

EMPREGO DE BETA-CICLODEXTRINA NO AUMENTO DA FOTOESTABILIDADE DO ATIVO FARMACÊUTICO BOSENTANA

FRONZA, Liandra Giovanna Souza¹

WEBLER, Emanuelle Menegazzo²

ROSA, Mauricio Ferreira³

LOBO, Viviane da Silva⁴

RESUMO

A hipertensão arterial pulmonar (HAP) é uma patologia que acomete o sistema respiratório, causando fadiga e intolerância ao esforço. Além de ser uma doença incurável, sua evolução é rápida, e existem poucas opções efetivas para o tratamento. Um dos fármacos indicados para esta patologia é a Bosentana. Um dos pontos negativos deste fármaco é a sua baixa solubilidade em água, e a inexistência de relatos sobre sua fotoestabilidade em solução aquosa. Este trabalho investiga o efeito do agente encapsulante beta-ciclodextrina na modificação da solubilidade e da fotoestabilidade deste ativo quando em solução aquosa. Para a irradiação foi empregado um fotorreator Rayonet® equipado com lâmpadas com máximo de emissão em 254 nm ou 300 nm. Observou-se experimentalmente que a presença de beta-ciclodextrina acarretou aumento da solubilidade do fármaco, e que o maior efeito de fotoproteção, devido à presença de beta-ciclodextrina, ocorreu para o comprimento de onda de 254 nm

PALAVRAS-CHAVE: hipertensão arterial pulmonar. complexo de inclusão. fotoproteção..

USE OF BETA-CYCLODEXTRIN IN INCREASING THE PHOTOSTABILITY OF THE PHARMACEUTICAL ACTIVE BOSENTAN

ABSTRACT

Pulmonary arterial hypertension (PAH) is a pathology that affects the respiratory system, causing fatigue and effort intolerance. In addition to being an incurable disease, its evolution is rapid, and there are few effective treatment options. One of the drugs recommended for this pathology is Bosentan. One drawback of this drug is its low solubility in water, and the lack of reports on its photostability in aqueous solution. This work investigates the effect of the encapsulating agent beta-cyclodextrin in modifying the solubility and photostability of this active ingredient when in aqueous solution. For irradiation, a Rayonet® photoreactor equipped with lamps with maximum emission at 254 nm or 300 nm was used. It was experimentally observed that the presence of beta-cyclodextrin increased the solubility of the drug, and that the greatest photoprotection effect, due to the presence of beta-cyclodextrin, occurred at a wavelength of 254 nm.

KEYWORDS: pulmonary arterial hypertension, inclusion complex, photoprotection.

1. INTRODUÇÃO

A hipertensão arterial pulmonar (HAP) caracteriza-se como uma condição patológica presente quando a pressão sistólica pulmonar e a pressão média, em repouso, excedem 30 e 25 mmHg, respectivamente, ou quando a pressão sistólica pulmonar excede 35 mmHg e a pressão média pulmonar é superior a 30 mmHg durante o esforço. O sintoma mais comum é a intolerância ao esforço (dispneia de esforço) e a fadiga, pelo baixo débito cardíaco, de caráter progressivo, indicativo de disfunção ventricular direita secundária (LOPES, 2015). Esta doença pode se instalar silenciosamente

¹ Bacharelanda em Química, Unioeste/Toledo. E-mail: liandra.giovanna@gmail.com

² Mestre em Ciências Farmacêuticas, Prati-Donaduzzi. E-mail: manumenegazzo@hotmail.com

³ Doutor em Química Orgânica, Unioeste/Toledo. E-mail: mauricio.rosa@unioeste.br

⁴ Doutora em Química Inorgânica, UTFPR/Toledo. E-mail: viviane.lobo@yahoo.com.br

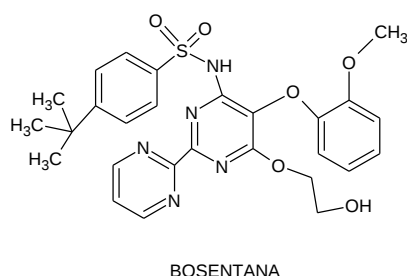
em consequência de doenças cardíacas, doenças sistêmicas, ou de doenças do parênquima pulmonar ou da vasculatura pulmonar. A HAP primária é uma doença incurável, cujo tempo médio de sobrevida após o diagnóstico é de aproximadamente 2,5 anos, sendo que os preditores de pior prognóstico são a intensidade da HAP, o grau de disfunção ventricular direita, o baixo débito cardíaco, o grau de insaturação periférica e a baixa tolerância ao esforço.

Segundo Lopes (2015), a maioria dos pacientes morre em decorrência da falência ventricular direita (choque cardiogênico) e, aproximadamente 10%, subitamente. O autor ainda destaca que é uma síndrome complexa para a qual não existem esquemas simples de avaliação diagnóstica e orientação terapêutica.

Estudos de Lopes (2015) indicam que as classes de medicamentos específicos aprovados para uso no tratamento farmacológico desta patologia são os análogos da prostaciclina, inibidores da fosfodiesterase 5 e os inibidores dos receptores de endotelina.

Estudos ainda mostram melhora hemodinâmica e funcional, e redução na mortalidade associada ao uso de inibidores do receptor de endotelina, medicação que é, em geral, bem tolerada (HOETTE; JARDIM; SOUZA, 2010). Dentre os medicamentos inibidores dos receptores de endotelina temos a Bosentana (BOS) (Figura 1).

Figura 1 – Fórmulas químicas estruturais dos fármacos Bosentana, Ambrisentana e Sitaxsentana.



Fonte: Adaptado de Selej *et al* (2015), pelo programa ACD/ChemSketch 2015 2.5.

No Brasil, o governo disponibiliza apenas três medicamentos de uso oral para o tratamento da HAP, conforme descrito na Relação Nacional de Medicamentos Essenciais (BRASIL, 2020): Bosentana, Ambrisentana e Sildenafil. Por questões de custo, o acesso ao Sildenafil é mais viável, mas, muitos pacientes não respondem satisfatoriamente ao tratamento, o que exige uma terapia combinada envolvendo a associação com medicamentos de outra classe terapêutica, como evidenciado por Hoette, Jardim e Souza (2010), sendo que também pode ser necessária a substituição do tratamento por outro medicamento.

Pathan *et al.* (2022) apontam que um dos principais problemas da BOS é a sua baixa solubilidade em água. Segundo informação do Drugbank (2024) a solubilidade em água da BOS é de

somente 0,00904 mg mL⁻¹. Turkan *et al.* (2022) afirmam que a biodisponibilidade máxima do ativo é de 45 a 50% da dose administrada, assim, para que o tratamento atinja eficácia é necessário que as doses diárias sejam elevadas, o que tem por consequência o aumento dos custos e a baixa adesão do paciente ao tratamento.

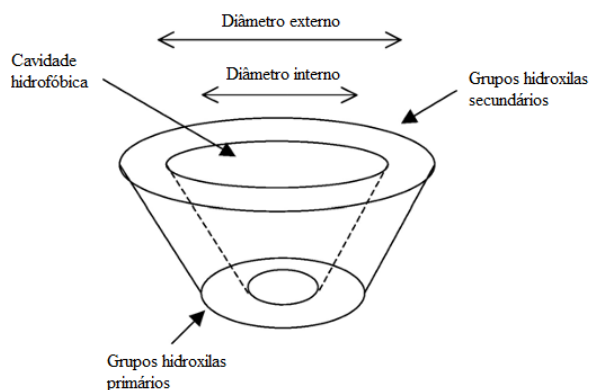
2. REFERENCIAL TEÓRICO

Entre as diversas áreas da ciência que estudam estratégias para melhorar as alternativas terapêuticas de diversos medicamentos, a tecnologia farmacêutica merece destaque por apresentar alternativas que proporcionam alterações nas características físico-químicas dos medicamentos, com a finalidade de solucionar desafios inerentes da característica molecular dos fármacos, seja através de excipientes e co-adjuvantes na formulação ou também por meio de processos produtivos diferenciados.

Na literatura são encontrados algumas metodologias que visam aumentar a solubilidade em solução aquosa do ativo BOS, ou então amentar a sua biodisponibilidade facilitando sua absorção pelo organismo. Pathan *et al.* (2022) estudaram a técnica de hibridização, que consiste, resumidamente na complexação do ativo com um agente complexante, neste caso captisol, e depois a dispersão do complexo em um solvente não volátil e mistura física com um carreador sólido. Kendre *et al.* (2021) desenvolveram um adesivo bucal empregando HMPC K100 LV e Carbopol 934P, usando Soluplus® como agente encapsulante carreador. Já Sajedi-Amin *et al.* (2017) propuseram a utilização de etanol como cosolvente na formulação de soluções aquosas. Todos os processos relatados, apesar de apresentarem bons resultados, apresentam a inconveniência dos custos das matérias-prima utilizadas e da complexidade do processo, ou então a utilização de solventes orgânicos.

Brewster e Loftsson (2007), em seu trabalho de revisão, evidenciam a utilização de ciclodextrinas (CD's) como solubizantes farmacêuticos. Estruturalmente as CD's possuem a forma de um cone truncado, tendo uma região interna, denominada cavidade, que pode abrigar uma molécula de dimensões compatíveis. Uma característica química importante dessas moléculas é que elas possuem o interior (cavidade) hidrofóbico e o exterior hidrofílico, devido à presença de grupos hidroxílicos que são capazes de formar ligações hidrogênio com a água (Figura 2). Desta forma as CD's apresentam solubilidade em água e são capazes de interagir com moléculas apolares, devido ao seu interior hidrofóbico (*guest-host*).

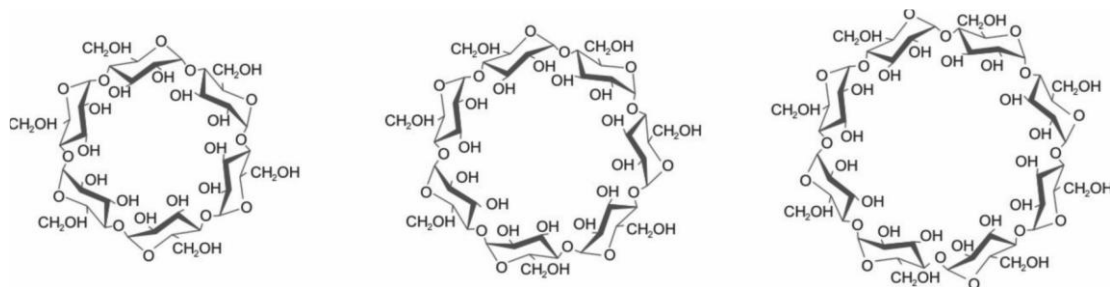
Figura 2 – Representação esquemática da estrutura da CD.



Fonte: adaptado de Brewster e Loftsson (2007).

As CD's são oligossacarídeos cíclicos compostos por unidades D-glucopiranosídicas (glicose) ligadas por ligações α 1,4-glicosídicas. São obtidas a partir de processos biotecnológicos envolvendo a degradação enzimática do amido de milho e oferecem maior rendimento com 6, 7 e 8 unidades de glicose, conhecidas como α -ciclodextrina (aCD), β -ciclodextrina (bCD) e γ -ciclodextrina (gCD), respectivamente, como pode ser observado na Figura 3 (Miranda *et al.*, 2011).

Figura 3 - Fórmulas químicas estruturais da α -, β - e γ -ciclodextrinas, respectivamente.



Fonte: Adaptado de Miranda *et al.* (2011).

Miranda *et al.* (2011) enfatizam que as formulações contendo complexos de inclusão apresentam taxas de dissolução mais rápida e menor tempo de liberação do fármaco, proporcionando uma absorção mais eficiente. Estes fatores promovem maior biodisponibilidade oral com aumento da atividade biológica, o que pode significar uma redução na dosagem terapêutica do fármaco.

Os usos e benefícios da complexação com CD's são reconhecidos pela indústria farmacêutica e foram comprovados por várias avaliações nos últimos anos, como afirmam Das *et al* (2013), incluindo vantagens como o aprimoramento da biodisponibilidade, redução de efeitos colaterais, estabilização, mascaramento de odor e sabor, além da diminuição da irritação local.

Segundo Miranda *et al.* (2011), a propriedade mais importante das CD's é a habilidade de modificar as características físico-químicas e biológicas das drogas. Os autores enfatizam que as CD's apresentam estabilidade semelhante à do amido, formando hidratos estáveis, podendo ser armazenadas durante anos sem sofrer degradação. Isto é confirmado por Das *et al.* (2013), que informam que uma variedade de forças não covalentes, forças de Van der Waals, interações hidrofóbicas e outras forças são responsáveis pela formação de complexos estáveis que protegem o fármaco contra ataques por diversas moléculas reativas, reduzindo a taxa de hidrólise, oxidação, rearranjo estérico, racemização e decomposição enzimática.

As CD's são resistentes às enzimas humanas que usualmente hidrolisam o amido, como a β -amilase, uma vez que sua forma cíclica deixa indisponíveis os grupos terminais que seriam suscetíveis à hidrólise enzimática salivar e pancreática. Somente as enzimas bacterianas do cólon conseguem fermentar estes açúcares cíclicos a dissacarídeos absorvíveis, que posteriormente são excretados na forma de gás carbônico e água (2007). Assim, as CD's funcionam como transportadores, carregando moléculas hidrofóbicas em solução até as membranas celulares lipofílicas para sua absorção, e permanecendo nos fluidos aquosos (CUNHA-FILHO; SÁ-BARRETO, 2013).

Sá-Barreto e Cunha-Filho (2008) evidenciaram que, entre os derivados hidrofílicos de CD's, os mais estudados e de maior utilização são os oriundos da bCD, que possui uma cavidade de diâmetro apropriado para acomodar grupos aromáticos presentes na maioria dos fármacos.

Além da otimização da solubilidade, a presença de CD's pode levar ao aumento da fotoestabilidade dos ativos em solução. Bani-Yaseen, Al-Rawashdeh & Al-Momani (2009) verificaram o aumento da fotoestabilidade, quando submetido à irradiação UV, de fármacos derivados da imidazolina. Carlotti *et al.* (2011) observaram um aumento significativo na solubilidade em água, porém um modesto aumento na fotoestabilidade da quercetina na presença de metil-b-ciclodextrina (MebCD), sem redução na sua atividade antioxidante. Giri *et al.* (2022) empregaram bCD e outros derivados de CD na complexação do metatroxato, um medicamento oncológico, e verificaram o aumento da solubilidade, biodisponibilidade e fotoestabilidade do ativo.

Este trabalho tem por objetivo estudar a complexação do ativo BOS em bCD, e verificar a influência do agente complexante na fotoestabilidade do ativo em relação a luz UV em dois diferentes comprimentos de onda, 254 e 300 nm.

3. METODOLOGIA

O fármaco utilizado neste estudo foi a Bosentana (BOS), que foi gentilmente cedido por indústria farmacêutica local.

Para a preparação de uma solução estoque foram solubilizados 55 mg de BOS em 100 mL de etanol, obtendo-se uma solução na concentração $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. Também foi preparada uma solução estoque de bCD, na mesma concentração, solubilizando-se 57 mg de bCD em 50 mL de água deionizada.

Inicialmente foi construída uma curva de calibração da BOS, retirando-se alíquotas de volumes crescentes da solução estoque de BOS (0,1; 0,2; 0,4; 0,6 e 0,8 mL) e diluição com água até 10 mL em balões aferidos, obtendo-se 5 soluções com concentrações variando de 1 a $8 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. Foram obtidos os espectros de absorção na região do UV-visível varrendo-se a faixa de 200 a 600 nm. Em seguida foram traçados os gráficos de absorção vs [BOS] para dois comprimentos de onda, 220 e 270 nm, que correspondem aos máximos de absorção da BOS.

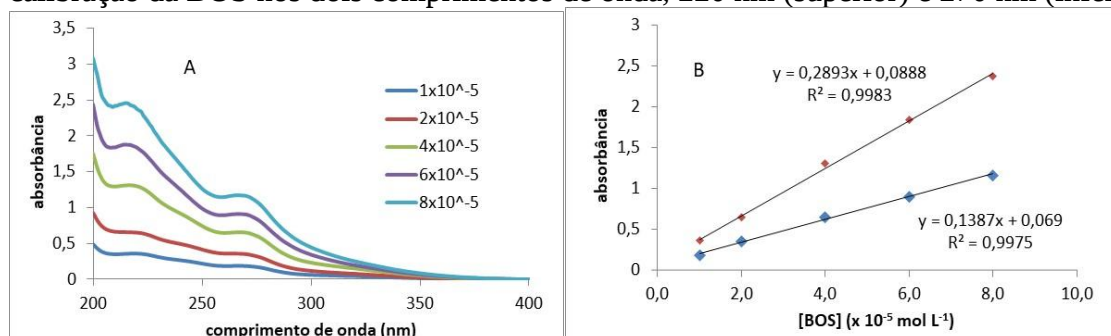
Para o preparo das soluções a serem submetidas ao estudo de fotoestabilidade seguiu-se a metodologia proposta por Ansolin *et al.* (2014), com adaptações. Descrevendo resumidamente, foram preparadas duas amostras de BOS na concentração de $6 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, por meio da diluição de alíquotas de 0,6 mL à 10 mL. Em uma das amostras foi adicionado somente água deionizada, e na outra foi adicionado 6 mL da solução estoque de bCD e água deionizada suficiente para completar o volume do balão. A amostra com adição de bCD foi deixada sob agitação por 24h para que houvesse a complexação.

Para os ensaios de fotoestabilidade as soluções de BOS, com e sem adição de bCD, foram transferidas para uma cubeta de fluorescência com tampa, que foi posicionada no meio de um fotorreator Rayonet RPR-100 equipado com 8 lâmpadas com máximo de emissão em 254 nm ou 300 nm. As amostras foram irradiadas individualmente por um período de 150 minutos, com aquisição dos espectros de UV-vis a cada 30 minutos, varrendo-se a faixa de 200 a 600 nm para o monitoramento espectral. Para melhor comparação dos resultados foram traçados gráficos de $\ln(A_0/A)$ vs tempo (min) para assim obter uma ideia da cinética de degradação.

4. ANÁLISES E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

As Figuras 4A e 4B mostram, respectivamente, os espectros de UV-vis em função da concentração de BOS e a curva de calibração, para os dois comprimentos de onda monitorados (220 e 270 nm). Observa-se um ótimo ajuste linear dos pontos para ambos os comprimentos de onda.

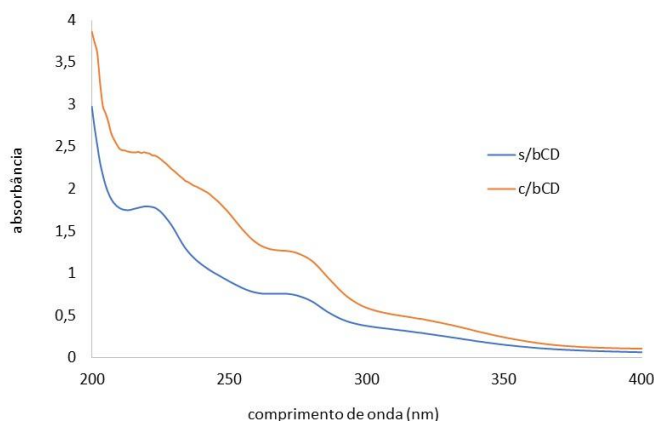
Figura 4 – (A) Espectros de absorção da BOS nas concentrações mostradas no gráfico; (B) Curva de calibração da BOS nos dois comprimentos de onda, 220 nm (superior) e 270 nm (inferior).



Fonte: Dados da pesquisa.

A Figura 5 apresenta os espectros de absorção da BOS na presença e na ausência de bCD. Observa-se claramente um aumento na absorbância na solução que apresenta bCD, uma clara indicação da ocorrência da inclusão da BOS na cavidade de bCD, como reportado por Rajendiran & Balasubramanian (2007), Mura (214)] e Krauser, Lahoud & Rosa (2015) como um dos indicativos espectrais para a caracterização da complexação.

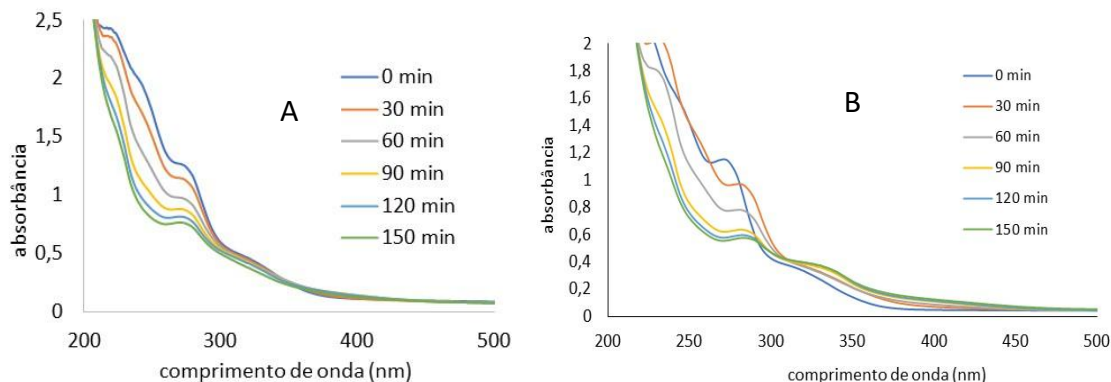
Figura 5 – Espectros de absorção das BOS ($[BOS] = 6 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹), sem a presença de bCD e com a presença de bCD ($[bCD] = 6 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹).



Fonte: Dados da pesquisa.

A Figura 6 apresenta os espectros obtidos para os experimentos de irradiação da BOS no comprimento de onda de 254 nm, na ausência (7A) e presença de bCD (7B).

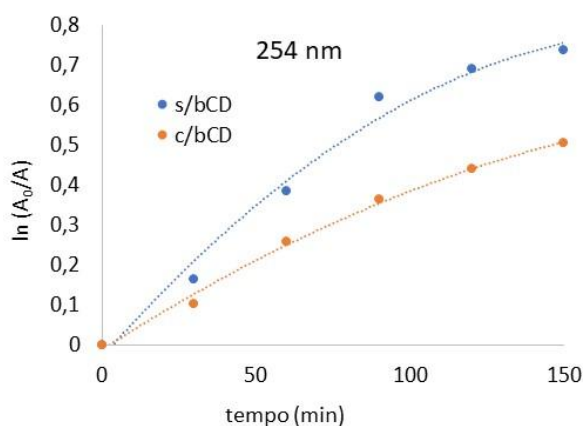
Figura 6 – (A) Espectros de absorção em função do tempo da BOS ($[BOS] = 6 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$) submetida à irradiação em 254 nm; (B) Espectros de absorção em função do tempo da BOS ($[BOS] = 6 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$) na presença de bCD ($[bCD] = 6 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) submetida à irradiação em 254 nm



Fonte: Dados da pesquisa.

Traçando-se os gráficos de $\ln(A_0/A)$ vs tempo (min) para ambos os experimentos, observa-se inicialmente que ambos os processos não obedecem a uma cinética de primeira ordem, tendo em vista que não houve um ajuste linear dos pontos (Figura 7). Observa-se também que a cinética de degradação na presença de bCD é mais lenta quando comparado ao experimento sem a presença de bCD, evidenciado pela menor inclinação da curva. Um olhar mais atento verifica que o processo de degradação na presença de bCD obedece a uma cinética de *quasi* primeira ordem, tendo em vista que os pontos quase ficaram sobre um ajuste linear. Desta forma podemos concluir que a presença de bCD conferiu algum grau de fotoproteção ao ativo (BOS). Rosa & Savariz (2005) observaram o mesmo efeito fotoprotetor quando irradiaram derivados de azalactonas em meio alcoólico (isopropanol).

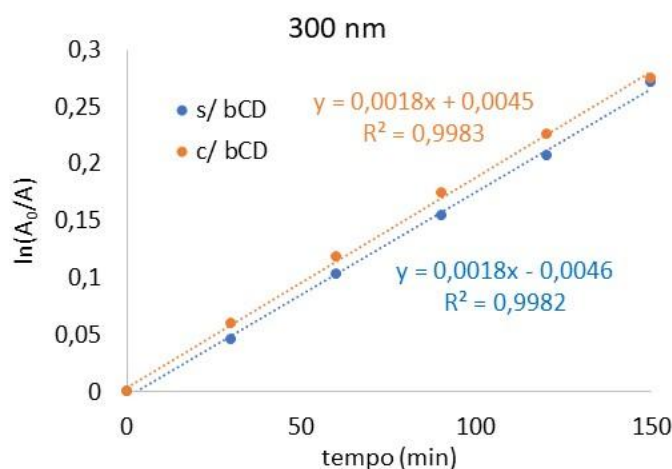
Figura 7 – Gráficos de $\ln(A_0/A)$ em função do tempo (min) para BOS ($[BOS] = 6 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$) na presença de bCD ($6 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) (círculos laranja) e na ausência de bCD (círculos azuis) no comprimento de onda de irradiação de 254 nm.



Fonte: Dados da pesquisa.

Este mesmo experimento quando replicado empregando-se lâmpadas com máximo de emissão em 300 nm apresentou um resultado diferente. Neste caso os resultados do gráfico de $\ln(A_0/A)$ vs tempo (min) (Figura 8) mostram que a degradação obedece a uma cinética de primeira ordem, com $k = 1,8 \times 10^{-3} \text{ min}^{-1}$, para ambos os experimentos, evidenciando que a presença, ou não, de bCD, não é relevante para o processo.

Figura 8 – Gráficos de $\ln(A_0/A)$ em função do tempo (min) para BOS ($[\text{BOS}] = 6 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$) na presença de bCD ($6 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) (círculos laranja) e na ausência de bCD (círculos azuis) no comprimento de onda de irradiação de 300 nm.



Fonte: Dados da pesquisa.

Observando atentamente os espectros de absorção (Figura 5), verifica-se que em 254 nm o analito (BOS) apresenta absorvidade molar superior àquela em 300 nm, o que significa maior absorção de energia neste comprimento de onda, o que pode favorecer o processo de degradação. Talvez por esta razão é que se tenha observado uma maior influência da bCD no processo de fotodegradação no comprimento de onda de 254 nm do que em 300 nm.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os experimentos do ativo farmacêutico bosentana (BOS) em solução aquosa com a presença de beta-ciclodextrina mostraram que a presença deste excipiente resultou no aumento da solubilidade do ativo em água, como também no aumento da sua fotoestabilidade quando submetido à irradiação no comprimento de onda de 254 nm. Para os experimentos com irradiação em 300 nm observou-se que a presença de beta-ciclodextrina não apresentou efeito positivo, nem negativo, na fotestabilidade.

REFERÊNCIAS

- ANSOLIN, T. L.; BARICCATTI, R. A.; ROSA, M. F., LINDINO, C. A. The effect of b-cyclodextrin in the photochemical stability of propranolol hydrochloride in aqueous solution. **Acta Scientiarum Technology**, v.36, p. 337-340, 2014.
- BANI-YASEEN, A. D.; AL-RAWASHDEH, N. F.; AL-MOMANI, I. Influence of inclusion complexation with b-cyclodextrin on the photostability of selected imidazoline-derived drugs. **Journal of Inclusion Phenomena and Molecular Recognition**, v. 63, p. 109-115, 2009.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Relação Nacional de Medicamentos Essenciais**. Brasília, 2020.
- BREWSTER, M. E.; LOFTSSON, T. **Cyclodextrins as pharmaceutical solubilizers**. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 59, p. 645-666, 2007.
- CARLOTTI, M. E.; SAPINO, S.; UGAZIO, E.; CARON, G. On the complexation of quercetin with methyl-b-cyclodextrin: photostability and antioxidant studies. **Journal of Inclusion Phenomena and Molecular Recognition**, v. 70, p. 81-90, 2011.
- CUNHA-FILHO, M. S. S.; SÁ-BARRETO, L. C. L. Utilização de ciclodextrinas na formação de complexos de inclusão de interesse farmacêutico. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 28, p. 1-9, 2007.
- DAS, S. K.; RAJABALAYA, R.; DAVID, S.; GANI, N.; KHANAM, J.; NANDA, A. Cyclodextrins-The Molecular Container. **Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences**, v. 4, n. 2, p. 1694-1720, abr./jun., 2013.
- DRUGBANK, disponível em <https://go.drugbank.com/drugs/DB00559>. Acesso em 06/03/2024.
- GIRI, B. R.; YANG, H. S.; SONG, I. S.; CHOI, H. G.; CHO, J. H.; KIM, D. W. Alternative methotrexate oral formulation: Enhanced aqueous solubility, bioavailability, photostability, and permeability. **Pharmaceutics**, v. 14, p. 2073, 2022.
- HOETTE, S.; JARDIM, C.; SOUZA, R. de. Diagnóstico e tratamento da hipertensão pulmonar: uma atualização. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 36, n. 6, p. 795-811, 2010.
- KENDRE, P. N.; CHAUDHARI, P. D.; JAIN, S. P.; VIBHUTE, S. K. Na effort to augment solubility and efficiency of the oral bosentan-buco-adhesive drug delivery system using graft co-polymer as the carrier. **Polymer Bulletin**, v. 78, p. 5851-5871, 2021.
- KRAUSER, M. O.; LAHOUD, M. G.; ROSA, M. F. Estudo do comportamento fotofísico e da fotoestabilidade de um derivado azalactônico encapsulado e ciclodextrina em solução aquosa. **Periódico Tchê Química**, v. 12, p. 74-83, 2015.
- LOPES, A. A. **Diagnóstico, Avaliação e Terapêutica da Hipertensão Pulmonar**: Diretrizes da Sociedade Brasileira de Cardiologia. São Paulo: Unidade Clínica de Cardiologia Pediátrica e Cardiopatias Congênitas do Adulto Instituto do Coração (InCor) – HC-FMUSP, 2005.

MIRANDA, J. C.; MARTINS, T. E. A.; VEIGA, F.; FERRAZ, H. G. Cyclodextrins and ternary complexes: technology to improve solubility of poorly soluble drugs. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 47, n. 4, p. 665-681, out./dez., 2011.

MURA, P. Analytical techniques for characterization of cyclodextrin complexes in aqueous solution: A review. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 101, p.238-250, 2014.

PATHAN, L. S.; MODI, C. D.; GOHEL, M. C.; UDHWANI, V. T.; THAKKAR, V. T.; RANA, H. B. Introducing novel hybridization technique for solubility enhancement of Bosentan formulation. **Food Hydrolysis for Health**, v. 2, 100055, 2022.

RAJENDIRAN, N.; BALASUBRAMANIAN, T. Dual fluorescence of *N*-phenylanthranilic acid: effect of solvents, pH and β -cyclodextrin. **Spectrochimica Acta**, v. 68, p. 867-876, 2007.

ROSA, M. F.; SAVARIZ, F. C. Síntese e estudo da fotoestabilidade de derivados azalactônicos encapsulados em β -ciclodextrina. **Eclética Química**, v. 30, n. 4, p. 75-81, 2005.

SÁ-BARRETO, L. C. L.; CUNHA-FILHO, M. S. S. Ciclodextrina: Importante Excipiente Farmacêutico Funcional. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 27, p. 629-636, 2008.

SAJEDI-AMIN, S.; BARZEGAR-JALALI, M.; FATHI-AZARBAYJANI, A.; KEBRIAEEZADEH, A.; MARTÍNEZ, F.; JOUYBAN, A. Solubilization of bosentan using ethanol as a pharmaceutical cosolvent. **Journal of Molecular Liquids**, v. 232, p. 152-158, 2017.

SELEJ, M.; ROMERO, A. J.; CHANNICK, R. N.; CLOZEL, M. Development of Macitentan for the treatment of pulmonary arterial hypertension. **Annals of the New York Academy of Sciences**, p. 68-81, 2015.

TURKAN, D.; YAMAN, M. E.; ATILA, A.; KADIOGLU, Y. Stability indicating RP-HPLC method development and validation for Bosentan in pharmaceutical formulations. **Journal of the Turkish Chemical Society**, v. 9, p. 505-512, 2022.