



(21) BR 102023008222-0 A2

República Federativa do Brasil
Ministério do Desenvolvimento, Indústria,
Comércio e Serviços
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(22) Data do Depósito: 28/04/2023

(43) Data da Publicação Nacional:
12/11/2024

(54) **Título:** COCRISTAL FARMACÊUTICO COMPREENDENDO HIDROCLOROTIAZIDA E L-PROLINA E SEU USO

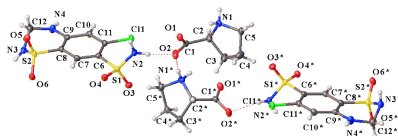
(51) **Int. Cl.:** A61K 31/549; A61K 31/401; A61P 9/00.

(52) **CPC:** A61K 31/549; A61K 31/401; A61P 9/00.

(71) **Depositante(es):** UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO - USP.

(72) **Inventor(es):** JAVIER ALCIDES ELLENA; POLLYANA PEREIRA FIRMINO; CECILIA CAROLINA PINHEIRO DA SILVA.

(57) **Resumo:** COCRISTAL FARMACÊUTICO COMPREENDENDO HIDROCLOROTIAZIDA E L-PROLINA E SEU USO. A presente invenção refere-se a um cocristal farmacêutico formado pela combinação estequiométrica (1:1) do fármaco anti-hipertensivo hidroclorotiazida (HTZ) com o coformador GRAS (coformador farmacologicamente seguro) (L-Prolina). A nova forma sólida proposta apresenta uma melhoria da solubilidade, boa estabilidade térmica e melhorias da permeabilidade para o fármaco anti-hipertensivo hidroclorotiazida através da sua cocristalização com o coformador L-prolina, e poderá ser usado para o tratamento de hipertensão, edema, insuficiência cardíaca, inchaços associados a problemas cardíacos e renais, bem como da cirrose hepática e terapia cardioprotetiva.



**COCRISTAL FARMACÊUTICO COMPREENDENDO HIDROCLOROTIAZIDA E L-
PROLINA E SEU USO**

CAMPO DA INVENÇÃO

[001] A presente invenção se insere no campo dos fármacos, mais precisamente na área das novas formas sólidas farmacêuticas e refere-se a uma nova forma cristalina do fármaco hidroclorotiazida com o coformador L-prolina, com melhoria das propriedades físico-químicas.

FUNDAMENTOS DA INVENÇÃO

[002] As agências regulatórias exigem dados de segurança e eficácia para que um medicamento possa ser produzido em larga escala e comercializado (Lei No. 5.991/1973). Um exemplo é o da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), a qual regulamenta a produção de fármacos através de suas formas polimorfas por meio da resolução RDC N° 136 de 29 de maio de 2003, solicitando que os fabricantes informem as formas polimórficas dos princípios ativos utilizados nos fármacos.

[003] Em nota técnica 02/2017 da ANVISA para o registro de medicamentos novos, genéricos e similares contendo solvatos e cocristais do insumo farmacêutico ativo (IFA), classifica-se um cocrystal como um sólido cristalino formado por um ou mais IFAs (com ou sem coformador inativos adicionais), os quais serão tratados como um produto de combinação de dose fixa e não como um novo IFA, sendo ainda diferentes da mistura física dos compostos por serem materiais cristalinos compostos de duas ou mais moléculas nas quais possuem interações intermoleculares unindo as duas moléculas dentro de uma cela unitária na qual os seus componentes estão em um estado neutro (NOTA TÉCNICA 02/2017).

[004] Um conceito chave na utilização de cocristais é que não há alteração na estrutura molecular do medicamento ou do coformador. Isso foi reconhecido pela *Food and Drug Administration* (FDA) em seu recente documento de orientação, no qual eles afirmam especificamente que “*cocristais são considerados os mesmos polimorfos ou sais do IFA desde uma perspectiva regulatória*”, permitindo que as empresas farmacêuticas busquem a aprovação da FDA para suas novas formas sólidas utilizando dados de investigações anteriores de segurança e eficácia para trazer um novo produto ao mercado, além de reduzir o ônus regulatório e financeiro e trazendo os benefícios dos avanços medicinais aos pacientes o mais rápido possível (KAVANAGH *et al.*, 2019).

[005] Na Europa, a Agência Europeia de Medicamentos (EMA) divulgou um documento reflexivo em 2015 que classificou os cocristais de forma semelhante aos sais do IFA assumindo ainda no artigo 10º da Diretiva 2001/83/CE que “*diferentes sais, ésteres, éteres, isómeros, misturas de isómeros, complexos ou derivados de uma substância deve ser considerada a mesma substância ativa, a menos que difiram significativamente nas propriedades no que diz respeito à segurança e/ou eficácia*”. Além disso, como a forma cocrystal pode permitir maior solubilidade e posterior absorção do IFA, pode-se constatar que menos IFA é necessário na forma farmacêutica, como é o caso do Entresto®. Ou seja, o planejamento racional de formas sólidas abarca também o aspecto econômico, uma vez que ele pode proporcionar a redução nos custos de desenvolvimento de fármacos (KAVANAGH *et al.*, 2019; WOULTERS *et al.*, 2011).

[006] Os diferentes arranjos sólidos para um mesmo IFA

apresentam diferentes energias de empacotamento, o que é decorrente dos padrões de interações intermoleculares também distintos (WOULTERS *et al.*, 2011; BERSTEIN, 2002). Em consequência pode haver alteração nas propriedades físicas e químicas, por exemplo: ponto de fusão; índice de refração; dureza; cristalinidade; toxicidade; cor; atividade farmacêutica; higroscopicidade; solubilidade; dissolução e biodisponibilidade (WOULTERS *et al.*, 2011; GIRON, 1995; BOTTOM, 1999; MORISSETTE *et al.*, 2004; VISHWESHWAR *et al.*, 2005; HILFIKER, 2006; STAHLY, 2007; TENORIO CLAVIJO *et al.*, 2015). Estas propriedades estão relacionadas com a eficácia de um medicamento e podem ser exploradas no âmbito da Engenharia de Cristais com a obtenção de polimorfos, solvatos, dessolvatos, sais, cocristsais, sólidos amorfos, cristais iônicos, complexos moleculares, etc. (WOULTERS *et al.*, 2011; STAHLY, 2007; HILFIKER, 2006; BERSTEIN, 2002).

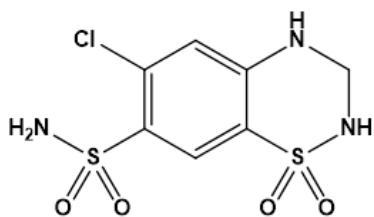
[007] Esta diversidade das formas sólidas é uma alternativa muito atrativa para a indústria farmacêutica e para a sociedade no que tange ao planejamento racional e à síntese supramolecular de novas formas sólidas dos IFA, atualmente comercializados apresentando determinadas limitações farmacocinéticas que acarretam redução ou até inibição da atividade biológica no organismo no paciente (WOULTERS *et al.*, 2011; MOULTON & ZAWOROTKO, 2001; BYRN *et al.*, 2004).

[008] A síntese de cocristsais, nos últimos anos, vem se destacando como uma forma de regular as propriedades supracitadas pautando-se no controle preciso do arranjo supramolecular sem a necessidade de estabelecer ou romper ligações covalentes, que é o caso do cocrystal reportado na

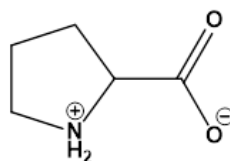
presente invenção (ALMARSSON & ZAWOROTO, 2004; AAKERÖY *et al.*, 2009).

[009] Neste contexto farmacológico insere-se o cocrystal droga-droga contendo hidroclorotiazida (1,1-dióxido de 6-cloro-3,4-di-hidro-2H-1,2,4-benzotiadiazina-7-sulfonamida) com o coformador L-prolina.

[010] A hidroclorotiazida é um anti-hipertensivo da classe de diuréticos tiazídicos, ou seja, controla os valores da pressão arterial (PA), reduz a morbidade cardiovascular e mortalidade sendo eficazes em adultos e idosos, independentemente de sua raça (REYES, 2002; NARALA *et al.*, 2022).



HIDROCLOROTIAZIDA



L-PROLINA

[011] Os diuréticos tiazídicos atuam principalmente pelo túbulo contorcido distal inicial, onde a reabsorção acoplada de Na^+ e Cl^- é inibida. Além disso, também prejudicam a capacidade de diluição urinária, ou seja, preservam os mecanismos de concentração urinária, reduzindo a excreção de Ca^{2+} e ácido úrico e aumentam a excreção de Mg^{2+} (SICA & MOSER, 2007).

[012] Vale ressaltar que a hidroclorotiazida apresenta originalmente uma classificação classe IV de acordo com o sistema de Classificação Biofarmacêutica, ou seja, possui baixa solubilidade e baixa permeabilidade (SHAH *et al.*, 2014; KU, 2008). A eficácia de um fármaco está associada

principalmente às suas propriedades no estado sólido (NARALA *et al.*, 2022; XUAN *et al.*, 2021).

[013] Em especial, a solubilidade aquosa de um fármaco constitui um requisito prévio à absorção. Constata-se então uma importante barreira à eficácia de um medicamento quando sua solubilidade em água é baixa. Desta forma, o aumento, através de tecnologias farmacêuticas, da dissolução aquosa, e consequentemente, da biodisponibilidade de fármacos pouco solúveis em água é considerado como um dos mais desafiantes aspectos no desenvolvimento moderno de fármacos (ROLIM-NETO *et al.*, 2015; BISCAIA *et al.*, 2021).

ESTADO DA TÉCNICA

[014] O documento CN108440449B divulga um cocristal compreendendo hidroclorotiazida e prolina. Além disso, informa que o cocristal produzido melhora a solubilidade da hidroclorotiazida e estabelece uma base para melhorar a biodisponibilidade e o efeito da hidroclorotiazida. Embora seja descrita uma mistura eutética cabe ressaltar que, diferentes formas polimórficas de um mesmo fármaco apresentam diferentes propriedade físico-químicas e, por consequência, os resultados apresentados no estado da técnica diferem do resultado obtido na presente invenção. A forma sólida apresentada no referido documento é um sólido cristalino distinto por possuir uma cela unitária diferente da reportada neste documento, sendo o grupo espacial $Pca2_1$, cristalizando assim no sistema ortorrômbico, com parâmetros de cela: $a = 20,50 \text{ \AA}$; $b = 9,70 \text{ \AA}$; $c = 8,26 \text{ \AA}$; $\alpha = \beta = \gamma = 90,0^\circ$; enquanto a forma sólida aqui proposta cristaliza no grupo espacial monoclinico com parâmetros de cela: $a = 8,20 \text{ \AA}$; $b = 20.71 \text{ \AA}$; $c = 9,68 \text{ \AA}$; $\alpha = \gamma = 90,0^\circ$; $\beta = 93,34^\circ$ $a =$

8,20 Å; $b = 20,71$ Å; $c = 9,68$ Å; $\alpha = \gamma = 90,0^\circ$; $\beta = 93,34^\circ$, $\pm 0,1$ Å, $^\circ$. Os parâmetros de cela (que descrevem o tamanho, a forma e a simetria da cela unitária do sólido cristalino) são similares a uma impressão digital do cristal, ou seja, diferentes entre si. Além das diferenças apresentadas pela difração de raio-x por monocristal, os padrões de pó apresentados na anterioridade possuem picos em posições diferentes, o que evidencia que são formas sólidas em realidade diferentes. Os picos característicos apresentados no referido documento são: $8,619^\circ$, $14,718^\circ$, $15,842^\circ$, $18,262^\circ$, $19,159^\circ$, $21,497^\circ$, $22,938^\circ$, $23,782^\circ$, $30,501^\circ$ $\pm 0,1$. Já os picos característicos da HTZLP proposta na presente invenção estão em: $8,48^\circ$, $12,44^\circ$, $15,68^\circ$, $18,28^\circ$, $18,72^\circ$, $19,26^\circ$, $20,14^\circ$, $21,44^\circ$, $22,38^\circ$, $24,16^\circ$, $25,30^\circ$, $26,92^\circ$, $29,86^\circ$, $30,44^\circ$, $31,40^\circ$, $32,56^\circ$, $37,28^\circ$, $42,34^\circ$ $\pm 0,1$.

[015] Além disso, o ponto de fusão apresentado no referido documento é de 202°C enquanto o ponto de fusão apresentado pela nova forma sólida proposta é de 196°C . Sabendo disso, a nova forma sólida é um polimorfo da primeira. Além de serem diferentes formas sólidas, o processo de criação para a produção da forma sólida proposta é totalmente diferente, tendo como principais características as diferentes propriedades físico-químicas obtidas para hidroclorotiazida, alterando assim seu ponto de fusão, sua estabilidade térmica, e sua solubilidade relativa. O processo de produção da presente invenção não utiliza solvente, sendo realizado através da mecanoquímica. O material proposto na presente invenção traz a caracterização completa, análises térmicas e espectroscopias, estudos de

solubilidade relativa em água purificada, e estudo de estabilidade por armazenamento superior a três meses, enquanto no referido documento apresenta apenas um estudo de dissolução intrínseca.

[016] O documento WO2017049294A1 propõe uma composição, na forma de um cocrystal, compreendendo pelo menos um IFA e pelo menos um coformador, e sugere, dentre inúmeras possibilidades, o uso potencial da hidroclorotiazida como IFA e a L-prolina como coformador. Além disso, o referido documento apresenta uma lista com fármacos de classe II ou IV que apresentam problemas de permeabilidade e ou solubilidade, e utiliza os aminoácidos: L-lisina, DL lisina e glicina como coformadores para novas formas sólidas com ácido zoledrônico. A hidroclorotiazida é um fármaco classe IV, por isso foi citada no documento, porém não cita que seja utilizado de forma direta a L-prolina, sendo necessária a avaliação individual do pesquisador e diversos conhecimentos prévios obtidos ao longo da carreira e experiências técnico científica de cada inventor. Ainda, tal documento não cita especificamente a forma sólida e não demonstra o caminho para se chegar a esta com as propriedades específicas desejadas. O fato de existirem inúmeros meios de se obter formas sólidas com diferentes propriedades físico-químicas evidencia a não dedutibilidade da presente invenção.

[017] O documento em nome de NUGRAHANI, intitulado "AMINO ACIDS AS THE POTENTIAL CO-FORMER FOR CO-CRYSTAL DEVELOPMENT: A REVIEW" avalia o uso de aminoácidos como coformadores e os utiliza para formação de cocristais juntamente com ingredientes farmacêuticos. Citam que a L-

prolina é um dos mais comuns conformadores, e sugere, dentre outras substâncias, sua interação com a clorotiazida para formação de cocristais. Entretanto, apesar de sugerir a possibilidades de formação de cocristais entre a hidroclorotiazida e L-prolina, os conceitos de engenharia química utilizados são amplamente consolidados, sendo necessários assim milhares de experimentos e nenhuma garantia da obtenção do resultado desejado.

[018] O documento em nome de TENG, intitulado "AMINO ACID BASED PHARMACEUTICAL COCRYSTALS AND HYDRATE COCRYSTALS OF THE CHLOROTHIAZIDE: STRUCTURAL STUDIES AND PHYSICOCHEMICAL PROPERTIES" sugere a obtenção de cocristais formados pela combinação de moléculas orgânicas, neste caso, avalia a combinação da clorotiazida com alguns aminoácidos, dentre ele, a L-prolina. Porém, utiliza como material de partida a clorotiazida que é um composto parecido com a hidroclorotiazida, mas, com diferenças de ligações covalentes com átomos de hidrogênio. Assim, utiliza como coformador a L-prolina e mostra a forma sólida entre o hidrato da clorotiazida e a L-prolina. Verifica-se que além de serem moléculas diferentes, hidratos são formas sólidas classificadas de forma diferente dos cocristais. Por serem diferentes, os processos de síntese são distintos e as propriedades físico-químicas também, não apresentam os mesmos aspectos. Cabe ressaltar ainda que a síntese utilizada no referido documento é a evaporação lenta simples em água, porém a forma sólida HTZLP não pode ser sintetizada desta forma. Logo, não se torna óbvia a utilização da hidroclorotiazida como segunda alternativa, pois o experimento não funcionaria e provavelmente seria

descartado.

[019] Desta forma, verifica-se que os ensinamentos do estado da técnica não são instrutivos para a obtenção da forma sólida conforme proposta na presente invenção, visto que os parâmetros ora propostos para a reprodução são bem específicos, sendo que a cinética utilizada pela mecanoquímica precisa entregar uma quantidade específica de energia para a produção. Ou seja, as variáveis são tão inúmeras e variadas que seria impossível obter os mesmos resultados apenas com os dados apresentados pelos documentos selecionados. Além disso, cabe ressaltar que cocristais devem ser tratados como formas polimórficas dos insumos farmacêuticos de partidas. Polimorfismo refere-se à habilidade de um composto químico existir em uma ou mais fases cristalinas que possuem diferentes arranjos e/ou conformação das moléculas em uma rede cristalina ordenada. Logo, o método de obtenção é importante para a forma sólida proposta que, devido aos diferentes parâmetros, é claramente diferente das formas existentes. A nova forma sólida proposta apresenta uma melhoria da solubilidade, boa estabilidade térmica e melhorias da permeabilidade para o fármaco anti-hipertensivo hidroclorotiazida através da sua cocrystalização com o coformador L-prolina.

SUMÁRIO DA INVENÇÃO

[020] A presente invenção tem como objetivo propor uma nova forma sólida (HTZLP) formada pela combinação estequiométrica (1:1) do fármaco anti-hipertensivo hidroclorotiazida (HTZ) com o coformador GRAS (coformador farmacologicamente seguro) (L-Prolina). A estrutura molecular foi elucidada por difração de raios-X por

monocristal (DRXM) e a caracterização do estado sólido realizada por técnicas complementares, tais como: difração de raios-X por policristais (DRXP), a fim de determinar a pureza do sólido bem como a possibilidade de escalonamento da forma sólida do cocrystal; foi feita ainda a caracterização por espectroscopia Raman (configura uma impressão digital da forma cristalina a partir da atribuição de bandas consideradas marcadoras); calorimetria exploratória diferencial (CED), análise termogravimétrica (TG) e microscopia *Hot-Stage* objetivando avaliar o comportamento térmico da amostra.

BREVE DESCRIÇÃO DAS FIGURAS

[021] A Figura 1 apresenta o diagrama tipo ORTEP mostrando 50% de probabilidade de elipsoides para o composto HTZLP (FARRUGIA, 2012).

[022] A Figura 2 mostra o padrão de difração de raios-X de pó experimental e calculado do cocrystal HTZLP mostrando os principais picos em 2θ .

[023] A Figura 3 mostra o padrão de difração de raios-X de pó do cocrystal HTZLP com as atribuições dos valores dos picos.

[024] A Figura 4 mostra as análises de CED e TG do cocrystal HTZLP.

[025] A Figura 5 mostra o comportamento cristalino visualmente observado pela microscopia *Hot-Stage* do cocrystal HTZLP.

[026] A Figura 6 mostra o espectro Raman do cocrystal HTZLP mostrando as bandas que podem ser usadas como marcadores (*fingerprint*) em uma linha de produção.

[027] A Figura 7 apresenta o comparativo do padrão de

pó, após a síntese e após três meses de armazenamento no eppendorf a temperatura ambiente.

DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

[028] A presente invenção refere-se a uma nova forma sólida (HTZLP) formada pela combinação estequiométrica (1:1) do fármaco anti-hipertensivo hidroclorotiazida (HTZ) com o coformador GRAS (L-Prolina) para fins de formulações farmacêuticas visando a melhoria da biodisponibilidade farmacêutica do anti-hipertensivo. A nova forma sólida é um cocrystal, na qual as duas moléculas interagem entre si por interações intra e intermoleculares, e poderá ser usado para o tratamento de hipertensão, edema, insuficiência cardíaca, inchaços associados a problemas cardíacos e renais, bem como da cirrose hepática e terapia cardioprotetiva.

[029] O coformador utilizado neste cocrystal é a L-prolina, considerado o mais favorável aminoácido para melhoria das propriedades de solubilidade e permeabilidade em fármacos. Através do efeito hidrotrópico constrói uma interação flexível e intensa com o IFA, baseado em uma interação zwitteriônica e uma alta planaridade, cocrystalais com L-prolina e apresentam ainda uma dissolução mais rápida em uma variedade de pH (NUGRAHANI & JESSICA, 2021). Além disso, a L-prolina é uma substância nutricional, um composto GRAS sendo um componente adequado à formação do cocrystal (NUGRAHANI *et al.*, 2018).

[030] Além das propriedades físico-químicas, os cocrystalais apresentam vantagens no contexto da manufaturabilidade e da performance clínica, que podem estar ligados à resolução de problemas, tais como elevada higroscopicidade e baixa solubilidade (SUN, 2012; CHOW *et*

al., 2012). Vale ressaltar que o cocrystal aqui reportado pode ser obtido por uma síntese altamente reprodutível com fácil escalonamento industrial e de elevada pureza, além de possuir a característica da química verde, por não utilizar solventes. Além destes métodos exemplificados, o cocrystal também pode ser obtido de outras formas que utilizem modelos de mecanoquímica, além do moinho de bolas.

[031] Para iniciar os testes, a hidroc lorotiazida e a L-prolina foram obtidas por meios comerciais e usadas diretamente após confirmação por DRXP. Para a produção dos cocrystal s utilizou-se a mecanoquímica, onde foram feitos testes com o moinho de bolas. A princípio, foram realizados testes variando o tempo, utilizando diferentes solventes e diferentes frequências no equipamento. Com isto foi possível a obtenção de uma forma estável, cristalina e diferente da mistura física dos compostos de partida.

[032] Após a obtenção do cocrystal por pó, para a melhor elucidação estrutural foram realizadas diferentes tentativas para a obtenção do monocristal. O mais lógico seria a obtenção por evaporação lenta, onde seriam misturados os dois compostos de partida em suas devidas proporções em diferentes solventes, porém não houve a formação do monocristal pela evaporação lenta tradicional (WEYNA et al., 2009). Assim, após obter o melhor modelo de síntese por mecanoquímica, foram realizados alguns experimentos de *seeding*, que consistiram em fazer uma solução saturada em MeOH de HTZ e L-prolina (1:1), e em sequência colocar um pouco do cocrystal em pó obtido por mecanoquímica nesta solução, de modo que se obtivesse um corpo de fundo. O experimento foi colocado para evaporação em temperatura

ambiente e após na geladeira à 4°C, onde, após 48 horas, foi possível observar o crescimento de cristais na temperatura ambiente que pudessem ser coletados no difratômetro de monocristal.

[033] O cocrystal HTZLP mostrou que não necessita da intervenção de solvente para sua formação por mecanoquímica, possuindo uma característica totalmente verde para sua produção, porém essa ausência não é limitante para a reprodutibilidade da síntese, uma vez que a hidroclorotiazida apresenta-se solúvel nos mais diversos solventes, tais como: metanol, etanol, isopropanol e outros álcoois, sendo ainda possível a mistura destes em diferentes proporções, além de outros solventes como acetona, acetonitrila, acetato de etila, dimetilformamida (DMF), tetraidrofurano (THF), dimetilsulfóxido (DMSO), mas não restrito a estes, além de diversos sistemas tampões como, por exemplo, o fosfato-salino (PBS) (MARTINDALE, 1993).

[034] A Tabela 1 apresenta um exemplo para a produção de aproximadamente 0,2 g do cocrystal de HTZLP. Ressalta-se que as composições e os procedimentos em questão são meramente ilustrativos e não devem ser considerados, sob hipótese alguma, limitantes para a obtenção do cocrystal farmacêutico aqui apresentado.

Tabela 1. Exemplo de produção de aproximadamente 200 mg do cocrystal HTZLP.

Nº	Ingredientes	Quantidade
1	Hidroclorotiazida (HTZ)	119,1 mg
2	L-prolina (LP)	46,5 mg

[035] O cocrystal HTZLP é produzido através da mecanoquímica, sendo adicionados a hidroclorotiazida (HTZ)

e a L-prolina (LP) em uma combinação estequiométrica de (1:1) em um misturador de moinho de bolas. Depois, o sistema é submetido à moagem mecânica com duas bolinhas a 30 Hz por 60 minutos. Por fim, o cocrystal é armazenado à 25°C.

[036] Os dados cristalográficos do cocrystal foram coletados à baixa temperatura (100 K) em um difratômetro XtaLAB Synergy-S Dual flex equipado com detector Hypix-contador de fótons híbrido (HPC) com uma fonte de Cu ($\lambda = 1,54184\text{\AA}$). A partir desses dados foi possível a integração dos dados, a determinação da cela e dos parâmetros finais. O diagrama tipo *ORTEP* da unidade assimétrica mostrando 50% de probabilidade de elipsoides está ilustrado na Figura 1 para o HTZLP.

[037] O cocrystal HTZLP possui a unidade assimétrica constituída por duas moléculas de hidroclorotiazida e duas de L-prolina, cristalizando no sistema cristalino Monoclínico, com grupo espacial $P2_1$ com os seguintes parâmetros de cela a 100K: $a = 8,20(10)\text{ \AA}$; $b = 20,71(2)\text{ \AA}$; $c = 9,68(10)\text{ \AA}$; $\alpha = \gamma = 90,0^\circ$; $\beta = 93,34(10)^\circ$; $\pm 0,1\text{ \AA},^\circ$.

[038] Após a elucidação estrutural, o passo seguinte foi verificar a pureza do sólido formado no recipiente e para isto a amostra foi macerada e analisada em um difratômetro Rigaku, última 1V em um intervalo de 5° a 50° em 2θ com um passo de $0.02/\text{segundo}$, velocidade de $50^\circ/\text{min}$, Tensão de 40 kv e 20 mA, utilizando tubo selado de Cu. Os padrões de difração foram comparados com o calculado a partir do arquivo CIF (*Crystallographic Information File*) do cocrystal, como pode ser observado na Figura 2 para o HTZLP. A comparação dos padrões de difração de raio-X de pó calculado e experimental revelou que os principais picos

observados no difratograma calculado também estão presentes no experimental não sendo apresentados no diagrama experimental picos extras. Isto mostra que existe apenas uma fase com alta pureza na amostra, confirmando a alta resolução da síntese realizada (DINIZ et al., 2020). Além disto, na figura 3 são apresentadas as atribuições dos picos presentes no padrão de difração de raio-X de pó experimental da HTZLP sendo eles: $8,48^\circ$, $12,44^\circ$, $15,68^\circ$, $18,28^\circ$, $18,72^\circ$, $19,26^\circ$, $20,14^\circ$, $21,44^\circ$, $22,38^\circ$, $24,16^\circ$, $25,30^\circ$, $26,92^\circ$, $29,86^\circ$, $30,44^\circ$, $31,40^\circ$, $32,56^\circ$, $37,28^\circ$, $42,34^\circ \pm 0.1$.

[039] Para a compreensão do comportamento térmico do cocristal, foram feitas análises térmicas. A termogravimetria (TG) foi realizada em um equipamento Shimadzu TGA-50. Aproximadamente $4,0 \text{ mg} \pm 0,001 \text{ mg}$ foram colocados em um recipiente de cerâmica (alumina) e aquecidos à uma taxa de $10^\circ\text{C}/\text{min}$ sob uma atmosfera de N_2 ($50 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$) de 25 a 400°C . Para a calorimetria exploratória diferencial (CED), por sua vez, utilizou-se o calorímetro Shimadzu DSC-60 e $2,0 \text{ mg} \pm 0,02 \text{ mg}$ da amostra foram submetidos ao aquecimento a uma taxa de $10^\circ\text{C}/\text{min}$ em uma panela de alumínio selada. O fluxo de N_2 também foi de $50 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$. O gráfico da Figura 4 foi plotado com os valores que foram previamente processados no software Shimadzu TA-60 (version 2.20).

[040] O cocristal HTZLP apresentou estabilidade térmica até aproximadamente $210^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ quando então iniciou o processo de degradação (Figura 4). Na curva de CED estão representados os picos correlacionados ao processo do ponto de fusão, sendo o Onset em $191,0 \pm 2^\circ\text{C}$ com pico em $196,9 \pm 2^\circ\text{C}$ na curva de CED, e decomposição do material,

uma vez que um decaimento de massa ilustrado pela curva de TG está associado. Estes eventos puderam ser visualmente observados e confirmados pela microscopia Hot-Stage Figura 5, na qual o cocrystal iniciou a fusão em $199,0 \pm 2 \text{ }^{\circ}\text{C}$ - e apresenta o começo da degradação em $210 \text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ mudando sua morfologia pela perda de massa.

[041] O uso de espectroscopia Raman na análise e identificação de cocristais envolvendo compostos farmacêuticos tem sido amplamente utilizado por apresentar inúmeras vantagens em relação a métodos convencionais, principalmente pelo fato de ser uma técnica rápida e não destrutiva. Assim, o seu uso numa linha de produção de indústrias farmacêuticas tem sido cada vez mais requerido devido às características mencionadas acima (TREVISAN & POPPI, 2006; BORIO *et al.*, 2007).

[042] Para o cocrystal HTZLP, foi possível verificar no espectro Raman, Figura 6, a presença de modos vibracionais, e alguns deslocamentos de bandas, e ausência de bandas, tanto do fármaco hidrocloreotiazida quanto do coformador L-prolina, permitindo uma rápida identificação da formação desta nova forma sólida multicomponente.

[043] Dentre estes modos vibracionais, vale a pena destacar a mudança do estiramento da sulfamida primária da HTZ da ($\text{SO}_2\text{-NH}_2$) que passa a interagir com ácido carboxílico da L-prolina e se encontra na região de $1310 \pm 10 \text{ cm}^{-1}$. Está presente ainda o pico característico das vibrações de estiramento da sulfonamida secundária em 1155 cm^{-1} . Na região de estiramento NH temos a extinção dos picos 3380, 3280, $3180 \pm 10 \text{ cm}^{-1}$, característicos da HTZ, com o surgimento de um pico espalhado da HTZLP em $3260 \pm 10 \text{ cm}^{-1}$. Outro pico

característico é o de vibrações de estiramento de CO₂ em fase do ácido carboxílico da L-prolina (R-CO₂⁻) em 1450 ±10 cm⁻¹ (DU *et al.*, 2017; EDWARDS *et al.*, 2005; NAKAMOTO, 2009; DEPPELER, 1981; LARKIN, 2011). Tais modos vibracionais puderam ser observados na forma de bandas características no espectro Raman, mostrando-se uma ferramenta eficaz para rápida confirmação do composto que pode facilmente ser implementada em linhas de produção para o controle de qualidade de insumos de interesse farmacêuticos.

[044] O cocrystal foi armazenado em eppendorf à temperatura ambiente, com variações médias de temperatura entre 5 e 30 °C, este mostrou-se estável após avaliação de 3 meses, o que pode ser confirmado pela Figura 7, no qual o padrão de raio-X por pó mostra os mesmos picos após o período, podendo se afirmar assim que o cocrystal HTZLP é estável após 3 meses de armazenamento.

[045] Ensaaios de solubilidade relativa foram realizados para o cocrystal e seus materiais de partida, em pH neutro e temperatura ambiente, após agitação magnética por 48 horas utilizando o espectrômetro Shimadzu UV-1800; as curvas de calibração conhecidas foram construídas com cinco ensaios em triplicata utilizando os valores dos maiores picos de absorbância $\lambda = 225$ nm. Os valores constam na Tabela 2, havendo indicativos de melhora na solubilidade para o cocrystal em relação ao fármaco de referência.

Tabela 2. Solubilidade relativa para HTZ e HTZLP.

Composto	Concentração (mg/ml)
HTZ	0,53
HTZLP	0,71

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

[046] AAKERÖY, C. B., FORBES, S. & DESPER, J. Using cocrystals to systematically modulate aqueous solubility and melting behavior of an anticancer drug. *J Am Chem Soc* **131**, 17048-17049 (2009).

[047] ALMARSSON, Ö.; ZAWOROTO, M. J. Crystal engineering of the composition of pharmaceutical phases. Do pharmaceutical co-crystals represent a new path to improved medicines? *Chemical Communications* **17**, 1889-1896 (2004).

[048] BERSTEIN, J. *Polymorphism in molecular crystals*. (Oxford University Press, 2002).

[049] BISCAIA, I. F. B., OLIVEIRA, P. R., GOMES, S. N. & BERNARDI, L. S. Obtaining cocrystals by reaction crystallization method: Pharmaceutical applications. *Pharmaceutics* **13**, (2021).

[050] BORIO, V. G. C., MACHADO, N. C. S. S., CECÍLIO, R. A. F., NICOLAU, R. A. & SILVEIRA Jr, L. Espectroscopia raman aplicada às ciências farmacêuticas: revisão de literatura. 1684-1687 (2007).

[051] BOTTOM, R. The role of modulated temperature differential scanning calorimetry in the characterization drug molecule exhibiting polymorphic and glass forming tendencies. *Int J Pharm* **192**, 47-53 (1999).

[052] BYRN, S.; PFEIFFER, R.; GANEY, M.; HOIBERG, C.; POOCHIKIAN, G. Pharmaceutical solids: A strategic approach to regulatory considerations. *Pharm. Res.* **12**, 945-954 (1995).

[053] CHOW, S. F., CHEN, M., SHI, L., CHOW, A. H. L. & SUN, C. C. Simultaneously Improving the Mechanical Properties , Dissolution Performance , and Hygroscopicity of Ibuprofen and Flurbiprofen by Cocrystallization with

Nicotinamide. 1854-1865 (2012) doi:10.1007/s11095-012-0709-5.

[054] DEPPELER, H. P. Hydrochlorothiazide. *Analytical Profiles of Drug Substances* 405-441 (1981) doi:10.1016/S0099-5428(08)60646-2.

[055] DINIZ, L. F. et al. Enhancing the solubility and permeability of the diuretic drug furosemide via multicomponent crystal forms. *Int J Pharm* **587**, 119694 (2020).

[056] DU, Y., CAI, Q., XUE, J., ZHANG, Q. & QIN, D. Structural investigation of the cocrystal formed between 5-fluorocytosine and fumaric acid based on vibrational spectroscopic technique. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc* **178**, 251-257 (2017).

[057] EDWARDS, H. G. M., MUNSHI, T. & ANSTIS, M. Raman spectroscopic characterisations and analytical discrimination between caffeine and demethylated analogues of pharmaceutical relevance. **61**, 1453-1459 (2005).

[058] FARRUGIA, L. J. No Title. *J. Appl. Cryst.* **45**, 849-854 (2012).

[059] GIRON, D. Thermal analysis and calorimetric methods in the characterization of polymorphs and solvates. *Thermochim Acta* 248, 1-59 (1995).

[060] HILFIKER, P. *Polymorphism: In the Pharmaceutical Industry*. (Wiley-VHC, 2006).

[061] KAVANAGH, O. N., CROKER, D. M., WALKER, G. M. & ZAWOROTKO, M. J. Pharmaceutical cocrystals: from serendipity to design to application. *Drug Discov Today* **24**, 796-804 (2019).

[062] KU, M. S. Use of the Biopharmaceutical Classification System in Early Drug Development. *AAPS J* **10**,

208-212 (2008).

[063] LARKIN, P. *IR and Raman Spectroscopy, Principles and Spectral Interpretation*. (Elsevier, 2011).

[064] Lei 5.991 de 17 de dezembro de 1973. *Dispõe sobre o controle sanitário do comércio de drogas, medicamentos, insumos farmacêuticos e correlatos, e dá outras providências*. (Organização Jurídica da Profissão Farmacêutica, 1973).

[065] MARTINDALE. *The Extra Pharmacopoeia*. (The Pharmaceutical Press, 1993).

[066] MORISSETTE, S. L.; ALMARSSON, O.; PETERSON, M. L.; REMENAR, J. F.; READ, M. J.; LEMMO, A. V.; ELLIS, S.; CIMA, M. J.; GARDNER, C. R. High-throughput crystallization: polymorphs, salts, co-crystals and solvates of pharmaceutical solids. *Adv Drug Deliv Rev* **56**, 275-300 (2004).

[067] MOULTON, B.; ZAWOROTKO, M. J. From molecules to crystal engineering: supramolecular isomerism and polymorphism in network solids. *Chem Rev* **101**, 1629-1658 (2001).

[068] NAKAMOTO, K. *Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds Part A: Theory and Applications in Inorganic Chemistry*. (Wiley, 2009).

[069] NARALA, S. et al. Creation of Hydrochlorothiazide Pharmaceutical Cocrystals Via Hot-Melt Extrusion for Enhanced Solubility and Permeability. *AAPS PharmSciTech* **23**, 1-11 (2022).

[070] NOTA TÉCNICA 02 2017 RDC. N° 136 - *Registro de medicamentos novos, genéricos e similares contendo solvatos e cocristsais como insumo farmacêutico ativo - cosmetovigilância* - Anvisa.

[071] NUGRAHANI, I., UTAMI, D., IBRAHIM, S., NUGRAHA, Y. P. & UEKUSA, H. Zwitterionic cocrystal of diclofenac and l-proline: Structure determination, solubility, kinetics of cocrystallization, and stability study. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* **117**, 168–176 (2018).

[072] NUGRAHANI, I. & JESSICA, M. A. Amino Acids as the Potential Co-Former for Co-Crystal Development: A Review. *Molecules* **26**, 3279 (2021).

[073] REYES, A. J. Diuretics in the therapy of hypertension. *Journal of Human Hypertension* 2002 16:1 **16**, S78–S83 (2002).

[074] ROLIM-NETO, P. J. et al. Estratégias utilizadas para o incremento da solubilidade do fármaco antiretroviral classe II: Efavirenz. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada Journal of Basic and Applied Pharmaceutical Sciences Rev Ciênc Farm Básica Apl* **36**, 239–249 (2015).

[075] SHAH, V. P. & AMIDON, G. L. G.L. AMIDON, H. LENNERNAS, V.P. SHAH, and J.R. CRISON. A Theoretical Basis for a Biopharmaceutic Drug Classification: The Correlation of In Vitro Drug Product Dissolution and In Vivo Bioavailability, *Pharm Res* 12, 413–420, 1995–Backstory of BCS. *AAPS J* **16**, 894–898 (2014).

[076] SICA, D. A. & MOSER, M. Diuretic Therapy in Cardiovascular Disease. *Hypertension: A Companion to Braunwald's Heart Disease* 213–230 (2007) doi:10.1016/B978-1-4160-3053-9.50024-X.

[077] STAHLY, G. P. Diversity in single- and multiple-component crystals: the search for and prevalence of polymorphs and cocrystals. *Cryst Growth Des* **7**, 1007–1026 (2007).

[078] SUN, C. C. Cocrystallization for successful drug delivery. *Expert Opin Drug Deliv* **10**, 1-13 (2012).

[079] TENG, Rugang et al. Amino acid based pharmaceutical cocrystals and hydrate cocrystals of the chlorothiazide: Structural studies and physicochemical properties. *Journal of Molecular Structure*, v. 1217, p. 128432 (2020).

[080] TENORIO CLAVIJO, JUAN CARLOS; GUIMARAES, FREDDY FERNANDES; ELLENA, J. Isostructurality and the conformational role of the 2',3'-moieties in the diversity of lamivudine crystal forms probed in halide salts. *CrystEngComm* **17**, 5187-5194 (2015).

[081] TREVISAN, M. G. & POPPI, R. J. Química Analítica de Processos. *Quim Nova* **29**, 1065-1071 (2006).

[082] VISHWESHWAR, P.; MCMAHON, J. A.; PETERSON, M. L.; HICKEY, M. B.; SHATTOCK, T. R.; ZAWOROTKO, M. J. Crystal engineering of pharmaceutical co-crystals from polymorphic active pharmaceutical ingredients. *Chemical Communications* **36**, 4601-4603 (2005).

[083] XUAN, B. et al. Impact of cocrystal solution-state stability on cocrystal dissociation and polymorphic drug recrystallization during dissolution. *Int J Pharm* **610**, (2021).

[084] WEYNA, D. R., SHATTOCK, T., VISHWESHWAR, P. & ZAWOROTKO, M. J. Synthesis and structural characterization of cocrystals and pharmaceutical cocrystals: Mechanochemistry vs slow evaporation from solution. *Cryst Growth Des* **9**, 1106-1123 (2009).

[085] WOULTERS, J.; QUERE, L. et al. *Pharmaceutical Salts and Cocrystals*. (Royal Society of Chemistry, 2011).

REIVINDICAÇÕES

1. Cocrystal farmacêutico **caracterizado** pelo fato de que compreende uma combinação estequiométrica (1:1) do fármaco anti-hipertensivo hidroclorotiazida (HTZ) com o coformador GRAS (L-Prolina).

2. Cocrystal farmacêutico, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de que apresenta uma unidade assimétrica constituída de moléculas de hidroclorotiazida e L-prolina, cristalizando no sistema cristalino monoclinico, com grupo espacial $P2_1$ com os seguintes parâmetros de cela a 100K: $a = 8,20 \text{ \AA}$; $b = 20,71 \text{ \AA}$; $c = 9,68 \text{ \AA}$; $\alpha = \gamma = 90,0^\circ$; $\beta = 93,34^\circ$, $\pm 0.1 \text{ \AA}^\circ$.

3. Cocrystal farmacêutico, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de que apresentam picos característicos em: $8,48^\circ$, $12,44^\circ$, 1568° , $18,28^\circ$, $18,72^\circ$, $19,26^\circ$, $20,14^\circ$, $21,44^\circ$, $22,38^\circ$, $24,16^\circ$, $25,30^\circ$, $26,92^\circ$, $29,86^\circ$, $30,44^\circ$, $31,40^\circ$, $32,56^\circ$, $37,28^\circ$, $42,34^\circ \pm 0,1$.

4. Cocrystal farmacêutico, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de apresentar estabilidade térmica de $210^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$.

5. Cocrystal farmacêutico, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de que apresenta um ponto de fusão de $199,0 \pm 2^\circ\text{C}$ e um começo da degradação em $210^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$.

6. Cocrystal farmacêutico, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de que apresenta uma mudança do estiramento da sulfamida primária da HTZ da ($\text{SO}_2\text{-NH}_2$), passando a interagir com ácido carboxílico da L-prolina e se encontra na região de $1310 \pm 10 \text{ cm}^{-1}$.

7. Cocrystal farmacêutico, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de que apresenta ainda picos característicos das vibrações de estiramento da sulfonamida secundária em 1155 cm^{-1} , das vibrações de estiramento de CO_2 em fase do ácido carboxílico da L-prolina (R-CO_2^-) em $1450 \pm 10\text{ cm}^{-1}$, além de um pico espalhado da HTZLP em $3260 \pm 10\text{ cm}^{-1}$

8. Cocrystal farmacêutico, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de apresentar uma solubilidade relativa de 0,71 mg/ml.

9. Uso do cocrystal farmacêutico conforme definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 8, **caracterizado** pelo fato de ser na preparação de um medicamento para o tratamento de hipertensão, edema, insuficiência cardíaca, inchaços associados a problemas cardíacos e renais, bem como da cirrose hepática e terapia cardioprotetiva.

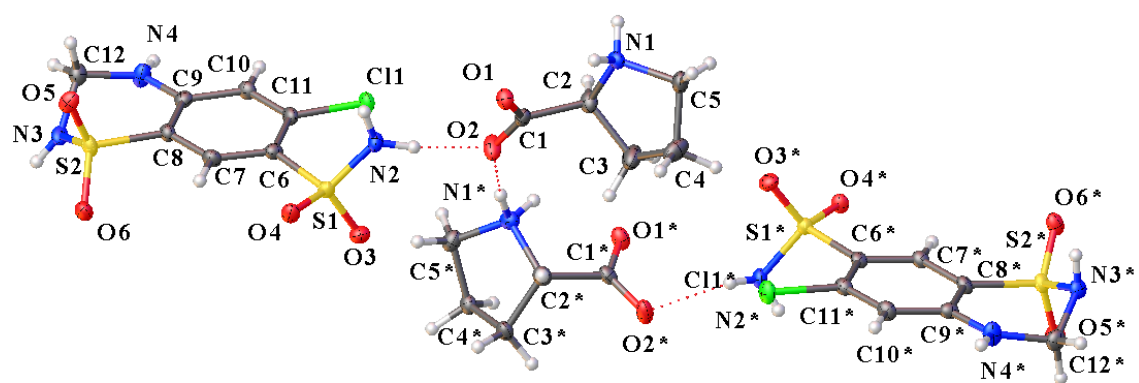
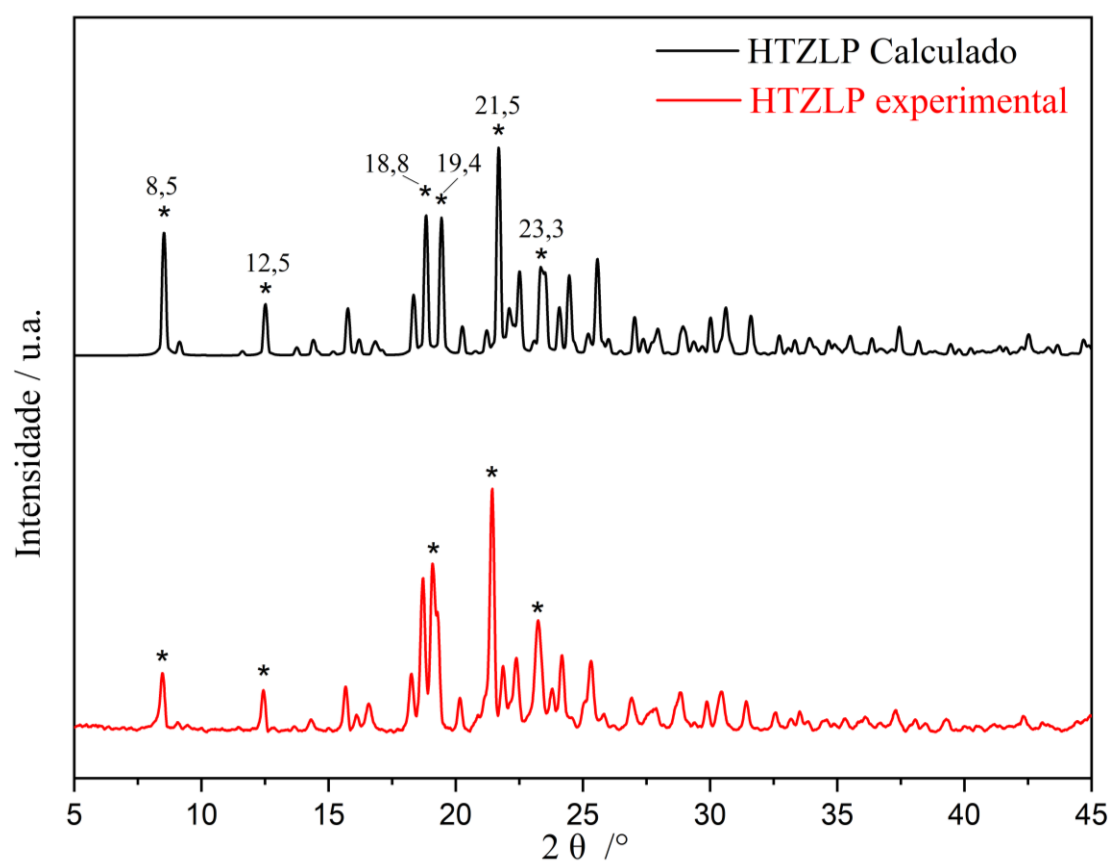
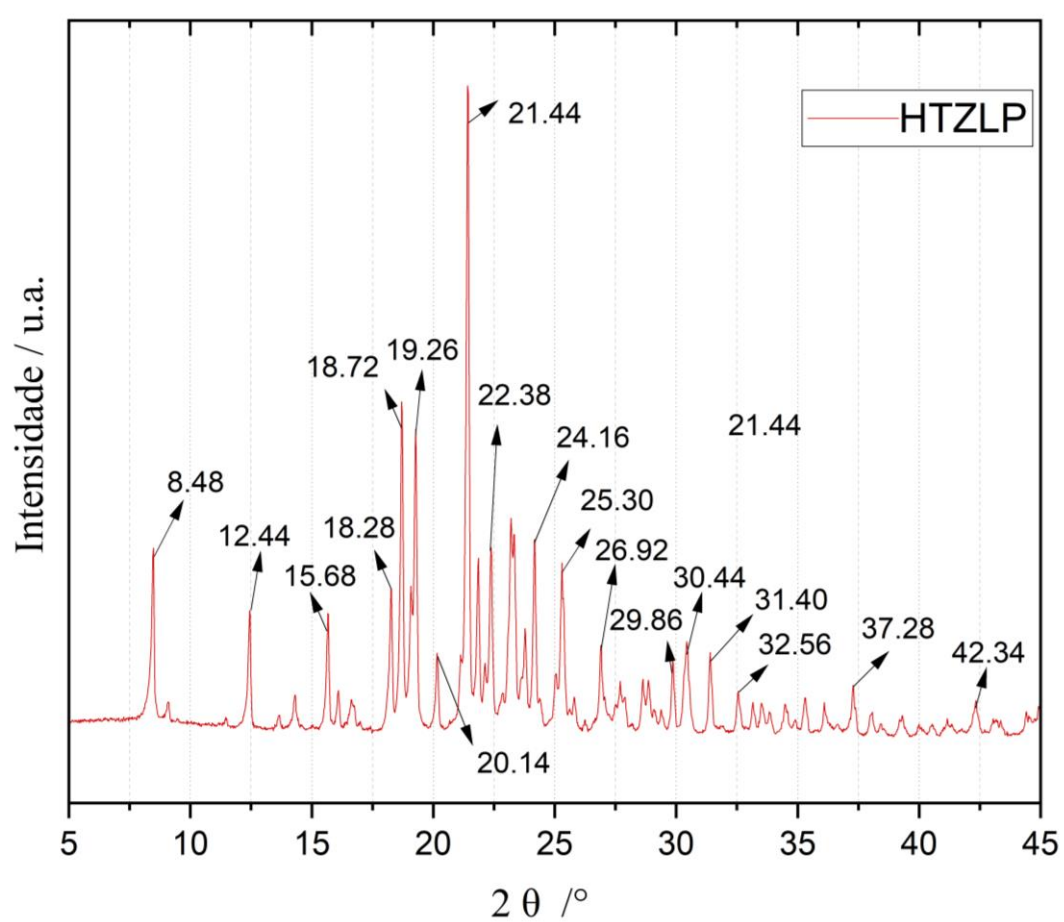


Figura 1

**Figura 2**

**Figura 3**

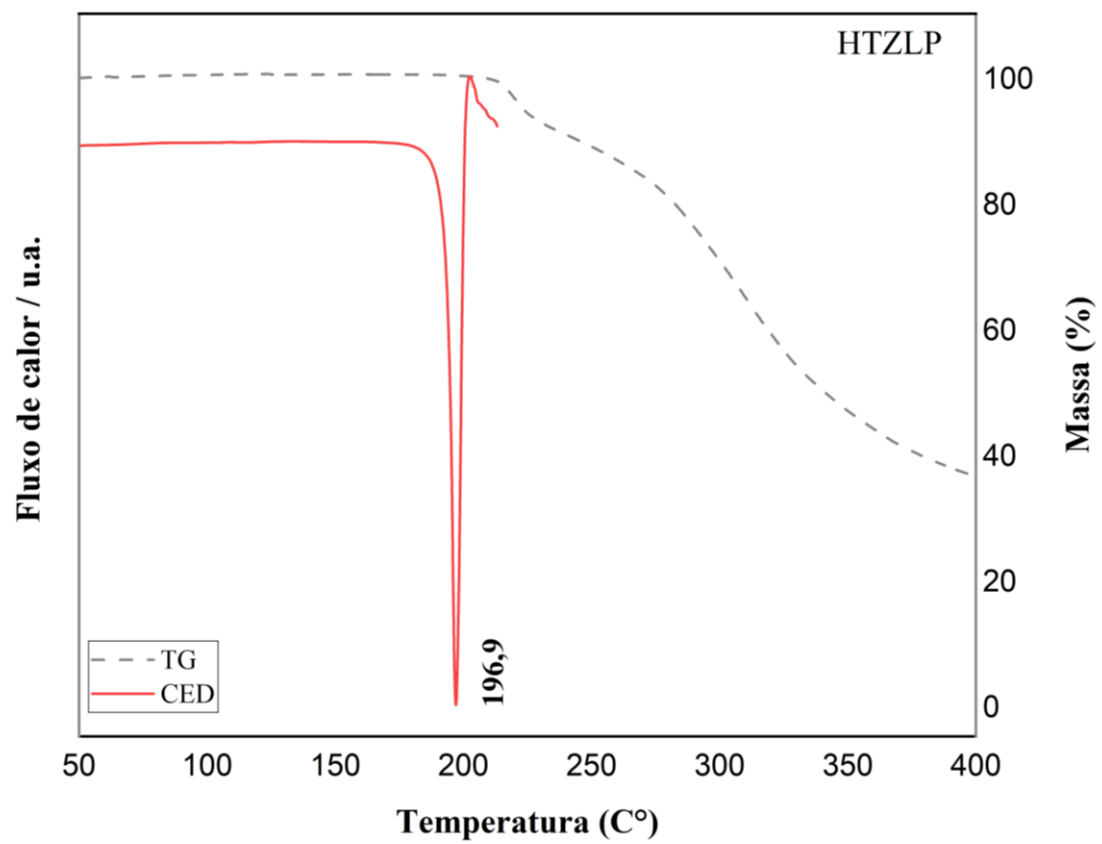


Figura 4

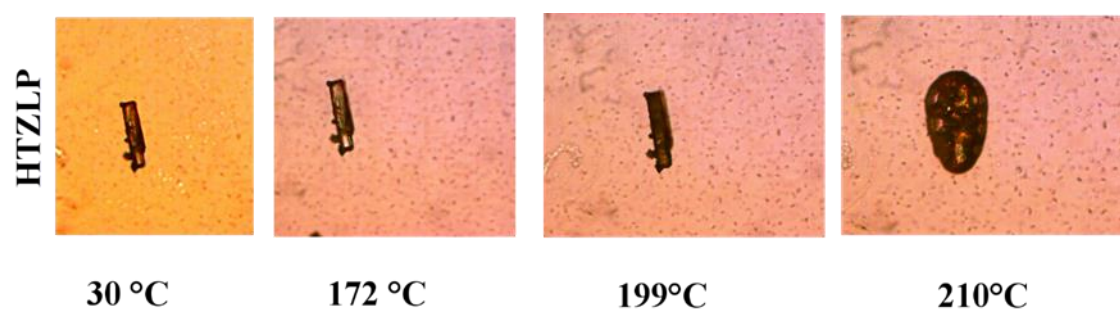
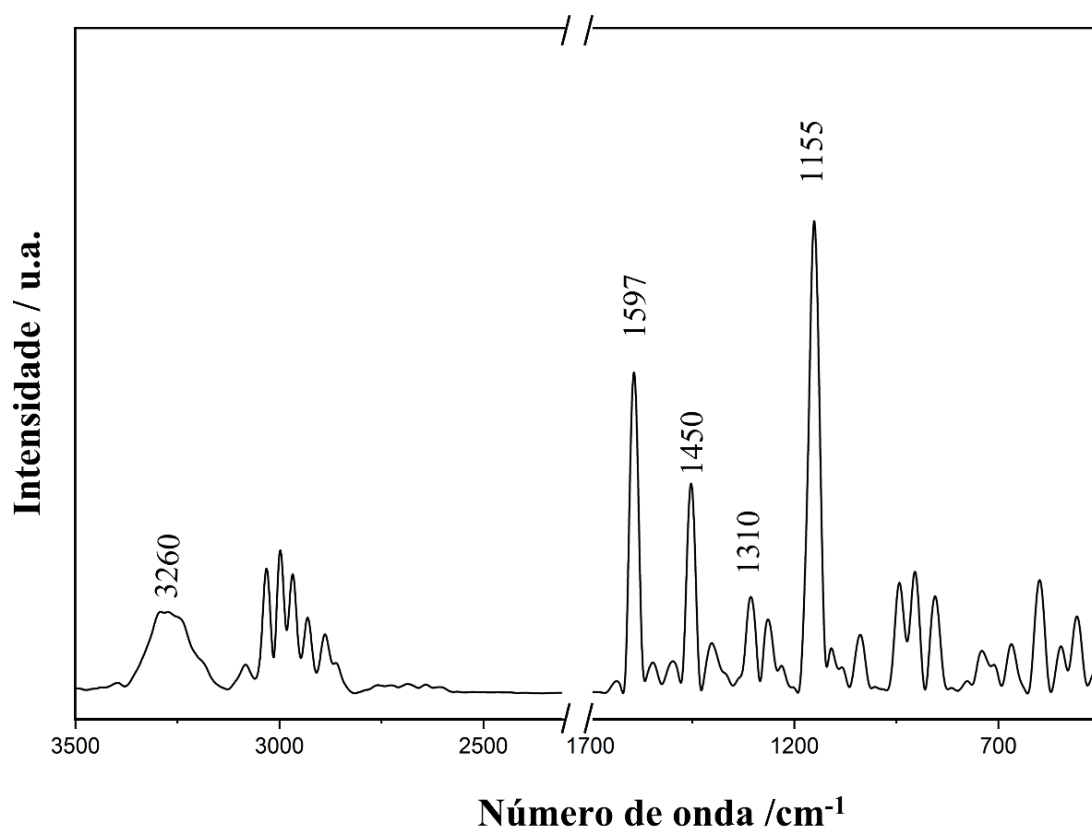
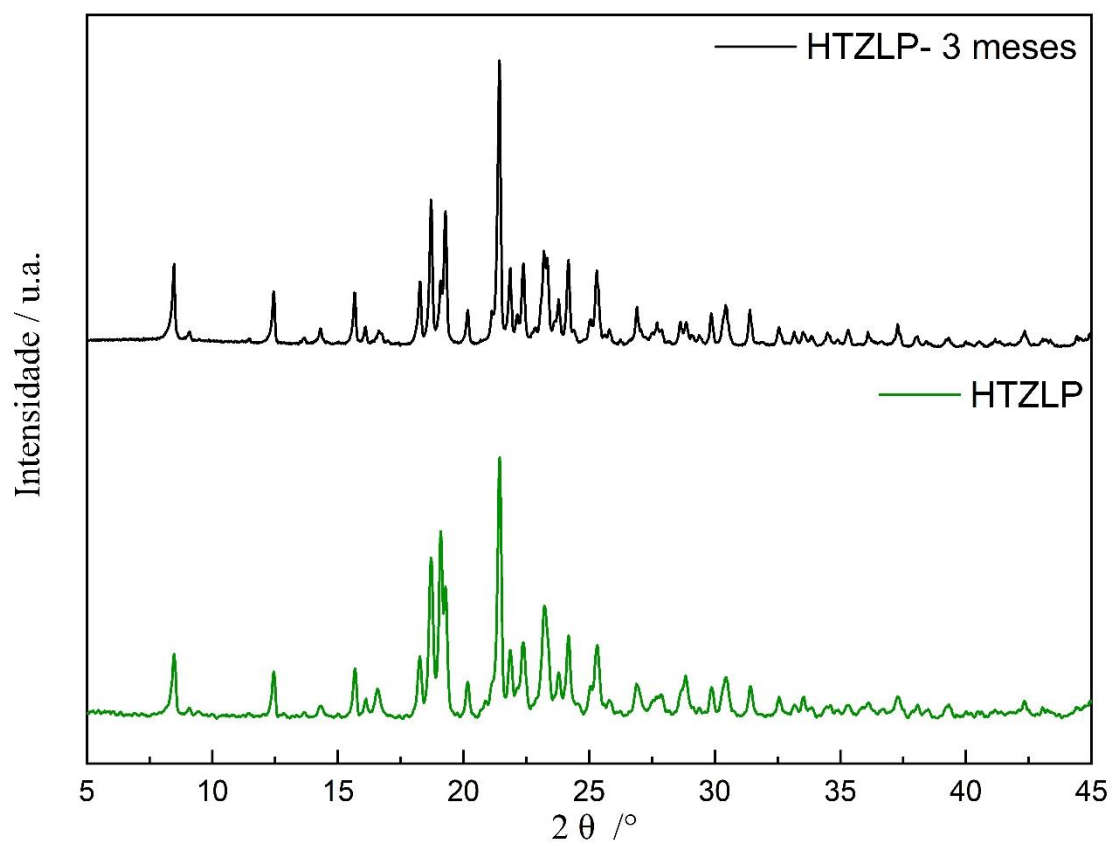


Figura 5

**Figura 6**

**Figura 7**

RESUMO**COCRISTAL FARMACÊUTICO COMPREENDENDO HIDROCLOROTIAZIDA E L-
PROLINA E SEU USO**

A presente invenção refere-se a um cocristal farmacêutico formado pela combinação estequiométrica (1:1) do fármaco anti-hipertensivo hidroclorotiazida (HTZ) com o coformador GRAS (coformador farmacologicamente seguro) (L-Prolina). A nova forma sólida proposta apresenta uma melhoria da solubilidade, boa estabilidade térmica e melhorias da permeabilidade para o fármaco anti-hipertensivo hidroclorotiazida através da sua cocristalização com o coformador L-prolina, e poderá ser usado para o tratamento de hipertensão, edema, insuficiência cardíaca, inchaços associados a problemas cardíacos e renais, bem como da cirrose hepática e terapia cardioprotetiva.