

UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS SOCIAIS, SAÚDE E TECNOLOGIA
CURSO DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS

MARCOS SILVA DE SOUSA

OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE UMA DISPERSÃO SÓLIDA DA ETIONAMIDA
UTILIZANDO O ÁCIDO *p*-AMINOBENZÓICO COMO COFORMADOR

IMPERATRIZ – MA

2022

MARCOS SILVA DE SOUSA

OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE UMA DISPERSÃO SÓLIDA DA ETIONAMIDA
UTILIZANDO O ÁCIDO *p*-AMINOBENZÓICO COMO COFORMADOR

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Engenharia de Alimentos da Universidade Federal do Maranhão – UFMA, como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Roberto da Silva Ribeiro.

IMPERATRIZ – MA

2022

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

SILVA DE SOUSA, MARCOS.

OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE UMA DISPERSÃO SÓLIDA DA
ETIONAMIDA UTILIZANDO O ÁCIDO p-AMINOBENZÓICO COMO
COFORMADOR / MARCOS SILVA DE SOUSA. - 2022.

36 p.

Orientador(a): PAULO ROBERTO DA SIVA RIBEIRO.

Curso de Engenharia de Alimentos, Universidade Federal
do Maranhão, IMPERATRIZ-MA, 2022.

1. Ácido p-aminobenzóico. 2. Dispersão sólida. 3.
Etionamida. 4. Eutético. 5. Nutracêutico. I. DA SIVA
RIBEIRO, PAULO ROBERTO. II. Título.

MARCOS SILVA DE SOUSA

OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE UMA DISPERSÃO SÓLIDA DA ETIONAMIDA
UTILIZANDO O ÁCIDO *p*-AMINOBENZÓICO COMO COFORMADOR

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Engenharia de Alimentos da Universidade Federal do Maranhão – UFMA, como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Roberto da Silva Ribeiro.

Aprovado em: 25/11/2022

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

Prof. Dr. Mateus Ribeiro Lage
(Avaliador Interno)
Universidade Federal do Maranhão

Prof. Dr. Anivaldo Pereira Duarte Junior
(Avaliador Externo)
Universidade CEUMA

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus, por estar sempre comigo para prosseguir nesta caminhada. Por ser minha rocha e fortaleza, sempre renovando minhas forças.

À Universidade Federal do Maranhão, em especial ao curso de Engenharia de Alimentos, pela contribuição em minha capacitação e formação.

Aos meus pais, irmãos e cunhada Linalva, Erivan, Eduardo, Andressa e Railane por ser minhas bases, pela minha educação para a vida, por sempre me apoiarem e me ensinarem o melhor da vida. Agradeço a compreensão e o apoio em todos os momentos.

Aos meus amigos que conheci na Universidade, em especial Ariene, Brenda, Ellen Fernanda, Hadassa, Jad, Jaiana, Juliana, Kariny, Luana, Maria Eduarda, Ravena, Thalyne e Tiago, por sempre está me apoiando nos momentos felizes e difíceis. Aos meus amigos que conheci ao longo da minha jornada, Adriano, Adriely, Arleia, Bruna, Carol, Eliabe, Joanna, Lorrany, Rafael, Thayrine, Victor e Vitória por todo bem que me fazem desde sempre.

Aos meus padrinhos Erivaldo e Marlene por sempre acreditarem em mim e estarem ao meu lado.

Aos meus avós Ademar Tavares e Marcolina Silva (in memoriam), cuja presença foi essencial na minha vida.

Ao professor Dr. Paulo Roberto da Silva Ribeiro, pela orientação, dedicação e paciência durante o projeto. Seus conhecimentos fizeram grande diferença no resultado final deste trabalho.

A todos do grupo de pesquisa NUPFARQ, em especial Raychiman e Luis Henrique pelos seus ensinamentos e por sempre me ajudarem.

A todos os professores do Curso de Engenharia de Alimentos que de alguma forma contribuíram para a minha formação acadêmica.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	8
2. MATERIAIS E MÉTODOS	10
2.1. Modelagem Molecular dos compostos de partida (PABA e ETA)	10
2.2. Obtenção do eutético de ETA-PABA (1:1) via Moagem Mecanoquímica (MM).....	11
2.3. Caracterização por Difração de Raios X pelo Método do Pó (DRXP).....	12
2.4. Caracterização por Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC).....	12
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	12
3.1. Modelagem molecular dos compostos de partida (ETA e PABA).....	12
3.2 Obtenção do eutético de ETA-PABA (1:1) via Moagem Mecanoquímica (MM)	16
3.3 Caracterização por Difração de Raios X pelo Método do Pó (DRXP)	16
3.4 Caracterização por Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)	18
4. CONCLUSÃO.....	21
REFERÊNCIAS	22
APÊNDICE A – Pedido de Depósito de Patente junto ao INPI.....	25
ANEXO	27

OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE UMA DISPERSÃO SÓLIDA DA ETIONAMIDA UTILIZANDO O ÁCIDO *p*-AMINOBENZÓICO COMO COFORMADOR

Marcos Silva de Sousa^a, Paulo Roberto da Silva Ribeiro^{a*}

^a Núcleo de Pesquisas em Ciências Farmacêuticas e Química Analítica Aplicada (NUPFARQ)

– Curso de Engenharia de Alimentos (CEA), Centro de Ciências de Imperatriz (CCIM) -

Universidade Federal do Maranhão (UFMA)– Imperatriz – MA – Brasil.

E-mails: marcos.ss@discente.ufma.br, paulo.rsr@ufma.br

* Autor correspondente: Paulo Roberto da Silva Ribeiro, Núcleo de Pesquisas em Ciências Farmacêuticas e Química Analítica Aplicada (NUPFARQ) – Curso de Engenharia de Alimento (CEA), Centro de Ciências de Imperatriz (CCIM) - Universidade Federal do Maranhão (UFMA). Av. da Universidade, s/n, Bairro Dom Felipe Gregory – Imperatriz – MA, CEP: 65915-060, Fone (99) 35296068 / (99) 98112-0886, e-mail: paulo.rsr@ufma.br. O experimento foi conduzido pelo primeiro autor na Universidade Federal do Maranhão.

RESUMO:

A obtenção de dispersões sólidas de fármacos (DSFs) tem sido utilizada como alternativa para melhorar as propriedades físico-químicas destes compostos, tal como a melhoria da sua hidrossolubilidade. Este trabalho objetivou a obtenção e a caracterização de uma DSF do tuberculostático Etionamida (ETA), utilizando o ácido *p*-aminobenzóico (PABA) como coformador, via Moagem Mecanoquímica (MM). Inicialmente, foi realizada a modelagem molecular destes compostos por meio do estudo teórico empregando a Teoria do Funcional da Densidade (DFT). Em seguida, foram obtidas misturas binárias de ETA-PABA em diferentes razões molares via MM. Estas misturas binárias foram caracterizadas por Difração de Raios X pelo Método do Pó (DRXP) e por Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC). Os resultados obtidos a partir do estudo DFT dos compostos de partida mostraram a ocorrência de regiões eletrofílicas e nucleofílicas representadas por grupos funcionais e, portanto, passíveis de interação. Assim, observou-se que o grupamento tioamida (região eletrofílica) da ETA pode interagir com o grupamento carboxílico (regiões nucleofílicas) do PABA. As análises por DRXP das misturas binárias de ETA-PABA obtidas neste estudo, não evidenciaram a ocorrência de interações intermoleculares entre a ETA e o PABA. Entretanto, as curvas de DSC destas misturas mostraram a existência de interação física entre estes compostos para a mistura binária ETA-PABA (1:1), resultando na formação de uma nova DSF, do tipo eutético. Esta DSF apresentou um único evento endotérmico relativo à sua fusão em 128,03 °C (T_{onset}). Esta temperatura foi inferior às temperaturas de fusão dos compostos de partida, indicando a melhoria da hidrossolubilidade da ETA quando presente na DSF obtida neste estudo. Desta forma, o material obtido neste trabalho é promissor para a melhoria da biodisponibilidade e da eficácia terapêutica da ETA no tratamento da tuberculose, bem como para a redução dos seus efeitos colaterais.

Palavras-chave: Nutracêutico, Ácido *p*-aminobenzóico, Etionamida, Dispersão sólida, Eutético.

ABSTRACT:

Obtaining solid dispersions of drugs (DSFs) has been used as an alternative to improve the physicochemical properties of these compounds, such as improving their water solubility. This work aimed to obtain and characterize a DSF of the tuberculostat Ethionamide (ETA), using *p*-Aminobenzoic acid (PABA) as a cofomer, via Mechanochemical Milling (MM). Initially, molecular modeling of these compounds was performed using Density Functional Theory (DFT) based study. Then, binary mixtures of ETA-PABA at different molar ratios were obtained via MM. These binary mixtures were characterized by Powder X-ray Diffraction (XRD) and by Differential Scanning Calorimetry (DSC). The results obtained by the DFT study of the starting compounds showed the occurrence of electrophilic and nucleophilic regions represented by functional groups and, therefore, amenable to interaction. Thus, it was observed that the thioamide grouping (electrophilic region) of ETA can interact with the carboxyl grouping (nucleophilic regions) of PABA. The XRD analyses of the binary ETA-PABA mixtures obtained in this study did not show the occurrence of intermolecular interactions between ETA and PABA. However, the DSC curves of these mixtures showed the existence of physical interaction between these compounds for the binary mixture ETA-PABA (1:1), resulting in the formation of a new DSF, of the eutectic type. This DSF showed a single endothermic event related to its melting at 128.03 °C (T_{onset}). This temperature was lower than the melting temperatures of the starting compounds, indicating the improved water-solubility of ETA when present in the DSF obtained in this study. Thus, the material obtained in this work is very promising for improving the bioavailability and therapeutic efficacy of ETA in the treatment of tuberculosis, as well as for reducing its side effects.

Keywords: Nutraceutical, *p*-Aminobenzoic acid, Ethionamide, Solid dispersion, Eutectic.

1. INTRODUÇÃO

Atualmente, a sociedade vem se tornando cada vez mais complexa modificando seus padrões de vida. Desta maneira, os consumidores procuram por alimentos mais saudáveis que possuem um ou mais nutrientes adicionados que apresentam efeitos benéficos para a saúde, envolvendo componentes com atividade fisiológica e biológica, além dos seus nutrientes para a obtenção de uma vida mais saudável (Anjo, 2004). Dessa forma, surgiu a preferência por alimentos ricos em compostos bioativos, denominados nutracêuticos, que atuam de modo a diminuir o risco de incidência de doenças agudas e crônicas (Dima *et al.*, 2020).

O termo nutracêutico pode ser definido como uma variedade de alimentos e componentes alimentícios, os quais apresentam benefícios à saúde (Hugenholtz *et al.*, 2002). De acordo com Andlauer e Furst (2002), os nutracêuticos podem ser classificados como suplementos dietéticos, ácidos graxos poliinsaturados, proteínas, peptídios, aminoácidos ou cetoácidos, minerais, vitaminas antioxidantes e outros antioxidantes, tais como glutatona e selênio. Dentre os diversos constituintes nutracêuticos, temos o ácido *p*-aminobenzóico que se enquadra como suplementos dietéticos.

O ácido *p*-aminobenzóico (PABA) (Figura 1) é uma substância química que apresenta fórmula molecular $C_7H_7NO_2$ e massa molar (MM) igual a $137,14 \text{ g mol}^{-1}$ com pKa de 2,38. Apresenta-se fisicamente como um pó cristalino de cor branca ou branco-amarelado, inodoro, de sabor amargo, ligeiramente hidrossolúvel e altamente solúvel em álcoois (Perrin *et al.*, 1981). Sua estrutura consiste em um anel benzeno ligado a um grupo amina e a um grupo carboxila, presença destes grupamentos possibilita interações por ligação de hidrogênio a outras moléculas (Perrin *et al.*, 1981, Mashhadi *et al.*, 2021). O PABA está prontamente disponível a partir de fontes alimentares, portanto, uma deficiência nutricional de PABA é rara, sinais específicos de deficiência deste composto incluem doenças de pele como rugas prematuras (Ealth Mall, 2022).

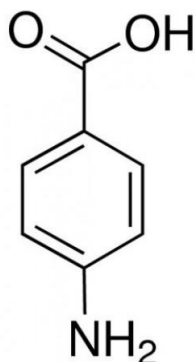


Figura 1 - Estrutura química do Ácido *p*-aminobenzoico (PABA).

A Etionamida (ETA) (Figura 2) é um fármaco que faz parte de um grupo de insumos farmacêuticos ativos (IFAs) utilizados no tratamento da tuberculose. Esta substância pertence à Classe II do Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB), pois possui baixa hidrossolubilidade e alta permeabilidade membranar (Mannava *et al.*, 2016; Colleter *et al.*, 1968). Em meio aquoso, a ETA é praticamente insolúvel (solubilidade de 0,389 mg/mL). Essa baixa solubilidade em água influencia na velocidade de absorção e prejudica a sua biodisponibilidade e a sua eficácia terapêutica (Borges, 2012). A ETA possui fórmula molecular $C_8H_{10}N_2S$ e massa molar 166,24 g/mol. Ela apresenta-se com aspecto de pó cristalino amarelo ou pequenos cristais amarelados, sendo solúvel em álcool metílico, ligeiramente solúvel em álcool etílico e pouco solúvel em propilenoglicol (Mannava *et al.*, 2016; Colleter *et al.*, 1968; Diniz, 2017).

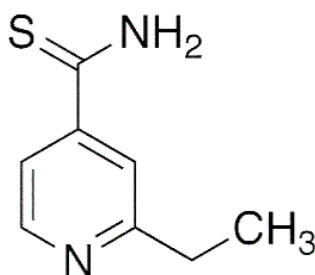


Figura 2 - Estrutura química da Etionamida (ETA).

As dispersões sólidas de fármacos (DSFs) consistem na dispersão de um IFA em um carreador ou matriz no estado sólido, objetivando a melhoria da hidrossolubilidade e o aumento da taxa de dissolução de fármacos pouco solúveis (Janssens *et al.*, 2008). Elas também têm sido utilizadas para aumentar a estabilidade química de fármacos em solução ou suspensão. Além disso, as DSFs apresentam características estruturais e químicas diferentes daquelas apresentadas pelo fármaco em sua forma cristalina, podendo causar mudanças na estabilidade térmica, no processamento e na absorção do fármaco solúveis (Janssens *et al.*, 2008; Sethia *et*

al., 2003). A mistura eutética é um tipo de DSF que é caracterizada por apresentar o ponto de fusão inferior ao ponto de fusão dos seus compostos de partida e por aumentar a solubilidade em água dos seus constituintes (Santos, 2010).

Dessa forma, este trabalho objetivou realizar obtenção e caracterização de uma dispersão sólida da etionamida utilizando o ácido *p*-aminobenzóico como coformador. Para tanto, neste estudo foi realizada a modelagem molecular dos compostos de partida (ETA e PABA) por meio do estudo teórico empregando a Teoria do Funcional da Densidade (DFT) (Hohenberg & Kohn, 1964). Posteriormente, a DSF obtida foi caracterizada por Difração de Raios X pelo Método do Pó (DRXP) e por Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC).

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Modelagem Molecular dos compostos de partida (PABA e ETA)

A caracterização das moléculas químicas isoladas dos compostos de partida (ETA e PABA) ocorreu com a aplicação de cálculos computacionais, utilizando a modelagem molecular por meio do estudo teórico empregando a Teoria do Funcional da Densidade (DFT). A primeira etapa (Etapa I) consistiu no desenho de cada molécula, utilizando o software de desenho e visualização gráfica *ChemCraft* (Zhurko, 2020). O mesmo permitiu, por meio da representação tridimensional (3D) das moléculas a obtenção das coordenadas cartesianas necessárias para a criação dos arquivos de entrada (*input files*).

A Etapa II consistiu na criação dos arquivos de entrada (*input*), no qual foi inserido o funcional DFT ω B97X-D com o conjunto de funções de base 6-311++G(d,p) (Chai e Head-Gordon, 2008). Após a criação do arquivo *input*, estes foram submetidos ao *software Gaussian 16* (Frisch *et al.*, 2016), através do *Clusters* (parceria com a *ComputeCanada*), para a realização da otimização de geometria de cada composto, sendo considerado um mínimo de energia na curva de energia potencial, com todas as frequências positivas, confirmando a geometria otimizada como ponto de mínimo na curva de energia potencial, uma vez que todas as frequências vibracionais são positivas.

Na Etapa III foi realizada a análise dos resultados, utilizando o referido *software*, onde foram analisados os arquivos de saída do cálculo computacional (*output files*) contendo os resultados teóricos calculados. Assim, foi possível obter para cada composto de partida a sua geometria otimizada, além dos índices globais de reatividade. Estes índices são calculados por meio das propriedades eletrônicas de cada composto e foram *HOMO* (do inglês, *Highest Occupied Molecular Orbital*) e *LUMO* (do inglês, *Lowest Unoccupied Molecular Orbital*), *Gap*

(calculado a partir da diferença das energias do *HOMO* e do *LUMO*), dureza (η), potencial químico (μ) e maciez (S). Tais índices foram calculados tendo por base os valores de energia dos orbitais *HOMO* e *LUMO*, empregando as seguintes equações (Batista, 2016):

$$\eta = \frac{1}{2} \varepsilon_{(LUMO)} - \varepsilon_{(HOMO)} \quad (1)$$

$$\mu = \frac{1}{2} \varepsilon_{(HOMO)} + \varepsilon_{(LUMO)} \quad (2)$$

$$S = \frac{1}{\eta} \quad (3)$$

$$\omega = \frac{\mu^2}{2\eta} \quad (4)$$

2.2. Obtenção do eutético de ETA-PABA (1:1) via Moagem Mecanoquímica (MM)

Os reagentes (fármaco e coformador) utilizados para obtenção do material eutético foram da marca *Sigma Aldrich*, sendo que foram utilizados a ETA (pureza $\geq 98,0\%$) e PABA (pureza $\geq 99,0\%$). O método de Moagem Mecanoquímica (MM) foi utilizado para obtenção das misturas binárias ETA-PABA nas razões molares de (1:1, 3:1; 2:1, 1:2 e 1:3). Desta forma, para a obtenção destas misturas foram pesadas massas de ETA e de PABA suficientes para se alcançar uma massa total de 100,00 mg. Para o cálculo das massas foram consideradas as purezas de cada reagente. As massas utilizadas para a preparação das diferentes razões molares são apresentadas pela Tabela 1. Em seguida, as massas foram colocadas em um grau de ágata e elas foram submetidas à MM, utilizando um pistilo de ágata por 10 minutos. Posteriormente, os materiais foram coletados e armazenados em dessecador, ao abrigo de luz e da umidade. Para fins de comparação e de verificação da ocorrência de polimorfismo após a MM, os compostos de partida (ETA e PABA) foram submetidos ao este processo e foram denominados de ETA_T e PABA_T. Em seguida, todas as amostras foram caracterizadas por DRXP e por DSC.

Tabela 2 – Razões molares e respectivas massas de fármaco e coformador, utilizados na obtenção das misturas binárias de ETA-PABA

Razões molares	ETA (mg)	PABA (mg)
3:1	80,00	21,78
2:1	72,21	29,49
1:1	55,89	45,65
1:2	38,49	62,88
1:3	29,35	71,93

Fonte: Autoria própria (2022)

2.3. Caracterização por Difração de Raios X pelo Método do Pó (DRXP)

Os compostos de partida triturados (ETA_T e PABA_T) e as suas misturas binárias foram caracterizados por DRXP. Para tanto, os difratogramas foram obtidos em um equipamento *PANalytical Empyrean*, utilizando geometria de reflexão Bragg-Brentano (θ - θ) e radiação Cu K α ($\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$), operando com tensão de 40 kV e corrente de 30 mA, à temperatura ambiente. Os padrões de difração foram coletados no intervalo de 5° a 45° (2θ), utilizando um passo angular de 0,02° e com tempo de contagem de 2 segundos de aquisição por passo. Os valores dos picos cristalográficos foram obtidos a partir do software *X'Pert HighScore Plus* (versão 2.0, marca *PANalytical*). Posteriormente, os resultados encontrados para os compostos de partida, foram comparados com os dados relatados no banco de dados cristalográfico em inglês *Cambridge Crystallographic Data Centre* (CCDC) ConQuest, versão 1.19 (CSD System, 2016) utilizando o método de Rietveld.

2.4. Caracterização por Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

Os compostos de partida triturados (ETA_T e PABA_T) e as suas misturas binárias foram caracterizados por DSC. Estas análises foram obtidas em um analisador térmico da marca *Shimadzu Instruments*, modelo DSC-60 com intervalo de temperatura de 25 a 230 °C sob atmosfera dinâmica de nitrogênio com vazão de 50 mL min⁻¹ e razão de aquecimento de 5 °C min⁻¹. Para as análises foram utilizados cadinhos de alumínio e a massa da amostra utilizada foi de aproximadamente 2,00 mg.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

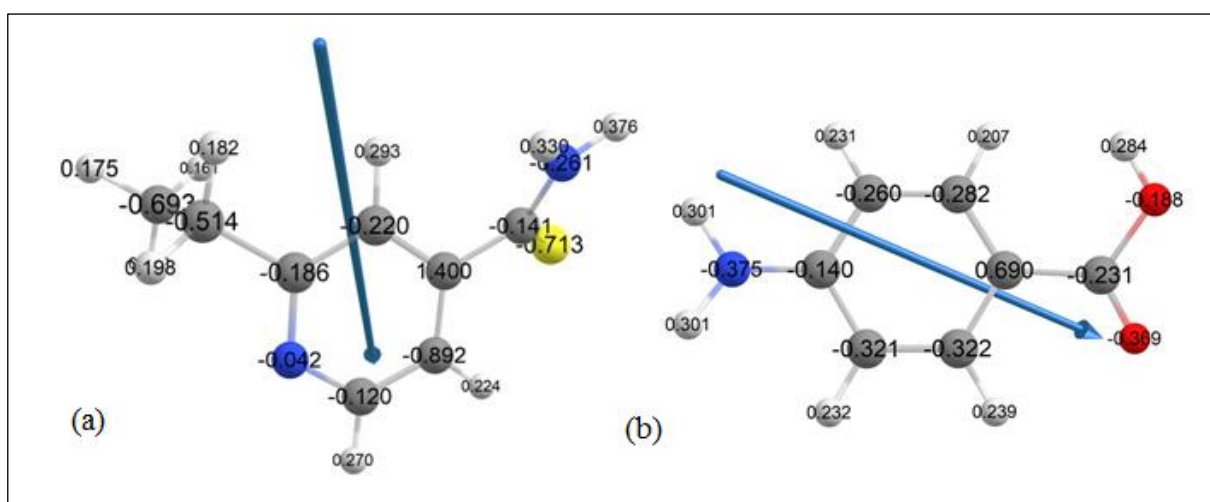
3.1. Modelagem molecular dos compostos de partida (ETA e PABA)

As propriedades eletrônicas dos compostos de partida ETA e PABA foram modeladas. A Figura 3 mostra as geometrias otimizadas com os seus momentos de dipolo da ETA e PABA. A partir da modelagem molecular foram obtidas as geometrias otimizadas a partir dos cálculos realizados com o uso do método ω B97X-D em associação com o conjunto de base 6-311++g(d,p), encontrando-se a geometria otimizada em cada caso. O vetor de momento dipolo está direcionado para a região com maior densidade eletrônica, em cada uma das geometrias otimizadas obtidas

As geometrias otimizadas foram obtidas para as moléculas de ETA e PABA. A realização da modelagem molecular para a ETA e PABA foi tomada com base no fato de que a maioria dos estudos realizados para a obtenção de DSFs para a ETA ocorrem com espécies ácidas, como ácido glutâmico, o ácido malônico, o ácido tartárico (Bordignon *et al.*, 2020) e o ácido salicílico (Bernasconi *et al.*, 2019) sendo obtidos DSF do tipo sal e sal-cocrystal. As DSF relatadas foram obtidas por meio de uma interação ácido-base, proveniente do fármaco protonado e o seu correspondente coformador atuando como contra-íon.

Desta forma a Figura 3 apresenta as geometrias estabilizadas para a ETA e PABA, além do vetor momento dipolo resultante de cada molécula.

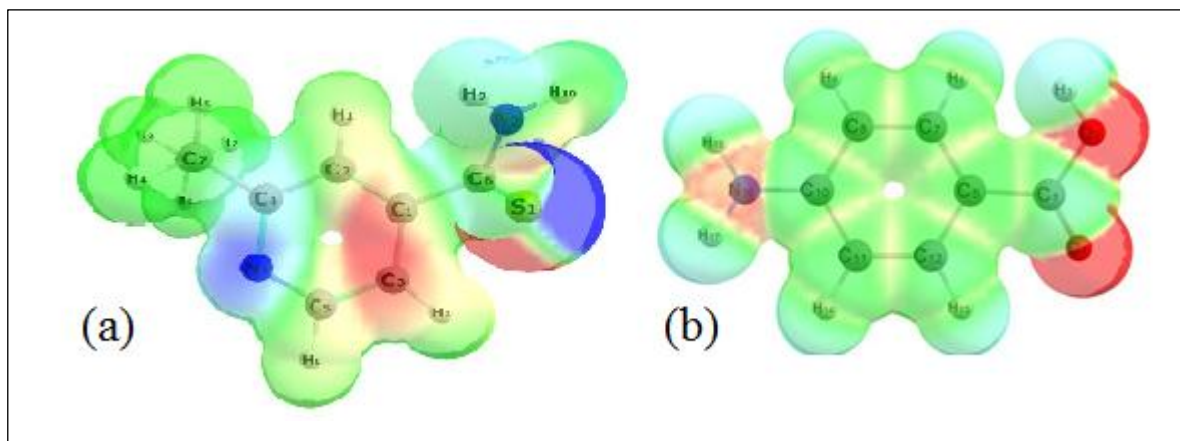
Figura 3 – Representação das geometrias otimizadas, cargas parciais e a orientação do vetor momento de dipolo para (a) ETA; (b) PABA



A estrutura da ETA e PABA apresentaram valores de momento de dipolo igual a $6,68 \times 10^{-1}$ D (Debye) e 5,90 D (Debye), respectivamente. Este momento de dipolo está relacionado com a soma vetorial dos momentos relacionados com as ligações polares individuais, estando, portanto, relacionada também com a disposição espacial dos átomos e com a presença de elétrons não ligantes. Podemos concluir que estes materiais são substâncias orgânicas polares (momento dipolo diferente de zero). O vetor da ETA passou a apontar na direção do grupamento tioamida e do nitrogênio do anel piridínico, dando um indicativo de que essa região poderá atuar como doadora de elétrons, em uma possível interação com outra molécula no processo de obtenção de uma DSF, uma vez que a interpretação do vetor momento dipolo está ligado a polaridade da molécula (Nataraj *et al.*, 2013). Já para a molécula de PABA (Figura 3(b)) apresentou momento de dipolo atuando predominantemente no sentido do grupo carboxílico (-COOH) presente na estrutura desta molécula.

O mapa de potencial eletrostático (MPE) é uma ferramenta da química computacional capaz de fornecer a densidade de cargas de uma molécula, fornecendo regiões que concentram uma alta densidade eletrônica (carga parcial negativa δ^-), bem como regiões cuja a nuvem eletrônica está mais deslocada, apresentando, portanto, carga parcial positiva δ^+ (Thakuria *et al.*, 2013). A Figura 4a e 4b apresentam os mapas de potencial eletrostático dos compostos de partida ETA e PABA.

Figura 4 – Mapa de potencial eletrostático (MPE), obtido para as moléculas de: (a) ETA; (b) PABA



Com base na modelagem molecular, foi possível ainda obter o mapa de potencial eletrostático (MPE), indicando a densidade das cargas distribuídas nos átomos da molécula de ETA, como também para a molécula de PABA. O MPE representa as regiões que concentram a ocorrência de alta densidade eletrônica (carga parcial negativa) e regiões de baixa densidade eletrônica (carga parcial positiva). A Figura 4 apresenta o MPE para a molécula ETA (Figura 4(a)) e PABA (Figura 4(b)).

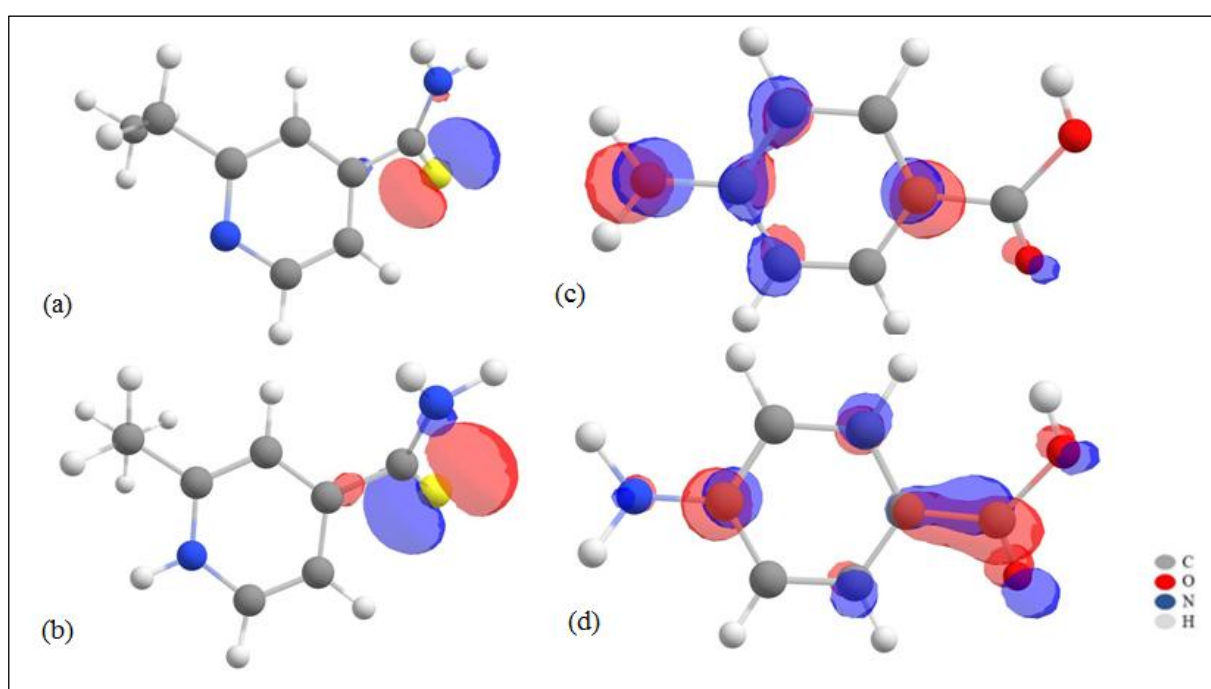
A partir da análise das regiões mostradas no MPE da ETA na Figura 4a, foi possível identificar as regiões eletrofílica (potencial eletrostático positivo) que estão apresentadas em azul, e as regiões nucleofílicas (potencial eletrostático negativo) representadas de vermelho.

Segundo o MPE obtido para a molécula de ETA, apresentado na Figura 4(a), é possível observar as regiões eletrofílica que aparecem destacadas em azul que estão concentradas em torno dos átomos de nitrogênio e desta a região de maior probabilidade para interação localiza-se no grupamento tioamida, viabilizando sua participação em interações intermoleculares do tipo de ligações de hidrogênio com o coformador PABA. Para a molécula de PABA, o MPE apresentou regiões nucleofílicas concentradas em torno dos átomos de oxigênio do grupo carboxílico (-COOH).

Os orbitais moleculares de fronteira *HOMO* e *LUMO* para a ETA e PABA foram obtidos a partir das geometrias otimizadas apresentadas por essas moléculas. As distribuições espaciais para esses orbitais podem ser observadas na Figura 5. Os orbitais *HOMO* e *LUMO* denominados

orbitais de fronteira desempenham papéis essenciais nas mais variadas reações químicas de compostos, saturados ou insaturados (Nataraj *et al.*, 2013). Para a molécula de ETA, o orbital *HOMO* se encontra predominantemente situado sobre o átomo de enxofre, enquanto que o orbital *LUMO* se encontram localizados sobre os átomos de nitrogênio e dos átomos de carbono da cadeia heterocíclica. Algo similar é observado para a molécula de PABA, o orbital *HOMO* se apresentou situado sobre os átomos de oxigênio e átomos de carbono próximos ao NH₂, enquanto que o orbital *LUMO* apresentou-se localizado nas proximidades do grupo carboxila.

Figura 5 – Orbitais *HOMO* e *LUMO* para as moléculas de ETA e PABA. (a) *HOMO* ETA; (b) *LUMO* ETA; (c) *HOMO* PABA; (d) *LUMO* PABA



Além do MPE, a modelagem molecular empregada para as moléculas de ETA e PABA possibilitou determinar seus índices de reatividade. A Tabela 3 apresenta os valores de dureza (η), potencial químico (μ) e maciez (S) calculados para as moléculas de ETA e PABA conforme as equações 01 a 04.

Tabela 3 – Índices de reatividade obtidos para a molécula de ETA e PABA

Propriedade	ETA	PABA
<i>HOMO</i> (eV)	-0,31	-0,29
<i>LUMO</i> (eV)	-0,02	0,01
<i>Gap</i> (eV)	0,29	0,31
η (eV)	0,15	0,16
μ (eV)	-0,15	-0,16
S (eV)	6,73	6,38
ω (eV)	0,07	0,08

Nota: HOMO = Orbital molecular ocupado de mais alta energia; LUMO = Orbital molecular desocupado de mais baixa energia; *gap* = (LUMO – HOMO); η = dureza; μ = potencial químico;

S = maciez; valores em eV;

3.2 Obtenção do eutético de ETA-PABA (1:1) via Moagem Mecanoquímica (MM)

Na Figura 6 estão apresentados os aspectos macroscópicos dos compostos de partida triturados (ETA_T e PABA_T) e as suas misturas binárias (ETA:PABA) nas razões molares obtidas neste estudo (3:1; 2:1; 1:1; 1:2 e 1:3) via MM. As Figuras 6(a) e 6(g) apresentam a ETA_T e PABA_T com aspecto de pó amarelo e branco respectivamente. Para as razões molares ambas se apresentam em uma coloração amarela, com exceções das proporções ETA-PABA (1:2) (Figura 6e) e ETA-PABA (1:3) (Figura 6f) que apresentam aspectos amarelados mais claro uma vez que o PABA se encontra em maior proporção nestas razões molares.

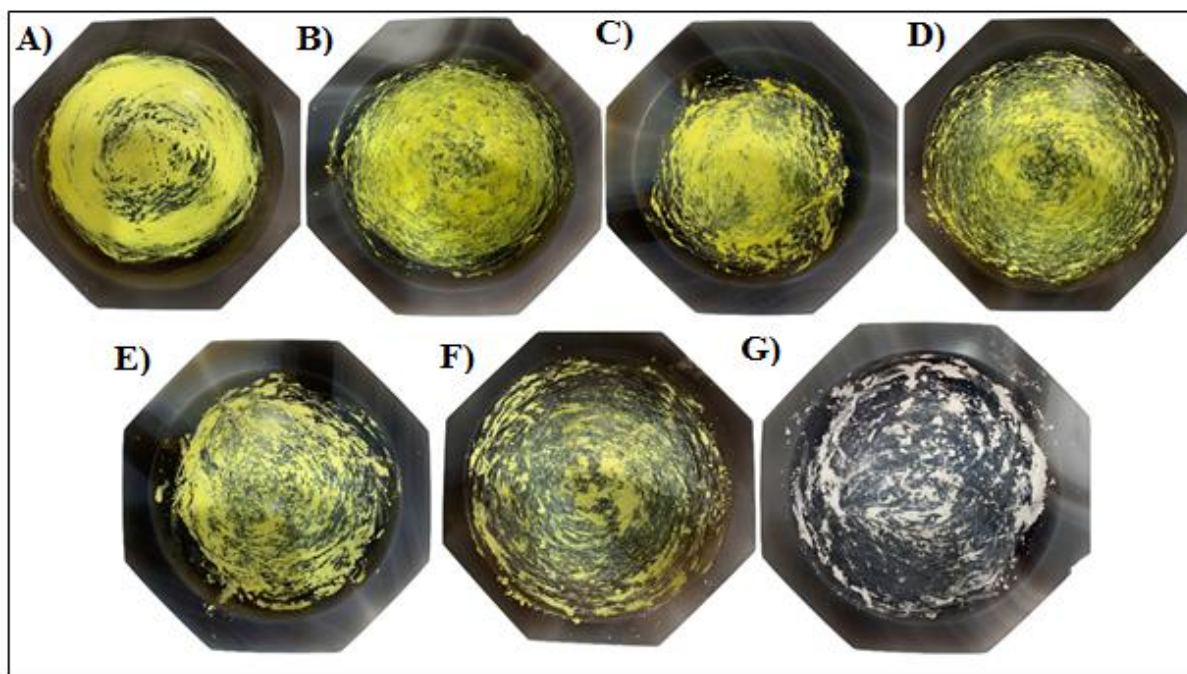


Figura 6 – Proporções molares trituradas (A) ETA; (B) ETA-PABA (3:1); (C) ETA-PABA (2:1); (D) ETA-PABA (1:1); (E) ETA-PABA (1:2); (F) ETA-PABA (1:3) e (G) PABA.

3.3 Caracterização por Difração de Raios X pelo Método do Pó (DRXP)

A Figura 7 (a) apresenta os perfis de Difração de Raios X dos compostos de partida triturados (ETA_T e PABA_T) e das suas razões molares investigadas nesse estudo. As Figuras 7 (b) e (c) apresentam os refinamentos dos difratogramas do ETA_T e do PABA_T obtidos pelo método de Rietveld, respectivamente. Também foi realizada a investigação da relação estequiométrica para a obtenção da DSF de ETA-PABA. Dessa forma, foram obtidas misturas

binárias (ETA:PABA) em diferentes proporções molares, cujos difratogramas são mostrados na Figura 7 (a).

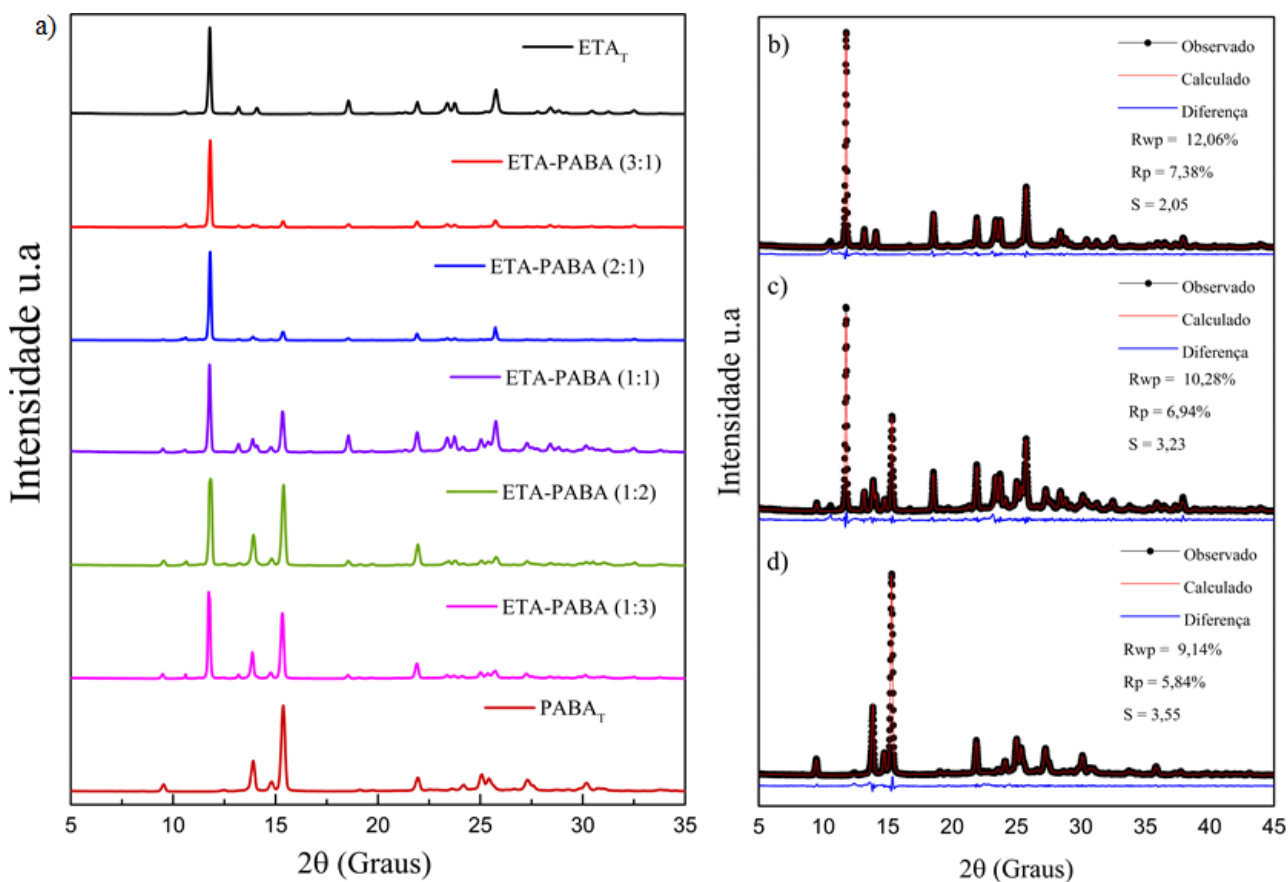


Figura 7 – (a) Difratogramas do ETA_T, do PABA_T e de suas misturas binárias ETA-PABA. Refinamentos de estruturas obtidos pelo método de Rietveld para o ETA_T (b), para a mistura binária ETA-PABA (1:1) (c) e PABA_T (d).

Os resultados obtidos a partir deste refinamento para o padrão de difração da ETA (Código CCDC: ETCYPY01) mostraram fatores de convergência satisfatórios (Rwp= 12,06 %, Rp = 7,38 % e S = 2,05). Assim, este fármaco se encontra na sua Forma I pertencente ao grupo espacial P21/c, estrutura cristalina monoclinica com parâmetros de rede de a(Å) = 7,163 (<1), b (Å) = 7,923 (<1) e c(Å)= 8,665(<1), α (°) = 90, β (°) = 109,39, γ (°) = 90 ().

Para o PABA (Código CCDC: AMBNAC06), observou-se que os resultados deste refinamento também se apresentaram satisfatórios para os fatores de convergência de Rwp = 9,14%, Rp = 5,84% e S = 3,55. Portanto, a comparação do resultado obtido com o padrão de difração do PABA permite afirmar que o composto se encontra na Forma α , pertencente ao grupo espacial P21/n e parâmetros de rede de a(Å) = 18,571 (<1), b (Å) = 3,843 (<1) e c(Å)= 18,632(<1), α (°) = 90, β (°) = 93,72, γ (°) = 90, assim, apresentando estrutura cristalina referente ao sistema espacial monoclinico (Athimoonlam, 2007).

A partir dos resultados obtidos por DRXP para as misturas binárias ETA-PABA, foi possível observar que os padrões de difração destes materiais equivalem ao somatório dos padrões de difração dos compostos de partida, como também mostrado pelo refinamento de estruturas obtido pelo Método de Rietveld do difratograma da mistura binária ETA-PABA (1:1). Assim, nas condições experimentais utilizada neste estudo, não há evidência de interação intermolecular entre os compostos ETA e PABA.

3.4 Caracterização por Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

A Figura 8 apresenta as curvas de DSC obtidas para os compostos de partida triturados (ETA_T e PABA_T) e para as suas misturas binárias nas razões molares investigadas nesse estudo. A Tabela 4 apresenta os principais parâmetros termodinâmicos observados nestas curvas.

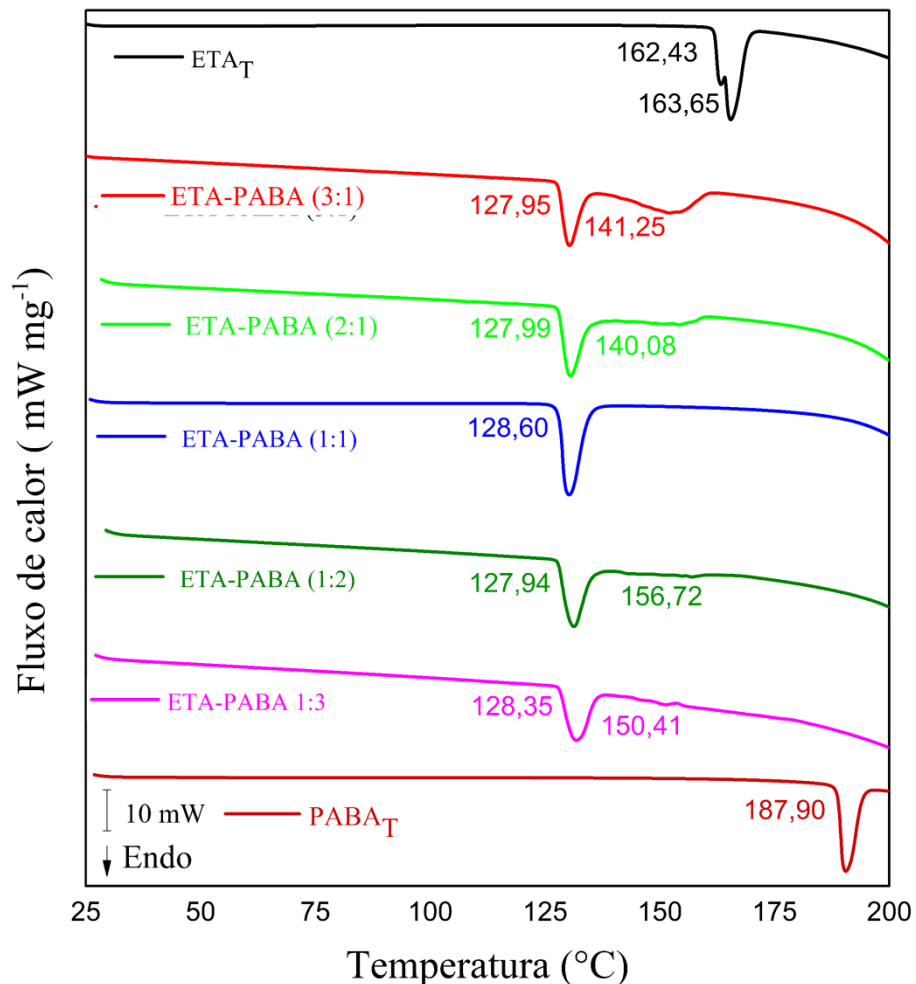


Figura 8: Curvas de DSC obtidas para os compostos de partida triturados (ETA_T e PABA_T) e para as suas misturas binárias nas razões molares investigadas nesse estudo.

A curva de DSC da ETA_T apresentou duas endotermas, ambas referem-se à fusão da etionamida observada em 161,74 (T_{onset}) e 162,93 °C (T_{onset}) como descrito por Nechipadappu & Trivedi (2017). A curva de DSC da PABA_T apresentou um único evento edotérmico relativo à sua fusão observada em 188,87 °C (T_{onset}) (Garg e Sarkar, 2016).

Tabela 4 – Principais parâmetros termodinâmicos observados nas curvas de DSC dos compostos de partida triturados (ETA_T e PABA_T) e para as suas razões molares investigadas nesse estudo.

Amostra	Evento	Temperatura (°C)			ΔH _f (kJ/mol)
		T _{Onset}	T _{Pico}	T _{Endset}	
ETA _T	Fusão	161,74	163,31	145,80	- 4,31
	Fusão	162,93	165,52	168,94	- 16,54
ETA-PABA (3:1)	Fusão do eutético	127,06	130,33	133,60	- 28,81
	Fusão da ETA (excesso)	141,68	151,95	160,09	- 28,94
ETA-PABA (2:1)	Fusão do eutético	127,99	130,34	134,01	- 42,93
	Fusão da ETA (excesso)	153,67	154,14	159,64	- 6,71
ETA-PABA (1:1)	Fusão do eutético	128,03	130,37	134,17	- 39,49
ETA-PABA (1:2)	Fusão do eutético	127,89	131,72	134,92	- 44,97
	Fusão do PABA (excesso)	166,22	156,98	159,65	- 1,15
ETA-PABA (1:3)	Fusão do eutético	128,27	131,85	136,03	- 40,13
	Fusão do PABA (excesso)	148,67	151,37	153,80	-1,12
PABA _T	Fusão	188,87	190,62	193,99	-37,74

Fonte: Autoria própria (2022)

A curva de DSC da mistura binária de ETA-PABA (1:1) apresentou apenas um evento endotérmico referente à fusão deste material em 128,03 °C (T_{onset}), evidenciando a ocorrência de interação física entre os compostos de partida, resultando na formação de uma nova DSF destes fármacos. Além disso, a temperatura de fusão observada para o eutético ETA-PABA (1:1) foi inferior àquelas temperaturas apresentadas pelos compostos de partida, indicando que estes fármacos apresentam-se mais hidrossolúveis quando presentes na mistura eutética em relação à solubilidade aquosa destes compostos quando na forma de base livre cristalina.

As curvas de DSC das demais razões molares de ETA-PABA também apresentaram endotermas em torno de 128,00 °C (T_{onset}) que equivalem à fusão da mistura eutética, também formada nestas misturas binárias. Entretanto, nestas razões molares a interação não ocorreu de forma estequiométrica e, dessa forma, as suas curvas de DSC mostraram excesso da ETA (razões molares de 3:1 e de 2:1) ou do PABA (razões molares de 1:2 e de 1:3).

Em um diagrama de fases a razão percentual eutética (eixo X) e a temperatura são os termos usados para descrever o ponto eutético (eixo Y), que ocorre quando um soluto sólido, um solvente sólido e uma mistura líquida existem na mesma fase. Em um clássico diagrama de fase de padrão V, indica a formação de uma simples mistura eutética, onde o ponto mínimo do

'V representa a razão molar e a temperatura do ponto eutético (Raghavan, 2015). O triângulo de Tamman é utilizado para confirmar o ponto eutético previsto a partir da mudança na entalpia de fusão da transição de fusão correspondente ao sistema eutético. Esta entalpia aumenta para atingir um máximo antes de diminuir novamente ao variar as proporções relativas dos materiais formadores eutéticos. O ponto de inflexão corresponde à composição ótima do sistema eutético (Maciejewski *et al.*, 2008).

A partir das temperaturas de fusão ($^{\circ}\text{C} - T_{onset}$) e de seus respectivos valores de entalpia (ΔH_f em kJ/mol) das endotermas observadas nas curvas de DSC (Figura 8), foram obtidos o Diagrama de Fases Binário (Figura 9) e o Triângulo de Tamman (Figura 10).

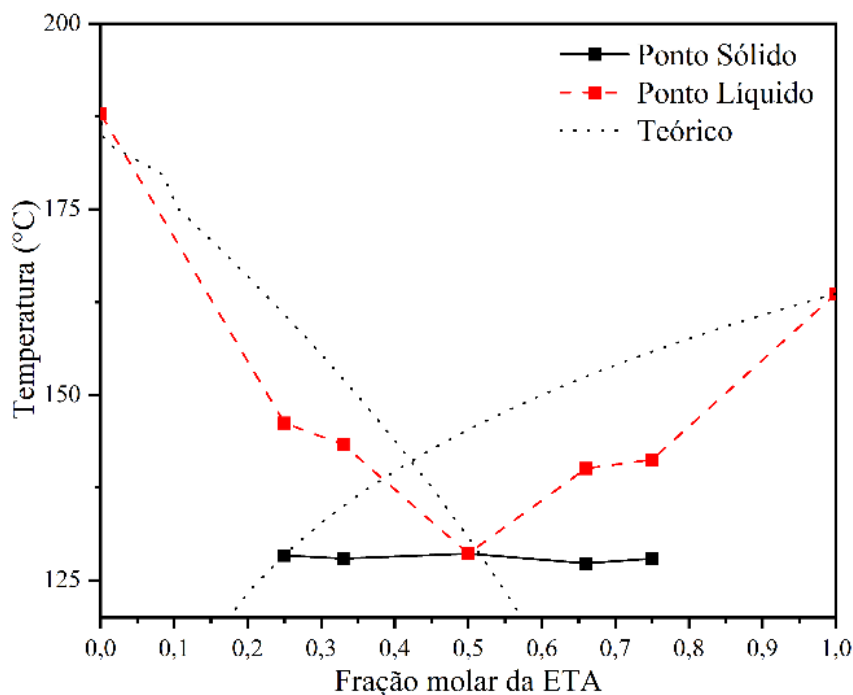


Figura 9: Diagrama de Fases Binárias da ETA e do PABA nas misturas preparadas por MM com razão molar de 0,25, 0,33, 0,5, 0,66, 0,75.

Um padrão em forma de V aparece no diagrama de fases eutético como resultado da transição de baixa fusão do eutético e sua fusão congruente em comparação com as misturas físicas. As duas linhas demonstram os pontos sólido e líquido, as linhas delimitam as regiões em que a mistura é inteiramente sólida (abaixo da linha sólida), uma mistura de sólido + líquido (entre linhas) ou totalmente líquida (acima da linha líquida), como mostrado na Figura 9.

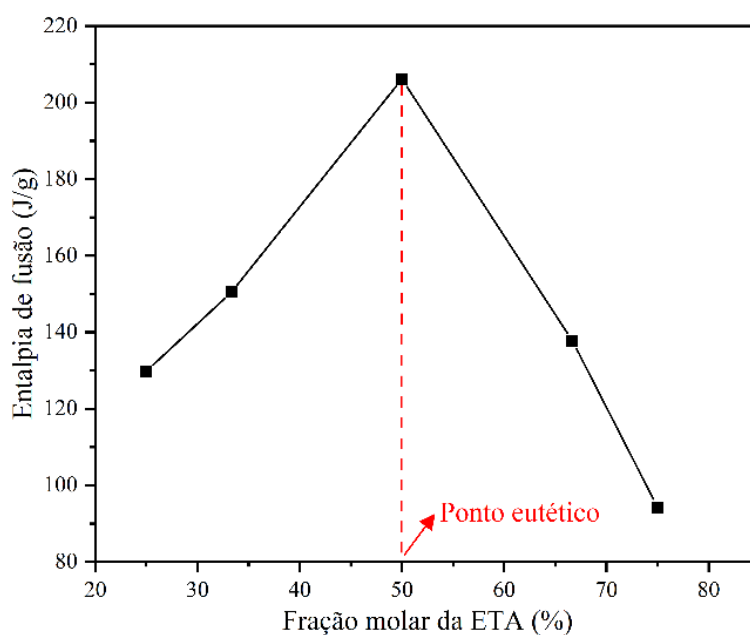


Figura 10: Triângulo de Tamman das misturas ETA e PABA preparadas por MM com razão molar de 0,25, 0,33, 0,5, 0,66, 0,75.

Os valores de entalpia foram também usados para traçar o triângulo de Tamman para confirmar o ponto eutético previsto em cada fração molar (Figura 10). Há um aumento da entalpia até a mistura eutética, que apresenta um valor máximo de entalpia em relação às demais frações, seguido de uma diminuição. Desta forma foi confirmado a razão molar de formação do eutético de 0,5 de ETA, assim sendo a razão molar de (fármaco:coformador) de 1:1. Em estudo realizado por Wicaksono *et al.* (2018), os autores obtiveram uma dispersão sólida do tipo eutético do fármaco cetoprofeno com o ácido succínico, no qual o Triângulo de Tamman para a mistura binária apresentou-se em forma de V invertido semelhante ao obtido neste estudo, visto que esta forma é característico para uma mistura eutética.

4. CONCLUSÃO

Neste trabalho foram obtidas dispersões sólidas do tipo eutético das misturas binárias ETA-PABA, onde foi possível realizar a caracterização estrutural e térmicas destes materiais. Neste estudo, os resultados DRXP das misturas obtidas não evidenciaram a interação intermolecular, visto que os picos cristalinos eram somatórios dos picos dos compostos de partida. Os resultados de DSC, apontaram a formação de uma dispersão sólida do tipo eutético, devido ao adiantamento do ponto de fusão, em relação aos compostos de partida ETA e PABA. Devido ao caráter inédito desta dispersão sólida, foi possível realizar o pedido de patenteamento

deste material, sendo depositado junto ao Instituto Nacional de Proteção Intelectual (INPI) a patente de número BR 10 2022 007963 3 apresentada no APÊNDICE.

A redução da temperatura de fusão na dispersão sólida obtida é um indicativo para o aumento da hidrossolubilidade da ETA, o material obtido neste estudo é muito promissor para a melhoria da biodisponibilidade e da eficácia terapêutica da ETA. Assim, contribuindo com a redução dos efeitos colaterais deste fármaco e do abandono da terapia medicamentosa da tuberculose.

REFERÊNCIAS

- Andlauer, W., & Fürst, P. (2002). Nutracêuticos: um pedaço de história, status atual e perspectivas. *Food Research International*, 35 (2-3), 171-176. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0963-9969\(01\)00179-X](https://doi.org/10.1016/S0963-9969(01)00179-X)
- Anjo, D. F. C. (2020). Alimentos funcionais em angiologia e cirurgia vascular. *Jornal Vascular Brasileiro*, 3(2), 145-154.
- Batista, V. H., Granato, A. C., & Angelotti, W. F. (2016). Comparação entre Funcionais de Densidade no Estudo de Propriedades Eletrônicas de derivados da Artemisinina. *Química Nova*, 39, 298-304. DOI: <https://doi.org/10.5935/0100-4042.20160040>.
- Bordignon, S., Cerreia Vioglio, P., Amadio, E., Rossi, F., Priola, E., Voinovich, D., ... & Chierotti, M. R. (2020). Molecular Crystal Forms of Antitubercular Ethionamide with Dicarboxylic Acids: Solid-State Properties and a Combined Structural and Spectroscopic Study. *Pharmaceutics*, 12(9), 818. DOI: <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics12090818>.
- Bordignon, S., Cerreia Vioglio, P., Amadio, E., Rossi, F., Priola, E., Voinovich, D., ... & Chierotti, M. R. (2020). Molecular Crystal Forms of Antitubercular Ethionamide with Dicarboxylic Acids: Solid-State Properties and a Combined Structural and Spectroscopic Study. *Pharmaceutics*, 12(9), 818. DOI: <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics12090818>
- Chai, J. D., & Head-Gordon, M. (2008). Long-range corrected hybrid density functionals with damped atom–atom dispersion corrections. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 10(44), 6615-6620. DOI: <https://doi.org/10.1039/B810189B>.
- Colleter, J. C., & Gadret, M. (1968). Structure cristalline de composés antituberculeux. I. Structure cristalline du chlorhydrate d'éthionamide. *Acta Crystallographica Section B: Structural Crystallography and Crystal Chemistry*, 24(4), 513-519. DOI: <https://doi.org/10.1107/S056774086800275X>.
- Diniz, L. F., Carvalho Jr, P. S., de Melo, C. C., & Ellena, J. (2017). Development of a salt drug with improved solubility: Ethionamide nitrate. *Journal of Molecular Structure*, 1137, 119-125. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2017.02.036>.
- EALTH MALL. (18/09/2022). *Ácido p-aminobenzóico*. Disponível em: <https://www.health-mall.in/health-library-view.aspx?id=112>.

Fernandes, H. P. (2014). Desenvolvimento do controle de qualidade de um produto nutracêutico na forma farmacêutica cápsula.

Fernandes, R. P., de Carvalho, A. C. S., Ekawa, B., do Nascimento, A. L. S. C., Pironi, A. M., Chorilli, M., & Caires, F. J. (2020). Synthesis and characterization of meloxicam eutectics with mandelic acid and saccharin for enhanced solubility. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, *46*(7), 1092-1099.

FRISCH, M. J. E. A. *et al.* (2009). *Gaussian 09*, revision D. 01.

Garg, R. K., & Sarkar, D. (2016). Polymorphism control of p-aminobenzoic acid by isothermal anti-solvent crystallization. *Journal of Crystal Growth*, *454*, 180-185.

Hohenberg, P. and W. Kohn, Inhomogeneous electron gas. *Physical review*, 1964. 136(3B): p. B864.

Hugenholtz, J., Hunik, J., Santos, H., & Smid, E. (2002). Produção de nutracêuticos por propionibactérias. *Le Lait*, *82* (1), 103-112.

Janssens, S., de Armas, H. N., D'Autry, W., Van Schepdael, A., & Van den Mooter, G. (2008). Characterization of ternary solid dispersions of Itraconazole in polyethylene glycol 6000/polyvidone-vinylacetate 64 blends. *European journal of pharmaceuticals and biopharmaceutics*, *69*(3), 1114-1120. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2008.02.007>.

Maciejewski, M., Brunner, T. J., Loher, S. F., Stark, W. J., & Baiker, A. (2008). Phase transitions in amorphous calcium phosphates with different Ca/P ratios. *Thermochimica acta*, *468*(1-2), 75-80. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tca.2007.11.022>.

Mannava, M. C., Suresh, K., & Nangia, A. (2016). Enhanced bioavailability in the oxalate salt of the anti-tuberculosis drug ethionamide. *Crystal Growth & Design*, *16*(3), 1591-1598. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.cgd.5b01700>.

Mashhadi, S. M. A., Batsanov, A. S., Sajjad, S. A., Nazir, Y., Bhatti, M. H., & Yunus, U. (2021). Isoniazid-gentisic acid cocrystallization: solubility, stability, dissolution rate, antioxidant and flowability properties studies. *Journal of Molecular Structure*, *1226*, 129388. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2020.129388>.

Nataraj, A., Balachandran, V., & Karthick, T. (2013). Molecular orbital studies (hardness, chemical potential, electrophilicity, and first electron excitation), vibrational investigation and theoretical NBO analysis of 2-hydroxy-5-bromobenzaldehyde by density functional method. *Journal of Molecular Structure*, *1031*, 221-233. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2012.09.047>.

Nechipadappu, SK, & Trivedi, DR (2017). Sais farmacêuticos de etionamida com doadores de contra-íon GRAS para aumentar a solubilidade. *Jornal Europeu de Ciências Farmacêuticas*, *96*, 578-589. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2016.10.035>

Perrin, D. D., Dempsey, B., & Serjeant, E. P. (1981). *pKa prediction for organic acids and bases* (Vol. 1). London: Chapman and Hall.

Raghavan, V. (2015). *Physical metallurgy: principles and practice*. PHI Learning Pvt. Ltd..

Santos, A. L. D. (2010). *Preparação e caracterização de uma mistura eutética baseada em um derivado de óleo essencial extraído do Syzygium aromaticum L* (Doctoral dissertation, Universidade de São Paulo).

Sethia, S., & Squillante III, E. (2003). Solid dispersions: revival with greater possibilities and applications in oral drug delivery. *Critical Reviews™ in Therapeutic Drug Carrier Systems*, 20(2&3).DOI: 10.1615/CritRevTherDrugCarrierSyst.v20.i23.40.

Souza, M. A. F. D. (2008). Dos laboratórios aos pontos de venda: uma análise da trajetória dos alimentos funcionais e nutracêuticos e da sua repercussão sobre a questão agroalimentar.

Thakuria, R., Delori, A., Jones, W., Lipert, M. P., Roy, L., & Rodríguez-Hornedo, N. (2013). Pharmaceutical cocrystals and poorly soluble drugs. *International journal of pharmaceutics*, 453(1), 101-125.DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2012.10.043>.

Wicaksono, Y., Setyawan, D., & Siswandono, S. (2018). Phase Diagram and Thermodynamic Properties of Ketoprofen-Succinic Acid Binary Mixtures. *Jurnal ILMU DASAR*, 19(2), 99-104. DOI:10.19184/jid.v19i2.5521

Zhurko, G., Zhurko, D. *Chemcraft versão 1.6 (build 338)*. URL: <http://www.chemcraftprog.com>.

APÊNDICE A – Pedido de Depósito de Patente junto ao INPI



26/04/2022 870220035577
19:01
29409161948437340

Pedido nacional de Invenção, Modelo de Utilidade, Certificado de Adição de Invenção e entrada na fase nacional do PCT

Número do Processo: BR 10 2022 007963 3

Dados do Depositante (71)

Depositante 1 de 1

Nome ou Razão Social: UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO

Tipo de Pessoa: Pessoa Jurídica

CPF/CNPJ: 06279103000119

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Jurídica: Instituição de Ensino e Pesquisa

Endereço: Cidade Universitária Dom Delgado, Av. dos Portugueses, 1966, Vila Bacanga.

Cidade: São Luis

Estado: MA

CEP: 65080-805

País: Brasil

Telefone: (98) 32728710

Fax:

Email: ageufma.cprp@ufma.br

Dados do Pedido

Natureza Patente: 10 - Patente de Invenção (PI)

Título da Invenção ou Modelo de Utilidade (54): DISPERSÃO SÓLIDA DE ETIONAMIDA PARA A PRODUÇÃO DE MEDICAMENTOS PARA O TRATAMENTO DA TUBERCULOSE

Resumo: Esta invenção refere-se à obtenção de uma dispersão sólida do tipo eutético a partir da interação entre o Composto I (Etionamida – ETA) e o Composto II (Ácido 4-Aminobenzóico – PABA) na razão molar de 1:1 utilizando a técnica de moagem mecanoquímica (MM). Os materiais obtidos foram caracterizados por Difração de Raios X pelo Método do Pó (DRXP) e por Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC). Os resultados de DRXP mostraram que não houve evidência de interação intermolecular entre os compostos. Entretanto, as curvas de DSC evidenciaram a interação física entre eles. A partir da análise por DSC realizadas nas misturas em diferentes pontos estequiométricos obteve-se o diagrama de fases binárias e triângulo de Tamman confirmando o ponto eutético ideal como sendo a fração molar (1:1) (Composto I: Composto II). Esta dispersão apresentou evento térmico único referente à sua fusão em 128,03 °C, temperatura inferior às temperaturas de fusão dos compostos de partida, indicando o aumento da hidrossolubilidade da ETA presente no eutético. Assim, o material obtido é muito promissor para a melhoria da biodisponibilidade e da eficácia terapêutica da ETA, bem como para a redução dos efeitos colaterais deste fármaco e o aumento da adesão da terapia medicamentosa da tuberculose.

Figura a publicar: 01

ANEXO

ANEXO 1 – NORMAS PARA SUBMISSÃO DE ARTIGOS PARA PUBLICAÇÃO NA REVISTA FOOD CHEMISTRY

Article structure

Follow this order when typing manuscripts: Title, Authors, Affiliations, Abstract, Keywords, Main text (Introduction, Material and Methods, Results, Conclusion), Acknowledgements, Appendix, References, Figure Captions. The corresponding author should be identified with an asterisk and footnote. All other footnotes (except for table footnotes) should be identified with superscript Arabic numbers. The title of the paper should unambiguously reflect its contents.

Essential title page information

- Title. Concise and informative. Titles are often used in information-retrieval systems. Avoid abbreviations and formulae where possible.
- Author names and affiliations. Please clearly indicate the given name(s) and family name(s) of each author and check that all names are accurately spelled. You can add your name between parentheses in your own script behind the English transliteration. Present the authors' affiliation addresses (where the actual work was done) below the names. Indicate all affiliations with a lower- case superscript letter immediately after the author's name and in front of the appropriate address. Provide the full postal address of each affiliation, including the country name and, if available, the e-mail address of each author.
- Corresponding author. Clearly indicate who will handle correspondence at all stages of refereeing and publication, also post-publication. This responsibility includes answering any future queries about Methodology and Materials. Ensure that the e-mail address is given and that contact details are kept up to date by the corresponding author.
- Present/permanent address. If an author has moved since the work described in the article was done, or was visiting at the time, a 'Present address' (or 'Permanent address') may be indicated as a footnote to that author's name. The address at which the author actually did the

work must be retained as the main, affiliation address. Superscript Arabic numerals are used for such footnotes.

Highlights

Highlights increase the discoverability of your article via search engines. They consist of a short collection of bullet points that capture the novel results of your research as well as new methods that were used during the study (if any). Please have a look at the examples here: [example Highlights](#). [example Highlights](#).

Highlights should be submitted in a separate editable file in the online submission system. Please use 'Highlights' in the file name and include 3 to 5 bullet points (maximum 85 characters, including spaces, per bullet point).

Abstract

A concise and factual abstract is required. The abstract should state briefly the purpose of the research, the principal results and major conclusions. An abstract is often presented separately from the article, so it must be able to stand alone. For this reason, References should be avoided, but if essential, then cite the author(s) and year(s). Also, non-standard or uncommon abbreviations should be avoided, but if essential they must be defined at their first mention in the abstract itself.

The abstract should not exceed 150 words.

Keywords

Immediately after the abstract, provide a maximum of 6 keywords, using American spelling and avoiding general and plural terms and multiple concepts (avoid, for example, 'and', 'of'). Be sparing with abbreviations: only abbreviations firmly established in the field may be eligible. These keywords will be used for indexing purposes.

Subdivision - numbered sections

Divide your article into clearly defined and numbered sections. Subsections should be numbered

1.1 (then 1.1.1, 1.1.2, ...), 1.2, etc. (the abstract is not included in section numbering). Use this numbering also for internal cross-referencing: do not just refer to 'the text'. Any subsection may be given a brief heading. Each heading should appear on its own separate line.

Introduction

State the objectives of the work and provide an adequate background, avoiding a detailed literature survey or a summary of the results.

Hypotheses

Nearly all scientific papers benefit from inclusion of a statement of hypothesis. Such statements should be clear, concise, and declarative. The statement should describe the one or more key hypotheses that the work described in the manuscript was intended to confirm or refute. Inclusion of a hypothesis statement makes it simple to contrast the hypothesis with the most relevant previous literature and point out what the authors feel is distinct about the current hypothesis (novelty). It also permits the authors to describe why they feel it would be important to prove the hypothesis correct (significance). The hypothesis shall be stated in the introductory section, and the conclusion section shall include your conclusion about whether the hypothesis was confirmed or refuted, as well as describing any new hypotheses generated by the work described. Here is an example of a famous, excellent hypothesis statement; declarative, concise, clear, and testable: "Equal volumes of gases, at the same temperature and pressure, contain equal numbers of molecules." Lorenzo Romano Amedeo Carlo Avogadro di Quareqa e di Carreto (Avogadro), 1811

Material and methods

Provide sufficient details to allow the work to be reproduced by an independent researcher. Methods that are already published should be summarized, and indicated by a reference. If quoting directly from a previously published method, use quotation marks and also cite the source. Any modifications to existing methods should also be described.

Theory/calculation

A Theory section should extend, not repeat, the background to the article already dealt with in the Introduction and lay the foundation for further work. In contrast, a Calculation section represents a practical development from a theoretical basis.

Results

Results should be clear and concise.

Discussion

This should explore the significance of the results of the work, not repeat them. A combined Results and Discussion section is often appropriate. Avoid extensive citations and discussion of published literature.

Conclusions

The main conclusions of the study may be presented in a short Conclusions section, which may stand alone or form a subsection of a Discussion or Results and Discussion section.

Appendices

If there is more than one appendix, they should be identified as A, B, etc. Formulae and equations in appendices should be given separate numbering: Eq. (A.1), Eq. (A.2), etc.; in a subsequent appendix, Eq. (B.1) and so on. Similarly for tables and figures: Table A.1; Fig. A.1, etc.

Graphical abstract

Although a graphical abstract is optional, its use is encouraged as it draws more attention to the online article. The graphical abstract should summarize the contents of the article in a concise, pictorial form designed to capture the attention of a wide readership. Graphical abstracts should be submitted as a separate file in the online submission system. Image size: Please provide an image with a minimum of 531×1328 pixels (h \times w) or proportionally more. The image should be readable at a size of 5×13 cm using a regular screen resolution of 96 dpi. Preferred file types: TIFF, EPS, PDF or MS Office files. You can view Example Graphical Abstracts on our information site.

Authors can make use of Elsevier's Illustration Services to ensure the best presentation of their images and in accordance with all technical requirements.

Abbreviations

Define abbreviations that are not standard in this field in a footnote to be placed on the first page of the article. Such abbreviations that are unavoidable in the abstract must be defined at their first mention there, as well as in the footnote. Ensure consistency of abbreviations throughout the article.

Acknowledgements

Collate acknowledgements in a separate section at the end of the article before the references and do not, therefore, include them on the title page, as a footnote to the title or otherwise. List here those individuals who provided help during the research (e.g., providing language help, writing assistance or proof reading the article, etc.).

Chemical compounds

You can enrich your article by providing a list of chemical compounds studied in the article. The list of compounds will be used to extract relevant information from the NCBI PubChem Compound database and display it next to the online version of the article on ScienceDirect. You can include up to 10 names of chemical compounds in the article. For each compound, please provide the PubChem CID of the most relevant record as in the following example: Glutamic acid (PubChem CID:611). Please position the list of compounds immediately below

the 'Keywords' section. It is strongly recommended to follow the exact text formatting as in the example below:

Chemical compounds studied in this article

Ethylene glycol (PubChem CID: 174); Plitidepsin (PubChem CID: 44152164); Benzalkonium chloride (PubChem CID: 15865) More information.

Formatting of funding sources

List funding sources in this standard way to facilitate compliance to funder's requirements:

Funding: This work was supported by the National Institutes of Health [grant numbers xxxx, yyyy]; the Bill & Melinda Gates Foundation, Seattle, WA [grant number zzzz]; and the United States Institutes of Peace [grant number aaaa].

It is not necessary to include detailed descriptions on the program or type of grants and awards. When funding is from a block grant or other resources available to a university, college, or other research institution, submit the name of the institute or organization that provided the funding.

If no funding has been provided for the research, please include the following sentence:

This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

Math formulae

Please submit math equations as editable text and not as images. Present simple formulae in line with normal text where possible and use the solidus (/) instead of a horizontal line for small fractional terms, e.g., X/Y. In principle, variables are to be presented in italics. Powers of e are often more conveniently denoted by exp. Number consecutively any equations that have to be displayed separately from the text (if referred to explicitly in the text).

Footnotes

Footnotes should be used sparingly. Number them consecutively throughout the article. Many word processors can build footnotes into the text, and this feature may be used. Otherwise, please indicate the position of footnotes in the text and list the footnotes themselves separately at the end of the article. Do not include footnotes in the Reference list.

Statistics

Appropriate application of statistical analysis should be applied throughout the article.

Units

Follow internationally accepted rules and conventions: use the international system of units (SI). If other units are mentioned, please give their equivalent in SI. Temperatures should be given in degrees Celsius. The unit 'billion' is ambiguous and should not be used.

Abbreviations for units should follow the suggestions of the British Standards publication BS 1991. The full stop should not be included in abbreviations, e.g. m (not m.), ppm (not p.p.m.); % and '/' should be used in preference to 'per cent' and 'per'. Where abbreviations are likely to cause ambiguity or might not be understood easily by an international readership, units should be spelled out in full.

Artwork Electronic artwork General points

- Make sure you use uniform lettering and sizing of your original artwork.
- Embed the used fonts if the application provides that option.
- Aim to use the following fonts in your illustrations: Arial, Courier, Times New Roman, Symbol, or use fonts that look similar.
- Number the illustrations according to their sequence in the text.
- Use a logical naming convention for your artwork files.

- Size the illustrations close to the desired dimensions of the published version.
- Submit each illustration as a separate file.
- Ensure that color images are accessible to all, including those with impaired color vision.

A detailed guide on electronic artwork is available.

You are urged to visit this site; some excerpts from the detailed information are given here.

Formats

If your electronic artwork is created in a Microsoft Office application (Word, PowerPoint, Excel) then please supply 'as is' in the native document format.

Regardless of the application used other than Microsoft Office, when your electronic artwork is finalized, please 'Save as' or convert the images to one of the following formats (note the resolution requirements for line drawings, halftones, and line/halftone combinations given below):

EPS (or PDF): Vector drawings, embed all used fonts.

TIFF (or JPEG): Color or grayscale photographs (halftones), keep to a minimum of 300 dpi.

TIFF (or JPEG): Bitmapped (pure black & white pixels) line drawings, keep to a minimum of 1000 dpi. TIFF (or JPEG): Combinations bitmapped line/half-tone (color or grayscale), keep to a minimum of 500 dpi.

Please do not:

- Supply files that are optimized for screen use (e.g., GIF, BMP, PICT, WPG); these typically have a low number of pixels and limited set of colors;
- Supply files that are too low in resolution;
- Submit graphics that are disproportionately large for the content.

Color artwork

Please make sure that artwork files are in an acceptable format (TIFF (or JPEG), EPS (or PDF) or MS Office files) and with the correct resolution. If, together with your accepted article, you submit usable color figures then Elsevier will ensure, at no additional charge, that these figures will appear in color online (e.g., ScienceDirect and other sites). Further information on the preparation of electronic artwork.

Illustration services

Elsevier's Author Services offers Illustration Services to authors preparing to submit a manuscript but concerned about the quality of the images accompanying their article. Elsevier's expert illustrators can produce scientific, technical and medical-style images, as well as a full range of charts, tables and graphs. Image 'polishing' is also available, where our illustrators take your image(s) and improve them to a professional standard. Please visit the website to find out more.

Figure Captions

Ensure that each illustration has a caption. A caption should comprise a brief title (not on the figure itself) and a description of the illustration. Keep text in the illustrations themselves to a minimum but explain all symbols and abbreviations used.

Tables

Please submit tables as editable text and not as images. Tables can be placed either next to the relevant text in the article, or on separate page(s) at the end. Number tables consecutively in accordance with their appearance in the text and place any table notes below the table body. Be sparing in the use of tables and ensure that the data presented in them do not duplicate results described elsewhere in the article. Please avoid using vertical rules and shading in table cells.

References

Citation in text

Please ensure that every reference cited in the text is also present in the reference list (and vice versa). Any references cited in the abstract must be given in full. Unpublished results and personal communications are not recommended in the reference list, but may be mentioned in the text. If these references are included in the reference list they should follow the standard reference style of the journal and should include a substitution of the publication date with either 'Unpublished results' or 'Personal communication'. Citation of a reference as 'in press' implies that the item has been accepted for publication.

Reference links

Increased discoverability of research and high quality peer review are ensured by online links to the sources cited. In order to allow us to create links to abstracting and indexing services, such as Scopus, CrossRef and PubMed, please ensure that data provided in the references are correct. Please note that incorrect surnames, journal/book titles, publication year and pagination may prevent link creation. When copying references, please be careful as they may already contain errors. Use of the DOI is highly encouraged.

A DOI is guaranteed never to change, so you can use it as a permanent link to any electronic article. An example of a citation using DOI for an article not yet in an issue is: VanDecar J.C., Russo R.M., James D.E., Ambeh W.B., Franke M. (2003). Aseismic continuation of the Lesser Antilles slab beneath northeastern Venezuela. *Journal of Geophysical Research*, <https://doi.org/10.1029/2001JB000884>. Please note the format of such citations should be in the same style as all other references in the paper.

Web references

As a minimum, the full URL should be given and the date when the reference was last accessed. Any further information, if known (DOI, author names, dates, reference to a source publication, etc.), should also be given. Web references can be listed separately (e.g., after the reference list) under a different heading if desired, or can be included in the reference list.

Data references

This journal encourages you to cite underlying or relevant datasets in your manuscript by citing them in your text and including a data reference in your Reference List. Data references should include the following elements: author name(s), dataset title, data repository, version (where available), year, and global persistent identifier. Add [dataset] immediately before the reference so we can properly identify it as a data reference. The [dataset] identifier will not appear in your published article.

References in a special issue

Please ensure that the words 'this issue' are added to any references in the list (and any citations in the text) to other articles in the same Special Issue.

Reference management software

Most Elsevier journals have their reference template available in many of the most popular reference management software products. These include all products that support Citation Style Language styles, such as Mendeley. Using citation plug-ins from these products, authors only need to select the appropriate journal template when preparing their article, after which citations and bibliographies will be automatically formatted in the journal's style. If no template is yet available for this journal, please follow the format of the sample references and citations as shown in this Guide. If you use reference management software, please ensure that you remove all field codes before submitting the electronic manuscript. More information on how to remove field codes from different reference management software.

Reference style

Text: Citations in the text should follow the referencing style used by the American Psychological Association. You are referred to the Publication Manual of the American Psychological Association, Seventh Edition, ISBN 978-1-4338-3215-4, copies of which may be ordered online.

List: references should be arranged first alphabetically and then further sorted chronologically if necessary. More than one reference from the same author(s) in the same year must be identified by the letters 'a', 'b', 'c', etc., placed after the year of publication.

Examples:

Reference to a journal publication:

Van der Geer, J., Hanraads, J. A. J., & Lupton, R. A. (2010). The art of writing a scientific article.

Journal of Scientific Communications, 163, 51–59. <https://doi.org/10.1016/j.sc.2010.00372>.

Reference to a journal publication with an article number:

Van der Geer, J., Hanraads, J. A. J., & Lupton, R. A. (2018). The art of writing a scientific article.

Heliyon, 19, Article e00205. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2018.e00205>. Reference to a book:

Strunk, W., Jr., & White, E. B. (2000). The elements of style (4th ed.). Longman (Chapter 4).

Reference to a chapter in an edited book:

Mettam, G. R., & Adams, L. B. (2009). How to prepare an electronic version of your article. In B. S. Jones, & R. Z. Smith (Eds.), *Introduction to the electronic age* (pp. 281–304). EPublishing Inc.

Reference to a website:

Powertech Systems. (2015). Lithium-ion vs lead-acid cost analysis. Retrieved from <http://www.powertechsystems.eu/home/tech-corner/lithium-ion-vs-lead-acid-costanalysis/>. Accessed January 6, 2016

Reference to a dataset:
[dataset] Oguro, M., Imahiro, S., Saito, S., & Nakashizuka, T. (2015). Mortality data for Japanese oak wilt disease and surrounding forest compositions. *Mendeley Data*, v1. <https://doi.org/10.17632/xwj98nb39r.1>.

Reference to a conference paper or poster presentation:

Engle, E.K., Cash, T.F., & Jarry, J.L. (2009, November). The Body Image Behaviours Inventory-3: Development and validation of the Body Image Compulsive Actions and Body Image Avoidance Scales. Poster session presentation at the meeting of the Association for Behavioural and Cognitive Therapies, New York, NY.

Reference to software:

Coon, E., Berndt, M., Jan, A., Svyatsky, D., Atchley, A., Kikinzon, E., Harp, D., Manzini, G., Shelef, E., Lipnikov, K., Garimella, R., Xu, C., Moulton, D., Karra, S., Painter, S., Jafarov, E., & Molins, S. (2020, March 25). Advanced Terrestrial Simulator (ATS) v0.88 (Version 0.88). Zenodo. <https://doi.org/10.5281/zenodo.3727209>.

Journal abbreviations source

Journal names should be abbreviated according to the List of Title Word Abbreviations.