



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**

**FACULDADE DE FARMÁCIA, ODONTOLOGIA E ENFERMAGEM**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

**JÉSSICA DE CASTRO FONSECA**

**MELHORIA DE PROPRIEDADES FARMACOTÉCNICAS DA  
PENTOXIFILINA: MODULANDO A SOLUBILIDADE E AUMENTANDO  
FLUIDEZ ATRAVÉS DA COCRISTALIZAÇÃO**

**FORTALEZA**

**2022**

JESSICA DE CASTRO FONSECA

MELHORIA DE PROPRIEDADES FARMACOTÉCNICAS DA PENTOXIFILINA:  
MODULANDO A SOLUBILIDADE E AUMENTANDO FLUIDEZ ATRAVÉS DA  
COCRISTALIZAÇÃO

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de doutora em Ciências Farmacêuticas.

Área de concentração: Biologia para a Saúde.

Orientador: Prof. Dr. Alejandro Pedro Ayala

FORTALEZA

2022



JESSICA DE CASTRO FONSECA

MELHORIA DE PROPRIEDADES FARMACOTÉCNICAS DA PENTOXIFILINA:  
MODULANDO A SOLUBILIDADE E AUMENTANDO FLUIDEZ ATRAVÉS DA  
COCRISTALIZAÇÃO

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de doutora em Ciências Farmacêuticas.

Área de concentração: Biologia para a Saúde.

Aprovada em: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_\_\_.

BANCA EXAMINADORA

---

Prof. Dr. Alejandro Pedro Ayala (Orientador)  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Prof. Dr. Antônio Carlos Doriguetto  
Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL/MG)

---

Prof. Dr. Cícero Flávio Soares Aragão  
Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN)

---

Prof. Dr. Humberto Gomes Ferraz  
Universidade de São Paulo (USP)

---

Prof. Dr. Javier Alcides Ellena  
Universidade de São Paulo (USP)

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

**F744m** Fonseca, Jessica de Castro.  
Melhoria de propriedades farmacotécnicas da pentoxifilina : modulando a solubilidade e aumentando fluidez através da cocristalização / Jessica de Castro Fonseca. – 2022.  
190 f. : il. color.

Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Fortaleza, 2022.  
Orientação: Prof. Dr. Alejandro Pedro Ayala.

1. Pentoxifilina. 2. Cocristais. 3. Polimorfismo. 4. Fluidez. 5. Solubilidade. I. Título.

CDD 615

---

À Deus e aos meus pais, com todo o meu amor;

E às vozes da minha cabeça.

Sem vocês, eu nada seria.

## AGRADECIMENTOS

A Deus, primeiramente, quem mais me deu amparo e enxugou minhas lágrimas. Aos meus pais, Eugênia e Said, desde meus primórdios estudantis até hoje me ensinando a não desistir e continuar seguindo em frente. Ao meu noivo, Deivid, que soube ser um suporte importante na maior parte dos momentos em que mais precisei. Juntos, somamos e multiplicamos! Sua mãe vai ser doutora, meu filho! O amor e afeto dos supracitados que me moveram além do meu comodismo. Faço um adendo aos meus bichinhos, atualmente nove, onde Nokia foi minha melhor companhia de toda escrita da tese e artigos no meu colo. Em família, aos meus irmãos Paulo Said, Jenifer e Pedro Said, por ser o que eles são de mais vivo e colorido nessa coexistência familiar. Impossível não rir com eles.

Aos amores que a UFC me deu: Na Farmácia Escola em destaque aqui Emanuel, Socorro, Emídio e Cristiani, por serem as pessoas que mais seguraram a barra e tiveram paciência com meus momentos de introspecção por conta desse parto difícil da tese; Jefferson também teve que me aturar bastante nos experimentos e Lucas, que dividiu dores e lágrimas de pós-graduando/servidor gratuitamente comigo.

Aos ex-alunos/colegas/amigos/paraquedistas que viraram amigos e aos amigos que viraram amores, destaco: Luana Letícia, Thiago Dias, Vitor Ribeiro, Emanuel Vitor, Larissa Santos, Ana Beatriz, Igor Tsunami, Natasha Saboya, Milena Poke, Martin Cruisk, Mike Halryson, Diana Vasconcelos, Darleyson Sombra, Rafael Pitombeira, Marina Gomes, entre outros nomes. Conto com vocês pra o que eu precisar e boa sorte pra vocês.

Aos colegas do grupo LabCres e servidores que me deram tanto auxílio em projetos, montagens e em dúvidas pontuais que me foram muito importantes: Yara Santiago, Laura Vidal, Bruno Sousa, bem como Bruno e Piau da eletrônica, além do César.

Ao meu orientador que foi muito mais do que um orientador, Alejandro Ayala. Aqui nem palavras tenho para tanta paciência comigo e minha dificuldade de levar tudo tão a sério, maestria e liderança. Agradeço ao Prof. Said Fonseca, sim, meu pai, pela melhor orientação possível. Agradeço à banca composta por professores incríveis, referências nas áreas, por dedicarem tempo e esforço na leitura e no auxílio da construção do melhor trabalho possível. Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, minha casa pelos últimos nove anos, que foi obrigada a ter muita paciência comigo. À nossa casinha, UFC, da qual sou cria de muito tempo também, todo meu carinho.

Ao meu psicólogo, Bruno, que me relembra semanalmente que eu também mereço meu autocuidado físico e mental. Adiciono também ao Sci-Hub, ferramenta incrível e indispensável para pós-graduandos que merece um financiamento sim!

Mesmo que aqui escritos, não será o suficiente para agradecer àqueles que estiveram ao meu lado, que comigo colaboraram e me apoiaram.

“Senhor, dai-me força para mudar o que pode ser mudado,  
Serenidade para aceitar o que não pode ser mudado,  
Sabedoria para conseguir distinguir uma coisa da outra, e  
Paciência pra tudo isso.”

“- Mas **e se** eu cair?  
- Minha querida, **e se** você voar?”



## RESUMO

O campo de pesquisa da engenharia de cristais é definido como a área de estudo cujo foco se dá no modelamento e desenho de sólidos cristalinos, com ênfase na predefinição da agregação molecular e iônica do sólido, possibilitando o design de materiais sólidos com propriedades físicas e químicas desejadas, o que pode levar a modificações de solubilidade, biodisponibilidade, propriedades de fluxo e estabilidade térmica, por exemplo. A pentoxifilina (PTX), é um fármaco considerado altamente solúvel em meio aquoso, porém com péssima fluidez e compressibilidade, de acordo com o demonstrado no presente trabalho. Sabe-se que essas propriedades são possíveis de serem moduladas através da cocristalização, além de outras possíveis modificações interessantes que podem ocorrer. Logo, a modificação da solubilidade, fluidez e compressibilidade da PTX são objetivos do presente trabalho. Todos os materiais foram obtidos através de metodologias de simples execução. Diversas técnicas de caracterização foram utilizadas, como difração de raios X, análise térmica, espectroscopia no infravermelho, ensaios de solubilidade, determinação de índice de Carr, fator de Hausner, ângulo de repouso estático e dinâmico, com o objetivo de obter cocristais de PTX e verificar as otimizações de propriedades físico-químicas e farmacêuticas. Foi possível a obtenção de dois polimorfos da PTX não reportados na literatura, PTX3 e PTX4 através da análise térmica do material, bem como a reprodução de cocristais já existentes na literatura (coformadores: ácido benzoico (BZN) e ácido salicílico (SAL) para análise de solubilidade e fluidez, além da obtenção de outros cinco cocristais inéditos com: ácido cafeico (CAF) , ácido cítrico (CIT), ácido glutárico (GLT) e ácido vanílico (VAN), com sua respectiva elucidação da estrutura cristalina e caracterização físico-química, de solubilidade e fluidez. Adicionalmente, foi possível obter outras cinco novas formas sólidas da PTX, os quais ainda não possuem caracterização completa, nem elucidação cristalina. Destacaram-se nas análises a PTXVAN, com solubilidade maior que a PTX e excelentes propriedades de fluxo, bem como PTXSAL e PTXCAF, com solubilidades reduzidas em relação a PTX e com boas propriedades de fluxo. No geral, todos os materiais apresentaram melhoria nas propriedades de fluxo. Tais resultados demonstram claramente a relevância da cocristalização na melhoria de propriedades farmacêuticas de matérias-primas.

**Palavras-Chave:** Pentoxifilina, Cocristais, Polimorfismo, Fluidez, Solubilidade

## ABSTRACT

The crystal engineering field is defined as the area that focuses on the modeling and design of crystalline solids, with emphasis on predefining the molecular and ionic aggregation of the solid, enabling the design of materials with desired physical and chemical properties, which can lead to modifications of solubility, bioavailability, flow properties and thermal stability. Pentoxifylline (PTX), a drug considered highly soluble in aqueous media, has poor flowability and compressibility, as demonstrated in the present work. It is known that these properties could be modulated through cocrystallization, besides other interesting possible modifications that may occur. The goal of this work is the modulation of solubility, fluidity and compressibility of PTX. All materials were obtained through simple methodologies. Several characterization techniques were used, such as X-ray diffraction, thermal analysis, infrared spectroscopy, solubility tests, Carr's index determination, Hausner factor, repose and dynamic angles, aiming to obtain PTX cocrystals and verify the optimizations of physicochemical and pharmaceutical properties. It was possible to obtain two non-reported polymorphs of PTX, PTX3 and PTX4, through the thermal analysis technique, as well as the reproduction of cocrystals already existing in the literature with the cofomers benzoic acid (BZC) and salicylic acid (SAL) for solubility and fluidity analysis, besides the obtention of five cocrystals with citric acid (CIT), vanillic acid (VAN), glutaric acid (GLT) and caffeic acid (CAF), whose crystalline elucidation is new in the literature, with their respective physicochemical, solubility and fluidity characterization. Additionally, it was possible to obtain other five new solid forms of PTX, which still do not have full characterization, nor crystalline elucidation. Noteworthy, in the analysis were PTXVAN, with solubility higher than PTX and excellent flow properties, as well as PTXSAL and PTXCAF, with reduced solubility compared to PTX and with good flow properties. Overall, all materials showed improved flow properties. Such results clearly demonstrate the relevance of cocrystallization in improving the pharmaceutical properties of raw materials.

**Keywords:** Pentoxifylline, Cocrystals, Polymorphism, Flowability, Solubility

## LISTA DE FIGURAS

**Figura 1** - Estrutura molecular da PTX (Fonte: a autora - Software MolView).

**Figura 2** - Ilustração da cela unitária e dos parâmetros de cela a, b e c (Fonte: adaptado de (Encyclopedia Britannica 2017)).

**Figura 3** – Esquema representativo de polimorfismo e cocrystal com respectivos exemplos envolvendo a pentoxifilina: PTX1, PTX2 e PTXAAS (Stepanovs et al. 2015) (Fonte: A autora).

**Figura 4** – Exemplo de *synthon* envolvido na formação de cocristais de PTX já elucidados na literatura – HUNJIL e HUNJOR (Stepanovs et al. 2015) – obtido através dos softwares ConQuest 1.20® e Mercury 3.10® (Fonte: A autora).

**Figura 5** – Diagrama de ORTEP da PTX com as numerações de cada átomo, de acordo com JAKGEH (fonte: a autora - Software ORTEP).

**Figura 7** - Esquema representativo da EVL com as etapas que demonstram o material solubilizado (1), o frasco tampado, com um furo que permita passagem de solvente com material já evaporando (2) e a formação de cristais (3) (Fonte a autora).

**Figura 8** - Moinho de bolas (esquerda) e acessórios, como jarros e bolas de diversos materiais (direita) retirado do site da Retsch.

**Figura 9** - Equipamento de STA (esquerda) e HSM (direita) utilizado nos experimentos pertencentes ao LabCrEs (Fonte: Netzch e Linkam).

**Figura 10** - Superfícies de Hirshfeld demonstrando interações  $\pi \cdots \pi$  (esquerda – shape index) e análise de curvatura (direita - curvedness) (Fonte: Spackman and Jayatilaka 2009).

**Figura 11** - Esquema representativo do tambor para análise de ângulo de repouso dinâmico acima ( $d$  = diâmetro;  $h$  = largura do tambor), tambor rotativo com tampa em acrílico abaixo (Fonte: A autora).

**Figura 12** - Esquema do funcionamento do aparato de compactação do pó para medida de densidade compactada do pó (acima) e imagem do aparato utilizado (abaixo) (Fonte: A autora).

**Figura 13** - PDRX do screening de polimorfismo por LAG com diversos solventes e a seco com 25Hz de frequência e 60 minutos (Fonte: a autora).

**Figura 14** – PDRX de PTX1 e PTX2 em comparação com os difratogramas calculados dos cristais já reportados JAKGEH e JAKGEH01 (esquerda) e sobreposição das celas unitárias da PTX1 (azul) e PTX2 (vermelho) (direita) (Fonte: A autora).

**Figura 15** - Hábitos cristalinos da PTX1 (esquerda – luz polarizada) e da PTX2 (direita) em microscopia ótica (10x) (Fonte: A autora).

**Figura 16** - PDRX (acima), análise térmica (meio) e IR (abaixo) da nova forma sólida PTXCMA, com PDRX e IR da PTX e CMA isolados (Fonte: A autora).

**Figura 17** - PDRX (acima), análise térmica (meio) e IR (abaixo) da nova forma sólida PTXFMA, com PDRX e IR da PTX e FMA isolados (Fonte: A autora).

**Figura 18** - PDRX (acima), análise térmica (meio) e IR (abaixo) da nova forma sólida PTXGAL, com PDRX e IR da PTX e GAL isolados (Fonte: A autora).

**Figura 19** - PDRX (acima), análise térmica (meio) e IR (abaixo) da nova forma sólida PTXOXA, com PDRX e IR da PTX e OXA isolados (Fonte: A autora).

**Figura 20** - GranuDrum® (esquerda) e LABULK® 0335 (direita) (Imagens extraídas do site do fabricante).

**Figura 21** - Tambor rotativo planejado e executado na UFC. Os ângulos apresentados são indicativos dos ângulos medidos na execução dos estudos de fluidez dinâmica.

## LISTA DE TABELAS

**Tabela 1** - Resumo dos cocristais em avançada etapa de estudo ou disponíveis no mercado e suas principais indicações (Fonte: Kavanagh et al. 2019; Yousef and Vangala 2019)

**Tabela 2** - Exemplos de cocristais farmacêuticos patenteados e suas respectivas melhorias obtidas através da cocrystalização (Fonte: adaptado de THIPPARABOINA et al., 2016).

**Tabela 3** - Diferenças de estrutura cristalina existentes entre os polimorfos da PTX reportados na literatura (Pavelčík et al. 1989; Stepanovs and Mishnev 2011).

**Tabela 4** - Coformadores utilizados para cocrystalização com PTX. \* indica coformadores para cocristais já reportados na literatura.

**Tabela 5** - Cálculo da diferença de pKa entre a PTX e os respectivos coformadores utilizados (Childs et al. 2007; Indrayanto et al. 1998; Kim et al. 2019; Serjeant and Dempsey 1979). \* indica cocristais já reportados na literatura

## LISTA DE GRÁFICOS

**Gráfico 1** - Publicações com as palavras-chave cocystal listados desde 1974 até 2019

(Fonte: a autora).

**Gráfico 2** - Publicações que citaram o artigo original de Hirshfeld a partir do ano da sua publicação, 2009. Dados retirados do WebOfScience (Fonte: a autora).

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

|         |   |
|---------|---|
| AINE    | Anti-inflamatório não estereoidal             |
| AMPc    | AMP cíclico                                   |
| ANVISA  | Agência Nacional de Vigilância Sanitária      |
| BZC     | Ácido Benzoico                                |
| CCDC    | <i>Cambridge Crystallographic Data Center</i> |
| CFA     | Ácido Cafeico                                 |
| CIT     | Ácido Cítrico                                 |
| CLAE    | Cromatografia Líquida de Alta Eficiência      |
| CMA     | Ácido Cumárico                                |
| CSD     | <i>Cambridge Structural Database</i>          |
| DAG     | Moagem à seco                                 |
| DMF     | Dimetilformamida                              |
| DMSO    | Dimetilsulfóxido                              |
| DRX     | Difratograma de Raios X                       |
| DSC     | Calorimetria Diferencial Exploratória         |
| EVL     | Evaporação Lenta                              |
| FDA     | Food and Drug Administration                  |
| FH      | Fator de Hausner                              |
| FIR     | Infravermelho Distante                        |
| FMA     | Ácido Fumárico                                |
| GAL     | Ácido Gálico                                  |
| GLT     | Ácido Glutárico                               |
| GRAS    | Geralmente reconhecido como seguro            |
| HS      | Hirshfeld Surface                             |
| HSM     | Microscopia com Estágio à Quente              |
| IC      | Índice de Carr                                |
| IFA     | Ingrediente Farmacêutico Ativo                |
| IR      | Infravermelho                                 |
| LabCres | Laboratório de Crescimento de Cristais        |

|        |   |
|--------|---|
| LAG    | Moagem com adição de solvente                 |
| MEV    | Microscopia Eletrônica de Varredura           |
| MIR    | Infravermelho Médio                           |
| MS     | Espectrometria de Massa                       |
| NIR    | Infravermelho Próximo                         |
| OXA    | Ácido Oxálico                                 |
| PTX    | Pentoxifilina                                 |
| PDRX   | Difratograma de Raios X de pó                 |
| RMN    | Ressonância Magnética Nuclear                 |
| SAL    | Ácido Salicílico                              |
| SCDRX  | Difratograma de Raios X de monocristal        |
| STA    | Análise Térmica Simultânea                    |
| TG     | Termogravimetria                              |
| UFC    | Universidade Federal do Ceará                 |
| USP    | <i>United States Pharmacopeia</i>             |
| UV-Vis | Espectroscopia na região Ultravioleta/Visível |
| VAN    | Ácido Vanílico                                |



## SUMÁRIO

|  |    |
|--|----|
| <b>CAPÍTULO 1 – INTRODUÇÃO</b> .....   | 3  |
| <b>1.1. A engenharia de cristais aplicada à farmácia</b> .....   | 6  |
| <b>1.1.1. Engenharia de cristais</b> .....   | 6  |
| <b>1.1.2. Tópicos em Cristalografia</b> .....  | 7  |
| 1.1.2.1. <i>Cristais e estruturas cristalinas</i> .....  | 7  |
| 1.1.2.2. <i>Arranjos Cristalinos de Ingredientes Farmacêuticos Ativos</i> .....                              | 8  |
| Polimorfos .....   | 10 |
| Cocrystal .....  | 11 |
| <b>1.2. O desenho racional de formas sólidas</b> .....   | 14 |
| 1.2.1. <i>Synthon</i> supramolecular e o desenho racional de formas sólidas .....                            | 15 |
| 1.2.2. O papel do CSD e o desenho racional de fármacos .....   | 17 |
| <b>1.3. Ingrediente Farmacêutico Ativo - Pentoxifilina</b> .....   | 18 |
| <b>1.4. Objetivos</b> .....  | 22 |
| 1.4.1. <b>Objetivo Geral:</b> .....  | 22 |
| 1.4.2. <b>Objetivos Específicos:</b> .....   | 22 |
| <b>CAPÍTULO 2 – MÉTODOS EXPERIMENTAIS</b> .....  | 23 |
| <b>2.1 Análise de estruturas cristalinas existentes e <i>synthons</i></b> .....                              | 23 |
| <b>2.2 Cocrystalização</b> .....   | 24 |
| 2.2.1 <b>Evaporação Lenta</b> .....  | 25 |
| 2.2.2 <b>Ativação Mecanoquímica</b> .....  | 26 |
| <b>2.3 Métodos de caracterização</b> .....   | 28 |
| 2.3.1 <b>Microscopia eletrônica de varredura (MEV)</b> .....   | 28 |
| 2.3.2 <b>Difratogramas de raios X (DRX)</b> .....  | 29 |
| 2.3.3 <b>Análise Térmica</b> .....   | 31 |
| 2.3.4 <b>Espectroscopia Vibracional</b> .....  | 34 |
| 2.3.5 <b>Análise de interações intra/intermoleculares</b> .....  | 36 |
| 2.3.6 <b>Solubilidade</b> .....  | 38 |
| 2.3.7 <b>Determinação de Fluidez e Densidade dos pós</b> .....   | 38 |
| <b>CAPÍTULO 3 – ESTUDO DO POLIMORFISMO DA PTX</b> .....  | 43 |
| <b>3.1. <i>Screening</i> de polimorfos: DAG e LAG</b> .....  | 43 |
| <b>3.2. <i>Screening</i> de polimorfos: EVL</b> .....  | 44 |
| <b>3.3. Artigo: “New pentoxifylline polymorphs investigated by thermal analysis: III and IV forms”</b> ..... | 47 |
| <b>3.4. Conclusão</b> .....  | 67 |
| <b>CAPÍTULO 4 – COCRISTAIS DE PENTOXIFILINA</b> .....  | 68 |
| <b>4.1. Artigo: “Up to down solubility modulation of new Pentoxifylline cocrystals”</b> ....                 | 69 |

|   |     |
|---|-----|
| <b>4.2. Novas formas sólidas de PTX</b> .....   | 108 |
| <b>4.2.1. Pentoxifilina e Ácido Cumárico (PTXCMA)</b> .....   | 110 |
| <b>4.2.2. Pentoxifilina e Ácido Fumárico (PTXFMA)</b> .....   | 112 |
| <b>4.2.3. Pentoxifilina e Ácido Gálico (PTXGAL)</b> .....   | 114 |
| <b>4.2.4. Pentoxifilina e Ácido Oxálico (PTXOXA)</b> .....  | 116 |
| <b>4.3. Conclusão</b> .....   | 118 |
| <b>CAPÍTULO 5 – PROPRIEDADES DE FLUXO DOS COCRISTAIS DE PENTOXIFILINA</b> .....   | 120 |
| <b>5.1. Artigo: “Beyond solubility! Tuning powder properties of Pentoxifylline by cocrystalization: compressibility index, repose and dynamic angles”</b> ..... | 123 |
| <b>5.2. Conclusão</b> .....   | 153 |
| <b>CAPÍTULO 6 – CONCLUSÕES</b> .....  | 154 |
| <b>REFERÊNCIAS</b> .....  | 156 |
| <b>APÊNDICE A</b> .....   | 156 |

## CAPÍTULO 1 – INTRODUÇÃO

O campo de pesquisa da engenharia de cristais é definido como a área de estudo cujo foco se dá no modelamento e desenho de sólidos cristalinos, com ênfase na predefinição da agregação molecular e iônica do sólido, possibilitando o design de materiais sólidos com propriedades físicas e químicas desejadas (Braga et al. 2002; Coppens et al. 2002). Dependendo da forma do estado sólido, diferenças em diversas propriedades físicas e químicas, como morfologia, densidade, estabilidade, ponto de fusão, solubilidade e até mesmo a coloração do cristal podem ser observadas. Algumas dessas propriedades podem afetar a estabilidade, biodisponibilidade e o processamento do ingrediente farmacêutico ativo (IFA), envolvendo propriedades como a solubilidade, compressibilidade, fluidez e dureza (Heinz et al. 2009; Shan et al. 2014).

A maioria dos ingredientes farmacêuticos ativos (IFAs), em torno de 70%, é administrada na sua forma sólida, sendo preferida a forma cristalina desse material, devido à relativa facilidade de síntese, redução de impurezas e estabilidade físico-química (Cheney et al. 2009). As principais preocupações no que se refere ao processo de desenvolvimento de novos medicamentos concernem à obtenção de um material com excelentes propriedades físico-químicas, biológicas e farmacêuticas.

Devido ao número reduzido de novas drogas descobertas na última década, apesar de um pequeno crescimento ocorrido em 2018 (Drugs Development & Approval Process 2019), as companhias farmacêuticas se viram inclinadas a criar modificações de IFAs já existentes, sob a justificativa de que tais modificações seriam capazes de oferecer uma melhoria nas propriedades do material, além da possibilidade de deposição de patentes em cima da modificação ou do produto originado através dessa mudança, entre outros objetivos (Desiraju 2010, 2013; Samie, Desiraju, and Banik 2017).

O conhecimento e estudo das interações intermoleculares e seus efeitos no empacotamento cristalino resultou na possibilidade de se trabalhar em cima do desenvolvimento de cristais com propriedades desejadas, surgindo um crescente interesse na pesquisa de cocristais de produtos farmacêuticos, especialmente nos últimos 15 anos. Cocristais podem ser definidos como cristais de moléculas multicomponentes onde todos os constituintes se encontram em proporções estequiométricas e compreendem duas ou

mais moléculas quimicamente distintas (Douroumis, Ross, and Nokhodchi 2017; Kalepu and Nekkanti 2015; Pindelska, Sokal, and Kolodziejcki 2017). Devido a formação de cocristal não se limitar a utilização apenas a drogas ionizáveis, como os sais, os cocristais expandiram as possibilidades de produção de novos IFAs, possibilitando trabalhar em cima de modificações de solubilidade, biodisponibilidade, propriedades de fluxo e estabilidade térmica, além da cristalinidade, higroscopicidade, tamanho de partícula, densidade e até sabor (Bolla and Nangia 2016; Good and Naír 2009; Karagianni, Malamataris, and Kachrimanis 2018; Kumar and Nanda 2017).

Sabendo-se que propriedades farmacêuticas podem ser moduladas através da cocristalização, além de outras possíveis modificações interessantes que podem ocorrer, a pentoxifilina (PTX) foi o IFA de escolha para o desenvolvimento deste estudo. Esta escolha foi motivada por ser um material com 1) propriedades físico-químicas que podem ser otimizadas com o auxílio da cocristalização, como a alta solubilidade e baixas propriedades de fluxo, 2) ser amplamente pesquisado devido a possíveis usos, como em oncoterapia e 3) por ter algumas formas polimórficas reportadas, bem como alguns cocristais, demonstrando o potencial da engenharia de cristais nesse material.

A PTX, cuja estrutura se encontra na Figura 1, é um fármaco da família das xantinas que atua como inibidor não específico da fosfodiesterase, diminuindo a transcrição de mediadores pró-inflamatórios. Possui rápida dissolução e uma rápida absorção no organismo, havendo necessidade de modulação da liberação do mesmo, o que ocorre através da sua forma farmacêutica comprimido por via oral com liberação modificada (Ma et al. 2018).

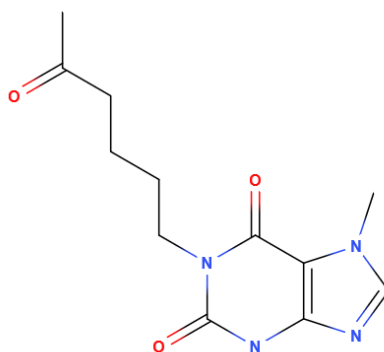


Figura 1 - Estrutura molecular da PTX (Fonte: a autora - Software MolView).

Neste trabalho, foi possível demonstrar a correlação térmica entre os polimorfos da PTX, bem como a descoberta de novos polimorfos, ambos resultados inéditos na literatura. Além disto, através do emprego do desenho racional de cocristais, foi possível a modulação das suas propriedades físico-químicas. Como um fármaco altamente solúvel e rapidamente metabolizado pelo fígado, foi possível a modificação da solubilidade para taxas mais reduzidas, buscando um possível trabalho com liberação modificada para o fármaco. Finalmente, uma metodologia para investigar as características de fluidez e compressibilidade dos cocristais da PTX foi aplicada, visando obter materiais otimizados em termos farmacêuticos. Enfatiza-se que não existem estudos prévios descrevendo os resultados apresentados neste trabalho, o que o torna inédito, e sendo ainda bastante relevante, haja vista a possibilidade de desenhar racionalmente estruturas cristalinas, com a possibilidade de otimizar propriedades que estão intrinsecamente relacionadas ao processo produtivo do medicamento.

Salienta-se que todos os materiais foram obtidos através de metodologias de simples execução, utilizando-se da evaporação lenta para obtenção dos monocristais, e da ativação mecânica, para obtenção dos materiais policristalinos e *scale-up*, com e sem auxílio de solvente. As caracterizações das propriedades físicas e químicas foram realizadas, através do uso de técnicas de difração de raios X, análise térmica e métodos espectrométricas, assim como caracterizações farmacotécnicas dos materiais, através da determinação de fluidez e solubilidade dos mesmos.

## 1.1. A engenharia de cristais aplicada à farmácia

### 1.1.1. Engenharia de cristais

A engenharia de cristais pode ser bem entendida como a compreensão das interações intermoleculares inseridas no contexto de estrutura cristalina (Desiraju 2010). Tal conceito é aplicado em diversos campos científicos, podendo citar como exemplos a aplicação na nanotecnologia, na ciência dos materiais e na indústria farmacêutica, com este último sendo a área citada no presente trabalho, geralmente envolvendo projetos, estudos e desenvolvimentos de novos produtos com propriedades específicas desejadas (Braga 2003; Moulton and Zaworotko 2001; Vishweshwar, McMahon, Bis, et al. 2006). Tendo tal conceito como base, é possível visualizar o cristal a nível supramolecular, apresentando características inerentes ao conjunto da estrutura como um todo, possuindo propriedades estruturais que não estão presentes nas moléculas individuais, mas sim, na totalidade do conjunto (Desiraju 2010). Logo, as características estruturais e suas propriedades são mais bem definidas em termos de padrão a nível supramolecular

Para que haja o planejamento dessas interações moleculares na estrutura cristalina, são necessárias ligações de natureza direcional, sendo a ligação de hidrogênio um dos principais exemplos (Aakeröy and Seddon 1993; Buckingham, Del Bene, and McDowell 2008). Desse modo, diferentes tipos de ligações de hidrogênio de intensidades variáveis são aplicadas para descrever as interações a nível supramolecular, onde se considera desde as mais fortes,  $O\cdots HO$  e  $OH\cdots N$ , até a mais fraca, como  $CH\cdots Cl$  (Aakeröy, Champness, and Janiak 2010; Desiraju 2010). Sabendo-se do potencial de interações intermoleculares que cada molécula possui devido a existência de grupos funcionais diversos, a engenharia de cristais necessita da identificação dessas interações entre tais grupos presentes na estrutura cristalina para possibilitar o desenho estrutural do sólido cristalino a ser formado.

Nos tópicos seguintes, as ideias básicas de cristalografia e desenho racional de sólidos serão introduzidas, possibilitando o entendimento do presente trabalho.

## 1.1.2. Tópicos em Cristalografia

### 1.1.2.1. Cristais e estruturas cristalinas

A Cristalografia estuda como os átomos e moléculas estão organizados na formação dos cristais e como a ordem de longo alcance é produzida. Sabendo-se que muitas propriedades físico-químicas dependem da estrutura cristalina, entende-se que o conhecimento da cristalografia é essencial para a exploração das propriedades dos materiais (Tilley 2014). Os cristais são compostos por unidades regulares que se repetem por empilhamento, o que vai produzir a estrutura interna do cristal. Essa unidade é chamada de cela unitária (Figura 2). Isso equivale afirmar que um cristal se caracteriza por ordem de longo alcance translacional e orientacional, e as celas unitárias são deslocadas repetidamente em três dimensões (translacional) sem qualquer rotação ou reflexão (orientacional). Os seis parâmetros,  $a$ ,  $b$ ,  $c$ ,  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$ , determinam o tamanho e a topografia da cela unitária (Tilley 2014; Verma and Srivastava 1991; Waseda, Eiichiro, and Kozo 2011).

Como consequência da presença de elementos de simetria, vários motivos estruturais simetricamente equivalentes coexistirão dentro da cela unitária. Logo, a cela unitária é formada por unidades menores sob as operações de simetria, conhecida por unidade assimétrica. Esse termo é geralmente utilizado para referir-se a menor parte de uma estrutura tridimensional a partir da qual toda a estrutura pode ser reproduzida por todas as simetrias, translacional e pontual, que a estrutura possui, podendo ser constituída por apenas uma parte da molécula, ou de apenas uma molécula, ou de várias moléculas independentes, não relacionadas por simetria, da mesma substância ou de outras substâncias distintas (Giacovazzo et al. 2011).

A mínima informação necessária para descrever uma estrutura cristalina é o sistema cristalino, ou seja, cúbica, tetragonal etc., os parâmetros de cela unitária e a posição dos átomos na cela unitária. O conteúdo atômico da cela unitária é um número inteiro  $Z$ , múltiplo da composição do material. O valor de  $Z$  é igual ao número de unidades de fórmula do sólido na cela unitária, ou seja, quantas vezes a fórmula química do composto existe em cada cela unitária (Tilley 2014).

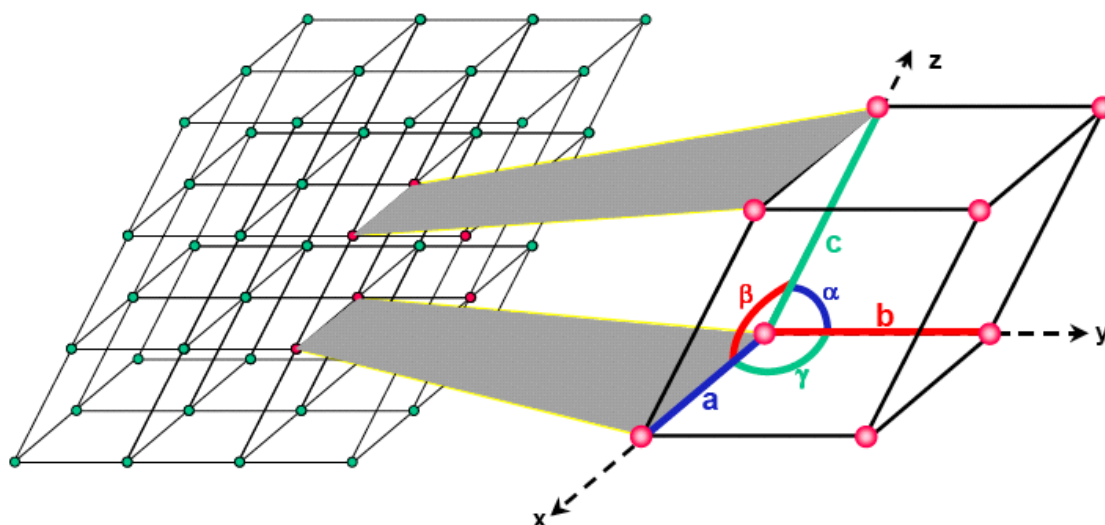


Figura 2 - Ilustração da célula unitária e dos parâmetros de cela a, b e c (Fonte: adaptado de (Encyclopedia Britannica 2017)).

#### 1.1.2.2. Arranjos Cristalinos de Ingredientes Farmacêuticos Ativos

A cristalinidade de um IFA confere, geralmente, melhores características físicas e estabilidade química do material, sendo, portanto, a seleção da forma cristalina um dos primeiros passos no desenvolvimento de um medicamento (Braun et al. 2017). Dentre os vários possíveis arranjos cristalinos no estado sólido, temos os sais, polimorfos, solvatos, hidratos, amorfos, soluções sólidas e cocristais, sendo a formação deste último relativamente novo e revolucionário, em termos de metodologia, na alteração das propriedades físico-químicas de fármacos (Sarmah et al. 2016).

O grupo LabCrEs, cujo grupo no qual a autora do presente trabalho está inclusa, possui tradição na área de estudo de solvatos (Alves de Santana et al. 2019; Bezerra et al. 2016; de Oliveira, Oliveira, and Ayala 2018), polimorfos (de Pinho Pessoa Nogueira et al. 2018), cocristais (Santiago de Oliveira et al. 2019) e soluções-sólidas (Fonseca et al. 2018), demonstrando o interesse do grupo e dos jornais científicos internacionais (*qualis* A1 – B3 para farmácia, de acordo com a plataforma Sucupira 2016) na discussão de arranjos cristalinos de fármacos.



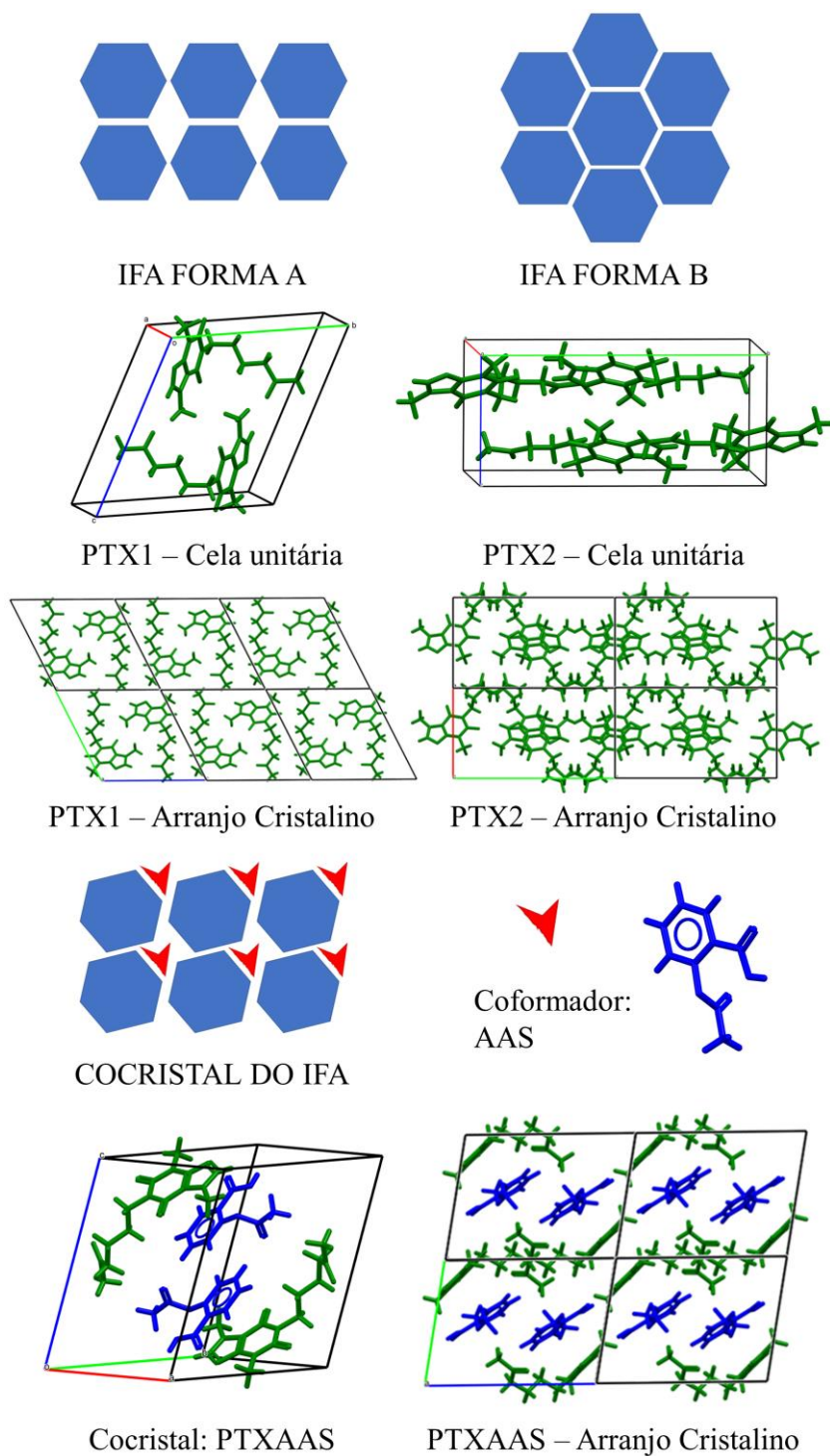


Figura 3 – Esquema representativo de polimorfismo e cocrystal com respectivos exemplos envolvendo a pentoxifilina: PTX1, PTX2 e PTXAAS (Stepanovs et al. 2015) (Fonte: A autora).

Na presente seção, apenas serão citadas aquelas formas cristalinas que possuem correlação direta com este trabalho: polimorfos e cocristais. Na Figura 3, é possível visualizar uma imagem que ilustra a diferença entre ambos, conforme será visto com maior detalhamento a seguir.

### Polimorfos

Existem diversas definições sobre polimorfismo, porém uma das mais recentes cita que o polimorfismo pode ser definido como a capacidade de uma molécula, no caso, por exemplo, de um fármaco, existir em mais de uma forma ou estrutura cristalina, ou como a habilidade de um material sólido cristalino existir com no mínimo duas estruturas cristalinas diferentes, de mesma composição química, em função de diferenças nos arranjos espaciais ou conformacionais (Bernstein 2007; Brog et al. 2013; Gosar, Hussain, and Shaikh 2019). A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) define, na sua Nota Técnica mais recente sobre o assunto, o polimorfismo como moléculas com mesma fórmula química, mas com diferentes estruturas cristalinas, levando a um uso mais amplo do termo, incluindo tanto as formas cristalinas anidras e solvatadas, assim como as ordenadas quanto as formas desordenadas, os amorfos (ANVISA 2017).

Devido a alteração da estrutura cristalina, existem alterações consequentes das propriedades físico-químicas dos materiais, como ponto de fusão, solubilidade, densidade, estabilidade física, estabilidade química e comportamento térmico, sendo a solubilidade o parâmetro mais frequentemente avaliado na literatura (ANVISA 2017; Bernstein 2007; Brog et al. 2013; Censi and Di Martino 2015; Ehiwe et al. 2016; Thakral et al. 2018; Yadav and Mohite 2020). Logo, é muito importante investigar todas as fases sólidas de um IFA, seu comportamento de interconversão e suas propriedades físico-químicas para a seleção da forma sólida adequada de um fármaco a ser utilizado em formulações.

Além da importância na determinação do polimorfo de maior relevância farmacêutica, também se faz importante o controle da forma polimórfica utilizada, sabendo-se que existe a possibilidade de interconversão das formas existentes mesmo em processamentos simples do fármaco na indústria farmacêutica (Alves de Santana et al. 2019). Nesse sentido, é importante fornecer evidências da presença ou ausência de

polimorfismo durante todo o processo, desde a obtenção do IFA, manuseio do mesmo, até as etapas de biodisponibilidade e estabilidade, o que pode ser proporcionado pela utilização de diferentes técnicas analíticas, como a difração de raios X de monocristal, difração de raios X de pó (PDRX), espectroscopia vibracional, análise térmica, estudos de estabilidade e perfis de solubilidade e dissolução, que são ferramentas fundamentais.

### Cocristal

Cocristais podem ser definidos como materiais cristalinos compostos de dois ou mais sólidos na mesma estrutura cristalina, com estequiometria definida (Shaikh et al. 2018), o que possibilita modificar propriedades físico-químicas como solubilidade, ponto de fusão, compressibilidade, estabilidade, biodisponibilidade e permeabilidade (Hiendrawan et al. 2016; Kumar and Nanda 2017; Vishweshwar, McMahon, Bis, et al. 2006). A ANVISA define cocristais como fármacos que são cristalizados com outras substâncias sólidas e neutras em condições ambientais, podendo ser cristalizados, inclusive, com outros fármacos (ANVISA 2017).

Os cocristais farmacêuticos podem ser considerados uma alternativa à modificação química da substância para sais, amorfos, solvatos ou outras formas polimórficas da droga. Esta abordagem possui vantagens em termos de uma ampla gama de possibilidades, ao variar o coformador, ou, por exemplo, possibilitando a modificação em materiais que não são ionizáveis, os quais não poderiam ser transformado em sua forma de sal, permitindo modulação das características estruturais do fármaco (Good and Naír 2009). É interessante salientar que o processo de cocristalização se assemelha ao processo de formação de sal, porém, enquanto na salinização ocorre transferência de carga entre os elementos constituintes do sal (moléculas ionizadas), o mesmo não ocorre na cocristalização, sendo, portanto, produto entre moléculas neutras (Sarmah et al. 2016; Vioglio, Chierotti, and Gobetto 2017).

Apesar da ampla variedade de propriedades físico-químicas que podem ser moduladas na formação de cocristais, como solubilidade, estabilidade, ponto de fusão, e propriedades mecânicas, tais como fluidez e compressibilidade, bem como propriedades farmacocinéticas, biodisponibilidade e permeabilidade (Karagianni et al. 2018; Karimi-Jafari et al. 2018), é possível verificar que, na literatura, o foco da pesquisa em cocristais

ainda se concentra mais na obtenção e caracterização estrutural de novos materiais do que na verificação das suas propriedades farmacêuticas ou de atividade farmacológica, o que acaba limitando os ensaios, em sua maioria, a testes de solubilidade (Fonseca and Nogueira 2018). Devido a essas possíveis melhorias nas propriedades farmacêuticas, já existem exemplos de cocrystal em avançada etapa de estudo, como na pesquisa clínica de fase III, ou já disponíveis no mercado, apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 - Resumo dos cocrystal em avançada etapa de estudo ou disponíveis no mercado e suas principais indicações (Fonte: Kavanagh et al. 2019; Yousef and Vangala 2019).

| <b>COCRISTAL</b>   | <b>INDICAÇÃO</b>   | <b>STATUS</b>             |
|--|--|---------------------------|
| LEXAPRO®, LINDBECK<br>(Oxalato de Escitalopram -<br>Ácido Oxálico) | Tratamento da depressão  | Mercado 2009              |
| ENTRESTO™, NOVARTIS<br>(Hidrato de Sacubitril -<br>Valsartana)     | Insuficiência cardíaca<br>crônica sintomática com<br>fração de ejeção reduzida | Mercado 2015              |
| SEGLENTIS®, ESTEVE<br>PHARMACEUTICALS<br>(Tramadol – Celecoxib)    | Tratamento da dor aguda,<br>combina opióide e AINE                             | Mercado 2021              |
| L-Ertiglifozin - Ácido<br>Piroglutâmico                            | Hiperglicemia em<br>diabetes melitus tipo 2                                    | Estudos Clínicos fase III |
| TAK-020  | Artrite reumatoide   | Estudos Clínicos fase I   |

De acordo com as informações acima é possível destacar o medicamento ENTRESTO™, o qual não apenas já está sendo comercializado, como, no ano de 2019, foi incluído na lista de medicamentos disponibilizados pelo Sistema Único de Saúde (SUS) (CONITEC 2019). Outro destaque é o cocrystal de Tramadol-Celecoxib, o qual já se encontra atualmente aprovado pelo FDA para disponibilização e comercialização no

mercado farmacêutico (SEGLENTIS®) (Almansa et al. 2017; López-Cedrún et al. 2018; Videla et al. 2017).

Tabela 2 - Exemplos de cocrystalis farmacêuticos patenteados e suas respectivas melhorias obtidas através da cocrystalização (Fonte: adaptado de THIPPARABOINA et al., 2016).

| <b>COCRISTAL</b>                   | <b>CATEGORIA<br/>TERAPEUTICA</b>  | <b>MELHORIAS</b>   |
|------------------------------------|-----------------------------------|--|
| Ácido acetilsalicílico<br>-teanina | AINE e<br>psicoativo              | Aspirina solúvel em água para<br>formulação intravenosa                    |
| Duloxetina-<br>naproxeno           | AINE e<br>antidepressivo          | Solubilidade e biodisponibilidade<br>melhoradas                            |
| Venlafaxina-<br>celecoxib          | AINE e<br>antidepressivo          | Higroscopia e estabilidade melhorados                                      |
| Cocrystalis de<br>ciprofloxacino   | Antibiótico                       | Solubilidade, dissolução e ação sinérgica                                  |
| Cocrystalis de<br>norfloxacino     | Antibiótico                       | Solubilidade, dissolução e ação sinérgica                                  |
| Cocrystalis de<br>mesalamina       | Antiinflamatório                  | Ação sinérgica e tempo de meia vida  |
| Quercetina-<br>metformina          | Antioxidante e<br>hipoglicemiante | Solubilidade, dissolução, estabilidade e<br>um maior potencial terapêutico |
| Telmisartan-<br>betabloqueadores   | Antihipertensivo                  | Efeito sinérgico e melhorias nas<br>propriedades físico-químicas           |
| Tramadol-<br>paracetamol           | AINE e<br>analgésico              | Solubilidade, biodisponibilidade,<br>estabilidade e ação sinérgica         |
| Tramadol-naproxeno                 | AINE e<br>analgésico              | Sabor mascarado, maior solubilidade,<br>estabilidade e ação sinérgica      |

Os cocrystalis de IFAs são formados com molécula do fármaco e molécula de coformador, em proporções estequiométricas, sendo o coformador uma substância sólida e neutra, se puro, à temperatura ambiente e em condições normais de pressão (ANVISA 2017; Shaikh et al. 2018; Steed 2013), podendo ser outro IFA ou uma substância com

classificação incluída no GRAS (*Generally Recognized As Safe*), de acordo com o FDA (Roberts and Haighton 2016), se tratando de substâncias que são seguras para utilização como formadores de cocrystal. Porém, apesar de as substâncias GRAS serem consideradas seguras, não significa que não possuam atividade farmacológica, devendo ser estudado, também, no momento da escolha do coformador a ser utilizado. Por todos os motivos citados anteriormente, verifica-se que o cocrystal não se trata de uma estrutura óbvia levando a diversas patentes, podendo ser de alto interesse industrial e de mercado farmacêutico (Berry and Steed 2017; Trask 2007), conforme destacado na tabela 3.

## 1.2. O desenho racional de formas sólidas

O *design* e a síntese de formas sólidas multicomponentes, como cocrystal, ganharam interesse significativo nos últimos tempos devido à sua aplicabilidade, conforme pode ser verificado no Gráfico 1, cujo exemplo foi retirado da base de dados de grande relevância para a área *Scopus* com a palavra-chave *cocrystal* em relação a todas as publicações existentes na base de dados nos mesmos anos. Conforme citado anteriormente, os cocrystal de produtos farmacêuticos demonstraram potencial para melhoria de propriedades físico-químicas em comparação com suas matérias-primas de origem. Logo, o entendimento de como esse desenho racional de fármacos pode ser aplicado como estratégia fundamental para obtenção de novas formas sólidas se torna peça importante no estudo de cocrystal, assim como a compreensão das ferramentas utilizadas para que tal *design* seja possível, como o estudo dos *synthons* e o papel da *Cambridge Structural Database (CSD)* nesse processo.

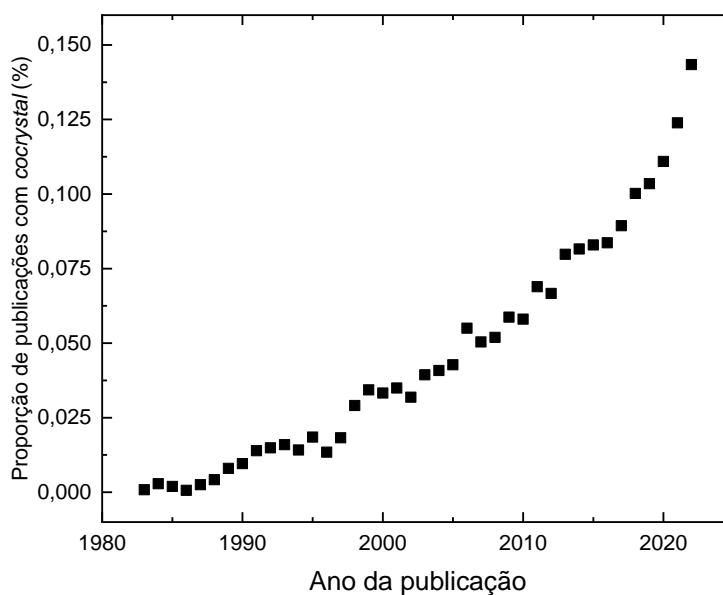


Gráfico 1 - Publicações com as palavras-chave *cocrystal* listados desde 1983 até 2022 na base de dados Scopus em razão do total de publicações na mesma base (Fonte: a autora).

### 1.2.1. *Synthon* supramolecular e o desenho racional de formas sólidas

O termo *synthon* é definido como as menores unidades de uma supramolécula. Os *synthons* são os responsáveis na formação de estruturas supramoleculares como um processo espontâneo, e não em etapas, devido ao mecanismo do reconhecimento molecular, o qual se dá quando um *synthon* reconhece outro e formam ligações não-covalentes que se ligam a unidades moleculares (Desiraju 2010; Vishweshwar, McMahon, and Zaworotko 2006). Para ilustrar essa explicação, a figura abaixo demonstra a relação entre um grupo funcional da PTX e um *synthon* supramolecular com grupo carboxílico de coformador, presentes nas estruturas dos ácidos benzóico (BZC) e salicílico (SAL).

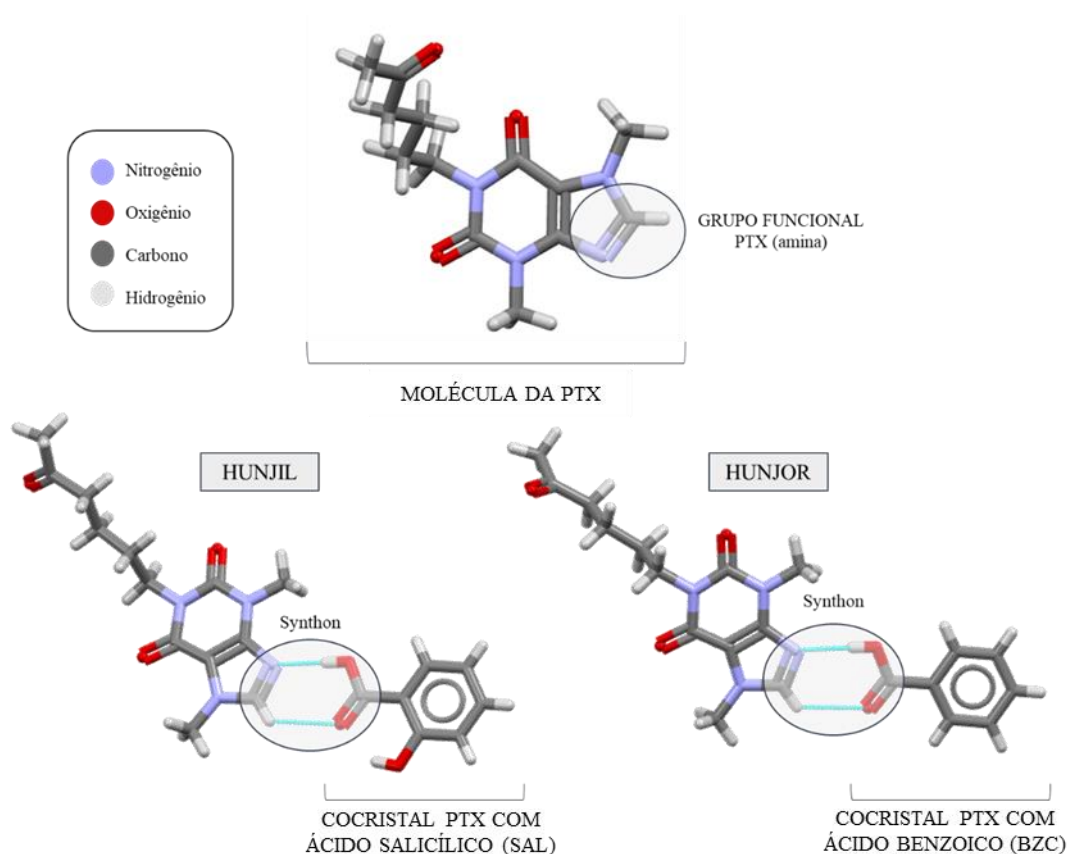


Figura 4 – Exemplo de *synthon* envolvido na formação de cocristais de PTX já elucidados na literatura – HUNJIL e HUNJOR (Stepanovs et al. 2015) – obtido através dos softwares ConQuest 1.20® e Mercury 3.10® (Fonte: A autora).

A Figura 4 representa a relação entre grupos funcionais formando um *synthon* supramolecular presente na estrutura cristalina do ácido benzoico e do ácido salicílico, cujos cocristais resultantes se encontram reportados na base de dados CSD sob os códigos de referência HUNJOR e HUNJIL, respectivamente. As moléculas de coformadores, portadoras de grupo funcional ácido carboxílico, com átomos doadores e aceptores de elétrons, conectados por estes, formam, desse modo, interações intermoleculares com o grupo funcional amina da PTX (Stepanovs et al. 2015).

O exemplo anterior se refere a apenas um dos grupos funcionais existentes na molécula de PTX, havendo outras possibilidades nos demais grupos funcionais apresentados. Devido ao potencial de interações intermoleculares que cada molécula pode exibir por apresentar diversos grupos funcionais, os quais são capazes de formar interações intermoleculares, o desenho racional requer a identificação destas interações



entre os grupos funcionais. Dessa forma, é possível a identificação dos *synthons* supramoleculares formados entre os grupos funcionais da molécula em estudo, os quais irão interagir através de ligações de hidrogênio e interações de Van Der Waals, por exemplo, formando uma nova estrutura cristalina, através de um mecanismo de *self-assembly* (Shan and Zaworotko 2010; Vishweshwar, McMahon, and Zaworotko 2006).

### 1.2.2. O papel do CSD e o desenho racional de fármacos

A *Cambridge Crystallographic Data Center (CCDC)* foi estabelecida no departamento de química orgânica da Universidade de Cambridge em 1965, e desenvolveu várias ferramentas que permitem pesquisas no *CSD*, que é o repositório mundial de estruturas de cristais orgânicos e metalorgânicos de pequenas moléculas. Contendo mais de um milhão de estruturas químicas e análises de difração de raios X, esse recurso exclusivo de estruturas 3D se tornou essencial para cientistas de todo o mundo. Tal ferramenta permite a aplicação acadêmica e na indústria na busca de novos medicamentos, novos materiais e uma maior compreensão dos fenômenos químicos e cristalográficos (CCDC 2019).

Sabendo-se que esta base de dados permite a identificação da frequência de ocorrência de *synthons* supramoleculares em distintos grupos funcionais já reportados na literatura científica, o primeiro passo em qualquer experimento de engenharia de cristais é analisar as estruturas cristalinas existentes pelo *CSD*, para verificação geral do que se encontra reportado, e através das informações sobre as possíveis ligações de hidrogênio intermoleculares, parte-se para a análise de frequência de ocorrência destes tipos de interações, auxiliando na identificação de *synthons* adequados (Shattock et al. 2008; Sinha and Aakeröy 2017).

Como foi verificado, a frequência de ocorrência de interações intermoleculares, assim como a identificação de potenciais *synthons* pode ser realizada com auxílio da base de dados *CSD*, lembrando que o processo ocorre por auto reconhecimento. Logo, para que seja possível o planejamento das interações entre as moléculas na estrutura cristalina, fazem-se necessárias ligações de natureza direcional, como as ligações de hidrogênio (Aakeröy and Seddon 1993; A. V Trask et al. 2005; Vishweshwar, McMahon, and Zaworotko 2006) de diversas intensidades são empregadas para descrever as interações

supramoleculares (Desiraju 1997). Esse *design* baseado em ligação de hidrogênio de redes moleculares surgiu como uma ferramenta poderosa na descoberta de formas sólidas, sendo a identificação de interações intermoleculares robustas, a partir dos *synthons*, importantes na montagem supramolecular (Bhattacharya, Peraka, and Zaworotko 2018)

O desenho racional de sólidos moleculares é derivado da compreensão dessas interações intermoleculares que prevalecem nesses sólidos (Desiraju 2010), visando à obtenção de formas sólidas com propriedades que favoreçam uma função específica, constituindo o campo da Engenharia de Cristais (Desiraju 2013). Ou seja, dentro da proposta *by design* a seleção de coformadores para a formação do cocrystal é realizada de forma racional, através do estudo das possíveis interações intermoleculares e àquelas com maior potencial para interagir, resultando em maior possibilidade de formação de formas sólidas (Bhattacharya et al. 2018; Desiraju 2005; Sinha and Aakerøy 2017).

### **1.3. Ingrediente Farmacêutico Ativo - Pentoxifilina**

Esta etapa traz algumas informações farmacêuticas e cristalográficas, relativas ao fármaco utilizado neste estudo: a pentoxifilina.

Pentoxifilina (PTX) ou 3,7-dimetil-1-(5-oxohexil)-xantina (Figura 5) é um fármaco derivado metilxantínico e inibidor não específico da fosfodiesterase, o qual aumenta a atividade AMP cíclica (AMPC) intracelular e o fluxo sanguíneo por redução da viscosidade, e diminui a transcrição de mediadores pró-inflamatórios. Devido a sua rápida e extensa absorção, uma das formas de veicular o fármaco PTX na clínica é realizada em comprimidos por via oral com liberação modificada (Referencia: Trental® 400mg) geralmente utilizado para tratar sintomas da dor muscular da doença arterial periférica e claudicação intermitente (Ma et al. 2018), sendo atualmente estudada como opção na terapia adjuvante para sepse neonatal e enterocolite necrosante (Speer et al. 2018; Stepanovs et al. 2015) e com perspectiva de ser explorada na terapia antineoplásica (Golunski, Woziwodzka, and Piosik 2018).

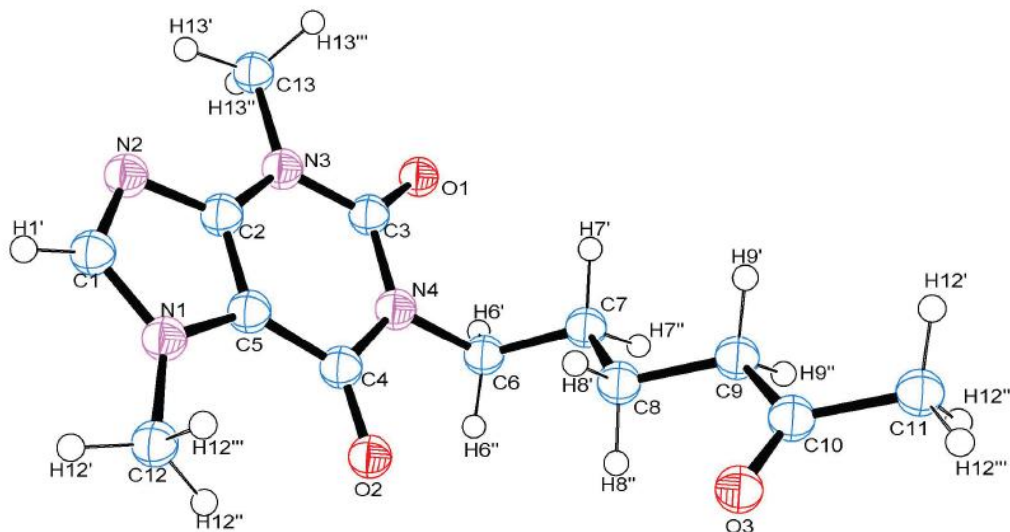


Figura 5 – Diagrama de ORTEP da PTX com as numerações de cada átomo, de acordo com JAKGEH (fonte: a autora - Software ORTEP).

Com massa molecular de 278,307 g/mol e fórmula estrutural  $C_{13}H_{18}N_4O_3$ , a PTX é descrita como um pó branco com solubilidade em água de 77000 mg/L a 25°C (Budavari et al. 1997), sendo bastante solúvel e que sofre efeito de primeira passagem (metabolização hepática) com 20% de biodisponibilidade (Varshosaz, Minayian, and Moazen 2010). Apesar de já haver conhecimento acerca de tais informações, a PTX ainda não possui classificação BCS (Ramirez et al. 2010). A Tabela 3 resume as principais diferenças de estrutura cristalina existentes entre os dois polimorfos reportados da PTX.

Devido ser altamente solúvel em meio aquoso e ter uma dose de ação situada entre 400 mg e 600 mg, há a necessidade de controle da liberação do medicamento no organismo, devido à alta metabolização de primeira passagem no fígado e devido aos efeitos adversos dose-dependente que ocorrem com a liberação imediata do medicamento no organismo (CLEARY et al., 1999; TZANKOV, 2019), possivelmente sendo interessante a modulação da solubilidade da PTX em meio aquoso, reduzindo-a para controle de liberação do material no cocrystal (Lee, Tang, and Chen 2014).

Outra propriedade da PTX passível de modulação através da cocrystalização se refere às suas características de fluxo. A PTX possui péssima fluidez e compressibilidade, fato este que já foi previamente estudado e reportado através de patentes tendo em vista

o grande potencial de inserção no mercado. A patente RU2229298C1 2003 cita que PTX não possui fluidez para obter comprimidos de boa qualidade diretamente, necessitando de substâncias auxiliares nesse sentido para viabilizar essa produção, além da patente JP2996702B2 2000 que descreve o interesse na produção de pellets de derivados xantínicos, dentre os quais a PTX, devido suas características de fluxo de pó. As características de fluxo da PTX também serão demonstradas experimentalmente no presente trabalho.

Tabela 3 - Diferenças de estrutura cristalina existentes entre os polimorfos da PTX reportados na literatura (Pavelčík et al. 1989; Stepanovs and Mishnev 2011).

|                      | Autores                  | F. Pavelcik, J. Sivy e E. Havranek | D. Stepanovsa e A. Mishnev |
|----------------------|--------------------------|------------------------------------|----------------------------|
| ESTRUTURA CRISTALINA | RefCode                  | JAKGEH                             | JAKGEH01                   |
|                      | Simetria                 | Triclínico $P\bar{1}$              | Monoclínico $P2_1/c$       |
|                      | a (Å)                    | 4,398 (1)                          | 9,743(6)                   |
|                      | b (Å)                    | 13,012 (42)                        | 17,410 (8)                 |
|                      | c (Å)                    | 13,453 (7)                         | 7,956 (3)                  |
|                      | $\alpha$ (°)             | 116,19 (43)                        | 90                         |
|                      | $\beta$ (°)              | 94,25 (3)                          | 90,89 (2)                  |
|                      | $\gamma$ (°)             | 93,53 (3)                          | 90                         |
|                      | Volume (Å <sup>3</sup> ) | 685,0 (4)                          | 1349,4 (12)                |
|                      | Z                        | 2                                  | 4                          |

A habilidade da PTX em formar cocristais, bem como pesquisa de polimorfismo, já vem sendo explorada recentemente, acompanhando o crescente interesse da literatura científica na cocrystalização. Inicialmente reportada em 1989 como um cristal triclínico com ponto de fusão em 105°C (Pavelčík et al. 1989), posteriormente reportada em 2011 com estrutura cristalina monoclinica e ponto de fusão em 92°C (Stepanovs and Mishnev 2011), apresentando, portanto dois polimorfos descritos na literatura, a PTX possui diversos cocristais reportados e elucidados.

Em 2012, reporta-se a formação de cocristais de PTX com furosemida, um ativo farmacêutico com propriedades diuréticas que é amplamente utilizada no controle da pressão arterial (Shah et al. 2018). Dentre os cocristais obtidos, tem-se um anidro, um hidrato e um solvato de acetona. Anos depois, em 2015, foi publicado um estudo que correlacionaria estudos *in situ* e estudos experimentais, trabalhando a predição de cocristais de PTX, verificando com sucesso a formação de cocristais com ácido acetilsalicílico, ácido salicílico e ácido benzoico em proporções equimolares (Stepanovs et al. 2015). Mais recentemente, em 2017, verificou-se a formação de cocristais de PTX utilizando compostos perfluorados como agentes coformadores (1,4 diiodotetrafluorbenzeno e 1,4 dibromotetrafluorbenzeno) (Choquesillo-Lazarte, Nemeč, and Cinčić 2017). Condição comum a todos os estudos realizados se refere à metodologia utilizada na produção de cocristais, resumindo-se a ativação mecanoquímica com adição de solvente, para obtenção do cocrystal, e evaporação lenta, para obtenção de um monocristal do cocrystal adequado para elucidação da estrutura, nos casos em que foi possível.

No presente trabalho, espera-se a reprodução de alguns dos cocristais já existentes e a produção de outros com maior variedade de coformadores, visando obter uma maior quantidade de cocristais, objetivando uma maior cartela de comparação entre os materiais, tendo em vista possíveis variações de propriedades físico-químicas e farmacotécnicas, além de correlacionar tais possíveis variações com propriedades encontradas nos coformadores responsáveis pela formação do cocrystal em análise, visando a oportunidade de visualizar se essa correlação existe e possibilitar um melhor critério no desenvolvimento de cocristais *by design*.

## 1.4. Objetivos

### 1.4.1. Objetivo Geral:

- Melhoria das propriedades de fluxo e modulação da solubilidade da pentoxifilina através do desenho racional de cocristais.

### 1.4.2. Objetivos Específicos:

- Realizar *screening* de polimorfos da PTX e estudar as respectivas correlações térmicas entre os polimorfos já existentes;
- Obter cocristais da PTX através de técnicas de simples execução;
- Elucidar as estruturas cristalinas dos materiais obtidos;
- Caracterizar as novas formas sólidas por meio de técnicas estruturais, espectroscópicas, microscopia e de análise térmica;
- Realizar estudo comparativo da solubilidade em água entre as matérias-primas e os cocristais obtidos;
- Realizar estudo farmacotécnico (fluidez e densidade) comparativo das matérias-primas e dos cocristais obtidos.

## CAPÍTULO 2 – MÉTODOS EXPERIMENTAIS

Para produzir bons cocristais de IFA, é necessário valer-se de diversas técnicas de preparo durante a triagem do estudo, além de técnicas de caracterização que determinem a composição e as propriedades daquele material, visando determinar as mudanças de características ocorridas durante e após os processamentos (Kumar and Nanda 2017; Thakuria et al. 2014). Neste capítulo a metodologia empregada para as orientações e cristalizações, assim como as técnicas de triagem e caracterização utilizadas, serão abordadas, visando a investigação mais detalhada das formas sólidas.

### 2.1 Análise de estruturas cristalinas existentes e *synthons*

A análise de estruturas cristalinas existentes foi realizada através do banco de dados estruturais da Cambridge (*CSD, Cambridge Structural Database*), onde foram encontrados dois polimorfos para a PTX, denominadas forma I (JAKGEH) e forma II (JAKGEH01), ambos anidros. Foram encontradas também as estruturas cristalinas de alguns cocristais de PTX: três cocristais com a furosemida como coformador (FEFYAS, FEFYEW e FEFYIA), um com o ácido acetilsalicílico (HUNJEH), um com o ácido salicílico (HUNJIL) e um com o ácido benzoico (HUNJOR). Todas as estruturas cristalinas foram visualizadas através do software Mercury, que faz parte do pacote da *Cambridge Crystallographic Data*, o qual também gera um difratograma de raios X por policristais a partir da estrutura determinada, viabilizando a comparação com as difrações experimentais.

Previamente à escolha dos coformadores realiza-se a seleção dos principais *synthons* da molécula-alvo. De acordo com o que se pode encontrar como potenciais locais para interação de hidrogênio, os principais *synthons* visualizados se encontram na Figura 6.

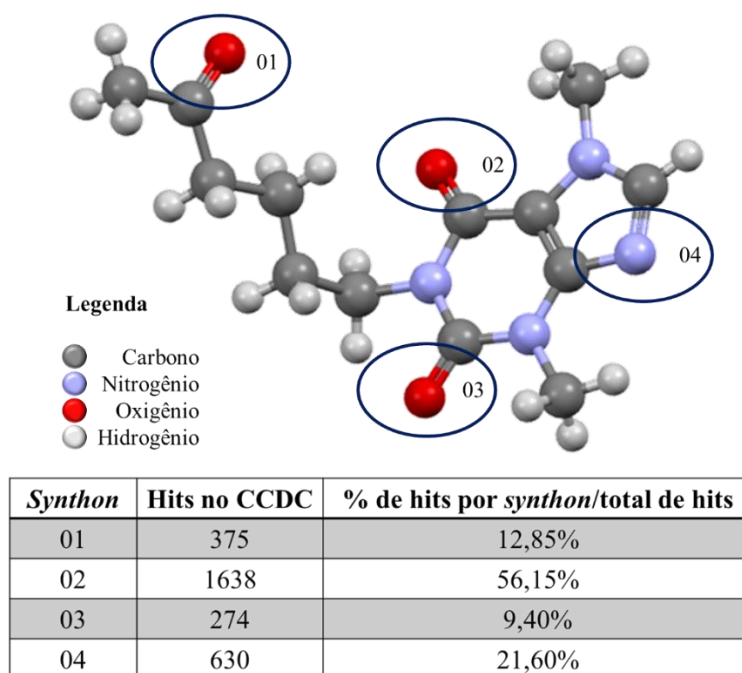


Figura 6 - Hits encontrados no CCDC para os *synthons* correspondentes da molécula de PTX (Fonte: a autora).

No resultado apresentado para os hits, buscou-se uma possível interação com ácidos carboxílicos devido os mesmos representarem um dos grupos funcionais mais onipresentes na engenharia de cristal e nos IFAs comercializados, além de serem materiais auto complementares porque possuem um doador de ligação de hidrogênio e um aceptor, geralmente com uma geometria que facilita a auto associação através de *homosynthons* supramoleculares (Weyna et al. 2009). Ou seja, a escolha de ácidos carboxílicos como coformadores foi motivada devido a facilidade na obtenção de novas formas sólidas destes materiais com a PTX através de metodologias de simples execução, facilitando o escalonamento necessário para os demais estudos.

## 2.2 Cocrystalização

A cristalização é um processo de purificação amplamente utilizado na síntese de fármacos, resultando em um produto final cristalino através da nucleação, crescimento de cristais e aglomeração. A nucleação do cristal é a formação de novas entidades cristalinas em uma fase líquida supersaturada e, portanto, em grande parte responsável pela distribuição final do tamanho do cristal (Briuglia, Sefcik, and ter Horst 2019). A medida que o solvente vai evaporando e o material vai supersaturando, inicia-se o processo de



nucleação e tais núcleos darão origem aos cristais. A cocrystalização se refere ao processo de cristalização do fármaco com o coformador de escolha.

Existem diversos métodos utilizados para a cocrystalização de fármacos, incluindo evaporação lenta de solvente, moagem do produto no estado sólido, reação de precipitação, adição de anti-solvente, *slurry*, fluido supercrítico, cocrystalização assistida por ultrassom, entre outras metodologias, cada uma com suas respectivas vantagens e desvantagens (Rodrigues et al. 2018). Cada metodologia apresenta variações em termos da termodinâmica do processo de nucleação correspondente ao processamento do material, podendo resultar em produtos com propriedades diferentes através da simples mudança no método utilizado.

Tendo em vista no presente trabalho apenas duas principais metodologias terem sido utilizadas, a evaporação lenta do solvente e moagem, a seco ou com auxílio de solvente, apenas estas duas metodologias serão descritas nas seções a seguir.

### **2.2.1 Evaporação Lenta**

A Evaporação Lenta (EVL) é uma metodologia que se baseia na dissolução do fármaco e do coformador em um mesmo solvente ou mistura de solventes, com o objetivo de, durante a evaporação do solvente, o cocrystal desejado seja formado lentamente, visando obter um cristal adequado para as análises subsequentes (Figura 7) (Rodrigues et al. 2018). É uma técnica que depende de diversos fatores, como: evaporação, total ou parcial, sob redução lenta ou rápida da temperatura de uma solução saturada, sob congelamento ou não do solvente, bem como precipitação por adição de componentes reativos, como solventes que reduzam a solubilidade (antissolvente) (Sheikh et al. 2009).

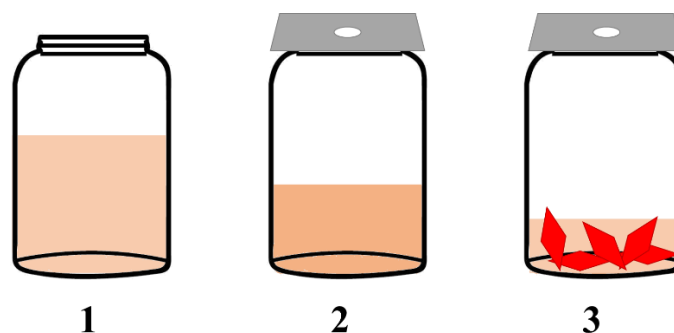


Figura 7 - Esquema representativo da EVL com as etapas que demonstram o material solubilizado (1), o frasco tampado, com um furo que permita passagem de solvente com material já evaporando (2) e a formação de cristais (3) (Fonte a autora).

O sucesso da EVL depende fortemente da escolha do solvente, da natureza das impurezas presentes e das condições de crescimento (Chow et al. 2008), tornando sua reprodutibilidade mais condicionada a fatores menos simples de serem controlados, tendo como principal condição a solubilização completa dos sólidos no solvente. Tendo em vista que, caso haja diferença de solubilidade considerável, o material menos solúvel pode precipitar e resultar em uma mistura de sólidos no frasco com possíveis cocristais, ou até levar a ausência de cocrystalização, aumentando a possibilidade de falha no objetivo da formação do cocrystal (Barikah 2018; Blagden et al. 2007).

Por ser uma técnica tradicional e, além disso, ampliar as chances de formação de um material monocristalino devido a tendência de cristalização em um material, seja polimorfo ou cocrystal, mais estável, vários artigos na literatura utilizam essa técnica, solubilizando o material em diversos tipos de solventes: etanol (Cruz, Rocha, and Ferreira 2019; Yuliandra et al. 2018), metanol (Weyna et al. 2009), acetato de etila (Park et al. 2019; Zeng et al. 2017), acetona (Pan et al. 2019), álcool isopropílico e misturas de solventes (acetona/etanol, acetonitrila/etanol, acetonitrila/metanol, isopropanol/água) (do Amaral et al. 2018; Souza et al. 2018), viabilizando os diversos resultados obtidos.

### 2.2.2 Ativação Mecanoquímica

Nesse processo, os cocristais são formados por uma reação mecanoquímica que se define como uma reação química induzida exclusivamente pela energia mecânica, a qual pode ocorrer a seco (DAG) ou com adição de solvente (LAG), onde o mesmo é

adicionado em baixas quantidades visando mediar a reação química, agindo puramente como um catalisador. Devido a reduzida utilização de solvente nessa metodologia, principalmente quando comparado a EVL, seria um método de menor impacto ecológico, além da vantagem de ser mais facilmente reprodutível e escalonada, com condições mais bem controladas e com resultados mais rapidamente obtidos (Douroumis et al. 2017; Trask, Motherwell, and Jones 2004).

O uso de diferentes solventes e/ou estequiometrias nos métodos de moagem poderá conduzir a uma maior variação na produção de novos materiais cristalinos, ou até ser utilizada para avaliar a tendência do IFA em mudar de forma cristalina ou tornar-se amorfo (Rodrigues et al. 2018). Ambas as vias serão utilizadas por conta de possibilidade de apresentação de diferentes resultados, já descritos anteriormente, por conta das características específicas de cada uma delas.

Alguns exemplos recentes encontrados na literatura com a utilização dessa metodologia são descritos não apenas na obtenção de cocrystalis, porém verificada também na obtenção de polimorfos (Cruz et al. 2019; de Oliveira et al. 2018). Além disso, é uma técnica que, quando utilizada com auxílio de solvente, amplia ainda mais o leque de possibilidades: metanol, acetato de etila, DMSO, água, tolueno, ciclohexano, clorofórmio, DMF (do Amaral et al. 2018; da Silva et al. 2019; Weyna et al. 2009) e acetonitrila (Zeng et al. 2017).



Figura 8 - Moinho de bolas (esquerda) e acessórios, como jarros e bolas de diversos materiais (direita) retirado do site da Retsch.

Em suma, tradicionalmente falando, as técnicas de preparação de cocrystalis envolvem evaporação de solvente de uma solução ou moagem. Tais preparações que

trabalham com a evaporação de solvente apresentam diversas dificuldades no que concernem ao controle da evaporação, da melhor escolha do solvente e outros parâmetros experimentais, como temperatura e umidade. Mais recentemente, algumas técnicas como moinho de bolas têm sido utilizadas como metodologia para escalonamento de cocristsais para processamento industrial (do Amaral et al. 2018; Souza et al. 2018).

Em se tratando da situação do presente trabalho, as técnicas descritas foram utilizadas devido às particularidades de cada uma: LAG e DAG, devido ser uma técnica mais facilmente reproduzível e possível de obter material em maiores quantidades, necessário para análises que serão realizadas, além de se tratar de uma metodologia que utiliza baixa quantidade de solvente; e EVL, devido ser uma das poucas metodologias disponíveis que há maior probabilidade de resultar em um cristal de qualidade, um monocrystal, possibilitando elucidação da estrutura cristalina.

## **2.3 Métodos de caracterização**

A investigação e a caracterização estrutural de formas sólidas farmacêuticas requerem o emprego de vários métodos e técnicas que possibilitem a aquisição de dados estruturais, termodinâmicos e farmacêuticos diversificados e complementares. Ou seja, as técnicas utilizadas para identificar e caracterizar um material são técnicas que fornecem resultados apenas em conjunto com outras técnicas, com o objetivo de assegurar o resultado obtido e driblar os desafios de caracterização e quantificação de misturas sólidas, determinação de impurezas e monitoramento *in situ* de processos de cristalização e reações de estado sólido (Pindelska et al. 2017).

### **2.3.1 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)**

A microscopia eletrônica é, em comparação com a ótica, menos limitada em termos da razão de aumento para o trabalho (em torno de 600x), sendo um excelente instrumento para análise de superfície, porosidade, dimensões reais, entre outros, do material particulado (Grubb 2012).

#### Equipamentos utilizados e preparo da amostra:

A morfologia das amostras foi observada através de um microscópio eletrônico de varredura com campo de alta resolução pelo equipamento FEI Quanta 450 FEG operado em ambiente de vácuo. Foram trabalhados os aumentos de 600x e 2500x.

### **2.3.2 Difratoogramas de raios X (DRX)**

A difração de raios X (DRX) é a maneira mais clássica e confiável de analisar as formas cristalinas, sendo considerada metodologia padrão ouro. Pode ser utilizada para distinguir estado cristalino e estado amorfo, monitorar processos de amorfização, identificar polimorfismos, misturas físicas, cocrystalização, impurezas e determinar a estrutura cristalina de um material, na determinação dos parâmetros de rede, entre outros. Os métodos de DRX podem ser divididos em dois tipos: difração de raios X de pó (PDRX) e difração de raios X de monocristal (SCDRX). Essas técnicas são de grande importância na caracterização e identificação de sólidos farmacêuticos. A SCDRX é utilizada rotineiramente para a elucidação da estrutura cristalina de cocrystalais, enquanto a PDRX é amplamente utilizada para identificações em geral, partindo do princípio de que haverá diferenças entre os picos do padrão de difração das matérias-primas para o cocrystal resultante (Ehiwe et al. 2016; Iwashita 2016; Lodge 2017)

Quando cristais de qualidade adequada (monocristalino) são obtidos, é possível realizar a determinação estrutural do composto através da SCDRX, que fornece diretamente o resultado do empacotamento e conformação das moléculas, inclusive informações das interações intra e intermoleculares, cela unitária e parâmetros do cristal, sendo dados extremamente importantes na elucidação do sólido cristalino formado (Cunha 2008), através do fornecimento de informações sobre o arranjo tridimensional completo, com posições atômicas e empacotamento de moléculas na cela unitária (Healy et al. 2017). O maior problema relativo a essa técnica é que geralmente monocristais adequados para a medida são difíceis de serem obtidos (Kumar and Nanda 2017).

A determinação da estrutura a partir da SCDRX ou PDRX objetiva o estabelecimento da distribuição da densidade eletrônica, que se referem às posições atômicas, e isso resulta em diferentes intensidades de difração a partir dos dados experimentais. Ou seja, ambas as técnicas fornecem a mesma informação estrutural, porém no caso da SCDRX as intensidades da difração são distribuídas no espaço tridimensional, enquanto no DRX os dados são projetados em apenas duas dimensões,

havendo, portanto, sobreposição de informação. Como consequência dessa redução de informação disponível no PDRX, têm-se as dificuldades e limitações de complexidade e tamanho das estruturas que podem ser determinadas a partir de dados de difração de pó (Healy et al. 2017; Lodge 2017). Alguns programas permitem a própria determinação da estrutura cristalina baseada no padrão de difração de pó através da análise de Rietveld (Karagianni et al. 2018; Will 2006).

Já a PDRX é uma técnica de difração que fornece um padrão na forma de uma série de picos detectados em ângulos de espalhamento característicos de cada substância, constando, inclusive, no livro de padrões públicos farmacopeicos da Farmacopeia dos Estados Unidos (USP) e na Farmacopeia Brasileira 6ª edição (Elbagerma et al. 2010; A. V Trask et al. 2005). Faz-se possível, inclusive, quantificar o cocrystal analisado em uma mistura de materiais para, por exemplo, monitorar a formação do cocrystal por ativação mecanoquímica e visualizar a proporção remanescente de fármaco e coformador em relação ao cocrystal produzido (Karagianni et al. 2018). O padrão de difração de raios X obtido do equipamento é utilizado para comparação entre o cocrystal obtido e os padrões dos materiais de origem, indicando a formação do cocrystal ou não (Kumar and Nanda 2017).

#### Equipamentos utilizados e preparo da amostra:

O difratômetro de monocristal foi utilizado para elucidação estrutural das novas formas sólidas de PTX e se encontra no Laboratório de Cristalografia Estrutural, do Departamento de Física da UFC. A coleta de dados de difração de raios X de monocristal ( $\varphi$  scans e  $\omega$  scans com  $\kappa$  deslocamentos) foi realizada em um difratômetro D8 VENTURE (Bruker-AXS) equipado com um goniômetro Kappa, detector PHOTON II CPAD e utilizando radiação monocromada de  $\text{CuK}\alpha$  INCOATEC I $\mu$ S 3.0. Os dados de intensidade foram coletados a temperatura ambiente, cerca de 298K. Determinação de cela unitária, refinamento de parâmetros celulares e aquisição de dados foram feitos com o software APEX3 (Bruker AXS Inc 2018). O software Saint v8.34A foi aplicado para aquisição, indexação, integração e dimensionamento e reflexões de Bragg. Os parâmetros de cela finais foram obtidos utilizando todas as reflexões. Não foi aplicada correção de absorção. A estrutura foi resolvida usando o Olex2 com o programa de resolução de

estruturas ShelXT (George M. Sheldrick 2015) usando métodos diretos e refinado com o pacote de refinamento ShelXL (George M Sheldrick 2015) usando mínimos quadrados.

A amostra foi selecionada através do auxílio de uma lupa de aumento com luz polarizada, objetivando encontrar um cristal monocristalino, não trincado, limpo e com tamanho suficiente para a análise no equipamento. Os cristais selecionados foram limpos com um pouco de óleo de imersão e o material foi grudado no porta amostra do equipamento e ajustado para a leitura.

A maior parte das análises de PDRX foi obtida no mesmo equipamento para o SCDRX, porém com a integração dos anéis difratados em radiação monocromada de cobre coletados a temperatura ambiente. A amostra foi lida utilizando uma faixa de  $2\theta = 5^\circ$  a  $45^\circ$ . A amostra para PDRX foi preparada através da trituração do material em um gral e pistilo de ágata e uma pequena porção foi inserida no porta amostra. O material foi submetido a radiação e os anéis do material policristalino foram coletados e transcritos para um padrão de difração de pó. Os arquivos em .raw foram convertidos na extensão .xy e os gráficos foram plotados e analisados no software OriginPro 2018. Em outros casos, o equipamento adequado para PDRX foi utilizado, com padrões de difração de pó gravados em um difractômetro D8 Advanced Bruker AXS equipado com um goniômetro teta/teta, operando em geometria de Bragg-Bentano em fonte de radiação de  $\text{CuK}\alpha$  e um detector LynxEye. A voltagem e corrente aplicadas foram 40 kV e 40 mA, respectivamente. A abertura da fenda para incidência do feixe na amostra foi configurada para 0,2 mm. As amostras foram escaneadas na faixa  $2\theta$  de 5 a  $40^\circ$  no modo de análise contínua, sob uma taxa de 1 deg/min.

### **2.3.3 Análise Térmica**

A análise térmica se refere a um grupo de técnicas que apresentam as mudanças físicas ou químicas nas amostras de acordo com a modificação da temperatura versus tempo (aquecimento, resfriamento, ciclos alternados, isoterma) em uma atmosfera controlada (Karagianni et al. 2018), sendo, portanto, determinado o comportamento térmico em função da temperatura. Tendo em vista que cada composto puro apresenta um comportamento característico, é uma técnica muito utilizada na verificação de pureza, polimorfismo, solvatação e interação entre componentes. Massa, calor, fluxo de calor, entalpia, são exemplos de propriedades analisadas. Para caracterização dos cocristais,

análise termogravimétrica (TG) e Calorimetria Diferencial Exploratória (DSC) são as técnicas mais utilizadas, geralmente acompanhada da microscopia em estágio quente (HSM) (WAGNER, 2017). Salienta-se que existe um equipamento de Análise Térmica Simultânea (STA), o qual corresponde a um sistema de DSC acoplado a um TG. Abaixo, uma pequena introdução relativa ao uso do TG, DSC e HSM na caracterização de cocristais é apresentada.

A TG é uma técnica que analisa as variações na massa da amostra conforme aquecimento ou resfriamento da mesma, sendo muito útil desde a determinação quantitativa de conteúdo volátil de um sólido, como na liberação de um solvente por um solvato ou hidrato, permitindo as distinções entre formas solvatadas e anidras, até na avaliação da degradação térmica de uma amostra (Silva et al. 2015), assim como possibilita enxergar eventos de oxidação ou sublimação, visualizadas através do ganho ou perda de massa, respectivamente. Logo, estabilidade térmica, compatibilidade e pureza de cocristais podem ser preditos com TG (Kumar and Nanda 2017).

A técnica DSC tem sido utilizada para a caracterização e para o *screening* da formação de cocrystal. As amostras (IFA, coformador, mistura física ou cocristais) são pesadas em cadinhos de alumínio e analisadas sob taxa de aquecimento variável (0,5 a 20°C/min, por exemplo) utilizando um cadinho vazio como referência, sob atmosfera de nitrogênio em fluxo constante para manter a atmosfera inerte (Alves de Santana et al. 2019; Kumar and Nanda 2017). O equipamento fornece informações acerca de ponto de fusão, transição vítrea, polimorfismo, eutetização, cristalinidade, entalpia, comportamento endotérmico e exotérmico, cujos dados são úteis na determinação de propriedades físico-químicas do material caracterizado (Karagianni et al. 2018). Em relação ao *screening* da formação de cocrystal, o mesmo ocorre através da construção de um diagrama de fase binário. A visualização de picos exotérmicos seguidos dos endotérmicos no espectro de DSC, indicando a possibilidade de formação de cocrystal, sendo uma técnica que utiliza pouco material e que fornece resultados rápidos (Kumar and Nanda 2017; Wagner 2017).

O HSM se refere a combinação de técnicas de análise térmica e microscopia, com o objetivo de estudar as características físicas dos materiais na sua forma sólida em função da temperatura *versus* tempo, enquanto possibilita visualizar ou até filmar os



acontecimentos em tempo real. Dessa forma, alterações térmicas no material, como ponto de fusão, faixa de fusão, crescimento de cristal, transformações polimórficas, entre outros eventos, podem ser visualizadas. O sistema de HSM permite o controle da temperatura de aquecimento do material, o qual é inserido em uma lamínula de vidro e visualizada através do microscópio, possibilitando, inclusive, ser utilizado para formação *in situ* de cocristais. O instrumento de HSM pode ser combinado com outros aparatos, como, por exemplo, aos equipamentos de Infravermelho, Raman ou DSC (Karagianni et al. 2018).

#### Equipamentos utilizados e preparo da amostra:

As curvas de Análise termogravimétrica (TG) e calorimetria diferencial exploratória (DSC) foram obtidas utilizando um equipamento de análise térmica simultânea (STA) Jupiter 449 da Netzsch e DSC 200 F3 Maia da Netzsch. Cerca de 5mg de amostra foi posta em um cadinho de alumínio selado e com um furo na tampa. Experimentos foram realizadas na faixa de trabalho de 30°C a 350°C a taxa de 5 °C/min ou a 1 °C/min, conforme necessidade. Os sensores e o cadinho foram submetidos a constante fluxo de nitrogênio (50mL/min ou 70mL/min) durante os experimentos.

Para a aquisição de imagens com a utilização da termomicroscopia, foi utilizado um microscópio Leica DM2500P conectado a uma plataforma com estágio a quente (*hotstage*) Linkam THMS600. Os dados foram visualizados utilizando o software Linksys 32 para o controle do *hotstage*. A PTX obtida sem tratamento prévio foi submetida a temperatura de 120°C entre duas lamínulas de vidro de 13mm, localizada em um bloco aquecedor com um anel de prata de 22 mm de diâmetro e situadas dentro do estágio. A amostra foi deixada para resfriamento e recristalização durante tempo necessário em temperatura ambiente.

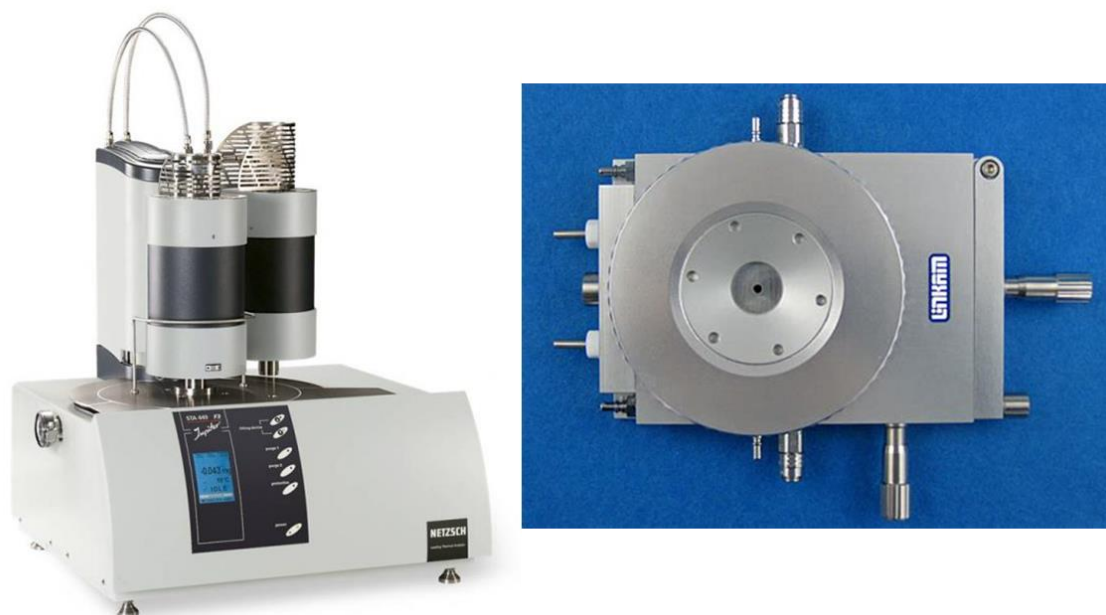


Figura 9 - Equipamento de STA (esquerda) e HSM (direita) utilizado nos experimentos pertencentes ao LabCrEs (Fonte: Netzch e Linkam).

### 2.3.4 Espectroscopia Vibracional

A espectroscopia vibracional é usada para estudar vários tipos de amostras, sendo utilizada desde para um simples teste de identificação a uma análise profunda, inclusive qualitativa e quantitativa. As amostras podem ser examinadas a granel ou em quantidades microscópicas em uma ampla faixa de temperaturas e estados físicos, em um rápido tempo de análise. Essa versatilidade tem levado em parte à substituição gradual de técnicas analíticas conservadoras mais demoradas, como a cromatografia gasosa, a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), ressonância magnética nuclear (RMN) e espectroscopia de massa (MS), pelas ferramentas analíticas mais específicas e ambientalmente compatíveis da espectroscopia vibracional (Das and Agrawal 2011; Garrigues and de la Guardia 2015).

Uma das espectroscopias vibracionais mais amplamente utilizadas e que será aplicada no presente trabalho é a de Infravermelho, a qual se refere ao estudo da interação da radiação com as vibrações moleculares. As absorções no infravermelho (IR) e Raman proporcionam informações complementares acerca das vibrações moleculares: enquanto a absorção IR verifica atividade de bandas polares, como O-H ou N-H, sendo utilizada

para identificação de grupos funcionais de moléculas, o espalhamento Raman é ativo para bandas mais apolares, como C=C, S-S, sendo utilizada para identificação do esqueleto estrutural. As bandas vibracionais IR e Raman são caracterizadas por sua frequência (energia), intensidade e formato da banda (ambiente das ligações). As frequências dessas vibrações moleculares dependem das massas dos átomos, de seu arranjo geométrico e da força de suas ligações químicas. As duas abordagens diferentes são usadas para a interpretação da espectroscopia vibracional e elucidação da estrutura molecular de forma complementar (Larkin 2017).

A técnica de IR é particularmente importante na identificação de formas polimórficas e cocristais, requerendo uma pequena quantidade de amostra e quase nenhuma preparação prévia, reduzindo os riscos de transição em polimorfos metaestáveis. O IR pode ser classificado de acordo com a faixa de absorção como IR médio (MIR) de 4000–400  $\text{cm}^{-1}$ , IR próximo (NIR) de 14000–4000  $\text{cm}^{-1}$  ou IR distante (FIR) de 400–10  $\text{cm}^{-1}$  (Karagianni et al. 2018; Karimi-Jafari et al. 2018; Kumar and Nanda 2017). O estudo simultâneo do espectro dos componentes individuais e do produto final cocrystal é uma ferramenta importante na detecção da cocrystalização e auxiliar na elucidação das estruturas. O cocrystal resulta em um espectro diferente em relação aos espectros dos materiais de origem apenas misturados devido a presença de ligações de hidrogênio, especialmente quando o ácido carboxílico é utilizado como coformador e quando uma ligação de hidrogênio do tipo O-H...N é formada, apresentadas como picos grande intensidade no espectro. Essa técnica é sensível a mudanças na forma cristalina, sendo importante para detecção de polimorfismo também por comparação entre os espectros dos materiais (Karagianni et al. 2018; Karimi-Jafari et al. 2018).

#### Equipamentos utilizados e preparo da amostra:

As análises de infravermelho realizadas em um espectrômetro de transformada de Fourier VERTEX 70 da Bruker Optics, com detector DTGS, através de um acessório de Refletância Total Atenuada (FTIR-ATR), sob um cristal de ZnSe, com os espectros obtidos na faixa de 4000 a 400  $\text{cm}^{-1}$ , com uma média de 128 varreduras e resolução de 2  $\text{cm}^{-1}$  sob atmosfera de baixa pressão (vácuo). Não houve preparo específico das amostras antes da análise; o material foi analisado conforme foi obtido.

### 2.3.5 Análise de interações intra/intermoleculares

A superfície de *Hirshfeld* (HS) objetiva definir o espaço ocupado por uma molécula de um cristal com a finalidade de repartir a densidade dos elétrons do cristal nos fragmentos moleculares, se tratando, portanto de uma superfície que trabalha simulando as densidades eletrônicas dos fragmentos moleculares. O artigo original de *Hirshfeld* que demonstrava a partição atraiu cerca de 351 citações desde sua publicação até cinco anos depois (2009 a 2014), porém nos últimos cinco anos (2015 a 2020), já existem 1744 citações, demonstrando o interesse crescente em explorar a definição, principalmente, de um fragmento atômico em uma molécula e suas interações intermoleculares Gráfico 2 (Seth et al. 2011; Spackman and Jayatilaka 2009).

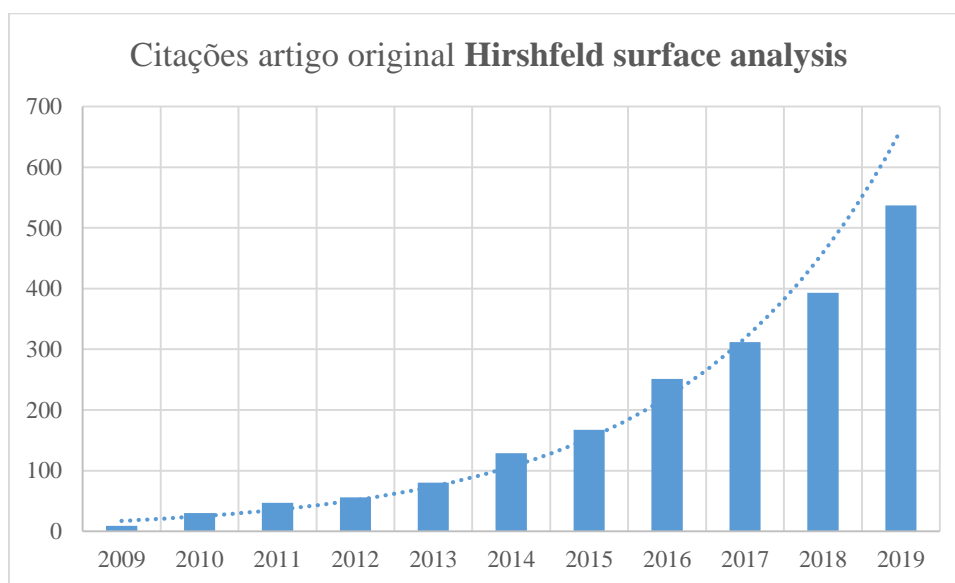


Gráfico 2 - Publicações que citaram o artigo original de Hirshfeld a partir do ano da sua publicação, 2009. Dados retirados do WebOfScience (Fonte: a autora).

A HS se refere a distâncias de equilíbrio entre as moléculas ou fragmentos moleculares, onde não há sobreposição de densidade eletrônica, ou seja, essa isosuperfície envolve a molécula e define o volume de espaço onde a densidade eletrônica da molécula excede a das moléculas vizinhas e traça a superfície no limiar onde se verifica um equilíbrio entre essas moléculas. Isso garante máxima proximidade dos volumes moleculares das moléculas vizinhas, sem haver sobreposição entre eles. Existem outras metodologias para estudo de superfície molecular, como a superfície de Van der Waals, porém estas outras análises são delineadas apenas pela própria molécula, enquanto que a

HS é definida pela molécula e a proximidade dos seus vizinhos, e, portanto, codifica a informação sobre as interações intermoleculares (McKinnon, Spackman, and Mitchell 2004).

Essas informações podem vir apresentadas em diversas formas de mapeamento da superfície. Este índice de mapas sobre a HS pode ser utilizado para identificar cavidades complementares (vermelho) e saliências (azul) em que duas superfícies moleculares tocam uma à outra. O mapa de curvatura é uma função que mostra tipicamente grandes regiões verdes, indicando superfícies relativamente planas, separadas por bordas azuis escuras, representando grandes curvaturas positivas. Estes padrões de triângulos na superfície do índice de formato são diagnósticos de interações do tipo  $\pi \cdots \pi$ , demonstrando outro importante uso da análise de *Hirshfeld* no estudo das interações moleculares (McKinnon et al. 2004; Spackman and Jayatilaka 2009).

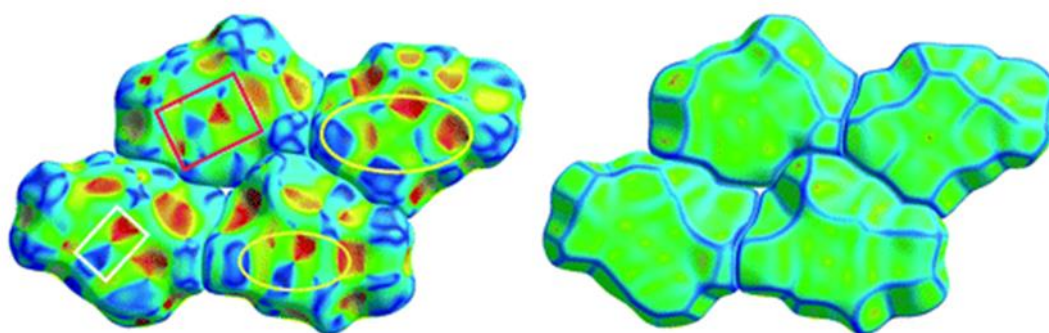


Figura 10 - Superfícies de *Hirshfeld* demonstrando interações  $\pi \cdots \pi$  (esquerda – *shape index*) e análise de curvatura (direita - *curvedness*) (Fonte: Spackman and Jayatilaka 2009).

Distâncias da HS para o núcleo mais próximo no interior da superfície (ou interna, di) e a superfície exterior (ou externa, de) foram as primeiras funções de distância exploradas para mapeamento sobre as superfícies, conhecida como *fingerprints*, que, em suma, se tratam da análise da HS (3D) plotada em versão de duas dimensões, ou seja, é a "impressão digital" da HS, demonstrando as interações em função dos valores de distância (McKinnon et al. 2004).

### 2.3.6 Solubilidade

Usualmente, a engenharia de cristais aplicada a modulação de solubilidade e taxa de dissolução de um IFA é majoritariamente voltada para o aumento desses valores, com poucos trabalhos direcionados para o declínio de tais características (Kuminek et al. 2019; Liu et al. 2021). Em todos os casos, a importância do estudo de solubilidade para produtos farmacêuticos é inquestionável (Yu et al. 2020). No presente trabalho, foram utilizadas as técnicas envolvendo UV-Vis e CLAE como metodologias para leitura da solubilidade.

Foi verificado o perfil no espectro UV-Vis da PTX e de cada coformador, possibilitando verificar se há interferência entre as bandas a serem analisadas. A curva de calibração foi produzida utilizando uma solução com concentração conhecida de PTX. A partir dessa solução alíquotas de 50, 100, 150, 200 e 250  $\mu\text{L}$  foram retiradas e então diluídas com água destilada dentro de balões volumétricos de 10 mL. A água destilada foi utilizada como branco e as medidas UV-Vis foram registradas em varredura de comprimento de onda entre 200 e 400 nm em um Spectronic Genesys 10S UV-Vis com cubeta de quartzo de 1 cm de caminho ótico. A curva de calibração foi calculada considerando o comprimento de onda da absorção máxima (274 nm para a PTX).

Os estudos de solubilidade foram realizados dissolvendo 2,0 g a 5,0 g de cada forma sólida em 20 mL de água, mantendo o material sob agitação constante com uma barra magnética em banho maria com temperatura mantida em 30 °C por 24h. As alíquotas foram retiradas em intervalos de tempo regulares (5, 10, 15, 30, 45, 90, 120 e 1440 min) e filtradas usando filtros de nylon de 0,45  $\mu\text{m}$ . Os filtrados foram imediatamente diluídos apropriadamente em água. A concentração foi calculada utilizando a curva de calibração previamente determinada pelo registro da absorção UV-Vis em comprimento de onda a ser verificado de acordo com os ensaios. As medições de solubilidade foram feitas em triplicata.

### 2.3.7 Determinação de Fluidez e Densidade dos pós

As matérias-primas farmacêuticas podem ser encontradas nas mais diferentes formas e estados, sendo uma das mais comuns à sua forma sólida, em pó. O processamento de tal material é amplamente dependente do fluxo e compressibilidade dessas partículas. Diversos processos como os de revestimento de partícula e formação

de grânulos são utilizados para a melhoria dessas propriedades, resultando em materiais com melhores propriedades físicas em comparação com a sua forma original. Cocristais farmacêuticos podem oferecer vantagens potenciais em comparação com o IFA, inclusive melhorias nas propriedades de fluxo (Karimi-Jafari et al. 2018).

Sabe-se que não há uma metodologia específica padrão para medida de fluidez de um pó. A fluidez é caracterizada por medidas combinadas das propriedades do pó e condições locais de fluxo (Divya et al. 2019). Portanto, utilizamos metodologias adaptadas válidas apenas para as comparações dentro do grupo de material trabalhado, tendo em vista utilizar as mesmas condições. Índice de Carr e Fator de Hausner são formas fáceis, rápidas e muito utilizadas para predizer as características de fluxo de um material. É a medida indireta para tamanho, forma, densidade, área de superfície, umidade e coesão dos materiais investigados. Além disso, a resistência ao movimento das partículas é calculada através das medidas de ângulo de repouso dinâmico e estático, dando uma imagem qualitativa dos fatores coesivos e de atrito (Mashhadi et al. 2021). Uma das formas de avaliar o sólido em termos de fluidez é avaliando o ângulo de repouso do mesmo (Mistry, Dalal, and Soni 2017). Utilizou-se medidas de ângulo de repouso dinâmico para a comparação com os resultados obtidos da matéria prima PTX.

Para a medição da fluidez dinâmica de pó, foi adaptada uma metodologia já existente na literatura para uma menor quantidade de amostra a ser analisada. Um aparato próprio para a medida da fluidez dinâmica foi projetado e montado com base no diagrama da Figura 11, a qual demonstra o esquema do tambor a ser utilizado na medida, composto de acrílico nas tampas laterais de um cilindro de alumínio, com  $d = 3,07$  cm e  $h = 1,75$  cm.

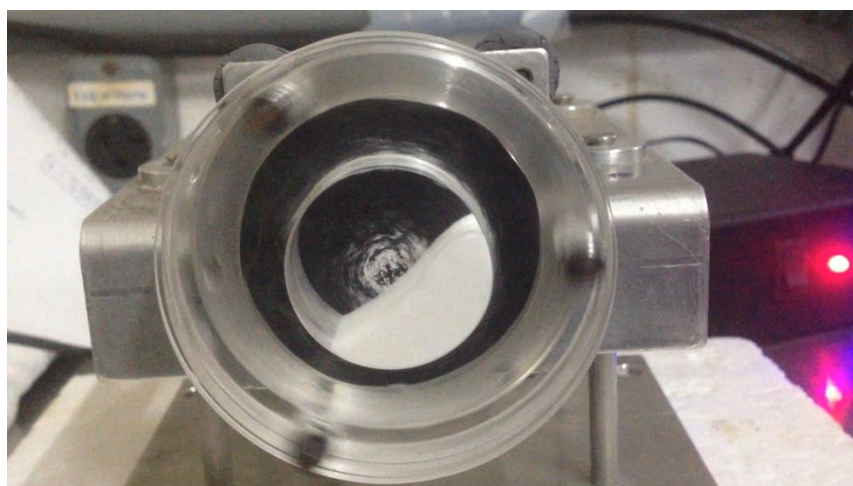
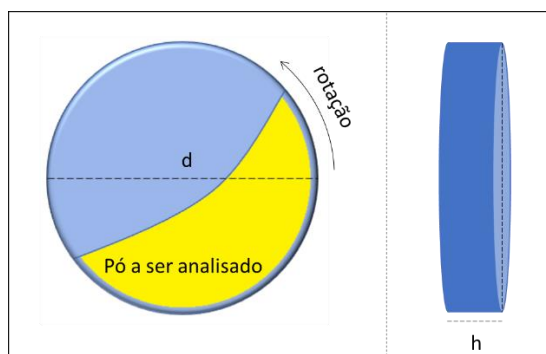


Figura 11 - Esquema representativo do tambor para análise de ângulo de repouso dinâmico acima ( $d$  = diâmetro;  $h$  = largura do tambor), tambor rotativo com tampa em acrílico abaixo (Fonte: A autora).

Os dados adquiridos foram comparados entre si, possibilitando verificar as diferenças de fluidez existentes entre a matéria prima PTX e os cocristais formados a partir desse IFA.

A medida da densidade dos pós foi efetuada através de metodologia adaptada encontrada na USP (*United States Pharmacopeia*), onde há a descrição da medida em cilindro graduado (United States Pharmacopeial Convention 2014). No presente trabalho, utilizamos uma proveta de 10 mL graduada para tal ensaio. O pó foi despejado no interior do recipiente com a utilização de um funil com cuidado para que a quantidade controlada do pó possa ser acomodada na proveta com fluxo livre, evitando qualquer impacto na proveta, que foi previamente pesada em balança analítica. Inseriu-se uma quantidade pré-determinada (cerca de 4 mL de material) devidamente pesado em balança analítica, após ter a medida de volume adequadamente verificada. Em seguida, a proveta



foi levada a um aparato de compactação do material, sendo submetida a batidas consecutivas com frequência controlada e com tempo pré-determinado, objetivando compactação máxima do pó no interior da proveta. Com o peso do pó nesse ensaio, o volume inicial frouxo e o volume final compactado obtêm-se as medidas de densidade frouxa e compactada (Akseli et al. 2019), com as quais se é possível calcular o Índice de Carr e o Fator de Hausner, parâmetros que são importantes na determinação da compactação da matéria-prima. Tal ensaio foi realizado com a matéria-prima PTX e com os cocristais obtidos, objetivando uma comparação entre os materiais obtidos e o material de origem, possibilitando verificar possíveis melhorias na qualidade do produto obtido.

O equipamento destinado a realização desse ensaio foi adaptado a partir de uma bomba de CLAE, através da realização de um corte no cilindro que impulsiona cada pistão, gerando um abaixamento de 1 cm entre o ponto mais alto e mais baixo do cilindro. Foi utilizada a impressora 3D para confecção da peça de apoio e firmeza para as provetas empregadas no ensaio. As batidas foram calculadas com base na correlação fluxo/batidas por minuto, obtendo um padrão que possibilite o controle de batidas por tempo. Um esquema representativo desse ensaio pode ser visualizado na Figura 12.

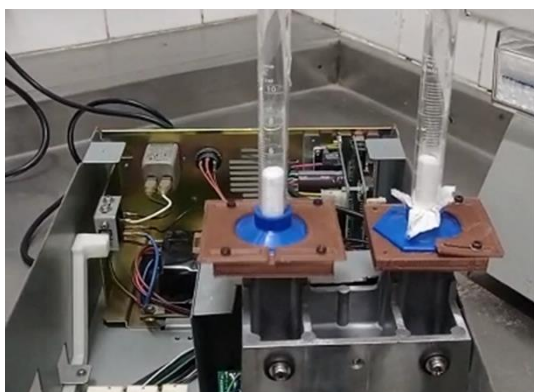
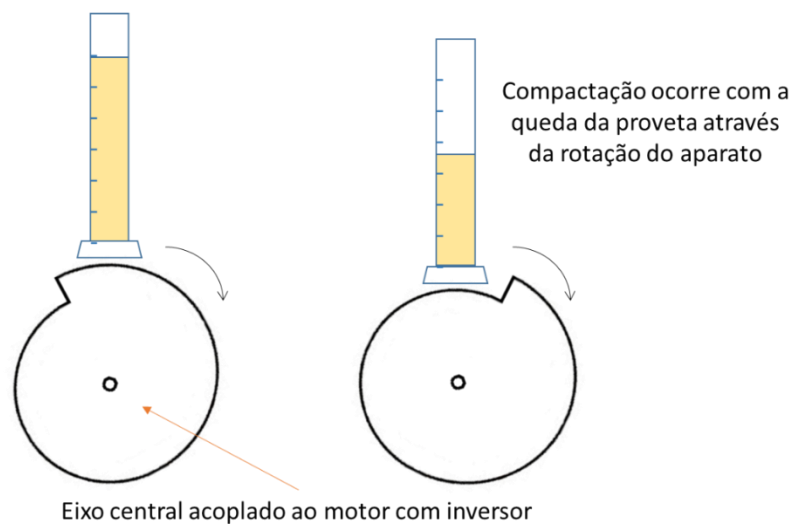


Figura 12 - Esquema do funcionamento do aparato de compactação do pó para medida de densidade compactada do pó (acima) e imagem do aparato utilizado (abaixo) (Fonte:

A autora).

## CAPÍTULO 3 – ESTUDO DO POLIMORFISMO DA PTX

Foi realizada a triagem por ativação mecanoquímica e por análise térmica com o intuito de obter novas formas sólidas, verificando possibilidade de solvatação, amorfização, transições de fase, recristalizações, entre outras possibilidades de obtenção de polimorfos. Para a ativação mecanoquímica utilizaram-se as técnicas de moagem a seco (DAG) e com adição de solvente (LAG). Os materiais, após processamento, foram também solubilizados no mesmo solvente para triagem por evaporação lenta (EVL). A caracterização da matéria-prima foi realizada conforme recebida, sem nenhum tratamento prévio. Verificou-se que a PTX comercial é disponibilizada na forma I, chamada a partir deste ponto do trabalho de PXT1, a qual foi obtida através da Farmácia Escola da Universidade Federal do Ceará, adquirida da empresa VIA FARMA, cujo laudo do fornecedor se encontra no Apêndice A deste material.

### 3.1. *Screening* de polimorfos: DAG e LAG

O *screening* de polimorfos da PTX realizado através da moagem a seco do IFA não resultou em material com grande modificação de estrutura nem amorfização com os tempos e frequências utilizados, porém houve possível redução de cristalinidade. No LAG efetuado conforme metodologia descrita no capítulo 2 e objetivando possível formação de polimorfo ou solvato e descobrir novas formas sólidas da PTX, trabalhou-se com diversos tipos de solventes adicionados ao moinho de bolas com tempos de 15 a 60 minutos de moagem. O material resultante foi analisado através de PDRX e IR imediatamente após o preparo.

De acordo com os resultados de PDRX apresentados na Figura 13 os difratogramas não apresentaram diferenças significativas entre os produtos resultantes da moagem com variação de solvente. Tal resultado indica que os processamentos resultaram na PTX1, cuja forma já foi previamente reportada na literatura (Pavelčík et al. 1989) quando submetidos a 25 Hz de frequência e com tempo de até 60 minutos, resultando apenas em uma possível redução de cristalinidade, como pode ser verificado na moagem a seco da PTX.

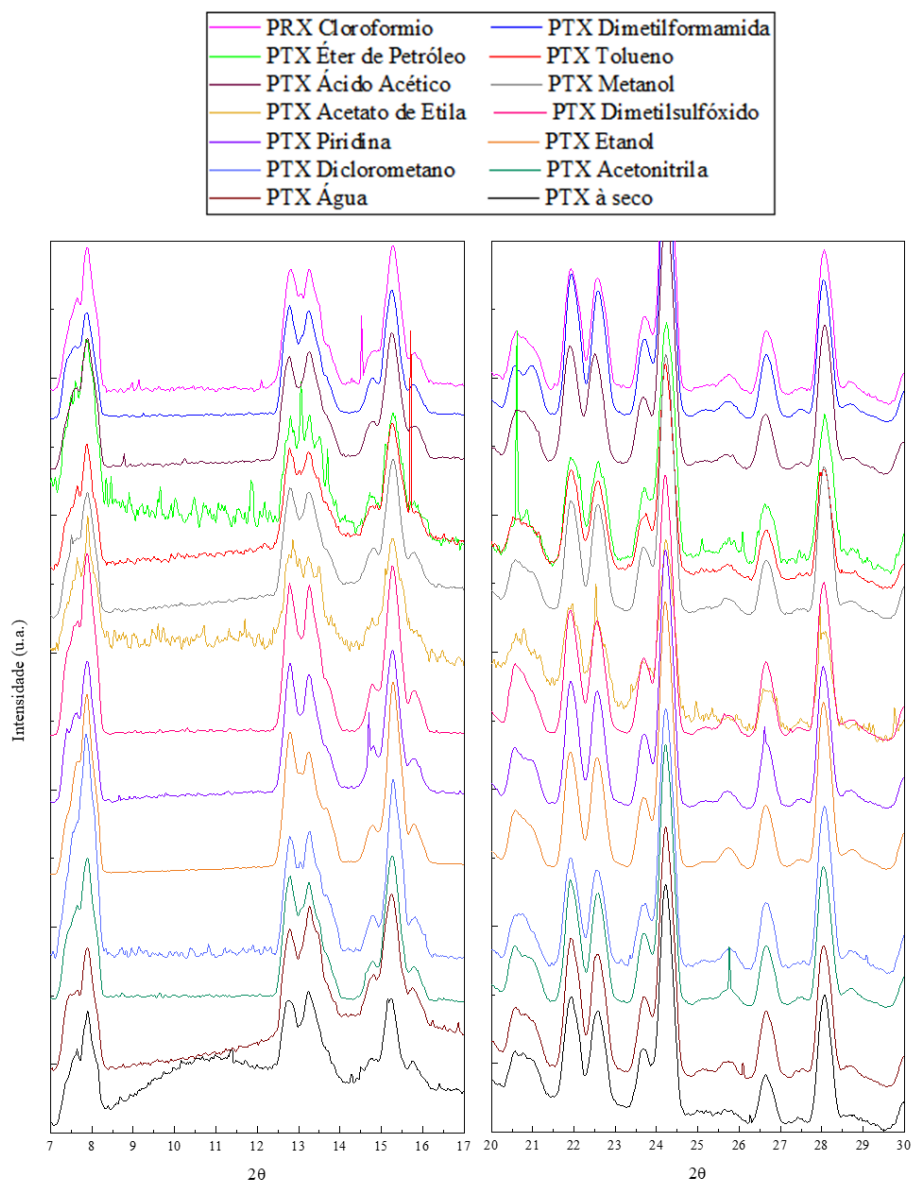


Figura 13 - PDRX do *screening* de polimorfismo por LAG com diversos solventes e a seco com 25Hz de frequência e 60 minutos (Fonte: a autora).

### 3.2. *Screening* de polimorfos: EVL

No *screening* por evaporação lenta com os mesmos solventes utilizados no LAG, foram obtidos muitos materiais policristalinos e apenas dois monocristais, referentes as duas formas da PTX já reportadas na literatura, porém obtidas com solventes diferentes daqueles previamente descritos: PTX1, cujo cristal foi originalmente obtido por flutuação de uma solução de  $Pb(NO_3)_2$  em tolueno, foi obtida experimentalmente em tetrahidrofurano sob temperatura ambiente e em tolueno sob baixa temperatura, enquanto

a PTX2, originalmente descrita como obtida em diclorometano em temperatura ambiente, foi obtida em metanol sob baixa temperatura. Os cristais coletados foram analisados no equipamento de raios X de monocristal.

Os difratogramas calculados de pó apresentados na Figura 14 demonstram a validade da comparação dos cristais obtidos e daqueles já reportados na literatura, JAKGEH correspondente a PTX1 e JAKGEH01 representando a PTX2 (Stepanovs and Mishnev 2011). Tal diferença na torção, conforme apresentado também na Figura 14, e as diferenças de interações moleculares dentro da estrutura, leva a diferentes redes na estrutura cristalina do material, modificando as características físico-químicas do mesmo. Uma das características mais facilmente perceptíveis é o hábito cristalino entre ambas as formas, conforme é possível visualizar na Figura 15.

Enquanto a PTX1 se apresenta como pequenas agulhas finas, a PTX2 se apresenta como cristais retangulares achatados. Essa diferença entre os hábitos cristalinos permite a predição de dados farmacotécnicos relevantes acerca dos polimorfos, dentre elas, as propriedades de fluxo referentes aos materiais, tendo em vista que o hábito cristalino de IFAs influencia propriedades físico-químicas, biofarmacêuticas e mecânicas (Pudasaini et al. 2017). Um exemplo pode ser verificado no trabalho de Simek que compara diferentes formas do paracetamol de acordo com seus hábitos cristalinos (Šimek, Grünwaldová, and Kratochvíl 2017), que torna possível inferir que a PTX1 apresenta uma fluidez ruim e uma melhor compressibilidade em comparação com a PTX2.

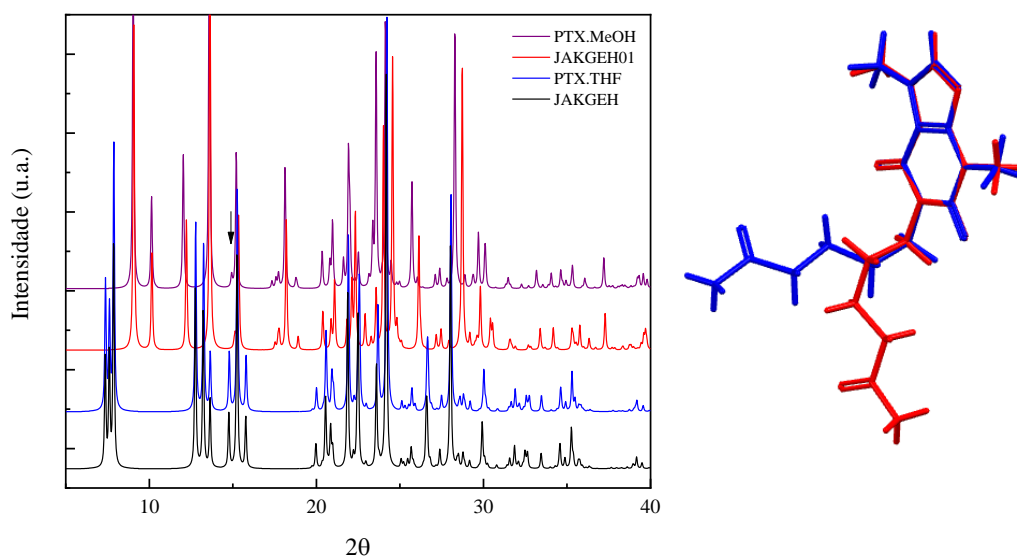


Figura 14 – PDRX de PTX1 e PTX2 em comparação com os difratogramas calculados dos cristais já reportados JAKGEH e JAKGEH01 (esquerda) e sobreposição das células unitárias da PTX1 (azul) e PTX2 (vermelho) (direita) (Fonte: A autora).

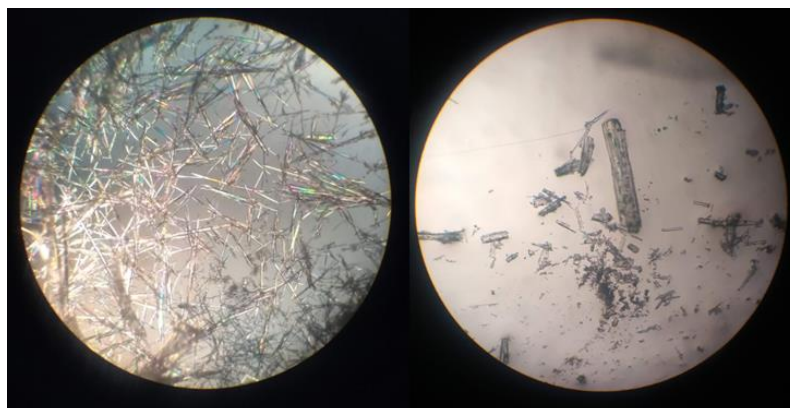


Figura 15 - Hábitos cristalinos da PTX1 (esquerda – luz polarizada) e da PTX2 (direita) em microscopia ótica (10x) (Fonte: A autora).

O material obtido foi analisado pelas técnicas de caracterização descritas na metodologia, objetivando verificar qual seria a correlação estrutural e térmica existente entre PTX1 e PTX2, resultado em um artigo intitulado “New pentoxifylline polymorphs investigated by thermal analysis: III and IV forms”, apresentado na seção a seguir.

### 3.3. Artigo: “New pentoxifylline polymorphs investigated by thermal analysis: III and IV forms”

#### New pentoxifylline polymorphs investigated by thermal analysis: III and IV forms

Fonseca, JC\*<sup>1</sup>; Fonseca, SGC\*<sup>2</sup>; Ayala, AP\*\*

\*<sup>1</sup>Department of Pharmacy. Federal University of Ceara. Fortaleza – Ceará – Brazil. E-mail: [jessica.fonseca@fisica.ufc.br](mailto:jessica.fonseca@fisica.ufc.br)

\*<sup>2</sup>Department of Pharmacy. Federal University of Ceara. Fortaleza – Ceará – Brazil. E-mail: [said@ufc.br](mailto:said@ufc.br)

\*\*Department of Physics. Federal University of Ceara. Fortaleza – Ceará – Brazil. E-mail: [ayala@fisica.ufc.br](mailto:ayala@fisica.ufc.br)

\* To whom correspondence should be addressed.

e-mail: [ayala@fisica.ufc.br](mailto:ayala@fisica.ufc.br)

Address: Caixa postal 6030, 60.455-970 Fortaleza (CE) Brazil

Phone: +55 85 3366 9009

#### Highlights

- This work demonstrated the existence of 4 polymorphs of PTX through a study carried out using small raw material amount and solvent, using only thermal analysis techniques;
- Two new polymorphs of PTX were identified and investigated by thermal analysis and confirmed by PDRX techniques;
- The enantiotropic and monotropic relationship were established between the polymorphs of PTX (1, 2, 3 and 4).

## ABSTRACT

Pentoxifylline is a drug widely used to treat intermittent claudication whose polymorphs are poorly studied and lack information. Polymorphic changes can occur in drug processing, such as grinding, drying, or compression. Polymorphism in drugs can affect several relevant characteristics, such as solubility, fluidity, and compressibility of the final product, requiring its understanding and control. The thermal behavior of pentoxifylline polymorphic forms was investigated using thermogravimetry and differential scanning calorimetry. Also, X-ray powder diffraction and hot stage microscopy were applied to monitor structural changes during the heating process. This work demonstrated the existence of 4 polymorphs of pentoxifylline (1, 2, 3, and 4) using only thermal analysis techniques. Besides, the physicochemical characteristics of the already reported (1 and 2) and newly discovered (3 and 4) polymorphs are presented and correlated. Through thermal modulation, it is possible to better control the desired polymorph for the drug pentoxifylline.

**Keywords:** pentoxifylline, polymorphism, thermal analysis, crystal engineering, pharmaceutical



## 1. INTRODUCTION

Thermoanalytical techniques can be used to investigate structural and chemical modification under heating or cooling processing, including polymorphism and degradation (de Jesus et al. 2020). Polymorphism is defined as the ability of a substance to crystallize in two or more crystalline phases holding the same chemical composition but exhibiting distinctive arrangements or conformations due to different intermolecular interactions (Holanda et al. 2019). This property may lead to changes in the physicochemical properties of the material, such as melting point, solubility, density, physical stability, chemical stability, and thermal behavior (Censi and Di Martino 2015; Ehiwe et al. 2016; Thakral et al. 2018). Therefore, it is essential to investigate all the solid phases of a drug, the polymorphic interconversion, and their physicochemical properties to select the appropriate solid form to be used in pharmaceutical formulations.

Pentoxifylline (PTX, Figure 1) is a xanthine family drug that acts as a non-specific inhibitor of phosphodiesterase, decreasing the transcription of pro-inflammatory mediators. It has rapid dissolution and absorption in the body, requiring modulation of its oral release through modified-release pharmaceutical forms (Ma et al. 2018). First reported as a triclinic crystal (PTX1), it also has a monoclinic polymorph (PTX2) (Pavelčík et al. 1989). Both structures have distinctive sets of intermolecular interactions, which are determined by the conformational polymorphism (Ayala et al. 2012) PTX1 has a water solubility of 77 g/L at 25°C (O'Neil et al. 1996), considered highly soluble in an aqueous medium.

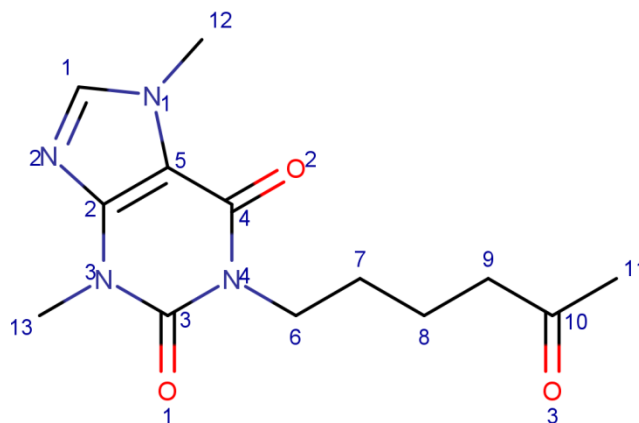


Figure 1 – Molecular structure of pentoxifylline.

Several xanthine derivatives present polymorphism. Theophylline, for instance, is reported to crystallize in, at least, five crystal forms, four polymorphs and one hydrated form: form I, which is the high-temperature one; form II, enantiotropically related to form I and stable at room temperature; form III is the dehydration of the monohydrate under low pressure; and form IV, produced by slurry conversion (Fucke et al. 2012). Likewise, caffeine has two polymorphs, I and II, stable at low and high temperatures, respectively, and III, obtained by sublimation at low temperatures (Dichi, Legendre, and Sghaier 2014). These examples show xanthine derivatives, like PTX investigated in this work, are usually polymorphic systems.

Since it is essential to understand the thermal stability of PTX not only in aqueous solution but also in the solid-state, thermoanalytical techniques have been used to elucidate the thermal behavior. As a result, the new and already described polymorphs are investigated, demonstrating their thermal correlation. In this work, different techniques were used, such as differential scanning calorimetry (DSC), hot-stage microscopy (HSM), and X-ray powder diffraction (XRPD). All materials were obtained through simple methodologies and without the aid of solvents.

## **2. METHODOLOGY**

Commercial pentoxifylline (PTX—  $C_{13}H_{18}N_4O_3$ ; MW—278.31 g/mol, CAS Number: 6493-05-6, purity 99.5%) was purchased from VIA FARMA and used without purification. The crystalline structure was previously deposited in the CCDC database (Pavelčík et al. 1989; Stepanovs and Mishnev 2011) as PTX1 (JAKGEH). However, the analysis of existing crystalline structures showed another polymorph, PTX2 (JAKGEH01), which was experimentally obtained through slow evaporation at low temperature (from 2°C to 8°C) of a supersaturated solution of PTX1 and methanol.

### **2.1. Hot-stage microscopy**

The system uses a Linkam hot stage (FTIR600) coupled to a Leica microscope model DM2500P. Images were recorded with a QICAM (Fast1394) camera and processed with the Linksys32 software. PTX was submitted to heat-cooling cycles above glass coverslips, located in a silver heating block located inside the stage. First, PTX was

heated up to 120°C at a 10°C/min rate, then cooled down to 30°C and left to recrystallize for 90 minutes. Finally, it was submitted to another heating process up to 120°C using a 1°C/min rate.

## **2.2. Thermogravimetry and Differential scanning calorimetry**

Thermogravimetric (TG) and differential scanning calorimetry (DSC) curves were obtained using a simultaneous thermal analysis equipment (Jupiter STA 449, Netzch). The sample (around 3.0 mg) was placed in a sealed aluminum crucible with pierced lids. Measurements were performed in cycles from room temperature to 120°C and back, using a heating/cooling rate of 1°C/min, under a constant nitrogen flow (50 mL/min). Proteus software was used to calculate the fusion onset temperature and enthalpy change values.

## **2.3. X-ray powder diffraction**

Powder X-ray diffraction (PXRD) patterns were obtained using a D8 Advanced (Bruker-AXS) diffractometer, equipped with a  $\theta/\theta$  goniometer operating in the Bragg–Brentano geometry with a fixed specimen holder, Cu K $\alpha$  radiation source and a LynxEye detector. The voltage and electric current applied were 40 kV and 40 mA, respectively. The opening of the slit used for the beam incident on the sample was 0.6 mm. The sample was scanned within the  $2\theta$  range of 5° to 40° in continuous scan mode with a rate of 0.2 deg min<sup>-1</sup>. The samples submitted to the thermal cycles were extracted directly from the hot stage experiment and immediately stacked into the sample holder. Due to the small sample amounts involved in this experiment, this characterization was performed on a Bruker-AXS D8 VENTURE equipped with a Kappa goniometer PHOTON II CPAD detector. The powder patterns were obtained by integrating the diffracted rings from copper monochromatic radiation collected at room temperature. The powder patterns were recorded in the  $2\theta$  range from 5° to 45°.

## **3. RESULTS AND DISCUSSION**

The overlap of the PTX conformers (Figure 2) found in the asymmetrical unit of the elucidated PTX polymorphs (Pavelčík et al. 1989; Stepanovs and Mishnev 2011) emphasizes the conformational polymorphism characteristic of this system. The main feature is the difference in the dihedral angle between the radical and xanthine nucleus:

in PTX1 this groups are almost perpendicular with a N4–C6–C7–C8 angle of 75.64°, whereas PTX2 assumes more open chain conformation (N4–C6–C7–C8 angle of 175.77°).

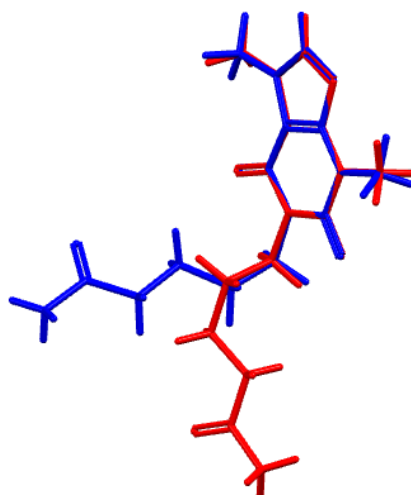


Figure 2 – Overlap of the molecular conformations of PTX1 (blue) and PTX2 (red).

The crystal packing of the PTX polymorphs is determined by moderate or weak hydrogen bonds based on the C–H $\cdots$ O synthon. In PTX1, symmetrical C9H $\cdots$ O1 and C12H $\cdots$ O3 bonds were responsible for organizing PTX molecules two-by-two in a sequence along the c-axis. Through these bonds, the carbon chain is linked to the xanthine ring, which is positioned on opposite sides of the molecule (Figure 3a). These columns are stacked along the a-axis through a third symmetrical pair of C12H $\cdots$ O2 hydrogen bonds. In PTX2, chains of PTX molecules along the b direction are linked through the xanthine groups by bifurcated C12H $\cdots$ O1 and C1H $\cdots$ O1 hydrogen bonds (Figure 3b). These chains are connected by a C9H $\cdots$ O3 forming slightly intertwined sheets stacked along the c direction. The described supramolecular organization allow the classification of this system also as packing and synthon polymorphs (Bezerra et al. 2020).

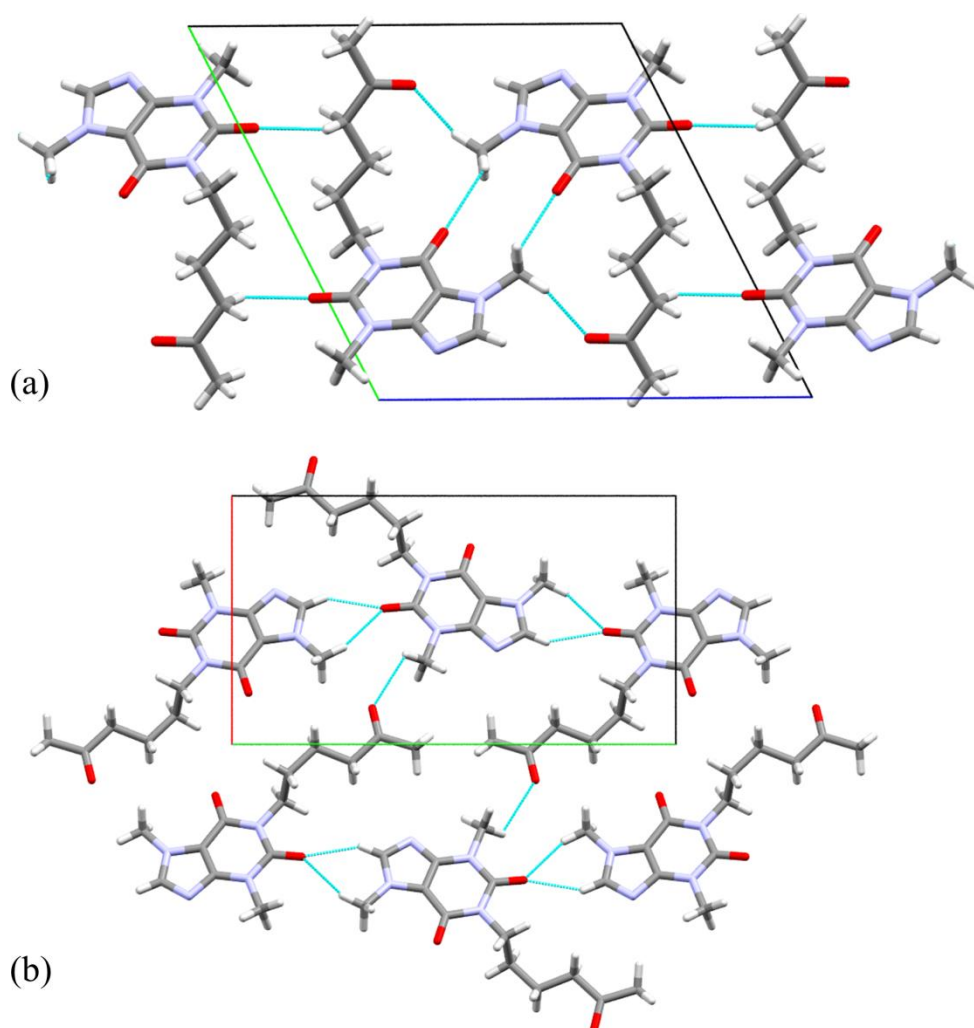


Figure 3 – (a) bc-projection of the PTX1 structure. (b) ab-projection of the PTX2 structure.

The polymorphism of PTX was investigated through melting/recrystallizing cycles monitored by DSC measurements. Figure 4 shows the DSC curves of PTX1 (Figure 4a) and PTX2 (Figure 4b), where the corresponding melting points are observed, having had onset temperatures at 104.9 °C and 93.6 °C, respectively, showing a good agreement with the literature (103.85 °C and 91.85 °C) (Hodzic et al. 2016; Stepanovs and Mishnev 2011). The stability of PTX2 was also investigated, recording the DSC curves weekly. Thus, after two weeks (Figure 4c), a new peak associated with PTX1 rises, which increases after three weeks (Figure 4d). This process clearly shows the conversion of PTX2 into PTX1, suggesting that the latter is the most stable form.

Since PTX does not decompose after melting, melting/recrystallization cycles can be used to investigate the thermodynamic relationship among the polymorphs. However,

PTX does not recrystallize during the cooling process due to the formation of a stable amorphous structure between 140 °C and 80 °C, as reported by Hodzic et al. (Hodzic et al. 2016). The recrystallization was not achieved even after cooling down to -150 °C, but a glass transition was observed around -12 °C (Figure S4).

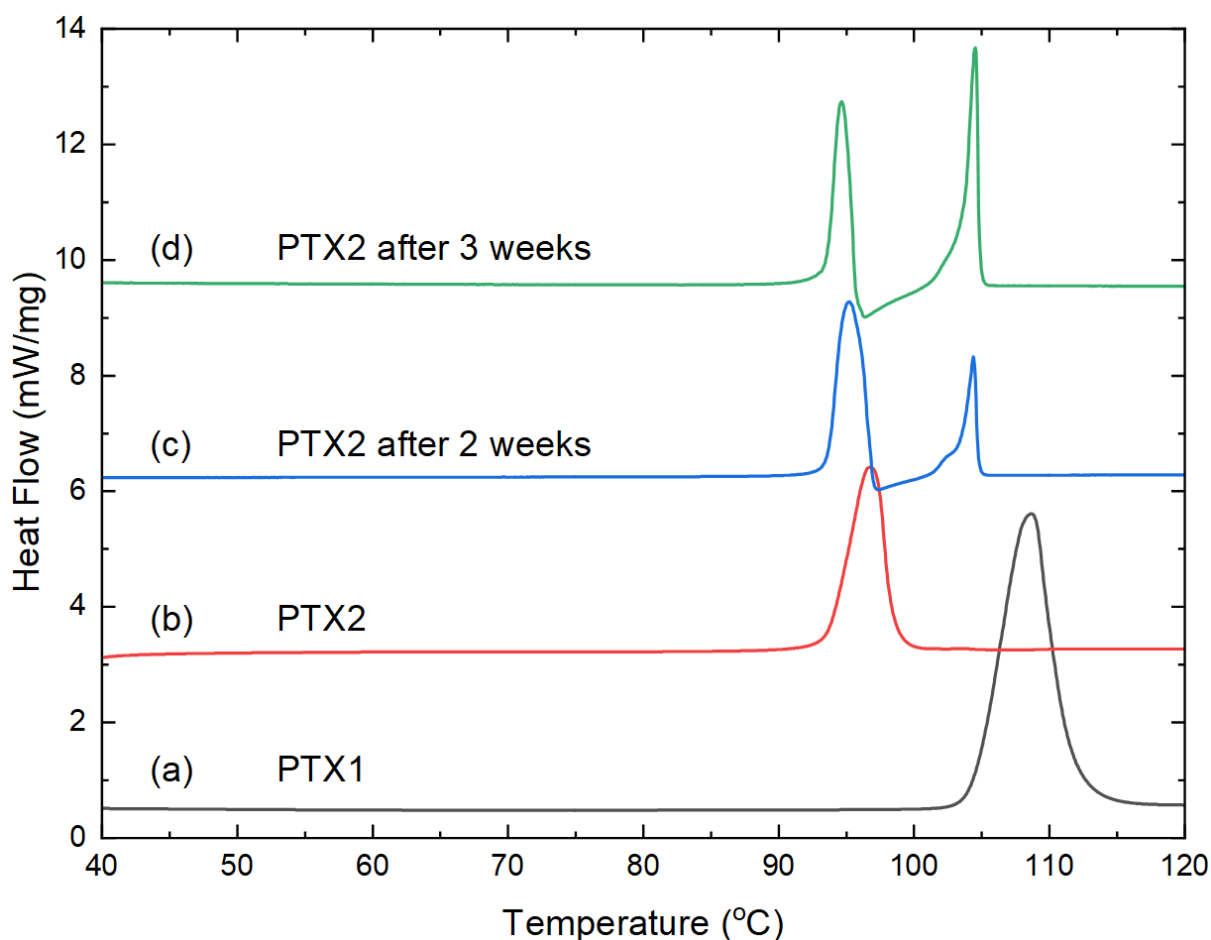


Figure 4 – DSC curves of (a) PTX1 and (b) PTX2. Stability of PTX2 after (c) two and (d) three weeks.

On the other hand, amorphous PTX kept at 30 °C for at least 90 min recrystallizes but exhibits an entirely new DSC curve as observed in Figure 5. On heating (Figure 5a), an endothermic event with onset at 43.2 °C, followed by an exothermic event at 53.5°C, then another endothermic/exothermic event at 86.5 °C and, finally, an endothermic peak at 103.2°C. This event sequence is systematically observed following the previously described recrystallization procedure and strongly suggests new polymorphic forms of PTX. The heating curve was split between the observed events to investigate the thermodynamic relationships between these forms. Thus, the room temperature form

obtained after the recrystallization was labeled as PTX4, which on heating seems to melt (43.2 °C) and recrystallize (53.5 °C) into a new polymorph (PTX3). This transformation is clearly irreversible because after heating the sample to 70 °C (Figure 5b), cooling it down, and heating again up to 95 °C (Figure 5c), just the melting point of PTX3 is observed. Notice that this is a complex peak characteristic of a melting/recrystallization process, which transforms the sample into PTX1 (Figure 5d), as evidenced by the temperature onset of the last peak. A final heating curve was recorded, allowing the recrystallization during 720 min (Figure 5e). In this case, three endothermic events with temperature onsets at 86.1 °C, 92.0 °C, and 103.8 °C were observed and can be ascribed to the melting points of PTX3, PTX2 and PTX1, respectively.

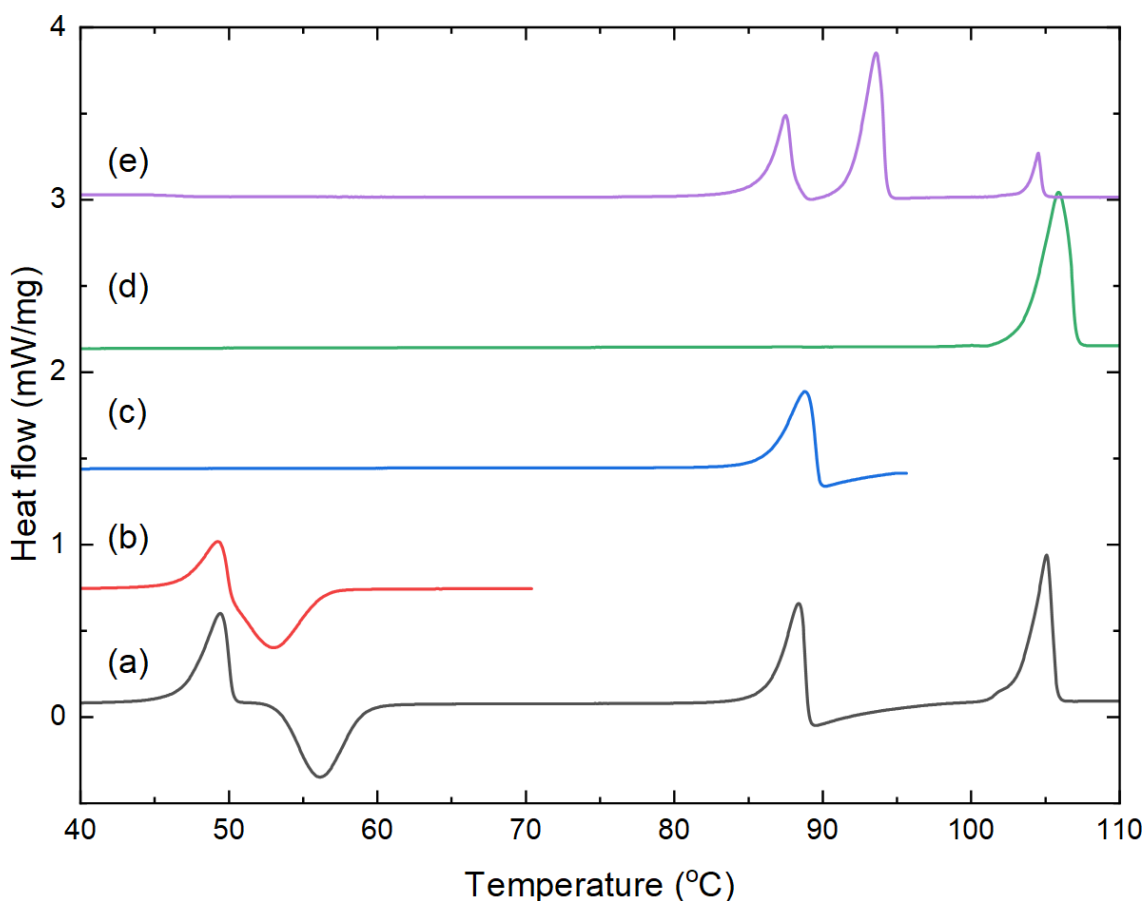


Figure 5 – Sequential DSC curves on heating of PTX. (a) first and (b) second heating: 90 min recrystallization at 30 °C after melting; (c) third heating: sample previously heated up to 70 °C; (d) fourth heating: samples previously heated up to 95 °C; and (e) fifth heating: 720 min recrystallization after melting. Cooling curves are not shown.



A HSM experiment was performed to visualize the DSC events (Figure 6). PTX1 was heated up at 10°C/min until the complete melt of the sample and then cooled down to 30°C. The resulting amorphous PTX (A) was kept at the final temperature for 90 min. On this isotherm, it was possible to observe the slow recrystallization into PTX4 (A → C) after around 80 minutes on the isotherm. Following, the sample was heated at 1 °C/min up to 105 °C. As temperature achieves around 44°C, the PTX4 fusion is observed (D → F) until the complete melting (G) and, right after, the beginning of its recrystallization (H → J) in tiny needles associated with PTX3. When the recrystallization is completed (L), a second crystalline habit is observed as a few black spots that keep growing (K → N) while the sample is gently heated. Around 88 °C, the sample with a needle habit starts melting, but the agglomerate of black spots continues growing (O → Q). Above 90 °C, just part of the sample remains crystalline (R → S) up to around 105 °C when all the material is finally melted.

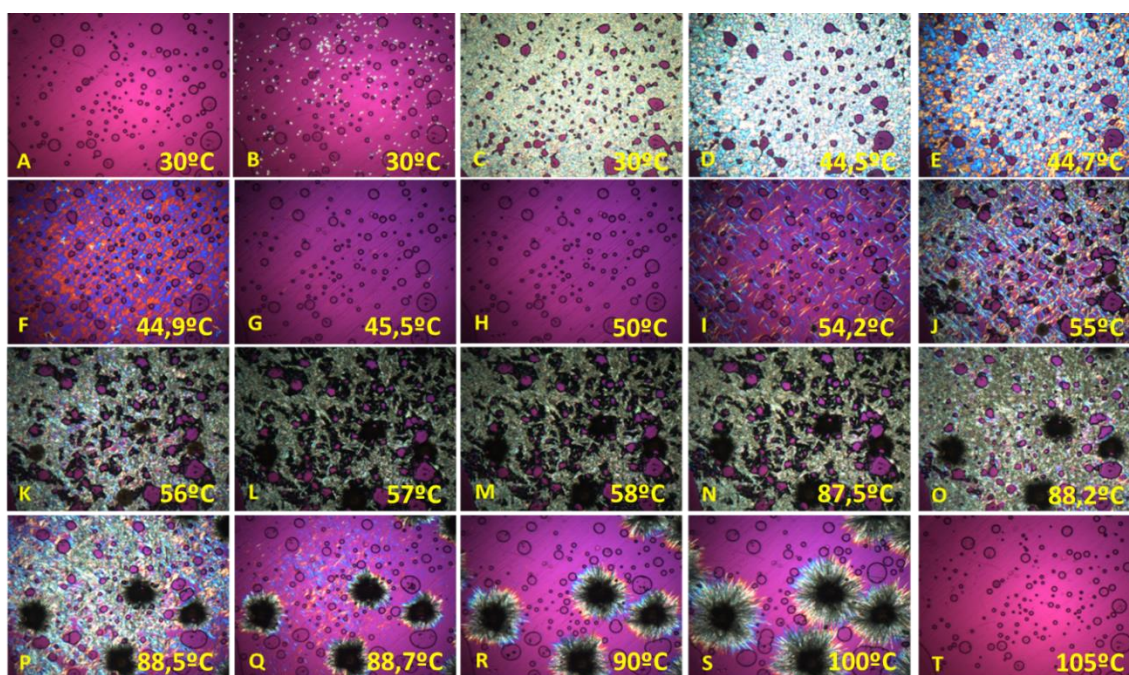


Figure 6 - HSM of PTX1 from A to T images, starting with melted PTX1 in isothermal at 30 °C up to 90 min and then submitted to a heat cycle up to 105 °C at 1 °C/min rate.

The previous results strongly support the existence of two unreported polymorphs of PTX. However, the crystalline character of these forms needs to be confirmed by a



structural technique. Thus, PXRD was performed with the collected material from the HSM experiment at specific times. These materials were analyzed right after the collection. The thermomicroscopy was performed initially with the raw material, showing the pattern corresponding to PTX1. After melt and recrystallization, this material results in different patterns associated with PTX4 and PTX3. As the HSM methodology produces a small amount of sample, the PXRD patterns were recorded on a single-crystal diffractometer giving rise to broader profile lines. The PXRD patterns, showed in Figure 7, corresponding to a sample collected just after the first (PTX4, Figure 6C) and second (PTX3, Figure 6L) recrystallization processes are compared with the PTX1 and PTX2 patterns calculated from the reported crystal structures (SM Figure 1). In the case of the second recrystallization, a sample was collected at 58°C, avoiding the dark spots, which refer to PTX1. The PTX4 and PTX3 pattern were undoubtedly different from the other forms, characterizing a new polymorph.

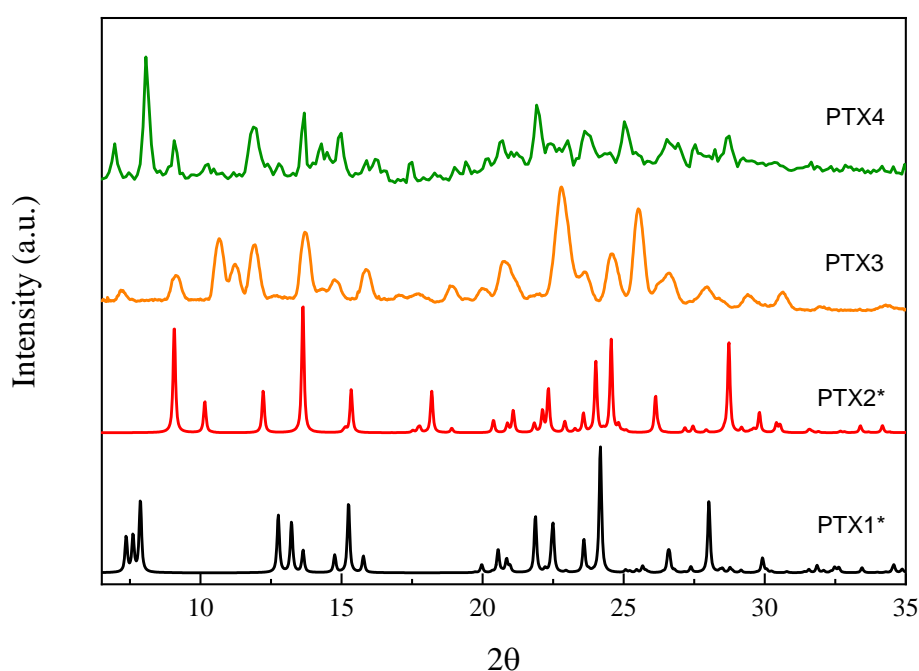


Figure 7 – PXRD of PTX polymorphs. PTX3 and PTX4 patterns were experimentally obtained, while PTX1 and PTX2 were calculated (\*).

Combining DSC and HSM results, it is possible to depict the phase transformations of the PTX polymorphs. The previously reported polymorphs, PTX1 and

PTX2, have melting points around 105°C and 92°C, respectively. It was observed that, on storage conditions, there is a natural conversion of PTX2 into PTX1 after a couple of weeks (Figure 4c and Figure 4d). At ambient conditions, amorphous PTX recrystallizes in PTX4. This form melts (43.2 °C) and recrystallizes (53.5 °C) into PTX3, which suffers a similar melting/recrystallization process transforming into PTX1 at 86.5 °C. On the other hand, leaving PTX4 at room temperature for longer times leads to the conversion into a mixture of PTX3 and PTX2. Based on these results, PTX1 and PTX4 seem to be the most and the less stable forms. However, a more detailed analysis is necessary to determine the thermodynamic relationships between the observed polymorphs.

Burger and Ramberger have formulated rules referring to the thermodynamic stability of polymorphs (Burger and Ramberger 1979a, 1979b), some of which can be applied to the polymorphism in PTX to classify the polymorphic pairs as enantiotropic or monotropic. Thus, the heat-of-fusion rule (HFR) states that a polymorphic pair should be monotropically related if the polymorph with the higher melting point has the higher heat of fusion. The melting points and fusion enthalpies of the observed polymorphs are listed in Table 1. Considering these values, the relationship between all the pairs but PTX3-PTX4 should be monotropic, being the latter enantiotropic. Another approach to determine the polymorphic pairs relationship is based on a mathematical formalism proposed by Yu (Yu 1995), allowing to estimate their transition temperature ( $T_{\text{trs}}$ ) from the measured melting points ( $T_f$ ) and heats of fusion ( $\Delta H_f$ ). Based on these calculations, if the estimated transition temperature lies below the melting points, the polymorphs are enantiotropically related, and if it is higher, the relationship is monotropic. This method has been successfully applied to many polymorphic systems (Braun et al. 2009; Braun, Vickers, and Griesser 2019; Griesser et al. 2004; Vidal et al. 2020). The estimated transition temperatures of the polymorphic pairs of PTX are listed in Table 1. These results confirm our previous conclusions that PTX1 and PTX2 are monotropically related to the other polymorphs, given that the estimated transition temperatures are higher than the melting points. The only enantiotropic pair is PTX3-PTX4, but the transition temperature should be quite below room temperature and was not observed. However, the non-forced conversion from PTX4 into PTX3 at room temperature supports the hypothesis that PTX3 is more stable than PTX4. These conclusions can be organized into a semischematic energy-temperature diagram that allows graphically outline the

thermodynamic relationships of all polymorphs (Burger and Ramberger 1979b, 1979a; Grunenberg, Henck, and Siesler 1996), as shown in Figure 8. This Figure evidences the monotropic relationships inferred from the HFR since the higher the melting point, the higher the fusion enthalpy. Also, PTX3 is more stable than PTX4 at ambient conditions, and a reversible phase transition could be expected at low temperatures.

Table 1 - Fusion temperatures ( $T_f$ ) and enthalpies ( $\Delta H_f$ ) of the PTX polymorphs from DSC measurements. Transition temperatures ( $T_{trs}$ ) were calculated using Yu's formalism to determine (M) monotropic or (E) enantiotropic relationships.

| <b>Polymorph</b> | <b><math>T_f</math> (°C)</b> | <b><math>\Delta H_f</math> (J/mg)</b> | <b>Polymorph</b> | <b><math>T_{trs}</math> (°C)</b> |   |
|------------------|------------------------------|---------------------------------------|------------------|----------------------------------|---|
| <b>PTX1</b>      | 104.50                       | 156.30                                | PTX2             | 178                              | M |
|                  |                              |                                       | PTX3             | 123                              | M |
|                  |                              |                                       | PTX4             | 326                              | M |
| <b>PTX2</b>      | 93.60                        | 124.30                                | PTX3             | 103                              | M |
|                  |                              |                                       | PTX4             | 377                              | M |
| <b>PTX3</b>      | 86.50                        | 64.55                                 | PTX4             | -40                              | E |
| <b>PTX4</b>      | 47.10                        | 68.10                                 |                  |                                  |   |

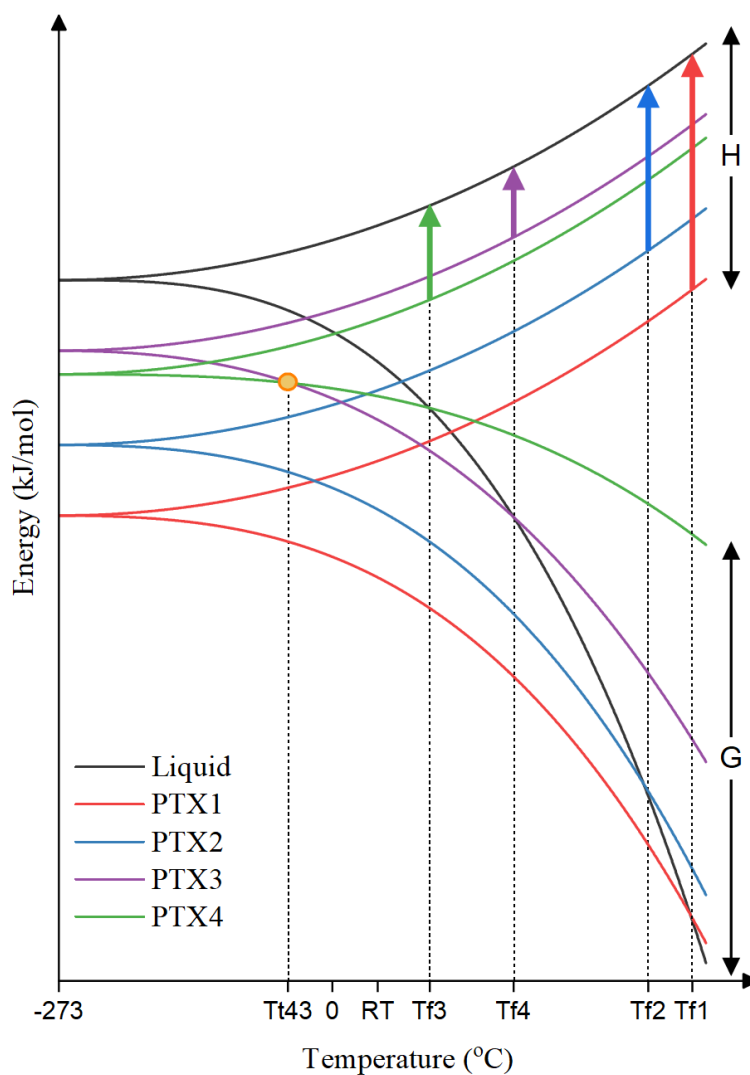


Figure 8 - Semischematic energy-temperature diagram of the PTX polymorphs. Solid arrows indicate the observed transformations, whereas the filled circle is associated with the predicted one.

#### 4. CONCLUSION

Polymorphism on PTX was investigated through a thermal analysis study. It was verified that PTX could crystallize in four polymorphic forms, including an amorphous phase with a glass transition around  $-12\text{ }^{\circ}\text{C}$ . These forms were observed by DSC and hot-stage microscopy. Our results confirmed the two previously reported polymorphs, PTX1, the commercially available form, and PTX2, obtained from recrystallization in methanol at low temperatures. Also, it was observed that PTX2 transformed into PTX1 on storage at ambient conditions after some weeks. Two new forms, PTX3 and PTX4,

were identified in this contribution. PTX4 grows from the amorphous phase at room temperature within 90 minutes. PTX3 can be obtained on heating from PTX4 by a melting and recrystallization process or leaving it at ambient conditions for several hours. The thermodynamic relationship between polymorphic pairs was established using the fusion temperatures and enthalpies determined from DSC curves. PTX1 and PTX2 are monotropically related to the other polymorphs, PTX1 the most stable form. On the other hand, PTX3 and PTX4 form an enantiotropic pair, but the transition temperature should be below room temperature.

## ACKNOWLEDGMENTS

The author gratefully thanks to CNPq, FUNCAP, FCPC and CAPES for financial support.

## 5. REFERENCES

- Ayala, A. P., M. W. C. Caetano, S. B. B. Honorato, Josue Mendes-Filho, H. W. Siesler, S. N. Faudone, S. L. Cuffini, Felipe Terra Martins, C. C. P. da Silva, J. Ellena, J. Mendes Filho, and C. C. P. Silva. 2012. "Conformational Polymorphism of the Antidiabetic Drug Chlorpropamide." *Journal of Raman Spectroscopy* 43(2):263–72. doi: 10.1002/jrs.3012.
- Bezerra, Beatriz Pinheiro, Dorota Pogoda, Miranda L. Perry, Laura M. T. Vidal, Michael J. Zaworotko, Alejandro P. Ayala, Beatriz Pinheiro Bezerra, Dorota Pogoda, Miranda L. Perry, Laura M. T. Vidal, Michael J. Zaworotko, and Alejandro P. Ayala. 2020. "Cocrystal Polymorphs and Solvates of the Anti- Trypanosoma Cruzi Drug Benznidazole with Improved Dissolution Performance." *Crystal Growth & Design* 20(7):4707–18. doi: 10.1021/acs.cgd.0c00490.
- Braun, Doris E., Thomas Gelbrich, Volker Kahlenberg, Richard Tessadri, Josef Wieser, and Ulrich J. Griesser. 2009. "Conformational Polymorphism in Aripiprazole: Preparation, Stability and Structure of Five Modifications." *Journal of Pharmaceutical Sciences* 98(6):2010–26. doi: 10.1002/jps.21574.
- Braun, Doris E., Martin Vickers, and Ulrich J. Griesser. 2019. "Dapsone Form V: A Late Appearing Thermodynamic Polymorph of a Pharmaceutical." *Molecular Pharmaceutics* 16(7):3221–36. doi: 10.1021/acs.molpharmaceut.9b00419.
- Burger, A., and R. Ramberger. 1979a. "On the Polymorphism of Pharmaceuticals and Other Molecular Crystals. I." *Mikrochimica Acta* 72(3–4):259–71. doi: 10.1007/BF01197379.
- Burger, A., and R. Ramberger. 1979b. "On the Polymorphism of Pharmaceuticals and Other Molecular Crystals. II." *Mikrochimica Acta* 72(3–4):273–316. doi: 10.1007/BF01197380.

Censi, Roberta, and Piera Di Martino. 2015. "Polymorph Impact on the Bioavailability and Stability of Poorly Soluble Drugs." *Molecules* 20(10):18759–76. doi: 10.3390/molecules201018759.

Dichi, Emma, Bernard Legendre, and Mehrez Sghaier. 2014. "Physico-Chemical Characterisation of a New Polymorph of Caffeine." *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry* 115(2):1551–61. doi: 10.1007/S10973-013-3429-0.

Ehiwe, Tracy O., Bruce D. Alexander, John C. Mitchell, Martin J. Snowden, and Laura J. Waters. 2016. "Monitoring Real Time Polymorphic Transformation of Sulfanilamide by Diffuse Reflectance Visible Spectroscopy." *Journal of Pharmaceutical Analysis* 6(3):179–83. doi: 10.1016/j.jpha.2015.12.002.

Fucke, Katharina, Garry J. McIntyre, Clive Wilkinson, Marc Henry, Judith A. K. Howard, and Jonathan W. Steed. 2012. "New Insights into an Old Molecule: Interaction Energies of Theophylline Crystal Forms." *Crystal Growth & Design* 12(3):1395–1401. doi: 10.1021/cg201499s.

Griesser, U. J., D. Weigand, J. M. Rollinger, M. Haddow, and E. Gstrein. 2004. "The Crystal Polymorphs of Metazachlor." *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry* 77(2):511–22. doi: 10.1023/B:JTAN.0000038990.43475.db.

Grunenberg, A., JO Henck, and HW Siesler. 1996. "Theoretical Derivation and Practical Application of Energy/Temperature Diagrams as an Instrument in Preformulation Studies of Polymorphic Drug Substances." *International Journal of Pharmaceutics* 129(1–2):147–58. doi: 10.1016/0378-5173(95)04283-0.

Hodzic, Aden, Manfred Kriechbaum, Simone Schrank, and Franz Reiter. 2016. "Monitoring of Pentoxifylline Thermal Behavior by Novel Simultaneous Laboratory Small and Wide X-Ray Scattering (SWAXS) and Differential Scanning Calorimetry (DSC)." *PLoS ONE*. doi: 10.1371/journal.pone.0159840.

Holanda, Bruno B. C., Gilbert Bannach, M. Ramos Silva, M. Ermelinda S. Eusébio, and Ricardo A. E. Castro. 2019. "Polymorphism of Gemfibrozil: Investigation by Thermal and Spectroscopic Methods." *Thermochimica Acta* 675. doi: 10.1016/j.tca.2019.03.026.

de Jesus, J. H. F., A. P. G. Ferreira, I. M. Szilágyi, and E. T. G. Cavalheiro. 2020. "Thermal Behavior and Polymorphism of the Antioxidants: BHA, BHT and TBHQ." *Fuel* 278:118298. doi: 10.1016/J.FUEL.2020.118298.

Ma, Hongbao, Steven Lee, Yan Yang, Puneet Bedi, and Shyan Yih Chou. 2018. "Pentoxifylline Protects against Loss of Function and Renal Interstitial Fibrosis in Chronic Experimental Partial Ureteral Obstruction." *Pathophysiology*. doi: 10.1016/j.pathophys.2018.08.004.

O'Neil, M., Susan Budavari, Ann Smith, P. Heckelman, and J. Obenchain. 1996. *The Merck Index: An Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals*. 12th ed. CRC Press.

Pavelčík, F., J. Sívý, E. Havránek, P. Sívý, E. Komanová, and J. Nevýdal. 1989. "Structure of Pentoxifylline, C<sub>13</sub>H<sub>18</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub>." *Acta Crystallographica Section C*. doi: 10.1107/S0108270188013824.

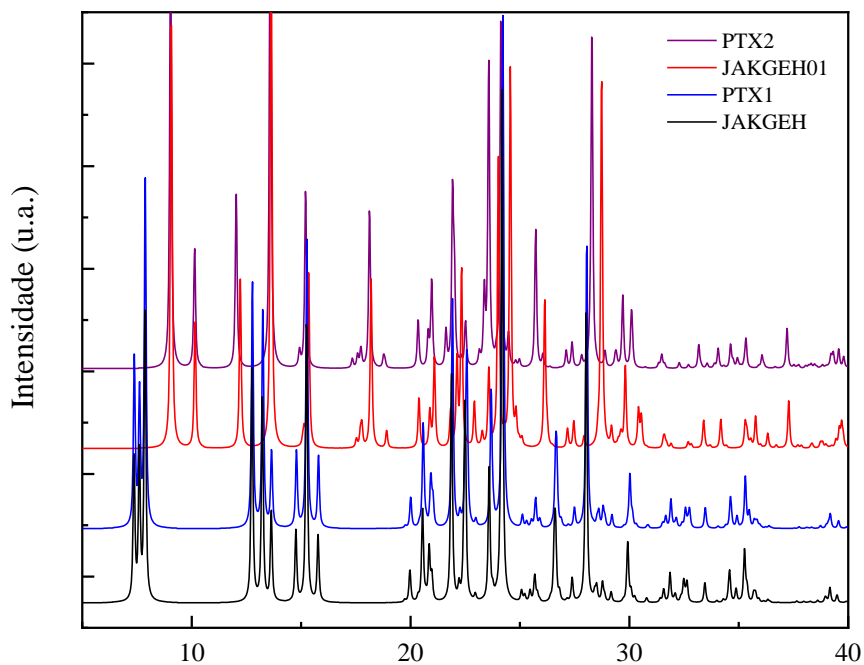
Stepanovs, Dmitrijs, and Anatoly Mishnev. 2011. "Monoclinic Polymorph of 3,7-Dimethyl-1-(5-Oxohexyl)-3,7-Dihydro-1 H -Purine-2,6-Dione." *Acta Crystallographica Section E Structure Reports Online* 67(11):o2851–o2851. doi: 10.1107/S1600536811040232.

Thakral, Naveen K., Roger L. Zanon, Ron C. Kelly, and Seema Thakral. 2018. "Applications of Powder X-Ray Diffraction in Small Molecule Pharmaceuticals: Achievements and Aspirations." *Journal of Pharmaceutical Sciences* 107(12):2969–82. doi: 10.1016/j.xphs.2018.08.010.

Vidal, Laura Maria Teodoro, Beatriz Pinheiro Bezerra, Jéssica Castro de Fonseca, Auriana Serra Vasconcelos Mallmann, Francisca Cléa Florenço de Sousa, José Maria Barbosa-Filho, and Alejandro Pedro Ayala. 2020. "Polymorphism in Natural Alkamides from *Aniba Riparia* (Nees) Mez (Lauraceae)." *CrystEngComm* 22(44):7607–16. doi: 10.1039/D0CE01078B.

Yu, Lian. 1995. "Inferring Thermodynamic Stability Relationship of Polymorphs from Melting Data." *Journal of Pharmaceutical Sciences* 84(8):966–74. doi: 10.1002/jps.2600840812.

## SUPPLEMENTARY MATERIAL



20

Figure S1 - Diffratogram of PTX1 and PTX2 used in this work in comparison with calculated PXRD from CSD database (refcode: JAKGEH and JAKGEH01)

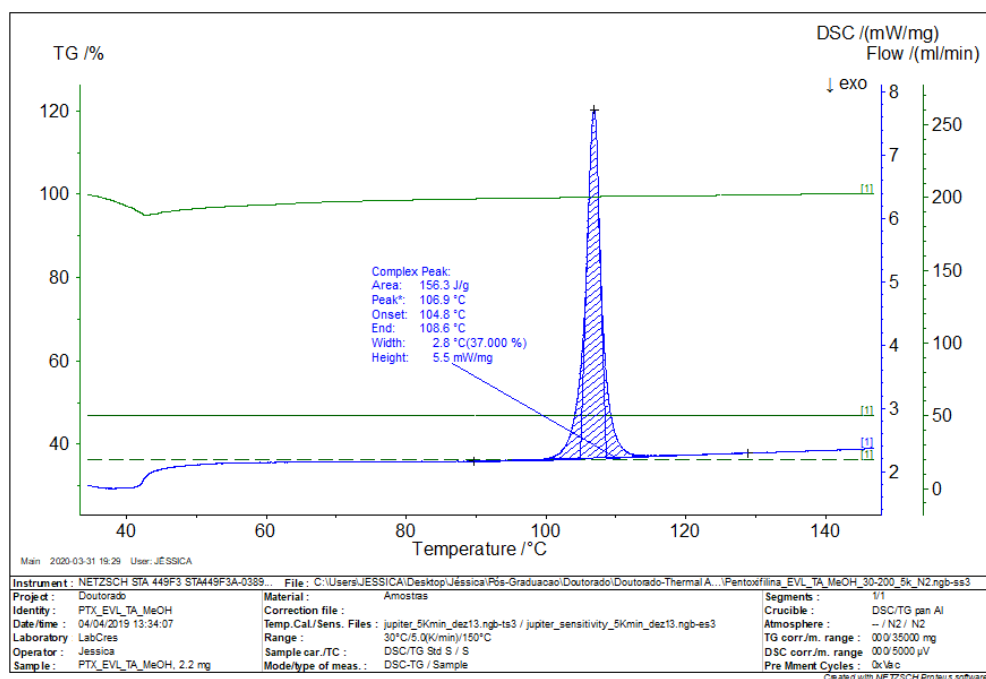


Figure S2 - DSC/TG of PTX1 with complex peak data, as Area 156.3 J/g and Onset 104.8°C.



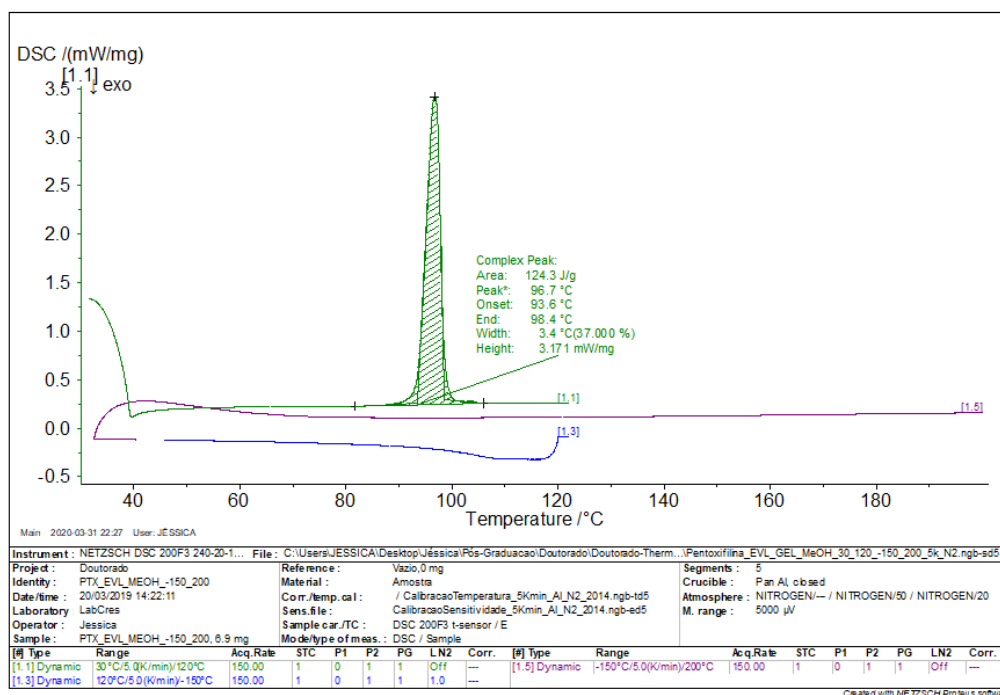


Figure S3 - DSC/TG of PTX2 with complex peak data, as Area 124.3 J/g and Onset 93.6°C.

As a trial to force the recrystallization of the material after fusion by reducing the temperature, a heat/cool cycle of the material previously melted and recrystallized at room temperature, was performed with the ramp going down to -150°C in the Figure S4 bellow. In the first heating ramp, it was possible to verify the existence of two events: one referring to the melting temperature of PTX2, an endothermic peak with onset at 92.6°C, and a second endothermic event with onset around 100°C, possibly related to the PTX1 showing that the material recrystallizes in a polymorph mix of PTX1 and PTX2. No recrystallization events were verified in the cooling ramp, only a possible glass transition around -12°C. In the second heating ramp, the possible glass transition was confirmed at the same temperature of -12°C and an endothermic event with onset at about 85.2°C, showing a possible PTX3 melting event.

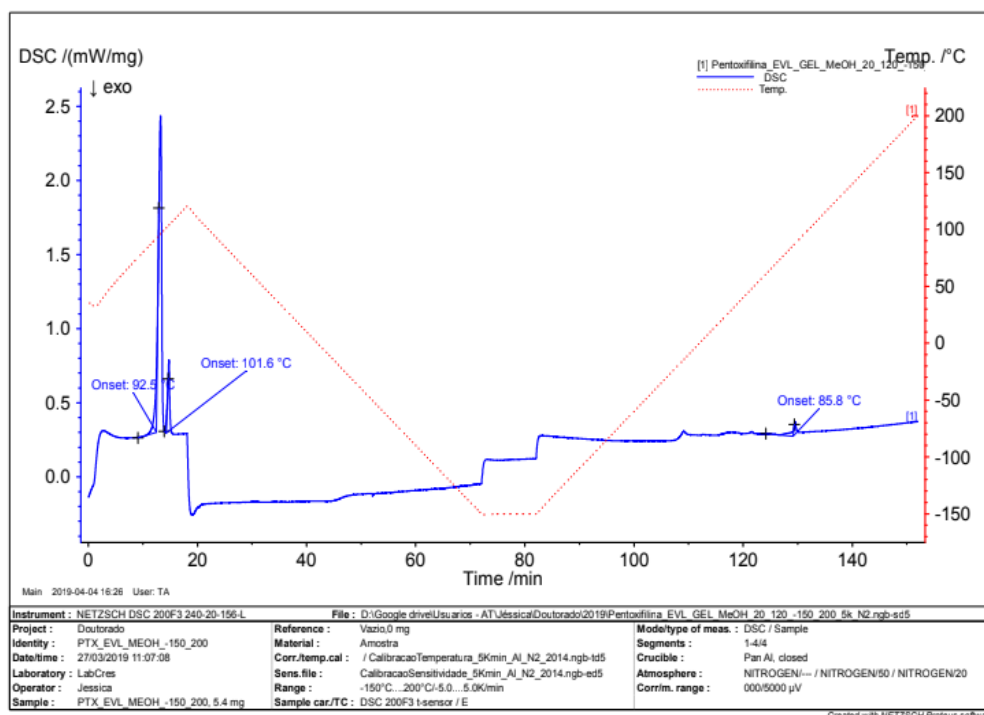


Figure S4 - DSC cycle heat/cool/heat of PTX1 and PTX2 showing the glass transition around -16°C.

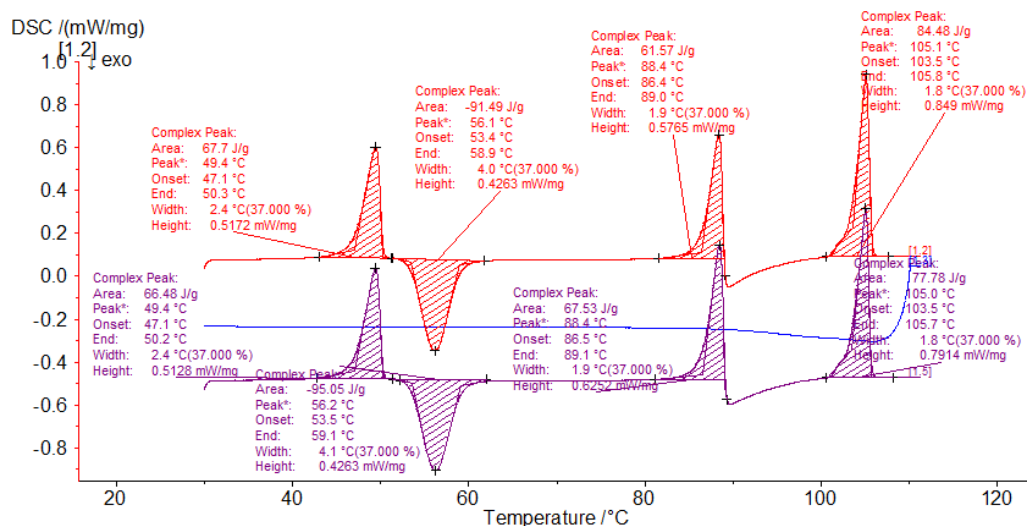


Figure S5 - Two DSC cycles of PTX4 at 1°C/min rate heating from 30°C to 110°C. From left to right it was possible to see PTX4 fusion followed by a recrystallization event, then PTX3 melting point and a recrystallization almost overlapped the, finally, PTX1 melting.

### 3.4. Conclusão

Através da busca de polimorfos da PTX por ativação mecanoquímica, a seco e com adição de solvente, bem como por evaporação lenta, não foi possível a obtenção de novos polimorfos, apenas os que já se encontravam reportados na literatura, PTX1 e PTX2. Porém, através da análise térmica foi possível a detecção de outros polimorfos inéditos do material, mostrando a relevância da busca por polimorfos por diferentes técnicas.

Como perspectiva futura, para os polimorfos obtidos através da variação de temperatura ainda não descritos na literatura, o estudo será complementado através da busca de elucidação cristalina do material com a obtenção de algum cristal adequado para o monocrystal no decorrer do experimento na microscopia com elevação de temperatura, HSM.

## CAPÍTULO 4 – COCRISTAIS DE PENTOXIFILINA

A realização de uma triagem com o intuito de obter novas formas sólidas foi realizada, utilizando-se inicialmente moagem com adição de solvente (etanol, metanol ou água) apresentados na Tabela 4. Desta maneira, foi possível a obtenção de cocristais, representando os materiais que puderam ter sua elucidação cristalina devidamente resolvida, e de novas formas sólidas, as quais podem ser cocristais ou outro material, como por exemplo, um sal.

Tabela 4 - Coformadores utilizados para cocrystalização com PTX. \* indica coformadores para cocristais já reportados na literatura.

| <b>Coformadores</b> |                 |                |
|---------------------|-----------------|----------------|
| Ácido Salicílico*   | Ácido Benzoico* | Ácido Cafeico  |
| Ácido Cítrico       | Ácido Glutárico | Ácido Vanílico |
| Ácido Cumárico      | Ácido Fumárico  | Ácido Gálico   |
| Ácido Oxálico       |                 |                |

Foi possível a obtenção dos cocristais já reportados na literatura, com o Ácido Salicílico e com o Ácido Benzoico, verificado através da semelhança do PDRX. Para estes, foram realizados apenas os ensaios de solubilidade. Além da reprodução do material já citado, outros cocristais puderam ser formados bem como outras novas formas sólidas, cujas caracterizações se encontram descritas nas seções a seguir.

Na seção 4.1 o artigo intitulado: “Up to down solubility modulation of new Pentoxifylline cocrystals” traz a obtenção dos cocristais por moagem com adição de solvente e evaporação lenta. As estruturas cristalinas foram elucidadas por SCDRX, e análises de PDRX, espectroscopia vibracional e análise térmica (TG/DSC) foram realizadas, bem como ensaio de dissolução. Na seção 4.2 são descritos os demais materiais obtidos, as novas formas cristalinas de PTX, cuja elucidação cristalina não foi possível devido a não obtenção de monocristal, porém devidamente caracterizados por PDRX, IR e DSC/TG.

#### 4.1. Artigo: “Up to down solubility modulation of new Pentoxifylline cocrystals”

### Up to down solubility modulation of new Pentoxifylline cocrystals

Fonseca, JC\*<sup>1</sup>; Fonseca, SGC\*<sup>2</sup>; Ayala, AP\*\*

\*<sup>1</sup>Department of Pharmacy. Federal University of Ceara. Fortaleza – Ceará – Brazil. E-mail: [jessica.fonseca@fisica.ufc.br](mailto:jessica.fonseca@fisica.ufc.br)

\*<sup>2</sup>Department of Pharmacy. Federal University of Ceara. Fortaleza – Ceará – Brazil. E-mail: [said@ufc.br](mailto:said@ufc.br)

\*\*Department of Physics. Federal University of Ceara. Fortaleza – Ceará – Brazil. E-mail: [ayala@fisica.ufc.br](mailto:ayala@fisica.ufc.br)

\* To whom correspondence should be addressed.

e-mail: [ayala@fisica.ufc.br](mailto:ayala@fisica.ufc.br)

Address: Caixa postal 6030, 60.455-970 Fortaleza (CE) Brazil

Phone: +55 85 3366 9009

#### Highlights

- Five new solid forms of PTX, with caffeic acid, citric acid, glutaric acid and vanillic acid were synthesized and one of these structures was a hydrate;
- All the new structures were elucidated by single crystal X-ray crystallography at room temperature;
- Dissolution studies in water revealed that two cocrystals (PTXCIT and PTXVAN) have higher solubility than PTX, while PTXGLT started its dissolution profile with higher solubility than PTX but ended in lower levels due to its conversion in the hydrated cocrystal 2PTXGLTh, which has similar dissolution profile of PTX. PTXBZC, PTXSAL and PTXCAF presented lower solubility than PTX.

## ABSTRACT

Pentoxifylline (PTX) is a xanthine drug that acts as a non-specific inhibitor of phosphodiesterase with rapid dissolution and absorption in the body, giving its high solubility in aqueous media. Due to that, PTX requires modulation of its release through sustained dosage forms. However, none of these formulations cater to reducing the solubility, controlling the dissolution rate, and giving rise to a longer half-life of PTX, extending the in vivo retention time. In this work, a cocrystallization approach is presented to modulate the solubility of PTX. Previously reported, with salicylic acid and benzoic acid, and five new drug cocrystals, with caffeic acid, citric acid, glutaric acid, and vanillic acid, were characterized by X-ray diffraction techniques, infrared spectroscopy, and thermal analysis, to achieve the main goal: modulate the solubility and dissolution rate of PTX.

**Keywords:** Pentoxifylline, cocrystal, dissolution rate, solubility

## 1. INTRODUCTION

Pentoxifylline (PTX, Figure 1) is a xanthine drug that acts as a non-specific inhibitor of phosphodiesterase, decreasing the transcription of pro-inflammatory. It has rapid dissolution and absorption in the body, requiring modulation of its release, which occurs through its pharmaceutical form as oral tablets with modified release (Ma et al. 2018). PTX has also been studied as an option in adjuvant therapy for neonatal sepsis and necrotizing enterocolitis (Speer et al. 2018; Stepanovs, Māra Jure, et al. 2015) and with the prospect of being explored in antineoplastic therapy (Golunski, Woziwodzka, and Piosik 2018).

PTX has water solubility equivalent to 77 g / L at 25°C (Bennett 1992), considered highly soluble in aqueous media. Moreover, given the high first-pass metabolization in the liver and adverse dose-dependent side effects that occur with the immediate release of the PTX, a controlled release of this drug is mandatory (Cleary et al. 1999; Lee, Tang, and Chen 2014; Tzankov and Tzankov 2019). In the literature, formulations for sustained dosage of this highly soluble drug were proposed, but none cater to controlling its solubility, reducing the dissolution rate, and giving rise to a longer half-life of PTX. It is well known that this property can be modulated through cocrystallization, in addition to other possible interesting modifications that may occur. Few studies have emphasized the use of the cocrystallization to reduce the solubility of highly soluble drugs in view to extend the in vivo retention time, improving their oral absorption (Dai et al. 2020; Xuan et al. 2020).

Cocrystal can be defined as solid crystalline materials composed of two or more molecules in the same crystalline structure, with defined stoichiometry (Shaikh et al. 2018) (Douroumis, Ross, and Nokhodchi 2017; Kalepu and Nekkanti 2015; Pindelska, Sokal, and Kolodziejewski 2017). Not limited to only ionizable drugs, such as salts, multicomponent solid forms, such as cocrystals, are found to be potent in enhancing physicochemical properties, as solubility, dissolution rate, stability, permeability, flowability, tabletability, hygroscopicity, density and even flavour of active pharmaceutical ingredients (APIs) (Bolla and Nangia 2016; Ferreira et al. 2020; Good and Naír 2009; Karagianni, Malamataris, and Kachrimanis 2018; Kumar and Nanda 2017; Maity, Paul, and Desiraju 2020) (Karagianni et al. 2018; Karimi-Jafari et al. 2018).

PTX was reported to form cocrystals with furosemide, a pharmaceutical active with diuretic properties that is widely used in the control of blood pressure (Shah et al. 2018). Among the obtained cocrystals, there are anhydrous, hydrate and acetone solvate forms. Years later, *in silico* and experimental studies were correlated aiming to predict PTX cocrystals, verifying successfully the formation of cocrystals with acetylsalicylic acid, salicylic acid and benzoic acid in equimolar proportions (Stepanovs, Māra Jure, et al. 2015). More recently, PTX cocrystals were reported using perfluorinated compounds as cofforming agents (1,4 diiodotetrafluorobenzene and 1,4 dibromotetrafluorobenzene) (Choquesillo-Lazarte, Nemeč, and Cinčić 2017). A common condition to all the carried out studies refers to the methodology used in the production of cocrystals, which applies mechanochemical activation with the addition of solvent, to obtain the cocrystal, and slow evaporation, to obtain a single-crystal suitable for the structure elucidation.

The aim of the present work is controlling the PTX solubility by using multicomponent crystalline forms. New and previously reported cocrystals are compared correlating physicochemical (solubility, melting point) and structural (crystal packing) properties targeting the tuning of the pharmacotechnical properties and providing better criteria for the cocrystals design. Also, reproducible preparation methodologies, suitable for scaling-up, were preferred to support the cocrystal selection. Thus, mechanochemical techniques, such as liquid-assisted grinding (LAG), were applied to induce the cocrystallization avoiding bulk solvents making the process environmentally friendly. The new solids forms had their crystalline structure elucidated by X-ray diffraction techniques and were characterized by spectroscopic and thermal methods. Solubility and dissolution profiles were carefully investigated in the seek for promising cocrystals to be used in sustained release oral formulations.

## **2. METHODOLOGY**

### **2.1. Existing crystalline structures**

The screening of reported crystalline structures of PTX was carried out through the Cambridge structural database (CSD, Cambridge Structural Database), where two polymorphs were found, called form I (JAKGEH) and form II (JAKGEH01), both anhydrous. PTX cocrystals were also identified: three cocrystals with furosemide as



coformer (FEFYAS, FEFYEW and FEFYIA), one with acetylsalicylic acid (HUNJEH), one with salicylic acid (HUNJIL) and one with benzoic acid (HUNJOR).

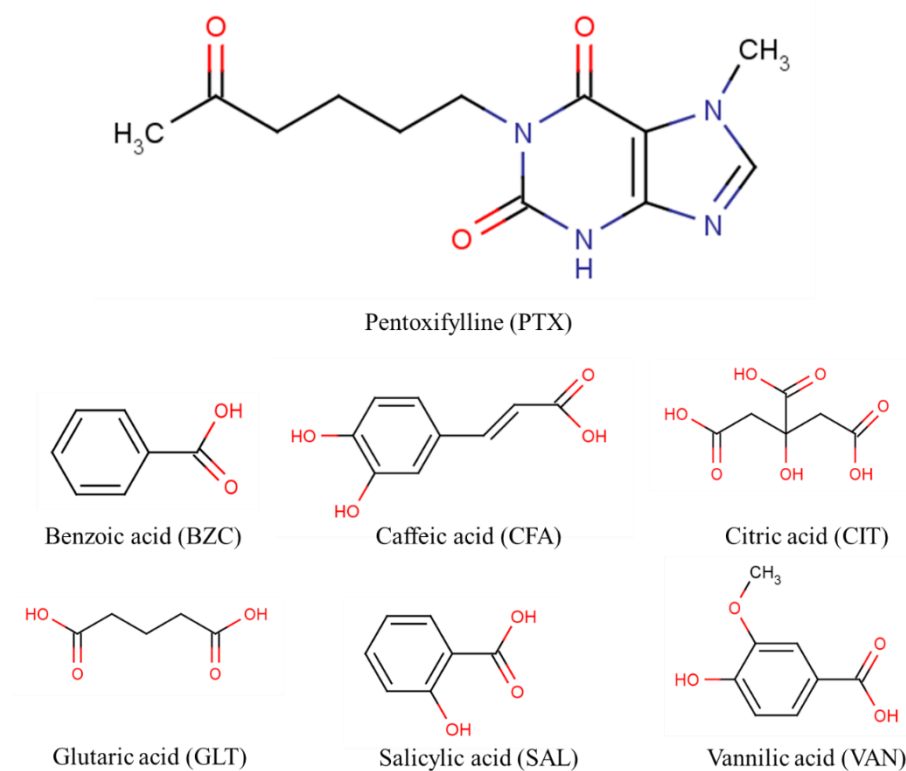


Figure 1 – Molecular structure of PTX and cocystal formers with their corresponding abbreviations (Source: the author – MarvinSketch 5.9.4 Software).

## 2.2. Sample preparation

Mechanochemical activation by liquid-assisted grinding was cocystal screening methodology applied in this work. The coformers are shown in Figure 1. PTX and the coformers were mixed in a 1:1 molar ratio, using about 100  $\mu$ L of ethanol as solvent in steel jars with a volume of 5.0 mL and a steel ball 5 mm in diameter. For the previously reported cocystals, salicylic acid (SAL) and benzoic acid (BZC), the mixture was submitted to a frequency of 30 Hz lasting 20 minutes, as described in the literature (Stepanovs, Māra Jure, et al. 2015). The new structures reported in this work with the coformers caffeic acid (CAF), citric acid (CIT), glutaric acid (GLT), and vanillic acid (VAN) were obtained at a frequency of 25 Hz for 15 minutes.

After grinding, a small amount of the resulting material was subjected to slow evaporation after solubilization in ethanol or methanol, with some of them requiring heating for solubilization. Those that were not easily solubilized were subjected to stirring

for 24 hours in an airtight container. After that period, the material was filtered and the resulting solution was taken to slow evaporation. All slow evaporations were carried out at room temperature or in a refrigerator.

### **2.3.X-ray diffraction**

Single-crystal X-ray diffraction data collection ( $\phi$  scans and  $\omega$  scans with  $\kappa$  and  $\theta$  offsets) were performed at room temperature on a Bruker-AXS D8 VENTURE equipped with a Kappa goniometer, PHOTON II CPAD detector, a MoK $\alpha$  INCOATEC I $\square$ S 3.0 microfocus source ( $\lambda = 0.71073 \text{ \AA}$ ). The crystal centering, unit cell determination, refinement of the cell parameters, and data collection was controlled through the program APEX3 (Bruker AXS Inc 2018a). The frame integration was performed using SAINT (Bruker AXS Inc 2018b) and the intensities were scaled and absorption corrected using SADABS (Sheldrick 2000). Using Olex2 (Dolomanov et al. 2009), the structure was solved by intrinsic phasing using SHELXT (Sheldrick 2015b) and refined by full-matrix least-squares calculation based on F2 for all reflection using SHELXL (Sheldrick 2015a). All non-hydrogen atoms were refined anisotropically. Hydrogen atoms were located in difference Fourier and refined isotropically or calculated geometrically and refined using the riding model. The programs MERCURY (MacRae et al. 2020) and VEGA (Pedretti et al. 2021) were used to prepare the artwork representations for publication. The crystallographic information files of the structures PTXCFA, PTXCTR, PTXGLT, PXTVAN, and 2PTXGLTh were deposited in the Cambridge Structural Data Base (Groom et al. 2016), respectively under the codes 208972-208976. Copies of the data can be obtained, free of charge, via [www.ccdc.cam.ac.uk](http://www.ccdc.cam.ac.uk).

XRPD was obtained in the same equipment for SCXRD, but by recording the diffracted rings of copper monochromated radiation collected at room temperature. The rings patterns were integrated in the range from  $2\theta = 5^\circ$  to  $45^\circ$ . The sample for XRPD was prepared by grinding the material in an agate mortar and pestle and a small portion was stick into the sample holder.

### **2.4.Infrared spectroscopy**

Infrared analysis was performed in a Fourier transform spectrometer VERTEX 70V from Bruker Optics with DTGS detector, through an ATR accessory (FTIR-ATR), under a ZnSe crystal with a spectrum between  $4000$  to  $400 \text{ cm}^{-1}$ , 128 scans, and  $2 \text{ cm}^{-1}$

resolutions. Depending on the sample, the experiment was performed under vacuum or atmospheric pressure (open). No previous preparation was required before the analysis. All the recorded spectra were presented in the Supplementary Material.

### **2.5. Thermal analysis**

Thermogravimetric analysis (TG) and differential exploratory calorimetry (DSC) were obtained using a simultaneous thermal analysis equipment (STA) Jupiter 449 from Netzch and DSC 200 F3 Maia from Netzsch. Between 7 to 15 mg of sample were placed in a sealed aluminium crucible with a hole in the lid. Experiments were realized in the working range from 30 °C to 250 °C at 5 °C/min. The sensors and the crucible were under constant flow of nitrogen (50mL/min or 70mL/min) during the experiments.

### **2.6. Solubility and Dissolution Profile**

The experiment was carried out with all calibration curve obtained using solutions with known concentration of each cocrystal. The mother solution has 1.0 mg/mL concentration. From this, aliquots of 50, 100, 150, 200 and 250 µL were taken and then diluted with distilled water inside 10 mL volumetric flasks, triple times. Distilled water was used as reference and the UV-Vis measurements were recorded scanning between 200 and 400 nm in a Specord 250 (Analytic Jena). Calibrations curves were calculated considering the suitable absorption wavelength.

Solubility studies were carried out by dissolving a small amount of each solid form slightly grinded in 10 to 20 mL of water, keeping surplus of the material under stirring with a magnetic bar, spinning at 25 rpm rotation, at 30°C for 24 hours. The aliquots of 0.5 µL were removed at regular time intervals (5, 10, 15, 30, 45, 90, 120 and 1440 min) and filtered using 0.45 µm nylon filters. From the filtrates, 0.1 µL were transferred to 10 mL volumetric balloons and immediately diluted appropriately in water until fill the volume, and then read in the equipment. The concentration was calculated using the calibration curve previously determined by recording the UV-Vis absorption. All the solubility measurements were made in triplicate. XRPD was performed also after the dissolution experiment per each remaining powder.

HPLC was performed exclusively for PTXVAN analysis. The analysis was performed with the Shimadzu equipment with a C18 column, CTO-10A VP column oven set at 30°C and a LC-10AD pump at 0.1 mL/min UV-Vis detector and mobile phase

similar to the one used at UV-Vis spectroscopy. All measurements were made in triplicate.

### 3. RESULTS AND DISCUSSION

Regarding the reproduction of the already reported material, it was possible to obtain the cocrystals with SAL and BZC (PTXSAL and PTZBZC respectively), verified through the correlation between the experimental PXRD and the calculated one presented by the standards extracted from the RefCodes HUNJIL and HUNJCR (Supplementary Material). For cocrystals already previously studied, only the solubility tests were performed. In addition, other solid forms were obtained directly by slow evaporation the mechanochemistry: PTXCFA, PTXGLT, PTXCIT and PTXVAN. From the solubility assay of PTXGLT, it was possible to identify another new hydrated cocrystal with 2:1 stoichiometry, 2PTXGLTh. First the structural discussion of the new solid forms will be presented. At this point it is important to point out that the XRPD patterns of the samples obtained by LAG can be described by the crystalline structures determined from the EVL. These single phase samples were used for the comparison of the thermal analysis and solubility assays of all the investigated cocrystals.

#### 3.1. Crystalline structures

From the previously described methodologies, it was possible to obtain four new cocrystals using the cofomers: CFA, CIT, VAN, and GLT. In addition, in the PTXGLT system, an anhydrous and a hydrated forms with different API:coformer stoichiometries were observed. All the crystallographic data and refinement parameters of the novel solid forms are given in Table 1. The main interactions defining the crystal packing of each cocrystal are described as follows.

Table 1: Crystallographic data and structure refinement parameters for the PTX cocrystals.

Radiation type Cu  $K\alpha$  for all cocrystals.

|                  | PTXCFA                               | PTXCIT                               | PTXVAN                               | PTXGLT                               | 2PTXGLTh   |
|------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|--|
| Chemical formula | $C_{13}H_{18}N_4O_3 \cdot C_9H_8O_4$ | $C_{13}H_{18}N_4O_3 \cdot C_6H_8O_7$ | $C_{13}H_{18}N_4O_3 \cdot C_8H_8O_4$ | $C_{13}H_{18}N_4O_3 \cdot C_5H_8O_4$ | $2(C_{13}H_{18}N_4O_3) \cdot C_5H_8O_4 \cdot H_2O$ |
| Molecular weight | 458.34                               | 470.44                               | 446.46                               | 410.43                               | 706.76   |

| Crystal system,<br>space group  | Triclinic, <i>P1</i>                       | Monoclinic,<br><i>P2<sub>1</sub>/c</i>     | Triclinic, <i>P1</i>                     | Triclinic, <i>P1</i>                       | Monoclinic,<br><i>P2<sub>1</sub>/c</i>     |
|---|--|--|--|--|--|
| <i>a</i> , <i>b</i> , <i>c</i> (Å)  | 7.4186 (3),<br>11.5806 (4),<br>13.5020 (5) | 22.4862 (8),<br>5.1568 (2),<br>19.8717 (7) | 8.0787 (2),<br>8.1240 (2),<br>9.5959 (2) | 5.4808 (2),<br>11.4025 (5),<br>16.5005 (7) | 17.6070 (3),<br>4.7126 (1),<br>43.3909 (8) |
| $\alpha$ , $\beta$ , $\gamma$ (°)   | 76.448 (2),<br>79.999 (2),<br>76.313 (2)   | 90, 109.791<br>(2), 90                     | 85.302 (1),<br>75.609 (1),<br>63.005 (1) | 91.054 (2),<br>98.818 (2),<br>97.612 (2)   | 90, 100.138<br>(1), 90                     |
| <i>V</i> (Å <sup>3</sup> )  | 1087.05 (7)                                | 2168.16 (14)                               | 543.22 (2)                               | 1009.24 (7)                                | 3544.14 (12)                               |
| <i>Z</i>  | 2  | 4  | 1  | 2  | 4  |
| $\mu$ (mm <sup>-1</sup> )   | 0.89                                       | 1.01                                       | 0.87                                     | 0.88                                       | 0.85                                       |
| Crystal size<br>(mm)  | 0.17 × 0.16 ×<br>0.03                      | 0.2 × 0.16 ×<br>0.05                       | 0.56 × 0.20 ×<br>0.15                    | 0.80 × 0.22 ×<br>0.1                       | 0.3 × 0.25 × 0.2                           |
| <i>T</i> <sub>min</sub> , <i>T</i> <sub>max</sub>   | 0.645, 0.753                               | 0.768, 1.000                               | 0.746, 0.926                             | 0.604, 0.754                               | 0.656, 0.754                               |
| Absorption<br>correction  | Numerical                                  | Numerical                                  | Numerical                                | Numerical                                  | Numerical                                  |
| No. of<br>measured,<br>independent<br>and observed<br>[ <i>I</i> > 2σ( <i>I</i> )]<br>reflections                 | 8182, 4254,<br>3417                        | 4306, 4306,<br>3441                        | 14507, 4006,<br>3788                     | 26270, 3671,<br>2897                       | 44400, 6994,<br>4877                       |
| <i>R</i> <sub>int</sub>   | 0.027                                      | 0.064                                      | 0.052                                    | 0.055                                      | 0.079                                      |
| ( <i>sin</i> θ/λ) <sub>max</sub><br>(Å <sup>-1</sup> )  | 0.618                                      | 0.619                                      | 0.618                                    | 0.602                                      | 0.618                                      |
| <i>R</i> [ <i>F</i> <sup>2</sup> > 2σ( <i>F</i> <sup>2</sup> )],<br><i>wR</i> ( <i>F</i> <sup>2</sup> ), <i>S</i> | 0.050, 0.141,<br>1.08                      | 0.064, 0.210,<br>1.05                      | 0.039, 0.108,<br>1.06                    | 0.056, 0.176,<br>1.10                      | 0.051, 0.149,<br>1.02                      |
| No. of<br>reflections   | 4254                                       | 4306                                       | 4006                                     | 3671                                       | 6994                                       |
| No. of<br>parameters  | 328  | 315  | 301                                      | 273  | 468  |
| Δρ <sub>max</sub> , Δρ <sub>min</sub><br>(e Å <sup>-3</sup> )   | 0.21, -0.26                                | 0.26, -0.28                                | 0.15, -0.14                              | 0.41, -0.18                                | 0.29, -0.30                                |

**Pentoxifylline-Caffeic Acid:** PTXCFA cocrystal crystallizes with a 1:1 stoichiometry with one molecule in the asymmetric unit (*Z'*=1) (Figure 2a). The crystal packing is determined by a set of three primary hydrogen bonds linking the PTX and CFA molecules (Table SM-2). The PTX purine group is aligned approximately on the same plane as CFA by the O1'-H1'...N2 (1.94 Å) and O4'-H4'...O1 (1.92 Å) strong bonds (Figure 2b) (Rozas

2007). Weaker interactions involving O2 and one of the methyl groups also contribute to this arrangement. The planes are stacked almost parallel due to the O3'-H3'...O3 bond connecting the 5-oxohexyl moiety, which is oriented perpendicular to the xanthine-CFA plane. The structure is also stabilized by a  $\pi$ - $\pi$  stacking based on imidazole(PTX)-phenyl(CFA) interactions within and between the tetramers shown in Figure 2(c).

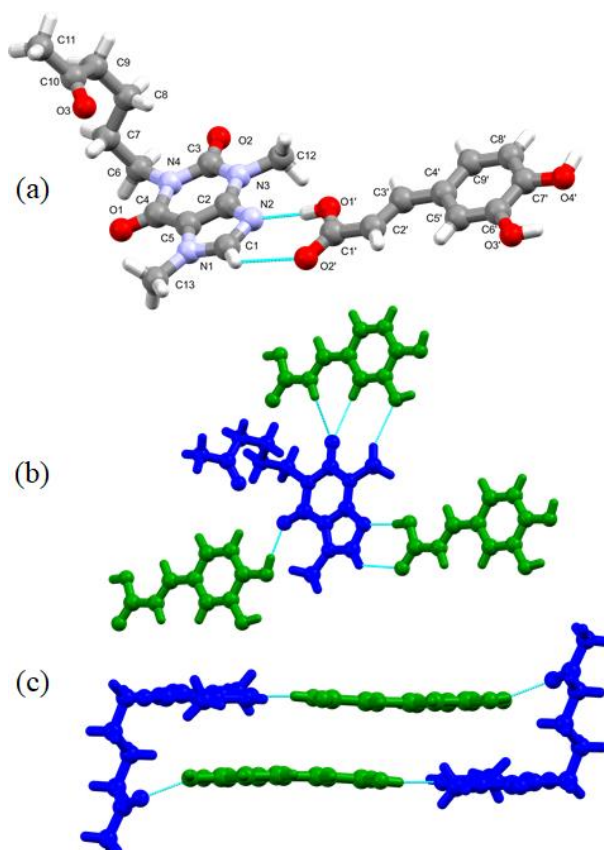


Figure 2 – (a) Asymmetric unit of the crystalline structure of the PTXCFA cocrystal. (b) and (c) Main interactions defining the crystal packing.

**Pentoxifylline-Citric Acid.** PTXCIT crystallizes in a monoclinic structure ( $P2_1/c$ ) with one molecule per asymmetric unit. Chains with alternated PTX and CIT molecules determine the crystal packing, being hydrogen-bonded through the imidazole (O4'-H4'...N2) and 5-oxohexyl (O1'-H1'...O3 and C11--H11A...O2') groups. Additional hydrogen-bonds between CIT molecules (O3'-H3'...O6', O6'-H6'...O5', C2'-H2'A...O4' and C2'-H2'B...O3') define the packing of the PTXCIT chains.

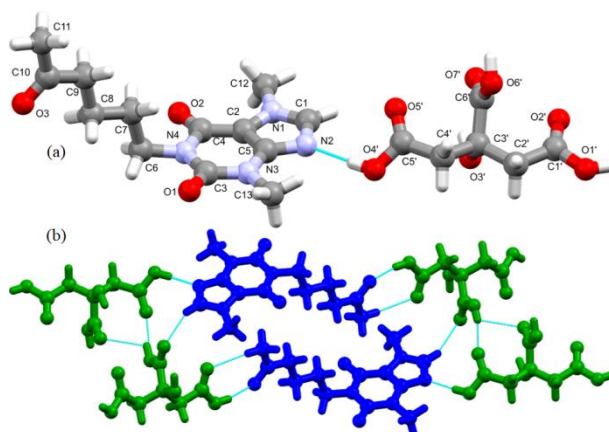


Figure 3 – (a) Asymmetric unit of the crystalline structure of the PTXCIT cocrystal. (b) Main interactions defining the crystal packing.

**Pentoxifylline-Vanillic Acid.** PTXVAN is a triclinic (*P1*) cocrystal with one molecule per asymmetric unit, also characterized as chains alternating PTX and VAN molecules. The binding sites of these chains are the imidazole ( $O3'-H3' \cdots N2$  and  $C1-H1 \cdots O4'$ ) and 5-oxohexyl ( $O1'-H1' \cdots O3$  and  $C11-H11C \cdots O2'$ ) groups. These chains are organized in planes with the 5-oxohexyl moiety aligned approximately parallel to the xanthine group. The planes are stacked by  $\pi$ - $\pi$  interaction between the PTX xanthine and VAN phenyl rings.

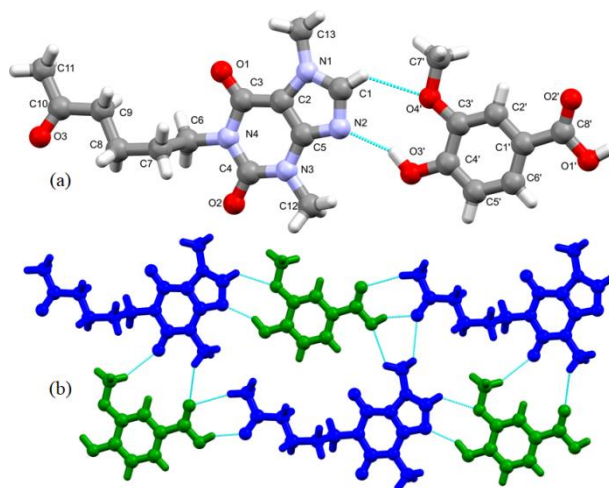


Figure 4 - (a) Asymmetric unit of the crystalline structure of the PTXVAN cocrystal. (b) Main interactions defining the crystal packing.

**Pentoxifylline-Glutaric Acid.** PTXGLT is a triclinic cocrystal with one molecule in the asymmetric unit in Figure 5 (a). API and coformer interact through two hydrogen bonds  $O1'-H1'\cdots N2$  and  $C1-H1\cdots O2'$ , whereas the remaining GLT carboxylic group forms the homosynthon ( $O3'-H3'\cdots O4'$ ) defining a dimer. This configuration aligns the GLT backbone approximately in the xanthine plane. In addition, the packing along the a-axis is given by a hydrogen bond between 5-oxohexyl moieties ( $C9-H9A\cdots O3$ ) and a  $CH\cdots\pi$  bond ( $C6H_2\cdots$ xanthine).

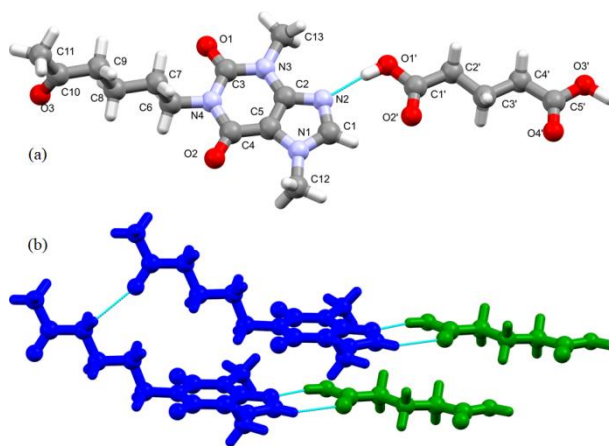


Figure 5 – (a) Asymmetric unit of the crystalline structure of the PTXGLT cocrystal. (b) Main interactions defining the crystal packing.

**Pentoxifylline-Glutaric Acid hydrate.** The main difference between the hydrated and anhydrous forms of this system is the 2:1 stoichiometry, giving the 2PTXGLTh cocrystal. The new structure is monoclinic ( $P2_1/c$ ). The two non-equivalent PTX molecules form hydrogen bonds between the corresponding imidazole groups and the two GLT carboxylic moieties ( $O3'-H3'\cdots N2$  and  $O1'-H1'\cdots N2A$ ). In PTXGLT, the GLT non-hydrogen atoms lie approximately in the same plane, whereas in 2PTXGLTh, the coformer has a twisted conformation. The same hydrogen bonds as in PTXGLT ( $C9-H9A\cdots O3$  and  $C9A-H9AB\cdots O3A$ ) give the stacking along the b-axis, leaving channels where the water molecules are placed.



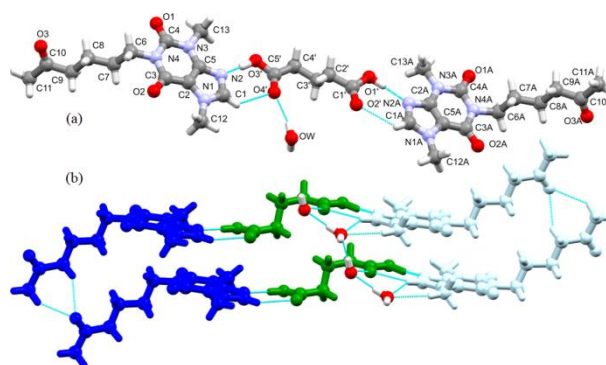


Figure 6 - (a) Asymmetric unit of the crystalline structure of the 2PTXGLTh cocrystal. (b) Main interactions defining the crystal packing.

Several interesting features can be noticed comparing the new and reported PTX cocrystals (Stepanovs, Māra Jure, et al. 2015; Stepanovs and Mishnev 2012a). One of the key characteristics of the PTX molecule allowing a variety of cocrystals is its conformational flexibility. This property is evident when comparing the reported polymorphs, which have very different orientations of the 5-oxohexyl chain (Pavelčík et al. 1989; Stepanovs and Mishnev 2011). The N4C6C7C8 dihedral angle clearly evidence the molecular flexibility in the crystal packing being, respectively,  $175.77^\circ$  and  $75.64^\circ$  for the triclinic and monoclinic polymorphs, characterizing a case of conformational polymorphism (Ayala et al. 2012). The PTX conformational flexibility is also observed in the cocrystal allowing several crystal packing arrangements through (Jacobs and Amombo Noa 2015) hydrogen bonds of the 5-oxohexyl chain with its counterpart or cofomers. Consequently, the N4C6C7C8 dihedral angle assumes two conformations closely related to those of the monoclinic and triclinic polymorphs: around  $70^\circ$ , as in the case of PTXCFA, or slightly lower than  $180^\circ$ , as in PTXVAN.

Considering the crystal packing, the prevalent interaction in all the observed PTX cocrystals is the imidazole $\cdots$ hydroxyl bond. This characteristic is also verified in several examples of cocrystals between the cofomers used in this contribution and xanthine derivatives. For example, GLT cocrystals were produced with caffeine (Trask, Motherwell, and Jones 2004; Vangala et al. 2016) and theophylline (Trask, Motherwell, and Jones 2006). Also, CIT cocrystals with theophylline and caffeine cocrystals were reported (Karki et al. 2007; Smit and Hagen 2015). Finally, VAN has been cocrystallized

with theobromine, caffeine, and theophylline (Jacobs and Amombo Noa 2015; Noa and Mehlana 2018).

The imidazole...hydroxyl synthon was previously investigated by Santiago et al., statistically comparing novel benzoylmetronidazole structures with those reported in the CSD containing carboxylic and phenol groups (Santiago de Oliveira et al. 2019). These authors observed that the donor-acceptor distance has a slightly asymmetric distribution centered at 2.70 Å with a standard deviation of 0.11 Å. The distribution media is preserved if the xanthine derivatives are considered, but the standard deviation is reduced to 0.09 Å, being even sharper for cofomers with carboxylic groups (0.06 Å), as shown in Figure 7(a). The PTX cocrystals, having cofomers with carboxylic groups, follow the same behavior with PTXVAN as an outlier. Thus, despite VAN being a carboxylic acid, this moiety is not bonded to the imidazole group but to the 5-oxyhexyl radical. Due to that PTXVAN should be considered in the general imidazole...hydroxyl group, where it fits properly within the expected distribution.

In general, the imidazole...carboxylic synthon defines a  $R_2^2(7)$  ring, but it could be questioned if there is a charge transfer between API and cofomer and, therefore, if the PTX supramolecular structures are salts or cocrystals. The difference ( $\Delta\text{CO}$ ) between the two CO bonds distances of the carboxylic group was calculated to address this question. It is well known that  $\Delta\text{CO}$  lower than  $\sim 0.03$  Å indicates that the carboxylic group is deprotonated. Figure 7 (b) compares  $\Delta\text{CO}$  for general imidazole...carboxylic synthons with the xanthenes and PTX multicomponent subgroups. In the general case, the  $\Delta\text{CO}$  distribution has two maxima  $\sim 0.0$  Å (salts) and  $\sim 0.105$  Å (cocrystals). Interestingly, when xanthine derivatives are considered, the vast majority of the structures are around the  $\Delta\text{CO}$  values characterizing cocrystals, with just 1% of them being salts. The distribution is even sharper for PTX structures, confirming that all of them were correctly classified as cocrystals. This fact is also supported by the pKa rule, based on the probability of proton transference between the components in a reaction (Cruz-Cabeza 2012; Delori et al. 2013). It was observed that the cocrystals are almost exclusively formed when the pKa difference ( $\Delta\text{pKa} = \text{pKa}[\text{protonated base}] - \text{pKa}[\text{acid}]$ ) is lower than -1, as it is the case for all the cofomers crystallizing with PTX.

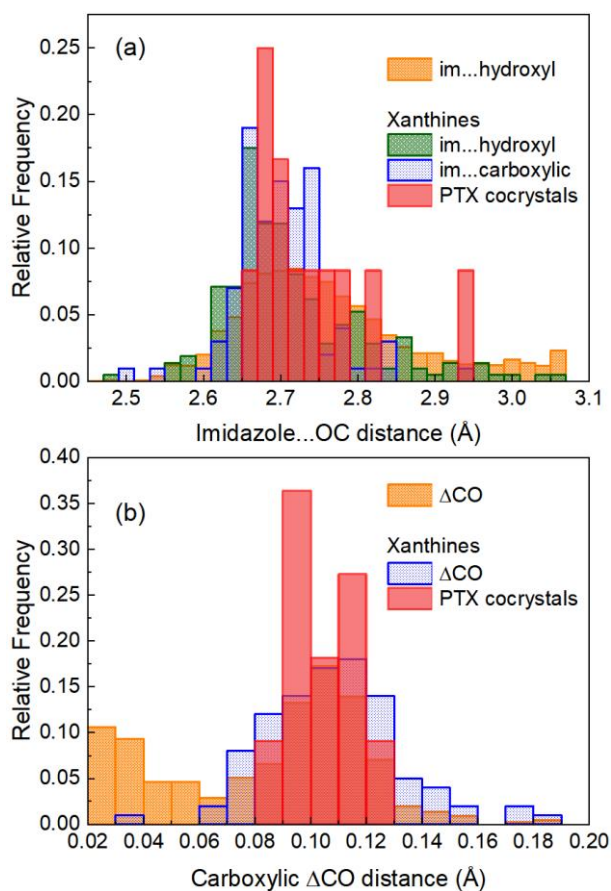


Figure 7 - (a) Comparison of the distribution of the acceptor-donor distances for general imidazole...hydroxyl groups with xanthine derivatives and PTX. (b) Distribution of the difference acceptor donor between de CO distances of the carboxylic group.

### 3.2. Thermal analysis

The thermal analysis test was carried out in order to verify the thermal stability of the cocrystals compared to the raw materials. Most of the cocrystals in general have melting points with onset temperatures lower than the PTX raw material (Figure 8), which is around 101.4°C, the exceptions to this rule are PTXCAF (125.5°C) and PTXCIT (127.0°C). The anhydrous form resulting from the cocrystal 2PTXGLTh also has a lower melting point, which is right after a small endothermic event related to the water release, as confirmed by TGA. In fact, 2PTXGLTh is the only cocrystal showing a mass loss event below the melting point. Most of the cocrystals has a defined melting point event far from the decomposition, differently of what occurs with the coformers. CAF, for example, only has the decomposition event around 214.0°C, but the cocrystal PTXCAF has a melting point at 125.5°C and decomposition onset around 146.4°C. VAN decomposes while

melting, but PTXVAN has melting point around 95.0°C and its decomposition onset in about 188.5°C. However, PTXCIT decomposes on melting with onset 127.0 °C. The TG curves of the cocrystals can be found on Supplementary Material.

Structure-properties correlations are useful tools to provide simple strategies for the rational coformer selection targeting the optimized design of cocrystals. Following this approach, Stepanovs et al. (Stepanovs, Māra Jure, et al. 2015) have suggested that there is a good correlation among the melting points of the PTX cocrystals and those of the corresponding coformers. However, our results do not support such a direct correlation between these properties (Figure SM8). In fact, there are conflicting reports in the literature regarding the correlation between the melting points of cocrystals and coformers. For example, no direct correlation was observed in the case of diclofenac (Aakeröy, Grommet, and Desper 2011) and piroxicam (Panzade et al. 2017). However, there was found examples in the literature that affirms a general correlation between the melting points of cocrystals and conformers (Suresh, Goud, and Nangia 2013) and others that aim the existence of a little correlation between this data (Stanton et al. 2009). Despite that, all cocrystals have shown to modify the melting point compared to PTX, suggesting that other physical and pharmaceutical properties could also be altered.

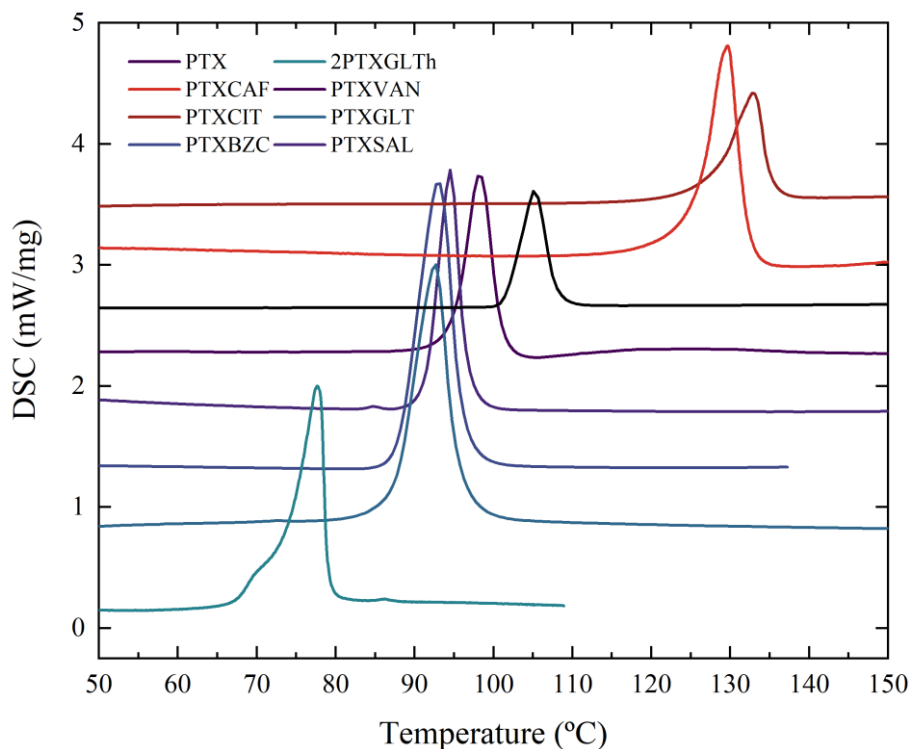


Figure 8 - DSC curves of PTX cocrystals

### 3.3.Solubility and Dissolution Profile

Before discussing the solubility and dissolution profiles, it is important to emphasize that the PTX cocrystals studied here produce low pH solutions when dissolved in aqueous medium due to the nature of the carboxylic acid coformers. The final pH of the cocrystals dissolutions vary from 0.67 to 3.03, with most of them in the 2 to 3 pH range. This fact needs to be considered because the PTX solubility is highly dependent on the solution pH. Around pH 1, the PTX have higher solubility, as it is shown in the Supplementary Material (SM-5). Even considering that PTX has higher solubility in low pH media, it was possible to produce cocrystals with very discrepant solubility, confirming the efficiency of the cocrystallization strategy to modulate the PTX solubility. The relationship between pH and dissolution for drugs and its cocrystals was widely discussed in the literature (Chen and Rodríguez-Hornedo 2018; Reddy et al. 2009).

As a rule, the PXRD and DSC characterization of the residual solids were performed at the end each dissolution study (after 24h). Interestingly, it was found that most of the cocrystals were stable till that time, which is unusual, showing the very high

cocrystal stability. The exceptions were PTXGLT, which recrystallized into 2PTXGLTh, and PTXVAN, transforming into a physical mixture of the API and cocrystal.

PTXVAN dissolution was performed as the others cocrystals, but the quantifications were carried out using a HPLC equipment due to the strong overlap seen in UV-Vis spectra. This methodology allowed to see the peaks isolated and enabled quantification of PTX effectively dissolved in aqueous medium. The surplus material was filtered and PXRD showed a physical mixture between cocrystal PTXVAN and VAN itself, which is in good agreement with the dissolution results. The remained solution was left for evaporation resulting in a physical mixture between PTXVAN and PTX.

Table 2: Relationship between solubility and melting point for coformers and cocrystals. Higher cocrystals solubility up to down. (\*) indicates the cocrystals data from literature.

|          | Solubility (mg/mL) |            | Melting Point (°C) |           |
|----------|--------------------|------------|--------------------|-----------|
|          | Coformer           | Cocrystal  | Coformer           | Cocrystal |
| PTX      | 89.0 ± 0.3         | -          | 101.4              | -         |
| PTXFUR*  | 0.0724             | 0.29       | 206.0              | 163.0     |
| PTXCAF   | 1.2 ± 0.01         | 4.2 ± 0.18 | 215.4              | 125.5     |
| PTXSAL   | 2.6 ± 0.33         | 6.7 ± 0.10 | 156.83             | 91.5      |
| PTXBZC   | 4 ± 0.19           | 8.3 ± 0.12 | 121.3              | 87.9      |
| PTXAAS*  | 4.6                | 28.2       | 142.0              | 84.0      |
| PTXGLT   | 591 ± 13.2         | 35.9 ± 5.3 | 94.7               | 84.3      |
| 2PTXGLTh | 591 ± 13.2         | 98.5 ± 0.7 | 94.7               | 71.5      |
| PTXVAN   | 2.7 ± 0.05         | 185 ± 2.3  | 209.2              | 94.9      |
| PTXCIT   | 630 ± 22.4         | 190.0 ± 4  | 151.9              | 128.3     |

The dissolution profiles of the PTX cocrystals are presented in Figure 9 and the solubility after 120 min listed in Table 2. According to some authors, there is a strong correlation between the solubility of the coformers and cocrystals (Churakov, Manin, and Perlovich 2017; Kilinkissa, Govender, and Báthori 2020). It has been proposed that high soluble coformers improves de solubility of the cocrystals. In our case, the solubility of cocrystals and coformers showed a not linear but consistent correlation. The higher solubility was attained in PTXCIT, which is based on the coformer with the higher aqueous solubility. Also, in this case was observed the lower pH value of the final

solution, nearby 0.67, being the closest final pH to the PTX pKa (0.28), when compared to the other cocrystals solutions. Also having a high solubility, PTXVAN is the only exception to the coformer solubility rule because VAN is highly stable due to the strong bonded dimer characterizing its crystalline packing. This fact is also evidenced on the disassembling of PTXVAN during the dissolution experiment, increasing PTX concentration.

On the other hand, a strong reduction of the PTX solubility, below one tenth of the one of the API, was observed with the cocrystals PTXCAF ( $4.18 \pm 0.18$  mg/mL), PTXSAL ( $6.73 \pm 0.10$  mg/mL) and PTXBZC ( $8.27 \pm 0.12$  mg/mL), which exhibit similar dissolution profiles. Our results are in good agreement with previously reported values for PTXSAL ( $5.7 \pm 1.0$  mg/mL) and PTXBZC ( $7.1 \pm 0.4$  mg/mL) (Stepanovs, Mara Jure, et al. 2015). A similar behaviour was observed in the drug-drug cocrystal of PTX with furosemide (PTXFUR) with a very low solubility (0.29 mg/mL) (Stepanovs and Mishnev 2012b). Notice that all the low solubility cocrystals are associated with low solubility cofomers, showing a direct correlation between these properties.

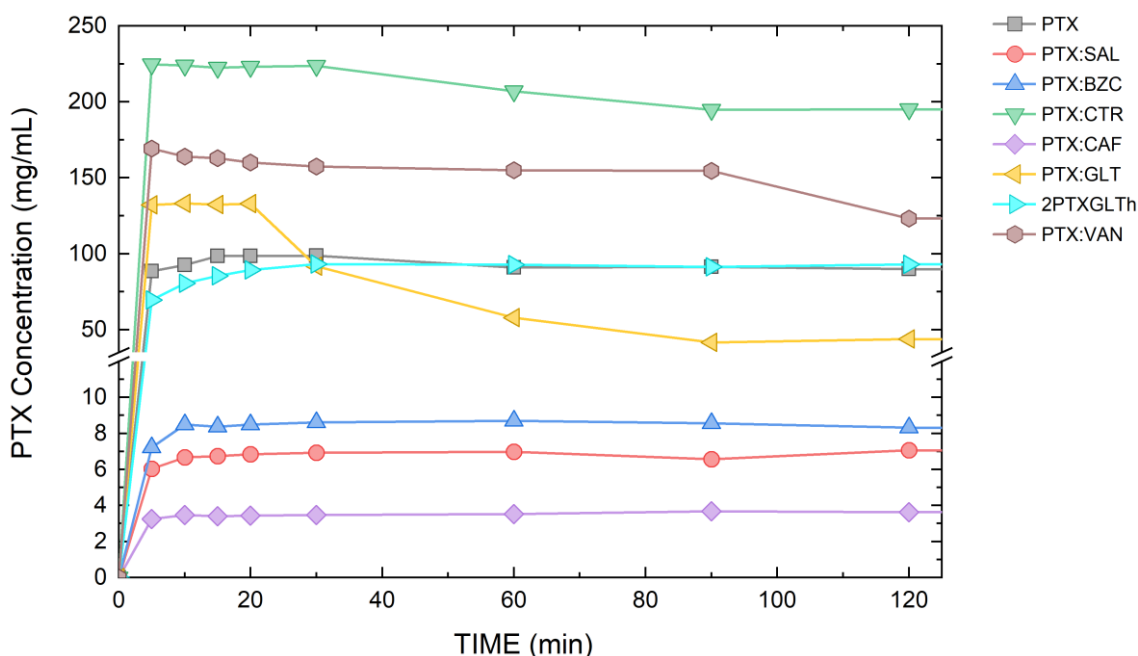


Figure 9 - Dissolution rate per each cocrystal demonstrated by PTX rate dissolution

Despite the fact the solubility of PTXGLT is close to the one of PTX, this cocrystal exhibit an interesting dynamic and will be considered separately. Thus, the dissolution profile of PTXGLT showed a higher initial solubility when compared to PTX, but, after achieving the saturation of the solution (around 20 minutes), the solubility drops down below the one of the API. This phenomenon is due to the surplus material acting as a crystallization nucleus and as a source of PTX and GLT which, during dissolution, reorganize in a more stable and less soluble structure, in a slurry-like process, forming the 2PTXGLTh cocrystal. As it is observed, the dissolution profile of PTXGLT follows a “spring and parachute” behavior (Bavishi and Borkhataria 2016; Surov et al. 2016), with the “spring” effect caused by fast dissociation of the cocrystal to form thermodynamically unstable, amorphous-like species of the soluble drug and cofomer, whereas the “parachute” effect occurs because of slow crystallization of the 2PTXGLTh, crystalline and stable form, less soluble than the amorphous-like isolated forms. That situation decreased the PTXGLT solubility, while a crystalline precipitate was formed and analyzed in DRX to confirm the 2PTXGLTh cocrystal.

During this experiment, the PTXGLT dissolution/2PTXGLTh formation, was expected the surplus of GLT to stay solubilized in the aqueous solution. The presence of GLT dissolved in the same aqueous solution of PTXGLT dissolution experiment is responsible to the salting out effect (Grundl et al. 2017; Schröder et al. 2011), avoiding the material to reach its maximum possible solubility. To check the real aqueous solubility of 2PTXGLTh, another experiment was performed only with this cocrystal, obtained through PTXGLT experiment, filtering the crystals and drying in paper filter. The dissolution was performed in aqueous medium at room temperature, without the presence of other dissolved materials.

The results showed that 2PTXGLTh has similar dissolution rate of PTX isolated after 30 minutes of experiment, being higher than PTXGLT. The difference between the dissolution behavior of the anhydrous and hydrated GLT cocrystals could be explained by the common ion effect, changing the solubility equilibrium due to surplus of GLT dissolved (Ayogu, Ezugwu, and Eze, 2020, Devarapalli et al. 2021). This solid-state changes during dissolution tests are relevant in pharmaceutical field due to the different dissolution behavior of PTX solid-state forms, affecting the kinetics of bioavailability.



This parameter should be carefully considered when cocrystals are being evaluated in conventional *in vitro* dissolution tests.

### 3.4. Structure properties relationships

The previous sections have compared properties like melting point and solubility attempting to correlate conformers and cocrystals. Despite the fact some trends were observed, there is no strong correlation between them. On the other hand, notice that the main synthon determining the crystal packing of all the discussed cocrystals is the same. This is an interesting case of study which allow us to compare these properties with structural based parameters.

The Hirshfeld Surfaces (HS) and the associated 2D fingerprint plots, calculated using Crystal Explorer (McKinnon, Spackman, and Mitchell 2004; Spackman and Jayatilaka 2009), are useful tools to understand the molecular environment and the strength of the intermolecular forces (Seth et al. 2011). Figure 10 shows representative 2D fingerprint plots of PTX and its cocrystals. The PTX structure is characterized by two spikes associated with the OH and HO interactions. A third spike related to the NH interaction is the main feature in the case of the cocrystals. The 2D fingerprint plots of all the polymorphs and cocrystals of PTX are presented in Figure SM-6. Interesting and unusual correlations between the intermolecular interaction of PTX molecules and properties of the cocrystals can be observed by calculating the relative 2D fingerprint area associated with a given intermolecular interacting.

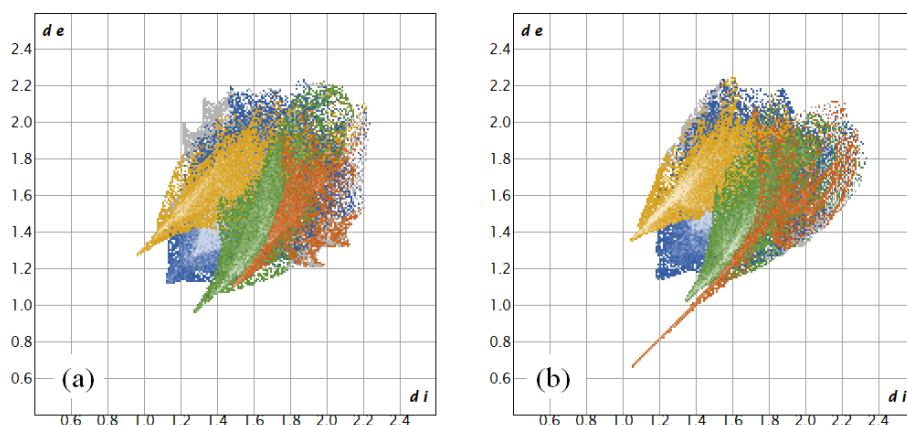


Figure 10 – Representative 2D fingerprint plots of (a) PTX polymorph (Form I) and (b) cocrystal (2PTXGLTh). The colours represent the *in-out* contacts N-H (red), O-H (green), H-O (yellow), and H-H (blue).

Considering the melting points, the strongest correlation between the intermolecular forces and this property was identified by analysing the relative surface area associate with the N-H interactions, as shown in Figure 11. There is a direct correlation between these parameters with the melting point increasing as the contribution of the N-H interactions rises, but the cocrystals are clearly arranged in two groups. For the blue group, composed of PTXAAS, PTXSAL, PTXCAF and PTXFUR, the increase effect of N-H interactions is higher than the green group.

The different behaviour could be explained due to the crystal organization. PTXFUR and PTXCAF has the higher amount of strong hydrogen bonds, which reflects in PTX conformation in the cocrystals, with the 5-oxohexyl chain out of the plane of the xanthine group, stabilizing the cocrystals layers and, due to their closest interactions, increasing the melting point. PTXSAL and PTXAAS has a similar organization referring to the out-of-plane conformation of PTX, with less stronger interactions. The green line group has an organization with the 5-oxohexyl chain approximately in-plane with the xanthine group of PTX, which slightly slope difference between the linear trends.

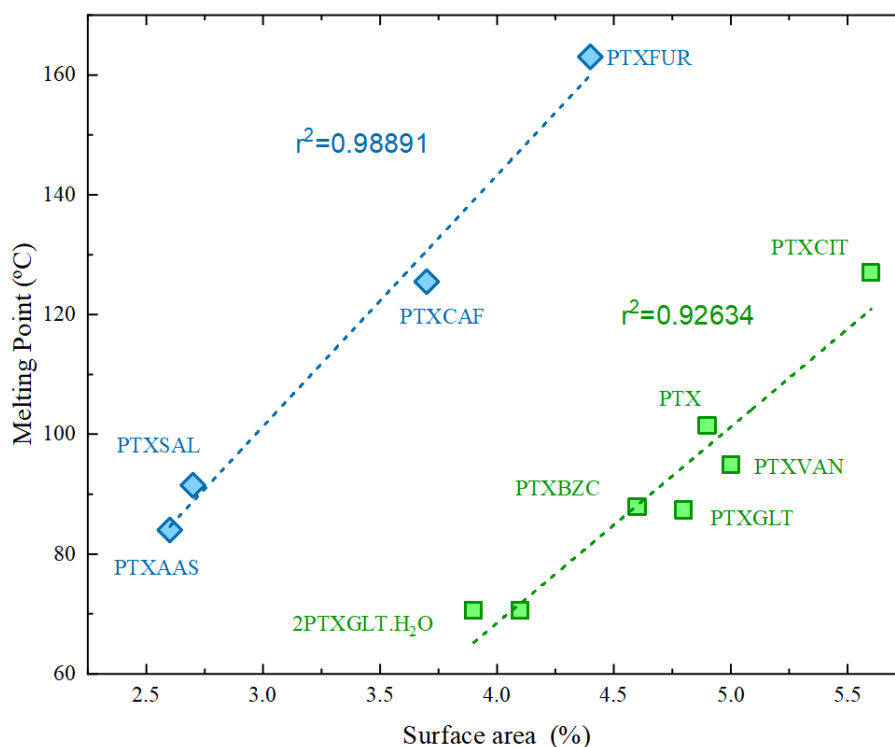


Figure 11 - Correlation of intermolecular interactions from in to out of PTX between N and H and melting point.

The cocrystal solubility is another property that could be correlated with the crystalline structure. As it was previously discussed, there is no clear relationship between the cocrystal and coformer solubilities. Due to that, contribution of the intermolecular interaction to the 2D fingerprint plot was analysed in terms of the observed saturation solubilities. The main synthon (imidazole...carboxylic) produces again the best correlation with the solubility, which is presented in Figure 12.

Following the previous criterion, the PTX cocrystals are distributed in two sets with increasing solubilities as a function of the N...H interactions contribution to the 2D fingerprint plot. The first group, including PTXSAL, PTXASS, 2PTXGLTh, PTXVAN, and PTXCIT, shows a clear linear correlation with the solubility increasing as the N...H contribution raises. Some cocrystals do not follow this behaviour, as it is the case of PTXCAF, PTXBZC, PTXFUR and PTXGLT. These structures need to be considered individually because each one has special features which could contribute to the departure from the observed linear behaviour. PTXCAF is the closer to the linear trend, but this structure is characterized by a conformational disorder which could both induce a different behaviour and affect the Hirshfeld surface calculations. PTXFUR has a complex set of hydrogen bonds because FUR is not a simple carboxylic acid, several NH...O and SO...HC contribute to defining the solubility of this cocrystal. PTXBZC has  $Z'=2$ , with two quite different PTX conformations. Finally, the PTXGLT solubility value needs to be carefully considered because it is not associated with the equilibrium of PTX with the cocrystal, but to a system involving PTX, PTXGLT and 2PTXGLTh due to the conversion of the original cocrystal into the hydrated form.

As previously discussed, PTXCAF has the higher amount of strong hydrogen bonds, which reflects in PTX conformation in the cocrystal, chair like, stabilizing the cocrystals layers and reducing the solubility, same situation as the melting point.

Analyzing the structural conformation of cocrystals, and this previous correlation, PTXCIT is organized with strong interaction between the CIT molecules, but not that much from CIT to PTX and weaker interactions between PTX molecules. An analogous situation is possible to be observed in 2PTXGLTh, leading the high solubility of those materials. In PTXVAN the cocrystal organization its based in alternating PTX and VAN molecules in layers, which has weaker interactions holding each layer, which leads to a

high solubility of PTX. PTXGLT starts as a high solubility cocrystal due to its high GLT solubility organized in dimers and holding one PTX molecule each by hydrogen bond, but, as previously discussed, the formation of 2PTXGLTh leads to a decreased concentration of the PTX in the dissolution medium.

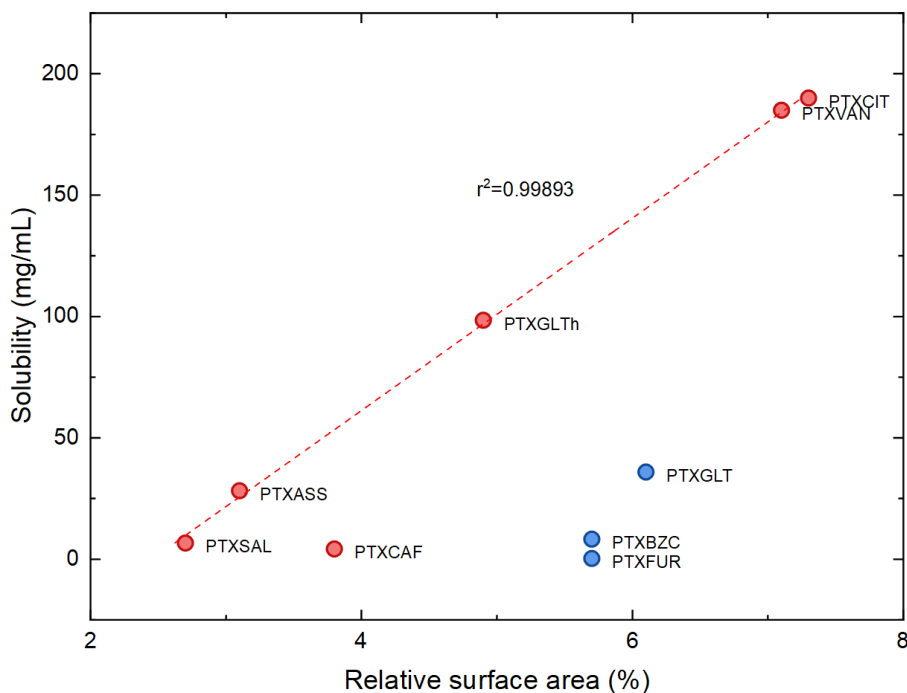


Figure 12 – Correlation between the solubility and the 2D surface area associated with the N...H interaction.

#### 4. CONCLUSIONS

In this work, five novel solid forms of PTX were produced by mechanochemical activation, which is a methodology almost solvent-free and suitable for scaling-up. The crystal packing of these forms is dominated by the imidazole...carboxylic/hydroxyl synthon. Our results confirm that this is a very robust synthon by comparing the relevant parameters with a large set of structures available in the CSD.

In addition to the new structures, two previously reported cocrystals were reproduced in large amounts to perform thermal analysis and solubility assays. These results were compared to seeking for correlations that could support crystal design strategies. Little or no correlation was observed between the cocrystals and the

corresponding properties of the coformers. On the other hand, when structural data are used as correlation parameters, it is noticed a dependence between the investigated properties and the crystal packing. In particular, the N $\cdots$ HO synthon seems to play a key role on these properties, as evidenced using the 2D fingerprint plots calculated from the Hirshfeld surfaces.

Finally, the tuning of the solubility through a crystal engineering approach was confirmed for PTX. Several cocrystals with a higher solubility were produced as it is usually reported in this kind of approach. However, in the case of PTX, the most relevant structures are those with a lower solubility. Thus, this study successfully identifies promising cocrystal suitable for the development of sustained release oral formulations.

## REFERENCES

- Aakeröy, Christer B., Angela B. Grommet, and John Desper. 2011. "Co-Crystal Screening of Diclofenac." *Pharmaceutics* 3(3):601–14.
- Ayala, A. P., M. W. C. Caetano, S. B. B. Honorato, J. Mendes Filho, H. W. Siesler, S. N. Faudone, S. L. Cuffini, Felipe Terra Martins, C. C. P. Da Silva, and J. Ellena. 2012. "Conformational Polymorphism of the Antidiabetic Drug Chlorpropamide." *Journal of Raman Spectroscopy* 43(2):263–72.
- Ayogu, P., Ezugwu, M. & Eze, F. 2020. "Principle of Common-ion Effect and its Application in Chemistry: a Review." *Journal of Chemistry Letters* 1, 77–83.
- Bavishi, Dhara D. and Chetan H. Borkhataria. 2016. "Spring and Parachute: How Cocrystals Enhance Solubility." *Progress in Crystal Growth and Characterization of Materials* 62(3):1–8.
- Bennett, Gary F. 1992. "The Merck Index: An Encyclopedia of Chemicals, Drugs and Biologicals." *Journal of Hazardous Materials* 30(3):373.
- Bolla, Geetha and Ashwini Nangia. 2016. "Pharmaceutical Cocrystals: Walking the Talk." *Chemical Communications* 52(54):8342–60.
- Bruker AXS Inc. 2018a. "APEX3 Suite."
- Bruker AXS Inc. 2018b. "SAINT Data Reduction Software."
- Chen, Yitian M. and Naír Rodríguez-Hornedo. 2018. "Cocrystals Mitigate Negative Effects of High PH on Solubility and Dissolution of a Basic Drug." *Crystal Growth & Design* 18(3):1358–66.
- Choquesillo-Lazarte, Duane, Vinko Nemeč, and Dominik Cinčić. 2017. "Halogen Bonded Cocrystals of Active Pharmaceutical Ingredients: Pyrazinamide, Lidocaine and Pentoxifylline in Combination with Haloperfluorinated Compounds." *CrystEngComm*.
- Churakov, Andrei V., Alex N. Manin, and German L. Perlovich. 2017. "Drug-Drug Cocrystals of Antituberculous 4-Aminosalicylic Acid: Screening, Crystal Structures, Thermochemical and

Solubility Studies.” *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 99.

Cleary, John D., Pamela C. Evans, Ahmed H. Hikal, and Stanley W. Chapman. 1999. “Administration of Crushed Extended-Release Pentoxifylline Tablets: Bioavailability and Adverse Effects.” *American Journal of Health-System Pharmacy* 56(15):1529–34.

Cruz-Cabeza, Aurora J. 2012. “Acid–Base Crystalline Complexes and the PKa Rule.” *CrystEngComm* 14(20):6362.

Dai, Xia Lin, Chao Wu, Jin Hui Li, Lian Chao Liu, Xin He, Tong Bu Lu, and Jia Mei Chen. 2020. “Modulating the Solubility and Pharmacokinetic Properties of 5-Fluorouracilviacocrystallization.” *CrystEngComm* 22(21):3670–82.

Delori, Amit, Peter T. A. Galek, Elna Pidcock, Mohit Patni, and William Jones. 2013. “Knowledge-Based Hydrogen Bond Prediction and the Synthesis of Salts and Cocrystals of the Anti-Malarial Drug Pyrimethamine with Various Drug and GRAS Molecules.” *CrystEngComm* 15(15):2916–28.

Devarapalli, R., Indukuri, A., Bollineni, M., Mondal, A., Reddy, C. M., and Chennuru, R. 2021. “Investigation of Poor Solubility of a Salt-Cocrystal Hydrate: A Case Study of the Common-Ion Effect in Betrixaban, an Anticoagulant Drug.” *Molecular Pharmaceutics* 18, 1138–1149.

Dolomanov, Oleg V., Luc J. Bourhis, Richard J. Gildea, Judith A. K. Howard, and Horst Puschmann. 2009. “OLEX2: A Complete Structure Solution, Refinement and Analysis Program.” *Journal of Applied Crystallography* 42(2):339–41.

Douroumis, Dennis, Steven A. Ross, and Ali Nokhodchi. 2017. “Advanced Methodologies for Cocrystal Synthesis.” *Advanced Drug Delivery Reviews* 117:178–95.

Ferreira, Patricia Osorio, Amanda Cosmo de Almeida, Éverton Carvalho dos Santos, Roosevelt Droppa, Fabio Furlan Ferreira, Ana Carolina Kogawa, and Flávio Junior Caires. 2020. “A Norfloxacin-Nicotinic Acid Cocrystal: Mechanochemical Synthesis, Thermal and Structural Characterization and Solubility Assays.” *Thermochimica Acta* 694.

Golunski, Grzegorz, Anna Woziwodzka, and Jacek Piosik. 2018. “Potential Use of Pentoxifylline in Cancer Therapy.” *Current Pharmaceutical Biotechnology* 19(3):206–16.

Good, David J. and Rodríguez Hornedo Naír. 2009. “Solubility Advantage of Pharmaceutical Cocrystals.” *Crystal Growth and Design*.

Groom, Colin R., Ian J. Bruno, Matthew P. Lightfoot, and Suzanna C. Ward. 2016. “The Cambridge Structural Database.” *Acta Crystallographica Section B Structural Science, Crystal Engineering and Materials* 72(2):171–79.

Grundl, Gabriel, Martina Müller, Didier Touraud, and Werner Kunz. 2017. “Salting-out and Salting-in Effects of Organic Compounds and Applications of the Salting-out Effect of Pentasodium Phytate in Different Extraction Processes.” *Journal of Molecular Liquids* 236:368–75.

Jacobs, Ayesha and Francoise M. Amombo Noa. 2015. “Co-Crystals and Co-Crystal Hydrates of Vanillic Acid.” *CrystEngComm* 17(1):98–106.

Kalepu, Sandeep and Vijaykumar Nekkanti. 2015. “Insoluble Drug Delivery Strategies: Review of Recent Advances and Business Prospects.” *Acta Pharmaceutica Sinica B* 5(5):442–53.

Karagianni, Anna, Maria Malamataris, and Kyriakos Kachrimanis. 2018. “Pharmaceutical Cocrystals: New Solid Phase Modification Approaches for the Formulation of APIs.” *Pharmaceutics*.

- Karimi-Jafari, Maryam, Luis Padrela, Gavin M. Walker, and Denise M. Croker. 2018. "Creating Cocrystals: A Review of Pharmaceutical Cocrystal Preparation Routes and Applications." *Crystal Growth & Design* 18(10):6370–87.
- Karki, Shyam, Tomislav Friščić, William Jones, and W. D. Samuel Motherwell. 2007. "Screening for Pharmaceutical Cocrystal Hydrates via Neat and Liquid-Assisted Grinding." *Molecular Pharmaceutics* 4(3):347–54.
- Kilinkissa, Ornella E. Y., Krishna K. Govender, and Nikoletta B. Báthori. 2020. "Melting Point-Solubility-Structure Correlations in Chiral and Racemic Model Cocrystals." *CrystEngComm* 22(16).
- Kumar, S. and A. Nanda. 2017. "Pharmaceutical Cocrystals: An Overview." *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*.
- Lee, Chen An, Muoi Tang, and Yan Ping Chen. 2014. "Measurement and Correlation for the Solubilities of Cinnarizine, Pentoxifylline, and Piracetam in Supercritical Carbon Dioxide." *Fluid Phase Equilibria* 367:182–87.
- Ma, Hongbao, Steven Lee, Yan Yang, Puneet Bedi, and Shyan Yih Chou. 2018. "Pentoxifylline Protects against Loss of Function and Renal Interstitial Fibrosis in Chronic Experimental Partial Ureteral Obstruction." *Pathophysiology*.
- MacRae, Clare F., Ioana Sovago, Simon J. Cottrell, Peter T. A. Galek, Patrick McCabe, Elna Pidcock, Michael Platings, Greg P. Shields, Joanna S. Stevens, Matthew Towler, and Peter A. Wood. 2020. "Mercury 4.0: From Visualization to Analysis, Design and Prediction." *Journal of Applied Crystallography* 53(1):226–35.
- Maity, Dilip Kumar, Rakesh Kumar Paul, and Gautam R. Desiraju. 2020. "Drug–Drug Binary Solids of Nitrofurantoin and Trimethoprim: Crystal Engineering and Pharmaceutical Properties | Enhanced Reader." *Mol. Pharmaceutics* 17:undefined-4442.
- McKinnon, Joshua J., Mark A. Spackman, and Anthony S. Mitchell. 2004. "Novel Tools for Visualizing and Exploring Intermolecular Interactions in Molecular Crystals." *Acta Crystallographica Section B: Structural Science* 60(6):627–68.
- Noa, Francoise M. Amomb. and Gift Mehlana. 2018. "Co-Crystals and Salts of Vanillic Acid and Vanillin with Amines." *CrystEngComm* 20(7):896–905.
- Panzade, Prabhakar, Giridhar Shendarkar, Sarfaraj Shaikh, and Pavan Balmukund Rathi. 2017. "Pharmaceutical Cocrystal of Piroxicam: Design, Formulation and Evaluation." *Advanced Pharmaceutical Bulletin* 7(3).
- Pavelčík, F., J. Sivý, E. Havránek, P. Sivý, E. Komanová, and J. Nevýdal. 1989. "Structure of Pentoxifylline, C<sub>13</sub> H<sub>18</sub> N<sub>4</sub> O<sub>3</sub>." *Acta Crystallographica Section C Crystal Structure Communications* 45(5):836–37.
- Pedretti, Alessandro, Angelica Mazzolari, Silvia Gervasoni, Laura Fumagalli, and Giulio Vistoli. 2021. "The VEGA Suite of Programs: An Versatile Platform for Cheminformatics and Drug Design Projects" edited by Y. Ponty. *Bioinformatics* 37(8):1174–75.
- Pindelska, Edyta, Agnieszka Sokal, and Waclaw Kolodziejcki. 2017. "Pharmaceutical Cocrystals, Salts and Polymorphs: Advanced Characterization Techniques." *Advanced Drug Delivery Reviews* 117:111–46.
- Reddy, L. Sreenivas, Sarah J. Bethune, Jeff W. Kampf, and Naír Rodríguez-Hornedo. 2009. "Cocrystals and Salts of Gabapentin: PH Dependent Cocrystal Stability and Solubility." *Crystal*

Growth & Design 9(1):378–85.

Rozas, Isabel. 2007. “On the Nature of Hydrogen Bonds: An Overview on Computational Studies and a Word about Patterns.” *Physical Chemistry Chemical Physics* 9(22):2782–90.

Santiago de Oliveira, Yara, Wendell Saraiva Costa, Poliana Ferreira Borges, Maria Silmara Alves de Santana, and Alejandro Pedro Ayala. 2019. “The Design of Novel Metronidazole Benzoate Structures: Exploring Stoichiometric Diversity.” *Acta Crystallographica Section C Structural Chemistry* 75(5):483–95.

Schröder, Bernd, Mara G. Freire, Fatima R. Varanda, Isabel M. Marrucho, Luís M. N. B. F. Santos, and João A. P. Coutinho. 2011. “Aqueous Solubility, Effects of Salts on Aqueous Solubility, and Partitioning Behavior of Hexafluorobenzene: Experimental Results and COSMO-RS Predictions.” *Chemosphere* 84(4):415–22.

Seth, Saikat Kumar, Debayan Sarkar, Amalesh Roy, and Tanusree Kar. 2011. “Insight into Supramolecular Self-Assembly Directed by Weak Interactions in Acetophenone Derivatives: Crystal Structures and Hirshfeld Surface Analyses.” *CrystEngComm* 13(22):6728–41.

Shah, Priyank, Hiten Patel, Priyam Mithawala, and Rajkumar Doshi. 2018. “Torsemide versus Furosemide in Heart Failure Patients: A Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials.” *European Journal of Internal Medicine* 57:e38–40.

Shaikh, Rahamatullah, Ravendra Singh, Gavin M. Walker, and Denise M. Croker. 2018. “Pharmaceutical Cocrystal Drug Products: An Outlook on Product Development.” *Trends in Pharmacological Sciences* 39(12):1033–48.

Sheldrick, George M. 2000. “SADABS, Software for Empirical Absorption Correction.” University of Göttingen, Germany SADABS, Software for Empirical Absorption Correcti.

Sheldrick, George M. 2015a. “Crystal Structure Refinement with SHELXL.” *Acta Crystallographica Section C: Structural Chemistry* 71(1):3–8.

Sheldrick, George M. 2015b. “SHELXT – Integrated Space-Group and Crystal-Structure Determination.” *Acta Crystallographica Section A Foundations and Advances* 71(1):3–8.

Smit, Jared P. and Eric J. Hagen. 2015. “Polymorphism in Caffeine Citric Acid Cocrystals.” *Journal of Chemical Crystallography* 45(3):128–33.

Spackman, Mark A. and Dylan Jayatilaka. 2009. “Hirshfeld Surface Analysis.” *CrystEngComm* 11(1):19–32.

Speer, Esther M., Elizabeth Diago-Navarro, Lukasz S. Ozog, David J. Dowling, Wei Hou, Mahnoor Raheel, Bettina C. Fries, and Ofer Levy. 2018. “Pentoxifylline Alone or in Combination with Gentamicin or Vancomycin Inhibits Live Microbe-Induced Proinflammatory Cytokine Production in Human Cord Blood and Cord Blood Monocytes in Vitro.” *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 62(12).

Stanton, Mary K., Sunita Tufekeic, Carrie Morgan, and Annette Bak. 2009. “Drug Substance and Former Structure Property Relationships in 15 Diverse Pharmaceutical Co-Rystals.” *Crystal Growth and Design* 9(3).

Stepanovs, Dmitrijs, Māra Jure, Liudmila N. Kuleshova, Detlef W. M. M. Hofmann, and Anatoly Mishnev. 2015. “Cocrystals of Pentoxifylline: In Silico and Experimental Screening.” *Crystal Growth & Design* 15(8):3652–60.

Stepanovs, Dmitrijs, Mara Jure, Liudmila N. Kuleshova, Detlef W. M. Hofmann, and Anatoly Mishnev. 2015. “Cocrystals of Pentoxifylline: In Silico and Experimental Screening.” *Crystal*



Growth and Design 15(8):3652–60.

Stepanovs, Dmitrijs and Anatoly Mishnev. 2011. “Monoclinic Polymorph of 3,7-Dimethyl-1-(5-Oxoheptyl)-3,7-Dihydro-1 H -Purine-2,6-Dione.” *Acta Crystallographica Section E Structure Reports Online* 67(11):o2851–o2851.

Stepanovs, Dmitrijs and Anatoly Mishnev. 2012a. “Multicomponent Pharmaceutical Cocrystals: Furosemide and Pentoxifylline.” *Acta Crystallographica Section C Crystal Structure Communications* 68(12):o488–91.

Stepanovs, Dmitrijs and Anatoly Mishnev. 2012b. “Multicomponent Pharmaceutical Cocrystals: Furosemide and Pentoxifylline.” *Acta Crystallographica Section C: Crystal Structure Communications* 68(12).

Suresh, Kuthuru, N. Rajesh Goud, and Ashwini Nangia. 2013. “Andrographolide: Solving Chemical Instability and Poor Solubility by Means of Cocrystals.” *Chemistry - An Asian Journal* 8(12).

Surov, Artem O., Katarzyna A. Solanko, Andrew D. Bond, Annette Bauer-Brandl, and German L. Perlovich. 2016. “Cocrystals of the Antiandrogenic Drug Bicalutamide: Screening, Crystal Structures, Formation Thermodynamics and Lattice Energies.” *CrystEngComm* 18(25):4818–29.

Trask, Andrew V, W. D. Sam Motherwell, and William Jones. 2006. “Physical Stability Enhancement of Theophylline via Cocrystallization.” *International Journal of Pharmaceutics* 320(1–2):114–23.

Trask, Andrew V, W. D. Samuel Motherwell, and William Jones. 2004. “Solvent-Drop Grinding: Green Polymorph Control of Cocrystallisation.” *Chemical Communications (Cambridge, England)* (7):890–91.

Tzankov, Stanislav and Borislav Tzankov. 2019. “Process Optimization of Preparation of Pentoxifylline - Extended Release Tablets.” *Pharmacia* 66(2):45–48.

Vangala, Venu R., Pui Shan Chow, Martin Schreyer, Grace Lau, and Reginald B. H. H. Tan. 2016. “Thermal and in Situ X-Ray Diffraction Analysis of a Dimorphic Co-Crystal, 1:1 Caffeine–Glutaric Acid.” *Crystal Growth & Design* 16(2):578–86.

Xuan, Bianfei, Si Nga Wong, Yanjie Zhang, Jingwen Weng, Henry H. Y. Tong, Chenguang Wang, Changquan Calvin Sun, and Shing Fung Chow. 2020. “Extended Release of Highly Water Soluble Isoniazid Attained through Cocrystallization with Curcumin.” *Crystal Growth & Design* 20(3):1951–60.

## SUPPLEMENTARY MATERIAL

Infrared spectroscopy of cocrystals and their raw materials (PTX and conformer) in order to characterize the materials obtained are presented as follow:

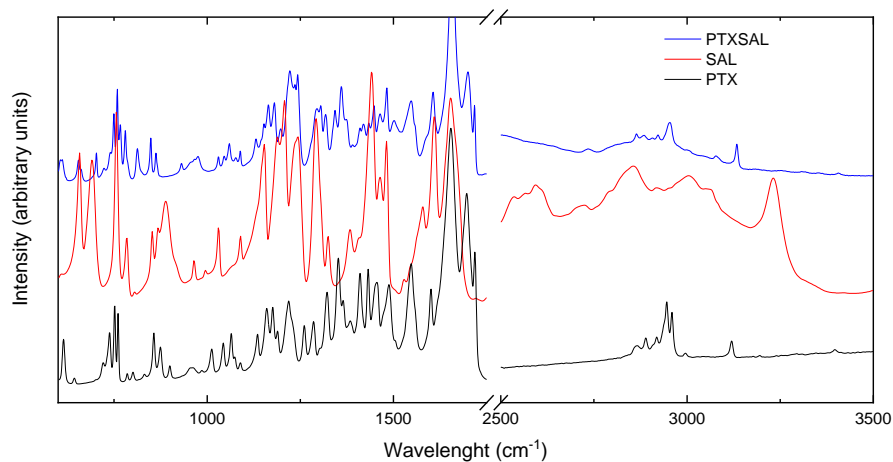


Figure SM1 – Infrared spectroscopy of raw materials PTX (black) and SAL (red), and the PTXSAL cocrystal (blue).

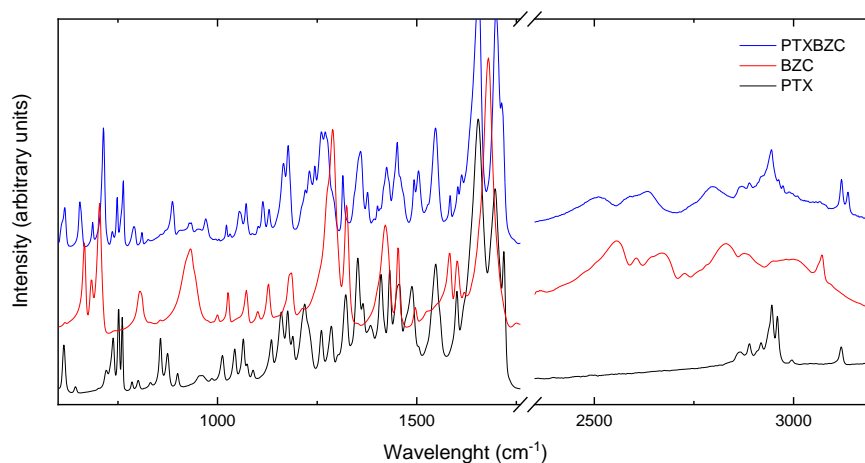


Figure SM2 - Infrared spectroscopy of raw materials PTX (black) and BZC (red), and the PTXBZC cocrystal (blue).

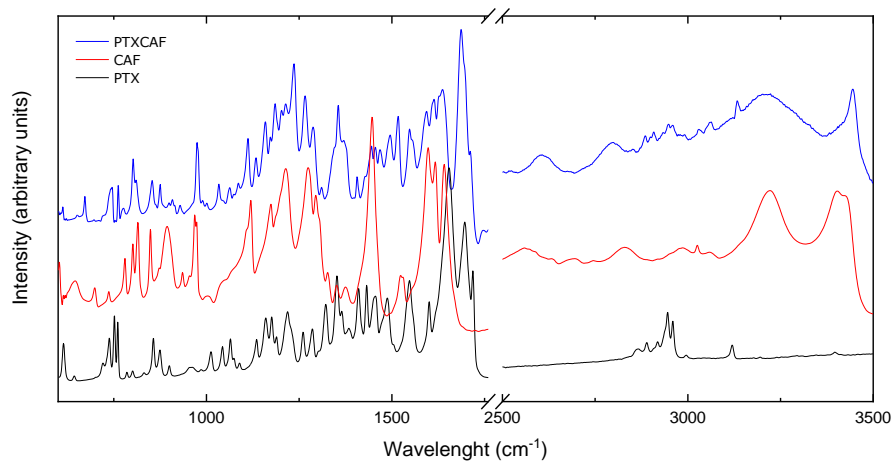


Figure SM3 - Infrared spectroscopy of raw materials PTX (black) and CAF (red), and the PTXCAF cocrystal (blue).

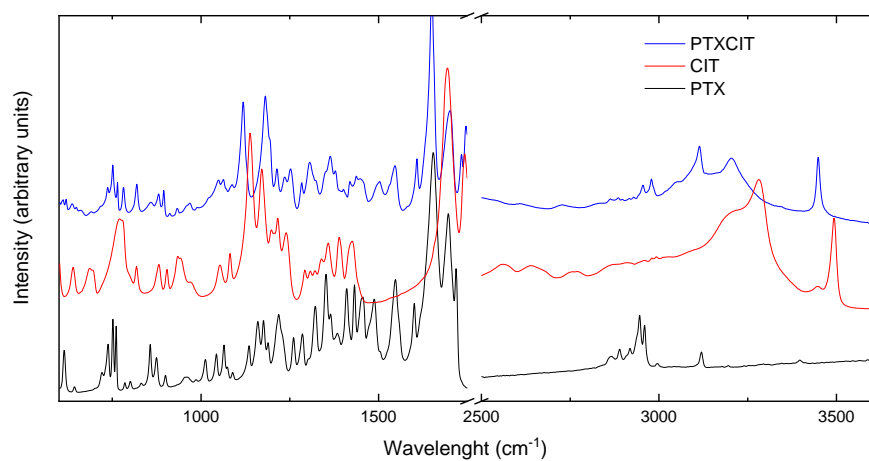


Figure SM4 - Infrared spectroscopy of raw materials PTX (black) and CIT (red), and the PTXCIT cocrystal (blue).

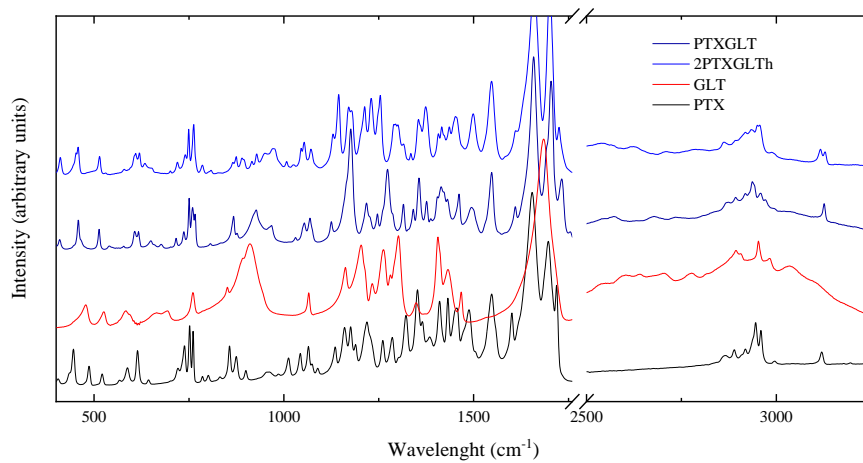


Figure SM5 - Infrared spectroscopy of raw materials PTX (black) and GLT (red), the 2PTXGLTh cocrystal (light blue) and PTXGLT cocrystal (dark blue).

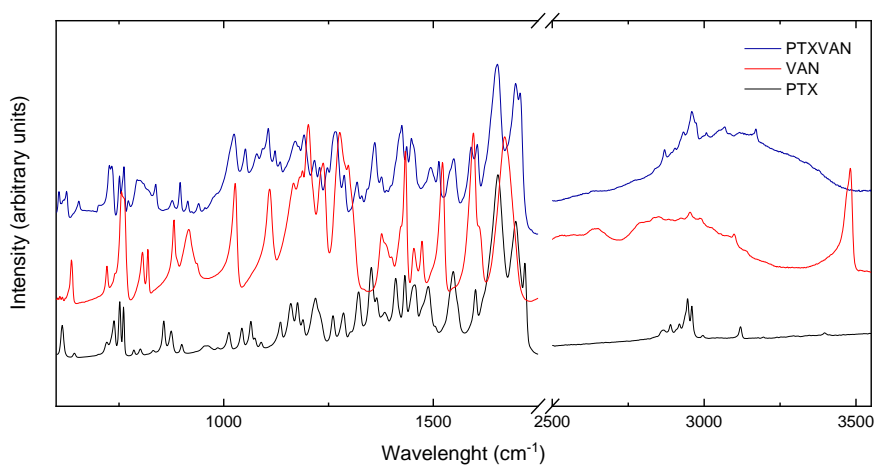


Figure SM6 - Infrared spectroscopy of raw materials PTX (black) and VAN (red), and the PTXVAN cocrystal (blue).

The tables bellow shows the set of hydrogen bonds linking the cocrystals PTXCAF, PTXGLT and PTXVAN, respectively.

Table SM1 – PTXCAF set of hydrogen bonds.

| <b>D–H...A [Å]</b>          | <b>d(D–H) [Å]</b> | <b>d(H...A) [Å]</b> | <b>d(D...A) [Å]</b> | <b>&lt;(DHA) [°]</b> |
|-----------------------------|-------------------|---------------------|---------------------|----------------------|
| O1'–H1'...N2 <sup>#1</sup>  | 0.82              | 1.94                | 2.756(2)            | 173.8                |
| O4'–H4'...O1                | 0.82              | 1.92                | 2.738(2)            | 172.3                |
| O3'–H3'...O4'               | 0.82              | 2.18                | 2.634(2)            | 115.4                |
| O3'–H3'...O3 <sup>#2</sup>  | 0.82              | 2.12                | 2.845(3)            | 147.1                |
| C5'–H5'...O2 <sup>#3</sup>  | 0.93              | 2.43                | 3.360(2)            | 173.7                |
| C1–H1...O2 <sup>#4</sup>    | 0.93              | 2.56                | 3.226(3)            | 128.5                |
| C2'–H2'...O2 <sup>#3</sup>  | 0.93              | 2.65                | 3.575(3)            | 175.8                |
| C12–H12B...O3 <sup>#5</sup> | 0.96              | 2.57                | 3.395(3)            | 143.6                |
| C9–H9AA...O2 <sup>#6</sup>  | 0.97              | 2.59                | 3.520(3)            | 160.2                |
| C7B–H7BA...O2               | 0.97              | 2.42                | 2.995(19)           | 117.4                |

Symmetry transformations used to generate equivalent atoms:

#1: 1+X, -1+Y, 1+Z; #2: -X, 1-Y, 1-Z; #3: +X, +Y, 1+Z; #4: -1+X, 1+Y, -1+Z; #5: +X, +Y, -1+Z; #6: -1+X, +Y, -1+Z;

Table SM2 – PTXGLT set of hydrogen bonds.

| <b>D–H...A [Å]</b>          | <b>d(D–H) [Å]</b> | <b>d(H...A) [Å]</b> | <b>d(D...A) [Å]</b> | <b>&lt;(DHA) [°]</b> |
|-----------------------------|-------------------|---------------------|---------------------|----------------------|
| C4'–H4'A...O2               | 0.97              | 2.63                | 3.578(4)            | 164.8                |
| C9–H9A...O3 <sup>#1</sup>   | 0.97              | 2.54                | 3.382(3)            | 145.7                |
| C1–H1...O2 <sup>#2</sup>    | 0.93              | 2.40                | 3.076(3)            | 129.6                |
| C12–H12A...O3'              | 0.96              | 2.54                | 3.495(4)            | 172.2                |
| C12–H12B...O2 <sup>#3</sup> | 0.96              | 2.49                | 3.238(3)            | 135.1                |

Symmetry transformations used to generate equivalent atoms:

#1: -1+X, +Y, +Z; #2: -1+X, 1+Y, +Z; #3: 2-X, -Y, 1-Z;

Table SM3 – PTXVAN set of hydrogen bonds.

| <b>D–H...A [Å]</b>          | <b>d(D–H) [Å]</b> | <b>d(H...A) [Å]</b> | <b>d(D...A) [Å]</b> | <b>&lt;(DHA) [°]</b> |
|-----------------------------|-------------------|---------------------|---------------------|----------------------|
| O3'–H3'...N2 <sup>#1</sup>  | 0.93(6)           | 2.08(7)             | 2.934(3)            | 152(5)               |
| O1'–H1'...O3                | 0.80(6)           | 1.95(6)             | 2.706(3)            | 156(5)               |
| C9–H9A...O2 <sup>#2</sup>   | 0.97              | 2.65                | 3.520(4)            | 149.7                |
| C12–H12B...O2 <sup>#3</sup> | 0.96              | 2.56                | 3.435(4)            | 152.4                |
| C11–H11C...O2'              | 0.96              | 2.51                | 3.444(4)            | 165.6                |
| C1–H1...O4 <sup>#4</sup>    | 0.93              | 2.44                | 3.104(4)            | 128.0                |
| C7'–H7'A...O2 <sup>#5</sup> | 0.96              | 2.52                | 3.359(4)            | 146.4                |
| C13–H13C...O1 <sup>#6</sup> | 0.96              | 2.60                | 3.139(4)            | 115.6                |

Symmetry transformations used to generate equivalent atoms:

#1: -1+X, -2+Y, 1+Z; #2: -1+X, +Y, +Z; #3: 1+X, 1+Y, +Z; #4: 1+X, 2+Y, -1+Z; #5: -1+X, -1+Y, +Z; #6: +X, 1+Y, -1+Z;

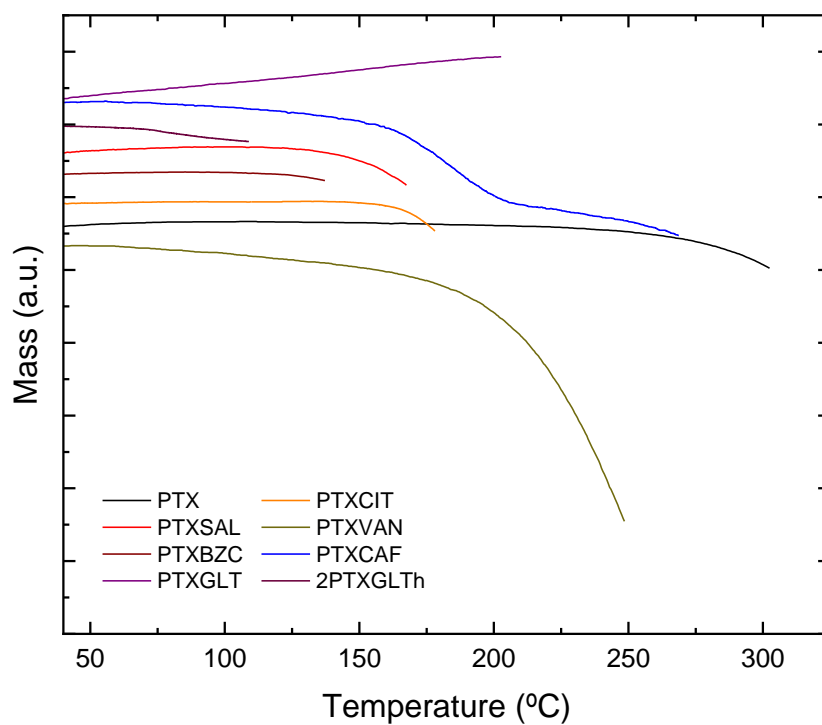


Figure SM7 – TG of raw material PTX and the cocrystals.

Table SM4 - Melting point of conformers and cocrystals. \* indicates the cocrystals data extracted from the literature

|                 | <i>Melting Point (°C)</i> |           |
|-----------------|---------------------------|-----------|
|                 | Conformer                 | Cocrystal |
| <i>PTX</i>      | 101.4                     | -         |
| <i>PTXFUR</i> * | 206.0                     | 163.0     |
| <i>PTXCAF</i>   | 215.4                     | 125.5     |
| <i>PTXSAL</i>   | 156.8                     | 91.5      |
| <i>PTXBZC</i>   | 121.3                     | 87.9      |
| <i>PTXAAS</i> * | 142.0                     | 84.0      |
| <i>PTXGLT</i>   | 94.7                      | 84.3      |
| <i>2PTXGLTh</i> | 94.7                      | 71.5      |
| <i>PTXVAN</i>   | 209.2                     | 94.9      |
| <i>PTXCIT</i>   | 151.9                     | 128.3     |

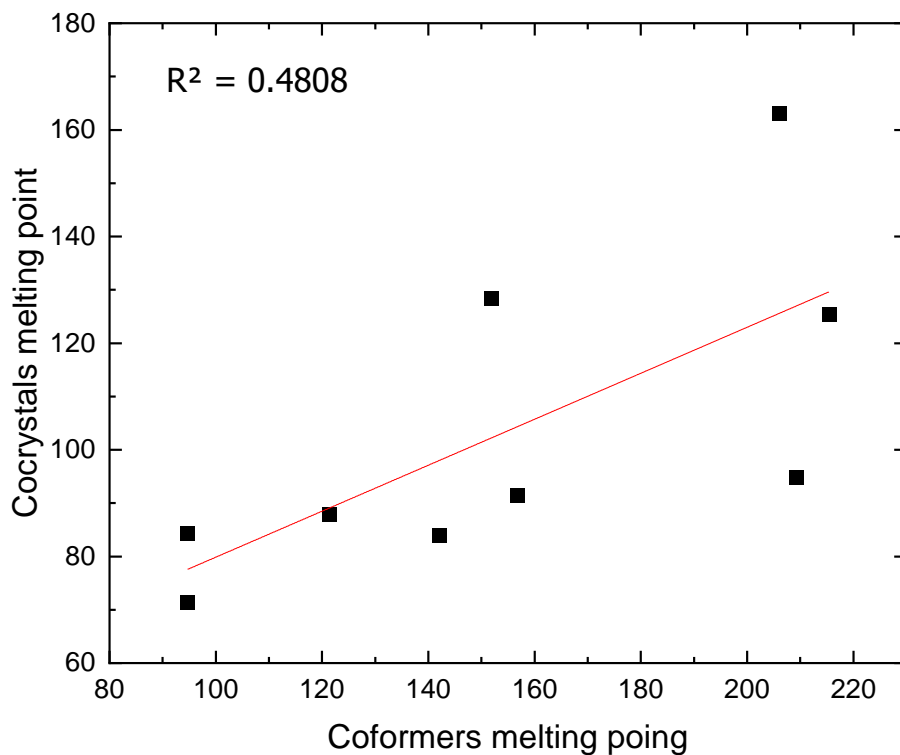


Figure SM8 - Correlation between cocrystals and coformers melting point  $R^2 = 0.4808$ . Data from table above (Table SM4).

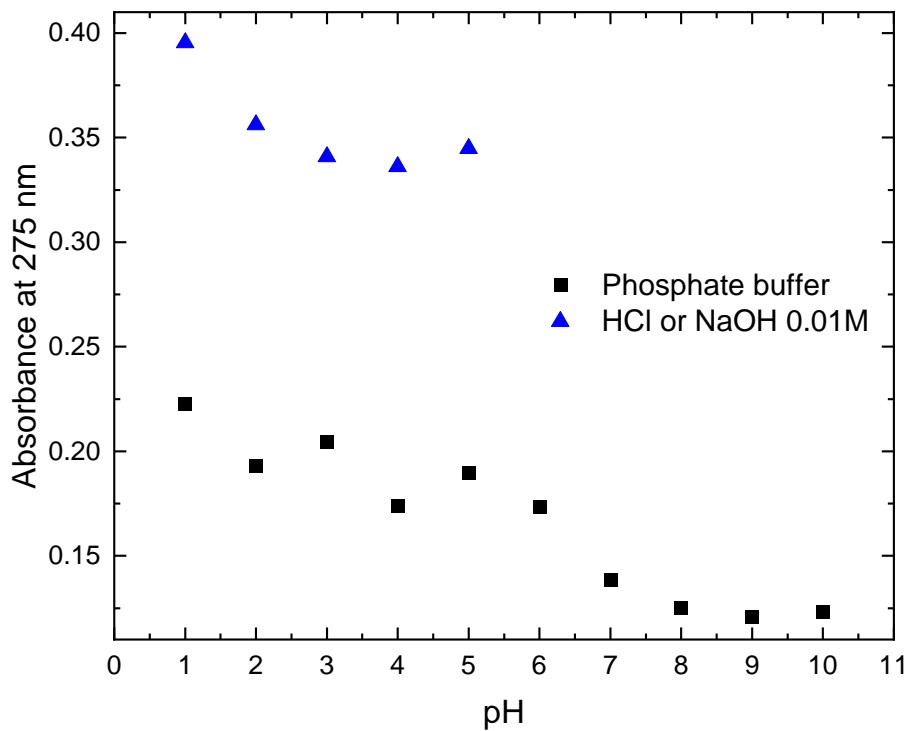


Figure SM9 - Absorbance of PTX in different pH conditions: in blue, pH corrected using only HCl of NaOH solutions (0.01M), in black the pH stabilized at 1 to 10 using phosphate buffer.

In order to check the relationship between the pH and PTX solubility, to understand the effect of this variable, it was performed an experiment with different pH achieved with phosphate buffer from 1 to 10, and without buffer, only regulating the pH with HCl or NaOH from 1 to 5. The graphic shows an interesting situation, when the PTX, at pH 1, has higher solubility when compared to the higher ones. This relationship is highlighted with the non-buffer experiment due to its lower load of another dissolved materials in aqueous medium. This result is correlated with PTX pKa 0.28, responsible for partial ionization of the raw material. During the experiment, not significantly variations in pH were seen. The PTX cocrystals studied here give low pH to the solution when dissolved in aqueous medium (from around 1 to 3) and, even knowing the fact that PTX has higher solubility in lower pH, it was possible to get materials with very discrepant solubility, lowering the PTX solubility in water, confirming the efficiency cocrystallization techniques in modulate from up to down the PTX solubility.

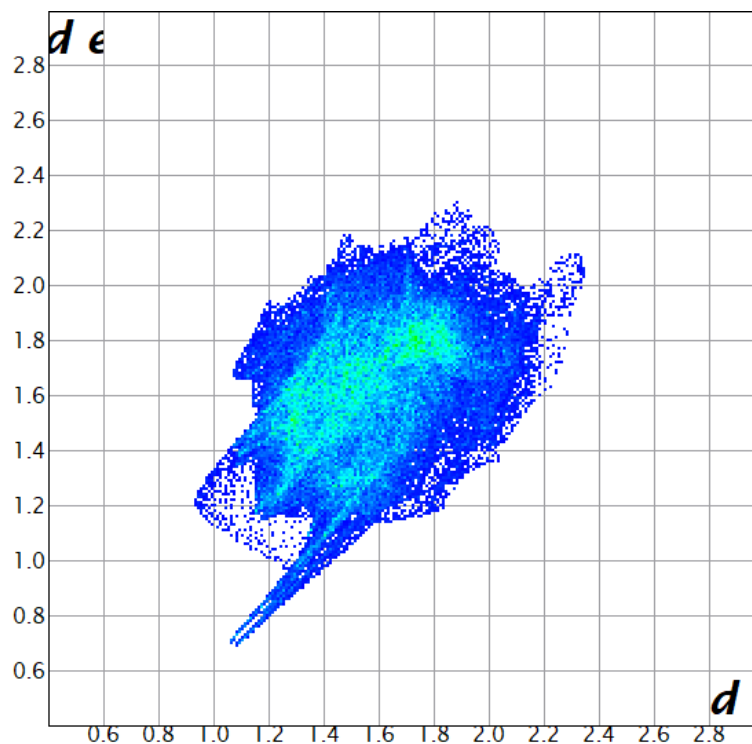


Figure SM10 - Fingerprint of PTXCAF Hirshfeld Surface.



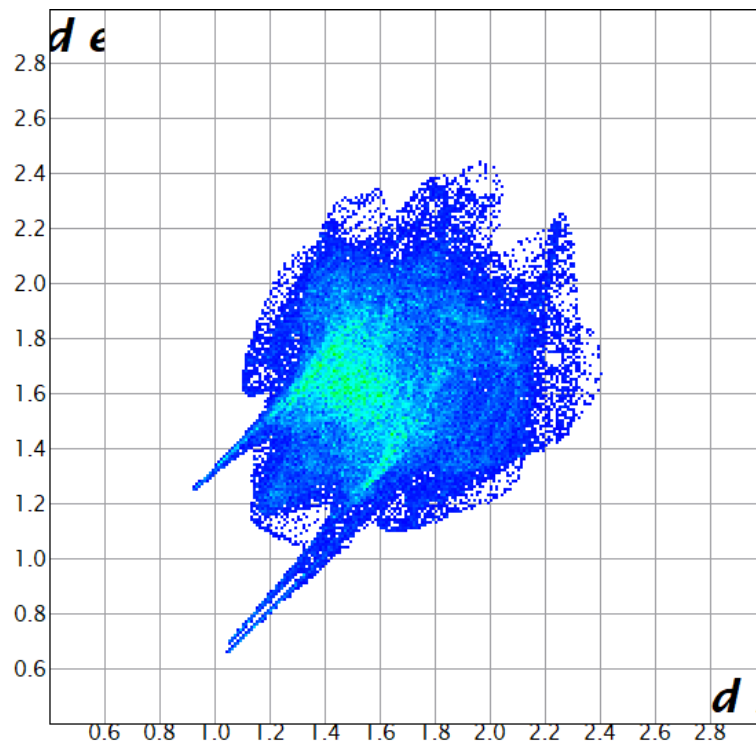


Figure SM11 - Fingerprint of PTXCIT Hirshfeld Surface.

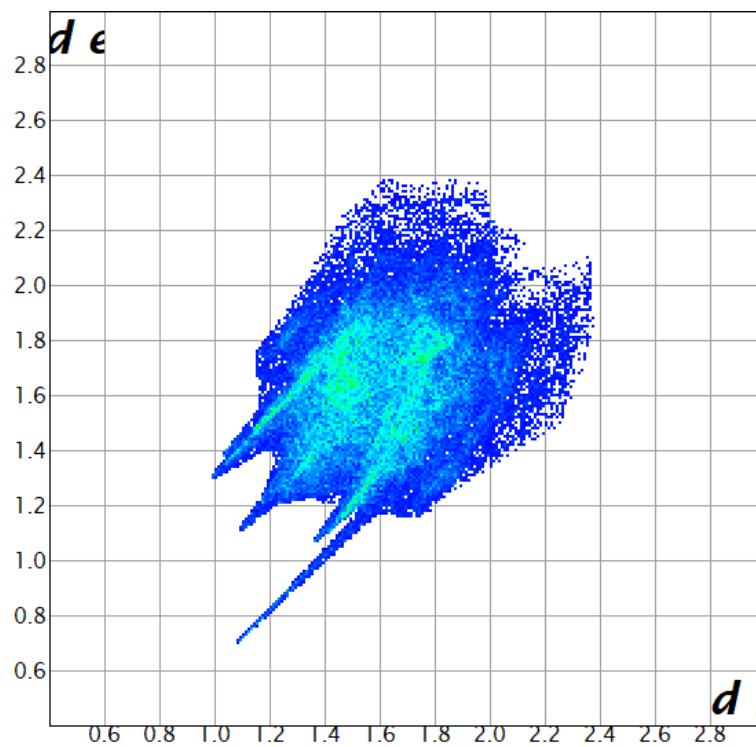


Figure SM12 - Fingerprint of PTXGLT Hirshfeld Surface.

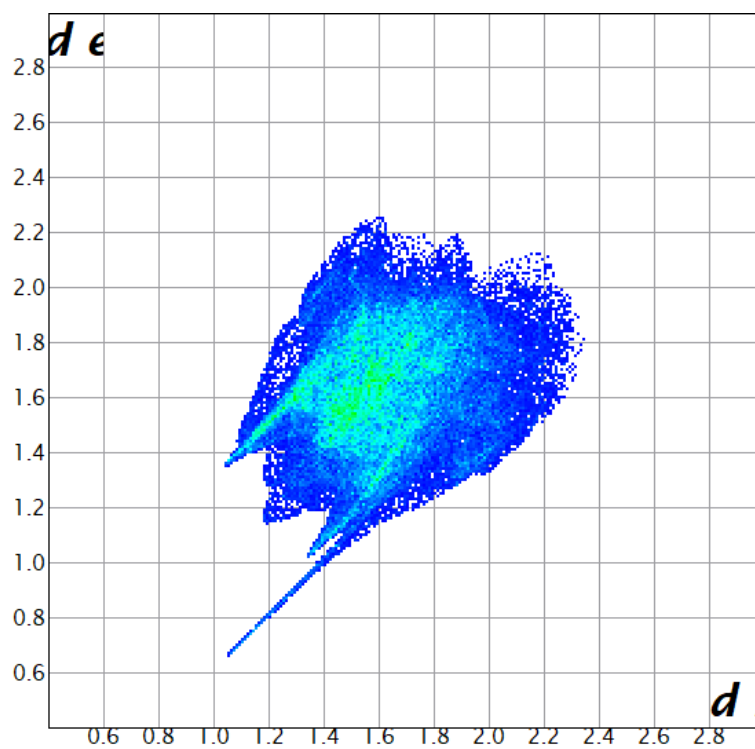


Figure SM13 - Fingerprint of 2PTXGLTh Hirshfeld Surface (conformer A).

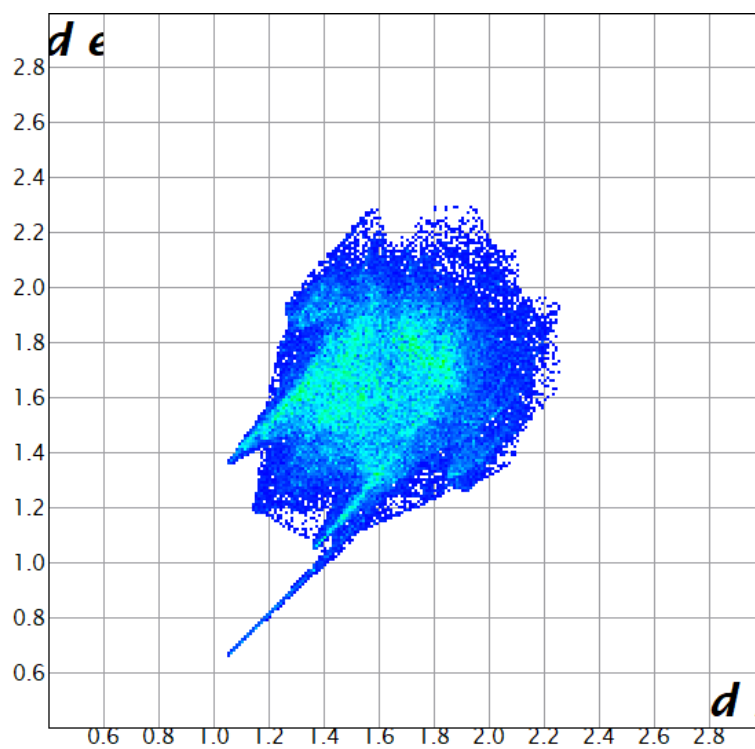


Figure SM14 - Fingerprint of 2PTXGLTh Hirshfeld Surface (conformer B).

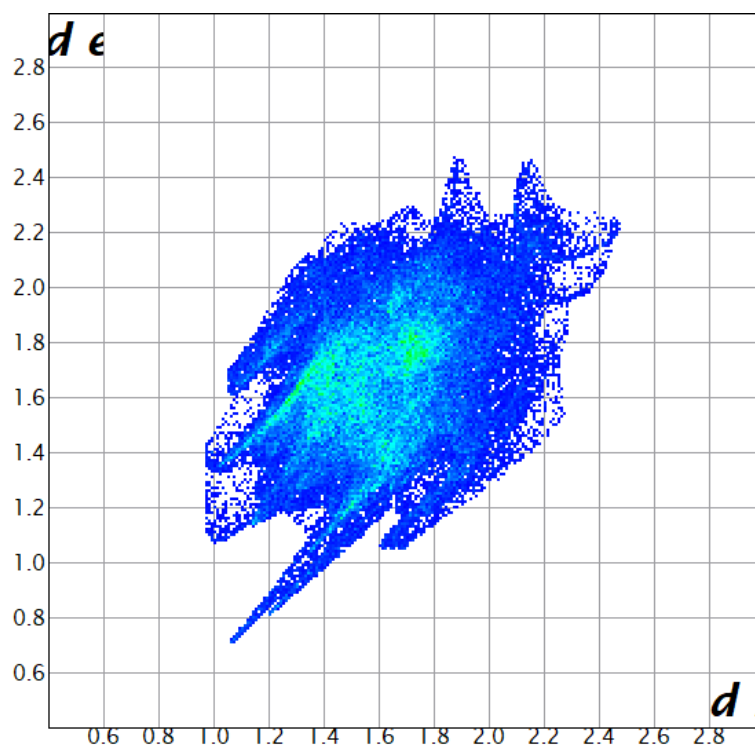


Figure SM15 – Fingerprint of PTXVAN Hirshfeld Surface.

Table SM 5 - Solubility (mg/mL of PTX dissolved) and Melting point of cocrystals. \* indicates the cocrystals data extracted from the literature.

|                 | <i>Solubility (mg/mL)</i> | <i>Melting Point (°C)</i> |
|-----------------|---------------------------|---------------------------|
| <i>PTXFUR*</i>  | 0.3                       | 163.0                     |
| <i>PTXCAF</i>   | 4.2                       | 125.5                     |
| <i>PTXSAL</i>   | 6.7                       | 91.5                      |
| <i>PTXBZC</i>   | 8.3                       | 87.9                      |
| <i>PTXAAS*</i>  | 28.2                      | 84.0                      |
| <i>PTXGLT</i>   | 35.9                      | 84.3                      |
| <i>2PTXGLTh</i> | 98.5                      | 71.5                      |
| <i>PTXVAN</i>   | 185.0                     | 94.9                      |
| <i>PTXCIT</i>   | 190.0                     | 128.3                     |

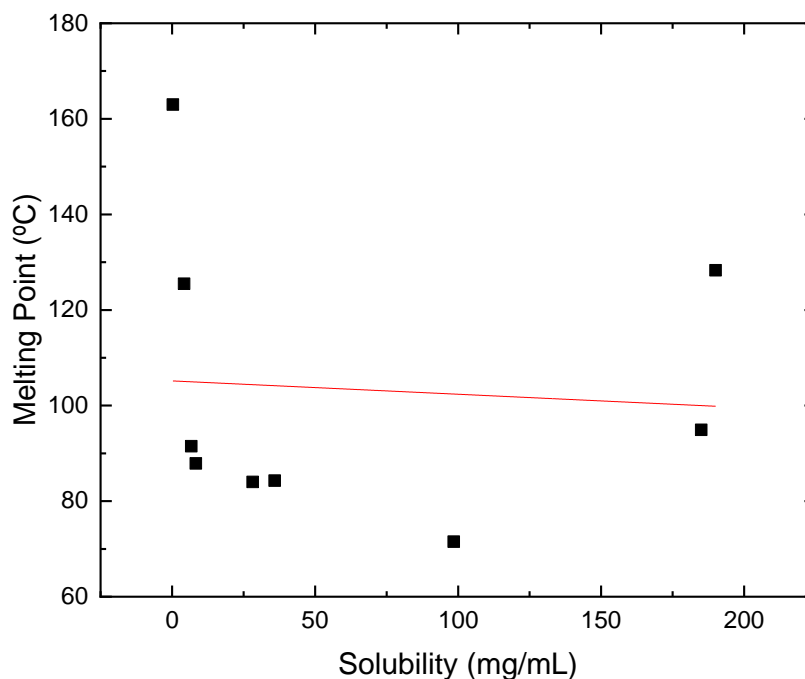


Figure SM 16 - Correlation between cocrystals melting point and solubility showing no direct correlation. Data from table above (Table SM5).

#### 4.2. Novas formas sólidas de PTX

Para os materiais obtidos que demonstram ter comportamentos diferentes dos materiais de origem, porém ainda não se tem informação suficiente para afirmar com certeza ser um cocrystal, consideramos novas formas sólidas da PTX. É possível inferir que há uma maior probabilidade de serem cocrystal, principalmente devido à natureza dos materiais utilizados e pelo fato de que a formação do cocrystal é esperada tendo em vista a regra da diferença de pKa ( $\Delta pK_a$ ) entre as substâncias, calculado de acordo com a diferença do pKa (base) – pKa (ácido).

De acordo com Kumar e Nanda em um artigo de revisão publicado em 2017,  $\Delta pK_a$  possibilitaria determinar a formação ou não de cocrystal, sendo geralmente aceito que um sal seria formado se o valor de  $\Delta pK_a$  for maior que 3 e o valor de  $\Delta pK_a$  menor que 0 levar à formação de cocrystal, não sendo possível precisar entre as faixas de 0 a 3, com aumento da probabilidade da formação de sal conforme esse aumento da diferença

(Kumar and Nanda 2017). Por se tratar de um artigo de revisão, foi verificado que tal informação foi retirada de artigos dos anos de 2005 e 2007 (Bhogala, Basavoju, and Nangia 2005; Childs, Stahly, and Park 2007), cuja informação foi atualizada em um artigo mais recente, de 2012, cujos dados demonstram como válidos da regra pKa na literatura que os complexos ácido-base ionizados são observados exclusivamente para  $\Delta pK_a > 4$  e complexos ácido-base não ionizados são observados exclusivamente para  $\Delta pK_a < -1$ . Em suma, a regra do pKa seria uma ferramenta valiosa para cientistas envolvidos no *design* de cocristal e sal (Cruz-Cabeza 2012).

O resultado da  $\Delta pK_a$  entre a PTX, considerada a base, e os respectivos coformadores, considerados ácidos, se encontram na Tabela 5. O screening de cocristal resultou em alguns materiais policristalinos com padrão de difração de Raios X diferente dos materiais de origem e caracterização indicativa de um possível cocristal, porém sem estrutura cristalina devidamente elucidada.

Tabela 5 - Cálculo da diferença de pKa entre a PTX e os respectivos coformadores utilizados (Childs et al. 2007; Indrayanto et al. 1998; Kim et al. 2019; Serjeant and Dempsey 1979). \* indica cocristais já reportados na literatura

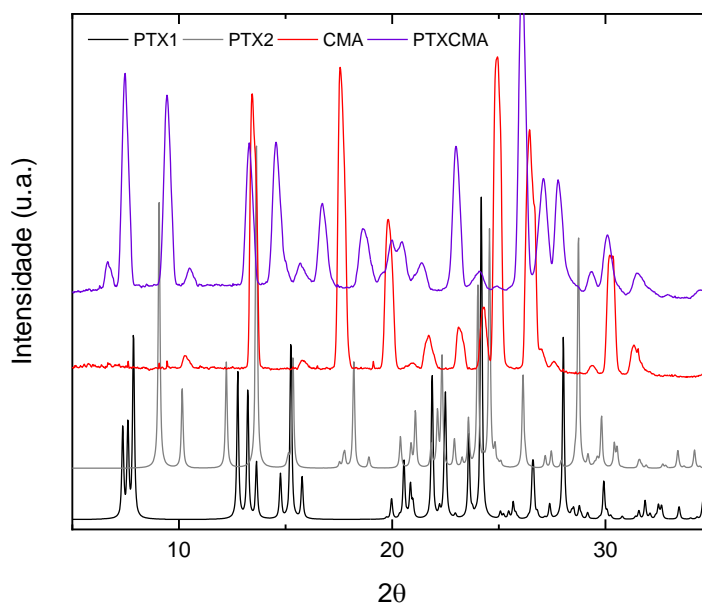
| PTX e Coformadores             | pKa  | $\Delta pK_a$ | Cocristal confirmado |
|--------------------------------|------|---------------|----------------------|
| <i>PTX</i>                     | 0,28 | -             | -                    |
| <i>Ácido Benzóico (BZC)*</i>   | 4,20 | -3,92         | Sim                  |
| <i>Ácido Cafeico (CFA)</i>     | 4,62 | -4,34         | Sim                  |
| <i>Ácido Cítrico (CIT)</i>     | 2,79 | -2,51         | Sim                  |
| <i>Ácido Cumárico (CMA)</i>    | 4,40 | -4,12         | Não                  |
| <i>Ácido Fumárico (FMA)</i>    | 3,83 | -3,55         | Não                  |
| <i>Ácido Gálico (GAL)</i>      | 4,20 | -3,92         | Não                  |
| <i>Ácido Glutárico (GLT)</i>   | 4,34 | -4,06         | Sim                  |
| <i>Ácido Oxálico (OXA)</i>     | 1,46 | -1,18         | Não                  |
| <i>Ácido Salicílico (SAL)*</i> | 2,97 | -2,97         | Sim                  |
| <i>Ácido Vanílico (VAN)</i>    | 4,51 | -4,23         | Sim                  |

As novas formas sólidas da PTX foram obtidas através de LAG e/ou EVL com o uso de metanol ou etanol como solvente. As caracterizações de cada uma se encontram nas seções a seguir.

#### 4.2.1. Pentoxifilina e Ácido Cumárico (PTXCMA)

A nova forma sólida PTXCMA foi obtida por LAG e EVL com a utilização de etanol como solvente. A análise térmica do material demonstrou *onset* do ponto de fusão de PTXCMA em 122,2°C, enquanto as matérias primas utilizadas possuem *onset* de fusão em 103,85°C e 210,0°C. Nenhum outro evento foi visualizado no DSC do material. Em relação ao TG, apenas o evento referente a decomposição do material foi visualizado, com início em, aproximadamente, 162,5°C.

É possível encontrar na literatura cocrystalis entre outros derivados xantínicos e o ácido cumárico, como com a teofilina e com a cafeína, onde destacamos o cocrystal IJEZUT (Schultheiss\* et al. 2011), com cafeína, cuja interação de hidrogênio responsável pela formação do cocrystal se dá na mesma posição de interação (*synthon*) encontrada na interação entre a PTXGLT previamente citada nesse trabalho, o que reforça a ideia de formação de cocrystal entre a PTXCMA.



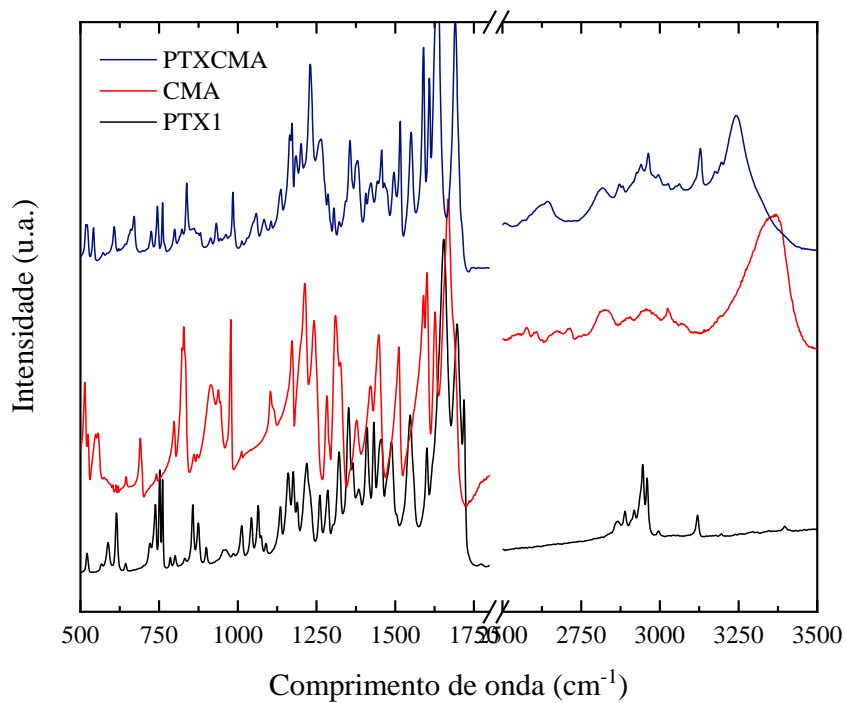
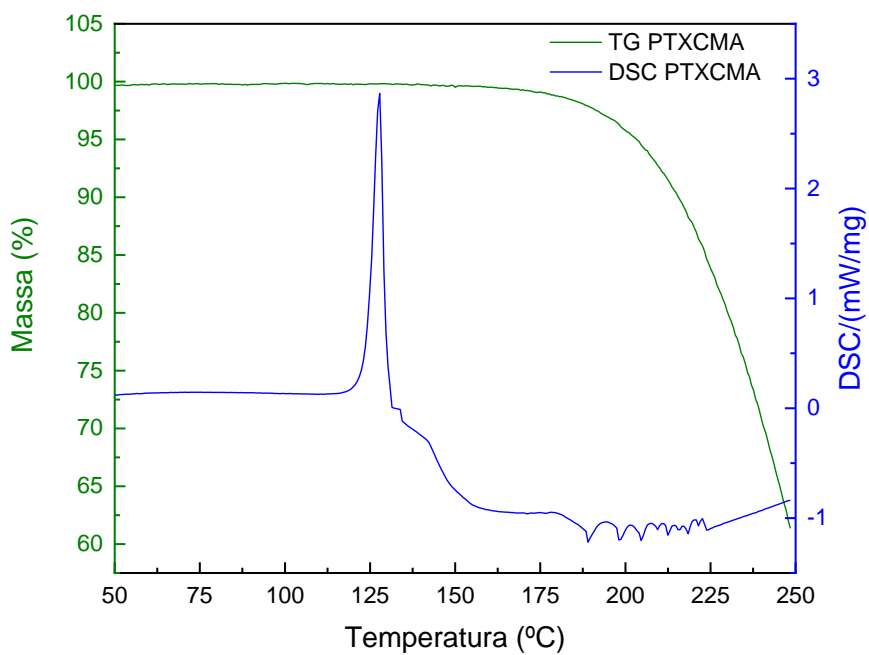
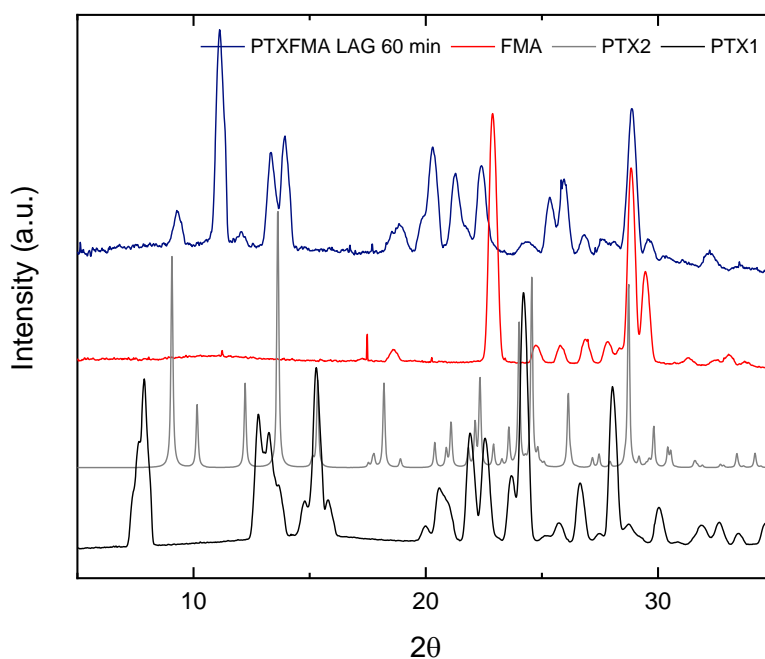


Figura 16 - PDRX (acima), análise térmica (meio) e IR (abaixo) da nova forma sólida PTXCMA, com PDRX e IR da PTX e CMA isolados (Fonte: A autora).

#### 4.2.2. Pentoxifilina e Ácido Fumárico (PTXFMA)

A nova forma sólida PTXFMA foi obtido por EVL com a utilização de etanol como solvente. O material processado através de LAG por 15 e 30 minutos aparenta ser uma mistura física com base no difratograma encontrado, bem como o material encontrado após EVL, porém o PDRX apresentado após LAG por 60 minutos, sugere a obtenção de um novo material, o qual possui padrão de difração diferente dos materiais de origem. A análise térmica do material demonstrou *onset* do ponto de fusão de PTXFMA em 95,3°C, enquanto as matérias primas utilizadas possuem *onset* de fusão em 103,85°C e 287,0°C. Nenhum outro evento foi visualizado no DSC do material. Em relação ao TG, apenas o evento referente a decomposição do material foi visualizado, com início em, aproximadamente, 177,5°C.





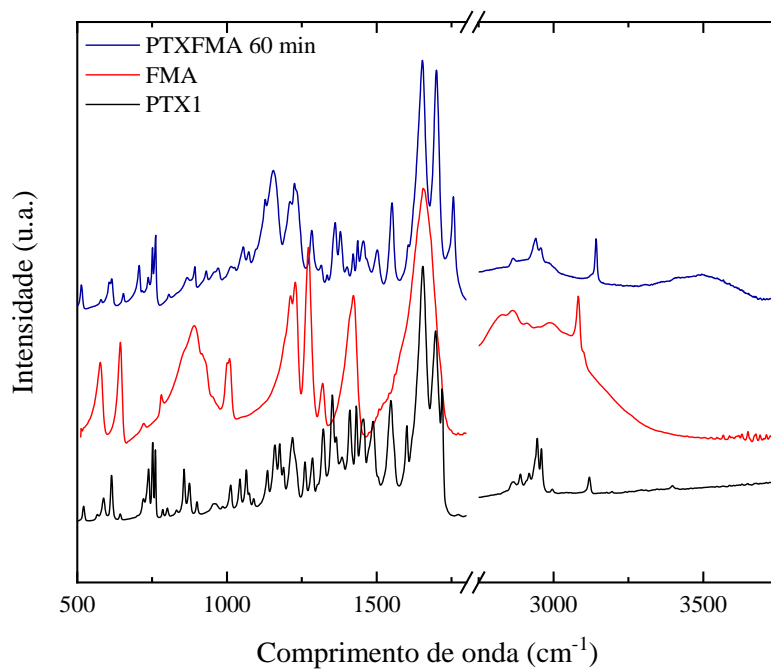
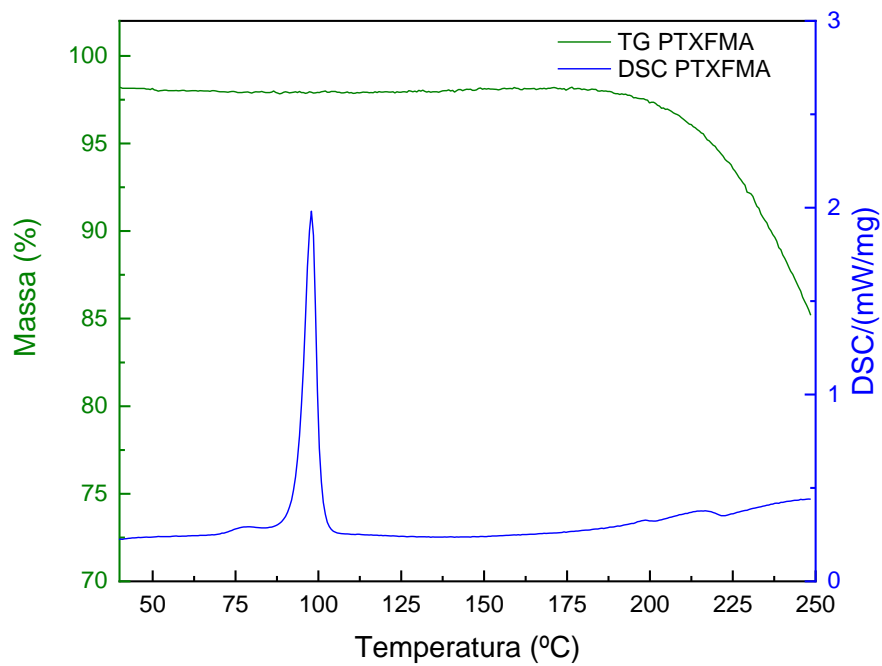
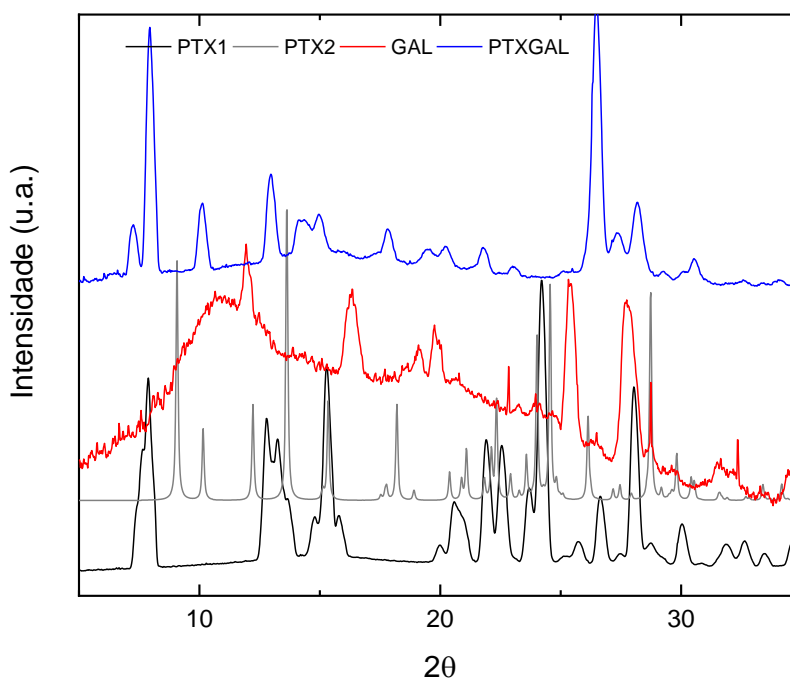


Figura 17 - PDRX (acima), análise térmica (meio) e IR (abaixo) da nova forma sólida PTXFMA, com PDRX e IR da PTX e FMA isolados (Fonte: A autora).

### 4.2.3. Pentoxifilina e Ácido Gálico (PTXGAL)

O cocrystal PTXGAL foi obtido por LAG e EVL com a utilização de etanol como solvente. O difratograma de raios X de pó apresentado, sugere a obtenção de um novo material, o qual possui padrão de difração diferente dos materiais de origem. A análise térmica do material demonstrou *onset* do ponto de fusão de PTXGAL em 183,1°C, enquanto as matérias primas utilizadas possuem *onset* de fusão em 103,85°C e 260,0°C. Nenhum outro evento foi visualizado no DSC do material. Em relação ao TG, apenas o evento referente a decomposição do cocrystal foi visualizado, com início em, aproximadamente, 193,7°C, demonstrando ser uma fusão seguida da decomposição do produto.

É possível encontrar na literatura cocrystal entre outros derivados xantínicos e o ácido gálico, como, por exemplo, com a teobromina e cafeína (Clarke et al. 2010), o que reforça a ideia de formação de cocrystal entre a PTXGAL.



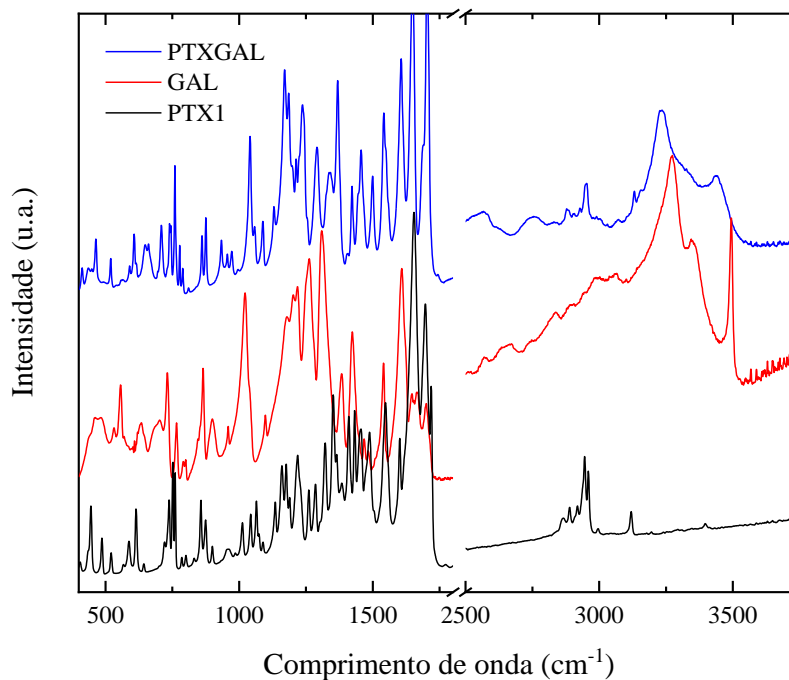
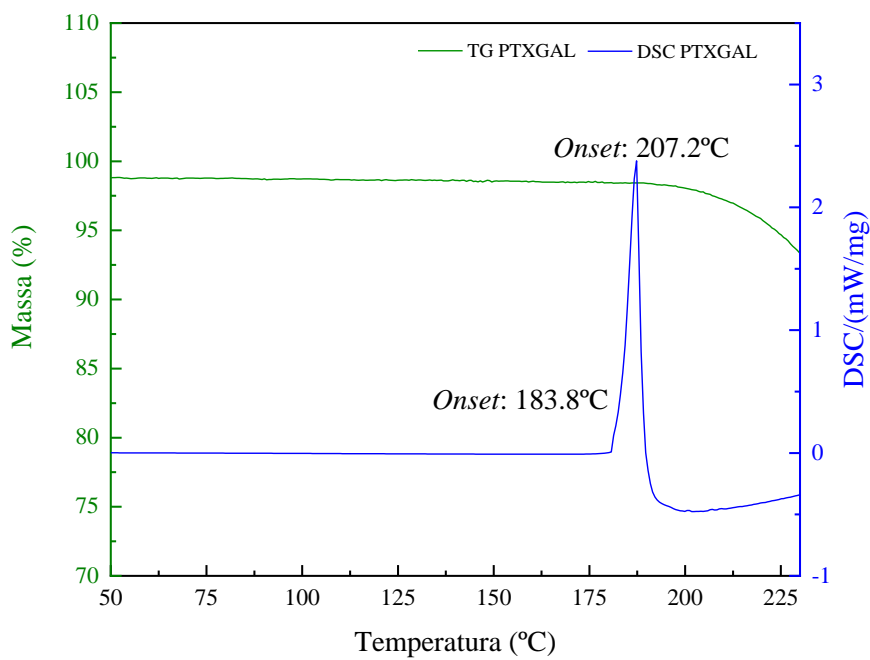


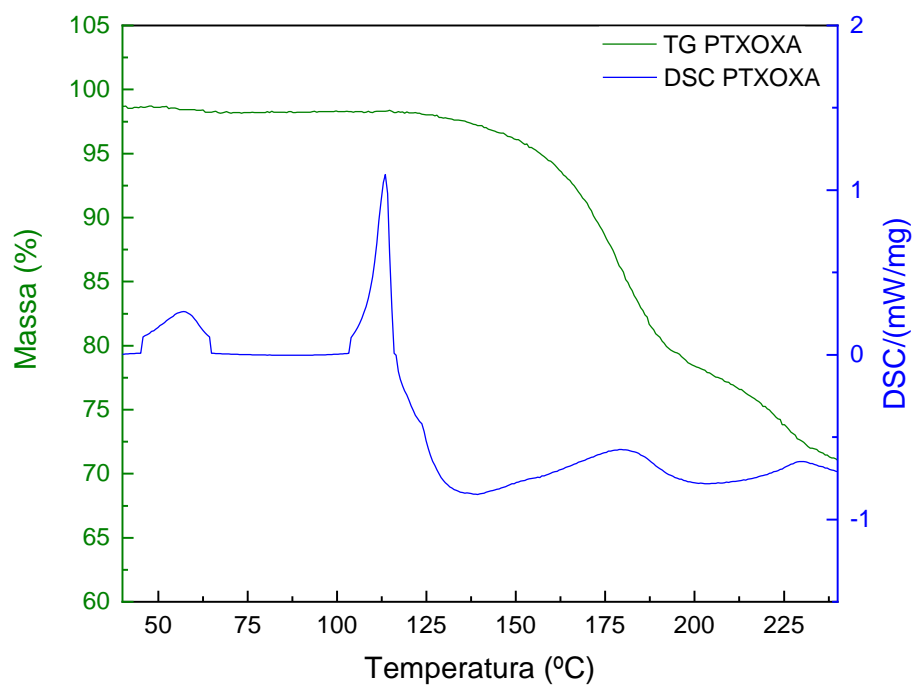
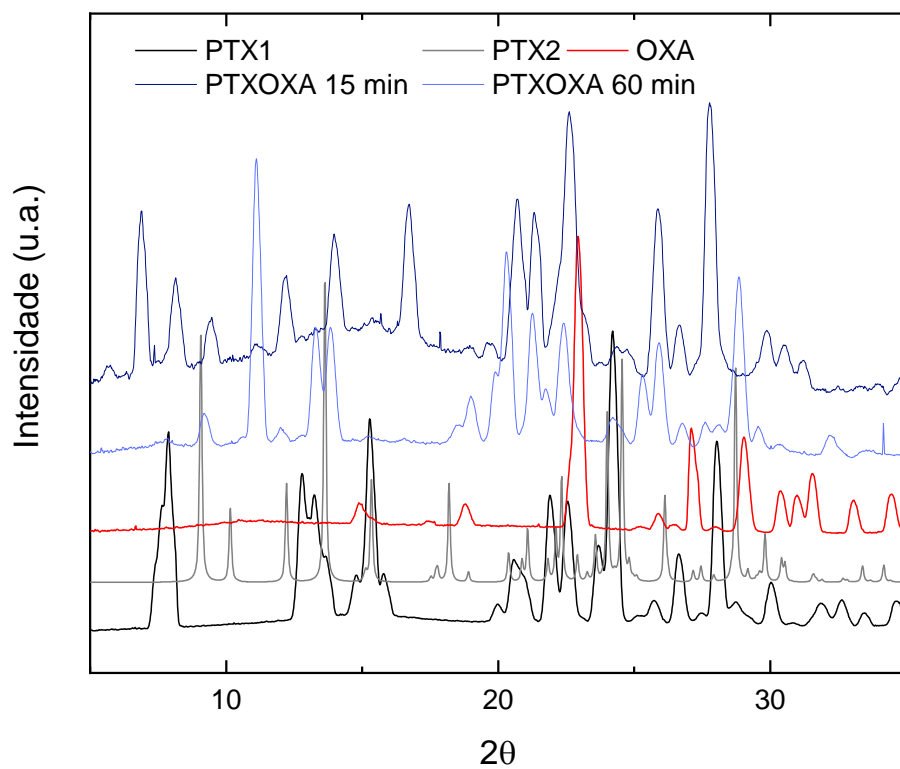
Figura 18 - PDRX (acima), análise térmica (meio) e IR (abaixo) da nova forma sólida PTXGAL, com PDRX e IR da PTX e GAL isolados (Fonte: A autora).

#### 4.2.4. Pentoxifilina e Ácido Oxálico (PTXOXA)

O cocrystal PTXOXA foi obtido por EVL e LAG com a utilização de metanol e etanol como solvente. O PDRX apresentado sugere a obtenção de um novo material, tanto com LAG em 15 minutos, quanto em 60 minutos, os quais possuem padrão de difração diferente dos materiais de origem. A espectroscopia no infravermelho demonstrou deslocamentos de picos em diversas regiões, destacando um padrão diferente no espectro entre os comprimentos de onda  $2800\text{ cm}^{-1}$  e em  $3200\text{ cm}^{-1}$ , região que se encontra relacionada ao estiramento de ligações O–H, possivelmente devido interação intermolecular entre ambas as moléculas, além do picos de média intensidade que sofreram deslocamentos nas regiões de  $1750\text{ cm}^{-1}$ , referente ao estiramento da ligação em C = O, possivelmente decorrente da interação da carbonila da PTX com a OXA.

A análise térmica do material demonstrou *onset* do ponto de fusão de PTXOXA em  $108,4^{\circ}\text{C}$ , enquanto as matérias primas utilizadas possuem *onset* de fusão em  $103,85^{\circ}\text{C}$  e  $101,5^{\circ}\text{C}$ . Um primeiro evento foi visualizado com *onset* em  $40^{\circ}\text{C}$  com uma perda de massa associada de 0,71%, possivelmente correspondendo a perda de algum solvente residual do processo de LAG. Nenhum outro evento foi visualizado no DSC do material. Em relação ao TG, apenas o evento referente a decomposição do cocrystal foi visualizado, com início em, aproximadamente,  $120^{\circ}\text{C}$ , sendo uma fusão do material seguida pela decomposição do mesmo.

É possível encontrar na literatura cocrystalis entre outros derivados xantínicos e o ácido oxálico, como, por exemplo, com a teofilina (Trask, Motherwell, and Jones 2006) em proporção 2:1 de teofilina e OXA respectivamente, bem como com cafeína também (A. V. Trask et al. 2005). A interação de hidrogênio responsável pela formação do cocrystal se dá na mesma posição de interação (*synthon*) encontrada na interação entre a PTXGLT previamente citada nesse trabalho, o que reforça a ideia de formação de cocrystal entre a PTXOXA.



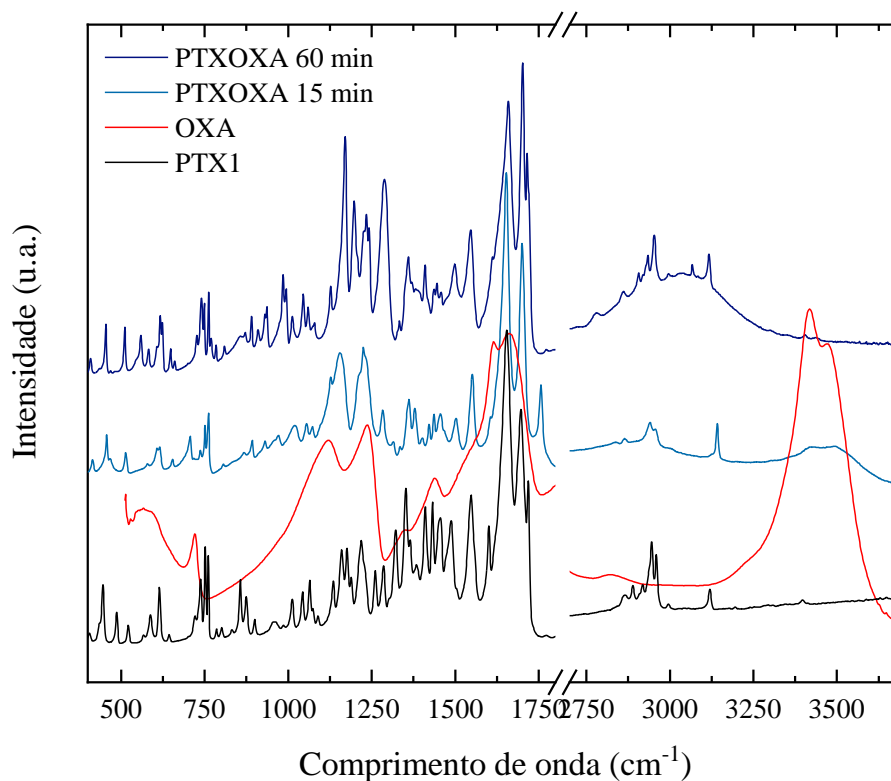


Figura 19 - PDRX (acima), análise térmica (meio) e IR (abaixo) da nova forma sólida PTXOXA, com PDRX e IR da PTX e OXA isolados (Fonte: A autora).

### 4.3. Conclusão

No trabalho com cocrystalos de PTX foi possível a reprodução de dois dos cocrystalos já reportados na literatura (PTXSAL e PTXBZC), obtenção de cinco cocrystalos cuja elucidación cristalina é inédita (PTXCAF, PTXCIT, PTXGLT, 2PTXGLT·H<sub>2</sub>O, PTXVAN), além de outros cinco novos materiais obtidos com a PTX, os quais ainda não possuem elucidación estrutural (PTXCMA, PTXFMA, PTXGAL e PTXOXA – a qual possui duas formas).

Os estudos de dissolução em água demonstraram comportamento variado dos cocrystalos, onde dois deles (PTXCIT e PTXVAN) demonstraram possuir solubilidade maior do que a PTX matéria-prima, a qual já possui uma elevada solubilidade. PTXGLT iniciou o perfil de dissolução com valores mais elevados do que os da PTX, porém a medida que o material dissolvia, outro material precipitava, se tratando da conversão de PTXGLT em 2PTXGLTh, o qual apresentou valores semelhantes ao da PTX no que

concerne a solubilidade. PTXBZC, PTXSAL e PTXCAF apresentaram valores de solubilidade menores que a PTX.

Como perspectiva futura, temos os trabalhos em busca de elucidação estrutural das novas formas sólidas de PTX com objetivo de dar continuidade aos estudos de dissolução e solubilidade dessas novas estruturas.

## **CAPÍTULO 5 – PROPRIEDADES DE FLUXO DOS COCRISTAIS DE PENTOXIFILINA**

A fluidez de pó é uma propriedade fundamental para o processamento na indústria farmacêutica. Comprimidos, por exemplo, são geralmente fabricados em uma máquina de comprimir rotativa que necessita de preenchimento adequado e uniforme nas prensas com os pós ou grânulos, além dos processos anteriores durante a mistura dos pós. Essa cadeia de fluxo de pós muitas vezes determina peso, dureza e uniformidade de conteúdo de comprimidos (Goh, Heng, and Liew 2018; Shah, Tawakkul, and Khan 2008). Portanto, torna-se essencial ter essa noção das propriedades de fluxo das matérias-primas de uso farmacêutico antes do processamento do material.

Tamanho de partícula, forma, densidade, são propriedades que afetam diretamente a fluidez e compressibilidade de um material, o que impacta diretamente no processamento, mistura, compressão, dissolução e, ao fim da cadeia, biodisponibilidade do medicamento (Prescott and Barnum 2000). Diversas metodologias podem ser utilizadas para medir essa propriedade, como a medida de ângulo de repouso, densidades frouxa e compactada, índice de Carr, fator de Hausner, entre outras (Fathollahi et al. 2020).

Para tal seção, foram utilizadas metodologias compendiais adaptadas para a reduzida quantidade de material (cocristal) com que trabalhamos, bem como para a nossa realidade dentro de uma universidade pública, que acaba por se valer com frequência da “cultura *maker*” (Beavers et al. 2019; Braida and Unanue 2021), uma iniciativa que tem muito a oferecer a instituições públicas de ensino e pesquisa principalmente pela constante dificuldade de aquisição de equipamentos e insumos pela falta de incentivos financeiros e pelo alto valor de mercado. Tal iniciativa possibilita que pesquisadores tenham acesso a tecnologias a baixo custo e sustentáveis, construindo equipamentos já existentes no mercado ou com finalidades específicas e adaptações para os mais diversos tipos de experimentos (Krummeck and Rouse 2017; Soong et al. 2020).

Para o estudo das propriedades de fluxo dos cocristais da PTX, projetamos e executamos a adaptação de dois equipamentos conhecidos no mercado como GranuDrum®, que consiste em um instrumento de medição de fluidez de pó



automatizado, que usa o princípio de tambor rotativo, e um medidor de densidade de pós, como, por exemplo, o LABULK® 0335 *Intelligent Tap Density Test*, representados na Figura 20.



Figura 20 - GranuDrum® (esquerda) e LABULK® 0335 (direita) (Imagens extraídas do site do fabricante).

A adaptação do tambor rotativo foi efetuada de modo que fosse possível a obtenção de resultado com quantidade reduzida de material. Constituído basicamente em alumínio e acrílico para redução de peso e com um motor de passo que sustentou bem o controle de velocidade até cerca de 105 rpm, o tambor possui dimensões diferentes a depender do uso e da quantidade de material a ser inserida na análise. Para que a comparação entre os cocristais pudesse ser validada, foi utilizado o mesmo tambor para todas as análises, não havendo mudanças significativas entre as metodologias utilizadas. O equipamento adaptado, conforme possível visualizar na Figura 21, foi alvo de estudo apresentado em monografia de um aluno do curso de Farmácia na UFC, intitulado “Construção de um equipamento com tambor rotativo para análise de fluidez de amostras granulares utilizando Arduino”.

Para a adaptação do LABULK®, a qual precisou ser executada para que pudesse existir padronização das batidas necessárias para o cálculo da densidade compactada, tanto em termos de altura, quanto de quantidade de batidas, foi feita através do uso de uma bomba de fluxo em desuso de CLAE e um corte da peça responsável pela circulação de solvente em altura fixa. O controle de fluxo foi padronizado através da correlação fluxo em mL/min x batidas. Para a base e sustentação das provetas, uma plataforma impressa

em impressora 3d foi utilizada. Portanto, todo o material da proveta era submetido às exatas condições entre as amostras e análises, dessa forma, com a comparação viabilizada.

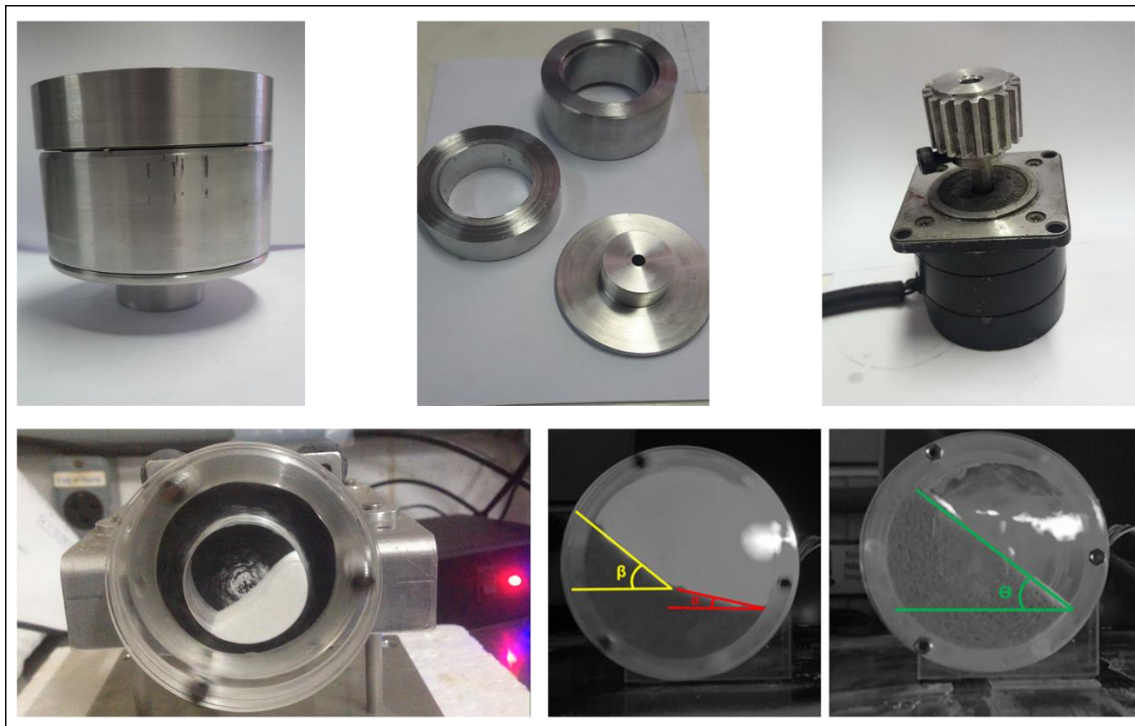


Figura 21 - Tambor rotativo planejado e executado na UFC. Os ângulos apresentados são indicativos dos ângulos medidos na execução dos estudos de fluidez dinâmica.

Sabe-se que a maior parte dos trabalhos com cocristal efetua a verificação de características de solubilidade/dissolução, porém o mesmo não ocorre com propriedades de fluxo, sendo apenas uma pequena parcela dos estudos (Fonseca and Nogueira 2018). A realização de um trabalho dedicado a análise de propriedades de fluxo se faz relevante no campo farmacêutico, valorizando os resultados aqui obtidos. Na seção 5.1 apresentamos o artigo “Beyond solubility! Tuning powder properties of Pentoxifylline by cocrystalization: compressibility index, repose and dynamic angles”, o qual compara as propriedades gerais de fluxo da PTX e os seus cocristais PTXSAL e PTXBZC, já reportados na literatura, e os novos cocristais PTXCAF, PTXCIT, PTXGLT, 2PTXGLTh e PTXVAN.

**5.1. Artigo: “Beyond solubility! Tuning powder properties of Pentoxifylline by cocrystalization: compressibility index, repose and dynamic angles”**

**Beyond solubility! Tuning powder properties of Pentoxifylline by cocrystalization: compressibility index, repose and dynamic angles**

Fonseca, JC\*<sup>1</sup>; Fonseca, SGC\*<sup>2</sup>; Ayala, AP\*\*

\*<sup>1</sup>Department of Pharmacy. Federal University of Ceara. Fortaleza – Ceará – Brazil. E-mail: [jessica.fonseca@fisica.ufc.br](mailto:jessica.fonseca@fisica.ufc.br)

\*<sup>2</sup>Department of Pharmacy. Federal University of Ceara. Fortaleza – Ceará – Brazil. E-mail: [said@ufc.br](mailto:said@ufc.br)

\*\*Department of Physics. Federal University of Ceara. Fortaleza – Ceará – Brazil. E-mail: [ayala@fisica.ufc.br](mailto:ayala@fisica.ufc.br)

\* To whom correspondence should be addressed.

e-mail: [ayala@fisica.ufc.br](mailto:ayala@fisica.ufc.br)

Address: Caixa postal 6030, 60.455-970 Fortaleza (CE) Brazil

Phone: +55 85 3366 9009

### Highlights

- The PTX increase in powder flow properties was confirmed by Carr Index, Housner Factor, dynamic and static repose and angle;
- Seven cocrystals were easily scaled up and analyzed: PTXSAL, PTXBZC, PTXCAF, PTXCIT, PTXGLT, 2PTXGLTh and PTXVAN;
- This increasement was highlighted in the cocrystals PTXCAF, PTXSAL and PTXVAN.

## ABSTRACT

Pentoxifylline (PTX) is a xanthine drug that acts as a non-specific inhibitor of phosphodiesterase with rapid dissolution and absorption in the body, due to be highly soluble in aqueous medium, requiring high doses and proper modulation of its release, having also poor fluidity characteristics. It is known that this property could be modulated through cocrystallisation, in addition to other possible interesting modifications that may occur. In order to ensure the obtainment of cocrystals for the fluidity studies, characterization with powder X-ray of each material were used and Carr Index, Hausner Factor, dynamic and static repose and angle of the materials were obtained, to achieve the main goal: improve PTX flow properties. We worked with 07 cocrystals: PTXBZC, PTXCAF, PTXCIT, PTXGLT, 2PTXGLTh, PTXSAL and PTXVAN. It was found that most of the cocrystals improved the fluidity properties of PTX, with PTXGLT being the less increased one, and with highlight to PTXVAN, PTXSAL e PTXCAF as those with higher increasement of powder flow, representing a high success rate.

**Keywords:** Pentoxifylline, cocrystal, flowability, compressibility

## 1. INTRODUCTION

The oral route is the most common way of administering drugs for systemic effects, and among the drugs administered orally, solid pharmaceutical dosage forms are the most used in therapy, especially tablets, as they allow the administration of a single and exact dose of the drug, in addition to having high productivity and relatively low costs (Peppas 1989; Vanarase, Osorio, and Muzzio 2013). Tablets could be produced by direct compression, where the powders can be directly compressed into tablets without the need of intermediate production steps. This technique is not applicable if the powder blend shows poor flowability or tableability. To improve it, particle size enlargement techniques such as granulation or pelletization can be used (Hansen and Kleinebudde 2021).

Granulation is a widely used technique to improve the fluidity and compressibility of powders, but it is time consuming, expensive and could expose the material to solvent or water and heat. Due to that, directly compressible powders are preferable. However, obtaining directly compressible mixtures is not always possible and as most of the currently available materials do not attend the functionality requirements. The powders tendence to stick to machine parts and/or having poor compaction behaviour (Lamolha and Serra 2007) could be engineered by cocrystallization of the drug (Serrano et al. 2016).

Cocrystals can be defined as solid crystalline materials composed of two or more molecules in the same crystalline structure, with defined stoichiometry (Douroumis, Ross, and Nokhodchi 2017; Kalepu and Nekkanti 2015; Pindelska, Sokal, and Kolodziejcki 2017, Shaikh et al. 2018). There is a range of application areas for physical property manipulation through cocrystal formation, being efficient in enhancing physicochemical properties, such as solubility, dissolution rate, stability, permeability, flowability, tableability, hygroscopicity and density (Bolla and Nangia 2016; Ferreira et al. 2020; Good and Nair 2009; Karagianni, Malamataris, and Kachrimanis 2018; Kumar and Nanda 2017; Maity, Paul, and Desiraju 2020). Improvements in solubility, stability, bioavailability, and mechanical properties have been well documented and emerging applications such as taste masking and intellectual property extension are being explored (Karimi-Jafari et al. 2018).

Flowability could be defined as the ability of a bulk of particles to move relatively between nearby particles, or along the container wall surface, and refers to the ability of the powder to flow in a certain piece of apparatus in the desired direction (Pharm and Esmail 2022). This property is substantially influenced by factors such as the size, density, adhesiveness, shape, surface conditions and electrostatic chargeability of the drug ingredients. These depends on the physical and chemical properties of the drug substances, including solubility, partition coefficient, hydrogen bonding, ionization, disassociation constant, surface activity, and protein binding, including their particle size and shape (Fu et al. 2012; Juarez-Enriquez et al. 2022; Kavanagh et al. 2021; Moravkar et al. 2022).

Powder flow is characterized by combined measurements of powder properties and local fluidity conditions (Divya et al. 2019). The lack of a specific standard methodology for measuring the flowability of a powder represents a challenge in the development of new formulations. Compressibility (Carr's) index and Hausner ratio calculation are easy, fast, and popular mean to predict flow characteristics of pharmaceuticals, providing an indirect measurement of the size/shape, bulk density, surface area, moisture and cohesiveness of the investigated materials. Moreover, the resistance to particle movement can be calculated by dynamic and static repose angles, giving a qualitative picture of the internal cohesive and frictional factors (Mashhadi et al. 2021).

Pentoxifylline (PTX) is a xanthine drug that acts as a non-specific inhibitor of phosphodiesterase, decreasing the transcription of proinflammatory cytokines such as interleukin IL-6, IL-1, tumour necrosis factor-alpha, C-reactive protein and other immunoregulators (González-Pacheco et al. 2020). This drug is currently being studied as an option in adjuvant therapy for neonatal sepsis and necrotizing enterocolitis (Speer et al. 2018; Stepanovs et al. 2015) and with the prospect of being explored in antineoplastic therapy (Golunski, Woziwodzka, and Piosik 2018). PTX has fast dissolution and absorption in the body, requiring modulation of its release, which occurs through its pharmaceutical dosage form as modified release tablet for oral route (Ma et al. 2018). Due to the high solubility and metabolization (Bennett 1992), high action dose between 400 mg and 600 mg, the controlled release of PTX is mandatory (Cleary et al.

1999; Lee, Tang, and Chen 2014; Tzankov and Tzankov 2019). This high amount of drug for a tablet makes the PTX the most relevant material inside the formulation, which determines the pharmaceutical properties of the drug dosage form.

PTX cocrystals have been previously reported with several coformers such as furosemide (Shah et al. 2018), acetylsalicylic acid, salicylic acid and benzoic acid in equimolar proportions (Stepanovs et al. 2015). More recently, there was reported the formation of PTX cocrystals using perfluorinated compounds as coforming agents (1,4 diiodotetrafluorobenzene and 1,4 dibromotetrafluorobenzene) (Choquesillo-Lazarte, Nemeč, and Cinčić 2017). A common condition to all carried out studies refers to the use of a mechanochemical activation production methodology, resulting in reproducible cocrystals (Bolla and Nangia 2016; Kumar and Nanda 2017).

In this present work it is expected the evaluation of cocrystalization as a flowability increasing technique. That could be seen from the reproduction of some existing cocrystals and checking possible variations between them relative to the flowability. For that, we worked on adapted methodologies for comparisons within the group of material worked. To characterization, powder X-ray, thermal analysis and flowability measurements of each material produced were used.

## **2. METHODOLOGY**

### **2.1. Sample preparation**

PTX cocrystals were obtained with salicylic acid (SAL), benzoic acid (BZC), caffeic acid (CFA), citric acid (CIT), glutaric acid (GLT) and vanilic acid (VAN) in stoichiometric quantities, using ethanol-assisted grinding as a solvent in a steel cylindrical vessel with 5.0 mL of volume and a metal sphere with a diameter of 5 mm, at a frequency of 30 Hz lasting 20 minutes, as described in the literature for SAL and BZC cocrystals (Stepanovs et al. 2015) and at a frequency of 25 Hz for 15 minutes for the CFA, CIT, GLT and VAN (Fonseca et al., 2021). The coformers are shown in Figure 1.

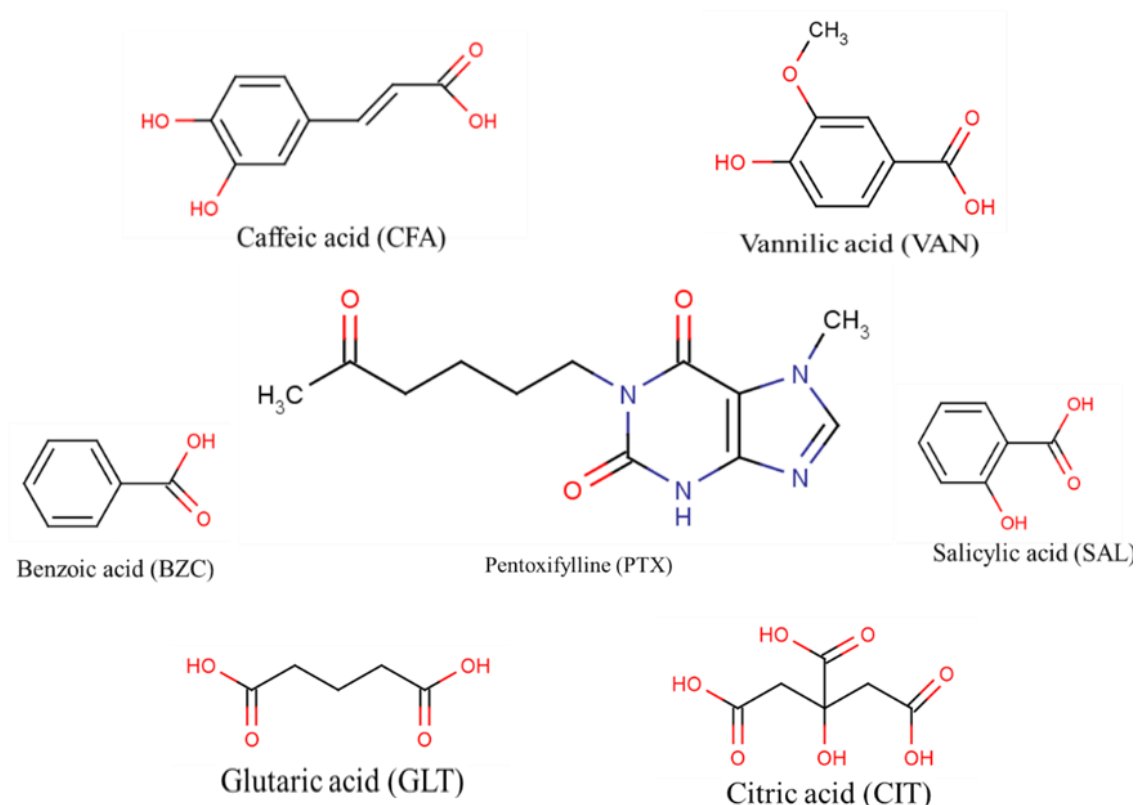


Figure 1 – Molecular structure of PTX and cocrystal formers with their corresponding abbreviations (Source: the author – MarvinSketch 5.9.4 Software).

## 2.2. Powder X-ray diffraction

Powder X-ray diffraction (PXRD) patterns were recorded on a D8 Advanced Bruker AXS diffractometer equipped with a theta/theta goniometer, operating in the Bragg–Brentano geometry with a fixed specimen holder, Cu K $\alpha$  radiation source, and a LynxEye detector. The voltage and electric current applied were 40 kV and 40 mA, respectively. The slit opening for the incident beam on the sample was set at 0.2 mm. Samples were scanned within the scan range in  $2\theta$  of 5–30° in the continuous scan mode, with a scan rate of 1 deg min<sup>-1</sup>.

## 2.3. Granulometric distribution

Five sieves were used (A Bronzinox - 12.5 cm internal diameter) with standardized sizes in meshes of 500  $\mu\text{m}$ , 425  $\mu\text{m}$ , 355  $\mu\text{m}$ , 300  $\mu\text{m}$  and 250  $\mu\text{m}$ . The empty sieves were weighed in triplicate and the average of the values found was considered. Each cocrystal was processed individually through the complete set of sieves.



The retained mass by each mesh was weighed in the sieve itself, avoiding mass loss during transfer. The considered mass was the result of the difference between the full and empty sieves. The retained mass considered as was an average of the triplicate. The amount retained on each sieve was measured, and the value multiplied by the opening of the respective mesh. The sum of the products obtained is divided by the sum of the retained masses, resulting in the weighted average values. By increasing the percentage of accumulated retained mass at the same time as the difference from 100% and the accumulated retained mass percentual, the crossing point of the two graphs is determined, representing the size at which 50% of the mass is retained, called the crossing value. The third form of evaluation is based on the Z distribution of the retained percentual, comparing whether it is a normal distribution or becomes normal with the expression of the opening of the meshes in logarithm (log-normal). The average size is calculated for the value of  $Z = 0$ .

#### **2.4. Carr Index (CI) and Hausner Ratio (HR)**

The density measurement methodology was performed based on the USP pharmacopeial standard adapted for analysing a reduced amount of material (USP 2014). The powder was previously sieved within the size range between 250  $\mu\text{m}$  e 355  $\mu\text{m}$ . Known masses of PTX and cocrystals were taken in the graduated cylinder, with 10 mL volume, and the apparent volume was registered for the calculation of bulk density. An adapted apparatus was used to standardize the height of the fall in 0.2 cm. All material was weighed at the beginning of each analysis, sealed to prevent material loss and weighed again at the end of the experiment. Tapped density measurements were performed at standardized times for a total of 40, 80, 160, 240, 480, 720 and 1200 beats, which marks the end of the material's compaction, confirmed by not changing the volume from 720 to 1200. Analyses were repeated in triplicate and the final results were calculated averaging the three measurements. Carr's index and Hausner ratio were determined from the measured values using:

$$IC (\%) = 100 \times \left( \frac{Df - Di}{Df} \right)$$

$$FH = \frac{Df}{Di}$$

where  $D_i$  is the initial (bulk) density and  $D_f$  is the final (tapped) density

## 2.5. Flowability measurements

The flowability methodology was adapted from the literature for angle of repose (Infarmed 2008; Lamolha and Serra 2007; Mashhadi et al. 2021; Nogueira Prista, Correia Alves, and M. R. Morgado 1990), also modified for analyses with reduced amount of material. A funnel was fixed at a specified height (5.0 cm) and the compounds were allowed to fall in such a way that they form a heap. The structure was evolved by an air barrier. The procedure was continued until the heap was formed and reformed a few times. The process was recorded on video, from which images were extracted for the correct measurements. Measurement of the angle of repose on each side of the cone obtained was performed using a clinometer. Each material was properly sieved and the size range used was between 250  $\mu\text{m}$  and 355  $\mu\text{m}$ , similar to the density experiment.

For dynamic angle of repose, the methodology was adapted based on the rotating drum method. Samples were placed inside a cylindrical acrylic drum (diameter 3.07 cm and depth 1.75 cm) until half of the internal volume was filled. Its flow movement inside the drum was recorded by a camera at different drum rotation speeds, with a minimum of 5 rpm going up to 100 rpm, if possible, increasing every 5 rpm. Each speed was recorded for a time from 10 seconds to 30 seconds, depending on the rotation speed. From each video, 5 frames were captured. The drum obtained images had their angles measured with a clinometer calculating the upper and lower and dynamic repose angle (Xiao, Specht, and Mellmann 2005). As the experiment previously described, a video was made for all experiments, whose images were extracted for correct measurements every 2 to 3 seconds of measurement, and angle measurement performed using an clinometer. Each material was previously sieved in the range between 250  $\mu\text{m}$  and 355  $\mu\text{m}$ .

## 2.6. Scanning Electron Microscopy (SEM)

The morphology of the samples was observed by high resolution field emission scanning electron microscopy performed with a FEI Quanta 450 FEG system operating in low vacuum.

### 3. RESULTS AND DISCUSSION

Using the reproduction of the already reported material, it was possible to obtain the cocrystals. Obtaining each material was confirmed through PDRX analysis, whose patterns are in the Supplementary Material - 1. The investigated powder properties of the cocrystals were compared with those of the API, which followed the same processing methodologies. Thus, hereinafter PTX stands for the LAG processed API whereas PTX\* refers to the as-received raw material.

Initially, it is necessary to point out that all the flow properties analysed in this work are not intrinsic properties of the powder, however, through its comparative measurement it is possible to qualitatively establish the effects of internal cohesion and friction between particles of a powder or its particles mixtures. The flowability property is sensitive to particle size variations, particle size distribution and powder moisture content (Boschini et al. 2015; Spierings et al. 2016), as well as particle shape.

#### 3.1. Granulometric distribution

The first most relevant experiment that enables the standardization of the material to be analysed is the verification of the powder granulometry obtained through the granulometric distribution analysis, which will allow the use of a specific size range to reduce the effects of differences in particle size for the other experiments. Through this analysis, the average particle size after grinding the materials is defined and allows us to standardize the size range that will be used in the fluidity analyses, considering that the powder size directly influences the flow characteristics of a material (Spierings et al. 2016).

After the analysis of particle size distribution, it was verified that most of the material has size below 250  $\mu\text{m}$ , which is within the expected range for the particle size reduction induced by the mechanochemical methodology used for co-crystal production. Several methodologies were used to calculate the mean particle size of the materials analysed according to the particle size distribution, which are presented in the Table 1, demonstrating a great similarity between the techniques. In this work the log-normal distribution was used as the particle size indicator, which expresses that the distribution

is only considered normal when the data are expressed as the logarithm of the value (Li 1998).

Table 1 also includes the particle size analysis of PTX\* to verify the effect that LAG has on the material compared to PTX. It is verified that the milling is responsible for the reduction of the average particle size, as already expected, where PTX\* has an average particle size around 447.1  $\mu\text{m}$ , while PTX has an average size of 315.0  $\mu\text{m}$ , which is close to most of the cocrystals obtained. (PTXSAL 322.5  $\mu\text{m}$ , PTXGLT 312.7  $\mu\text{m}$ , PTXBZC 360.9  $\mu\text{m}$ , PTXCIT 290.0  $\mu\text{m}$ ), except the PTXCAF average size, 201.0  $\mu\text{m}$ . Such difference in mean particle size is relevant enough to influence the flow characteristics of the material.

Table 1 - Average particle size of materials. PTX represents the pre-processed form in the same way as the cocrystals, while PTX\* is the unprocessed form.

|                 | <i>Weighted Average (<math>\mu\text{m}</math>)</i> | <i>Crossing (<math>\mu\text{m}</math>)</i> | <i>Log. Normal Distribution (<math>\mu\text{m}</math>)</i> |
|-----------------|--|--|--|
| <i>PTX*</i>     | 451.4  | 480.2                                      | 447.1  |
| <i>PTX</i>      | 322.0  | 307.6                                      | 315.0  |
| <i>PTXSAL</i>   | 329.9  | 315.5                                      | 322.5  |
| <i>PTXBZC</i>   | 356.4  | 364.0                                      | 360.9  |
| <i>PTXGLT</i>   | 308.2  | 304.4                                      | 312.7  |
| <i>2PTXGLTh</i> | 351.2  | 341.0                                      | 362.9  |
| <i>PTXCAF</i>   | 267.6  | 268.7                                      | 201.0  |
| <i>PTXCIT</i>   | 300.6  | 285.0                                      | 290.0  |
| <i>PTXVAN</i>   | 311.3  | 288.0                                      | 309.6  |

Therefore, due to the need to standardize and control the average particle size used in the other experiments, aiming to minimize the influence of this factor on the studied characteristics, the range below 250  $\mu\text{m}$  was not used, neither above 355  $\mu\text{m}$ . Thus, the following size range was selected from 250  $\mu\text{m}$  to 355  $\mu\text{m}$ .

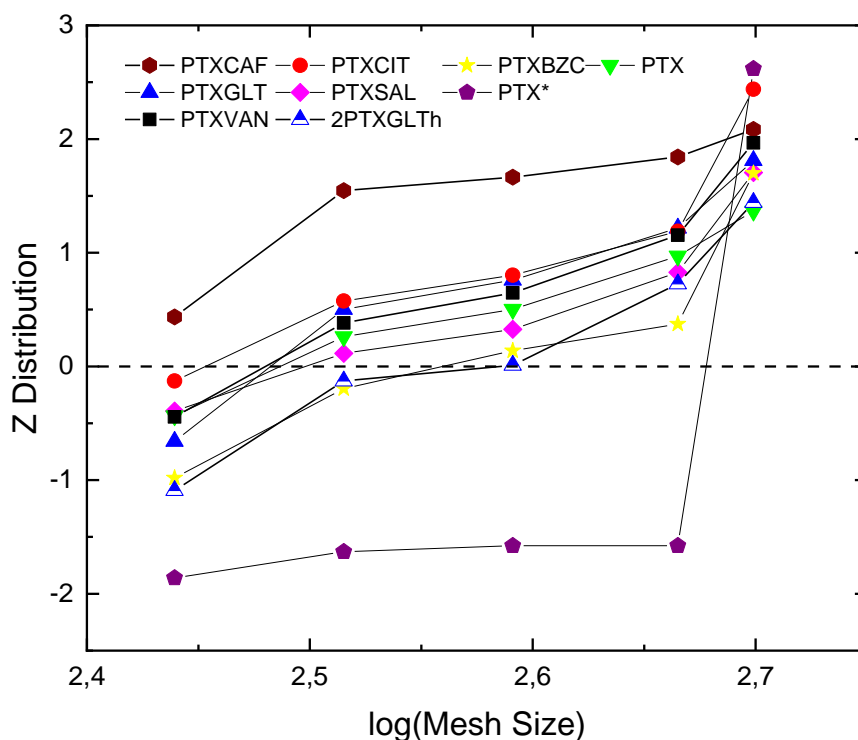


Figure 2 - Particle size distribution of cococrystals analysed according to the logarithm of the normalized distribution of materials.

### 3.2. Scanning Electron Microscopy (SEM)

Interesting fact observed in the SEM images (Supplementary Material – 2) was that, although all cococrystals were sieved allowing to choose an intermediate particle size, there is still a large variation in particle size probably due to the formation of aggregates by particle cohesion, forming larger agglomerates, which is retained in a larger mesh size, since the vibration applied to the sieve set should not lead to breakage of those lumps. Cococrystals that fit into that situation are PTXBZC and PTXGLT. That size variation must be considered during the flowability results analysis.

### 3.3. Carr Index (CI) and Hausner Ratio (HR)

Importantly, IC and FH are quantitative properties that depend on the methodology used. As in the present work the objective is to carry out a comparison

between the materials obtained, the applied methodology was exactly the same for all materials, validating the comparison. Table 2 shows the density, IC, and FH for each material, as well as the classification according to the methodology adapted from the USP. These results evidence that PTX has the worse flowability behaviour.

A statistical analysis (ANOVA) of the densities, used in the FH and IC calculations, returns a low variance for all the samples, which implies that there are real differences and with statistical significance ( $p < 0.05$ ). The T-Test confirmed the statistical relevance between cocrystal and PTX pairs.

A subtle improvement in the IC and FH parameters was observed for PTXGLT and PTXBZC cocrystals, but these cocrystals have flow characteristics similar to the raw material, which is considered to have poor or very poor flow. The other cocrystals improved significantly these properties. As shown in the Table 2, the materials that stood out the most in relation to IC and FH were PTXSAL, PTXCAF and PTXVAN, with good flow characteristics, followed by PTXCIT and 2PTXGLTh, with characteristics considered acceptable to the pharmaceutical industry.

Table 2 - Densities, IC and FH of the analysed cocrystals and the PTX raw material.

|                 | $D_i$ (g/mL) | $D_f$ (g/mL) | IC (%) | HF   | Report               |
|-----------------|--------------|--------------|--------|------|----------------------|
| <i>PTXSAL</i>   | 0.561        | 0.655        | 14.34  | 1.17 | Good                 |
| <i>PTXCIT</i>   | 0.585        | 0.774        | 24.44  | 1.32 | Passable             |
| <i>PTXVAN</i>   | 0.572        | 0.641        | 10.87  | 1.12 | Good                 |
| <i>PTXCAF</i>   | 0.484        | 0.572        | 15.38  | 1.18 | Good/Fair            |
| <i>2PTXGLTh</i> | 0.546        | 0.686        | 20.44  | 1.26 | Passable/Fair        |
| <i>PTXGLT</i>   | 0.312        | 0.595        | 47.54  | 1.91 | Very, very poor      |
| <i>PTXBZC</i>   | 0.506        | 0.686        | 26.19  | 1.35 | Poor flow / Cohesive |
| <i>PTX</i>      | 0.261        | 0.514        | 49.14  | 1.97 | Very, very poor      |

### 3.4. Flowability measurements

When a powder or granulate flows freely through an orifice on a flat surface, the deposited material forms a conical pile, which formation is given by the relationship between mass, gravity and the friction/cohesion force that these particles express among

themselves. As they fall and the cone is formed, the height will be proportional to the radius of its base, being related to the flow properties. The moisture content, the density and irregularities in the particles that form the powders influence the angle of repose (Kougoulos, Chadwick, and Ticehurst 2011; Mashhadi et al. 2021). A cohesive powder forms an irregular heap while a non-cohesive powder forms a regular conical pile. Repose angle refers to the angle of the isosceles triangle, the ideal heap shape, with the same projected surface as the powder heap. The lower the repose angle, the better the powder flowability (Shi, Lumay, and Luding 2020).

As this process is subject to external interferences, such as the speed of addition of the sample in the funnel, the direction that the particles take from the nozzle (influenced by the air current), and by the height of the cone already formed, is possible that part of the cone may collapse. Due to that, it is necessary to use the control that was used during the experiments, as wind barrier, as well as to perform the repetitions and records of the measurements performed. Therefore, an accurate measurement of the heap shape provides useful information about the physical properties of the powder sample (Boschini et al. 2015). Importantly, the angle of repose measurement is a quantitative property that depends on the used methodology.

The Table 3 presents the results of the angle of repose measurements for each investigated material, as well as the classification according to the used methodology adapted from the USP. In good agreement with the IC and FH results, PTX has Very Poor flow characteristics, as well as PTXGLT, which was almost as bad as PTX itself. The cocrystals PTXCIT, PTXBZC and 2PTXGLTh were classified as Poor, requiring vibration for their flow to be facilitated. Finally, the cocrystals PTXVAN, PTXSAL and PTXCAF can be highlighted in this analysis, because the results were so positive that they ranged from Passable to Fair, dispensing the use of a slider and becoming of great interest from the perspective of large-scale production.

Table 3 - Repose angle of analysed cocrystals and PTX raw material. The classification takes into account the measurement uncertainty.

|                 | <i>Repose Angle (°)</i> |     | <i>Classification</i>                           |
|-----------------|-------------------------|-----|---|
| <i>PTX</i>      | 67.8                    | ± 2 | Very poor to Extremely poor                     |
| <i>PTXCIT</i>   | 54.1                    | ± 3 | Poor (must agitate, vibrate) to Very poor       |
| <i>PTXBZC</i>   | 57.9                    | ± 3 | Poor (must agitate, vibrate) to Very poor       |
| <i>PTXCAF</i>   | 42.3                    | ± 2 | Fair (aid not needed) to Passable (may hang up) |
| <i>PTXSAL</i>   | 42.3                    | ± 2 | Fair (aid not needed) to Passable (may hang up) |
| <i>2PTXGLTh</i> | 47.8                    | ± 1 | Poor (must agitate, vibrate)                    |
| <i>PTXVAN</i>   | 41.0                    | ± 2 | Fair (aid not needed) to Passable (may hang up) |
| <i>PTXGLT</i>   | 62.4                    | ± 2 | Very poor                                       |

With the above result, it is possible to infer that the study of the repose angle and the information provided by the analysis of IC and FH are complementary, given that there is a good correlation between the data, reaching  $R = 95.00\%$  ( $R^2 = 90.26\%$ ) between the IC and the repose angle (Supplementary Material).

Despite its relevance, the repose angle is a static parameter and, during a flow, complex mechanisms (powder aeration, formation or breaking of agglomerates, etc.) can influence the flowability. However, the link between a static parameter and dynamical behaviours is often complex (Boschini et al. 2015). The study of dynamic fluidity is relevant considering that, in industrial productions that occur on a large scale have a frequent need for agitation and mixing of powders. This can be seen whether in the initial preparation of the powder mixture until the moment of its transfer between equipment, as well as during the filling of the matrices in the compressing machine, formulation of capsules, filling of sachets and vials with powder for reconstitution. Rotary drums are widely used because they can process a large range of materials, although its efficiency being highly dependent on the flow dynamics behaviour (Santos, Duarte, and Barrozo 2016). This study, therefore, provides a more complete picture of the material's rheological behaviour.

The dynamic flow assays were analysed according the parameters for the types of transverse motion of solids in rotating cylinders (Mellmann 2001), excluding regimes based on a cataracting motion (cataracting and centrifuging). It's important to notice that all measurement specifically at 15 rpm were invalidate due to all analysed materials



entered a slipping regime, without any friction seen between the drum and the powder, perhaps due to the general characteristics of the equipment used.

Following the proposed classification, PTX starts as an irregular slumping system (fall) at low rotational speed, losing friction around 15 rpm, possibly due to vibration, then transforming into a cataracting system above 25 rpm. The PTX measurements used for quantitative effect were up to a maximum of 20 rpm, disregarding the 15 rpm. PTXGLT has a similar behaviour, and none of the measurements were quantifiable, since the initial irregular slumping regime quickly converts into cataracting above 20 rpm.

PTXBZC starts at 5 rpm as a rolling system, but around 25 rpm transforms into a regime that resembles a cascading mixing with cataracting. From 30 rpm, it was characterized as cataracting. PTXCIT follows a similar sequence initially as a rolling system, with cascading around 20 rpm. At around 25 rpm a mixing of cascading with cataracting begins and from 30 rpm it was characterized as cataracting. For both cocrystals the dynamic angle of repose was quantified, therefore, only up to 25 rpm.

For the 2PTXGLTh cocrystal there is an initial rolling regime, and from 20 rpm onwards a cascading system starts up to 65 rpm where the cataracting begins. The PTXVAN, PTXCAF and PTXSAL behaviours were quite similar, facilitating their quantitative comparison. Starting as a rolling system, around 40, 35 and 25, respectively, the cascading regime was started, which lasted until the maximum rotational speed at 100 rpm. The dynamic angle of repose results are shown in Figure 3. In the cases where it was not possible to observe a single uniform upper powder surface, the dynamic angle of repose was calculated as the average between the upper and lower angles (Xiao, Specht, and Mellmann 2005). The increase of the dynamic angle with rotation speed for non-cohesive materials could be explained due to the inertial effect (Shi, Lumay, and Luding 2020).

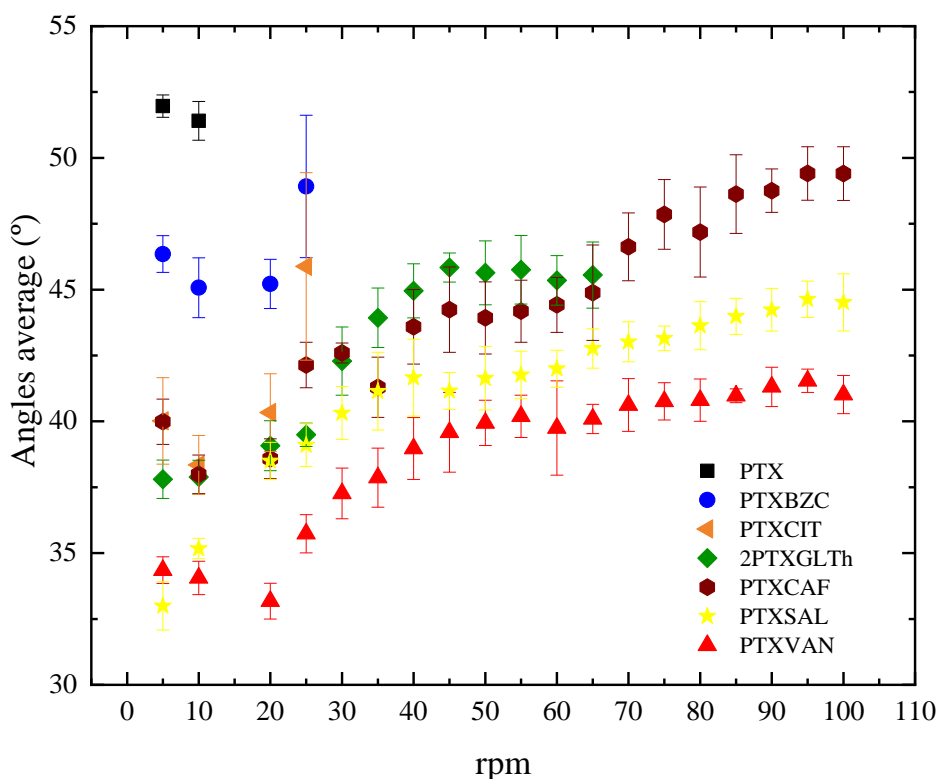


Figure 3 - Dynamic flow measurements of PTX and cocrystals.

According to the literature, slipping and centrifuging regimes are not interesting in terms of industrial applicability, whereas cataracting is relevant in crushing methodologies. Therefore, slumping, rolling and cascading systems are of greatest interest for pharmaceutical processing of mixing, coating, drying, among others (Mellmann 2001). Thus, PTXVAN, PTXSAL and PTXCAF cocrystals are those that remain within the regimes of pharmaceutical interest in rotary drum processing, because they have the most desired flow properties. 2PTXGLTh is initially kept as rolling and, for most of the processing, in a cascading regime, up to around 65 rpm, which determines a reasonable work limit for the equipment depending on the procedural interest. The remaining cocrystals should need prior treatment, such as, granulation or the addition of fluidity modifying agents, like glidant, so that it is feasible to work at normal working speeds in industrial equipment.

The flowing angle is influenced by a wide set of parameters, as the friction, shape, and the cohesive forces within the material (Van der Waals, electrostatic and capillary forces). Knowing that cohesive powder leads to an intermitted flow, while a non-cohesive powder leads to a regular flow (Boschini et al. 2015), another possible information of interest refers to the degree of cohesion of the materials, as is possible to see in Figure 3. The higher the rotation speed, the dynamic angle was constantly increased as a non-cohesive powder characteristic. In other words, PTX, PTXBZC, PTXGLT are materials with a higher degree of cohesiveness than the other cocrystals, 2PTXGLTh, PTXVAN, PTXSAL and PTXCAF, enabling the use of cocrystallization to improve this factor.

From the study of dynamic fluidity, in addition to the difference in behavioural data verified above, we have observed that the dynamic angles of repose measured at 5 rpm are correlated with the static angle of repose ( $R^2 = 0.8604$  - Supplementary material – 4). The correlation between static and dynamic angles of repose was evaluated without considering the PTXGLT data, from which it was not possible to obtain the dynamic angle of repose. The differences in angle measurement can be justified by the existence of a coefficient of friction between the particles and the wall of the apparatus, rotation speed, in addition to the constant interaction existing between particulate material and gaseous atmosphere, which are not applicable to the static repose angle test (Araújo dos Santos 2015).

Despite the size variation seen during the SEM analysis, all materials presented flowability property better than the PTX. Moreover, even considering the groups divided by the size (PTXBZC, PTXGLT and PTXCAF, having smaller particles smaller than expected, and 2PTXGLTh, PTXCIT, PTXSAL and PTXVAN, which proved to have larger particles fitting the expected size), looking to the measurement uncertainty, these two groups become one again, showing that this size variation was not so relevant for the flowability improvement. This results demonstrating that it was not the size situation but the cocrystallization the responsible for that pharmaceutical improvement (Supplementary Material – 6).

#### **4. CONCLUSION**

Flowability is not an intrinsic property of powder materials. Therefore, an accurate measurement of powder flowability still remains a challenge. To the improvement of

flowability of powders, the inclusion of quantities of glidants and granulation process were commonly used. Glidants does not always effectively contribute to the improvement of flowability and the granulation process commonly uses a wet method, requiring equipment, time and energy, in addition to subjecting the API to humidity and heating temperature. The possibility of using cocrystallization as a technique to improve the drug flowability could be investigated as another possible way. It was found that all cocrystals improved the flow properties of PTX, being PTXGLT the less improved one, while PTXVAN is the cocrystal that excelled in improving flow properties, followed by PTXCAF and PTXSAL.

The measurement methods allow to measure significative differences between the powder samples. In particular, the influence of the cohesive forces (van der Waals, electrostatic and capillary forces) on the static and on the dynamic powder properties could have been estimated. The correlations between the different flowability indexes have been analysed. The information obtained with the CI, HF, repose angle and the rotating drum methods are coherent. The Hausner ratio is also found to be correlated with the powder cohesiveness. The link between the static and dynamic methods has been established. Thus, it can be concluded that the mainly prepared cocrystals showed superior flowability and compressibility in comparison to pure drug PTX, even despite the size variation.

## 5. REFERENCES

Araújo dos Santos, Dyrney. 2015. "Estudo Experimental e Numérico Da Dinamica de Particulas Granulares Em Um Tambor Rotatório." Universidade Federal de Uberlândia.

Bennett, GaryF. 1992. "The Merck Index: An Encyclopedia of Chemicals, Drugs and Biologicals." *Journal of Hazardous Materials* 30(3): 373.

Bolla, Geetha, and Ashwini Nangia. 2016. "Pharmaceutical Cocrystals: Walking the Talk." *Chemical Communications* 52(54): 8342–60.

Boschini, F et al. 2015. "Linking Flowability and Granulometry of Lactose Powders." *International Journal of Pharmaceutics* 494(1): 312–20.

Choquesillo-Lazarte, Duane, Vinko Nemeč, and Dominik Cinčić. 2017. "Halogen Bonded Cocrystals of Active Pharmaceutical Ingredients: Pyrazinamide, Lidocaine and Pentoxifylline in Combination with Haloperfluorinated Compounds." *CrystEngComm* 19(35): 5293–99.

Cleary, John D., Pamela C. Evans, Ahmed H. Hikal, and Stanley W. Chapman. 1999.

“Administration of Crushed Extended-Release Pentoxifylline Tablets: Bioavailability and Adverse Effects.” *American Journal of Health-System Pharmacy* 56(15): 1529–34.

Divya, S et al. 2019. “Characterization of Powder Flowability Using FT4–Powder Rheometer.” *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research* 11(1): 25–29.

Douroumis, Dennis, Steven A. Ross, and Ali Nokhodchi. 2017. “Advanced Methodologies for Cocrystal Synthesis.” *Advanced Drug Delivery Reviews* 117: 178–95.

Ferreira, Patricia Osorio et al. 2020. “A Norfloxacin-Nicotinic Acid Cocrystal: Mechanochemical Synthesis, Thermal and Structural Characterization and Solubility Assays.” *Thermochimica Acta* 694.

Fu, Xiaowei et al. 2012. “Effect of Particle Shape and Size on Flow Properties of Lactose Powders.” *Particuology* 10(2).

Golunski, Grzegorz, Anna Woziwodzka, and Jacek Piosik. 2018. “Potential Use of Pentoxifylline in Cancer Therapy.” *Current Pharmaceutical Biotechnology* 19(3): 206–16.

González-Pacheco, H., L. M. Amezcua-Guerra, J. Sandoval, and A. Arias-Mendoza. 2020. “Potential Usefulness of Pentoxifylline, a Non-Specific Phosphodiesterase Inhibitor with Anti-Inflammatory, Anti-Thrombotic, Antioxidant, and Anti-Fibrogenic Properties, in the Treatment of SARS-CoV-2.” *European Review for Medical and Pharmacological Sciences* 24(13): 7494–96.

Good, David J., and Rodríguez Hornedo Nair. 2009. “Solubility Advantage of Pharmaceutical Cocrystals.” *Crystal Growth and Design*.

Hansen, Jerome, and Peter Kleinebudde. 2021. “Improving Flowability and Reducing Storage Agglomeration of Metformin Hydrochloride through QESD Crystallization.” *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 159.

Infarmed. 2008. *INFARMED - Instituto Nacional da Farmácia e do Medicamento Farmacopeia Portuguesa - IX Edição*.

Juarez-Enriquez, Edmundo et al. 2022. “A Review on the Influence of Water on Food Powder Flowability.” *Journal of Food Process Engineering*: e14031.

Kalepu, Sandeep, and Vijaykumar Nekkanti. 2015. “Insoluble Drug Delivery Strategies: Review of Recent Advances and Business Prospects.” *Acta Pharmaceutica Sinica B* 5(5): 442–53.

Karagianni, Anna, Maria Malamataris, and Kyriakos Kachrimanis. 2018. “Pharmaceutical Cocrystals: New Solid Phase Modification Approaches for the Formulation of APIs.” *Pharmaceutics* 10(1).

Karimi-Jafari, Maryam, Luis Padrela, Gavin M. Walker, and Denise M. Croker. 2018. “Creating Cocrystals: A Review of Pharmaceutical Cocrystal Preparation Routes and Applications.” *Crystal Growth and Design* 18(10): 6370–87.

Kavanagh, Oisín N, Chenguang Wang, Gavin M Walker, and Changquan Calvin Sun. 2021. “Modulation of the Powder Properties of Lamotrigine by Crystal Forms.” *International Journal of Pharmaceutics* 595.

- Kougoulos, E., C. E. Chadwick, and M. D. Ticehurst. 2011. "Impact of Agitated Drying on the Powder Properties of an Active Pharmaceutical Ingredient." *Powder Technology* 210(3): 308–14.
- Kumar, S., and A. Nanda. 2017. "Pharmaceutical Cocrystals: An Overview." *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*.
- Lamolha, Marco Aurélio, and Cristina Helena dos Reis Serra. 2007. "Evaluation of the Flow and the Dissolution of 50 Mg Hydrochlorothiazide Tablets Obtained by Wet Granulation." *Revista Brasileira de Ciências Farmacéuticas/Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences* 43(3): 435–46.
- Lee, Chen An, Muoi Tang, and Yan Ping Chen. 2014. "Measurement and Correlation for the Solubilities of Cinnarizine, Pentoxifylline, and Piracetam in Supercritical Carbon Dioxide." *Fluid Phase Equilibria* 367: 182–87.
- Li, Alain Wan Po. 1998. "Statistics for Pharmacists." In *Blackwell Science*, 252.
- Ma, Hongbao et al. 2018. "Pentoxifylline Protects against Loss of Function and Renal Interstitial Fibrosis in Chronic Experimental Partial Ureteral Obstruction." *Pathophysiology*.
- Maity, Dilip Kumar, Rakesh Kumar Paul, and Gautam R Desiraju. 2020. "Drug–Drug Binary Solids of Nitrofurantoin and Trimethoprim: Crystal Engineering and Pharmaceutical Properties | Enhanced Reader." *Mol. Pharmaceutics* 17.
- Mashhadi, Syed Muddassir Ali et al. 2021. "Isoniazid-Gentisic Acid Cocrystallization: Solubility, Stability, Dissolution Rate, Antioxidant and Flowability Properties Studies." *Journal of Molecular Structure* 1226.
- Mellmann, J. 2001. "The Transverse Motion of Solids in Rotating Cylinders-Forms of Motion and Transition Behavior." *Powder Technology* 118(3): 251–70.
- Moravkar, Kailas K. et al. 2022. "Assessment of Pharmaceutical Powders Flowability and Comparative Evaluation of Lubricants on Development of Gastro Retentive Tablets: An Application of Powder Flow Tester." *Journal of Drug Delivery Science and Technology* 71: 103265.
- Nogueira Prista, L., A. Correia Alves, and Rui M. R. Morgado. 1990. *Fundação Calouste Gulbenkian, Lisboa Técnica Farmacêutica e Farmácia Galénica*.
- Peppas, N.A. 1989. "Pharmaceutics: The Science of Dosage Form Design." *Journal of Controlled Release* 8(3): 275.
- Pharm, Irq J, and Liqaa S Esmail. 2022. "Drug Physicochemical Properties Relevant to Powder Flowability in Pharmaceutical Appliance: A Review." *Mosul University* 18(2): 97–103.
- Pindelska, Edyta, Agnieszka Sokal, and Waclaw Kolodziejcki. 2017. "Pharmaceutical Cocrystals, Salts and Polymorphs: Advanced Characterization Techniques." *Advanced Drug Delivery Reviews* 117: 111–46.
- Santos, D A, C R Duarte, and M. A.S. Barrozo. 2016. "Segregation Phenomenon in a Rotary Drum: Experimental Study and CFD Simulation." *Powder Technology* 294: 1–10.

Serrano, Dolores R. et al. 2016. "Cocrystal Habit Engineering to Improve Drug Dissolution and Alter Derived Powder Properties." *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 68(5): 665–77.

Shah, Priyank, Hiten Patel, Priyam Mithawala, and Rajkumar Doshi. 2018. "Torsemide versus Furosemide in Heart Failure Patients: A Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials." *European Journal of Internal Medicine* 57: e38–40.

Shaikh, Rahamatullah, Ravendra Singh, Gavin M. Walker, and Denise M. Croker. 2018. "Pharmaceutical Cocrystal Drug Products: An Outlook on Product Development." *Trends in Pharmacological Sciences* 39(12): 1033–48.

Shi, Hao, Geoffroy Lumay, and Stefan Luding. 2020. "Stretching the Limits of Dynamic and Quasi-Static Flow Testing on Cohesive Limestone Powders." *Powder Technology* 367: 183–91.

Speer, Esther M. et al. 2018. "Pentoxifylline Alone or in Combination with Gentamicin or Vancomycin Inhibits Live Microbe-Induced Proinflammatory Cytokine Production in Human Cord Blood and Cord Blood Monocytes in Vitro." *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 62(12).

Spierings, A. B., M. Voegtlin, T. Bauer, and K. Wegener. 2016. "Powder Flowability Characterisation Methodology for Powder-Bed-Based Metal Additive Manufacturing." *Progress in Additive Manufacturing* 1(1–2): 9–20.

Stepanovs, Dmitrijs et al. 2015. "Cocrystals of Pentoxifylline: In Silico and Experimental Screening." *Crystal Growth and Design* 15(8): 3652–60.

Tzankov, Stanislav, and Borislav Tzankov. 2019. "Process Optimization of Preparation of Pentoxifylline - Extended Release Tablets." *Pharmacia* 66(2): 45–48.

USP. 2014. "United States Pharmacopeia and National Formulary." *The United States Pharmacopeial Convention* 06(2012): 2014–16.

Vanarase, Aditya U., Juan G. Osorio, and Fernando J. Muzzio. 2013. "Effects of Powder Flow Properties and Shear Environment on the Performance of Continuous Mixing of Pharmaceutical Powders." *Powder Technology* 246: 63–72.

Xiao, Yan Liu, E. Specht, and J. Mellmann. 2005. "Experimental Study of the Lower and Upper Angles of Repose of Granular Materials in Rotating Drums." *Powder Technology* 154(2–3): 125–31.

**SUPPLEMENTARY MATERIAL**

Powder X-rays of the cocrystals obtained to confirm the material obtained and compare them with those reported in the literature. In blue, the cocrystal, in black the PTX raw material and in red the pattern of the cofomer used. For PTXBZC and PTXSAL were used the PXRD of cocrystals under REFCODE HUNJIL and HUNJOR (purple).

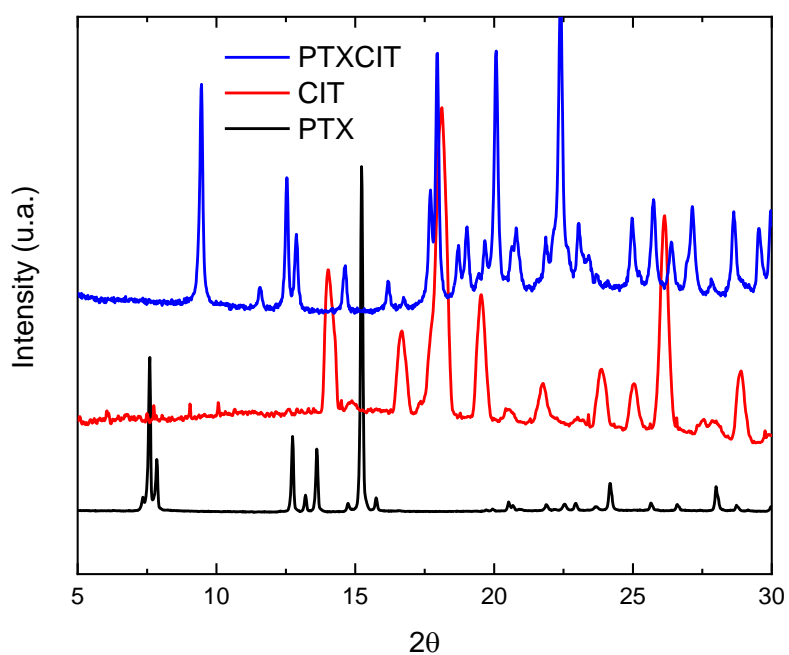


Figure S1 – PXRD of cocrystal PTXCIT (blue) and the raw materials CIT (red) and PTX (black).



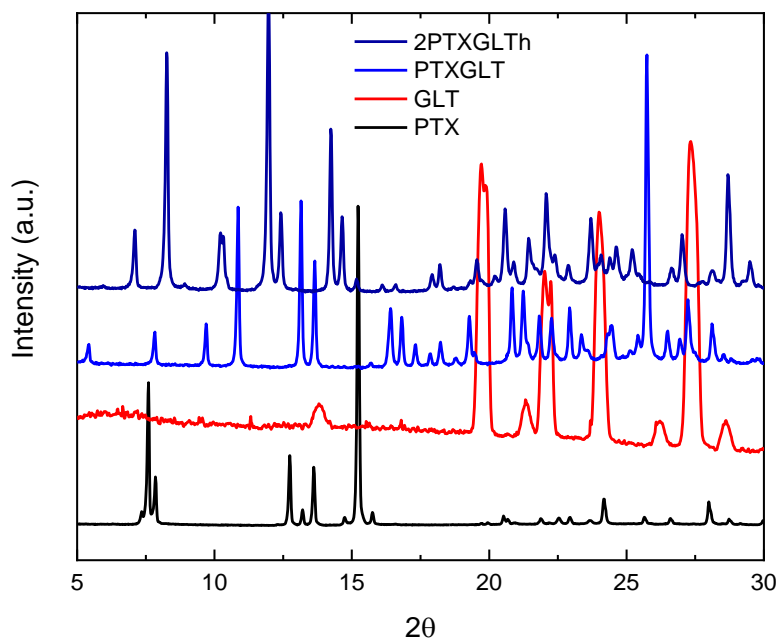


Figure S2 - PXRD of cocrystal PTXGLT (light blue) 2PTXGLTh (dark blue) and the raw materials GLT (red) and PTX (black).

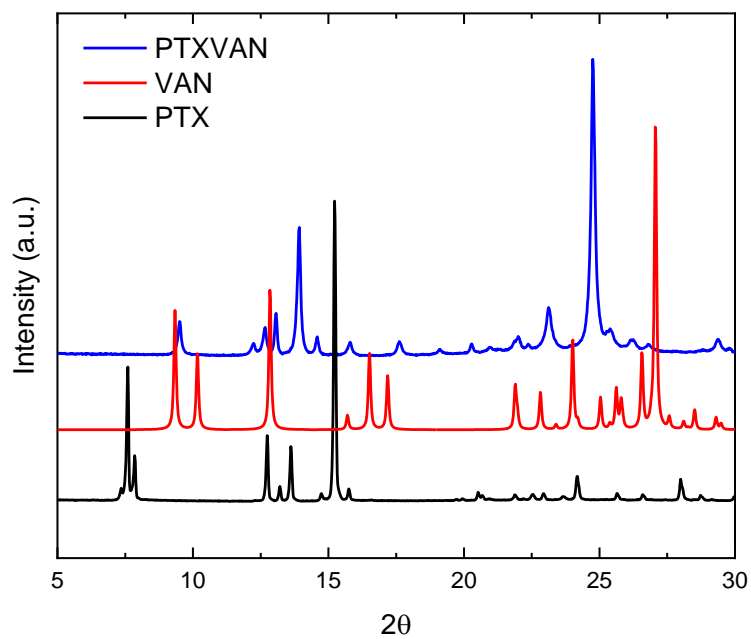


Figure S3 - PXRD of cocrystal PTXVAN (blue) and the raw materials VAN (red) and PTX (black).

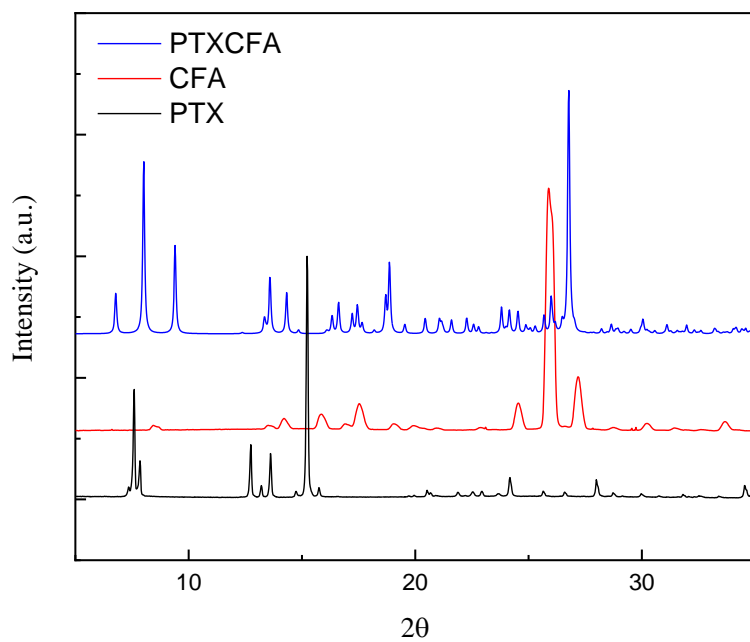


Figure S4 - PXRD of cocystal PTXCFA (blue) and the raw materials CFA (red) and PTX (black).

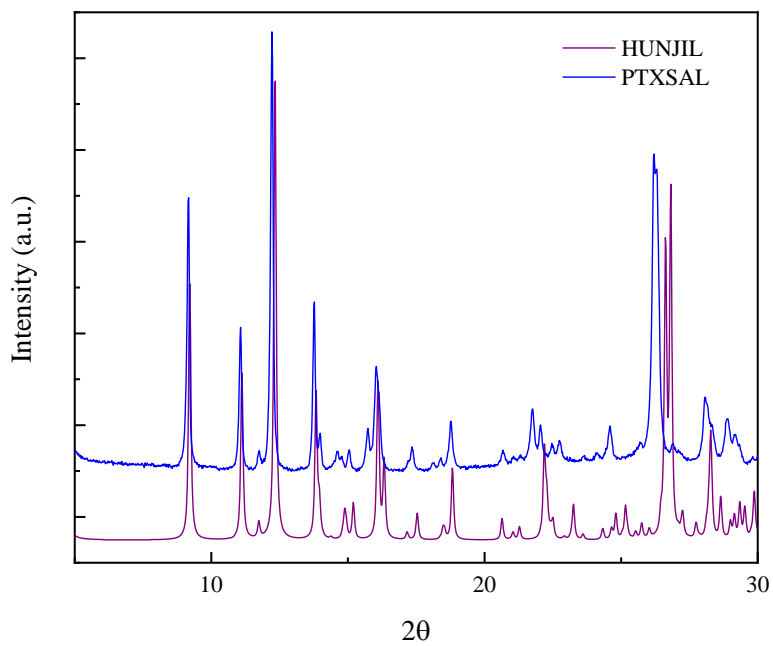


Figure S5 - PXRD of cocystal PTXSAL (blue) and the calculated PXRD from HUNJIL (purple) CSD refcode.

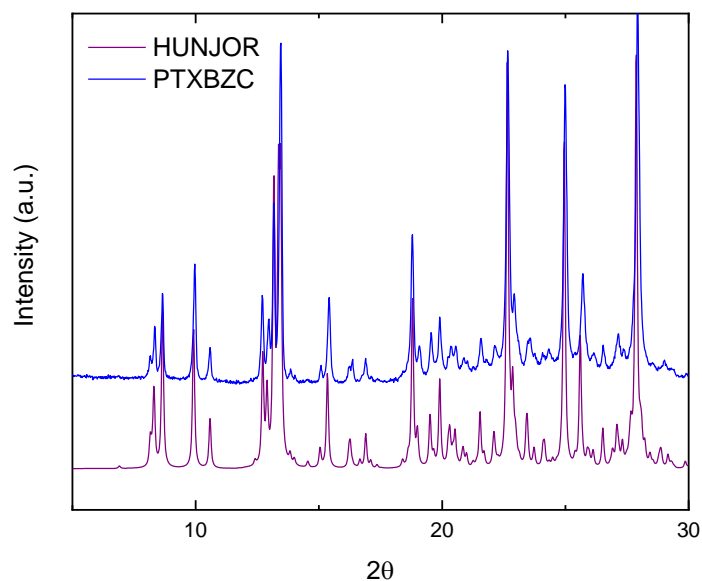
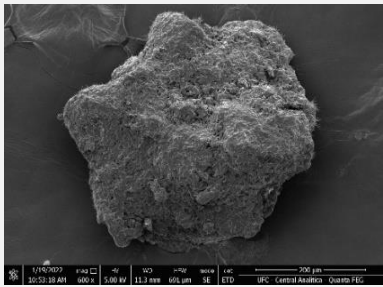
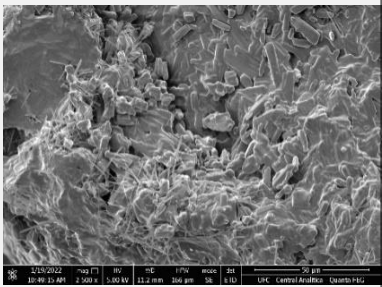
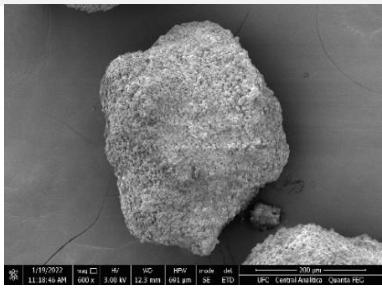
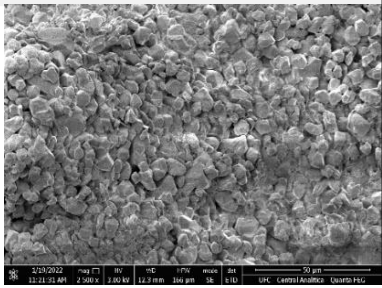


Figure S6 - PXRD of cocrystal PTXBZC (blue) and the calculated PXRD from HUNJOR (purple) CSD refcode.

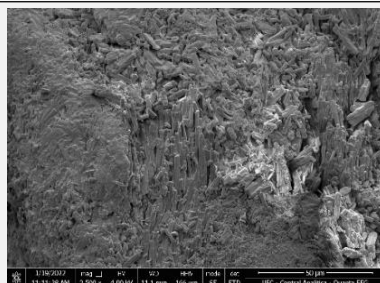
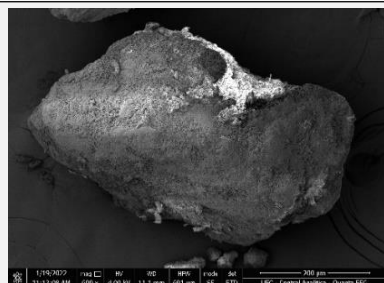
Table S1 – Data compilation from SEM of PTX and cocrystals with their IC (%), Repose angle (°) and Dynamic angle by its quantifiable limit (rpm)

| <i>600x magnification</i>   | <i>2500x magnification</i>   | <ul style="list-style-type: none"> <li>- <i>Cocrystal</i></li> <li>- <i>Carr index (%)</i></li> <li>- <i>Repose angle (°)</i></li> <li>- <i>Dynamic angle (rpm)</i></li> </ul> |
|---|--|--|
|  |  | <ul style="list-style-type: none"> <li>- PTXSAL</li> <li>- 14.34</li> <li>- 42.25</li> <li>- 100</li> </ul>  |
|  |  | <ul style="list-style-type: none"> <li>- PTXVAN</li> <li>- 10.87</li> <li>- 40.92</li> <li>- 100</li> </ul>  |

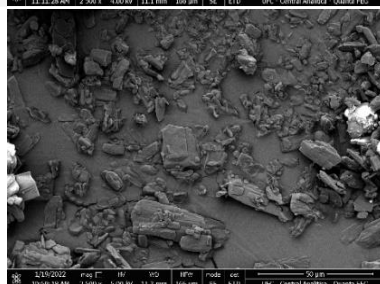
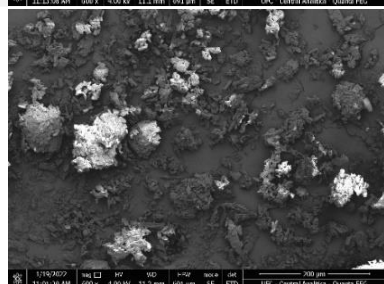
600x magnification

2500x magnification

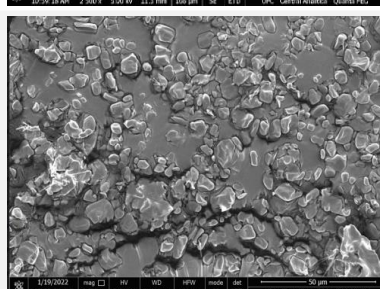
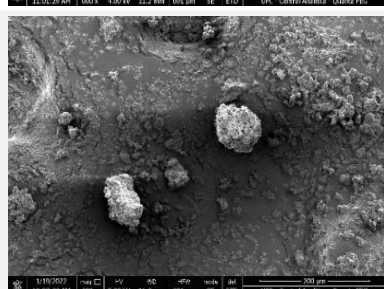
- Cocrystal
- Carr index (%)
- Repose angle (°)
- Dynamic angle (rpm)



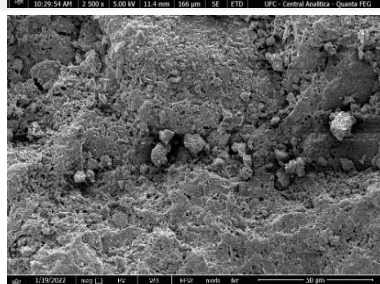
- 2PTXGLTh
- 20.44
- 47.78
- 65



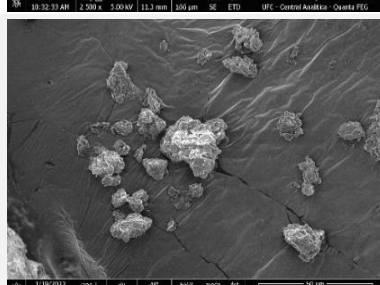
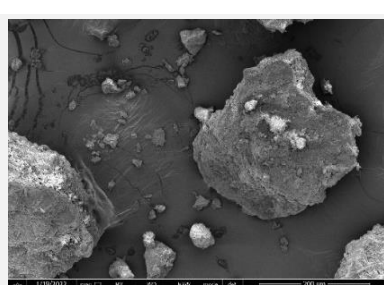
- PTXGLT
- 47.54
- 62.37
- 0



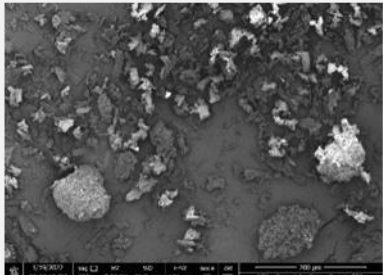
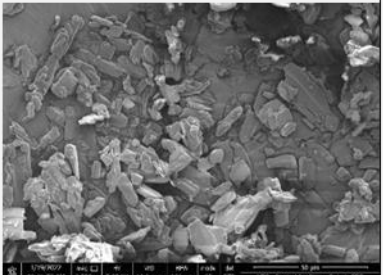
- PTXBZC
- 26.19
- 57.85
- 25



- PTXCAF
- 15.38
- 42.29
- 100



- PTXCIT
- 24.44
- 54.12
- 25

| <i>600x magnification</i>   | <i>2500x magnification</i>   | <ul style="list-style-type: none"> <li>- <i>Cocrystal</i></li> <li>- <i>Carr index (%)</i></li> <li>- <i>Repose angle (°)</i></li> <li>- <i>Dynamic angle (rpm)</i></li> </ul> |
|---|--|--|
|  |  | <ul style="list-style-type: none"> <li>- PTX</li> <li>- 49.14</li> <li>- 67.84</li> <li>- 10</li> </ul>  |

Statistical tests of density values used in the IC and FH calculations to verify if there is real statistical relevance between the data (ANOVA and T-Test). All the measurements were correlated directly with PTX processed the same way as the cocrystals obtained. The results showed  $p < 0.05$ , demonstrating statistic relevance between the IC and FH from PTX and cocrystals.

Table S2 - Average values of density, pearson correlation and P value from the cocrystal correlated with PTX using ANOVA single factor.

|                              | <i>PTXSAL</i> | <i>PTXCIT</i> | <i>PTXVAN</i> | <i>PTXCAF</i> | <i>2PTXGLTh</i> | <i>PTXGLT</i> | <i>PTXBZC</i> |
|------------------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|-----------------|---------------|---------------|
| <i>Average</i>               | 0.651         | 0.768         | 0.636         | 0.568         | 0.683           | 0.590         | 0.679         |
| <i>Pearson Correlation</i>   | 0.948         | 0.998         | 0.790         | 0.774         | 0.790           | 0.790         | 0.949         |
| <i>P(T&lt;=t) uni-caudal</i> | 0.002         | 0.001         | 0.002         | 0.007         | 0.001           | 0.004         | 0.001         |

Correlation graphs obtained through the Carr Index and Repose Angle data could validate the methodology used comparatively. A good correlation index ( $R^2$  reaching 0.9026) as well as the correlation between the static angle of rest data and dynamic measured at 5 rpm (closest measurement from condition of the repose angle) ( $R^2$  of 0.8604) were found, but deviations are expected due to the difference in dynamics between the analyses.

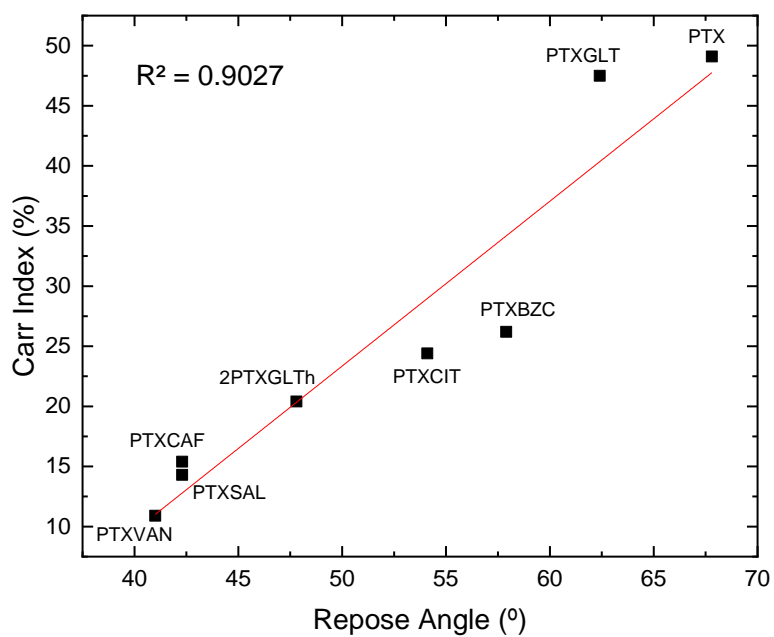


Figure S7 - Correlation between carr index and repose angle showing a great correlation between the data found ( $R^2 = 0.9027$ ).

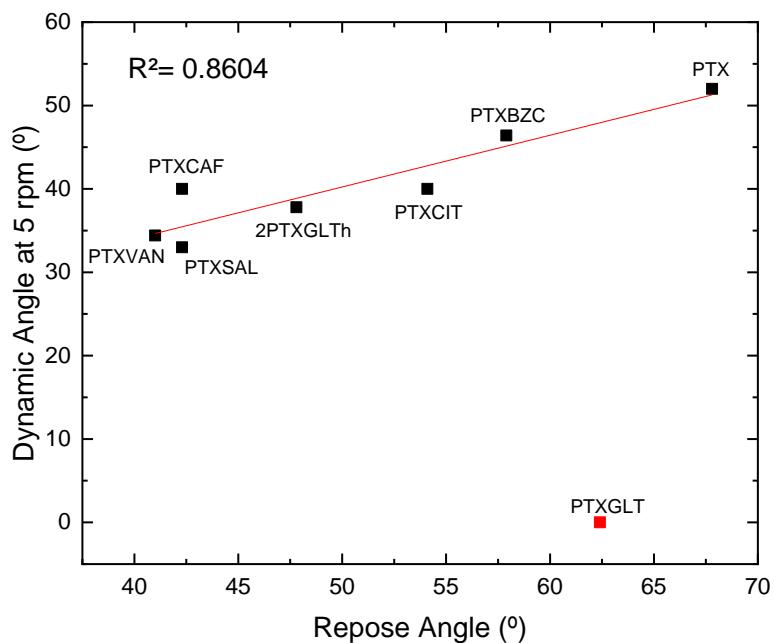


Figure S8 - Correlation between dynamic (5 rpm) and repose angle showing a great correlation between the data found ( $R^2 = 0.8604$ ).

To illustrate the discussion of the article and showing the clear differences in behaviour between the materials, especially with regard to cohesion, the material being much more cohesive in PTX and PTXGLT.

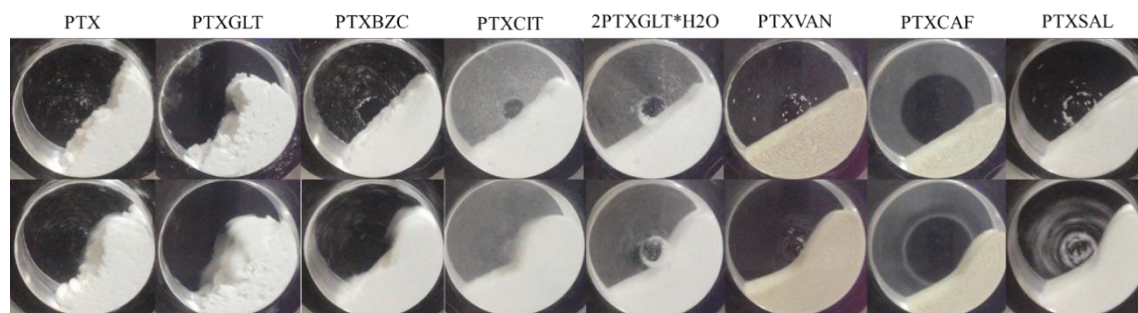


Figure S9 – Extracted images from the dynamic angle tested materials. Above, 5 rpm measurements and below, 20 to 25 rpm measurements.

After the Scanning Electron Microscopy (SEM) and by verifying the flow characteristics of the materials with similarity in particle sizes, we can divide the materials into two groups: the first composed of PTX and the cocrystals PTXBZC, PTXGLT and PTXCAF, having particles smaller than expected for the used meshes, possibly due to the high cohesion of the material (Figure S10). A second group is composed of the other cocrystals (2PTXGLT, PTXCIT, PTXSAL and PTXVAN), which proved to have larger particles fitting the expected size. Due to that variation and in order to be more faithful to the possible conclusions, the didactic division is necessary to verify the real effect of cocrystallization on the flow properties, since this characteristic is highly correlated to the materials' size. Even with that division, looking to the measurement uncertainty, these two groups become one again, showing that this size variation was not so relevant for the flowability improvement. This results demonstrating that it was not the size situation but the cocrystallization the responsible for that pharmaceutical improvement.

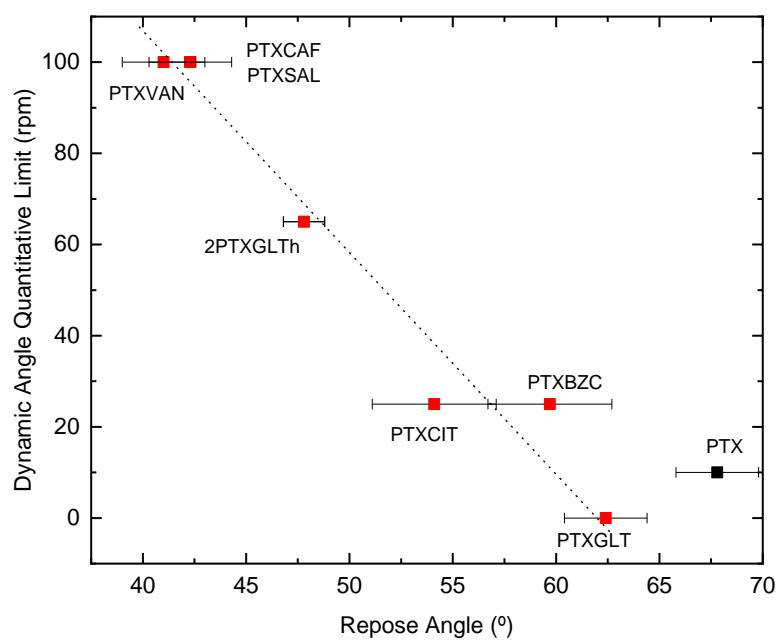


Figure S10 – The relationship between cocrystals and their Dynamic Angle Quantitative limit (rpm) and Repose Angle (°).



## 5.2. Conclusão

A fluidez depende de diversos fatores externos, como tamanho, forma, umidade, entre outros. Logo, por não ser uma característica intrínseca ao pó é uma propriedade cuja acurácia na medida ainda é um desafio. Porém, as metodologias desenvolvidas e utilizadas para este trabalho atenderam à finalidade comparativa, verificando correlação e coerência de informações entre as diferentes metodologias utilizadas, e demonstrando a melhoria das propriedades de fluxo da PTX com o uso da cocristalização.

No processamento farmacêutico, nem sempre a inserção de deslizantes em maiores quantidades são suficientes para a melhoria da fluidez de um material. Nesses casos, geralmente, recorre-se ao processo de granulação, o qual ocorre comumente sob interferência de água (umidade elevada) e aquecimento (calor), bem como a uma maior demanda de tempo e energia. Este estudo demonstrou a possibilidade do uso da cocristalização como técnica para melhoria da fluidez de um IFA.

Verificou-se que todos os cocristais apresentaram melhora nas propriedades de fluxo em geral, mesmo que em baixa relevância, como a PTXGLT ou a PTXBZC, porém os demais apresentaram melhora bastante significativa, em destaque os cocristais PTXVAN e o PTXCAF.

## CAPÍTULO 6 – CONCLUSÕES

A capacidade para aprimorar propriedades farmacologicamente relevantes de um princípio ativo através do controle da estrutura cristalina tem sido comprovada por inúmeras publicações e tem dado origem a diversos produtos que já se encontram no mercado. Devido a isto, esta abordagem foi proposta para adequar propriedades da pentoxifilina aos requerimentos de formulações de liberação controlada. Como ponto de partida deste estudo, um *screening* de polimorfos da PTX foi efetuado para verificar possíveis interferências no decorrer do processamento do fármaco, realizada com o uso das metodologias de ativação mecanoquímica a seco e com solventes, bem como por evaporação lenta, a qual resultou apenas em reprodução das formas já conhecidas do fármaco: PTX1 e PTX2, obtidas através de metodologias diferentes das já previamente reportadas. Porém, com o uso de análise térmica e ciclos de aquecimento/resfriamento, foram verificados diversos eventos que complementam a caracterização térmica da PTX. Foi possível a obtenção de dois possíveis polimorfos ainda não reportados, PTX3 e PTX4, bem como a visualização de uma transição vítrea do material. PTX1 é a forma termodinamicamente mais estável em condições ambientais, e, assim como a PTX2, se relaciona monotropicamente com os demais polimorfos, enquanto PTX3 e PTX4 formam um par enantiotrópico.

A seguir, utilizando a mecanoquímica assistida por solvente, a qual utiliza pouco solvente e torna o escalonamento do material mais viável, foram obtidas diversas novas formas sólidas da PTX: dois cocristais já reportados e estudados na literatura (PTXSAL e PTXBZC), cinco cocristais ainda não previamente elucidados (PTXCAF, PTXCIF, PTXGLT, 2PTXGLTh e PTXVAN), além de outras cinco novas formas sólidas que ainda não possuem elucidação estrutural (PTXCMA, PTXFMA, PTXGAL e PTXOXA – a qual possui duas apresentações). Com o estudo de solubilidade e perfil de dissolução dos cocristais, atingimos o objetivo de modulação dessas propriedades através da cocrystalização, com perfis variados, aumento (PTXCIT e PTXVAN) e redução de solubilidade (PTXGLT, PTXBZC, PTXSAL e PTXCAF) com esse último sendo mais relevante no que concerne a PTX.

Finalmente, verificamos através de estudos de fluidez que a PTX é um material com péssimas características de fluxo. Fármacos com tais características podem ser

melhorados através do uso de deslizantes ou do processamento por granulação. Porém, deslizantes possuem limites de uso que podem não resolver essa problemática, bem como o processo de granulação de um fármaco geralmente submete o material a condições elevadas de umidade e temperatura ou de pressão, o que pode levar a alterações estruturais da molécula. O uso de cocristalização pode ser uma alternativa a essas metodologias comumente utilizadas e, através dos estudos de fluidez e densidade dos pós, foi verificado que PTXVAN, PTXCAF e PTXSAL possuíram grandes melhorias nas propriedades de fluxo da PTX. Assim, PTXVAN demonstrou grande potencial em termos de propriedades de fluxo, além de um aumento considerável na solubilidade do fármaco, enquanto PTXBZC demonstrou boa redução da solubilidade, porém ausência de melhorias consideráveis na fluidez do produto.

Portanto, verifica-se que todos os objetivos propostos foram concluídos com sucesso. O processamento da PTX através das técnicas utilizadas na busca por polimorfos, permitiu uma maior compreensão das alterações estruturais que o fármaco pode sofrer a depender das condições a que é submetido. A modulação das propriedades de solubilidade e fluxo da PTX foram possíveis com o uso da cocristalização do fármaco, sendo obtidas formas sólidas com condições de fluxo melhoradas e solubilidade reduzida, os quais são as propriedades de maior interesse no que se refere ao fármaco em estudo, onde PTXCAF e PTXSAL atingiram ambos os objetivos de interesse.

## REFERÊNCIAS

- Aakeröy, Christer B., Neil R. Champness, and Christoph Janiak. 2010. “Recent Advances in Crystal Engineering.” *CrystEngComm* 12(1):22–43. doi: 10.1039/B919819A.
- Aakeröy, Christer B., and Kenneth R. Seddon. 1993. “The Hydrogen Bond and Crystal Engineering.” *Chem. Soc. Rev.* 22(6):397–407. doi: 10.1039/CS9932200397.
- Akseli, Ilgaz, Jon Hilden, Jeffrey M. Katz, Ron C. Kelly, Timothy T. Kramer, Chen Mao, Frederick Osei-Yeboah, and John C. Strong. 2019. “Reproducibility of the Measurement of Bulk/Tapped Density of Pharmaceutical Powders Between Pharmaceutical Laboratories.” *Journal of Pharmaceutical Sciences* 108(3):1081–84. doi: 10.1016/j.xphs.2018.10.009.
- Almansa, Carmen, Ramon Mercè, Nicolas Tesson, Joan Farran, Jaume Tomàs, and Carlos R. Plata-Salamán. 2017. “Co-Crystal of Tramadol Hydrochloride–Celecoxib ( Ctc ): A Novel API–API Co-Crystal for the Treatment of Pain.” *Crystal Growth & Design* 17(4):1884–92. doi: 10.1021/acs.cgd.6b01848.
- Alves de Santana, Maria Silmara, Yara Santiago de Oliveira, Jéssica de Castro Fonseca, Wellington Castro Ferreira, Vasco Stascxak Neto, and Alejandro Pedro Ayala. 2019. “Stability of Ceftazidime Pentahydrate Investigated by Thermal Analysis Techniques.” *Journal of Pharmaceutical Sciences* 1–6. doi: 10.1016/j.xphs.2019.11.018.
- do Amaral, Lilian Henriques, Flavia Almada do Carmo, Maria Inês Amaro, Valeria Pereira de Sousa, Luiz Claudio Rodrigues Pereira da Silva, Gabriella Silva de Almeida, Carlos Rangel Rodrigues, Anne Marie Healy, and Lucio Mendes Cabral. 2018. “Development and Characterization of Dapsone Cocrystal Prepared by Scalable Production Methods.” *AAPS PharmSciTech* 19(6):2687–99. doi: 10.1208/s12249-018-1101-5.
- ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. 2017. “Registro de Medicamentos Novos, Genéricos e Similares Contendo Solvatos e Cocristais Como Insumo Farmacêutico Ativo.” Nota Técnica 02.

- Barikah, Kuni Zu'aimah. 2018. "Traditional and Novel Methods for Cocrystal Formation: A Mini Review." *Systematic Reviews in Pharmacy* 9(1):79–82. doi: 10.5530/srp.2018.1.15.
- Beavers, Karen, Jennifer Esteron Cady, Amy Jiang, and Liberty McCoy. 2019. "Establishing a Maker Culture beyond the Makerspace." *Library Hi Tech* 37(2):219–32. doi: 10.1108/LHT-07-2018-0088.
- Bernstein, Joel. 2007. *Polymorphism in Molecular Crystals*. Oxford University Press.
- Berry, David J., and Jonathan W. Steed. 2017. "Pharmaceutical Cocrystals, Salts and Multicomponent Systems; Intermolecular Interactions and Property Based Design." *Advanced Drug Delivery Reviews* 117:3–24. doi: 10.1016/j.addr.2017.03.003.
- Bezerra, Beatriz Pinheiro, Jéssica Castro Fonseca, Yara Santiago de Oliveira, Maria Silmara A. de Santana, Keilla F. Silva, Bruno S. Araújo, and A. P. Ayala. 2016. "Phase Transitions in Secnidazole: Thermal Stability and Polymorphism Studied by X-Ray Powder Diffraction, Thermal Analysis and Vibrational Spectroscopy." *Vibrational Spectroscopy* 86:90–96. doi: 10.1016/j.vibspec.2016.06.007.
- Bhattacharya, Suman, Krishna S. Peraka, and Michael J. Zaworotko. 2018. "The Role of Hydrogen Bonding in Co-Crystals." Pp. 33–79 in *Monographs in Supramolecular Chemistry*. Vols. 2018-Janua.
- Bhogala, Balakrishna R., Srinivas Basavoju, and Ashwini Nangia. 2005. "Tape and Layer Structures in Cocrystals of Some Di- and Tricarboxylic Acids with 4,4'-Bipyridines and Isonicotinamide. From Binary to Ternary Cocrystals." *CrystEngComm* 7(90):551. doi: 10.1039/b509162d.
- Blagden, N., M. de Matas, P. T. Gavan, and P. York. 2007. "Crystal Engineering of Active Pharmaceutical Ingredients to Improve Solubility and Dissolution Rates." *Advanced Drug Delivery Reviews* 59(7):617–30. doi: 10.1016/j.addr.2007.05.011.
- Bolla, Geetha, and Ashwini Nangia. 2016. "Pharmaceutical Cocrystals: Walking the Talk." *Chemical Communications* 52(54):8342–60. doi: 10.1039/C6CC02943D.
- Braga, Dario. 2003. "Crystal Engineering, Where from? Where To?" *Chemical Communications* 3(22):2751. doi: 10.1039/b306269b.

- Braga, Dario, Gautam R. Desiraju, Joel S. Miller, A. Guy Orpen, and Sarah (Sally) L. Price. 2002. "Innovation in Crystal Engineering." *CrystEngComm* 4(83):500–509. doi: 10.1039/B207466B.
- Braida, Frederico, and Mariane Garcia Unanue. 2021. "Networks of Digital Manufacturing of Face Shields and the Covid-19: Design, Maker Culture and Social Mobilization." *Strategic Design Research Journal* 14(1):252–63. doi: 10.4013/sdrj.2021.141.21.
- Braun, Doris E., Sreenivas R. Lingireddy, Mark D. Beidelschies, Rui Guo, Peter Müller, Sarah L. Price, and Susan M. Reutzel-Edens. 2017. "Unraveling Complexity in the Solid Form Screening of a Pharmaceutical Salt: Why so Many Forms? Why so Few?" *Crystal Growth & Design* 17(10):5349–65. doi: 10.1021/acs.cgd.7b00842.
- Briuglia, Maria L., Jan Sefcik, and Joop H. ter Horst. 2019. "Measuring Secondary Nucleation through Single Crystal Seeding." *Crystal Growth & Design* 19(1):421–29. doi: 10.1021/acs.cgd.8b01515.
- Brog, Jean-Pierre, Claire-Lise Chanez, Aurelien Crochet, and Katharina M. Fromm. 2013. "Polymorphism, What It Is and How to Identify It: A Systematic Review." *RSC Advances* 3(38):16905. doi: 10.1039/c3ra41559g.
- Buckingham, A. D., J. E. Del Bene, and S. A. C. McDowell. 2008. "The Hydrogen Bond." *Chemical Physics Letters* 463(1–3):1–10. doi: 10.1016/j.cplett.2008.06.060.
- Budavari, S., M. O'Neill, A. Smith, P. Heckelman, and J. Kinneary, eds. 1997. *The Merck Index: An Encyclopedia of Chemicals, Drugs and Biologicals*. 12th ed. New York.: Chapman & Hall.
- CCDC. 2019. "Big Data Leads the Way for Structural Chemistry." Retrieved (<https://www.ccdc.cam.ac.uk/News/List/the-cambridge-structural-database-reaches-one-million/>).
- Censi, Roberta, and Piera Di Martino. 2015. "Polymorph Impact on the Bioavailability and Stability of Poorly Soluble Drugs." *Molecules* 20(10):18759–76. doi: 10.3390/molecules201018759.
- Cheney, Miranda L., Ning Shan, Elisabeth R. Healey, Mazen Hanna, Lukasz Wojtas,

- Michael J. Zaworotko, Vasyl Sava, Shijie Song, and Juan R. Sanchez-Ramos. 2009. "Effects of Crystal Form on Solubility and Pharmacokinetics: A Crystal Engineering Case Study of Lamotrigine." *Crystal Growth & Design* 10(1):394–405. doi: 10.1021/cg901010v.
- Childs, Scott L., G. Patrick Stahly, and Aeri Park. 2007. "The Salt–Cocrystal Continuum: The Influence of Crystal Structure on Ionization State." *Molecular Pharmaceutics* 4(3):323–38. doi: 10.1021/mp0601345.
- Choquesillo-Lazarte, Duane, Vinko Nemec, and Dominik Cinčić. 2017. "Halogen Bonded Cocrystals of Active Pharmaceutical Ingredients: Pyrazinamide, Lidocaine and Pentoxifylline in Combination with Haloperfluorinated Compounds." *CrystEngComm* 19(35):5293–99. doi: 10.1039/C7CE01252G.
- Chow, Kwok, Henry H. Y. Tong, Susan Lum, and Albert H. L. Chow. 2008. "Engineering of Pharmaceutical Materials: An Industrial Perspective." *Journal of Pharmaceutical Sciences* 97(8):2855–77. doi: Doi 10.1002/Jps.21212.
- Clarke, Heather D., Kapildev K. Arora, Heather Bass, Padmini Kavuru, Tien Teng Ong, Twarita Pujari, Lukasz Wojtas, and Michael J. Zaworotko. 2010. "Structure-Stability Relationships in Cocrystal Hydrates: Does the Promiscuity of Water Make Crystalline Hydrates the Nemesis of Crystal Engineering?" *Crystal Growth and Design* 10(5):2152–67. doi: 10.1021/cg901345u.
- Cleary, John D., Pamela C. Evans, Ahmed H. Hikal, and Stanley W. Chapman. 1999. "Administration of Crushed Extended-Release Pentoxifylline Tablets: Bioavailability and Adverse Effects." *American Journal of Health-System Pharmacy* 56(15):1529–34. doi: 10.1093/ajhp/56.15.1529.
- CONITEC. 2019. *Sacubitril/Valsartana Para o Tratamento de Pacientes Adultos Com Insuficiência Cardíaca Crônica Sintomática (NYHA Classe II-IV) Com Fração de Ejeção Reduzida*. Brasília.
- Coppens, Philip, Baoqing Ma, Oxana Gerlits, Yuegang Zhang, and Pankaj Kulshrestha. 2002. "Crystal Engineering, Solid State Spectroscopy and Time-Resolved Diffraction." *CrystEngComm* 4(54):302–9. doi: 10.1039/B203602A.

- Cruz-Cabeza, Aurora J. 2012. "Acid–Base Crystalline Complexes and the PKa Rule." *CrystEngComm* 14(20):6362. doi: 10.1039/c2ce26055g.
- Cruz, Patrícia C., Fernando A. Rocha, and António M. Ferreira. 2019. "Application of Selective Crystallization Methods To Isolate the Metastable Polymorphs of Paracetamol: A Review." *Organic Process Research & Development* 23(12):2592–2607. doi: 10.1021/acs.oprd.9b00322.
- Cunha, Silvio. 2008. "Métodos Simples de Formação de Monocristal de Substância Orgânica Para Estudo Estrutural Por Difração de Raios X." *Química Nova* 31(4):906–9. doi: 10.1590/S0100-40422008000400031.
- Das, Ruchita S., and Y. K. Agrawal. 2011. "Raman Spectroscopy: Recent Advancements, Techniques and Applications." *Vibrational Spectroscopy* 57(2):163–76. doi: 10.1016/j.vibspec.2011.08.003.
- Desiraju, Gautam R. 1997. "Designer Crystals: Intermolecular Interactions, Network Structures and Supramolecular Synthons." *Chemical Communications* (16):1475–82. doi: 10.1039/a607149j.
- Desiraju, Gautam R. 2005. "The Supramolecular Synthon in Crystal Engineering." Pp. 293–306 in *Stimulating Concepts in Chemistry*. Weinheim, FRG: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA.
- Desiraju, Gautam R. 2010. "Crystal Engineering: A Brief Overview." *Journal of Chemical Sciences* 122(5):667–75. doi: 10.1007/s12039-010-0055-2.
- Desiraju, Gautam R. 2013. "Crystal Engineering: From Molecule to Crystal." *Journal of the American Chemical Society* 135(27):9952–67. doi: 10.1021/ja403264c.
- Divya, S., G. N. K. Ganesh, Ana Dutton, Fabio Cerutti, and Franz Bigler. 2019. "Characterization of Powder Flowability Using FT4–Powder Rheometer." *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research* 11(1):25–29.
- Douroumis, Dennis, Steven A. Ross, and Ali Nokhodchi. 2017. "Advanced Methodologies for Cocrystal Synthesis." *Advanced Drug Delivery Reviews* 117:178–95. doi: 10.1016/j.addr.2017.07.008.



- Drugs Development & Approval Process. 2019. “Advancing Health through Innovation New Drug Therapy Approvals 2018.” *U.S. Food and Drug Administration (FDA)* (January):1–44.
- Ehiwe, Tracy O., Bruce D. Alexander, John C. Mitchell, Martin J. Snowden, and Laura J. Waters. 2016. “Monitoring Real Time Polymorphic Transformation of Sulfanilamide by Diffuse Reflectance Visible Spectroscopy.” *Journal of Pharmaceutical Analysis* 6(3):179–83. doi: 10.1016/j.jpha.2015.12.002.
- Elbagerma, M. a., H. G. M. Edwards, T. Munshi, M. D. Hargreaves, Pavel Matousek, and I. J. Scowen. 2010. “Characterization of New Cocrystals by Raman Spectroscopy, Powder X-Ray Diffraction, Differential Scanning Calorimetry, and Transmission Raman Spectroscopy.” *Crystal Growth & Design* 10(5):2360–71. doi: 10.1021/cg100156a.
- Encyclopedia Britannica. 2017. “Crystal Lattice.” *Encyclopedia Britannica*.
- Fathollahi, Sara, Eva Faulhammer, Benjamin J. Glasser, and Johannes G. Khinast. 2020. “Impact of Powder Composition on Processing-Relevant Properties of Pharmaceutical Materials: An Experimental Study.” *Advanced Powder Technology* 31(7):2991–3003. doi: 10.1016/j.appt.2020.05.027.
- Fonseca, Jéssica de Castro, Juan Carlos Tenorio Clavijo, Natalia Alvarez, Javier Ellena, and Alejandro Pedro Ayala. 2018. “Novel Solid Solution of the Antiretroviral Drugs Lamivudine and Emtricitabine.” *Crystal Growth & Design* 18(6):3441–48. doi: 10.1021/acs.cgd.8b00164.
- Fonseca, Jéssica, and Nadia Nogueira. 2018. “Metodologias de Obtenção e Caracterização de Cocristsais de Ingredientes Farmacêuticos Ativos: Uma Revisão Sistemática.” *Revista Brasileira de Farmácia* 99(3):2877–91.
- Garrigues, Salvador, and Miguel de la Guardia. 2015. “Vibrational Spectroscopy.” Pp. 301–12 in *Handbook of Mineral Elements in Food*. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd.
- Giacovazzo, Carmelo, Hugo Luis Monaco, Gilberto Artioli, Davide Viterbo, Marco Milanesio, Gastone Gilli, Paola Gilli, Giuseppe Zanotti, Giovanni Ferraris, and

- Michele Catti. 2011. *Fundamentals of Crystallography*. 3rd ed. New York: Oxford University Press.
- Goh, Hui Ping, Paul Wan Sia Heng, and Celine Valeria Liew. 2018. "Comparative Evaluation of Powder Flow Parameters with Reference to Particle Size and Shape." *International Journal of Pharmaceutics* 547(1–2):133–41. doi: 10.1016/j.ijpharm.2018.05.059.
- Golunski, Grzegorz, Anna Woziwodzka, and Jacek Piosik. 2018. "Potential Use of Pentoxifylline in Cancer Therapy." *Current Pharmaceutical Biotechnology* 19(3):206–16. doi: 10.2174/1389201019666180528084641.
- Good, David J., and Rodríguez Hornedo Nair. 2009. "Solubility Advantage of Pharmaceutical Cocrystals." *Crystal Growth and Design* 9(5):2252–64. doi: 10.1021/cg801039j.
- Gosar, Dr Amit, Dr Sayyed Hussain, and Dr Tabrez Shaikh. 2019. "POLYMORPHISM AND POLYMORPH CHARACTERISATION IN PHARMACEUTICALS." *Journal of Biomedical and Pharmaceutical Research* 8(5). doi: 10.32553/jbpr.v8i5.652.
- Grubb, D. T. 2012. "Optical Microscopy." Pp. 465–78 in *Polymer Science: A Comprehensive Reference*. Vol. 2. Elsevier.
- Healy, Anne Marie, Zelalem Ayenew Worku, Dinesh Kumar, and Atif M. Madi. 2017. "Pharmaceutical Solvates, Hydrates and Amorphous Forms: A Special Emphasis on Cocrystals." *Advanced Drug Delivery Reviews* 117:25–46. doi: 10.1016/j.addr.2017.03.002.
- Heinz, Andrea, Clare J. Strachan, Keith C. Gordon, and Thomas Rades. 2009. "Analysis of Solid-State Transformations of Pharmaceutical Compounds Using Vibrational Spectroscopy." *The Journal of Pharmacy and Pharmacology* 61(8):971–88. doi: 10.1211/jpp/61.08.0001.
- Hiendrawan, Stevanus, Bambang Veriansyah, Edward Widjojokusumo, Sundani Nuroso Soewandhi, Saleh Wikarsa, and Raymond R. Tjandrawinata. 2016. "Physicochemical and Mechanical Properties of Paracetamol Cocrystal with 5-

- Nitroisophthalic Acid.” *International Journal of Pharmaceutics* 497(1–2):106–13. doi: 10.1016/j.ijpharm.2015.12.001.
- Indrayanto, Gunawan, Achmad Syahrani, Moegihardjo, Soeharyono, Tjiang Lianawati, Iis Wahyuningsih, Lisa Aditama, and Harry G. Brittain. 1998. “Pentoxifylline.” Pp. 295–339 in *Analytical Profiles of Drug Substances and Excipients*. Vol. 25. Elsevier Inc.
- Iwashita, Norio. 2016. “X-Ray Powder Diffraction.” Pp. 7–25 in *Materials Science and Engineering of Carbon*. Elsevier.
- Kalepu, Sandeep, and Vijaykumar Nekkanti. 2015. “Insoluble Drug Delivery Strategies: Review of Recent Advances and Business Prospects.” *Acta Pharmaceutica Sinica B* 5(5):442–53. doi: 10.1016/j.apsb.2015.07.003.
- Karagianni, Anna, Maria Malamataris, and Kyriakos Kachrimanis. 2018. “Pharmaceutical Cocrystals: New Solid Phase Modification Approaches for the Formulation of APIs.” *Pharmaceutics* 10(1):1–30. doi: 10.3390/pharmaceutics10010018.
- Karimi-Jafari, Maryam, Luis Padrela, Gavin M. Walker, and Denise M. Croker. 2018. “Creating Cocrystals: A Review of Pharmaceutical Cocrystal Preparation Routes and Applications.” *Crystal Growth & Design* 18(10):6370–87. doi: 10.1021/acs.cgd.8b00933.
- Kavanagh, Oisín N., Denise M. Croker, Gavin M. Walker, and Michael J. Zaworotko. 2019. “Pharmaceutical Cocrystals: From Serendipity to Design to Application.” *Drug Discovery Today* 24(3):796–804. doi: 10.1016/j.drudis.2018.11.023.
- Kim, Sunghwan, Jie Chen, Tiejun Cheng, Asta Gindulyte, Jia He, Siqian He, Qingliang Li, Benjamin A. Shoemaker, Paul A. Thiessen, Bo Yu, Leonid Zaslavsky, Jian Zhang, and Evan E. Bolton. 2019. “PubChem 2019 Update: Improved Access to Chemical Data.” *Nucleic Acids Research* 47(D1):D1102–9. doi: 10.1093/nar/gky1033.
- Krummeck, Katie, and Rob Rouse. 2017. “Can You DIG It? Designing to Support a Robust Maker Culture in a University Makerspace.” *International Journal of Designs for Learning* 8(1). doi: 10.14434/ijdl.v8i1.22702.

- Kumar, S., and A. Nanda. 2017. "Pharmaceutical Cocrystals : An Overview." *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences* 79(6):858–71. doi: 10.4172/pharmaceutical-sciences.1000302.
- Kuminek, Gislaine, Katie L. Cavanagh, M. Fátima M. Da Piedade, and Naír Rodríguez-Hornedo. 2019. "Posaconazole Cocrystal with Superior Solubility and Dissolution Behavior." *Crystal Growth and Design* 19(11):6592–6602. doi: 10.1021/acs.cgd.9b01026.
- Larkin, Peter J. 2017. *Infrared and Raman Spectroscopy: Principles and Spectral Interpretation*. edited by Elsevier.
- Lee, Chen-An, Muoi Tang, and Yan-Ping Chen. 2014. "Measurement and Correlation for the Solubilities of Cinnarizine, Pentoxifylline, and Piracetam in Supercritical Carbon Dioxide." *Fluid Phase Equilibria* 367:182–87. doi: 10.1016/j.fluid.2014.01.041.
- Liu, Wenwen, Ru Ma, Feifei Liang, Chenxin Duan, Guisen Zhang, Yin Chen, and Chao Hao. 2021. "New Cocrystals of Antipsychotic Drug Aripiprazole: Decreasing the Dissolution through Cocrystallization." *Molecules* 26(9):2414. doi: 10.3390/molecules26092414.
- Lodge, James P. 2017. "X-Ray Powder Diffraction." Pp. 214–18 in *Methods of Air Sampling and Analysis*. Routledge.
- López-Cedrún, José, Sebastián Videla, Miguel Burgueño, Inma Juárez, Samir Aboul-Hosn, Rafael Martín-Granizo, Joan Grau, Miguel Puche, José-Luis Gil-Diez, José-Antonio Hueto, Anna Vaqué, Mariano Sust, Carlos Plata-Salamán, and Antoni Monner. 2018. "Co-Crystal of Tramadol–Celecoxib in Patients with Moderate to Severe Acute Post-Surgical Oral Pain: A Dose-Finding, Randomised, Double-Blind, Placebo- and Active-Controlled, Multicentre, Phase II Trial." *Drugs in R&D* 18(2):137–48. doi: 10.1007/s40268-018-0235-y.
- Ma, Hongbao, Steven Lee, Yan Yang, Puneet Bedi, and Shyan-Yih Chou. 2018. "Pentoxifylline Protects against Loss of Function and Renal Interstitial Fibrosis in Chronic Experimental Partial Ureteral Obstruction." *Pathophysiology* 25(4):419–25. doi: 10.1016/j.pathophys.2018.08.004.

- Mashhadi, Syed Muddassir Ali, Andrei S. Batsanov, Syed Arslan Sajjad, Yasir Nazir, Moazzam Hussain Bhatti, and Uzma Yunus. 2021. "Isoniazid-Gentisic Acid Cocrystallization: Solubility, Stability, Dissolution Rate, Antioxidant and Flowability Properties Studies." *Journal of Molecular Structure* 1226:129388. doi: 10.1016/j.molstruc.2020.129388.
- McKinnon, Joshua J., Mark a Spackman, and Anthony S. Mitchell. 2004. *Novel Tools for Visualizing and Exploring Intermolecular Interactions in Molecular Crystals*. Vol. 60.
- Mistry, Rinal, Chirag Dalal, and Tejal Soni. 2017. "Determination of Angle of Repose of Pharmaceutical Materials Based On Image Processing Using Labview." *Ijareeie* 6(3):1125–31. doi: 10.15662/IJAREEIE.2017.0603020.
- Moulton, Brian, and Michael J. Zaworotko. 2001. "From Molecules to Crystal Engineering: Supramolecular Isomerism and Polymorphism in Network Solids." *Chemical Reviews* 101(6):1629–58. doi: 10.1021/cr9900432.
- de Oliveira, Yara Santiago, Alcemira Conceição Oliveira, and A. P. Ayala. 2018. "Mechanochemically Induced Solid State Transformations: The Case of Raloxifene Hydrochloride." *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 114(May 2017):146–54. doi: 10.1016/j.ejps.2017.11.028.
- Pan, Xiaohong, Yilin Zheng, Rong Chen, Saifei Qiu, Zhi Chen, Wenhua Rao, Saili Chen, Yuxin You, Jian Lü, Lei Xu, and Xiong Guan. 2019. "Cocrystal of Sulfamethazine and p -Aminobenzoic Acid: Structural Establishment and Enhanced Antibacterial Properties." *Crystal Growth & Design* 19(4):2455–60. doi: 10.1021/acs.cgd.9b00137.
- Park, Boosung, Woojin Yoon, Jungmin Yun, Eunmi Ban, Hoseop Yun, and Aeri Kim. 2019. "Emodin-Nicotinamide (1:2) Cocrystal Identified by Thermal Screening to Improve Emodin Solubility." *International Journal of Pharmaceutics* 557:26–35. doi: 10.1016/j.ijpharm.2018.12.027.
- Pavelčík, F., J. Sivý, E. Havránek, P. Sivý, E. Komanová, and J. Nevýdal. 1989. "Structure of Pentoxifylline, C<sub>13</sub> H<sub>18</sub> N<sub>4</sub> O<sub>3</sub>." *Acta Crystallographica Section C*

*Crystal Structure Communications* 45(5):836–37. doi: 10.1107/S0108270188013824.

- Pindelska, Edyta, Agnieszka Sokal, and Waclaw Kolodziejski. 2017. “Pharmaceutical Cocrystals, Salts and Polymorphs: Advanced Characterization Techniques.” *Advanced Drug Delivery Reviews*. doi: 10.1016/j.addr.2017.09.014.
- de Pinho Pessoa Nogueira, Luciana, Yara S. de Oliveira, Jéssica de C. Fonseca, Wendell S. Costa, Fernanda N. Raffin, Javier Ellena, and A. P. Ayala. 2018. “Crystalline Structure of the Marketed Form of Rifampicin: A Case of Conformational and Charge Transfer Polymorphism.” *Journal of Molecular Structure* 1155:260–66. doi: 10.1016/j.molstruc.2017.10.083.
- Prescott, J. K., and R. A. Barnum. 2000. “On Powder Flowability.” *Pharmaceutical Technology* 24(10):60–84.
- Pudasaini, Nawin, Pratik P. Upadhyay, Christian R. Parker, Stefan U. Hagen, Andrew D. Bond, and Jukka Rantanen. 2017. “Downstream Processability of Crystal Habit-Modified Active Pharmaceutical Ingredient.” *Organic Process Research & Development* 21(4):571–77. doi: 10.1021/acs.oprd.6b00434.
- Ramirez, Elena, Olga Laosa, Pedro Guerra, Blanca Duque, Beatriz Mosquera, Alberto M. Borobia, Suhua H. Lei, Antonio J. Carcas, and Jesus Frias. 2010. “Acceptability and Characteristics of 124 Human Bioequivalence Studies with Active Substances Classified According to the Biopharmaceutic Classification System.” *British Journal of Clinical Pharmacology* 70(5):694–702. doi: 10.1111/j.1365-2125.2010.03757.x.
- Roberts, Ashley, and Lois A. Haighton. 2016. “A Hard Look at FDA’s Review of GRAS Notices.” *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 79:S124–28. doi: 10.1016/j.yrtph.2016.06.011.
- Rodrigues, Marisa, Bárbara Baptista, João Almeida Lopes, and Mafalda Cruz Sarraguça. 2018. “Pharmaceutical Cocrystallization Techniques. Advances and Challenges.” *International Journal of Pharmaceutics* 547(1–2):404–20. doi: 10.1016/j.ijpharm.2018.06.024.

- Samie, Ali, G. R. Desiraju, and Manas Banik. 2017. "Salts and Cocrystals of the Antidiabetic Drugs Gliclazide, Tolbutamide, and Glipizide: Solubility Enhancements through Drug–Coformer Interactions." *Crystal Growth & Design* 17(5):acs.cgd.6b01804. doi: 10.1021/acs.cgd.6b01804.
- Santiago de Oliveira, Yara, Wendell Saraiva Costa, Poliana Ferreira Borges, Maria Silmara Alves de Santana, and Alejandro Pedro Ayala. 2019. "The Design of Novel Metronidazole Benzoate Structures: Exploring Stoichiometric Diversity." *Acta Crystallographica Section C Structural Chemistry* 75(5):483–95. doi: 10.1107/S2053229619003838.
- Sarmah, Kashyap Kumar, Ayushree Sarma, Karabi Roy, Dharmaraj R. Rao, and Ranjit Thakuria. 2016. "Olanzapine Salts and Diversity in Molecular Packing." *Crystal Growth and Design* 16(2):1047–55. doi: 10.1021/acs.cgd.5b01605.
- Schultheiss\*, Nate, Melanie Roe, Stephan X. M. Boerrigter, and Nate Schultheiss. 2011. "Cocrystals of Nutraceutical P-Coumaric Acid with Caffeine and Theophylline: Polymorphism and Solid-State Stability Explored in Detail Using Their Crystal Graphs." *CrystEngComm* 13(2):611. doi: 10.1039/c0ce00214c.
- Serjeant, E. P., and B. Dempsey. 1979. "Ionisation Constants of Organic Acids in Aqueous Solution." *International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC)* 23:26.
- Seth, Saikat Kumar, Debayan Sarkar, Amalesh Roy, and Tanusree Kar. 2011. "Insight into Supramolecular Self-Assembly Directed by Weak Interactions in Acetophenone Derivatives: Crystal Structures and Hirshfeld Surface Analyses." *CrystEngComm* 13(22):6728. doi: 10.1039/c1ce05670k.
- Shah, Priyank, Hiten Patel, Priyam Mithawala, and Rajkumar Doshi. 2018. "Torsemide versus Furosemide in Heart Failure Patients: A Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials." *European Journal of Internal Medicine* 57:e38–40. doi: 10.1016/j.ejim.2018.08.015.
- Shah, Rakhi B., Mobin A. Tawakkul, and Mansoor A. Khan. 2008. "Comparative Evaluation of Flow for Pharmaceutical Powders and Granules." *AAPS*

*PharmSciTech* 9(1):250–58. doi: 10.1208/s12249-008-9046-8.

- Shaikh, Rahamatullah, Ravendra Singh, Gavin M. Walker, and Denise M. Croker. 2018. “Pharmaceutical Cocrystal Drug Products: An Outlook on Product Development.” *Trends in Pharmacological Sciences* 39(12):1033–48. doi: 10.1016/j.tips.2018.10.006.
- Shan, Ning, Miranda L. Perry, David R. Weyna, and Michael J. Zaworotko. 2014. “Impact of Pharmaceutical Cocrystals: The Effects on Drug Pharmacokinetics.” *Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology* 10(9):1255–71. doi: 10.1517/17425255.2014.942281.
- Shan, Ning, and Michael J. Zaworotko. 2010. “Polymorphic Crystal Forms and Cocrystals in Drug Delivery (Crystal Engineering).” *Burger’s Medicinal Chemistry, Drug Discovery and Development* 187–218. doi: 10.1002/0471266949.bmc156.
- Shattock, Tanise R., Kapildev K. Arora, Peddy Vishweshwar, and Michael J. Zaworotko. 2008. “Hierarchy of Supramolecular Synthons: Persistent Carboxylic Acid···Pyridine Hydrogen Bonds in Cocrystals That Also Contain a Hydroxyl Moiety.” *Crystal Growth & Design* 8(12):4533–45. doi: 10.1021/cg800565a.
- Sheikh, Ahmad Y., Syarifah Abd Rahim, Robert B. Hammond, and Kevin J. Roberts. 2009. “Scalable Solution Cocrystallization: Case of Carbamazepine-Nicotinamide I.” *CrystEngComm* 11(3):501–9. doi: 10.1039/B813058B.
- Sheldrick, George M. 2015. “Crystal Structure Refinement with SHELXL.” *Acta Crystallographica Section C Structural Chemistry* 71(1):3–8. doi: 10.1107/S2053229614024218.
- Sheldrick, George M. 2015. “SHELXT - Integrated Space-Group and Crystal-Structure Determination.” *Acta Crystallographica Section A: Foundations of Crystallography* 71(1):3–8. doi: 10.1107/S2053273314026370.
- Silva, A. C. M., D. A. Gálico, R. B. Guerra, G. L. Perpétuo, A. O. Legendre, D. Rinaldo, and G. Bannach. 2015. “Thermal Stability and Thermal Decomposition of the Antihypertensive Drug Amlodipine Besylate.” *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry* 120(1):889–92. doi: 10.1007/s10973-014-3992-z.



- da Silva, Cecilia C. P., Cristiane C. de Melo, Matheus S. Souza, Luan F. Diniz, Renato L. Carneiro, and Javier Ellena. 2019. "5-Fluorocytosine/5-Fluorouracil Drug-Drug Cocrystal: A New Development Route Based on Mechanochemical Synthesis." *Journal of Pharmaceutical Innovation* 14(1):50–56. doi: 10.1007/s12247-018-9333-1.
- Šimek, Michal, Veronika Grünwaldová, and Bohumil Kratochvíl. 2017. "Comparison of Compression and Material Properties of Differently Shaped and Sized Paracetamols." *KONA Powder and Particle Journal* 34(34):197–206. doi: 10.14356/kona.2017003.
- Sinha, A. S., and C. B. Aakeröy. 2017. "Design of Molecular Crystals: Supramolecular Synthons." Pp. 3–24 in *Comprehensive Supramolecular Chemistry II*. Vol. 7. Elsevier.
- Soong, Ronald, Amy Jenne, Rajshree Ghosh Biswas, Antonio Adamo, and Andre Simpson. 2020. "Exploring the Maker Culture in Chemistry: Making an Affordable Thermal Imaging System for Reaction Visualization." *Journal of Chemical Education* 97(10):3887–91. doi: 10.1021/acs.jchemed.0c00516.
- Souza, Matheus S., Luan F. Diniz, Lautaro Vogt, Paulo S. Carvalho Jr., Richard F. D'vries, and Javier Ellena. 2018. "Mechanochemical Synthesis of a Multicomponent Solid Form: The Case of 5-Fluorocytosine Isoniazid Codrug." *Crystal Growth & Design* 18(9):5202–9. doi: 10.1021/acs.cgd.8b00647.
- Spackman, Mark A., and Dylan Jayatilaka. 2009. "Hirshfeld Surface Analysis." *CrystEngComm* 11(1):19–32. doi: 10.1039/B818330A.
- Speer, Esther M., Elizabeth Diago-Navarro, Lukasz S. Ozog, David J. Dowling, Wei Hou, Mahnoor Raheel, Bettina C. Fries, and Ofer Levy. 2018. "Pentoxifylline Alone or in Combination with Gentamicin or Vancomycin Inhibits Live Microbe-Induced Proinflammatory Cytokine Production in Human Cord Blood and Cord Blood Monocytes In Vitro." *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 62(12). doi: 10.1128/AAC.01462-18.
- Steed, Jonathan W. 2013. "The Role of Co-Crystals in Pharmaceutical Design." *Trends*

in *Pharmacological Sciences* 34(3):185–93. doi: 10.1016/j.tips.2012.12.003.

Stepanovs, Dmitrijs, Māra Jure, Liudmila N. Kuleshova, Detlef W. M. M. Hofmann, and Anatoly Mishnev. 2015. “Cocrystals of Pentoxifylline: In Silico and Experimental Screening.” *Crystal Growth & Design* 15(8):3652–60. doi: 10.1021/acs.cgd.5b00185.

Stepanovs, Dmitrijs, and Anatoly Mishnev. 2011. “Monoclinic Polymorph of 3,7-Dimethyl-1-(5-Oxoheptyl)-3,7-Dihydro-1 H -Purine-2,6-Dione.” *Acta Crystallographica Section E Structure Reports Online* 67(11):o2851–o2851. doi: 10.1107/S1600536811040232.

Thakral, Naveen K., Roger L. Zanon, Ron C. Kelly, and Seema Thakral. 2018. “Applications of Powder X-Ray Diffraction in Small Molecule Pharmaceuticals: Achievements and Aspirations.” *Journal of Pharmaceutical Sciences* 107(12):2969–82. doi: 10.1016/j.xphs.2018.08.010.

Thakuria, Ranjit, Naba K. Nath, Saikat Roy, and Ashwini Nangia. 2014. “Polymorphism and Isostructurality in Sulfonylhydrazones.” *CrystEngComm* 16(22):4681–90. doi: 10.1039/C3CE42301H.

Thipparaboina, Rajesh, Dinesh Kumar, Rahul B. Chavan, and Nalini R. Shastri. 2016. “Multidrug Co-Crystals: Towards the Development of Effective Therapeutic Hybrids.” *Drug Discovery Today* 21(3):481–90. doi: 10.1016/j.drudis.2016.02.001.

Tilley, R. 2014. *Crystal and Crystal Structures*. John Wiley & Sons LTD.

Trask, Andrew V. 2007. “An Overview of Pharmaceutical Cocrystals as Intellectual Property.” *Molecular Pharmaceutics* 4(3):301–9. doi: 10.1021/mp070001z.

Trask, Andrew V., W. D. Samuel Motherwell, William Jones, and V. Andrew. 2005. “Pharmaceutical Cocrystallization: Engineering a Remedy for Caffeine Hydration.” *Crystal Growth & Design* 5(3):1013–21. doi: 10.1021/cg0496540.

Trask, Andrew V., W. D. Sam Motherwell, and William Jones. 2006. “Physical Stability Enhancement of Theophylline via Cocrystallization.” *International Journal of Pharmaceutics* 320(1–2):114–23. doi: 10.1016/j.ijpharm.2006.04.018.

- Trask, Andrew V, W. D. Samuel Motherwell, and William Jones. 2004. "Solvent-Drop Grinding: Green Polymorph Control of Cocrystallisation." *Chemical Communications (Cambridge, England)* (7):890–91. doi: 10.1039/b400978a.
- Trask, Andrew V, Jacco Van De Streek, W. D. Samuel Motherwell, and William Jones. 2005. "Achieving Polymorphic and Stoichiometric Diversity in Cocrystal Formation: Importance of Solid-State Grinding, Powder X-Ray Structure Determination, and Seeding 2005." *Crystal Growth Design* 5(6):2233–41. doi: 10.1021/cg0501682.
- Tzankov, Stanislav, and Borislav Tzankov. 2019. "Process Optimization of Preparation of Pentoxifylline – Extended Release Tablets." *Pharmacia* 66(2):45–48. doi: 10.3897/pharmacia.66.e35132.
- United States Pharmacopeial Convention. 2014. *United States Pharmacopeia and National Formulary (USP-NF)*. United States Pharmacopeial Convention.
- Varshosaz, Jaleh, Mohsen Minayian, and Elaheh Moazen. 2010. "Enhancement of Oral Bioavailability of Pentoxifylline by Solid Lipid Nanoparticles." *Journal of Liposome Research* 20(2):115–23. doi: 10.3109/08982100903161456.
- Verma, A., and O. Srivastava. 1991. *Crystallography Applied to Solid State Physics*. 2nd ed. New Age International Publisher.
- Videla, Sebastián, Mounia Lahjou, Anna Vaqué, Mariano Sust, Mercedes Encabo, Lluís Soler, Artur Sans, Eric Sicard, Neus Gascón, Gregorio Encina, and Carlos Plata-Salamán. 2017. "Single-dose Pharmacokinetics of Co-crystal of Tramadol–Celecoxib: Results of a Four-way Randomized Open-label Phase I Clinical Trial in Healthy Subjects." *British Journal of Clinical Pharmacology* 83(12):2718–28. doi: 10.1111/bcp.13395.
- Vioglio, Paolo Cerreia, Michele R. Chierotti, and Roberto Gobetto. 2017. "Pharmaceutical Aspects of Salt and Cocrystal Forms of APIs and Characterization Challenges." *Advanced Drug Delivery Reviews*. doi: 10.1016/j.addr.2017.07.001.
- Vishweshwar, Peddy, Jennifer A. McMahon, Joanna A. Bis, and Michael J. Zaworotko. 2006. "Pharmaceutical Co-Crystals." *Journal of Pharmaceutical Sciences*


95(3):499–516. doi: 10.1002/jps.20578.

- Vishweshwar, Peddy, Jennifer A. McMahon, and Michael J. Zaworotko. 2006. “Crystal Engineering of Pharmaceutical Co-Crystals.” Pp. 25–49 in *Frontiers in Crystal Engineering*. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd.
- Wagner, Matthias. 2017. “Introduction to Thermal Analysis.” Pp. 10–15 in *Thermal Analysis in Practice*. Carl Hanser Verlag GmbH & Co. KG.
- Waseda, Yoshio, Matsubara Eiichiro, and Shinoda Kozo. 2011. *X-Ray Diffraction Crystallography: Introduction, Examples and Solved Problems*. 1st ed. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Weyna, David R., Tanise Shattock, Peddy Vishweshwar, and Michael J. Zaworotko. 2009. “Synthesis and Structural Characterization of Cocrystals and Pharmaceutical Cocrystals: Mechanochemistry vs Slow Evaporation from Solution.” *Crystal Growth & Design* 9(2):1106–23. doi: 10.1021/cg800936d.
- Will, Georg. 2006. *Powder Diffraction: The Rietveld Method and the Two-Stage Method*. Springer Science & Business Media.
- Yadav, Akshay R., and Shrinivas K. Mohite. 2020. “Different Techniques and Characterization of Polymorphism with Their Evaluation: A Review.” *Asian Journal of Pharmacy and Technology* 10(3):213. doi: 10.5958/2231-5713.2020.00035.5.
- Yousef, Malaz A. E., and Venu R. Vangala. 2019. “Pharmaceutical Cocrystals: Molecules, Crystals, Formulations, Medicines.” *Crystal Growth and Design* 19(12):7420–38. doi: 10.1021/acs.cgd.8b01898.
- Yu, Xue-Zhao, Ling-Yang Wang, Fang Liu, Yan-Tuan Li, Zhi-Yong Wu, and Cui-Wei Yan. 2020. “Sustained-Release Dual-Drug Ternary Salt Cocrystal of Piperazine Ferulate with Pyrazinamide: Synthesis, Structure, and Hirshfeld Surface Analysis.” *Crystal Growth & Design* 20(3):2064–73. doi: 10.1021/acs.cgd.9b01710.
- Yuliandra, Yori, Erizal Zaini, Syofyan Syofyan, Wenny Pratiwi, Lidiya Putri, Yuti Pratiwi, and Helmi Arifin. 2018. “Cocrystal of Ibuprofen–Nicotinamide: Solid-State Characterization and In Vivo Analgesic Activity Evaluation.” *Scientia Pharmaceutica* 86(2):23. doi: 10.3390/scipharm86020023.

Zeng, Qing-Zhu, Jian Ouyang, Shuo Zhang, and Lei Zhang. 2017. "Structural Characterization and Dissolution Profile of Mycophenolic Acid Cocrystals." *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 102:140–46. doi: 10.1016/j.ejps.2017.02.035.

## APENDICE A

### Laudo do Fornecedor de PTX –VIA FARMA



**CERTIFICADO DE ANÁLISE**

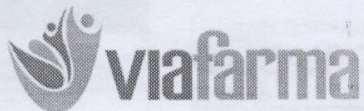
|                                    |                      |                                |                |
|------------------------------------|----------------------|--------------------------------|----------------|
| <b>Insumo:</b>                     | Pentoxifilina        | <b>Data de Análise:</b>        | 22-12-2017     |
| <b>Lote Interno:</b>               | 17L15-B017-027369    | <b>Lote Fabricante:</b>        | SLL/PT/0317008 |
| <b>Data de Fabricação:</b>         | 01-03-2017           | <b>Data de Validade:</b>       | 01-02-2021     |
| <b>Origem:</b>                     | Índia                | <b>Procedência:</b>            | Índia          |
| <b>Condições de Armazenamento:</b> | Temperatura Ambiente | <b>Ordem de Fracionamento:</b> | 027369         |

|                           |            |                        |                |
|---------------------------|------------|------------------------|----------------|
| <b>DCB:</b>               | 06955      | <b>DCI:</b>            | PENTOXIFYLLINE |
| <b>CAS:</b>               | 6493-05-6  | <b>Peso Molecular:</b> | 278,3102       |
| <b>Fórmula Molecular:</b> | C13H18N4O3 |                        |                |

| Testes                   | Especificações  | Resultados    | Unidade | Referências |
|--------------------------|---|---------------|---------|-------------|
| Descrição *              | Pó cristalino branco a quase branco   | Conforme      |         | USP - 40    |
| Identificação *          | IV - O espectro da amostra está de acordo com o do padrão.  | Conforme      |         | USP - 40    |
| Identificação *          | HPLC - O tempo de retenção da amostra corresponde ao tempo de retenção do padrão.   | Conforme      |         | USP - 40    |
| Solubilidade *           | Facilmente solúvel em clorofórmio e metanol; solúvel em água; ligeiramente solúvel em álcool;   | Conforme      |         | USP - 40    |
| Solubilidade *           | Pouco solúvel em éter.  | Conforme      |         | USP - 40    |
| Perda por Dessecação *   | <= 0,5 (3 horas/ 60 °C a vácuo)   | 0,31          | %       | USP - 40    |
| Acidez *                 | Não mais que 0,2 ml de NaOH 0,01N é requerido para produzir uma mudança de cor.   | 0,1           | mL      | USP - 40    |
| Resíduo por Ignição *    | <= 0,1  | 0,07          | %       | USP - 40    |
| Cloreto *                | <= 0,011  | < 0,011       | %       | USP - 40    |
| Sulfato *                | <= 0,02   | < 0,02        | %       | USP - 40    |
| Metais Pesados *         | <= 10   | < 10          | ppm     | USP - 40    |
| Integridade da Solução * | A solução não é menos clara do que um volume igual do mesmo solvente contido num recipiente semelhante e analisado de forma semelhante. | Conforme      |         | USP - 40    |
| Impureza Orgânica *      | Impureza individual <= 0,2  | 0,105         | %       | USP - 40    |
| Impureza Orgânica *      | Impureza total <= 0,5   | 0,139         | %       | USP - 40    |
| Teor *                   | 98,0 a 102,0  | 99,43         | %       | USP - 40    |
| Solvente Residual *      | Metanol <= 3000   | Não detectado | ppm     | USP - 40    |
| Solvente Residual *      | Dimetilformamida <= 880   | 9,41          | ppm     | USP - 40    |
| Testes Adicionais        |   |               |         |             |
| Densidade Aparente *     | Informativo (sem compactação)   | 0,23          | g/mL    | MGFB - V    |



2

### CERTIFICADO DE ANÁLISE


|                             |                      |                         |                |
|-----------------------------|----------------------|-------------------------|----------------|
| Insumo:                     | Pentoxifilina        | Data de Análise:        | 22-12-2017     |
| Lote Interno:               | 17L15-B017-027369    | Lote Fabricante:        | SLL/PT/0317008 |
| Data de Fabricação:         | 01-03-2017           | Data de Validade:       | 01-02-2021     |
| Origem:                     | India                | Procedência:            | India          |
| Condições de Armazenamento: | Temperatura Ambiente | Ordem de Fraclonamento: | 027369         |


|                    |            |                 |                |
|--------------------|------------|-----------------|----------------|
| DCB:               | 06955      | DCI:            | PENTOXIFYLLINE |
| CAS:               | 6493-05-6  | Peso Molecular: | 278,3102       |
| Fórmula Molecular: | C13H18N4O3 |                 |                |

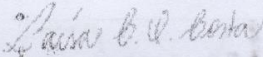
\* Resultados obtidos em análises realizadas no Laboratório de Controle de Qualidade SM EMPREENDIMENTOS FARMACÊUTICOS LTDA. E os demais foram transcritos conforme certificado de análise do fabricante.

#### Conclusão:

Aprovado  (X)  
Reprovado  ( )

  
Responsável Técnico Substituto  
Olivia Naiva Mesquita Mendes  
CRF - GO Nº 5227

  
Responsável Técnico  
João Paulo Sartin Mendes  
CRF - GO Nº 7355

  
Farmacêutica Responsável  
Laisa Caroline de Oliveira Costa - CRF - SP Nº 74.121  
Dúvidas e informações complementares, favor ligar :  
(11) 4785 - 5643

Fim do Documento