos observados encontram-se resumidos na Tabela 8.

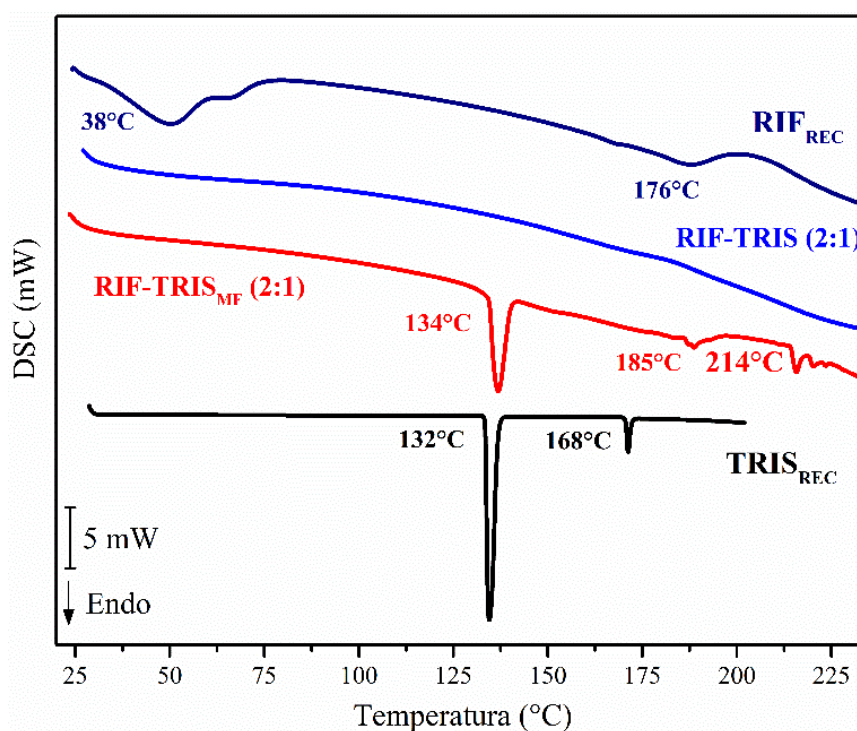


Figura 29 - Curvas de DSC obtidas para os compostos de partida RIF_{REC} e $TRIS_{REC}$ e do co-amorfo (2:1) com sua respectiva mistura física.

Tabela 8 - Eventos térmicos observados nas curvas DSC para os compostos de partida (RIF_{REC} e $TRIS_{REC}$), do co-amorfo $RIF-TRIS$ (2:1) e mistura física $RIF-TRIS_{MF}$ (2:1)

Amostra	Evento	Tipo	Temperatura (°C)			Calor (KJ mol ⁻¹)
			T _{onset}	T _{pico}	T _{endset}	
RIF_{REC}	I.a	Desidratação	38,49	50,23	58,88	64,5
	I.b	Desidratação	62,46	65,02	73,52	1,4
	II	Fusão ⁸	176,56	188,05	194,03	22,3
	III	Decomposição	194,62	200,00	213,13	21,9
$RIF-TRIS$ (2:1)	-	-	-	-	-	0
$RIF-TRIS_{MF}$ (2:1)	I	Transição de fase	134,45	136,94	139,97	70,9
	II	Fusão	185,92	188,69	192,67	4,7
	III	Decomposição	214,00	215,70	218,70	9,3
$TRIS_{REC}$	I	Transição de fase	132,91	135,41	137,91	38,8
	II	Fusão	168,81	169,88	170,96	2,7

As curvas DSC dos polimorfos da RIF foram obtidas por Agrawal et al. (2004)⁸. Os resultados obtidos por estes autores concordaram com aqueles resultados obtidos neste estudo. Dessa forma, a curva DSC da RIF_{REC} mostrou a presença de três eventos térmicos característicos da Forma II pentahidratada. O primeiro evento é atribuído a desidratação ocorrendo em duas etapas simultâneas, a primeira etapa iniciou em 38,49°C e a segunda em

62,46°C decorrente da presença de moléculas de água para estabilizar este polimorfo, já que ele é metaestável em temperatura ambiente. O segundo evento térmico foi atribuído por Agrawal et al. (2004) como evento de fusão do material, entretanto pode estar ocorrendo amorfização da RIF após a sua desidratação, sendo que análises por Difração de Raios X com variação de temperatura poderá elucidar a natureza deste evento. Após o segundo evento térmico, ocorreu o início da decomposição em 194,62°C representado pelo pico exotérmico na curva DSC. A curva DSC da TRIS_{REC} mostrou dois eventos endotérmicos. A curva DSC foi caracterizada por Silva Filho et al. (2018)¹⁵. O primeiro evento é devido à transição de fase do material em 132,91°C e o segundo evento é característico da fusão do mesmo em 168,81°C.

A curva DSC para a mistura física RIF-TRIS_{MF} (2:1) mostrou três eventos térmicos bem definidos. O primeiro é característico da transição de fase da TRIS_{REC}, enquanto o segundo e terceiro evento térmico pode ser atribuído a fusão com decomposição dos compostos de partida em temperatura mais elevada. A curva DSC do co-amorfo (2:1) não mostrou nenhum evento térmico que fosse possível de ser identificado, apesar de que era esperado que este material amorfo apresentasse uma temperatura de transição vítrea (T_g) bem definida, indicando que mais análises devem ser realizadas para a identificação desta propriedade térmica do material.

A detecção da T_g usando técnicas de DSC convencionais pode ser difícil em alguns casos para compostos orgânicos, devido ao pequeno tamanho da mudança na capacidade calorífica e a possibilidade de relaxamento entálpico e perda de solvente na mesma faixa de temperatura onde ocorre a T_g de interesse³⁵.

5.5 Estabilidade do co-amorfo RIF-TRIS (2:1)

Os materiais amorfos possuem uma fraca estabilidade termodinâmica, podendo cristalizar ao longo do tempo de armazenamento, removendo assim a sua vantagem em termos de solubilidade aquosa^{34;133}. Dessa forma, foi realizado um estudo da estabilidade do co-amorfo RIF-TRIS (2:1) conforme pode ser observado na Figura 30.

O co-amorfo RIF-TRIS (2:1) foi armazenado em dessecador a vácuo e apresentou boa estabilidade de pelo menos cinquenta (50) dias como mostrado na Figura 30. Esta estabilidade pode estar atribuída a diversos fatores, como redução da mobilidade molecular e aumento da barreira de energia para a recristalização do princípio ativo¹⁶². Nas dispersões sólidas de meloxicam com polivinilpirrolidona K-30 (PVP) e hidroxipropilcelulose (HPC) ocorreu a

recristalização do fármaco após trinta (30) dias de armazenamento a 40°C e 50% de umidade relativa¹⁶³. Este fato sugere que a estabilidade deste co-amorfo obtido neste estudo forneça uma abordagem potencial para o desenvolvimento de novas formulações farmacêuticas, devido de que os fármacos amorfos apresentam inviabilidade de manipulação, devido à sua baixa estabilidade.

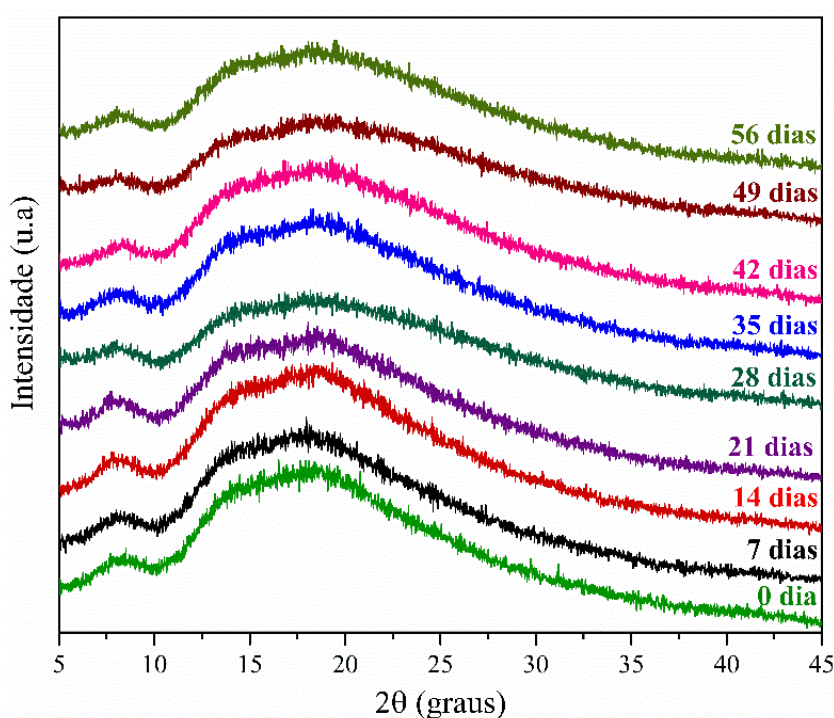


Figura 30 - Estudo da estabilidade do co-amorfo RIF-TRIS (2:1) realizado durante cinquenta e seis (56) dias.

5.6 Ensaios de solubilidade aquosa e de perfil de dissolução *in vitro*

5.6.1 Ensaio de solubilidade aquosa

O ensaio de solubilidade aquosa realizado neste trabalho permitiu obter a hidrossolubilidade da RIF presente no co-amorfo RIF-TRIS (2:1) e compará-la com a solubilidade em água da RIF_{BLC}. A quantificação da RIF solúvel no meio aquoso realizada a partir do método espectrofotométrico proposto por Melo, et al. (2020)¹⁶⁴. Para tanto, foi obtida uma curva analítica com oito pontos (P) (Figura 31_a) na faixa de concentração de $1,00 \times 10^{-2}$ a $9,00 \times 10^{-2}$ mg mL⁻¹ de RIF (Tabela 9). Os espectros de absorção molecular médios (n=3) de cada um destes pontos (Figura 31_b) foram obtidos na faixa de 580-380 nm. Nessa faixa de comprimento de onda, a TRIS (coformador) não apresentou absorção molecular como mostrado na Figura 38 (Apêndice V).

O coeficiente de variação percentual foi calculado de acordo com a realização em três repetições (n=3) de cada ponto da curva analítica e apontaram uma variação inferior a 2,0%.

Esta curva forneceu a seguinte equação da reta: $y = (0,09527) + (16,40051) \cdot X$, e apresentou um bom coeficiente de determinação ($R^2 = 0,9980$), indicando uma boa linearidade do método utilizado. Assim, a partir desta equação foi possível a determinação da RIF (mg mL^{-1}) solúvel no meio solução tampão fosfato, ($\text{pH} = 6,80$) proveniente das amostras analisadas neste trabalho.

Tabela 9 – Valores de absorbância em 472 nm para cada ponto da curva analítica para quantificação de RIF solúvel em tampão fosfato ($\text{pH} = 6,80$)

Ponto (P)	Concentração (mg mL^{-1})	Absorbância (472 nm) ^b	CV (%) ^b
1	$1,00 \times 10^{-2}$	$0,234467 \pm 0,004041$	1,7
2	$2,00 \times 10^{-2}$	$0,417810 \pm 0,008460$	2,0
3	$3,00 \times 10^{-2}$	$0,599478 \pm 0,007820$	1,3
4	$4,00 \times 10^{-2}$	$0,766048 \pm 0,006701$	0,9
5	$5,00 \times 10^{-2}$	$0,919341 \pm 0,098890$	1,1
6	$6,00 \times 10^{-2}$	$1,101811 \pm 0,002623$	0,2
7	$8,00 \times 10^{-2}$	$1,406633 \pm 0,003319$	0,2
8	$9,00 \times 10^{-2}$	$1,538344 \pm 0,023114$	1,5

^a Absorbância média \pm desvio padrão ($n = 3$), ^b CV (%) = coeficiente de variação porcentual.

Os resultados obtidos a partir do ensaio de solubilidade aquosa da RIF presente nas diferentes amostras são apresentados na Tabela 10.

Tabela 10 – Estudo da solubilidade da RIF_{BLC}, da RIF presente na mistura física RIF-TRIS_{MF} (2:1) e da RIF presente no co-amorfo RIF-TRIS (2:1)

Amostra	Solubilidade da RIF (mg mL^{-1})	CV (%) ^b
	Média \pm DP ^a	
RIF _{BLC}	$9,72 \times 10^{-2} \pm 4,03 \times 10^{-4}$	0,4
RIF-TRIS _{MF} (2:1)	$9,02 \times 10^{-2} \pm 8,3 \times 10^{-4}$	0,9
RIF-TRIS (2:1)	$53,46 \times 10^{-2} \pm 2,70 \times 10^{-3}$	0,5

^a Absorbância média \pm desvio padrão ($n=3$), ^b coeficiente de variação porcentual.

A partir destes resultados, foi possível observar que as concentrações solúveis de RIF proveniente da RIF_{BLC} e da mistura física RIF-TRIS_{MF} (2:1) são muito similares. Logo, o simples contato físico entre a RIF e a TRIS não favoreceu o aumento da solubilidade deste fármaco. Em contrapartida, a concentração solúvel de RIF proveniente do co-amorfo RIF-TRIS (2:1) foi 5,5 vezes maior que aquela apresentada pela RIF_{BLC}, indicando que a DSF obtida neste trabalho aumentou em 5,5 vezes a solubilidade da RIF em meio aquoso.

Os resultados apresentados por Khan, et al. (2017)⁶⁷ mostraram que a RIF_{BLC} possui uma baixa hidrossolubilidade aquosa ($<0,10 \text{ mg mL}^{-1}$), tal como observado neste estudo neste

estudo. E os estudos envolvendo a obtenção de nanocristais de RIF mostraram um aumento da sua solubilidade em até 1,74 vezes quando comparado ao produto comercializado no Brasil¹⁶⁴.

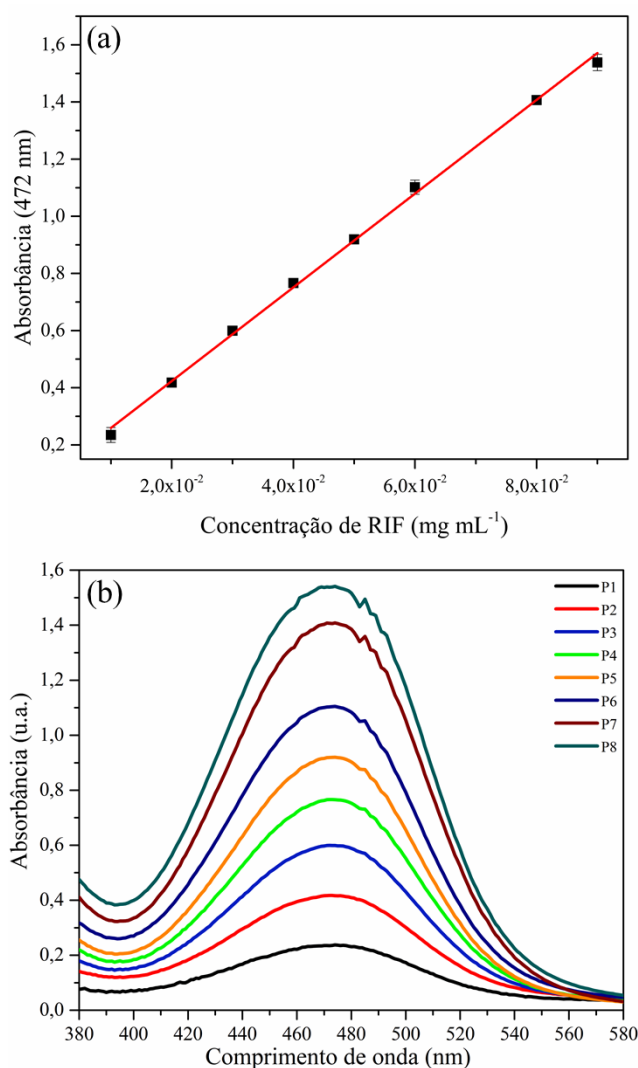


Figura 31 – (a) Curva analítica obtida em três repetições para cada ponto (P) e utilizada para determinação de RIF e (b) Espectros médios de absorção molecular para cada um dos pontos (P) da curva analítica.

Além disso, a tolbutamida (TBM) presente no co-amorfo TBM-TRIS (1:1) foi duas vezes mais solúvel que a TBM_{BLC}¹⁸. O cetoconazol presente no co-amorfo de KTZ-SUC (1:1) foi 4,9 vezes mais solúvel que seu fármaco base livre¹⁶⁵. A dapsona presente em uma DSF do tipo co-amorfo DAP-OXA (1,0:1,5) apresentou aumento de solubilidade aquosa de 5,4 vezes mais solúvel que seu fármaco base livre¹⁶⁶.

Devido à falta de ordem estrutural de longo alcance, as formas amorfas (tais como os co-amorfos) são mais energéticas que as formas cristalinas, e, com isso, elas apresentam vantagens, tais como uma maior hidrossolubilidade, contribuindo para o aumento da sua biodisponibilidade^{35;167}.

5.6.2 Ensaio de perfil de dissolução “*in vitro*”

Na Tabela 11 são apresentadas as concentrações de RIF dissolvidas em meio aquoso em função de cada intervalo de tempo de dissolução *in vitro* para cada uma das amostras analisadas. Estes valores estão representados na Figura 32 que mostra os perfis de dissolução *in vitro* da RIF_{BLC}, da mistura física RIF-TRIS_{MF} (2:1) e do co-amorfo RIF-TRIS (2:1).

Tabela 11 – Concentrações da RIF dissolvida proveniente RIF_{BLC}, da mistura física RIF-TRIS_{MF} (2:1) e do co-amorfo RIF-TRIS (2:1) em função do tempo de dissolução *in vitro*

Tempo (min)	RIF		RIF-TRIS _{MF} (2:1)		RIF-TRIS (2:1)	
	mg mL ⁻¹ (x10 ⁻³) ^(a)	CV (%) ^(b)	mg mL ⁻¹ (x10 ⁻³) ^(a)	CV (%) ^(b)	mg mL ⁻¹ (x10 ⁻²) ^(a)	CV (%) ^(b)
0	N.D	-	N.D	-	0,25 ± 0,04	16,6
5	N.D	-	2,86 ± 1,42	49,8	14,38 ± 0,17	1,2
10	5,30 ± 1,90	36,0	7,59 ± 3,48	45,7	19,32 ± 0,72	3,8
15	9,57 ± 5,40	56,5	12,33 ± 2,80	22,7	39,78 ± 2,00	5,1
30	19,03 ± 7,92	41,6	24,04 ± 5,97	24,8	41,98 ± 1,54	3,7
45	30,03 ± 5,64	18,8	32,18 ± 5,73	17,8	42,93 ± 1,51	3,5
60	37,46 ± 7,58	20,2	41,82 ± 3,22	7,7	46,74 ± 1,16	2,5
90	47,20 ± 7,78	16,5	53,43 ± 3,74	7,0	47,87 ± 0,98	2,1
105	52,10 ± 5,66	10,8	56,92 ± 5,15	9,0	48,20 ± 0,55	1,0
120	56,17 ± 5,41	9,6	62,30 ± 3,30	5,3	47,53 ± 2,08	4,4
135	61,30 ± 5,54	10,7	65,00 ± 4,10	6,3	49,21 ± 0,74	1,5
150	66,0 ± 2,80	4,2	71,44 ± 4,30	6,0	48,42 ± 0,15	0,3
180	70,77 ± 4,50	6,3	73,44 ± 2,35	3,2	48,47 ± 0,25	0,5
195	72,35 ± 5,52	7,6	74,88 ± 0,70	0,9	48,40 ± 1,84	2,2
210	72,80 ± 6,35	8,7	76,63 ± 2,0	2,6	49,02 ± 0,47	0,9

N.D = Não detectado; ^a Concentração média ± desvio padrão (n=3); ^b coeficiente de variação percentual.

A partir das curvas dos perfis de dissolução *in vitro* (Figura 32) foram calculadas as ED₃₀ e ED₆₀ (eficiências de dissolução *in vitro* em 30 e 60 minutos). A Tabela 12 apresenta os valores destas eficiências de dissolução e, para fins de comparação, das eficiências de outras DSFs relatadas em outros estudos.

Pode-se observar que esta dispersão sólida apresentou uma porcentagem significativamente maior que seu respectivo fármaco base livre e sua mistura física RIF-TRIS_{MF} (2:1). O co-amorfo RIF-TRIS (2:1) apresentou ED₃₀ e ED₆₀ com valores de taxa de dissolução em porcentagem de 9,36% e 23,26%, respectivamente. Estes resultados demonstram que a dispersão sólida obtida neste estudo foi mais eficiente, sendo 3,5 vezes (ED₃₀) e 2,0 vezes (ED₆₀) mais eficientes em relação à taxa de dissolução *in vitro* da RIF_{BLC}.

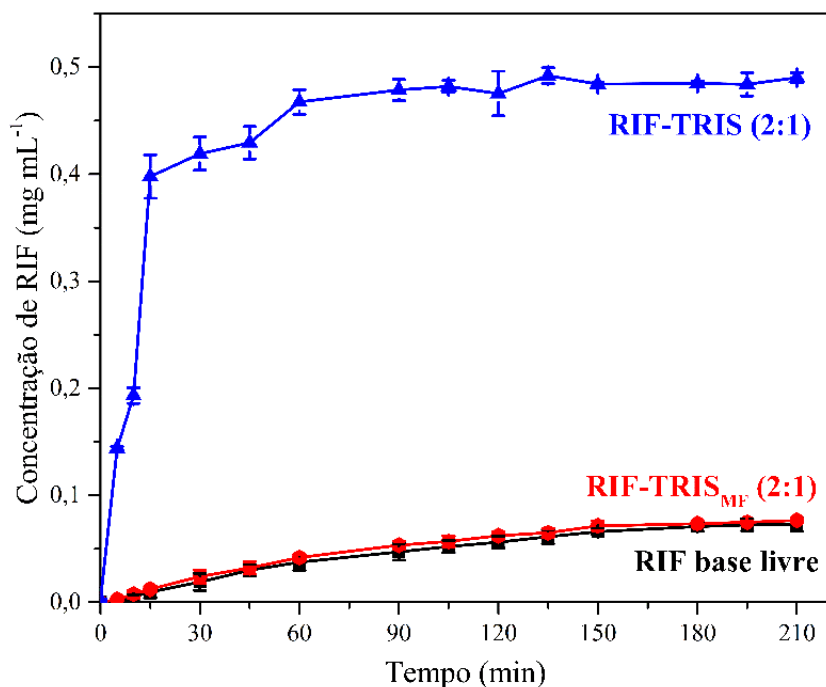


Figura 32 – Curvas dos perfis de dissolução *in vitro* da RIF_{BLC}, da mistura física RIF-TRIS_{MF} (2:1) e do co-amorfo RIF-TRIS (2:1) obtidas até 210 min.

Tabela 12 – Eficiência de dissolução *in vitro* do co-amorfo RIF-TRIS (2:1) obtido neste estudo em comparação com outras dispersões sólidas

Amostra	Eficiência da dissolução (%)		Referência
	ED ₃₀	ED ₆₀	
RIF _{BLC} ^a	2,65	11,38	Resultados deste estudo
RIF-TRIS _{MF} (2:1)	3,27	12,25	
RIF-TRIS (2:1)	9,36	23,26	
Raloxifeno HCl (RLX) ^a		28,92	168
Dispersão sólida:MW 3 min ^b	-	30,87	
Dispersão sólida:MW 4 min ^b		33,42	
Nicardipina (NC) ^a		19,2	169
NC:βCD _{MF}	-	19,9	
NC:βCD		26,7	

^a Fármaco na sua forma de base livre cristalina; ^b Dispersão sólida preparada por método da fusão induzida por microondas (MW).

No co-amorfo de raloxifeno que utiliza polímero hidroxipropilmetilcelulose como coformador, houve somente um pequeno aumento de 1,15 vezes na ED₆₀ quando a dispersão sólida obtida utilizando método de obtenção por quatro (4) minutos¹⁶⁸. No complexo de inclusão da nicardipina com β-ciclodextrina (βCD) também apresentou um aumento de 1,40 vezes na ED₆₀ da dispersão sólida¹⁶⁹.

6. CONCLUSÃO

As dispersões sólidas de fármacos tem sido uma alternativa muito atrativa para a melhoria das propriedades físico-químicas destes compostos com vistas a melhoria do tratamento medicamentoso de doenças. Neste trabalho foi possível obter e caracterizar uma nova dispersão sólida de Rifampicina, utilizando a Trometamina como coformador. Para tanto foi utilizada a metodologia da evaporação lenta do solvente (ELS) que tem se destacado por ser simples e de baixo custo.

Para dar suporte a esta obtenção, inicialmente foi realizado um estudo computacional por DFT dos compostos de partida (RIF e TRIS) para verificar quais grupos funcionais destes compostos são mais propensos à interação intermolecular. Após a preparação do co-amorfo RIF-TRIS (2:1), este material foi caracterizado por DRXP, FTIR e por TG/DTG-DTA e DSC. Em seguida, foi verificada a estabilidade do material amorfo em função do tempo e realizada a determinação da solubilidade aquosa e do perfil de dissolução *in vitro* desta dispersão sólida.

O estudo computacional dos compostos de partida (RIF e TRIS) possibilitou a obtenção do mapa de potencial eletrostático (MPE), além das energias dos orbitais HOMO, LUMO e *gap*, bem como dos índices de reatividade. Este estudo demonstrou que os grupos funcionais 4-hidroxila e C=O da RIF e os grupos funcionais hidroxila e amino da TRIS podem participar de interações intermoleculares tipo ligações de hidrogênio. Partindo-se destes pressupostos, foi realizada a obtenção do co-amorfo RIF-TRIS (2:1) por ELS e, em seguida, este material foi caracterizado.

Os resultados obtidos por DRXP confirmaram a natureza amorfa do novo material obtido neste trabalho e permaneceu estável por pelo menos cinquenta (50) dias. As análises por FTIR indicaram que as interações intermoleculares ocorridas entre os compostos de partida se deram entre os grupamentos cetona da RIF e os grupamentos hidroxila e amino da TRIS, conforme observado no estudo por DFT.

As curvas TG/DTG do co-amorfo RIF-TRIS (2:1) mostraram que este material apresenta uma boa estabilidade térmica em até 153°C. As curvas DTA e DSC desta dispersão sólida não evidenciaram evento térmico referente à fusão, confirmando a sua natureza amorfa, como observado nas análises deste material obtidas por DRXP.

A solubilidade aquosa da RIF presente nesta DSF apresentou-se 5,5 vezes maior que a solubilidade da obtidas para a RIF_{BLC}. Esta melhoria da hidrossolubilidade da RIF quando dispersa na TRIS também foi confirmada a partir do estudo do seu perfil de dissolução *in*

vitro. Neste ensaio, a RIF presente no co-amorfo apresentou aumentos muito significativos da sua ED₃₀ (3,5 vezes) e da sua ED₆₀ (2,0 vezes) em relação a estes parâmetros apresentados pelo RIF_{BLC}.

Assim, a melhoria da solubilidade aquosa do novo material obtido neste estudo o coloca como uma alternativa altamente promissora para a melhoria do tratamento da hanseníase e da tuberculose. O aumento da solubilidade da RIF quando dispersa no coformador TRIS favorecerá o aumento da biodisponibilidade e da eficácia terapêutica deste fármaco, bem como irá corroborar para a redução dos seus efeitos colaterais e da taxa de abandono da terapia medicamentosa destas doenças.

7. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Como sugestões para trabalhos futuros, sugere-se realizar os seguintes procedimentos com o co-amorfo de RIF-TRIS (2:1) obtido neste trabalho:

- ✓ Avaliar a interação da RIF com TRIS por meio do estudo computacional utilizando a DFT;
- ✓ Caracterizar o co-amorfo por Espectroscopia Raman e por Espectroscopia de Reflectância Difusa (ERD);
- ✓ Caracterizar as propriedades microestruturais da dispersão sólida usando Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV);
- ✓ Avaliação da equivalência e bioequivalência farmacêuticas, bem como realizar os estudos de citotoxicidade do co-amorfo;
- ✓ Estudo da estabilidade do material obtido neste estudo em diferentes condições de temperatura e umidade (estabilidade de prateleira).

REFERÊNCIAS

- ¹ ALVES, L. D. S. et al. Avanços, propriedades e aplicações de dispersões sólidas no desenvolvimento de formas farmacêuticas sólidas. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*, v. 33, n. 1, p. 17-25, 2012.
- ² BARREIRO, E. J.; FRAGA, C. A. M. *Química Medicinal-: As bases moleculares da ação dos fármacos*. 3ªed. Artmed Editora, 2014. 608p.
- ³ ALLESØ, M. et al. Enhanced dissolution rate and synchronized release of drugs in binary systems through formulation: Amorphous naproxen–cimetidine mixtures prepared by mechanical activation. *Journal of Controlled Release*, v. 136, n. 1, p. 45-53, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2009.01.027>
- ⁴ DHIRENDRA, K. et al. Solid dispersions: a review. *Pakistan journal of pharmaceutical sciences*, v. 22, n. 2, 2009.
- ⁵ REY, S. I. C. *Amorfização e co-amorfização como estratégias de incremento da solubilidade de substâncias activas pouco solúveis em água (BCS-classe II)*. 2017. 64p. Dissertação (Mestrado) Ciências Farmacêuticas, Universidade de Lisboa, Lisboa.
- ⁶ HUANG, Y.; DAI, W.-G. Fundamental aspects of solid dispersion technology for poorly soluble drugs. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, v. 4, n. 1, p. 18-25, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2013.11.001>
- ⁷ LÖBMANN, K. et al. A theoretical and spectroscopic study of co-amorphous naproxen and indomethacin. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 453, n. 1, p. 80-87, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2012.05.016>
- ⁸ AGRAWAL, S. et al. Solid-state characterization of rifampicin samples and its biopharmaceutic relevance. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 22, n. 2-3, p. 127-144, 2004. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2004.02.011>
- ⁹ 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.
- ¹⁰ GUO, N. et al. In situ monitoring and modeling of the solution-mediated polymorphic transformation of Rifampicin: From form II to form I. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 107, n. 1, p. 344-352, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.xphs.2017.10.004>
- ¹¹ GOULART, I. M. B. et al. Efeitos adversos da poliquimioterapia em pacientes com hanseníase: um levantamento de cinco anos em um Centro de Saúde da Universidade Federal de Uberlândia. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 35, n. 5, p. 453-60, 2002. <https://doi.org/10.1590/S0037-86822002000500005>
- ¹² BATES, R. G.; ROBINSON, R. A. Tris (hydroxymethyl) aminomethane. Useful secondary pH standard. *Analytical Chemistry*, v. 45, n. 2, p. 420-420, 1973.
- ¹³ WILLIAMS, D. J.; QUICKSALL, C. O.; BARKIGIA, K. M. Crystal and molecular structure of tris [P, P, P', P'-tetraphenylamidobis (phosphine sulfido)-S, S'] bismuth (III). *Inorganic Chemistry*, v. 21, n. 5, p. 2097-2100, 1982.

- ¹⁴ EL-SAYED, G. The role of tromethamine as a dissolution and bioavailability enhancer of oral glibenclamide. *STP Pharma Sciences*, v. 8, n. 3, p. 169-173, 1998.
- ¹⁵ SILVA FILHO, S. F. et al. Synthesis of a glibenclamide cocrystal: Full spectroscopic and thermal characterization. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 107, n. 6, p. 1597-1604, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.xphs.2018.01.029>
- ¹⁶ SILVA, F. C. D. *Síntese e caracterização de um novo cocrystal de gliglazida com trometamina*. 2016. 119p. Dissertação (Mestrado) Programa de Pós-graduação em Ciência dos Materiais, Universidade Federal do Maranhão, Imperatriz.
- ¹⁷ JÚNIOR, V.; TAUVÂNIO, F. *Síntese e caracterização de um novo co-amorfo de clorpropamida com a trometamina*. 2017. Dissertação (Mestrado) Programa de Pós-graduação em Ciência dos Materiais, Universidade Federal do Maranhão, Imperatriz.
- ¹⁸ SÁ, M. R. *Preparação e caracterização de um novo co-amorfo de tolbutamida com trometamina*. 2018. 94p. Dissertação (Mestrado) Programa de Pós-graduação em Ciência dos Materiais, Universidade Federal do Maranhão, Imperatriz.
- ¹⁹ BACHHAV, S. S. et al. Rifampicin Lipid-Polymer hybrid nanoparticles (LIPOMER) for enhanced Peyer's patch uptake. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 532, n. 1, p. 612-622, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2017.09.040>
- ²⁰ ARCA, H. Ç. et al. Rifampin stability and solution concentration enhancement through amorphous solid dispersion in cellulose ω-carboxyalkanoate matrices. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 107, n. 1, p. 127-138, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.xphs.2017.05.036>
- ²¹ FERREIRA, D. A. et al. Analysis of the molecular association of rifampicin with hydroxypropyl-²-cyclodextrin. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v. 40, n. 1, p. 43-51, 2004. <https://doi.org/10.1590/S1516-93322004000100008>
- ²² DENGALÉ, S. J. et al. Preparation and characterization of co-amorphous Ritonavir–Indomethacin systems by solvent evaporation technique: Improved dissolution behavior and physical stability without evidence of intermolecular interactions. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 62, p. 57-64, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2014.05.015>
- ²³ ALMEIDA, H. E. P. P. D. *Preparação e caracterização de dispersões sólidas e micropartículas lipídicas contendo Ibuprofeno*. 2011. 136p. Dissertação (Mestrado) Controle de Qualidade Especialidade Fármacos e Plantas Medicinais. Universidade do Porto.
- ²⁴ RIEKES, M. K. *Nimodipino: do polimorfismo à obtenção de dispersões sólidas amorfas destinadas ao tratamento da hipertensão arterial*. 2013. 110p. Dissertação (mestrado). Programa de Pós-graduação em Farmácia. Universidade de Santa Catarina, Florianópolis.
- ²⁵ MACÊDO, I. D. S. V. D. *Desenvolvimento de dispersões sólidas: Incremento da solubilidade da rutina*. 2017. 107p. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas. Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande.
- ²⁶ SHAN, N.; ZAWOROTKO, M. J. The role of cocrystals in pharmaceutical science. *Drug Discovery Today*, v. 13, n. 9-10, p. 440-446, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2008.03.004>

- ²⁷ GOUVEIA, M. A. *Obtenção e caracterização de dispersões sólidas de nimesulida*. 2011. 123p. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-graduação em Fármaco e Medicamentos. Universidade de São Paulo, São Paulo.
- ²⁸ PAULA, K. D. *Caracterização de estado sólido de fármacos: Cloridrato de Mebendazol Monohidratado e Estradiol 17 β Valerato*. 2012. 123p. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-graduação em Física. Universidade de São Paulo, São Carlos.
- ²⁹ MARTINS, I. C. B. *Desenvolvimento de fármacos: melhoria do desempenho de princípios farmacologicamente ativos por síntese supramolecular*. 2013. 130p. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Ciências e Tecnologia. Universidade Nova de Lisboa.
- ³⁰ DINIZ, L. F. *Planejamento, obtenção e caracterização de novas formas sólidas de fármacos tuberculostáticos*. 2017. 163p. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-graduação em Física. Universidade de São Paulo, São Carlos.
- ³¹ DENGALÉ, S. J. et al. Recent advances in co-amorphous drug formulations. *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 100, p. 116-125, 2016.
<https://doi.org/10.1016/j.addr.2015.12.009>
- ³² LÖBMANN, K. et al. Co-amorphous simvastatin and glipizide combinations show improved physical stability without evidence of intermolecular interactions. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, v. 81, n. 1, p. 159-169, 2012.
<https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2012.02.004>
- ³³ CHAVAN, R. B. et al. Co amorphous systems: A product development perspective. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 515, n. 1-2, p. 403-415, 2016.
<https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2016.10.043>
- ³⁴ SHAH, N. et al. *Amorphous solid dispersions: Theory and Practice*. 1ªed. Springer: Berlin, Germany, 2014. 702p.
- ³⁵ NEWMAN, A. *Pharmaceutical amorphous solid dispersions*. 1ªed. John Wiley & Sons, 2015. 505p.
- ³⁶ KARAGIANNI, A.; KACHRIMANIS, K.; NIKOLAKAKIS, I. Co-amorphous solid dispersions for solubility and absorption improvement of drugs: Composition, preparation, characterization and formulations for oral delivery. *Pharmaceutics*, v. 10, n. 3, p. 98, 2018. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics10030098>
- ³⁷ GOOD, D. J.; RODRIGUEZ-HORNEDO, N. Solubility advantage of pharmaceutical cocrystals. *Crystal Growth and Design*, v. 9, n. 5, p. 2252-2264, 2009.
<https://doi.org/10.1021/cg801039j>
- ³⁸ CHIENG, N. et al. Physical characterization and stability of amorphous indomethacin and ranitidine hydrochloride binary systems prepared by mechanical activation. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, v. 71, n. 1, p. 47-54, 2009.
<https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2008.06.022>
- ³⁹ LAITINEN, R. et al. Emerging trends in the stabilization of amorphous drugs. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 453, n. 1, p. 65-79, 2013.
<https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2012.04.066>

- ⁴⁰ MOINUDDIN, S. M. et al. Facile formation of co-amorphous atenolol and hydrochlorothiazide mixtures via cryogenic-milling: enhanced physical stability, dissolution and pharmacokinetic profile. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 532, n. 1, p. 393-400, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2017.09.020>
- ⁴¹ GAO, Y. et al. Coamorphous repaglinide–saccharin with enhanced dissolution. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 450, n. 1-2, p. 290-295, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2013.04.032>
- ⁴² JENSEN, K. T. et al. Improving co-amorphous drug formulations by the addition of the highly water soluble amino acid, proline. *Pharmaceutics*, v. 6, n. 3, p. 416-435, 2014. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics6030416>
- ⁴³ BEYER, A. et al. Influence of the cooling rate and the blend ratio on the physical stability of co-amorphous naproxen/indomethacin. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, v. 109, p. 140-148, 2016. <https://doi.org/10.1066/j.ejpb.2016.10.002>
- ⁴⁴ JERMAIN, S. V.; BROUGH, C.; WILLIAMS III, R. O. Amorphous solid dispersions and nanocrystal technologies for poorly water-soluble drug delivery—An update. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 535, n. 1-2, p. 379-392, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2017.10.051>
- ⁴⁵ BROUGH, C.; WILLIAMS III, R. Amorphous solid dispersions and nano-crystal technologies for poorly water-soluble drug delivery. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 453, n. 1, p. 157-166, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2013.05.061>
- ⁴⁶ HE, Y.; HO, C. Amorphous solid dispersions: utilization and challenges in drug discovery and development. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 104, n. 10, p. 3237-3258, 2015. <https://doi.org/10.1002/jps.24541>
- ⁴⁷ FRANÇA, R. P. *Preparação e análise estrutural de formas cristalinas dos fármacos glicosamina e tolbutamida*. 2016. 81p. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-graduação em Ciências Aplicadas à Saúde. Universidade Federal de Goiás, Jataí.
- ⁴⁸ CAVALHEIRO, A. H.; COMARELLA, L. Farmacocinética: modelos e conceitos—uma revisão de literatura. *Revista Saúde e Desenvolvimento*, v. 10, n. 5, p. 73-84, 2016.
- ⁴⁹ DEZANI, A. B. *Avaliação in vitro da solubilidade e da permeabilidade da lamivudina e da zidovudina*. Aplicações na classificação biofarmacêutica. 2010. 165p. Programa de Pós-graduação em Fármaco e Medicamentos. Universidade de São Paulo. São Paulo. <https://doi.org/10.11606/D.9.2011.tde-23112010-152923>
- ⁵⁰ MIRANDA, L. P.; CARDOSO, M. G.; DE MORAES, A. J. Proposta de formulações para excipientes-padrão de fármacos classificados pelo sistema de classificação biofarmacêutica. *e-RAC*, v. 3, n. 1, 2013.
- ⁵¹ TAKAGI, T. et al. A provisional biopharmaceutical classification of the top 200 oral drug products in the United States, Great Britain, Spain, and Japan. *Molecular Pharmaceutics*, v. 3, n. 6, p. 631-643, 2006. <https://doi.org/10.1021/mp0600182>
- ⁵² THAYER, A. M. Finding solutions. *Chemical & Engineering News*, v. 88, n. 22, p. 13-18, 2010.

- ⁵³ KAWABATA, Y. et al. Formulation design for poorly water-soluble drugs based on biopharmaceutics classification system: basic approaches and practical applications. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 420, n. 1, p. 1-10, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2011.08.032>
- ⁵⁴ SANPHUI, P.; KUMAR, S. S.; NANGIA, A. Pharmaceutical cocrystals of niclosamide. *Crystal Growth and Design*, v. 12, n. 9, p. 4588-4599, 2012. <https://doi.org/10.1021/cg300784v>
- ⁵⁵ HICKEY, M. B. et al. Performance comparison of a co-crystal of carbamazepine with marketed product. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, v. 67, n. 1, p. 112-119, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2006.12.016>
- ⁵⁶ THAKURIA, R. et al. Pharmaceutical cocrystals and poorly soluble drugs. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 453, n. 1, p. 101-125, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2012.10.04>
- ⁵⁷ QIAO, N. et al. Pharmaceutical cocrystals: an overview. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 419, n. 1-2, p. 1-11, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2011.07.037>
- ⁵⁸ GOUD, N. R. et al. Novel furosemide cocrystals and selection of high solubility drug forms. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 101, n. 2, p. 664-680, 2012. <https://doi.org/10.1002/jps.22805>
- ⁵⁹ MIROSHNYK, I.; MIRZA, S.; SANDLER, N. Pharmaceutical co-crystals—an opportunity for drug product enhancement. *Expert Opinion on Drug Delivery*, v. 6, n. 4, p. 333-341, 2009. <https://doi.org/10.1517/17425240902828304>
- ⁶⁰ WEYNA, D. R. et al. 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. <https://doi.org/10.1021/cg800936d>
- ⁶¹ SCHULTHEISS, N.; NEWMAN, A. Pharmaceutical cocrystals and their physicochemical properties. *Crystal Growth and Design*, v. 9, n. 6, p. 2950-2967, 2009. <https://doi.org/10.1021/cg900129f>
- ⁶² CHILDS, S. L.; HARDCASTLE, K. I. Cocrystals of piroxicam with carboxylic acids. *Crystal Growth and Design*, v. 7, n. 7, p. 1291-1304, 2007. <https://doi.org/10.1021/cg060742p>
- ⁶³ NO, P. F. U. Novas formas farmacêuticas como alternativa para o tratamento da tuberculose visando a diminuição de casos de multi-droga resistência. *Latin American Journal Pharmacy*, v. 28, n. 6, p. 945-8, 2009.
- ⁶⁴ DE SOUZA, M. V. N. Rifampicina, um importante fármaco no combate à tuberculose. *Revista Brasileira de Farmácia*, v. 86, n. 3, p. 92-94, 2005
- ⁶⁵ KAR, H. K.; GUPTA, R. Treatment of leprosy. *Clinics in Dermatology*, v. 33, n. 1, p. 55-65, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.clindermatol.2014.07.007>
- ⁶⁶ IBIAPINO, A. L. et al. Structural characterization of form I of anhydrous rifampicin. *CrystEngComm*, v. 16, n. 36, p. 8555-8562, 2014.

- ⁶⁷ KHAN, M. F. et al. Theoretically guided analytical method development and validation for the estimation of rifampicin in a mixture of isoniazid and pyrazinamide by UV spectrophotometer. *Frontiers in Chemistry*, v. 5, p. 27, 2017. <https://doi.org/10.3389/fchem.2017.00027>
- ⁶⁸ BECKER, C. et al. Biowaiver monographs for immediate release solid oral dosage forms: rifampicin. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 98, n. 7, p. 2252-2267, 2009. <https://doi.org/10.1002/jps.21624>
- ⁶⁹ European Pharmacopoeia, 7^aed. *European Directorate for Quality Medicines*, 2010. p. 1136-1138.
- ⁷⁰ ALVES, R. *Estudo termoanalítico e de compatibilidade fármaco-excipiente de rifampicina e alguns medicamentos utilizados na terapêutica da tuberculose*. 2007. 113p. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo.
- ⁷¹ PORTO, D. L. *Contribuições sobre estudos térmicos (TG/DTG, DTA, DSC e DSC-Fotovisual) da rifampicina e seus principais produtos de degradação*. 2014. 141p. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas. Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal.
- ⁷² WICHER, B. et al. Redetermination of rifampicin pentahydrate revealing a zwitterionic form of the antibiotic. *Acta Crystallographica Section C: Crystal Structure Communications*, v. 68, n. 5, p. 209-212, 2012. <https://doi.org/10.1107/S0108270112015296>
- ⁷³ HENWOOD*, S. Q. et al. Characterization of the solubility and dissolution properties of several new rifampicin polymorphs, solvates, and hydrates. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, v. 27, n. 10, p. 1017-1030, 2001. <https://doi.org/10.1081/DDC-100108364>
- ⁷⁴ HENWOOD, S. et al. Solubility and dissolution properties of generic rifampicin raw materials. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, v. 26, n. 4, p. 403-408, 2000. <https://doi.org/10.1081/DDC-100101246>
- ⁷⁵ CHIOU, W. L.; RIEGELMAN, S. Pharmaceutical applications of solid dispersion systems. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 60, n. 9, p. 1281-1302, 1971. <https://doi.org/10.1002/jps.2600600902>
- ⁷⁶ SILVA, J. A. D. et al. Administração cutânea de fármacos: desafios e estratégias para o desenvolvimento de formulações transdérmicas. *Journal of Basic and Applied Pharmaceutical Sciences*, v. 31, n. 3, 2010.
- ⁷⁷ KENDI, E. Molecular and crystal structure of tris (hydroxymethyl) aminomethane. *Zeitschrift für Kristallographie-Crystalline Materials*, v. 160, n. 1-4, p. 139-144, 1982. <https://doi.org/10.1524/zkri.1982.160.14.139>
- ⁷⁸ EILERMAN, D.; RUDMAN, R. Polymorphism of crystalline poly (hydroxymethyl) compounds. III. The structures of crystalline and plastic tris (hydroxymethyl) aminomethane. *The Journal of Chemical Physics*, v. 72, n. 10, p. 5656-5666, 1980. <https://doi.org/10.1063/1.438982>

- ⁷⁹ SAKE GOWDA, D.; FEDERLEIN, N.; RUDMAN, R. Polymorphism of crystalline poly (hydroxymethyl) compounds. IV. The structures of crystalline and plastic 1, 1, 1-tris (hydroxymethyl) propane. *The Journal of Chemical Physics*, v. 77, n. 9, p. 4659-4665, 1982. <https://doi.org/10.1063/1.444419>
- ⁸⁰ DIVI, S.; CHELLAPPA, R.; CHANDRA, D. Heat capacity measurement of organic thermal energy storage materials. *The Journal of Chemical Thermodynamics*, v. 38, n. 11, p. 1312-1326, 2006. <https://doi.org/10.1016/j.jct.2006.02.005>
- ⁸¹ LENZ, E. et al. Hot melt extrusion and spray drying of co-amorphous indomethacin-arginine with polymers. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 106, n. 1, p. 302-312, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.xphs.2016.09.027>
- ⁸² BRUNI, G. et al. Multicomponent crystals of gliclazide and tromethamine: preparation, physico-chemical, and pharmaceutical characterization. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, v. 44, n. 2, p. 243-250, 2018. <https://doi.org/10.1080/03639045.2017.1386208>
- ⁸³ SAAL, C.; BECKER, A. Pharmaceutical salts: A summary on doses of salt formers from the Orange Book. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 49, n. 4, p. 614-623, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2013.05.026>
- ⁸⁴ BOOKWALA, M. et al. Preparation of a crystalline salt of indomethacin and tromethamine by hot melt extrusion technology. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, v. 131, p. 109-119, 2018 <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2018.08.001>
- ⁸⁵ RODRIGUES, E. D. S. M. *Estudo da Teoria do Funcional da Densidade (DFT) na propriedades estruturais e ópticas de nanoclusters de ouro*. 2019. 121p. Tese (Doutorado) Pós-Graduação em Química, Universidade de Sergipe.
- ⁸⁶ QUISPE, A. P. A. *Estudo teórico de sistemas ferroeelétricos usando Teoria do Funcional de Densidade (DFT)*. 2020. 114p. Tese (Doutorado) Programa de Pós-Graduação em Física, Universidade Federal de Uberlândia.
- ⁸⁷ SANTOS, J. L. et al. Síntese e modelagem molecular do novo derivado indolinônico como candidato a antiinflamatório COX-2 seletivo. *Journal of Basic and Applied Pharmaceutical Sciences*, v. 28, n. 2, 2007.
- ⁸⁸ SANTOS, M. G. Desenvolvimento de funções de base GTO: aplicação de metodo da coordenada geradora através da tecnica de discretização integral otimizada. 1992. 155p. Tese de Mestrado, Universidade Federal de Campinas (UNICAMP), Campinas.
- ⁸⁹ COMBES, J.-M.; DUCLOS, P.; SEILER, R. The born-oppenheimer approximation. In: (Ed.). *Rigorous Atomic and Molecular Physics*: Springer, 1981. p.185-213.
- ⁹⁰ WEISS, L. I. Estudo dos efeitos de absorção no espalhamento de elétrons por moléculas pelo método de frações continuadas. 2013. 145p. Tese de doutorado, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.
- ⁹¹ HELGAKER, T.; JORGENSEN, P.; OLSEN, J. *Molecular electronic-structure theory*. John Wiley & Sons, 2014.
- ⁹² HOHENBERG, P.; KOHN, W. Inhomogeneous electron gas. *Physical Review*, v. 136, n. 3B, p.864, 1964.

- ⁹³ KOHN, W.; SHAM, L. J. Self-consistent equations including exchange and correlation effects. *Physical Review*, v. 140, n. 4A, p. A1133, 1965.
- ⁹⁴ CRISPIM, J. D. S. *Estudo computacional das propriedades estruturais, eletrônicas e ópticas da bixina, isobixina, norbixina e isonorbixina via DFT*. 2019. 59p. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-graduação em Química. Universidade Estadual do Piauí, Teresina.
- ⁹⁵ MAROULIS, G.; HASKOPOULOS, A. Electric polarizability and hyperpolarizability of the copper tetramer (Cu₄) from ab initio and density functional theory calculations. *Journal of Computational and Theoretical Nanoscience*, v. 6, n. 2, p. 418-427, 2009. <https://doi.org/10.1166/jctn.2009.1051>
- ⁹⁶ KARABACAK, M. et al. The spectroscopic (FT-IR, FT-Raman, UV) and first order hyperpolarizability, HOMO and LUMO analysis of 3-aminobenzophenone by density functional method. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, v. 92, p. 365-376, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2012.02.067>
- ⁹⁷ SANTOS, V. F. D. Utilização da técnica de reels e do método DFT para a obtenção do gap dos copolímeros PFO-DBT e PSIF-DBT com aplicação em dispositivos fotovoltaicos. 2017. 60p. Trabalho de Conclusão de Curso, Instituto de Química da Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.
- ⁹⁸ BATISTA, V. H.; GRANATO, A. C.; ANGELOTTI, W. F. Comparison of density functional in the study of electronic properties of artemisinin derivatives. *Química Nova*, v. 39, n. 3, p. 298-304, 2016. <http://dx.doi.org/10.5935/0100-4042.20160040>
- ⁹⁹ CHEN, X. et al. Reactivity differences of indomethacin solid forms with ammonia gas. *Journal of the American Chemical Society*, v. 124, n. 50, p. 15012-15019, 2002. <https://doi.org/10.1021/ja017662o>
- ¹⁰⁰ MYERSON, A. *Handbook of industrial crystallization*. Butterworth-Heinemann, 2002. 304p.
- ¹⁰¹ MUNDHE, A. V. Cocrystalization: an alternative approach for solid modification. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, v. 3, n. 4, p. 166-172, 2013. <https://doi.org/10.22270/jddt.v3i4.555>
- ¹⁰² SOUSA, M. L. et al. A new salt of clofazimine to improve leprosy treatment. *Journal of Molecular Structure*, p. 128226, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2020.128226>
- ¹⁰³ CALLISTER, W. D.; RETHWISCH, D. G. *Materials Science and Engineering*. John Wiley & Sons NY, 2011.
- ¹⁰⁴ CALLISTER JR, W. D. *Ciência e Engenharia de Materiais: Uma Introdução*, 5ª Edição. Rio de Janeiro: LTC, 2002.
- ¹⁰⁵ PECHARSKY, V. K.; ZAVALIJ, P. Y. *Fundamentals of powder diffraction and structural characterization of materials*. Springer, 2009. 744p.
- ¹⁰⁶ BRAGG, W. H.; BRAGG, W. L. The reflection of X-rays by crystals. *Proceedings of the Royal Society of London. Series A, Containing Papers of a Mathematical and Physical Character*, v. 88, n. 605, p. 428-438, 1913.

- ¹⁰⁷ DE ARAUJO, G. L. B. et al. Polimorfismo na produção de medicamentos. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*, p. 27-36, 2012.
- ¹⁰⁸ RIETVELD, H. A profile refinement method for nuclear and magnetic structures. *Journal of Applied Crystallography*, v. 2, n. 2, p. 65-71, 1969. <https://doi.org/10.1107/S0021889869006558>
- ¹⁰⁹ IYENGAR, S. S.; PHADNIS, N. V.; SURYANARAYANAN, R. Quantitative analyses of complex pharmaceutical mixtures by the Rietveld method. *Powder Diffraction*, v. 16, n. 1, p. 20-24, 2001. <https://doi.org/10.1154/1.1332076>
- ¹¹⁰ SNELLINGS, R. et al. Rietveld refinement strategy for quantitative phase analysis of partially amorphous zeolitized tuffaceous rocks. *Geologica Belgica*, v.13, n. 3, 2010.
- ¹¹¹ MCCUSKER, L. et al. Rietveld refinement guidelines. *Journal of Applied Crystallography*, v. 32, n. 1, p. 36-50, 1999. <https://doi.org/10.1107/S0021889898009856>
- ¹¹² HOLLER, F. J.; SKOOG, D. A.; CROUCH, S. R. *Princípios de análise instrumental*. 6ed editora Bookman, 2009.
- ¹¹³ STUART, B. *Infrared spectroscopy*. Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology, p. 1-18, 2000.
- ¹¹⁴ SILVERSTEIN, R. M.; BASSLER, G.; MORRILL, T. Identificação espectrométrica de compostos orgânicos. 5ª Edição. *Guanabara koogan SA*, 1994.
- ¹¹⁵ SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; CROUCH, S. R. *Principles of instrumental analysis*. 7ed. Cengage learning, Boston 2017.
- ¹¹⁶ SMITH, B. C. *Fundamentals of Fourier transform infrared spectroscopy*. 2 ed. CRC press, New York, 2011.
- ¹¹⁷ GRIFFITHS, P. R.; DE HASETH, J. A. *Fourier transform infrared spectrometry*. 2ed. John Wiley & Sons, 2007.
- ¹¹⁸ RODRÍGUEZ-SPONG, B. et al. General principles of pharmaceutical solid polymorphism: a supramolecular perspective. *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 56, n. 3, p. 241-274, 2004. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2003.10.005>
- ¹¹⁹ SILVA, M. L. D. *Aplicação da termogravimetria na determinação do teor de ferro em comprimidos: um estudo comparativo com a espectrofotometria*. 2014. 117p. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal.
- ¹²⁰ JOSÉ, L. et al. Thermal characterization of HCN polymers by TG–MS, TG, DTA and DSC methods. *Polymer Degradation and Stability*, v. 96, n. 5, p. 943-948, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.polyimdegradstab.2011.01.033>
- ¹²¹ MAMEDE, L. et al. Comportamento térmico de alguns fármacos e medicamentos. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*, v. 27, n. 2, p. 151-155, 2009.
- ¹²² HAINES, P. J. *Thermal methods of analysis: principles, applications and problems*. Springer Science & Business Media, 2012. 286p.

- ¹²³ WAGNER, M. *Thermal Analysis in Practice: Fundamental Aspects*. Carl Hanser Verlag GmbH Co KG, 2017. 352p.
- ¹²⁴ DENARI, G. B.; CAVALHEIRO, E. *Princípios e aplicações de análise térmica*. São Carlos: IQSC, p. 48, 2012.
- ¹²⁵ MATOS, J. D. R. et al. *Aspectos gerais relativos ao desenvolvimento farmacotécnico de medicamento: análise térmica aplicada a fármacos e medicamentos*. Biofarmacotécnica. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 32-65, 2009.
- ¹²⁶ IONASHIRO, M.; CAIRES, F.; GOMES, D. Giolito. *Fundamentos da termogravimetria e análise térmica diferencial/calorimetria exploratória diferencial*. São Paulo: Giz, v. 1, p. 80, 2005.
- ¹²⁷ HE, Y. DSC and DEA studies of underfill curing kinetics. *Thermochimica Acta*, v. 367, p. 101-106, 2001. [https://doi.org/10.1016/S0040-6031\(00\)00654-7](https://doi.org/10.1016/S0040-6031(00)00654-7)
- ¹²⁸ CHIAVARO, E. *Differential scanning calorimetry: Applications in fat and oil technology*. 1ªed. CRC Press, 2014.
- ¹²⁹ SILVA FILHO, S. F. Síntese, caracterização e estudo do comportamento térmico do cocristal de glibenclamida com trometamina. 2016. 150 p. Dissertação (Mestrado) Programa de Pós-graduação em Ciência dos Materiais, Universidade Federal do Maranhão, Imperatriz.
- ¹³⁰ MOTHÉ, C. G.; AZEVEDO, A. D. D. *Análise térmica de materiais*. São Paulo: Editora, p. 113-115, 2002.
- ¹³¹ IONASHIRO, M.; GIOLITO, I. *Fundamentos da termogravimetria, análise térmica diferencial, calorimetria exploratória diferencial*. São Paulo: Giz Editorial, 2005.
- ¹³² OLIVEIRA, M. A. D.; YOSHIDA, M. I.; LIMA GOMES, E. C. D. Análise térmica aplicada a fármacos e formulações farmacêuticas na indústria farmacêutica. *Química Nova*, v. 34, n. 7, p. 1224-1230, 2011. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422011000700022>
- ¹³³ GROHGANZ, H. et al. Amorphous drugs and dosage forms. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, v. 23, n. 4, p. 403-408, 2013. [https://doi.org/10.1016/S1773-2247\(13\)50057-8](https://doi.org/10.1016/S1773-2247(13)50057-8)
- ¹³⁴ OLIVEIRA, M. A. et al. Análise térmica aplicada a fármacos e formulações farmacêuticas na indústria farmacêutica. *Química Nova*, v. 34, n. 7, p. 1224-30, 2011. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422011000700022>
- ¹³⁵ MARTINS, C. R.; LOPES, W. A.; ANDRADE, J. B. D. Solubilidade das substâncias orgânicas. *Química Nova*, v. 36, n. 8, p. 1248-1255, 2013. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422013000800026>
- ¹³⁶ BRASIL, M. Farmacopéia brasileira. *Agência Nacional de Vigilância Sanitária*, Vol. 1 2010.
- ¹³⁷ SATHISARAN, I.; DALVI, S. V. Engineering cocrystals of poorly water-soluble drugs to enhance dissolution in aqueous medium. *Pharmaceutics*, v. 10, n. 3, p. 108, 2018. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics10030108>

- ¹³⁸ ZHANG, X. et al. Pharmaceutical dispersion techniques for dissolution and bioavailability enhancement of poorly water-soluble drugs. *Pharmaceutics*, v. 10, n. 3, p. 74, 2018. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics10030074>
- ¹³⁹ FOOD ADMINISTRATION, D. Guidance for industry: immediate release solid oral dosage forms; Scale-up and postapproval changes: chemistry, manufacturing, and controls. *Vitro Dissolution Testing, and In Vivo Bioequivalence Documentation*, 1995.
- ¹⁴⁰ BROWN, C. K. et al. Dissolution testing of poorly soluble compounds. *Pharmaceutical Technol*, v. 28, p. 56-43, 2004
- ¹⁴¹ BOUDREAU, S. Acceptable Analytical Practice for Phase Dependent Method Validation. *Pharmaceutical Technol*, v. 28, n. 11, p. 54-66, 2004.
- ¹⁴² ROCHA, F. R.; TEIXEIRA, L. S. Estratégias para aumento de sensibilidade em espectrofotometria UV-VIS. *Química nova*, v. 27, n. 5, p. 807-812, 2004. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422004000500021>
- ¹⁴³ SWINEHART, D. F. The beer-lambert law. *Journal of Chemical Education*, v. 39, n. 7, p. 333, 1962.
- ¹⁴⁴ FUWA, K.; VALLE, B. The Physical Basis of Analytical Atomic Absorption Spectrometry. The Pertinence of the Beer-Lambert Law. *Analytical Chemistry*, v. 35, n. 8, p. 942-946, 1963.
- ¹⁴⁵ PATRA, T.; AHAMAD, S.; UPADHYAYULA, S. Highly efficient alkylation of phenol with tert-butyl alcohol using environmentally benign Bronsted acidic ionic liquids. *Applied Catalysis A: General*, v. 506, p. 228-236, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.apcata.2015.08.031>
- ¹⁴⁶ MCLEAN, A.; CHANDLER, G. Contracted Gaussian basis sets for molecular calculations. I. Second row atoms, Z= 11–18. *The Journal of Chemical Physics*, v. 72, n. 10, p. 5639-5648, 1980. <https://doi.org/10.1063/1.438980>
- ¹⁴⁷ SCALMANI, G.; FRISCH, M. J. Comment on “A smooth, nonsingular, and faithful discretization scheme for polarizable continuum models: The switching/Gaussian approach”[J. Chem. Phys. 133, 244111 (2010)]. *The Journal of Chemical Physics*, v. 134, n. 11, p. 117101, 2011. <https://doi.org/10.1063/1.3567489>
- ¹⁴⁸ TAGORE, S. S. et al. Molecular, vibrational (FT-IR and FT-Raman), NMR and UV spectral analysis of imidazo [1, 2-b] pyridazine using experimental and DFT calculations. *Chemical Physics Letters*, v. 739, p. 136943, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.cplett.2019.136943>
- ¹⁴⁹ DE ALMEIDA, A. L. et al. Índices de Reatividade da Molécula de Caféina. *Revista Virtual de Química*, v. 8, n. 2, p. 483-492, 2016. doi: 10.5935/1984-6835.20160035
- ¹⁵⁰ TOBY, B. H. EXPGUI, a graphical user interface for GSAS. *Journal of Applied Crystallography*, v. 34, n. 2, p. 210-213, 2001. <https://doi.org/10.1107/S0021889801002242>

- ¹⁵¹ OLIVEIRA, B. G. A FORMAÇÃO DE LIGAÇÕES DE HIDROGÊNIO $\pi \cdots H, F \cdots HEC \cdots H$ NOS COMPLEXOS $C_2H_2 \cdots (HF)$, $C_2H_2 \cdots 2(HF)$ e $C_2H_2 \cdots 3(HF)$. *Química Nova*, v. 39, n. 3, p. 320-327, 2016. <https://doi.org/10.5935/0100-4042.20160021>
- ¹⁵² DA SILVA, L. P. et al. Estudo dft do alcaloide dicentrina: gap, homo, lumo, mesp e mulliken. 2017. Encontro Internacional de Jovens Investigadores JOIN. Universidade Federal do Ceará.
- ¹⁵³ DE MORAIS FILHO, C. L.; MARINHO, M. M.; MARINHO, E. S. Estudo Quântico das Propriedades Geométricas da coumarina anti-Hiv heraclenol: um estudo da teoria do funcional da densidade (DFT). Licenciatura em Química, Universidade Federal do Ceará.
- ¹⁵⁴ OLIVEIRA, B. G.; DE ARAÚJO, R. C. Relação entre transferência de carga e as interações intermoleculares em complexos de hidrogênio heterocíclicos. *Química Nova*, v. 30, n. 4, p. 791-796, 2007. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422007000400007>
- ¹⁵⁵ DA SILVA, F. M.; PAES, L. W. C. Estudo teórico da eficiência de inibidores orgânicos de corrosão derivados do benzimidazol. *Journal of Experimental Techniques and Instrumentation*, v. 1, n. 1, 2018. <http://dx.doi.org/10.30609/JETI.2018-5270>
- ¹⁵⁶ FAVILA, A.; GALLO, M.; GLOSSMAN-MITNIK, D. CHIH-DFT determination of the molecular structure infrared spectra, UV spectra and chemical reactivity of three antitubercular compounds: Rifampicin, Isoniazid and Pyrazinamide. *Journal of Molecular Modeling*, v. 13, n. 4, p. 505-518, 2007. <https://doi.org/10.1007/s00894-007-0170-2>
- ¹⁵⁷ SAAD, E. A. et al. Synthesis, characterization, and antitumor activity of a new iron-rifampicin complex: A novel prospective antitumor drug. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, p. 101671, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2020.101671>
- ¹⁵⁸ EMMONS, E. D. et al. High-pressure Raman spectroscopy of Tris (hydroxymethyl) aminomethane. *The Journal of Physical Chemistry B*, v. 114, n. 17, p. 5649-5656, 2010. <https://doi.org/10.1021/jp9092892>
- ¹⁵⁹ SCHROETTER, S.; BOUGEARD, D. The calculated and observed vibrational spectra of the ordered phase of tris (hydroxymethyl) aminomethane. *Berichte der Bunsengesellschaft für physikalische Chemie*, v. 91, n. 11, p. 1217-1221, 1987. <https://doi.org/10.1002/bbpc.19870911125>
- ¹⁶⁰ KANESAKA, I.; MIZUGUCHI, K. Vibrational study of hydrogen bonds and structure of tris (hydroxymethyl) aminomethane. *Journal of Raman Spectroscopy*, v. 29, n. 9, p. 813-817, 1998. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-4555\(199809\)29:9<813::AID-JRS307>3.0.CO;2-F](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-4555(199809)29:9<813::AID-JRS307>3.0.CO;2-F)
- ¹⁶¹ ZHAI, M. et al. Solid–solid phase transition of tris (hydroxymethyl) aminomethane in nanopores of silica gel and porous glass for thermal energy storage. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, v. 129, n. 2, p. 957-964, 2017. doi: 10.1007/s10973-017-6223-6
- ¹⁶² RUMONDOR, A. C. et al. Evaluation of drug-polymer miscibility in amorphous solid dispersion systems. *Pharmaceutical Research*, v. 26, n. 11, p. 2523-2534, 2009. <https://doi.org/10.1007/s11095-009-9970-7>
- ¹⁶³ OCHI, M. et al. Physicochemical and pharmacokinetic characterization of amorphous solid dispersion of meloxicam with enhanced dissolution property and storage stability.

- AAPS PharmSciTech*, v. 17, n. 4, p. 932-939, 2016. <https://doi.org/10.1208/s12249-015-0422-x>
- ¹⁶⁴ MELO, K. J. C. et al. Rifampicin nanocrystals: Towards an innovative approach to treat tuberculosis. *Materials Science and Engineering: C*, p. 110895, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2020.110895>
- ¹⁶⁵ FUNG, M.; BĚRZIŇŠ, K. R.; SURYANARAYANAN, R. Physical stability and dissolution behavior of ketoconazole–organic acid coamorphous systems. *Molecular Pharmaceutics*, v. 15, n. 5, p. 1862-1869, 2018. <https://doi.org/10.1021/acs.molpharmaceut.8b00035>
- ¹⁶⁶ BEZERRA, R. D. S. *Obtenção e caracterização de uma nova dispersão sólida de dapsona utilizando o ácido oxálico como coformador*. 2019. 92p. Dissertação (Mestrado) Programa de Pós-graduação em Ciência dos Materiais, Universidade Federal do Maranhão, Imperatriz.
- ¹⁶⁷ HUANG, R. et al. Surfactant-free solid dispersion of BCS class IV drug in an amorphous chitosan oligosaccharide matrix for concomitant dissolution in vitro-permeability increase. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 130, p. 147-155, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2019.01.031>
- ¹⁶⁸ PATIL, P. H. et al. Enhancement of solubility and dissolution rate of poorly water soluble raloxifene using microwave induced fusion method. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 49, n. 3, p. 571-578, 2013. <https://doi.org/10.1590/S1984-82502013000300019>
- ¹⁶⁹ FERNANDES, C. M.; VIEIRA, M. T.; VEIGA, F. J. B. Physicochemical characterization and in vitro dissolution behavior of nicardipine–cyclodextrins inclusion compounds. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 15, n. 1, p. 79-88, 2002. [https://doi.org/10.1016/S0928-0987\(01\)00208-1](https://doi.org/10.1016/S0928-0987(01)00208-1)

APÊNDICE I

➤ **Moagem Mecanoquímica Líquida Assistida (MMLA)**

Pesaram-se 89,78 mg de RIF e 12,9 mg de TRIS na razão molar de 1:1, e transferiu-se as massas para um almofariz de ágata adicionando 6 gotas de MeOH. Triturou-se manualmente a mistura por aproximadamente 20 minutos. Em seguida, a amostra foi seca em uma estufa de circulação forçada de ar marca ETHIK TECHNOLOGY modelo 400-3ND 200°C, à temperatura de 50°C durante 2h eliminando assim os todos os resíduos do solvente utilizado. Para fins de comparação e verificação da ocorrência de polimorfismo, os compostos de partida (RIF e TRIS) individualizados foram moídos por esta técnica.

➤ **Método de Fusão**

Pesaram-se 134,67 mg de RIF e 19,43 mg de TRIS na razão molar de 1:1. Estas massas foram misturadas manualmente em um almofariz de ágata. Em seguida, transferiu-se a amostra para um tubo de ensaio, que posteriormente foi submetido a aquecimento em temperatura de 160°C por duas (2) horas com auxílio de um Reator D. Q. O marca Biothec modelo BT 750/25. Para fins de comparação e verificação da ocorrência de polimorfismo, os compostos de partida (RIF e TRIS) individualizados serão recristalizados por esta técnica.

APÊNDICE II

CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS

Os compostos de partida (RIF e TRIS) foram submetidos aos métodos de evaporação lenta de solvente, mecanoquímico e fusão, com o intuito de avaliar a influência destes processos na possível formação de polimorfos e para fins de comparação com os resultados obtidos para as amostras sintetizadas. Nas Figuras 33 e 34 são apresentados os aspectos visuais dos compostos de partida e das amostras obtidas para cada método. Nas Figuras 35 e 36 são apresentados os padrões de difração obtidos por DRXP dos compostos de partida e dos materiais sintetizados pelos métodos MMLA e Fusão em razão equimolar.



Figura 33 - Síntese realizada por moagem líquida assistida. Em (a) RIF_{MLA}; (b) RIF-TRIS (1:1) e (c) TRIS_{MLA}.

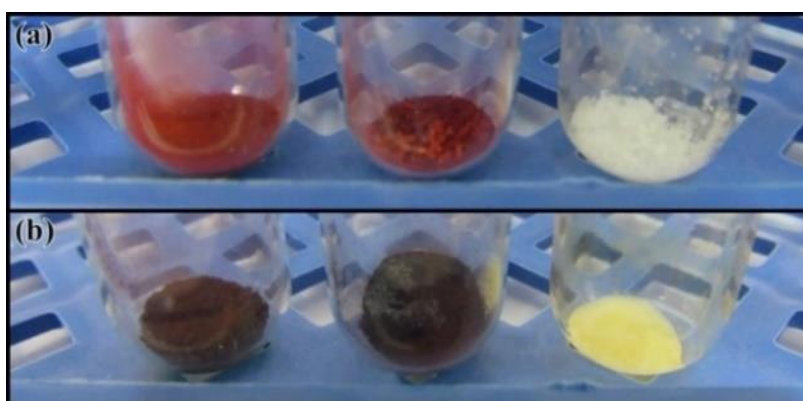


Figura 34 - Síntese realizada por fusão: (a) RIF_{REC} (esquerda); RIF-TRIS (1:1) (centro); TRIS_{REC} (direita) e (b) RIF_{REC} (esquerda); RIF-TRIS (1:1) (centro); TRIS_{REC} (direita).

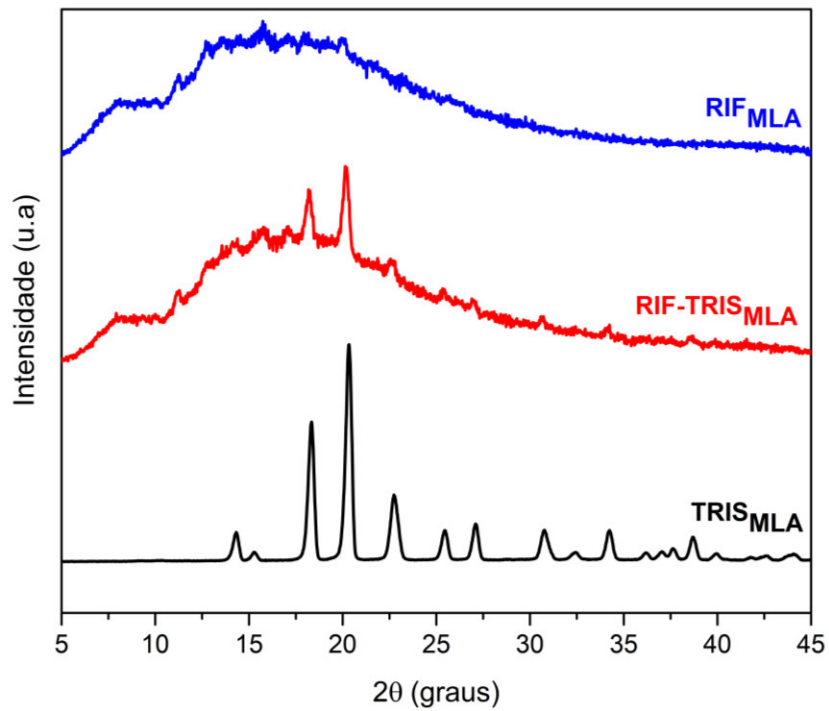


Figura 35 - Difração de Raios X da RIF, TRIS e da mistura binária na proporção molar 1:1.

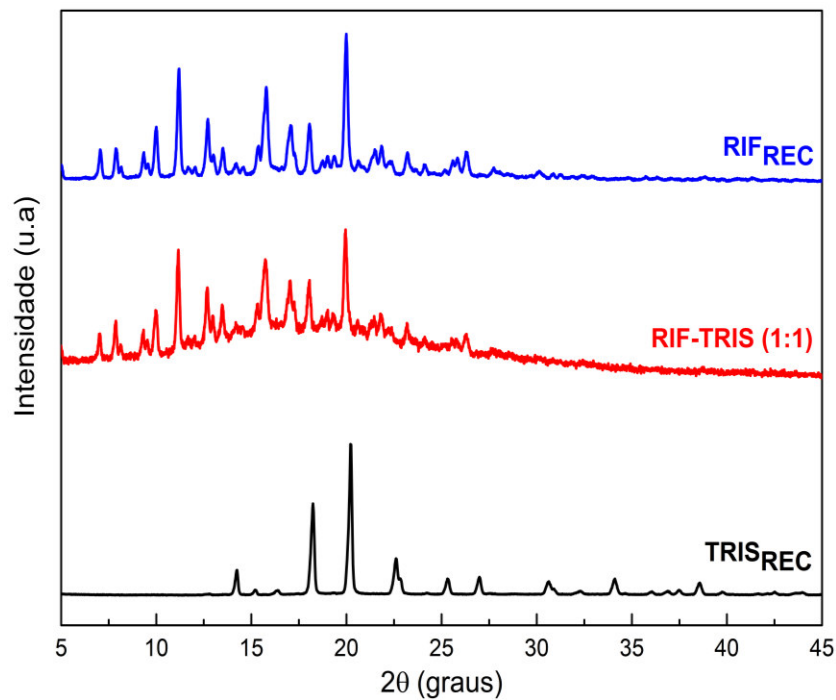


Figura 36- Difração de Raios X da RIF, TRIS e da mistura binária na proporção molar 1:1.

Analisando os difratogramas, observamos que não houve formação de novos picos, apresentando somente a sobreposição dos picos cristalinos da RIF_{REC} e $TRIS_{REC}$, evidenciando a não interação dos compostos de partida quando utilizado estas metodologias de preparo de dispersões sólidas.

APÊNDICE III

A Figura 37 apresenta o difratograma da mistura binária RIF-TRIS (1:1) com seu respectivo refinamento pelo método de Rietveld.

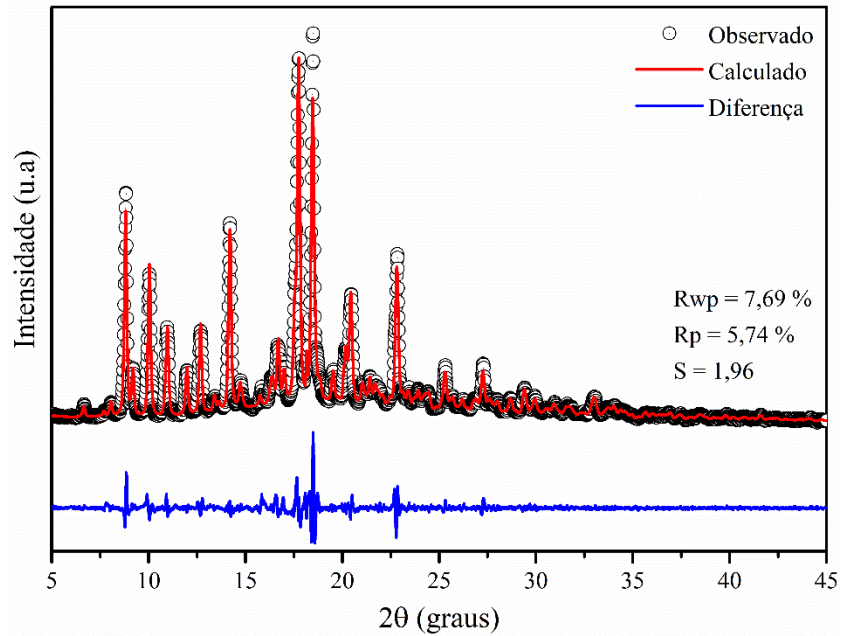


Figura 37 – Difratograma da amostra RIF-TRIS (1:1) com seu refinamento pelo método Rietveld.

APÊNDICE IV

Tabela 13 - Eventos térmicos observados nas curvas TG/DTG para os compostos de partida RIF_{REC} e TRIS_{REC} e do co-amorfo (2:1) com sua respectiva mistura física

Amostra	Perda de massa	Faixa de temperatura (°C)			Δm		Resíduo (%)
		Tonset	Tpico	Tendset	mg	%	
RIF _{REC}	I	27,72	71,75	100,00	0,502	9,228	12,390
	II	167,95	215,52	238,26	0,521	9,577	
	III	238,26	265,81	293,29	0,360	6,618	
	IV	293,29	365,88	900,00	3,383	62,187	
RIF-TRIS (2:1)	I	31,54	53,36	83,08	0,185	4,226	24,942
	II	153,63	242,20	288,72	0,866	19,781	
	III	288,72	367,84	901,15	2,235	51,051	
RIF-TRIS _{MF} (2:1)	I	26,82	48,21	90,29	0,017	0,426	12,729
	II	147,70	224,19	294,27	1,103	27,637	
	III	294,27	358,65	901,69	2,363	59,208	
TRIS _{REC}	I	152,69	259,69	280,44	5,222	99,752	0,248

Tabela 14 - Eventos térmicos observados nas curvas DTA para os compostos de partida RIF_{REC} e TRIS_{REC} e do co-amorfo (2:1) com sua respectiva misturas física

Amostra	Evento	Tipo	Temperatura (°C)			Calor (J g ⁻¹)
			Tonset	Tpico	Tendset	
RIF _{REC}	I	Desidratação	50,64	74,86	113,46	2510
	II	Fusão	163,91	168,96	180,51	25,35
	III	Recristalização	192,81	210,51	228,31	178,11
	IV	Decomposição	245,72	262,32	289,57	444,44
RIF-TRIS (2:1)	I	Desidratação	36,66	56,18	97,51	852,19
	II	Decomposição	222,79	240,06	266,10	546,45
RIF-TRIS _{MF} (2:1)	I	Transição de fase	132,65	137,06	149,59	317,80
	II	Fusão	172,96	183,97	194,48	69,72
	III	Decomposição	208,21	222,73	233,72	138,06
TRIS _{REC}	I	Transição de fase	129,57	136,83	165,41	2030
	II	Fusão	166,66	169,40	182,46	151,45
	III	Decomposição	228,58	261,24	283,00	4330

APÊNDICE V

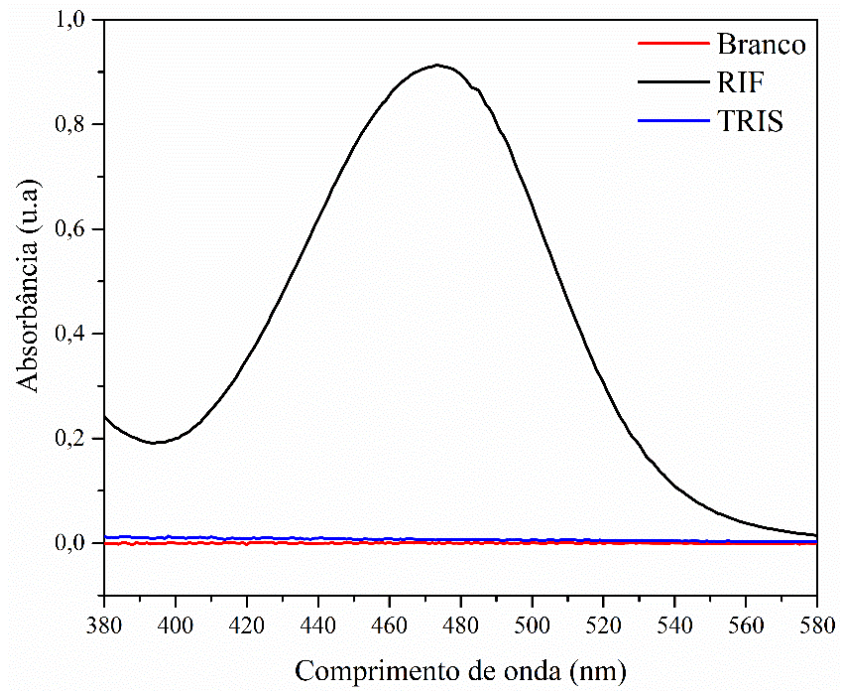


Figura 38 - Espectros UV-Vis do branco e dos compostos de partida na concentração do ponto 5 da curva analítica ($5,0 \times 10^{-2}$ mg mL⁻¹).