

Andreia Alexandra dos Santos Alves

# Investigação de co-cristais de *(R,S)*- e *(S)*-Ibuprofeno

Dissertação apresentada para prova de Mestrado em Química, Área de  
especialização em Química Avançada e Industrial

Doutora Maria Ermelinda da Silva Eusébio

Doutor Ricardo António Esteves de Castro

Setembro de 2012

Universidade de Coimbra







## **Agradecimentos**

Nenhum trabalho é passível de ser realizado com sucesso, sem o apoio e carinho fundamentais daqueles que nos são mais próximos. Mesmo num trabalho de investigação, onde tantas vezes impera a solidão, esse suporte torna-se por vezes, fundamental e decisivo para o seu sucesso e para a sua concretização.

Assim, deixo nesta página o meu agradecimento mais sincero a todas as pessoas, que das mais diversas formas, contribuíram para a realização e escrita desta dissertação.

À Doutora Maria Ermelinda da Silva Eusébio e ao Doutor Ricardo António Esteves de Castro, obrigado por todo o carinho, apoio, paciência e ajuda, que me deram ao longo destes dois últimos anos. Mas acima de tudo, obrigado por me terem mostrado aquilo que verdadeiramente quero fazer para o resto da minha vida. Em relação a isso, um simples “obrigado” não chega e a melhor forma que terei de dignificar estes dois anos de trabalho com ambos, será lutar para continuar a trabalhar nesta área.

Ao Doutor Rui Manadas, à D.Celeste, ao Sr.Pedro e à D.Isabel, e à Eliana, investigador, funcionários e aluna da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, respectivamente. O meu mais sincero obrigado por me terem recebido de braços abertos numa “casa” que não era minha e por me terem feito sentir tão bem perto de vocês.

A todos os professores e funcionários do Departamento de Química da Universidade de Coimbra, que me acompanharam, ensinaram e contribuíram de forma decisiva para o meu crescimento, ao longo destes últimos seis anos.

A todos os meus amigos! Aos de sempre, que fizeram de mim a pessoa que hoje sou, que nunca me abandonaram e que me mostraram que é possível amarmos verdadeiramente alguém como se do nosso sangue fossem, mesmo não o sendo; aos mais recentes, aqueles que a vida se encarregou de me trazer e que neste momento me completam de forma perfeita e que fazem de mim uma pessoa verdadeiramente feliz e realizada. Obrigado a todos por todos os momentos, os bons e os maus, que irei recordar

para sempre. Tenho-vos a todos no coração e para onde quer que eu vá, vocês irão comigo.

Por fim, o meu maior agradecimento vai para as três pessoas mais importantes da minha vida. Ao meu pai Fernando, à minha mãe Fernanda e à minha irmã Rafaela, umas simples palavras não chegam para vos agradecer verdadeiramente por tudo o que fizeram e fazem por mim. Obrigado, do fundo do coração, por me darem tudo o que me dão, por confiarem em mim e nas minhas capacidades, obrigado por me apoiarem e entenderem, mesmo quando não vos consigo dar a devida atenção. Obrigado por sonharem comigo. E acima de tudo, obrigado por me permitirem fazer aquilo que mais gosto e aquilo que me realiza verdadeiramente. Sem vocês sei que não seria ninguém, e a pessoa que hoje sou, sou porque tive a melhor família do mundo comigo. Todo o trabalho e esforço, e acima de tudo, esta dissertação, são dedicados a vocês os três.

# Índice Geral

<b>Índice de Figuras</b>	I
<b>Índice de Tabelas</b>	V
<b>Abreviaturas</b>	VII
<b>Resumo</b>	IX
<b>Abstract</b>	XI
<b>Capítulo 1 - Introdução</b>	1
1.1 Absorção de fármacos pelo organismo	3
1.1.1 Classificação de fármacos pelo Sistema de Classificação Biofarmacêutico	4
1.1.2 Solubilidade e Dissolução	6
1.2 Polimorfismo	8
1.3 Co-cristais	10
1.4 Ibuprofeno	12
1.4.1 Propriedades Físico-Químicas e Estruturais	14
1.4.2 Co-cristais de Ibuprofeno. Escolha dos co-formadores usados neste trabalho	17
<b>Capítulo 2 - Materiais e Métodos utilizados</b>	23
2.1 Materiais	25
2.2 Métodos utilizados	26
2.2.1 Mecanoquímica	26
2.2.2 Termomicroscopia com luz polarizada	27
2.2.3 Calorimetria Diferencial de Varrimento	32
2.2.4 Espectroscopia de Infravermelho	33
2.2.5 Difração de Raios-X	34
2.2.6 Ensaios de Dissolução	36
2.2.7	
<b>Capítulo 3 - Resultados</b>	41
3.1 Pesquisa e caracterização de co-cristais: Ibuprofeno Racémico ( <i>RS-IBU</i> )	43
3.1.1 Sistema <i>RS-IBU:PA</i>	43
3.1.2 Sistema <i>RS-IBU:NA</i>	48
3.1.3 Sistema <i>RS-IBU:INA</i>	54

3.1.4 Sistema <i>RS</i> -IBU:PZA	59
3.2 Pesquisa e caracterização de co-cristais: ( <i>S</i> )-Ibuprofeno	65
3.2.1 Sistema <i>S</i> -IBU:PA	65
3.2.2 Sistema <i>S</i> -IBU:NA	69
3.2.3 Sistema <i>S</i> -IBU:INA	73
3.2.4 Sistema <i>S</i> -IBU:PZA	77
3.3 Perfis de Dissolução	81
<b>Capítulo 4 - Notas finais e Perspetivas futuras</b>	83
<b>5 - Referências Bibliográficas</b>	87
• <b>Anexos</b>	95







## Índice de Figuras

- Figura 1.** Representação esquemática do processo de absorção de um fármaco de administração oral. – Página 4
- Figura 2.** Representação de homosintões supramoleculares plausíveis de ocorrer nas estruturas dos compostos estudados neste trabalho. - Página 10
- Figura 3.** Representação de heterosintões supramoleculares plausíveis de ocorrer nas estruturas dos compostos estudados neste trabalho. – Página 11
- Figura 4.** Representação da estrutura molecular do Ibuprofeno, (*RS*)-2-(4-(2-metilpropil) fenil) ácido propanóico. – Página 12
- Figura 5.** Representação da estrutura molecular dos dois enantiómeros do Ibuprofeno; (A) *R*-(-)-ibuprofeno; (B) *S*-(+)-ibuprofeno. – Página 13
- Figura 6.** Mecanismo da inversão metabólica do ibuprofeno. – Página 14
- Figura 7.** Diagrama de fases sólido + líquido do *R*- e *S*-ibuprofeno: (□) fusão do eutético (ET); (♦) fusão do eutético metaestável; (○) *liquidus*; – Página 15
- Figura 8.** Representação das estruturas cristalinas do (*RS*) I e do *S*-ibuprofeno. – Página 15
- Figura 9.** Representação da organização molecular e da célula unitária do ibuprofeno racémico; (a) forma II, (b) forma I. – Página 16
- Figura 10.** Ligações de hidrogénio entre a molécula de 1,2-bis-(4-piridil)etano e duas moléculas de ibuprofeno (COOH...N<sub>arom</sub>), no co-cristal formado. – Página 18
- Figura 11.** Ligações de hidrogénio no co-cristal de ibuprofeno racémico e 2-aminopirimidina. – Página 19
- Figura 12.** Estrutura cristalina do co-cristal entre o *RS*-ibuprofeno e a nicotinamida. – Página 20
- Figura 13.** Estrutura cristalina do co-cristal entre o *S*-ibuprofeno e a nicotinamida. – Página 20
- Figura 14.** Estruturas moleculares dos co-formadores utilizados. – Página 21
- Figura 15.** Imagem do moinho de bolas utilizado na obtenção das misturas dos diferentes sistemas estudados. – Página 26
- Figura 16.** Diagrama binário sólido-líquido com formação de um eutético simples entre A e B. – Página 29
- Figura 17.** Método de Kofler: representação esquemática da zona de mistura, num sistema onde se observa apenas a presença do eutético (C). – Página 30
- Figura 18.** Diagrama binário sólido-líquido com formação de co-cristal entre A e B. – Página 30
- Figura 19.** Método de Kofler: representação esquemática da zona de mistura num sistema em que há formação de um co-cristal. – Página 30
- Figura 20.** Representação esquemática do equipamento usado em termomicroscopia: A – Placa de aquecimento, B – Microscópio, C – Câmara de vídeo, D – Computador, E – Interface gráfica, F – Sistema de controlo da refrigeração, G – Interface de computador. – Página 31
- Figura 21.** Esquema do aparelho de fluxo contínuo para determinação de perfis de dissolução. – Página 37

- Figura 22.** Cromatogramas exemplificativos dos resultados obtidos, com os tempos de retenção do ibuprofeno, do padrão interno (NPX), da INA e da NA. – Página 40
- Figura 23.** Imagens obtidas por PLTM, usando o método de Kofler; A – RS-IBU; B – PA. – Página 43
- Figura 24.** Curvas de DSC do primeiro aquecimento do RS-IBU, da PA e das misturas (1:1), (1:2) e (2:1) obtidas em moinho de bolas;  $\beta = 10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ , cápsula fechada de 30  $\mu\text{L}$ . – Página 44
- Figura 25.** Curvas de DSC do primeiro aquecimento da mistura RS-IBU:PA (1:1), analisada imediatamente após moagem no moinho de bolas e após 6 semanas à temperatura ambiente;  $\beta = 10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ , cápsula fechada de 30  $\mu\text{L}$ . – Página 45
- Figura 26.** Espectros experimentais de infravermelho dos componentes puros, RS-IBU e PA, e das misturas RS-IBU:PA (1:1), (1:2) e (2:1) obtidas no moinho de bolas. (A) Números de onda entre 3700 – 1800  $\text{cm}^{-1}$ ; (B) Números de onda entre 1800 – 400  $\text{cm}^{-1}$ . – Página 46
- Figura 27.** Difratoograma de pó da mistura RS-IBU:PA (1:1), registado 6 semanas após a preparação por moagem em moinho de bolas, e difratogramas simulados do RS-IBU e da PA II. – Página 47
- Figura 28.** Imagens obtidas por PLTM, usando o método de Kofler; A – NA; B – RS-IBU; C – Zona de mistura; D – Co-cristal. – Página 48
- Figura 29.** Curvas de DSC do primeiro aquecimento do RS-IBU, da NA e das misturas (1:1), (1:2) e (2:1) obtidas em moinho de bolas;  $\beta = 10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ , cápsula fechada de 30  $\mu\text{L}$ . – Página 49
- Figura 30.** Curva de DSC do primeiro aquecimento do RS-IBU, da NA e da mistura (1:1), após permanência a 80°C, 3 dias;  $\beta = 10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ , cápsula fechada de 30  $\mu\text{L}$ . – Página 50
- Figura 31.** Espectros experimentais de infravermelho dos componentes puros RS-IBU e NA e das misturas RS-IBU:NA (1:1), (1:2) e (2:1) obtidas no moinho de bolas. (A) Números de onda entre 3700 – 1800  $\text{cm}^{-1}$ ; (B) Números de onda entre 1800 – 400  $\text{cm}^{-1}$ . – Página 51
- Figura 32.** Espectros experimentais de infravermelho dos componentes puros RS-IBU e NA e da mistura RS-IBU:NA (1:1), após permanência a 80°C, 3 dias. (A) Números de onda entre 3700 – 1800  $\text{cm}^{-1}$ ; (B) Números de onda entre 1800 – 400  $\text{cm}^{-1}$ . – Página 52
- Figura 33.** Difratoograma de pó da mistura RS-IBU:NA (1:1) obtida por moagem em moinho de bolas, após permanência a 80°C, 3 dias, e difratogramas simulados do RS-IBU I, e da NA I. – Página 53
- Figura 34.** Imagens obtidas por PLTM, usando o método de Kofler: A – RS-IBU; B - INA; C – Zona de mistura; D – Co-cristal. – Página 54
- Figura 35.** Curvas de DSC do primeiro aquecimento do RS-IBU, da INA e das misturas (1:1), (1:2) e (2:1) obtidas em moinho de bola;  $\beta = 10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ , cápsula fechada de 30  $\mu\text{L}$ . – Página 55
- Figura 36.** Espectros experimentais de infravermelho dos componentes puros RS-IBU e INA e das misturas RS-IBU:INA (1:1), (1:2) e (2:1) obtidas no moinho de bolas. (A) Números de onda entre 3700 – 1800  $\text{cm}^{-1}$ ; (B) Números de onda entre 1800 – 400  $\text{cm}^{-1}$ . – Página 56/57
- Figura 37.** Difratoograma de pó da mistura RS-IBU:INA (1:1), obtida por moagem em moinho de bolas e difratogramas simulados do RS-IBU, e da INA I. – Página 58
- Figura 38.** Imagens obtidas por PLTM, usando o Método de Kofler: A – RS-IBU; B - PZA. – Página 59
- Figura 39.** Curvas de DSC do primeiro aquecimento do RS-IBU, da PZA e das misturas (1:2), (1:1), (1,5:1), (2:1) e (3:1) obtidas em moinho de bolas;  $\beta = 10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ , cápsula fechada de 30  $\mu\text{L}$ . – Página 60

- Figura 40.** Espectros experimentais de infravermelho dos componentes puros *RS-IBU* e *PZA* e das misturas *RS-IBU:PZA* (1:1), (1:2) e (2:1) obtidas no moinho de bolas. (A) Números de onda entre 3700 – 1800  $\text{cm}^{-1}$ ; (B) Números de onda entre 1800 – 400  $\text{cm}^{-1}$ . – Página 61/62
- Figura 41.** Difratoograma de pó da mistura *RS-IBU:PZA* (1:1), obtida por moagem em moinho de bolas e difratogramas simulados do *RS-IBU* I e da *PZA- $\alpha$* . – Página 63
- Figura 42.** Difratoograma de pó da mistura *RS-IBU:PZA* (2:1), obtida por moagem em moinho de bolas e difratogramas simulados do *RS-IBU* e da *PZA- $\alpha$* . – Página 64
- Figura 43.** Curvas de DSC do primeiro aquecimento do *S-IBU*, da *PA* e da mistura (1:1), obtida em moinho de bolas;  $\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$ , cápsula fechada de 30  $\mu\text{l}$ . – Página 65
- Figura 44.** Curvas de DSC do primeiro aquecimento da mistura *S-IBU:PA* (1:1), analisada imediatamente após moagem no moinho de bolas e após 6 semanas à temperatura ambiente;  $\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$ , cápsula fechada de 30  $\mu\text{l}$ . – Página 67
- Figura 45.** Espectros experimentais de infravermelho, obtidos após 6 semanas, dos componentes puros *S-IBU* e *PA* e da mistura *S-IBU:PA* (1:1), obtida no moinho de bolas. (A) Números de onda entre 3700 – 1800  $\text{cm}^{-1}$ ; (B) Números de onda entre 1800 – 400  $\text{cm}^{-1}$ . – Página 67/68
- Figura 46.** Difratoograma de pó da mistura *S-IBU:PA* (1:1), obtida por moagem em moinho de bolas e difratogramas simulados do *S-IBU* e da *PA* II. – Página 69
- Figura 47.** Curvas de DSC do primeiro aquecimento do *S-IBU*, da *NA* e da mistura (1:1), obtida em moinho de bolas e que esteve na estufa, a 60  $^\circ\text{C}$  durante 3 dias;  $\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$ , cápsula fechada de 30  $\mu\text{l}$ . – Página 70
- Figura 48.** Espectros experimentais de infravermelho dos componentes puros *S-IBU* e *NA* e da mistura *S-IBU:NA* (1:1), obtida no moinho de bolas e depois de ter estado na estufa a 60  $^\circ\text{C}$ , durante 3 dias; (A) Números de onda entre 3700 – 1800  $\text{cm}^{-1}$ ; (B) Números de onda entre 1800 – 400  $\text{cm}^{-1}$ . – Página 71/72
- Figura 49.** Difratoograma de pó da mistura *S-IBU:NA* (1:1), obtida por moagem em moinho de bolas e difratogramas simulados do *S-IBU* e da *NA* I. – Página 73
- Figura 50.** Curvas de DSC do primeiro aquecimento do *S-IBU*, da *INA* e da mistura (1:1), obtida em moinho de bolas;  $\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$ , cápsula fechada de 30  $\mu\text{l}$ . – Página 74
- Figura 51.** Espectros experimentais de infravermelho dos componentes puros *S-IBU* e *INA* e da mistura *S-IBU:INA* (1:1), obtida no moinho de bolas. (A) Números de onda entre 3700 – 1800  $\text{cm}^{-1}$ ; (B) Números de onda entre 1800 – 400  $\text{cm}^{-1}$ . – Página 75
- Figura 52.** Difratoograma de pó da mistura *S-IBU:INA* (1:1), obtida por moagem em moinho de bolas e difratogramas simulados do *S-IBU* e da *INA* I. – Página 76
- Figura 53.** Curvas de DSC do primeiro aquecimento do *S-IBU*, da *PZA* e da mistura (1:1), obtida em moinho de bolas;  $\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$ , cápsula fechada de 30  $\mu\text{l}$ . – Página 77
- Figura 54.** Espectros experimentais de infravermelho dos componentes puros *S-IBU* e *PZA* e da mistura *S-IBU:PZA* (1:1), obtida no moinho de bolas. (A) Números de onda entre 3700 – 1800  $\text{cm}^{-1}$ ; (B) Números de onda entre 1800 – 400  $\text{cm}^{-1}$ . – Página 78/79
- Figura 55.** Difratoograma de pó da mistura *S-IBU:PZA* (1:1), obtida por moagem em moinho de bolas e difratogramas simulados do *S-IBU* e da *PZA- $\alpha$* . – Página 80

**Figura 56.** Perfis de dissolução do *RS*- e *S*-ibuprofeno puros, e dos co-cristais obtidos com a NA e INA, ao fim de 3 horas, utilizando água como meio de dissolução,  $T = (37,0 \pm 0,5) \text{ }^\circ\text{C}$ . – Página 81

**Figura A1.** Representação das curvas de calibração obtidas para o (*R,S*)- e (*S*)-ibuprofeno. – Página 97

**Figura A2.** Comparação dos perfis de dissolução do *S*-IBU obtidos por análise no UV e por HPLC. – Página 97

## Índice de Tabelas

- Tabela 1.** Classificação de fármacos de acordo com o BCS. – Página 5
- Tabela 2.** Classificação da solubilidade aquosa de um fármaco pela USP. – Página 7
- Tabela 3.** Parâmetros geométricos de ligações de hidrogénio nos cristais de *RS*-IBU I, e *S*-IBU. – Página 16
- Tabela 4.** Valores de solubilidade do ibuprofeno em diferentes solventes, a 25 °C. – Página 17
- Tabela 5.** Origem dos compostos, informação do fornecedor, e forma polimórfica identificada por XRPD. – Página 25
- Tabela 6.** Preparação de misturas binárias de *RS*-IBU ou *S*-IBU com os co-formadores: massas pesadas e respetivo número de moles. – Página 28
- Tabela 7.** Massas pesadas, para a realização dos ensaios de dissolução; (*R,S*)-ibuprofeno, (*S*)-ibuprofeno e co-cristais com a INA e NA. – Página 38
- Tabela 8.** Condições de execução dos ensaios de dissolução. – Página 39
- Tabela 9.** Parâmetros termodinâmicos obtidos a partir das curvas de DSC dos primeiros aquecimentos de *RS*-IBU, PA e *RS*-IBU : PA nas diferentes proporções estudadas. – Página 44
- Tabela 10.** Parâmetros termodinâmicos obtidos a partir das curvas de DSC dos primeiros aquecimentos de *RS*-IBU, NA e de misturas *RS*-IBU:NA nas diferentes proporções estudadas. – Página 49
- Tabela 11.** Parâmetros termodinâmicos obtidos a partir das curvas de DSC dos primeiros aquecimentos de *RS*-IBU, INA e de misturas *RS*-IBU:INA nas diferentes proporções estudadas. – Página 55
- Tabela 12.** Parâmetros termodinâmicos obtidos a partir das curvas de DSC dos primeiros aquecimentos de *RS*-IBU, PZA e de misturas *RS*-IBU:PZA estudadas. – Página 60
- Tabela 13.** Parâmetros termodinâmicos obtidos a partir das curvas de DSC dos primeiros aquecimentos de *S*-IBU, PA e *S*-IBU:PA. – Página 66
- Tabela 14.** Parâmetros termodinâmicos obtidos a partir das curvas de DSC dos primeiros aquecimentos de *S*-IBU, NA e *S*-IBU:NA (1:1). – Página 70
- Tabela 15.** Parâmetros termodinâmicos obtidos a partir das curvas de DSC dos primeiros aquecimentos de *S*-IBU, INA e *S*-IBU:INA (1:1). – Página 74
- Tabela 16.** Parâmetros termodinâmicos da curva de DSC do primeiro aquecimento de *S*-IBU, PZA e *S*-IBU:PZA (1:1). – Página 78
- Tabela 17.** Temperatura e entalpia de fusão dos componentes puros e dos co-cristais sintetizados neste trabalho. – Página 85
- Tabela A1.** Parâmetros cristalográficos para o (*S*)-ibuprofeno e (*R,S*)-ibuprofeno, formas I e II. – Página 95
- Tabela A2.** Parâmetros geométricos das ligações de hidrogénio nos co-cristais de *RS*-IBU:NA e *S*-IBU:NA. – Página 96





## Abreviaturas

API	<i>do inglês</i> “Active Pharmaceutical Ingredient”
BCS	<i>do inglês</i> “Biopharmaceutical Classification System”
CCDC	<i>do inglês</i> “Cambridge Crystallographic Data Centre”
CI	<i>do inglês</i> “Computer Interface”
CIF	<i>do inglês</i> “Crystallographic Information File”
CSD	<i>do inglês</i> “Cambridge Structural Database”
DSC	<i>do inglês</i> “Differential scanning calorimetry”
FDA	<i>do inglês</i> “Food and Drug Administration”
FTIR	<i>do inglês</i> “Fourier Transform Infra Red”
GRAS	<i>do inglês</i> “Generally Recognized as Safe”
IBU	Ibuprofeno
INA	Isonicotinamida
IV	Infravermelho
HPLC	<i>do inglês</i> “High-Pressure Liquid Chromatography”
LNP	<i>do inglês</i> “Liquid Nitrogen Pump”
NA	Nicotinamida
NPX	Naproxeno
PA	Picolinamida
PLTM	<i>do inglês</i> “Polarized Light Thermal Microscopy”
PZA	Pirazinamida
RTVMS	<i>do inglês</i> “Real Time Video Measurement System”
T.a.	Temperatura ambiente
TGI	Trato gastrointestinal
USP	<i>do inglês</i> “Unites States Pharmacopeia”
VTO	<i>do inglês</i> “Video Text Overlay”
XRPD	<i>do inglês</i> “X-Ray Powder Difraccion”



## Resumo

Este trabalho tem por objetivo a investigação de co-cristais de (*R,S*)-ibuprofeno, (*RS*-IBU), e (*S*)-ibuprofeno, (*S*-IBU). O ibuprofeno é um anti-inflamatório não esteróide pertencente à classe II do Sistema de Classificação Biofarmacêutico: tem permeabilidade membranar elevada mas apresenta baixa solubilidade aquosa. A síntese de co-cristais é uma via a explorar na tentativa de ultrapassar as limitações resultantes da baixa solubilidade aquosa. Foram investigados quatro co-formadores, carboxamidas, a picolinamida (PA), nicotinamida (NA), isonicotinamida (INA) e pirazinamida (PZA), os quais têm grupos capazes de estabelecer ligações de hidrogénio com o ibuprofeno.

De forma a compreender as possíveis interações existentes entre (*R,S*)-ibuprofeno ou (*S*)-ibuprofeno e cada uma das carboxamidas, foram usadas diferentes técnicas, complementares entre si: a Termomicroscopia (PLTM), a Calorimetria Diferencial de Varrimento (DSC), a Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) e a Difração de Raios-X de pó (XRPD).

Estes métodos de estudo, que se mostraram perfeitamente adequados para a identificação e caracterização de co-cristais e de outros tipos de transformações em sólidos cristalinos, permitiram concluir que tanto o *S*-IBU como o *RS*-IBU formam co-cristais com a INA e NA, todos na proporção (1:1). É necessária investigação adicional para confirmar a formação de co-cristais com a PA, enquanto que com a PZA ocorre apenas formação de uma mistura eutética.

Depois de obtidos os co-cristais, foi realizado um estudo preliminar dos seus perfis de dissolução em água. Os ensaios de dissolução foram realizados pelo método de fluxo contínuo com determinação de concentrações por HPLC. Os resultados preliminares apontam para melhoria do perfil de dissolução do *RS*-IBU, por utilização dos co-cristais sintetizados, enquanto que no que diz respeito ao *S*-IBU, a utilização dos co-cristais não resulta vantajosa relativamente ao composto puro.



## Abstract

The present work aims at the investigation of (*R,S*)-ibuprofen and (*S*)-ibuprofen co-crystals. Ibuprofen is an anti-inflammatory non-steroidal drug which belongs to Class II of Biopharmaceutical Classification System: it has high membrane permeability but presents low aqueous solubility. Co-crystals have recently emerged as new API solid forms that can be used in an attempt to overcome the limitations due to low aqueous solubility.

Four co-formers were investigated, carboxamides, which have groups capable of forming hydrogen bonds with ibuprofen: picolinamide (PA), nicotinamide (NA) isonicotinamide (INA), and pyrazinamide (PZA).

To understand the interactions between (*R,S*)-ibuprofen or (*S*)-ibuprofen and each of the investigated carboxamides, different complementary methods were used: Polarized Light Thermomicroscopy (PLTM), Differential Scanning Calorimetry (DSC), Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) and X-Ray Powder Diffraction (XRPD).

Through these techniques, which proved to be quite appropriate for co-crystal identification and characterization as well as for investigating other type of transformations in crystalline materials, co-crystals of both *S*-IBU and *RS*-IBU with NA and INA, in 1:1 proportion, were identified. In what concerns PA additional work is needed to confirm if, in fact, a new co-crystal was obtained. Finally, with PZA only a eutectic mixture was identified.

After obtaining the co-crystals, a preliminary study of their dissolution profiles in water was performed. Dissolution tests were carried out by the continuous flow method and concentrations determined by HPLC. The use of the co-crystals synthesized in this work was found to improve the dissolution profile of the *RS*-IBU, while for *S*-IBU, the co-crystals have no advantage when compared to the pure compound.



# *Capítulo 1*

Introdução





# 1. Introdução

É objetivo da engenharia de cristais o desenho e síntese de estruturas moleculares em fase sólida com as propriedades desejadas, sendo a concepção e síntese de estruturas baseadas em interações não covalentes um dos domínios de maior interesse e atualidade. Assim, a engenharia de cristais aplicada a ativos farmacêuticos, APIs, usando a co-cristalização representa uma estratégia inovadora para alterar as propriedades físicas e químicas de formas sólidas destes compostos. Adicionalmente, compreender a termodinâmica, a cinética e fenômenos moleculares que determinam a formação de uma forma sólida em particular é de grande importância na área farmacêutica como meio de garantir a segurança e eficácia dos produtos. [1]

## 1.1 Absorção de fármacos pelo organismo

A eficácia de um regime de dosagem depende da concentração do fármaco no organismo. Idealmente, a concentração de fármaco deveria ser medida no local de ação do mesmo, ou seja, no recetor. Contudo, devida à sua inacessibilidade, a concentração de fármaco é, normalmente, medida no fluxo sanguíneo. [2]

A absorção de fármacos pelo organismo é um fenômeno descrito como o movimento do fármaco para o interior da corrente sanguínea. O processo de absorção de uma forma farmacêutica para administração oral é muito complexo. Contudo, existem quatro passos principais, Figura 1, que ocorrem durante a absorção destes fármacos e que têm de ser considerados para explicar todo o processo: (1) a libertação do fármaco a partir da forma farmacêutica; (2) a solubilização do ativo, função das suas características físico-químicas; (3) a permeabilidade efetiva do API na mucosa intestinal; (4) o metabolismo pré-sistémico. [3]



**Figura 1.** Representação esquemática do processo de absorção de um fármaco de administração oral.

Existem três categorias de fatores que podem afetar os processos descritos acima, e que podem condicionar a dissolução e a concentração do fármaco no local de atuação. A primeira categoria está relacionada com as propriedades físico-químicas do ativo, como a solubilidade, permeabilidade intestinal,  $pK_a$ , estabilidade, área da superfície e tamanho das partículas. Da segunda categoria fazem parte fatores fisiológicos, como o pH gastrointestinal, esvaziamento gástrico, pequeno tempo de trânsito intestinal e sais biliares. A última e terceira categoria engloba os fatores da forma de dosagem, como soluções, cápsulas, comprimidos, suspensões. [4]

Neste trabalho daremos especial atenção às propriedades físico-químicas dos ativos, nomeadamente à solubilidade dos mesmos, por ser o fator que motivou este estudo.

### **1.1.1. Classificação de Fármacos pelo Sistema de Classificação Biofarmacêutica**

Após a administração oral, muitos fatores determinam a biodisponibilidade (quantidade de fármaco que atinge a circulação sistêmica). Os principais fatores que influenciam este processo são a solubilidade e a permeabilidade do ativo. Estes dois aspetos constituem a base do Sistema de Classificação Biofarmacêutica (BCS), que é parte integrante das diretrizes da *Food and Drug Administration* (FDA). [5]

O BCS consolidou-se nos últimos anos como ferramenta de auxílio na predição da biodisponibilidade de fármacos e tem sido empregue no desenvolvimento de formas farmacêuticas, que contêm ou não novos fármacos, bem como no registo de medicamentos genéricos. [4]

O BCS subdivide os fármacos em quatro classes, Tabela 1, tendo por base a sua solubilidade aquosa e a sua permeabilidade gastrointestinal.

**Tabela 1.** Classificação de fármacos de acordo com o BCS. [6].

Classe	Solubilidade	Permeabilidade	Descrição
<b>I</b>	Alta	Alta	Compostos geralmente muito bem absorvidos.
<b>II</b>	Baixa	Alta	Dissolução - absorção limitadas.
<b>III</b>	Alta	Baixa	Permeabilidade - absorção limitadas.
<b>IV</b>	Baixa	Baixa	Biodisponibilidade oral muito reduzida.

Os fármacos pertencentes à Classe I, dissolvem-se rapidamente em meio aquoso e são rapidamente transportados através da membrana intestinal, não sendo por isso necessárias estratégias para aumentar a sua absorção.

A absorção nos fármacos pertencentes à Classe II ocorre num período mais longo, comparativamente com fármacos da Classe I, podendo esta ser melhorada acelerando o processo de dissolução.

Na Classe III a permeabilidade através da membrana gastrointestinal é o fator determinante da absorção. Fármacos pertencentes a esta categoria caracterizam-se por apresentar perfis de dissolução bem definidos.

Os fármacos pertencentes à última classe de classificação biofarmacêutica, a Classe IV, apresentam problemas para a administração oral. Tanto a solubilidade como a permeabilidade têm de ser melhoradas. [4], [5], [7]

O ativo farmacêutico estudado neste trabalho, o ibuprofeno, é um fármaco classificado como pertencente à Classe II do BCS. É portanto um fármaco cuja

solubilidade, e conseqüentemente, a velocidade de dissolução, são fatores limitantes da absorção, que deverão ser melhorados.

### 1.1.2. Solubilidade e dissolução

Por definição, a solubilidade é a capacidade que as moléculas de um sólido apresentam para serem removidas da sua superfície por um solvente, e representa um conceito fundamental em diferentes áreas como na química, física, ciência alimentar, farmácia e ciências biológicas. [4] [8] Em termos termodinâmicos a solubilidade de um composto A num determinado solvente, é a concentração de A numa solução saturada que se encontra em equilíbrio com o sólido A puro. Nestas condições é válida a equação (1):

$$\mu_A^{S*} = \mu_A^{Solv} = \mu_A^{l*} + RT \ln \gamma_A x_A \quad (1)$$

onde  $\mu_A^{S*}$  e  $\mu_A^{l*}$  são os potenciais químicos de A puro em fase sólida e líquida, respectivamente, e  $\mu_A^{Solv}$  o potencial químico de A na solução de concentração  $x_A$ , a solubilidade expressa em termos de fracção molar. Se a solução for ideal, o coeficiente de actividade,  $\gamma_A$ , será obviamente unitário. [9]

A solubilidade em diferentes solventes é uma característica intrínseca de uma determinada substância e, por exemplo, em meio aquoso dependerá de diversos fatores, entre os quais, o pH, a força iónica, a temperatura do meio, a forma sólida do composto (ex.: amorfo, cristalino, tipo de polimorfo; co-cristal, sal). [10]

A solubilidade - e propriedades que com ela se relacionam - dá informação importante relativamente à estrutura de compostos e das suas interações intermoleculares e poderá, portanto, diferir para polimorfos da mesma substância. Como foi referido anteriormente, é uma propriedade especialmente importante no campo farmacêutico, pois representa um dos fatores principais que determinam a biodisponibilidade de um fármaco de administração oral. [8]

Para que seja avaliada a sua atividade farmacológica, é necessário que a substância se solubilize nos fluídos do trato gastrointestinal de modo a que ocorra a sua absorção. A solubilidade aquosa é o principal indicador da solubilidade nos fluídos gastrointestinais e da sua potencial contribuição para a biodisponibilidade

do activo sólido. A Farmacopeia Americana (USP) divide a solubilidade aquosa em 7 categorias diferentes, como se apresenta na Tabela 2:

**Tabela 2.** Classificação da solubilidade aquosa de um fármaco pela USP. [11]

Classificação da Solubilidade	Intervalo de Solubilidade / mg mL <sup>-1</sup>
Muito solúvel	>1,0
Livremente solúvel	100-1,0
Solúvel	33-100
Moderadamente Solúvel	10-33
Fracamente Solúvel	1-10
Muito fracamente Solúvel	0,1-1
Praticamente Insolúvel	<0,1

Activos que apresentam solubilidade aquosa baixa, obrigam a investigação e desenvolvimento de formulações por forma a ultrapassar esta limitação e garantir a biodisponibilidade oral desejada. A investigação de co-cristais apareceu recentemente como uma via inovadora na procura de novas formas sólidas com potencial para desenvolvimento de formulações de ativos com biodisponibilidade oral limitada pela baixa solubilidade aquosa, como é o caso do ibuprofeno.

O primeiro requisito para que ocorra absorção, é a dissolução do ativo farmacêutico dado que apenas um composto em solução consegue passar através da membrana gastrointestinal. A dissolução é o processo pelo qual uma substância sólida entra em solução e pode ser influenciada por propriedades químicas, físicas ou cristalográficas, como o tamanho das partículas, área de superfície e constituição da mesma, modificação do seu estado sólido ou melhoria das estratégias de solubilização. A velocidade de dissolução de um fármaco é importante quando é o passo limitante no processo de absorção de uma dada forma sólida.

Uma relação entre a velocidade de dissolução e a solubilidade do soluto foi estabelecida pela primeira vez por Noyes e Whitney em 1897, equação (2). Em 1904, Nernst modificou a equação de Noyes e Whitney introduzindo explicitamente parâmetros relevantes no processo de dissolução, equação (3)

$$\frac{dc}{dt} = K (C_S - C) \quad (2)$$

$$\frac{dc}{dt} = \frac{S D}{V h} (C_S - C) \quad (3)$$

Nesta equação,  $V$  representa o volume do solvente,  $S$  a área de superfície exposta,  $D$  o coeficiente de difusão,  $h$  a espessura da camada de difusão (influenciada pela agitação),  $C_S$  a solubilidade e  $C$ , a concentração ao fim de um tempo de dissolução,  $t$ .

Quando a dissolução é exclusivamente controlada pela difusão (a difusão é o processo pelo qual a matéria é transportada de um local para outro situado no interior do próprio sistema e resulta de movimentos moleculares aleatórios, que ocorrem em pequenas distâncias) e se o volume do meio é suficientemente elevado para  $C \ll C_S$  (na prática  $< 10\%$ ), então  $dc/dt \propto C_S$ . [11] [12]

## 1.2 Polimorfismo

A forma mais conveniente e segura de administração de medicamentos é a via oral, através do uso de formulações sólidas. No entanto, a eficácia terapêutica do ativo sólido está diretamente relacionada com as suas características estruturais (polimorfismo), com a sua morfologia e com o tamanho das partículas.

O polimorfismo, na definição mais citada, é a capacidade de uma substância adquirir mais de uma forma ou estrutura cristalina e é visto como um desafio na engenharia de cristais. [13] Essas variações podem causar alterações nas propriedades físico-químicas e, assim, os polimorfos podem diferir no hábito, dureza, solubilidade, densidade, ponto de fusão, entre outras propriedades.

Como as diferenças entre polimorfos podem resultar em alteração da qualidade e eficácia terapêutica do medicamento, a pesquisa de polimorfos é obrigatória na indústria farmacêutica. [14] [15] A sua caracterização pode fazer-se através de técnicas como a análise térmica (termogravimetria; calorimetria diferencial de varrimento, por exemplo), a difração de raio-X, a espectroscopia de infravermelho, entre outras

Baseados nas diferenças de estabilidade termodinâmica, os polimorfos são classificados como enantiotrópicos ou monotrópicos, dependendo da possibilidade

de uma forma poder, ou não, transformar-se reversivelmente na outra. Num sistema enantiotrópico, é possível observar a transição reversível entre polimorfos abaixo das temperaturas de fusão. Num sistema monotrópico, não se observa qualquer transição reversível entre os polimorfos, antes da temperatura de fusão. A estabilidade relativa dos polimorfos depende das suas energias de Gibbs, e o polimorfo mais estável a uma dada pressão e temperatura terá menor energia de Gibbs. Sob um cenário de condições experimentais definidas (com exceção dos pontos de transição) apenas uma forma polimórfica tem a energia Gibbs mínima – este polimorfo é a forma termodinamicamente estável e o ou os outros polimorfos são denominados como formas metaestáveis.

Do ponto de vista termodinâmico, o cristal passa sempre de uma forma menos estável a uma forma mais estável. Do ponto de vista farmacêutico, a forma mais estável não é sempre a mais desejada, uma vez que tendo estabilidade termodinâmica superior é menos solúvel e, por conseguinte, poderá ter menor biodisponibilidade oral. [16]

Do ponto de vista biofarmacêutico, deverá escolher-se a forma polimórfica mais adequada de modo a otimizar a estabilidade e a biodisponibilidade oral. As formas polimórficas metaestáveis são mais solúveis, o que conduz a uma maior biodisponibilidade. No entanto, ao trabalhar com uma forma polimórfica metaestável deve-se ter em conta a sua falta de estabilidade termodinâmica, podendo ser necessário adicionar outros compostos à formulação para garantir a estabilidade. [17]

A produção de diferentes formas polimórficas, a determinação da modificação estável em determinadas condições experimentais e o conhecimento da relação de monotropia ou de enantiotropia entre elas constituem passos iniciais importantes no processo de pré-formulação farmacêutica. [18]

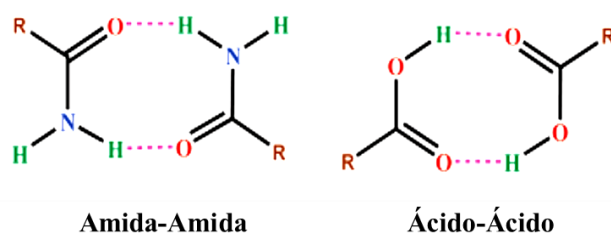
Além dos polimorfos, uma série de formas sólidas com moléculas de solvente incluídas na estrutura do cristal são frequentemente geradas com o solvente de cristalização. As moléculas do solvente na estrutura do cristal podem diminuir o espaço vazio no mesmo ou, por exemplo, servirem de ponte em ligações de hidrogénio entre as moléculas do ativo. A ocorrência de polimorfos e solvatos tem sido referida como especialmente elevada entre moléculas com flexibilidade conformacional. [13]

### 1.3 Co-cristais

Os co-cristais são aductos moleculares cristalinos, estruturalmente homogêneos a nível molecular (fase sólida única), obtidos a partir de componentes que são sólidos em condições ambientais. Os componentes são mantidos juntos por interações não ligantes, essencialmente ligações de hidrogénio, complementadas por outros tipos de interações intermoleculares. [19]

A co-cristalização é agora reconhecida como um importante método para obtenção de novas formas cristalinas de ativos farmacêuticos, em alternativa aos polimorfos, solvatos e sais. Uma vez que não é requerida a formação de qualquer ligação covalente ou iónica na síntese de co-cristais, a bioatividade dos APIs de interesse, normalmente, não se altera. [20] Se o co-formador utilizado na preparação do co-cristal for uma molécula considerada segura para o consumo humano (GRAS – *Generally Recognized As Safe*), então o co-cristal do API será seguro para uso em novas formulações na indústria farmacêutica. [21] Os co-cristais já provaram ser úteis na melhoria da estabilidade, solubilidade, velocidade de dissolução, biodisponibilidade oral e propriedades mecânicas de APIs. [22]

Portanto, os co-cristais são estruturas supramoleculares formadas por homo ou heterosintões supramoleculares, que resultam da ligação entre moléculas que possuem grupos funcionais complementares. Neste trabalho, os compostos utilizados possuem funcionalidades ácido carboxílico (COOH), piridina ( $N_{\text{arom}}$ ) e amida (CONH<sub>2</sub>). Grupos funcionais como o ácido carboxílico, amidas e álcoois podem participar em ligação de hidrogénio como dadores ou como aceitadores e, portanto, são capazes de formar homosintões supramoleculares. Na Figura 2, estão representados dois exemplos de homosintões supramoleculares que se poderão formar com os compostos usados neste trabalho, devido à presença dos grupos amida e ácido carboxílico.



**Figura 2.** Representação de homosintões supramoleculares plausíveis de ocorrer nas estruturas dos compostos estudados neste trabalho.



O azoto piridínico, sendo apenas aceitador em ligação de hidrogénio, poderá apenas formar heterosintões supramoleculares com outros grupos funcionais, como se indica na Figura 3, onde está também representado o heterosintão ácido-amida. [23]



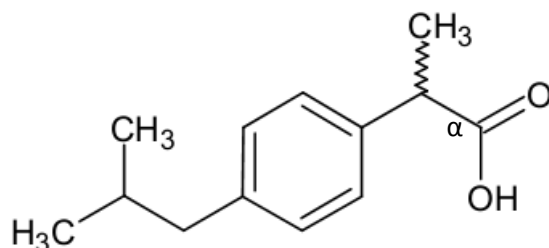
**Figura 3.** Representação de heterosintões supramoleculares plausíveis de ocorrer nas estruturas dos compostos estudados neste trabalho.

A descoberta de co-cristais resultou do mapeamento de diagramas de fase de dois componentes e da cristalização a partir de fundidos. Posteriormente, outros métodos de formação de co-cristais foram utilizados com sucesso, como a cristalização em solução e, especialmente, a moagem no estado sólido (moagem a seco ou assistida por uma pequena quantidade de solventes). [24] [25] [26] [27]

Experiências de co-cristalização em sistemas ternários de dois componentes e um solvente são também de grande importância para a preparação de compostos farmacêuticos binários, especialmente como via de obtenção de monocristais que permitam resolução da estrutura cristalina e também numa perspectiva de transposição de escala. A suspensão de uma substância numa solução saturada de co-cristal, poderá ter vantagens na síntese de co-cristais, das quais podem referir-se: a presença de uma fase líquida acelera a transformação; a solubilidade dos componentes é tomada em conta no planeamento experimental; quase não existem restrições em relação à escolha do solvente; maximiza-se a força motriz para a formação do co-cristal; é favorecida a formação de um estado sólido termodinamicamente estável.

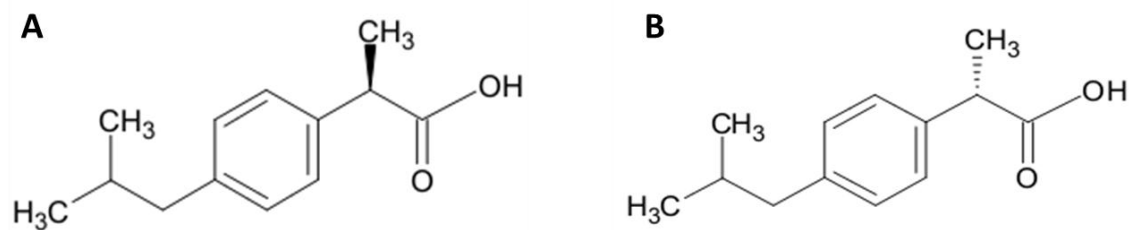
## 1.4 Ibuprofeno

O ibuprofeno ((*RS*)-2-(4-(2-metilpropil) fenil) ácido propanóico), Figura 4, é um fármaco do grupo dos anti-inflamatórios não esteróides, que têm em comum a capacidade de combater a inflamação, a dor e a febre. Tal como os outros anti-inflamatórios não esteroides atuam inibindo a produção de prostaglandinas, substâncias químicas produzidas pelo corpo que causam inflamação e contribuem para a percepção de dor pelo cérebro. Ao bloquear a síntese de prostaglandinas no hipotálamo, uma estrutura do cérebro responsável pela regulação da temperatura do corpo, reduz também a febre. O ibuprofeno tem ainda propriedades anticoagulantes, diminuindo a formação de coágulos sanguíneos. O ibuprofeno conjuntamente com outros ativos farmacêuticos como ácido acetilsalicílico e o paracetamol, entre outros, faz parte da lista de fármacos essenciais da Organização Mundial de Saúde. [28]



**Figura 4.** Representação da estrutura molecular do Ibuprofeno, (*RS*)-2-(4-(2-metilpropil) fenil) ácido propanóico.

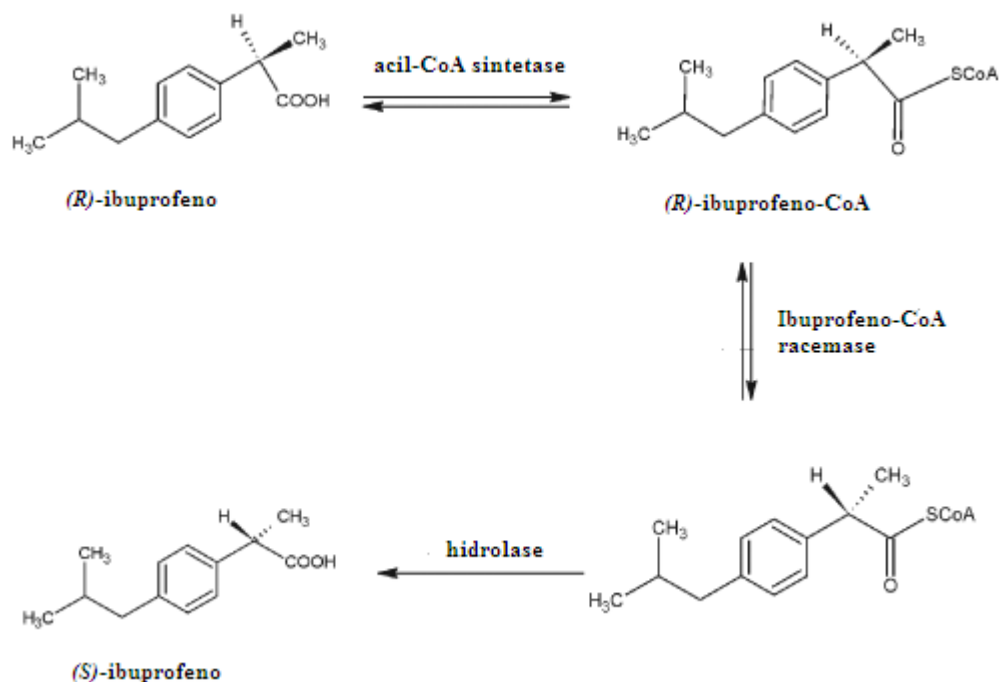
O ibuprofeno tem um centro quiral na posição  $\alpha$ , assinalado na Figura 4. Como tal, existem dois possíveis enantiómeros do ibuprofeno, Figura 5, com potencial para diferentes efeitos biológicos e metabolismo. A compreensão completa da farmacocinética de fármacos é essencial na determinação de um regime de dosagem seguro e efetivo. No caso de um fármaco racémico, como o ibuprofeno, ou de um enantiómero puro, isto implica o conhecimento do comportamento *in vivo* dos estereoisómeros. [29] O enantiómero (*S*)-ibuprofeno é aquele que apresenta atividade anti-inflamatória, analgésica e antipirética, sendo o outro enantiómero inativo. [30]



**Figura 5.** Representação da estrutura molecular dos dois enantiômeros do Ibuprofeno; (A) *R*-(-)-ibuprofeno; (B) *S*-(+)-ibuprofeno. [31]

O enantiômero (*S*) é capaz de inibir a ciclooxigenase (COX), que é a enzima responsável pela formação de importantes mediadores biológicos chamados prostanóides (incluindo prostaglandinas), em concentrações clínicas relevantes. O *R*-(-)-ibuprofeno encontra-se envolvido nas vias de metabolismo lipídico e é incorporado em triglicerídeos juntamente com ácidos gordos endógenos. O *S*-(+)-ibuprofeno não se envolve nesse tipo de reações metabólicas, que são consideradas pouco comuns, razão pela qual é considerado metabolicamente “mais limpo” que o (*R,S*)-ibuprofeno. Os dois enantiômeros são portanto diferentes, relativamente às suas propriedades farmacológicas e aos seus perfis metabólicos, e podem ser considerados dois fármacos distintos.

O ibuprofeno é comercializado como mistura racêmica há cerca de 30 anos porque, por um lado, o custo de produção de um único enantiômero é elevado, e por outro, devido à presença no organismo humano de uma enzima do tipo isomerase (2-amilpropionil-CoA epimerase) que converte uma fração substancial de *R*-(-)-ibuprofeno (50% a 60%) no enantiômero *S*-(+)-ibuprofeno, Figura 6. [32] [33]



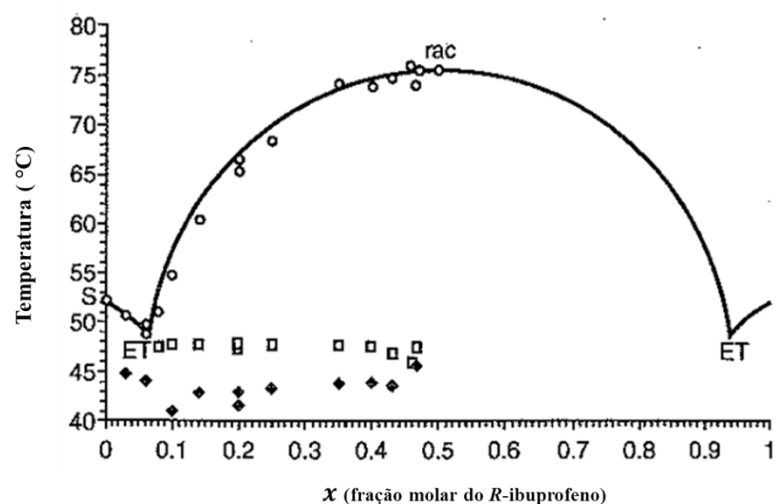
**Figura 6.** Mecanismo da inversão metabólica do ibuprofeno. [34]

O ibuprofeno é comercializado na forma de comprimidos, pó, granulado, suspensão oral e supositórios, sendo que as suas doses normalmente variam entre 200 e 600 mg. O ibuprofeno também é comercializado na forma de solução (gotas) variando a concentração e quantidade do medicamento dentro do frasco de acordo com o fabricante. [35] [36]

#### 1.4.1 Propriedades Físico-Químicas e Estruturais

Num trabalho como o que pretendemos efetuar, é necessário ter-se um conhecimento tão completo quanto possível acerca das propriedades físico-químicas, termodinâmicas e estruturais dos compostos objeto de estudo.

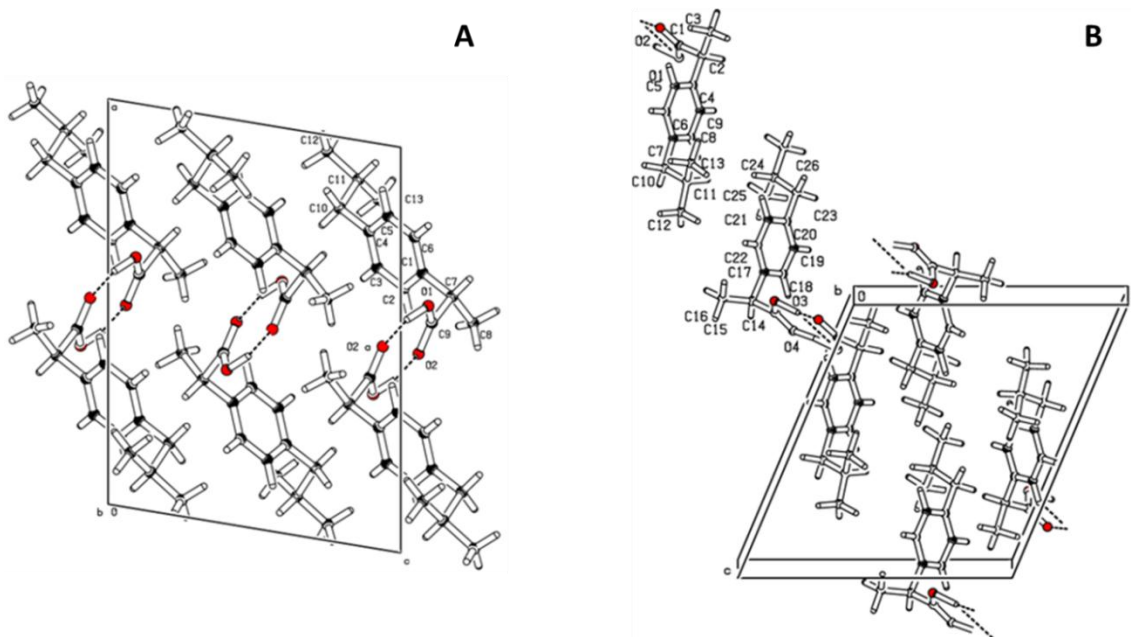
O diagrama de fases sólido-líquido de misturas binárias de enantiômeros do ibuprofeno, Figura 7, foi estabelecido por Artur Burger e colaboradores e confirma a mistura equimolar como um composto racémico I, que funde a  $T_{\text{fus}} = 75,5 \text{ }^{\circ}\text{C}$ , com entalpia de fusão  $\Delta_{\text{fus}}H = 25,7 \text{ kJ mol}^{-1}$ . O enantiômero *S*, por seu lado, funde a  $T_{\text{fus}} = 52,3 \text{ }^{\circ}\text{C}$  com entalpia de fusão  $\Delta_{\text{fus}}H = 18,7 \text{ kJ mol}^{-1}$ . [37] Além do eutético a  $T \sim 49 \text{ }^{\circ}\text{C}$ , Burger detectou um outro eutético, metaestável, a  $T \sim 42 \text{ }^{\circ}\text{C}$ , que atribuiu à existência de polimorfismo, apesar de não ter identificado polimorfos nem do racemato nem dos enantiômeros puros.



**Figura 7.** Diagrama de fases sólido + líquido do *R*- e *S*-ibuprofeno: (□) fusão do eutético (ET); (◆) fusão do eutético metaestável; (○) *liquidus*; [37]

Quer a estrutura cristalina do composto racémico quer a dos enantiómeros puros do ibuprofeno já foram resolvidas e são apresentadas na Figura 8. Em ambas as estruturas há ligações de hidrogénio, Tabela 3 entre os grupos ácidos carboxílicos, originando dímeros cíclicos. [38]

Os parâmetros cristalográficos das estruturas resolvidas do *RS* e do *S*-ibuprofeno, encontram-se em anexo, na Tabela A1.



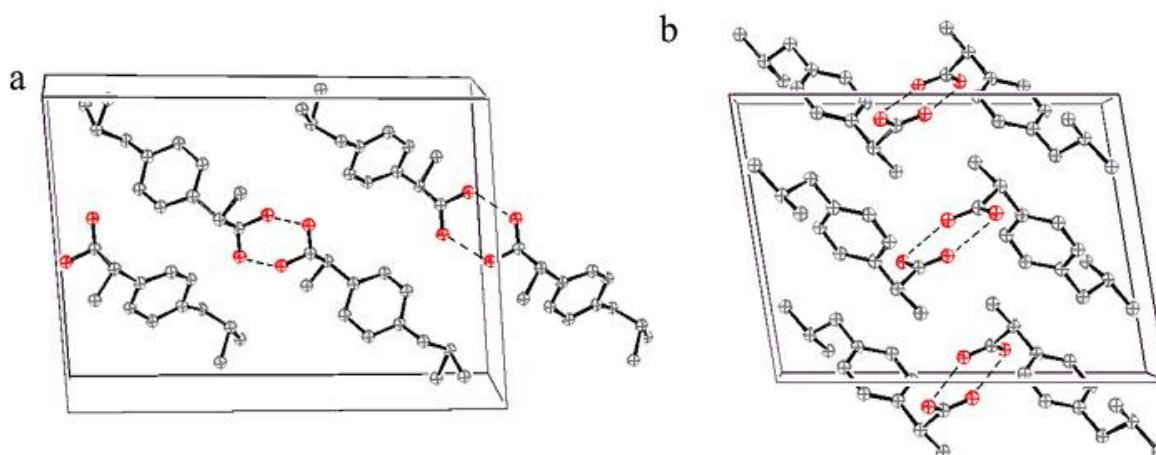
**Figura 8.** Representação das estruturas cristalinas do (*RS*) I e do *S*-ibuprofeno. [38]

**Tabela 3.** Parâmetros geométricos de ligações de hidrogénio nos cristais de *RS*-IBU I, e *S*-IBU.

	D–H...A	D...A / Å	H...A / Å	D–H...A / °
( <i>RS</i> )-ibuprofeno	O1–H...O2	2,728	1,77	159
( <i>S</i> )-ibuprofeno	O2–H...O3	2,629	1,47	153

Estudos realizados sobre a cristalização de (*RS*)-ibuprofeno em diferentes solventes, indicam a obtenção em todos eles do racemato I, apesar da observação de hábitos cristalinos muito distintos. O hábito cristalino do racemato I tem grande impacto nas propriedades do material e, por exemplo, o ibuprofeno sólido na forma de agulhas caracteriza-se por apresentar baixa fluidez, compactação e elevada coesividade e adesividade. [39]

Recentemente, foi identificado um outro polimorfo do (*RS*)-ibuprofeno. Este novo racemato II, foi obtido em ciclos de arrefecimento/aquecimento, em condições de nucleação e crescimento muito particulares: a forma cristalina I foi aquecida até à fusão, e o líquido arrefecido de seguida até -130 °C. Após uma hora a esta temperatura, a amostra foi aquecida a 10 °C/min, até -15 °C e mantida nestas condições durante 5 horas. O sólido obtido, polimorfo II, metaestável relativamente à forma I, funde a  $T_{\text{fus}} = 17$  °C,  $\Delta_{\text{fus}}H = (7,0 \pm 0,5)$  kJ mol<sup>-1</sup>. [40] A estrutura deste polimorfo do (*RS*)-ibuprofeno foi recentemente resolvida e é apresentada na Figura 9. [41] Os seus parâmetros cristalográficos, encontram-se em anexo, na Tabela A2.



**Figura 9.** Representação da organização molecular e da célula unitária do ibuprofeno racémico;

(a) forma II, (b) forma I. [41]

A determinação estrutural das fases metaestável e estável indicou uma organização molecular similar com dímeros cíclicos, formados a partir de ligações de hidrogénio numa célula unitária monoclínica e com o mesmo grupo espacial, ( $P2_1/c$ ). A principal diferença entre as duas estruturas resulta na orientação das ligações de hidrogénio entre os dois enantiómeros, perpendiculares às cadeias do dímero que se ligam a cadeias diferentes na fase I, e na direção das cadeias do dímero na fase II. Estes dois tipos diferentes de associação molecular explicam a forte coesão entre as cadeias diméricas na fase I, e o facto do volume da célula na fase II ser superior em 5% ao da fase I, à mesma temperatura (258 K). [41]

Como se referiu anteriormente, o ibuprofeno pertence à Classe II do Sistema de Classificação Biofarmacêutico (BCS), apresentando baixa solubilidade aquosa e elevada permeabilidade membranar. [6] Apesar do ibuprofeno ser praticamente insolúvel em água, o que limita a biodisponibilidade oral, é bastante solúvel em solventes orgânicos, como se pode constatar pelos dados apresentados na Tabela 4.

**Tabela 4.** Valores de solubilidade do ibuprofeno em diferentes solventes, a 25 °C.

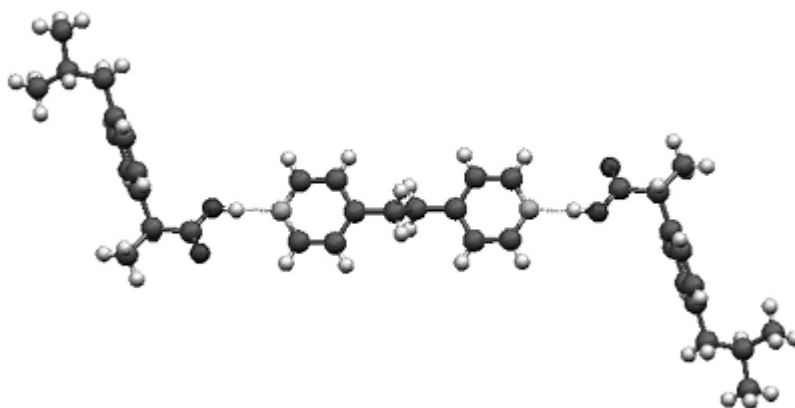
Solvente	Solubilidade / mg mL <sup>-1</sup>	
	RS-IBU	S-IBU
Água	0,12 [42]	0,08 [42]
Etanol	0,20 [43]	
<i>n</i> -octanol	394,0 [44]	
Clorofórmio	618,0 [44]	
Ciclohexano	193,0 [44]	

#### 1.4.2 Co-cristais de ibuprofeno. Escolha dos co-formadores usados neste trabalho

Sendo o ibuprofeno usado em medicação analgésica é pretendido que ocorra uma rápida libertação do fármaco. Assim, para se superar esse problema, muitos investigadores têm feito tentativas de melhorar as propriedades do composto através de técnicas adequadas de *design* de cristais, como a co-cristalização. [39]

Para o caso concreto do ibuprofeno estão descritos, na literatura, co-cristais entre o *RS* ou o *S*-ibuprofeno e co-formadores como o 1,2-bis-(4-piridil)etano, 2-aminopirimidina e a nicotinamida.

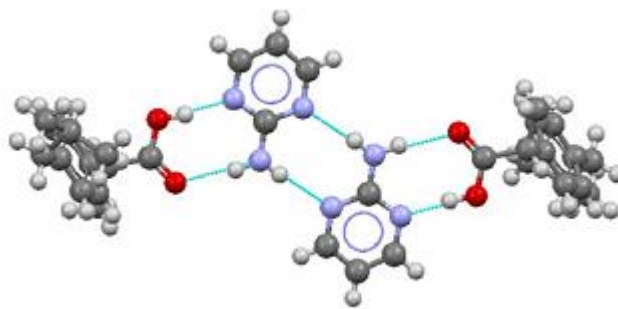
Com o 1,2-bis-(4-piridil)etano, o co-cristal de ibuprofeno racémico foi sintetizado por moagem, durante 15 minutos, num almofariz e o pó obtido caracterizado por espectroscopia de IV e difração de raios-X. A estrutura cristalina do co-cristal mostra que uma molécula do co-formador forma ligações de hidrogénio fortes com duas moléculas do ibuprofeno ( $\text{COOH}\cdots\text{N}_{\text{arom}}$ ), com uma distância de 1,728 Å, Figura 10. [45]



**Figura 10.** Ligações de hidrogénio entre a molécula de 1,2-bis-(4-piridil)etano e duas moléculas de ibuprofeno ( $\text{COOH}\cdots\text{N}_{\text{arom}}$ ), no co-cristal formado. [45]

O co-cristal de ibuprofeno racémico com a 2-aminopirimidina, foi obtido usando o mesmo procedimento acima descrito, e caracterizado pelas mesmas técnicas. Na sua estrutura, é identificado um homosintão entre moléculas de 2-aminopirimidina formado por interação entre o  $\text{N}_{\text{arom}}$  e um átomo de hidrogénio do grupo amina de outra molécula deste composto com distâncias de 2,183 Å ( $\text{Ar-N}\cdots\text{H-NH-Ar}$ ) e 3,042 Å ( $\text{Ar-N}\cdots\text{H-NH-Ar}$ ), resultando num dímero centrosimétrico, Figura 11. Este dímero liga-se ao ibuprofeno por heterossintões formados por interação entre o grupo ácido carboxílico do ibuprofeno com o segundo  $\text{N}_{\text{arom}}$  da 2-aminopirimidina e também com o segundo átomo de hidrogénio do grupo amida, com distâncias de 1,732 Å ( $\text{COOH}\cdots\text{N}_{\text{arom}}$ ) e 2,659 Å ( $\text{COOH}\cdots\text{H-NH-Ar}$ ). [46]

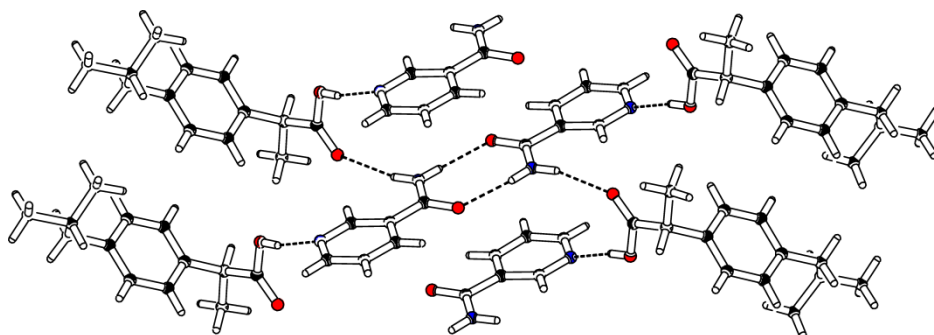




**Figura 11.** Ligações de hidrogénio no co-cristal de ibuprofeno racémico e 2-aminopirimidina. [46]

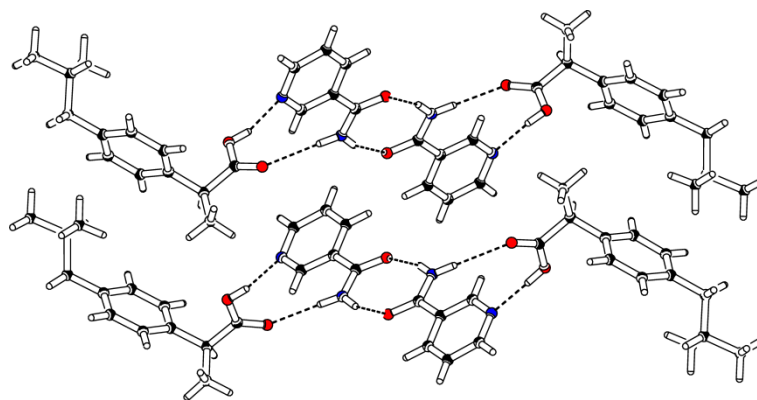
Os co-cristais de ibuprofeno racémico e nicotinamida, segundo a literatura, foram obtidos por três metodologias diferentes, em três trabalhos distintos. Num deles, o co-cristal foi obtido numa extrusora com parafuso duplo rotativo, a diferentes velocidades de rotação e com diferentes perfis de temperatura. [47] Outra metodologia adotada para a síntese do co-cristal foi a utilizada aquando do estudo do 1,2-bis-(4-piridil)etano e da 2-aminopirimidina como co-formadores, ou seja, moagem com almofariz e pilão durante 15 min. [45] A terceira metodologia foi utilizada tanto para a obtenção de co-cristais de *RS*-ibuprofeno como de *S*-ibuprofeno. Esta consistiu em cristalização, sem semente, a partir de soluções equimolares dos componentes, em nitrometano ou acetonitrilo. [38]

A estrutura do co-cristal obtido entre o *RS*-ibuprofeno e a nicotinamida, 1:1, contém homosintões supramoleculares entre as moléculas de amida com ligações N-H...O de distâncias de 2,098 e 2,057 Å, resultando em dímeros cíclicos, Figura 12. Para além dos homosintões supramoleculares, a estrutura cristalina do co-cristal também adota dois tipos diferentes de heterosintões supramoleculares: o segundo átomo de hidrogénio do grupo amida interage com um átomo de oxigénio da molécula de ibuprofeno,  $d_{\text{H}\dots\text{O}} = 2,248 \text{ \AA}$  e o átomo de hidrogénio do grupo carboxílico com o  $\text{N}_{\text{arom}}$  do anel da piridina,  $d_{\text{H}\dots\text{N}_{\text{arom}}} = 1,856 \text{ \AA}$ .



**Figura 12.** Estrutura cristalina do co-cristal entre o *RS*-ibuprofeno e a nicotinamida. [38]

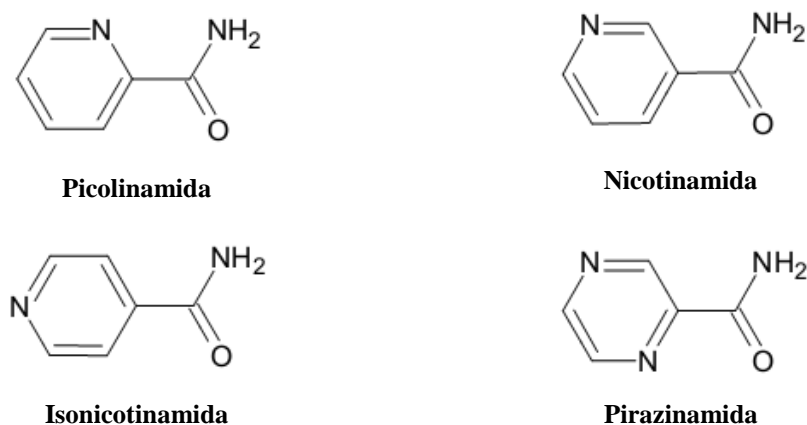
Já a estrutura do co-cristal obtido entre o *S*-ibuprofeno e a nicotinamida, é constituída também por homosintões supramoleculares entre as moléculas da amida com ligações de N-H $\cdots$ O, resultando em dímeros cíclicos, Figura 13. Adota também dois tipos de heterosintões supramoleculares diferentes, e neste aspecto difere do co-cristal com o *RS*-ibuprofeno. Num deles o segundo átomo de H do grupo amida interage com o átomo de O do *S*-ibuprofeno. No outro o átomo de H do grupo carboxílico interage com o N<sub>aromático</sub> da mesma amida que forma o dímero cíclico com outra amida. Os parâmetros geométricos das ligações de hidrogénio de ambos os co-cristais, encontram-se em anexo, na Tabela A2.



**Figura 13.** Estrutura cristalina do co-cristal entre o *S*-ibuprofeno e a nicotinamida. [38]

Entre os heterosintões acima apresentados destacamos este último entre o grupo ácido do ibuprofeno e o azoto aromático da nicotinamida. A existência dos isómeros *orto* e *para* da nicotinamida, e a experiência do grupo no estudo da interação destes co-formadores com o naproxeno [48] motivaram o estudo da influência da posição do azoto aromático na formação de co-cristais.

Os co-formadores escolhidos são então a picolinamida (PA), nicotinamida (NA), isonicotinamida (INA) e também a pirazinamida (PZA) por apresentar dois azotos aromáticos nas posições 2 e 5 do anel aromático e ter ação terapêutica bem conhecida, Figura 14.



**Figura 14 .** Estruturas moleculares dos co-formadores utilizados.

A picolinamida (PA), sólido à temperatura ambiente, tem atividade biológica importante como inibidor da ação da poli(ADP-ribose) sintetase. [49] São conhecidas duas formas polimórficas,  $T_{\text{fus}} = 102 \text{ }^\circ\text{C}$  e  $T_{\text{fus}} = 106 \text{ }^\circ\text{C}$ , cujas estruturas foram resolvidas por difração de raios-X. [50]

A nicotinamida é uma forma da vitamina B3, que pode preservar e melhorar a função das células beta. A nicotinamida é essencial para o crescimento e transformação dos alimentos em energia. [51]

Num estudo realizado por calorimetria diferencial de varrimento foram identificadas quatro formas polimórficas com pontos de fusão: 126-128°C, 112-117°C, 107-111°C e 101-103°C respectivamente para as formas I, II, III e IV. [52] Duas estruturas cristalinas foram resolvidas, a de forma mais comum, I, que funde a  $T = 126 \text{ }^\circ\text{C}$ , e recentemente a da forma II, cujos cristais foram isolados aquando duma tentativa de sintetizar co-cristais desta substância com isoxil. [53]

A isonicotinamida é um precursor da isoniazida que possui acção tuberculostática, antipirética, fibrinolítica e propriedades anti-bacterianas. [54] Foram resolvidas as estruturas de duas formas polimórficas da isonicotinamida, forma I, [55] e forma II,  $T_{\text{fus}} = 156 \text{ }^\circ\text{C}$ . [56] Adicionalmente 3 outros polimorfos foram identificados, os quais no entanto não foram obtidos de modo reprodutível. [53] [56]

A pirazinamida (PZA) é um fármaco anti-tuberculostático, que atua impedindo o crescimento da *Mycobacterium tuberculosis*, ou seja, a bactéria responsável pela maioria dos casos de tuberculose. É convertida na sua forma bactericida ativa (ácido pirazinóico) pela enzima bactericida pirazinamidase (PZase). [57] São conhecidas quatro formas polimórficas da pirazinamida,  $\alpha$  [58],  $\beta$  [59],  $\gamma$  [60] e  $\delta$  [61], e ainda uma possível quinta forma  $\alpha'$  similar à forma  $\alpha$ . A forma  $\gamma$  funde a  $T_{\text{fus}} = 189-191$  °C e todas as outras formas polimórficas se transformam nesta forma antes da fusão.

Dadas as diferenças entre a mistura racémica e o enantiômero ativo pareceu-nos motivador a comparação das possíveis interações entre estes e os co-formadores escolhidos.

# *Capítulo 2*

## Materiais e Métodos Utilizados



## 2. Materiais e Métodos Utilizados

### 2.1 Materiais

Os compostos usados na realização do trabalho experimental apresentavam todos o maior grau de pureza possível, dentro dos produtos comercializados. Na tabela 5, faz-se um resumo de algumas características de cada composto. A forma polimórfica em cada caso foi identificada por XRPD

**Tabela 5.** Origem dos compostos, informação do fornecedor, e forma polimórfica identificada por XRPD.

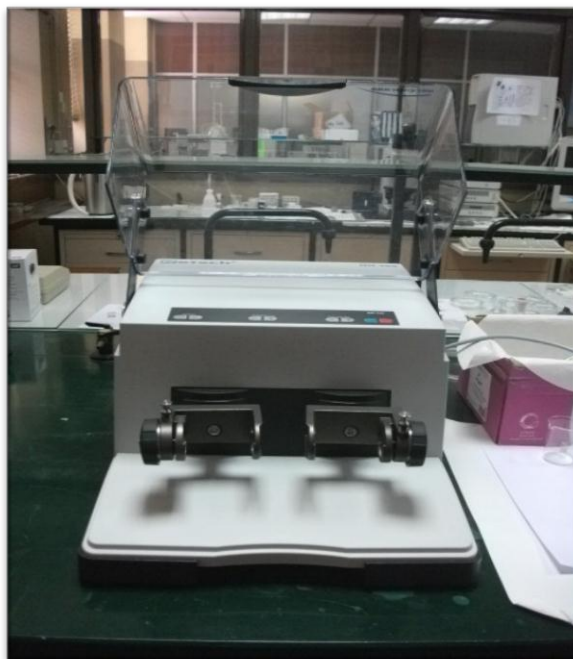
Composto	Laboratório	$M / \text{g mol}^{-1}$	$T_{\text{fus}} / ^\circ\text{C}$	Pureza / %
( <i>RS</i> )-IBU, I	Aldrich	206,3	77-78	98
( <i>S</i> )-IBU	Aldrich	206,3	49-53	99
PA, II	Aldrich	122,13	110	98
NA, I	Aldrich	122,13	128-131	99
INA, II	Aldrich	122,13	156	99
PZA, $\alpha$	Fluka	123,11	189-191	99

A fase móvel usada nos ensaios de HPLC era constituída por 50% de água ultrapura obtida num sistema Millipore Milli-Q Plus e 50% de acetonitrilo, Sigma-Aldrich, para HPL, pureza igual ou superior a 99,93%. O pH foi ajustado a 2,5 com  $\text{H}_3\text{PO}_4$  (85%) , do laboratório Sigma-Aldrich.

## 2.2 Métodos utilizados

### 2.2.1 Mecanoquímica

A mecanoquímica é um método usado para actuar no comportamento químico dos materiais sob o efeito de forças mecânicas. Quando falamos de mecanoquímica, falamos directamente de moagem e moagem assistida por líquido. Entende-se por moagem como sendo o acto de mexer, pressionar e esmagar materiais manualmente com almofariz e pilão ou mecanicamente recorrendo a um moinho, Figura 15. [62] A mecanoquímica permite o aumento da homogeneidade do tamanho da partícula, mas também fornece energia cinética que induz transformações estruturais e químicas.



**Figura 15.** Imagem do moinho de bolas utilizado na obtenção das misturas dos diferentes sistemas estudados.

Na moagem assistida por líquido, como o nome indica, é adicionada uma pequena quantidade de um solvente à mistura que vai ser submetida a moagem o



qual, de algum modo, funciona como catalisador. [63] A técnica de moagem assistida por líquido foi inicialmente utilizada para aumentar a taxa de sucesso na obtenção de co-cristais no estado sólido relativamente à utilização da moagem convencional. Com o desenvolvimento dos estudos verificou-se que a moagem assistida por líquido traria mais benefícios em comparação com a moagem simples pois permite obter maior produtividade e maior cristalinidade do produto. Estas duas técnicas foram estabelecidas como métodos altamente eficientes de pesquisa de co-cristais, sais e formas polimórficas de compostos farmacêuticos. [63]

- Procedimento experimental:

Nas experiências de mecanoquímica utilizou-se um moinho Retsch MM400 com células de aço de 10 mL e 2 esferas de aço de 7 mm de diâmetro. As experiências foram realizadas tipicamente com frequência de vibração de 15 Hz e tempo de duração de 30 minutos.

Na pesquisa de co-cristais de *RS-IBU* foi adicionada uma gota de etanol (10 µL) para melhorar a interação entre os compostos. Foram preparadas, em cada caso, misturas nas estequiometrias 1:1, 1:2 e 2:1, como se indica na Tabela 6.

Quando se estudou o *S-IBU* não foi adicionado solvente por se ter verificado que esse procedimento resulta na impossibilidade de recolha da amostra da célula de aço, após moagem. Foram preparadas misturas com os formadores na estequiometria 1:1, como se indica na Tabela 6.

### **2.2.2 Termomicroscopia com luz polarizada (PLTM)**

A termomicroscopia com luz polarizada, PLTM, é usada habitualmente como uma forma de complementar a informação obtida por calorimetria diferencial de varrimento, DSC. Se através da técnica de DSC conseguimos registar um termograma e obter dados termodinâmicos relativos às transformações da amostra, com a PLTM podemos observar tais transformações, com o uso de luz polarizada. [64] As substâncias sob luz polarizada podem ser divididas em dois grupos, consoante o seu comportamento óptico. Assim, podem ser isotrópicas (substâncias que possuem o mesmo índice de refração em todas as direcções de

propagação da luz na rede cristalina), ou anisotrópicas (substâncias cujo índice de refração varia com a direcção de propagação de luz na rede cristalina). [64] [65]

**Tabela 6.** Preparação de misturas binárias de RS-IBU ou S-IBU com os co-formadores: massas pesadas e respetivo número de moles.

Sistemas	$m / g$	$n$
<i>S-/RS-IBU:INA</i> (1:1)	$m_{IBU} = 0,03095$	$n_{IBU} = 1,50 \times 10^{-04}$
	$m_{INA} = 0,01832$	$n_{INA} = 1,50 \times 10^{-04}$
<i>RS-IBU:INA</i> (1:2)	$m_{IBU} = 0,03095$	$n_{IBU} = 1,50 \times 10^{-04}$
	$m_{INA} = 0,03664$	$n_{INA} = 3,00 \times 10^{-04}$
<i>RS-IBU:INA</i> (2:1)	$m_{IBU} = 0,06189$	$n_{IBU} = 3,00 \times 10^{-04}$
	$m_{INA} = 0,01832$	$n_{INA} = 1,50 \times 10^{-04}$
<i>S-/RS-IBU:NA</i> (1:1)	$m_{IBU} = 0,03095$	$n_{IBU} = 1,50 \times 10^{-04}$
	$m_{NA} = 0,01832$	$n_{NA} = 1,50 \times 10^{-04}$
<i>RS-IBU:NA</i> (1:2)	$m_{IBU} = 0,03095$	$n_{IBU} = 1,50 \times 10^{-04}$
	$m_{NA} = 0,03664$	$n_{NA} = 3,00 \times 10^{-04}$
<i>RS-IBU:NA</i> (2:1)	$m_{IBU} = 0,06189$	$n_{IBU} = 3,00 \times 10^{-04}$
	$m_{NA} = 0,01832$	$n_{NA} = 1,50 \times 10^{-04}$
<i>S-/RS-IBU:PZA</i> (1:1)	$m_{IBU} = 0,03095$	$n_{IBU} = 1,50 \times 10^{-04}$
	$m_{PZA} = 0,01847$	$n_{PZA} = 1,50 \times 10^{-04}$
<i>RS-IBU:PZA</i> (1:2)	$m_{IBU} = 0,03095$	$n_{IBU} = 1,50 \times 10^{-04}$
	$m_{PZA} = 0,03693$	$n_{PZA} = 3,00 \times 10^{-04}$
<i>RS-IBU:PZA</i> (2:1)	$m_{IBU} = 0,06189$	$n_{IBU} = 3,00 \times 10^{-04}$
	$m_{PZA} = 0,01847$	$n_{PZA} = 1,50 \times 10^{-04}$
<i>S-/RS-IBU:PA</i> (1:1)	$m_{IBU} = 0,03095$	$n_{IBU} = 1,50 \times 10^{-04}$
	$m_{PA} = 0,01832$	$n_{PA} = 1,50 \times 10^{-04}$
<i>RS-IBU:PA</i> (1:2)	$m_{IBU} = 0,03095$	$n_{IBU} = 1,50 \times 10^{-04}$
	$m_{PA} = 0,03664$	$n_{PA} = 3,00 \times 10^{-04}$
<i>RS-IBU:PA</i> (2:1)	$m_{IBU} = 0,06189$	$n_{IBU} = 3,00 \times 10^{-04}$
	$m_{PA} = 0,01832$	$n_{PA} = 1,50 \times 10^{-04}$

Neste trabalho tentou-se utilizar o método de Kofler, fazendo uso da termomicroscopia com luz polarizada, de modo a obter uma primeira informação sobre a viabilidade de formação de co-cristais, nos sistemas estudados.

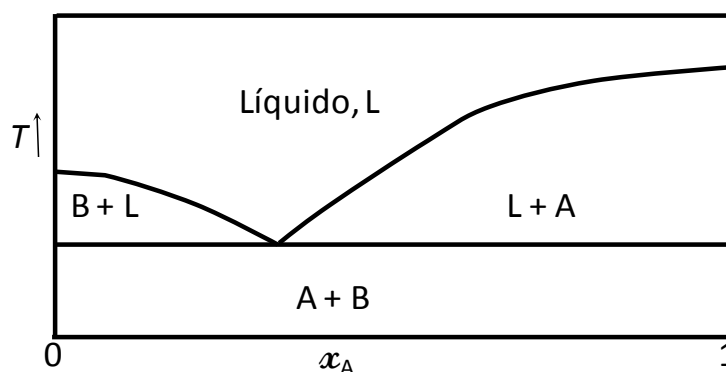
## Método de Kofler

No método de Kofler procura-se visualizar uma zona de mistura resultante da interação entre dois compostos puros, colocados lado a lado, e, conseqüentemente, ter uma visão preliminar do respectivo diagrama de fases.

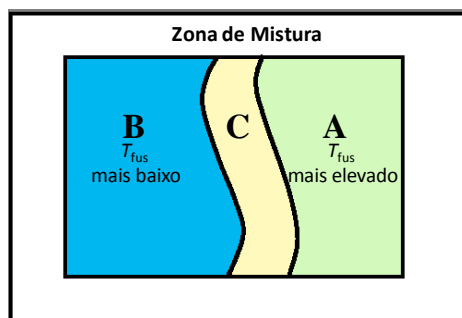
Na execução experimental começa por colocar-se o composto de ponto de fusão mais elevado entre uma lâmina e uma lamela (com um ou dois separadores entre elas para permitir colocar o segundo composto). De seguida este conjunto é colocado sobre a placa de aquecimento do equipamento de PLTM, e a substância é fundida.

Após arrefecimento e cristalização do composto fundido, a segunda substância é colocada entre a lâmina e a lamela, no lado oposto ao do primeiro. Seguidamente, esse conjunto é novamente colocado no forno do equipamento de PLTM até ocorrer a fusão da segunda substância, que irá criar a chamada zona de mistura entre os dois compostos puros. Após arrefecimento, a zona de mistura é focada no microscópio e é aquecida de forma a analisar, recorrendo à PLTM, a ocorrência (ou não) de interação entre os compostos. [66]

No caso do diagrama de fases de A e B ser do tipo apresentado na Figura 16 com a formação de um eutético simples na zona de mistura, observar-se-á uma imagem semelhante à que se apresenta na Figura 17.

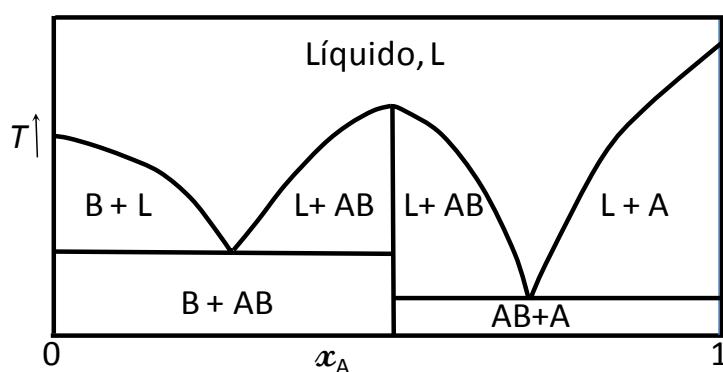


**Figura 16.** Diagrama binário sólido-líquido com formação de um eutético simples entre A e B.

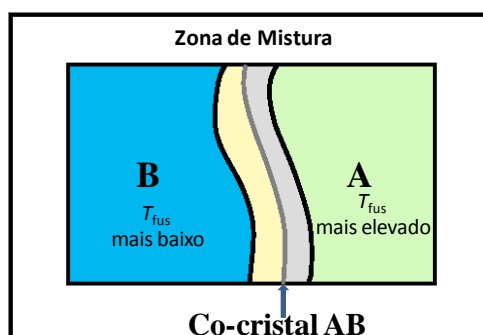


**Figura 17.** Método de Kofler: representação esquemática da zona de mistura, num sistema onde se observa apenas a presença do eutético (C).

Se da interação entre os compostos A e B resultar a formação de um co-cristal, observar-se-á na zona de mistura a fusão de dois eutéticos (entre A e o co-cristal AB e entre o co-cristal AB e B) e a do co-cristal AB ao centro, a temperatura superior à dos eutéticos, Figuras 18 e 19 (naturalmente, no caso de miscibilidade completa dos dois componentes na fase líquida).



**Figura 18.** Diagrama binário sólido-líquido com formação de co-cristal entre A e B.



**Figura 19.** Método de Kofler: representação esquemática da zona de mistura num sistema em que há formação de um co-cristal.

Os resultados, contudo, poderão ser de difícil interpretação nomeadamente se as temperaturas de fusão do co-cristal e de um dos eutéticos forem muito próximas.

- Procedimento experimental:

O equipamento usado é constituído por uma placa de aquecimento DSC 600 da Linkam, por um bloco central, constituído por uma unidade CI94, cuja função é controlar a temperatura nas etapas de aquecimento/arrefecimento, uma unidade LNP94/2 que controla a refrigeração, uma unidade VTO232 e um computador, que controla todo o sistema. A temperatura do forno é controlada por sensores de Pt100. Para a observação ótica foi utilizado um microscópio Leica DMRB, uma câmara de vídeo Sony CCD-IRIS/RGB modelo DXC-151 AP, um monitor Sony HR Triniton modelo PVM-2053MD e um gravador digital. Na análise de imagem usou-se o software da Linkam, com RTVMS. A representação esquemática do equipamento usado encontra-se na Figura 20.



**Figura 20.** Representação esquemática do equipamento usado em termomicroscopia: A – Placa de aquecimento, B – Microscópio, C – Câmara de vídeo, D – Computador, E – Interface gráfica, F – Sistema de controlo da refrigeração, G – Interface de computador.

Os ensaios foram realizados tipicamente à velocidade de 10 °C/min e as observações efetuadas com uma ampliação de 200×.

### 2.2.3 Calorimetria Diferencial de Varrimento (DSC)

A calorimetria diferencial de varrimento é uma técnica de análise térmica que regista o fluxo de energia calorífica associado a transições nos materiais em função da temperatura. É um método de variação entálpica, no qual a diferença no fornecimento de energia calorífica entre uma substância e um material de referência é medida em função da temperatura, enquanto a substância em estudo e a referência são submetidas a um mesmo programa de aquecimento, ou arrefecimento, rigorosamente controlado.

Estas medidas fornecem dados qualitativos e quantitativos em processos endotérmicos (absorção de energia calorífica) e exotérmicos (libertação de energia calorífica), permitindo obter informações referentes a alterações de propriedades físicas e/ou químicas de uma determinada amostra.

Neste caso, o uso da calorimetria diferencial de varrimento tem como objectivo verificar a obtenção (ou não) de um pico, correspondente a um ponto de fusão diferente dos pontos de fusão dos compostos iniciais na forma pura. Tal situação poderá indicar a formação de um co-cristal, havendo também a possibilidade de formação de um eutéctico. [67]

Baseado no mecanismo de funcionamento, o DSC pode ser classificado em dois tipos: DSC de fluxo de calor e DSC de potência compensada. Neste trabalho o calorímetro usado foi um calorímetro de potência compensada. Neste tipo de calorímetros a amostra e a referência são estudadas em dois fornos diferentes, separados e isolados termicamente. As temperaturas em ambos os fornos são medidas com termómetros de resistência de platina, e é fornecida energia por forma a manter a amostra à temperatura programada e garantir que a diferença de temperatura entre a amostra e a referência é nula. [67] A diferença de

potência, fornecida a ambos os fornos,  $dH/dt$  necessária para alcançar esta condição é registrada na ordenada em função da temperatura programada. [68]

- Procedimento experimental:

Neste trabalho foi utilizado o calorímetro de potência compensada, Perkin-Elmer Pyris 1, com refrigeração ajustada a  $-25^{\circ}\text{C}$ , (*intracooler* com circulação da mistura etilenoglicol : água 1:1 (v/v) ).

O azoto, N50, foi utilizado como gás de purga com fluxo de 20 mL/min. Todas as amostras foram preparadas em cápsulas de alumínio de 30  $\mu\text{L}$ , hermeticamente fechadas. Como referência foi utilizada uma cápsula igual, mas vazia.

A calibração de temperatura foi realizada recorrendo a materiais de referência certificados, nomeadamente a benzofenona,  $T_{\text{fus}} = (48,1 \pm 0,2)^{\circ}\text{C}$ , o índio,  $T_{\text{fus}} = 156,61^{\circ}\text{C}$  e a cafeína,  $T_{\text{fus}} = (235,6 \pm 0,2)^{\circ}\text{C}$ , e a calibração de entalpia utilizando índio  $\Delta_{\text{fus}}H = (3286 \pm 13) \text{ J g}^{-1}$ .

#### **2.2.4 Espectroscopia de Infravermelho**

A espectroscopia de infravermelho é uma das técnicas espectroscópicas mais utilizadas por químicos orgânicos e inorgânicos. É, simplesmente, a medição da absorção de radiação de diferentes frequências por uma amostra colocada no caminho de um feixe de radiação na região do infravermelho do espectro eletromagnético.

Na espectroscopia de infravermelho, uma molécula é exposta à radiação e quando a energia radiante corresponde à diferença de energia entre níveis vibracionais de um modo de vibração molecular específico, ocorre absorção, desde que esse modo vibracional resulte em alteração do momento dipolar da molécula.

A frequência associada a modos de vibração molecular depende dos elementos presentes e do tipo de ligações. A análise através de espectroscopia de infravermelho tem como principal objetivo identificar os grupos funcionais de uma determinada amostra. Diferentes grupos funcionais absorvem a frequências características de radiação no infravermelho do espectro.

Assim, a espectroscopia IR é uma ferramenta importante para a elucidação estrutural e identificação de compostos, que utiliza a região do infravermelho do espectro eletromagnético com comprimentos de onda entre 0,78 a 1.000  $\mu\text{m}$  e números de onda entre 13.000 a 10  $\text{cm}^{-1}$ , sendo mais comum a utilização da região do infravermelho médio, 4000 a 400  $\text{cm}^{-1}$ . O uso de diferentes acessórios nos espectrômetros de infravermelho, possibilita a análise de uma gama ampla de amostras, tanto gases como líquidos e sólidos. [69]

A espectroscopia de infravermelho é particularmente útil para avaliar as alterações de ligações de hidrogénio intermoleculares em sólidos.

- Procedimento experimental:

Para obtenção dos espectros de infravermelho, dispersaram-se as amostras a analisar, em KBr, de qualidade espectroscópica, na proporção de 1:100 (1 mg de composto a analisar para 100 mg de KBr). As misturas foram pulverizadas em almofariz de ágata e prensadas num sistema hidráulico de forma a obter uma pastilha suficientemente fina para que a radiação a pudesse atravessar, sem dispersão.

Os espectros de infravermelho foram obtidos num espectrómetro ThermoNicolet IR300, com 32 acumulações, resolução de 1  $\text{cm}^{-1}$ , e entre os comprimentos de onda de 4000 a 400  $\text{cm}^{-1}$ .

### **2.2.5 Difração de Raios-X**

A difração de raios-X é uma técnica versátil e não destrutiva que revela informação detalhada acerca da composição química e da estrutura cristalográfica de matérias e compostos naturais ou sintetizados. [70]

A difração de raios-X pode gerar informações valiosas sobre características da estrutura de um sólido, resultantes do fenómeno físico da difração por eletrões dos átomos presentes na rede cristalina.

Como foi verificado por William Henry Bragg e William Lawrence Bragg, como o espaçamento entre os átomos do cristal tem um valor comparável com o comprimento de onda dos raios X, o feixe refletir-se-á nos planos dos átomos como num espelho. Os raios incidem sobre um cristal, ocorre a penetração do raio na rede cristalina, e ao serem difratados dão origem a fenómenos de interferência



construtiva e destrutiva. [71] Na difração de raios-X, o espaço interplanar ( $d$ ) de um cristal é usado para caracterização e identificação de compostos. Neste caso, o comprimento de onda do raio-X incidente é conhecido. Resolvendo a equação de Bragg,  $n\lambda = 2d \sin \theta$ , onde o  $n$  é a ordem de reflexão,  $\lambda$  o comprimento de onda dos raios-X incidentes,  $d$  o espaço interplanar do cristal e  $\theta$  o ângulo de incidência dos raios-X, esta dá-nos o espaço ( $d$ ) entre os planos da rede de átomos do cristal que produzem a interferência construtiva. Num cristal, cuja estrutura é desconhecida, é de esperar a existência de vários planos de átomos na sua estrutura; assim, o conjunto de reflexões de todos os planos pode ser usado para identificar exclusivamente um cristal desconhecido. [72]

A difracção de raio-X de monocristal é utilizada para esclarecer a estrutura de materiais cristalinos, que podem variar de compostos inorgânicos a macromoléculas complexas, como proteínas ou polímeros. É possível saber tudo acerca da estrutura cristalina, desde que se obtenha o monocristal. A obtenção deste, é o passo mais difícil em todo este processo. [73]

Já a difracção de raio-X de pó, é usada para caracterizar a estrutura cristalográfica, tamanho das partículas, e a orientação preferencial em amostras sólidas policristalinas. Este é um método de análise mais usado para a caracterização de materiais cristalinos desconhecidos. Os compostos são identificados comparando os dados da difracção com os valores de uma base de dados de materiais conhecidos. [74]

- Procedimento Experimental:

As experiências de difração de raios-X de pó foram realizadas num difractómetro INEL CPS ( $\lambda_{\text{CuK}\alpha 1} = 1,54056 \text{ \AA}$ ) equipado com um detector sensível a uma posição de curvatura de  $120^\circ$ . As amostras foram colocadas em capilares de vidro ( $d = 0,3 \text{ mm}$ ).

De modo a garantir uma correta intensidade relativa das reflexões o capilar é colocado sob rotação, tendo sido realizadas recolhas de sinal por um período de 30 minutos.

### 2.2.6 Ensaios de Dissolução

Os estudos de ensaios de dissolução *in vitro*, de modo a estabelecer a biodisponibilidade de fármacos, tiveram início nos anos 50. [11]

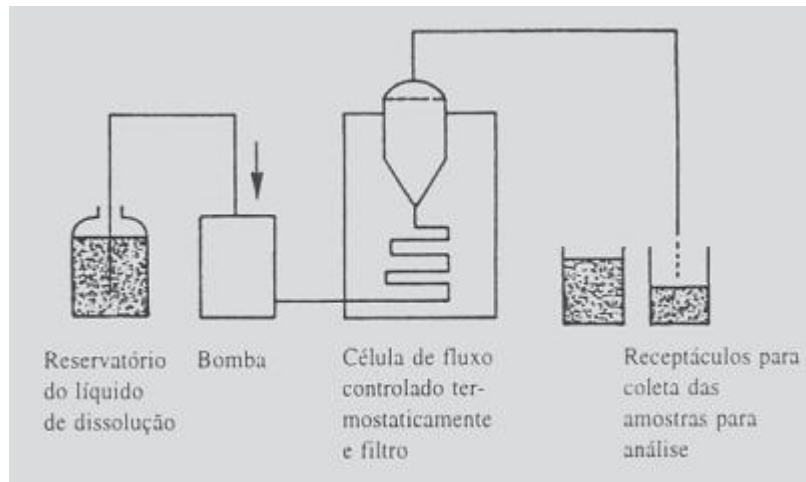
A dissolução de medicamentos tem um efeito significativo na sua actividade farmacológica. Na indústria farmacêutica, pode ser definida como a quantidade de medicamento que entra na solução por unidade de tempo sob condições padronizadas de interface líquido/sólido, temperatura e composição do solvente.

A dissolução é considerada um dos factores mais importantes aquando da realização de testes de controlo de qualidade em dosagens de formas farmacêuticas e é agora usada como uma ferramenta para prever a biodisponibilidade, e em alguns casos, para substituir testes clínicos para determinar a bioequivalência. [75-77]

Durante a última década, tem havido desenvolvimentos de realce no que aos ensaios de dissolução diz respeito. A metodologia dos ensaios de dissolução tem sido introduzida em várias Farmacopeias e regulamentos e directrizes relativas a biodisponibilidade, bioequivalência e testes de dissolução *in vitro* têm sido emitidos internacionalmente. [78]

Com o passar dos anos foram surgindo diferentes sistemas de dissolução, que foram sendo aceites pela USP. O método do cesto rotativo foi o primeiro a ser aceite, no ano de 1970, seguindo-se o método das pás, pouco tempo depois. À medida que iam sendo estudados novos fármacos, foram surgindo alguns problemas, por exemplo o da saturação dos 900 mL de meio, para formulações com solubilidade muito baixa. Devido a isto, foi desenvolvido o método de fluxo contínuo.

O aparelho de fluxo contínuo tem na sua constituição um reservatório para o líquido de dissolução; uma bomba que faz circular o líquido através da célula de fluxo contínuo; uma célula de fluxo contínuo que contém um filtro para a retenção das partículas não dissolvidas e está imersa num banho termostaticado que mantém a temperatura de dissolução a  $T = (37 \pm 0,5) ^\circ\text{C}$ , figura 21.



**Figura 21.** Esquema do aparelho de fluxo contínuo para determinação de perfis de dissolução.

[11]

Neste método a formulação é colocada na célula de fluxo contínuo, através da qual circula o meio de dissolução, que também provoca a agitação mecânica. Este sistema pode ser utilizado em circuito aberto ou fechado. [11] No presente trabalho, foi usado o método de fluxo contínuo, (equipamento USP 4 [79]) em circuito fechado, para o estudo dos perfis de dissolução do ibuprofeno e dos co-cristais obtidos.

São vários os métodos que podem ser aplicados na quantificação do API no meio de dissolução, sendo os métodos espectrofotométricos, cromatográficos e potenciométricos os mais utilizados.

A determinação directa da absorvância por espectrofotometria UV/Vis tem sido o método analítico tradicional nos testes de dissolução. O composto deverá exibir absorção na região do UV/Vis, o que ocorrerá se este tiver um ou mais cromóforos, como grupos aromáticos, nitro, carbonílicos, azo, etc. [80] Um dos maiores problemas no uso da espectrofotometria UV/Vis nos testes de dissolução, prende-se com o facto de, numa análise de dois ou mais fármacos, estes absorverem radiação em comprimentos de onda iguais ou muito similares, e portanto haver sobreposição dos seus espectros.

Assim, em alternativa a este método, para análises multicomponentes, o método mais usado é o HPLC, que permite a separação dos compostos e a sua determinação usando um detetor apropriado. É também um dos métodos mais populares pelo facto de apresentar uma elevada sensibilidade e especificidade. [81]

No presente trabalho, depois de realizados os espectros de UV/Vis do ibuprofeno e dos dois co-formadores que originaram co-cristais (isonicotinamida e a nicotinamida), verificou-se que apresentavam sobreposição de bandas de absorção. Assim, optou-se por utilizar como técnica de análise o HPLC, tendo-se conseguido condições experimentais nas quais se obteve boa resolução cromatográfica do ibuprofeno, dos co-formadores e do (*S*)-naproxeno, escolhido como padrão interno.

- Procedimento Experimental:

Todos os compostos analisados ( (*R,S*)-ibuprofeno, (*S*)-ibuprofeno e os seus co-cristais) foram moídos, no moinho de bolas durante 30 minutos e a uma frequência de 15 Hz. Depois de obtidos os diferentes sistemas moídos, foram pesadas 3 amostras de cada um deles, numa balança analítica, com uma massa aproximada de 11 mg cada, como apresentado na Tabela 7.

De seguida, as amostras pesadas, Tabela 7, foram colocadas nas células de fluxo contínuo do aparelho de dissolução, onde foram “misturadas” nas esferas, de maneira a que as partículas do pó estivessem em contacto total com o meio de dissolução. Depois de estabelecido o programa do ensaio, com as condições que estão indicadas na Tabela 8, iniciou-se o mesmo. Durante o ensaio, eram recolhidas amostras (~ 2 mL) do meio de dissolução, com diferentes tempos de amostragem para posterior análise por HPLC.

**Tabela 7.** Massas pesadas para a realização dos ensaios de dissolução; (*R,S*)-ibuprofeno, (*S*)-ibuprofeno e co-cristais com a INA e NA.

Sistemas	<i>m</i> / mg			Média das massas
	Séries			
	1	2	3	
<i>RS</i> -IBU	10,93	10,84	11,35	11,04
<i>RS</i> -IBU:INA	11,20	10,97	11,12	11,10
<i>RS</i> -IBU:NA	11,16	11,27	11,10	11,18
<i>S</i> -IBU	10,67	11,24	11,30	11,07
<i>S</i> -IBU:INA	14,89	14,93	15,19	15,00
<i>S</i> -IBU:NA	11,07	11,53	11,12	11,24

**Tabela 8.** Condições de execução dos ensaios de dissolução.

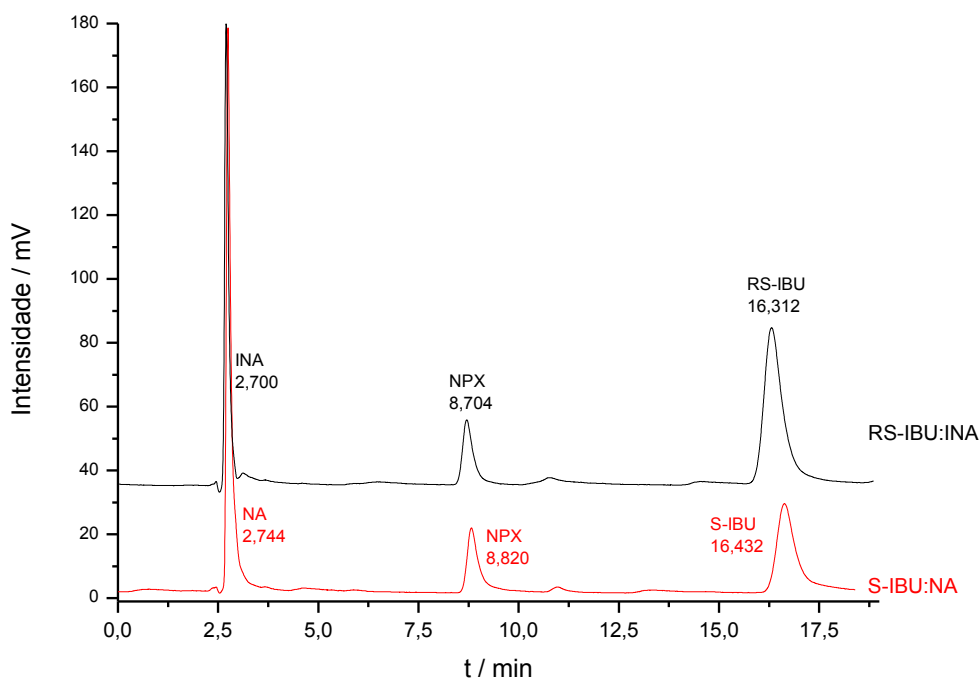
Nome do fármaco	Forma de dosagem	Método USP [11]	Meio de dissolução	V /mL	Fluxo do meio mL / min	Tempos de recolha / min	T/ °C
<i>R,S-</i> Ibuprofeno	Pó	Método de fluxo contínuo	Água	900	15,0	0; 15; 30;	37,0 ± 0,5
<i>S-</i> Ibuprofeno						60; 90;	
(+ co-cristais)						120; 150;	
						180	

Uma vez que o objetivo dos ensaios de dissolução é a comparação dos resultados obtidos para diferentes formas sólidas do activo farmacêutico, escolheu-se água como meio de dissolução. Atendendo à solubilidade do ibuprofeno em água, Tabela 4, este meio garante as “*sink conditions*” (volume do meio de dissolução pelo menos o triplo necessário para formar uma solução saturada de ibuprofeno). [82]

O aparelho de dissolução usado neste trabalho, da empresa Sotax, foi calibrado e certificado pela UCQFarma (Unidade de Controlo de Qualidade de Produtos Farmacêuticos da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra).

As amostras foram analisadas num sistema de HPLC da Gilson constituído por bomba (modelo 307), injector com *loop* de 20 µL, detector de UV-Vis (modelo 151) no comprimento de onda de 241 nm e computador para aquisição de dados. Utilizou-se uma coluna C18 da Hichrom (diâmetro de partícula - 5 µm, comprimento - 25 cm, diâmetro interno da coluna - 4,6 mm). Como fase móvel foi usada uma solução de acetonitrilo:água (50:50, v/v), com pH ajustado a 2,5 com ácido *orto*-fosfórico, sendo o seu o fluxo durante os ensaios de 1 mL / min.

Depois de recolhidas dos ensaios de dissolução, foram medidos 1000 µL de amostra para um copo, onde se juntaram 50 µL de padrão interno (solução de naproxeno (NPX) de 10 ppm). A mistura foi homogeneizada num vortex durante, aproximadamente, 1 minuto e de seguida eram injectados 50 µL desta solução, no *loop* (com capacidade de 20 µL) do cromatógrafo. Cada ensaio teve uma duração entre 19 a 25 minutos. Na Figura 22 apresentam-se cromatogramas exemplificativos dos resultados obtidos.



**Figura 22.** Cromatogramas exemplificativos dos resultados obtidos, com os tempos de retenção do ibuprofeno, do padrão interno (NPX), da INA e da NA.

As concentrações do API nas amostras foram determinadas com auxílio de curvas de calibração, Figura A1 em anexo, estabelecidas na gama de concentração de 1,25 a 10 ppm de IBU, pelo método do padrão interno, usando um procedimento idêntico ao adotado para a análise das amostras.

Como medida de validação do procedimento adotado, o perfil de dissolução do S-IBU puro foi também determinado por leitura da absorvância *on-line*, no sistema de fluxo. Os resultados obtidos, Figura A2, apresentada em anexo, são de todo satisfatórios.

# *Capítulo 3*

## Resultados





### 3. Resultados

#### 3.1 Pesquisa e caracterização de co-cristais: Ibuprofeno Racémico (*RS*-IBU)

##### 3.1.1 Sistema *RS*-IBU:PA

- Método de Kofler

Na Figura 23, são apresentadas as imagens obtidas por termomicroscopia com luz polarizada para o sistema *RS*-IBU:PA, utilizando o método de Kofler.

Analisando as imagens, verificamos que a cerca de 48 °C, começam a notar-se algumas alterações que indicam o início da fusão na zona de contacto entre o *RS*-IBU e o PA. Aos 79°C já todo o *RS*-IBU presente no sistema, se encontra no estado líquido. A fusão no domínio de maior concentração de PA inicia-se aos 90°C, observando-se a 104°C o desaparecimento dos últimos cristais deste composto. Dos resultados não é evidente a formação de co-cristais neste sistema.

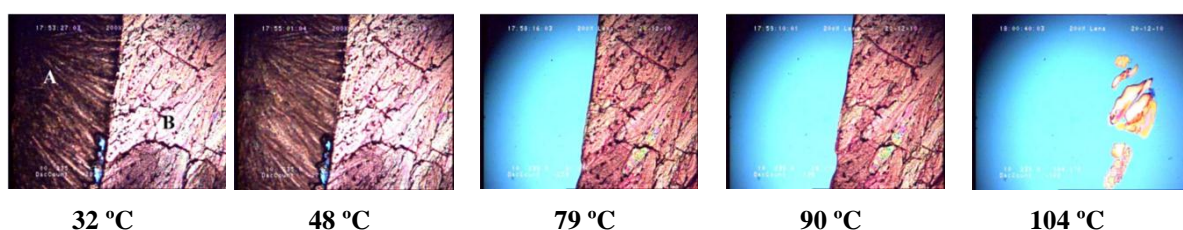
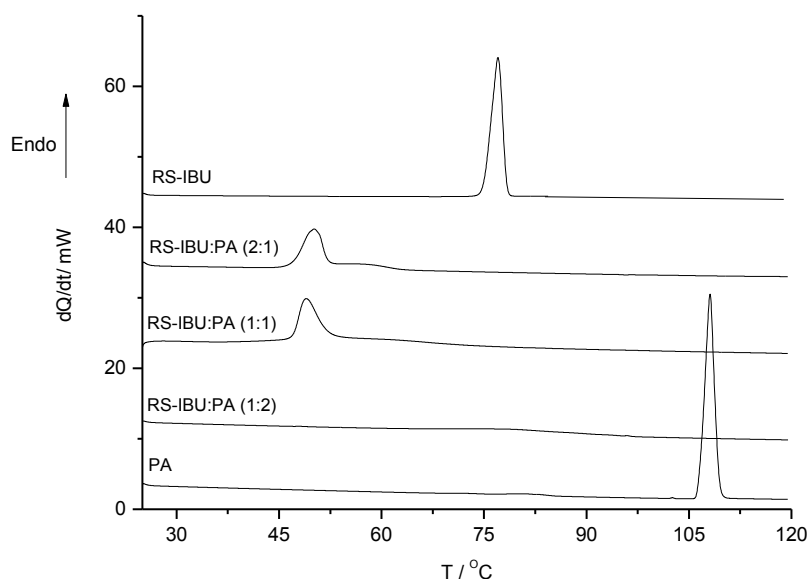


Figura 23. Imagens obtidas por PLTM, usando o método de Kofler; A – *RS*-IBU; B – PA.

- DSC

Na Figura 24 são apresentadas as curvas de DSC ilustrativas do comportamento térmico das misturas de *RS*-IBU:PA nas proporções de 1:1, 1:2 e 2:1, bem como dos compostos puros. Na tabela 9 apresentam-se os respectivos parâmetros termodinâmicos.



**Figura 24.** Curvas de DSC do primeiro aquecimento do *RS-IBU*, da *PA* e das misturas (1:1), (1:2) e (2:1) obtidas em moinho de bolas;  $\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$ , cápsula fechada de 30  $\mu\text{l}$ .

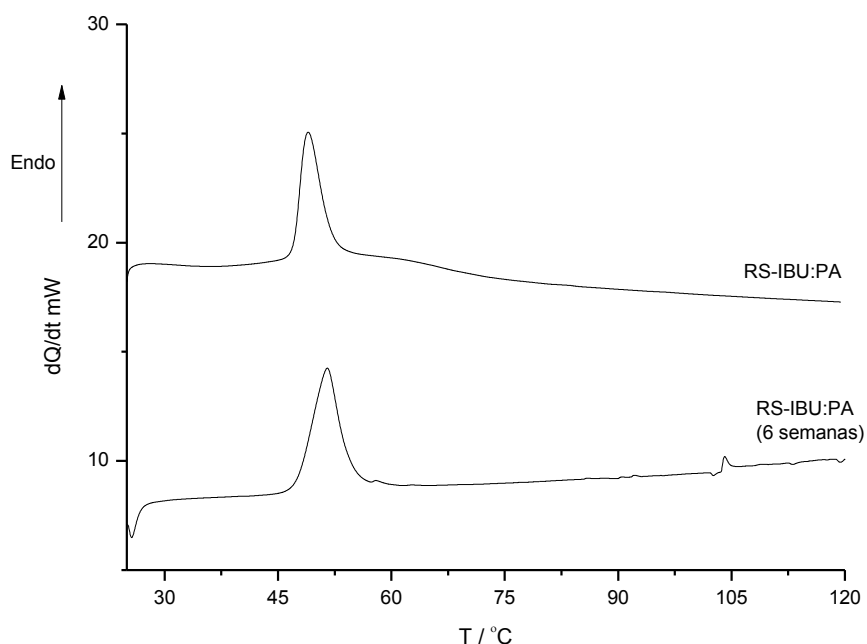
**Tabela 9.** Parâmetros termodinâmicos obtidos a partir das curvas de DSC dos primeiros aquecimentos de *RS-IBU*, *PA* e *RS-IBU : PA* nas diferentes proporções estudadas.

	$T_{\text{onset}} / ^\circ\text{C}$	$T_{\text{pico}} / ^\circ\text{C}$	$\Delta H / \text{kJ.mol}^{-1}$
<i>RS-IBU</i>	$74,9 \pm 0,2$	$77,1 \pm 0,3$	$25,7 \pm 0,2$
<i>RS-IBU:PA</i> (2:1)	47,1	50,1 57,9	-
<i>RS-IBU:PA</i> (1:1)	46,0	49,0	-
<i>RS-IBU:PA</i> (1:2)	-	-	-
	70-90 $^\circ\text{C}$		
<i>PA</i> II	Sólido-Sólido $106,4 \pm 0,4$	$108,4 \pm 0,4$	$19,6 \pm 0,3$

Também a interpretação das curvas de DSC não é conclusiva, apesar do perfil das curvas obtidas para as misturas nas proporções 2:1 e 1:1 ser compatível com o que se espera para um diagrama de fases com eutético simples. A mistura 1:2 apresenta um comportamento anômalo, que se repetiu nos vários ensaios realizados, para o qual não foi ainda encontrada uma interpretação fundamentada.

A mistura *RS-IBU:PA* na proporção de 1:1 foi também analisada 6 semanas após a preparação em moinho de bolas. Na Figura 25 são apresentadas as curvas

de DSC obtidas imediatamente após moagem e ao fim desse período de tempo (a amostra foi mantida à temperatura ambiente). As curvas de DSC, apesar de terem temperaturas de *onset* indistinguíveis, têm perfil diferente.



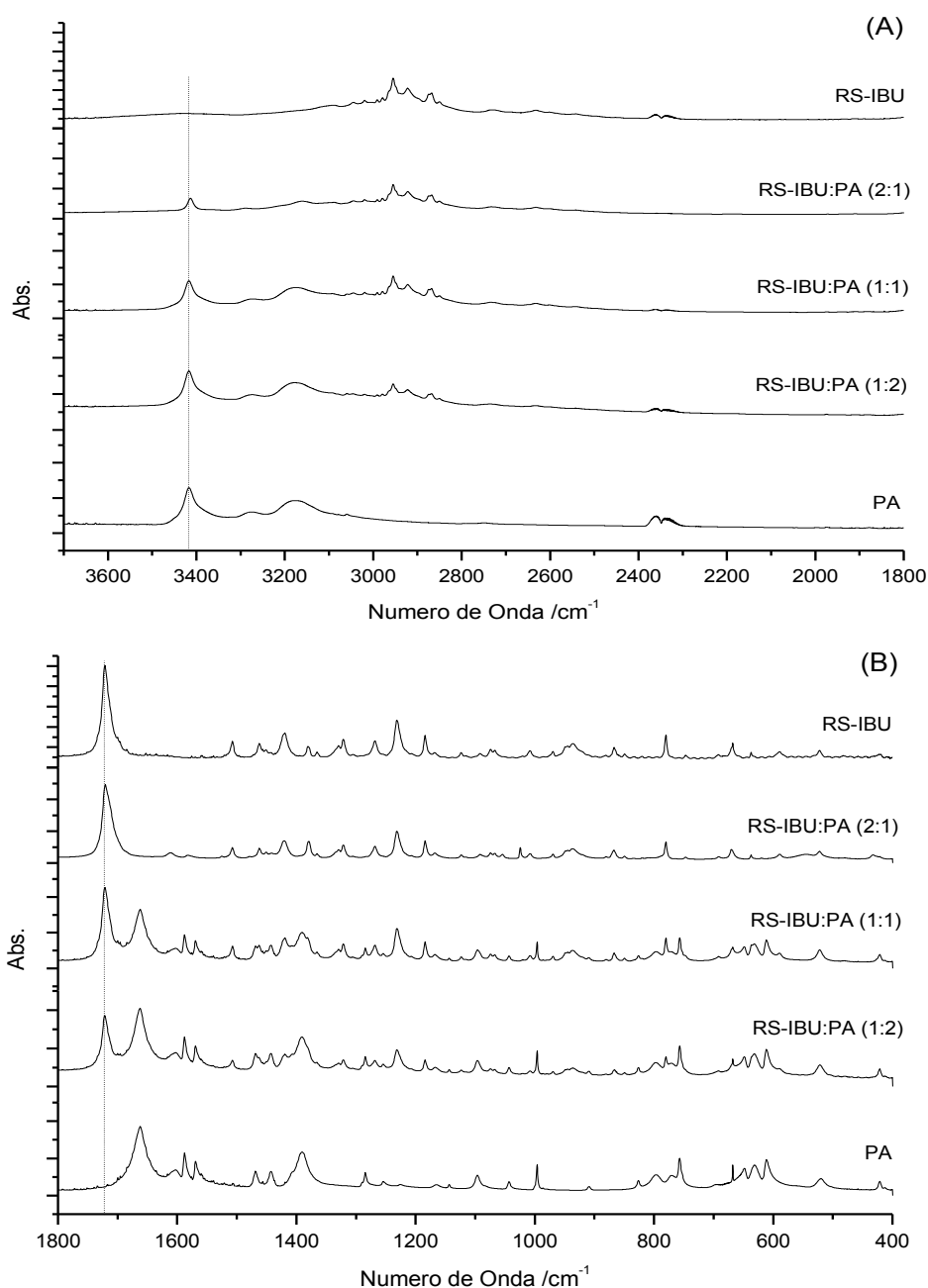
**Figura 25.** Curvas de DSC do primeiro aquecimento da mistura *RS-IBU:PA* (1:1), analisada imediatamente após moagem no moinho de bolas e após 6 semanas à temperatura ambiente;  $\beta = 10$  °C min<sup>-1</sup>, cápsula fechada de 30  $\mu$ l.

#### • FTIR

Na Figura 26 apresentam-se os espectros de FTIR dos compostos puros, *RS-IBU* e *PA*, e das misturas *RS-IBU:PA* (1:1), (1:2) e (2:1).

A comparação dos espectros dos compostos puros, *RS-IBU* e *PA*, e das diferentes misturas permite concluir que não há qualquer deslocamento nas bandas observadas: os espectros das misturas são simples soma das contribuições dos compostos puros.

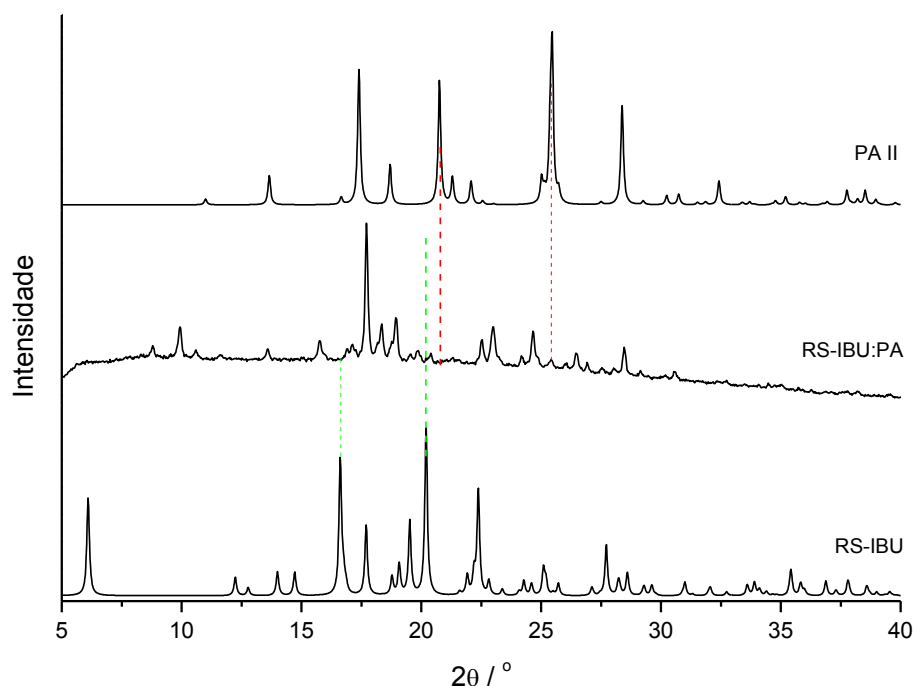
Após 6 semanas, o espectro de FTIR do sistema *RS-IBU:PA* na proporção 1:1, não apresenta alterações em nenhuma das bandas que o constituem, comparativamente com o espectro obtido imediatamente após a moagem do sistema. Nada indica, portanto, a formação de um novo co-cristal



**Figura 26.** Espectros experimentais de infravermelho dos componentes puros, *RS-IBU* e *PA*, e das misturas *RS-IBU:PA* (1:1), (1:2) e (2:1) obtidas no moinho de bolas. (A) Números de onda entre 3700 – 1800  $\text{cm}^{-1}$ ; (B) Números de onda entre 1800 – 400  $\text{cm}^{-1}$ .

- **XRPD**

Na Figura 27 apresenta-se o difratograma experimental de raios-X de pó para a mistura *RS-IBU:PA* (1:1), registado 6 semanas após a preparação da mistura, e os difratogramas simulados a partir de dados cristalográficos de raios-X de monocristal depositados na CCDC, do *RS-IBU* e da *PA II*.



**Figura 27.** Difratoograma de pó da mistura *RS-IBU:PA* (1:1), registado 6 semanas após a preparação por moagem em moinho de bolas, e difratogramas simulados do *RS-IBU* e da *PA II*.

Pela análise dos três difratogramas, apresentados na figura acima, é clara a presença de um novo arranjo cristalino na mistura, comparativamente aos compostos de partida. Na Figura estão assinaladas algumas linhas características de cada um deles. No difratograma da *PA II*, estão assinaladas as linhas a 20,8° e a 25,4° que não presentes no difratograma da mistura. Relativamente ao difratograma do *RS-IBU*, estão assinaladas as linhas a 16,7° e a 20,2° sendo que a primeira não se observa no difratograma da mistura, e relativamente à segunda, está presente mas com muito menor intensidade.

Conclui-se, assim, que a mistura apresenta um novo arranjo cristalino que poderá ser o de um co-cristal. Contudo, os resultados obtidos pelas outras técnicas de estudo usadas neste trabalho, em particular por espectroscopia de infravermelho, não suportam esta conclusão. Por conseguinte, será necessário a investigação adicional sobre o sistema *RS-ibuprofeno: picolinamida*

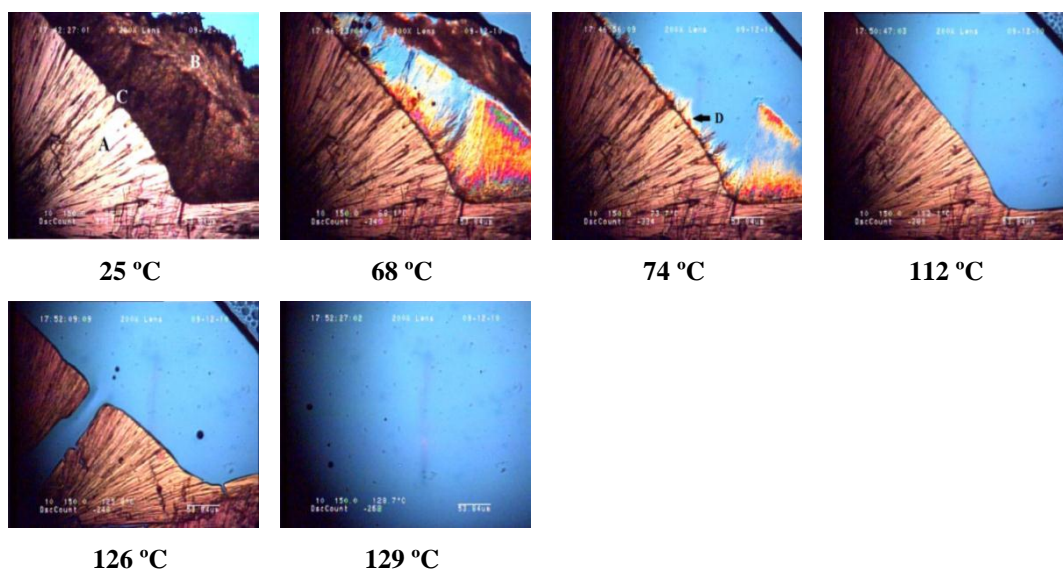
### 3.1.2 Sistema RS-IBU:NA

Como foi anteriormente referido, este sistema já está referenciado na literatura, como dando origem a um co-cristal na proporção 1:1, com temperatura de fusão de 90 °C. [38] [45] [47] [83]

Os diferentes autores referem a obtenção do co-cristal por cristalização, sem semente, a partir de soluções equimolares dos componentes em nitrometano ou acetonitrilo, por moagem e por extrusão a quente. [38] [45] [47]

- **Método de Kofler**

Na Figura 28 são apresentadas as imagens obtidas por PLTM para o sistema RS-IBU:NA, utilizando o método de Kofler.

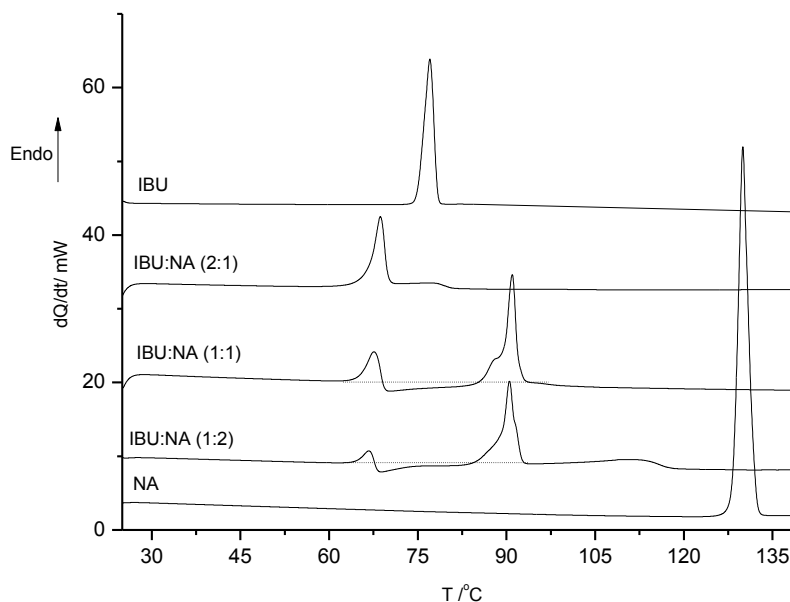


**Figura 28.** Imagens obtidas por PLTM, usando o método de Kofler; A – NA; B – RS-IBU; C – Zona de mistura; D – Co-cristal.

Nesta sequência de imagens verificamos que a fusão na zona de mistura tem início aos 68°C. A 74°C praticamente todo o RS-IBU se encontra no estado líquido e é possível observar a existência na zona de mistura de uma fase sólida diferenciada, assinalado com a letra D, que poderá ser o co-cristal. A fusão nesta zona é observada a cerca de 92°C e, a partir de 112°C, é evidente a fusão na região da lâmina mais rica em NA. A cerca de 129°C já não existe composto sólido na lâmina.

- **DSC**

Na figura 29 são apresentadas as curvas de DSC dos compostos puros e também das misturas de *RS*-IBU:NA, nas proporções de 1:1, 1:2 e 2:1. Na Tabela 10 apresentam-se os respectivos parâmetros termodinâmicos.



**Figura 29.** Curvas de DSC do primeiro aquecimento do *RS*-IBU, da NA e das misturas (1:1), (1:2) e (2:1) obtidas em moinho de bolas;  $\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$ , cápsula fechada de 30  $\mu\text{L}$ .

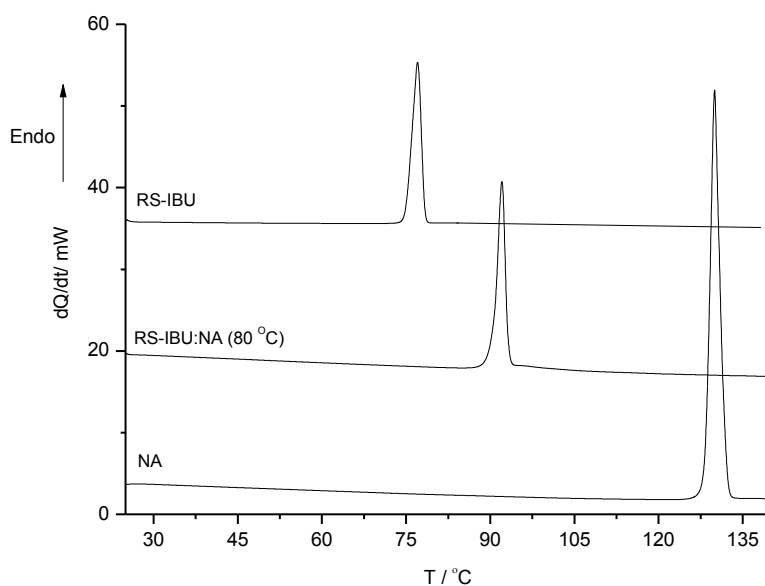
**Tabela 10.** Parâmetros termodinâmicos obtidos a partir das curvas de DSC dos primeiros aquecimentos de *RS*-IBU, NA e de misturas *RS*-IBU:NA nas diferentes proporções estudadas.

	$T_{\text{onset}} / ^\circ\text{C}$	$T_{\text{pico}} / ^\circ\text{C}$	$\Delta H / \text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$
<i>RS</i> -IBU	$74,9 \pm 0,2$	$77,0 \pm 0,3$	$25,7 \pm 0,2$
<i>RS</i> -IBU:NA (2:1)	68,7	66,7 77,8	
<i>RS</i> -IBU:NA (1:1)	64,9	67,6	-
	89,4	91,0	-
<i>RS</i> -IBU:NA (1:2)	64,5	66,7	-
	89,0	90,4	-
		111,7	
NA	$128,4 \pm 0,2$	$130,4 \pm 0,3$	$23,7 \pm 0,2$

A curva de DSC da nicotinamida confirma que o composto se encontra na forma polimórfica I, uma vez que a temperatura de fusão é  $T_{\text{fus}} = 128^\circ\text{C}$ .

Para a mistura equimolar de ibuprofeno e nicotinamida, a composição do co-cristal, esperar-se-ia um pico de fusão estreito e único, característico da fusão de uma substância pura. A curva de DSC parece indicar que a reação não foi completa: o termograma é complexo, verificando-se que após o 1º pico de fusão, a cerca de 68 °C, existe um pico exotérmico que poderá estar associado à formação do co-cristal que se vê a fundir pelos 89 °C. Na mistura *RS*-IBU:NA (1:2), além deste eventos, observa-se a fusão do excesso de NA.

Atendendo a estes dados, uma mistura *RS*-IBU:NA (1:1) foi colocada numa estufa a 80°C (temperatura acima da temperatura de fusão do IBU) durante 3 dias, para que a reação terminasse. Na Figura 30 é apresentada a curva de DSC obtida para a mistura sujeita a este tratamento, registando-se apenas um pico estreito,  $T_{fus} = (91,7 \pm 0,3) \text{ } ^\circ\text{C}$ ,  $\Delta_{fus}H = (37,76 \pm 0,9) \text{ kJ mol}^{-1}$ , que confirma a formação de co-cristal.

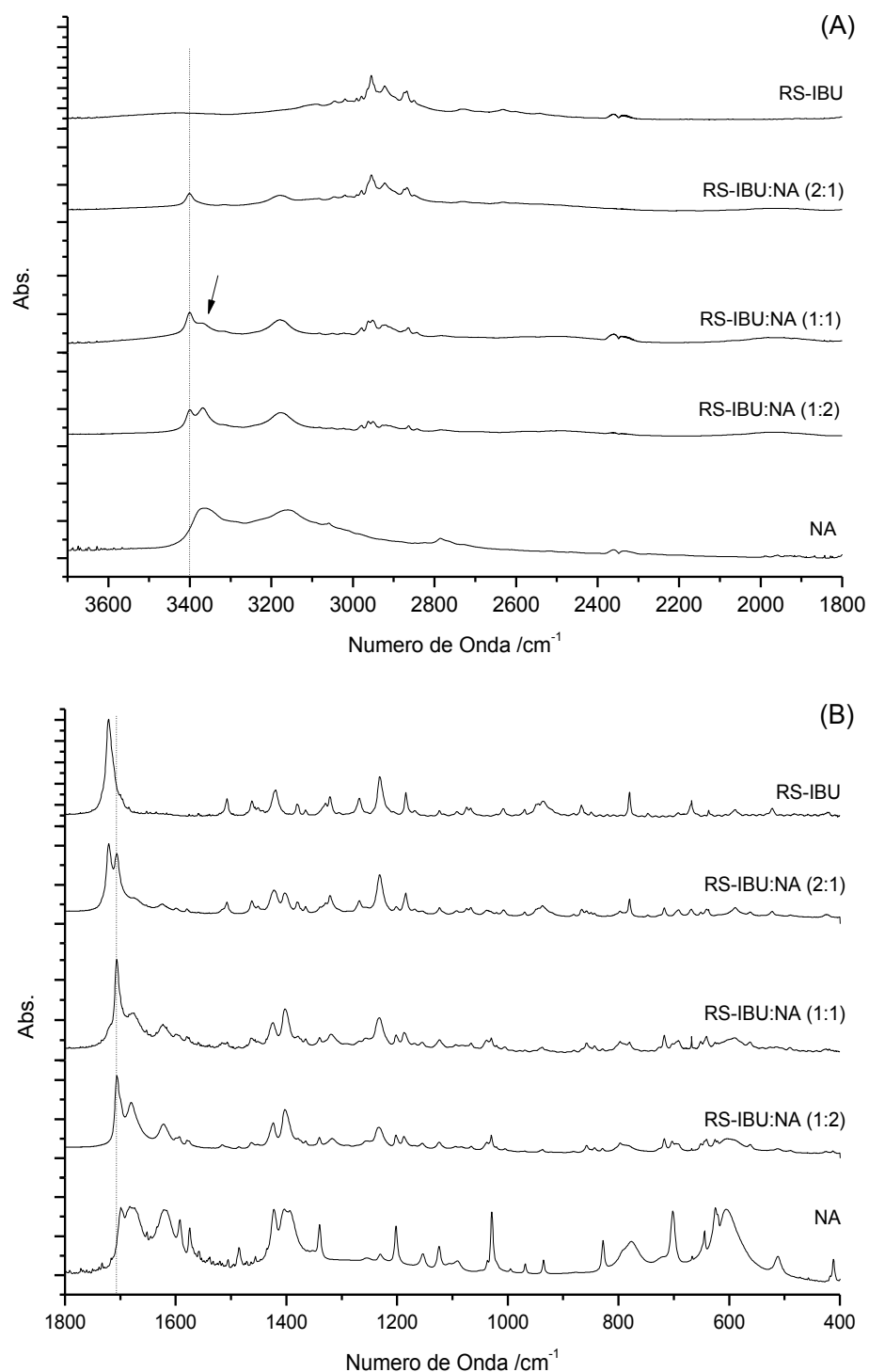


**Figura 30.** Curva de DSC do primeiro aquecimento do *RS*-IBU, da NA e da mistura (1:1), após permanência a 80°C, 3 dias;  $\beta = 10 \text{ } ^\circ\text{C min}^{-1}$ , cápsula fechada de 30  $\mu\text{l}$ .

- **FTIR**

Na Figura 31 são apresentados os espectros de FTIR dos *RS*-IBU e NA puros e das misturas *RS*-IBU:NA (1:1), (1:2) e (2:1), registados imediatamente após a sua preparação em moinho de bolas.



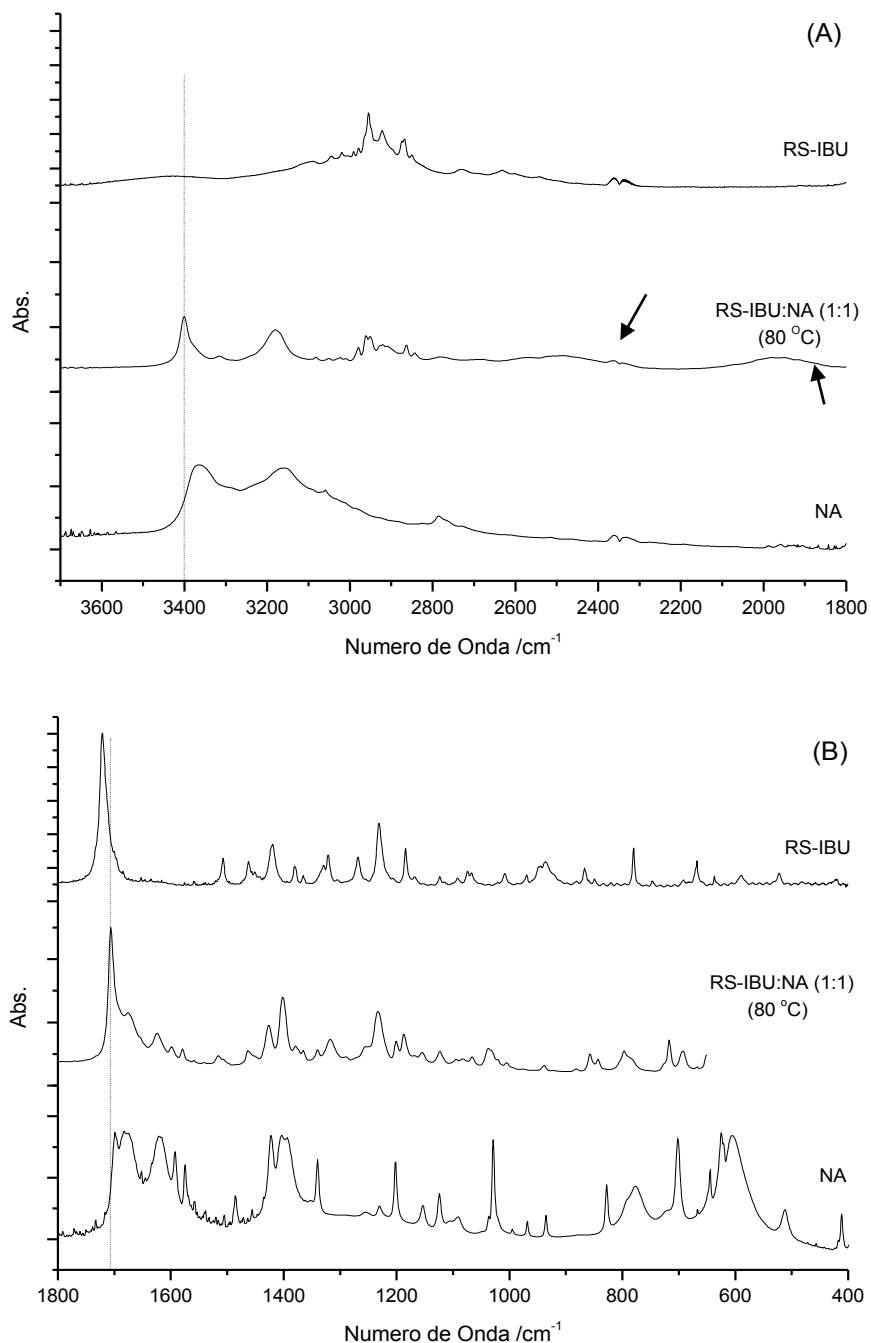


**Figura 31.** Espectros experimentais de infravermelho dos componentes puros *RS-IBU* e *NA* e das misturas *RS-IBU:NA* (1:1), (1:2) e (2:1) obtidas no moinho de bolas. (A) Números de onda entre 3700 – 1800  $\text{cm}^{-1}$ ; (B) Números de onda entre 1800 – 400  $\text{cm}^{-1}$ .

A informação de DSC permite-nos desde logo prever que a reação só se completa quando a mistura fica na estufa a 80 °C. Na figura 31 (A) assinalou-se com uma seta uma banda relativa à presença de *NA* que ainda não reagiu na

mistura *RS*-IBU:NA (1:1). A ponteados estão assinaladas bandas que dizem respeito à nova espécie formada.

O espectro do co-cristal *RS*-IBU:NA (1:1) obtido após tratamento térmico da mistura (1:1) apresenta-se na Figura 32.

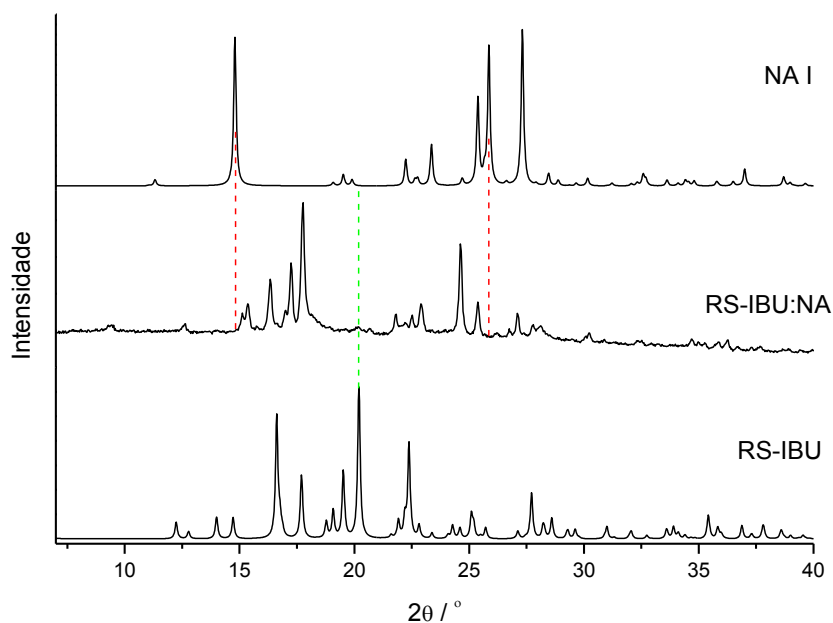


**Figura 32.** Espectros experimentais de infravermelho dos componentes puros *RS*-IBU e NA e da mistura *RS*-IBU:NA (1:1), após permanência a 80°C, 3 dias. (A) Números de onda entre 3700 – 1800  $\text{cm}^{-1}$ ; (B) Números de onda entre 1800 – 400  $\text{cm}^{-1}$ .

O modo vibracional de elongação assimétrico do grupo  $\text{NH}_2$  presente na NA a  $3364\text{ cm}^{-1}$ , é deslocado no co-cristal para  $3401\text{ cm}^{-1}$ . A elongação do grupo carbonilo apresenta-se no *RS*-IBU a  $1721\text{ cm}^{-1}$ , no co-cristal a  $1707\text{ cm}^{-1}$  e na NA a  $1699\text{ cm}^{-1}$  indicando a formação de uma nova rede de ligação de hidrogénio. São claramente visíveis no espectro a  $\sim 2500$  e  $1950\text{ cm}^{-1}$ , duas bandas que têm sido atribuídas à presença da ligação de hidrogénio  $\text{OH}\cdots\text{N}_{\text{aromático}}$ , a qual foi identificada na estrutura do co-cristal *RS*-IBU:NA, como se referiu na secção 1.4.2. [45-47]

- **XRPD**

O difratograma experimental de raios-X de pó da mistura *RS*-IBU:NA (1:1), após permanência a  $80^\circ\text{C}$ , 3 dias, e os difratogramas simulados a partir de dados cristalográficos de raios-X de monocristal depositados na CCDC, do *RS*-IBU, I e da NA I, são mostrados na Figura 33.



**Figura 33.** Difratograma de pó da mistura *RS*-IBU:NA (1:1) obtida por moagem em moinho de bolas, após permanência a  $80^\circ\text{C}$ , 3 dias, e difratogramas simulados do *RS*-IBU I, e da NA I.

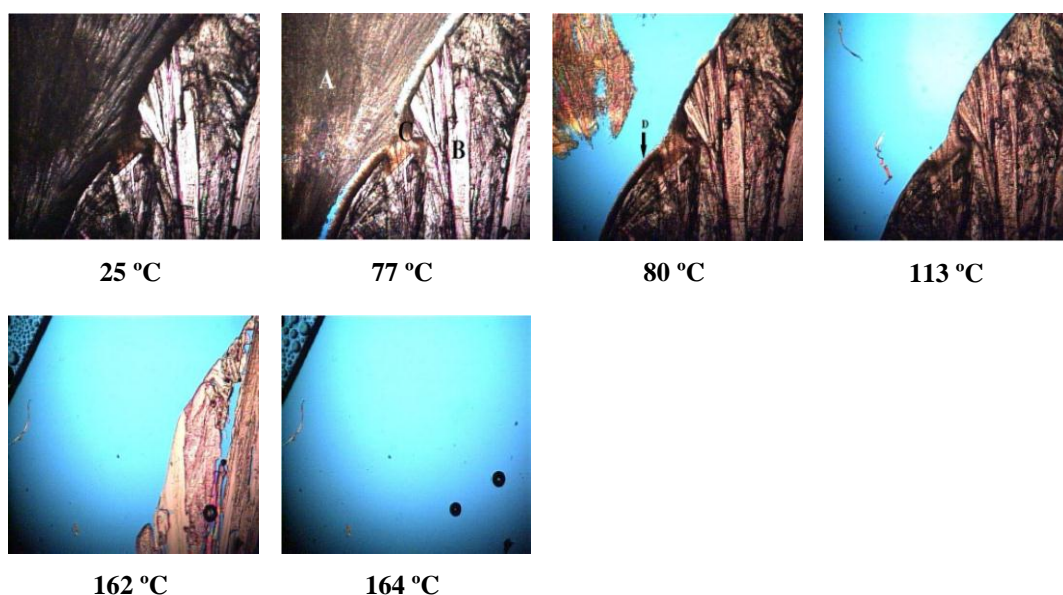
Comparando os difratogramas da mistura, com os difratogramas dos compostos puros, observamos a existência de novas figuras de difração no difratograma da mistura. No difratograma da NA I, encontram-se assinaladas as linhas a  $14,8^\circ$  e a  $25,9^\circ$ , que são inexistentes no difratograma da mistura.

Relativamente ao difratograma do *RS-IBU*, está assinalada a linha a  $20,2^\circ$  que não é visível no difratograma da mistura. Através destas observações, confirmamos que estamos perante um novo arranjo cristalino, e portanto, um novo co-cristal.

### 3.1.3 Sistema *RS-IBU:INA*

- **Método de Kofler**

Na Figura 34 são apresentadas as imagens obtidas por PLTM para o sistema *RS-IBU:INA*, usando o método de Kofler.

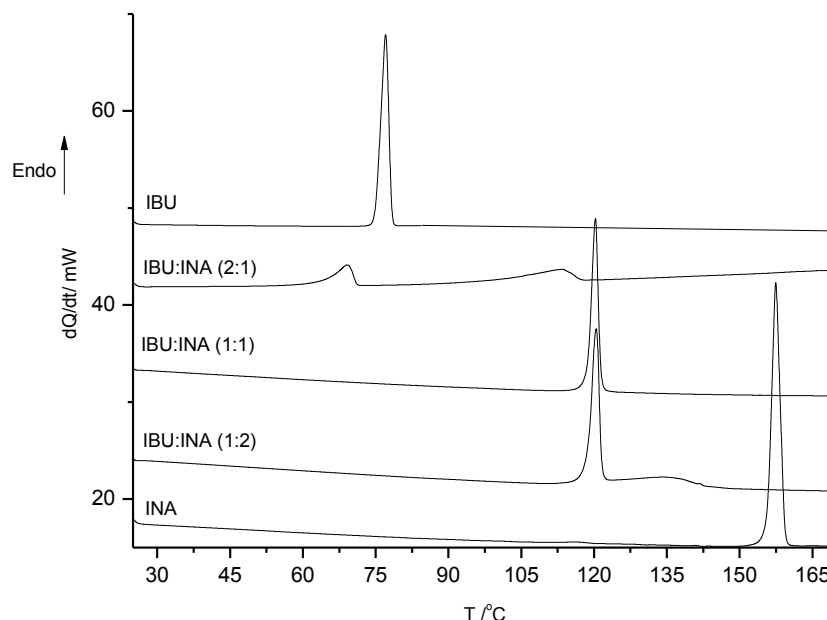


**Figura 34.** Imagens obtidas por PLTM, usando o método de Kofler: A – *RS-IBU*; B - *INA*; C – Zona de mistura; D – Co-cristal.

Nesta Figura são as imagens às temperaturas de 77 e 80 °C que merecem maior destaque. Por volta dos 77 °C inicia-se a fusão na zona de mistura, aos 80°C quase todo o *RS-IBU* se encontra fundido e é possível observar a existência na zona de mistura de uma fase sólida diferenciada, assinalada com a letra D, que lembra o comportamento observado para o sistema *RS-IBU:NA*. Este sólido, que se acredita ser um co-cristal, começa a fundir a cerca de 113 °C. Por último, e sensivelmente aos 156°C observa-se o início da fusão da *INA*.

- DSC

Na Figura 35 apresentam-se as curvas de DSC obtidas para misturas de *RS*-IBU:INA nas proporções de 1:1, 1:2 e 2:1 e para os compostos puros. Os respectivos parâmetros termodinâmicos são apresentados na Tabela 11.



**Figura 35.** Curvas de DSC do primeiro aquecimento do *RS*-IBU, da INA e das misturas (1:1), (1:2) e (2:1) obtidas em moinho de bola;  $\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$ , cápsula fechada de 30  $\mu\text{L}$ .

**Tabela 11.** Parâmetros termodinâmicos obtidos a partir das curvas de DSC dos primeiros aquecimentos de *RS*-IBU, INA e de misturas *RS*-IBU:INA nas diferentes proporções estudadas.

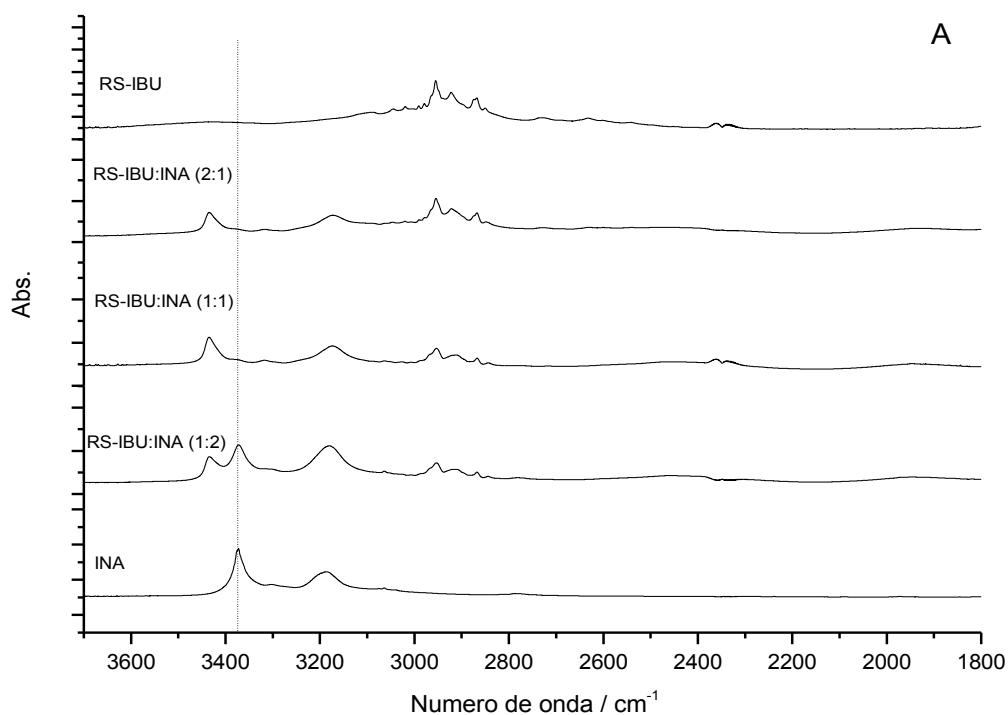
	$T_{\text{onset}} / ^\circ\text{C}$	$T_{\text{pico}} / ^\circ\text{C}$	$\Delta H / \text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$
<i>RS</i> -IBU	$74,9 \pm 0,2$	$77,0 \pm 0,3$	$25,7 \pm 0,2$
<i>RS</i> -IBU:INA (2:1)	64,2	69,2 112,4	-
<i>RS</i> -IBU:INA (1:1)	$118,8 \pm 0,2$	$120,4 \pm 0,1$	$43,8 \pm 0,2$
<i>RS</i> -IBU:INA (1:2)	118,6	120,4 135,1	-
INA	$155,6 \pm 0,3$	$156,5 \pm 0,3$	$24,5 \pm 0,8$

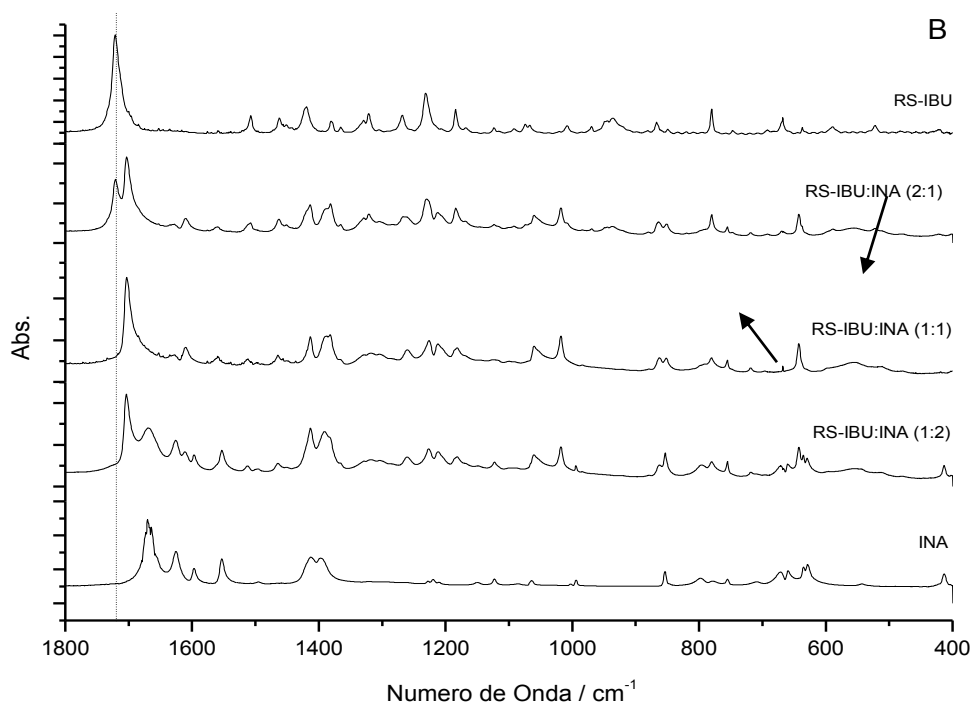
Como podemos verificar, a fusão da mistura *RS*-IBU:INA (1:1), dá lugar a um pico único, estreito, a  $T \sim 119^\circ\text{C}$ , um valor de temperatura que se situa entre as

temperaturas de fusão dos compostos no estado puro. Apesar da fusão de um eutético não poder ainda ser excluída, este resultado é compatível com a ocorrência de interação entre os compostos de partida com formação de um novo composto, co-cristal. Nessa sequência de interpretação na proporção (1:2) é evidente o excesso de INA.

- **FTIR**

Na Figura 36 são apresentados os espectros de FTIR dos compostos *RS-IBU* e *INA* e das misturas *RS-IBU:INA* (1:1), (1:2) e (2:1).





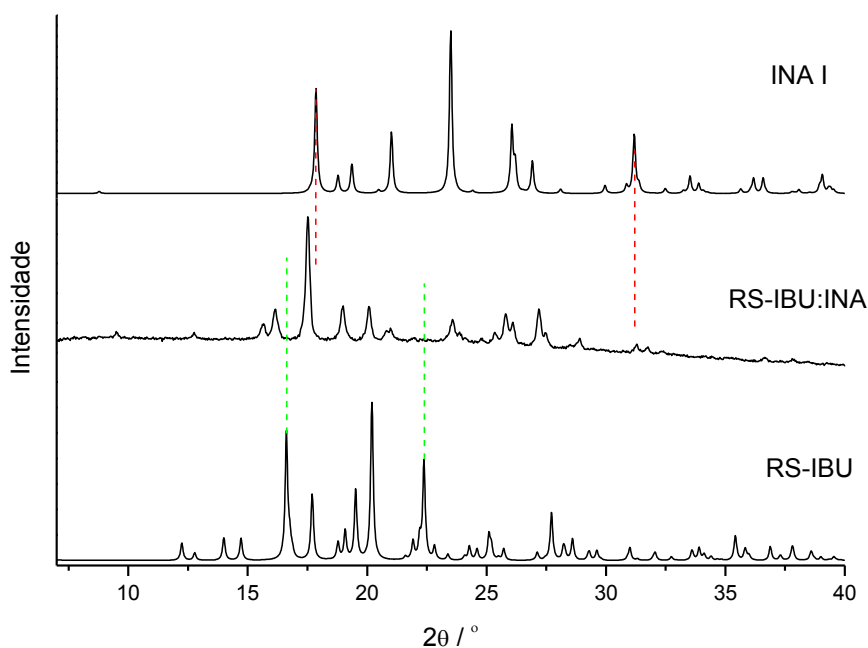
**Figura 36.** Espectros experimentais de infravermelho dos componentes puros *RS-IBU* e *INA* e das misturas *RS-IBU:INA* (1:1), (1:2) e (2:1) obtidas no moinho de bolas. (A) Números de onda entre 3700 – 1800  $\text{cm}^{-1}$ ; (B) Números de onda entre 1800 – 400  $\text{cm}^{-1}$ .

Nos espectros apresentados observam-se algumas alterações que nos levam a concluir que podemos estar perante um co-cristal. Uma das primeiras alterações está relacionada com a vibração de alongação C=O que no espectro do *RS-IBU* se encontra a 1721  $\text{cm}^{-1}$ , no *RS-IBU:INA* (1:1) aparece a 1706  $\text{cm}^{-1}$  e na *INA* a 1670  $\text{cm}^{-1}$ . Isto indica que o grupo C=O no co-cristal, se encontra envolvido em ligações de hidrogénio mais fortes que a ligação presente no *RS-IBU* e mais fracas que as existentes na *INA*. Tal como no co-cristal formado com a nicotinamida, também aqui são visíveis as bandas a cerca de 2500 e 1950  $\text{cm}^{-1}$ , o que indica que na nova estrutura o heterosintão ácido-piridina deverá estar presente.

As linhas tracejadas que se apresentam na figura a 3374  $\text{cm}^{-1}$  e 1721  $\text{cm}^{-1}$  permitem evidenciar, respectivamente, a presença de excessos de *INA* no espectro de *RS-IBU:INA* (1:2) e de *RS-IBU* no espectro de *RS-IBU:INA* (2:1).

- **XRPD**

Na Figura 37 apresenta-se o difratograma experimental de raios-X de pó para a mistura *RS-IBU:INA* (1:1) e os difratogramas simulados a partir de dados cristalográficos de raios-X de monocristal depositados na CCDC, do *RS-IBU* e da *INA I*. Após moagem, como se referiu, a *INA* transforma-se na sua forma I, logo é esse o difratograma usado para a análise.



**Figura 37.** Difratograma de pó da mistura *RS-IBU:INA* (1:1), obtida por moagem em moinho de bolas e difratogramas simulados do *RS-IBU*, e da *INA I*.

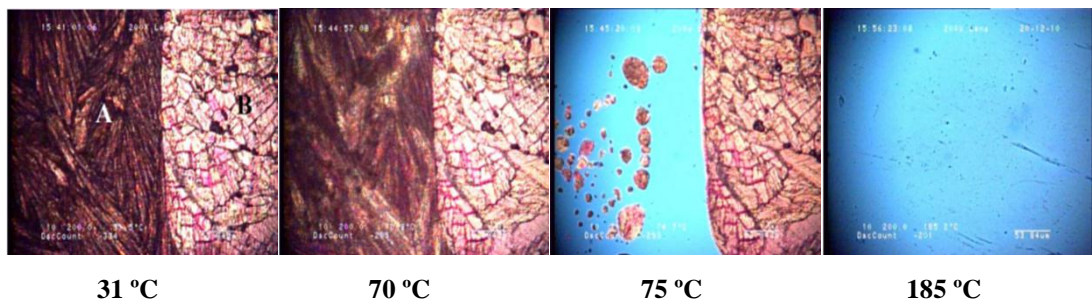
A observação do difratograma da mistura revela alterações significativas relativamente às dos compostos puros confirmando a presença de um novo arranjo cristalino, isto é, a formação de um co-cristal. Na figura assinalaram-se algumas das principais figuras de difracção dos dois compostos puros, *RS-IBU I* e *INA I*, que não se observam no difratograma da mistura, *RS-IBU:INA*, por exemplo as reflexões a  $17,9^\circ$  e a  $31,2^\circ$ , da isonicotinamida I, e a a  $16,6^\circ$  e a  $22,4^\circ$  para o *RS-IBU I*.



### 3.1.4 Sistema *RS-IBU:PZA*

- **Método de Kofler**

Na Figura 38, são apresentados os resultados obtidos para o sistema *RS-IBU:PZA* utilizando o método de Kofler.

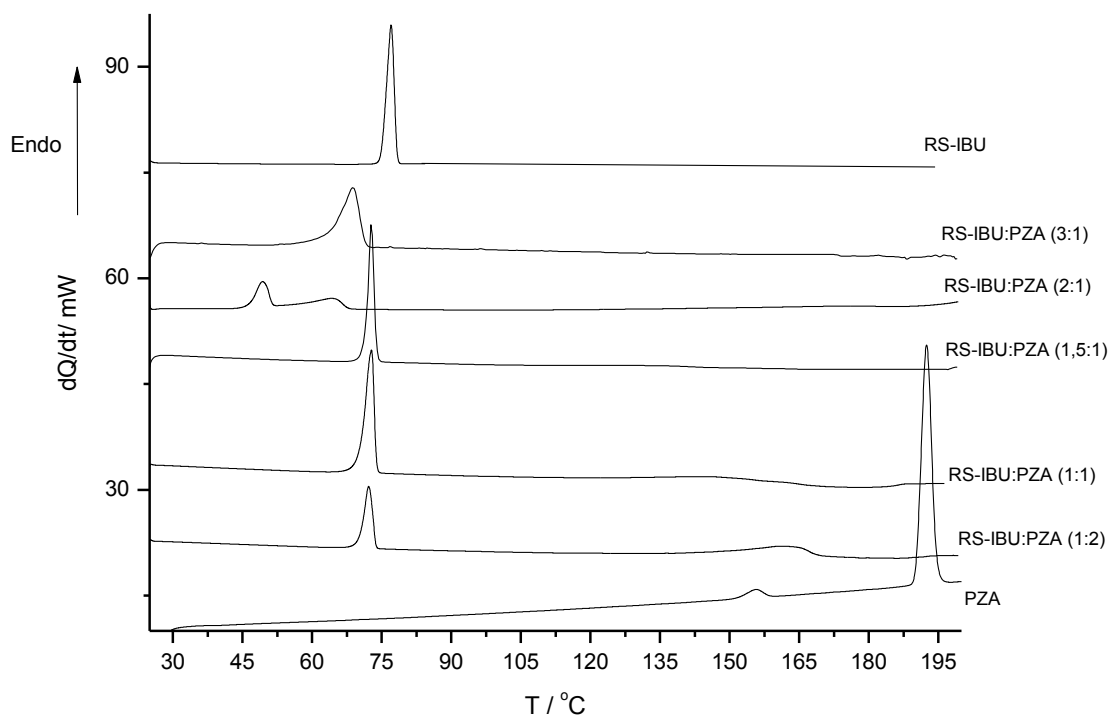


**Figura 38.** Imagens obtidas por PLTM, usando o Método de Kofler: A – *RS-IBU*; B - *PZA*.

Para este sistema foram apenas observados dois processos de fusão um deles entre 70°C e cerca dos 75°C, no domínio do ibuprofeno. O segundo processo de fusão, da pirazinamida teve início a cerca de 180 °C e terminou por volta de 185 °C. Como se pode verificar parece não ter havido qualquer interação entre os compostos.

- **DSC**

Na Figura 39 são apresentadas as curvas de DSC obtidas para os compostos puros, e para misturas de *RS-IBU:PZA* nas proporções de 1:1, 1:2 e 2:1, e também nas proporções 1,5:1 e 3:1. Na Tabela 12 figuram os respectivos parâmetros termodinâmicos.



**Figura 39.** Curvas de DSC do primeiro aquecimento do *RS-IBU*, da *PZA* e das misturas (1:2), (1:1), (1,5:1), (2:1) e (3:1) obtidas em moinho de bolas;  $\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$ , cápsula fechada de 30  $\mu\text{l}$ .

**Tabela 12.** Parâmetros termodinâmicos obtidos a partir das curvas de DSC dos primeiros aquecimentos de *RS-IBU*, *PZA* e de misturas *RS-IBU:PZA* estudadas.

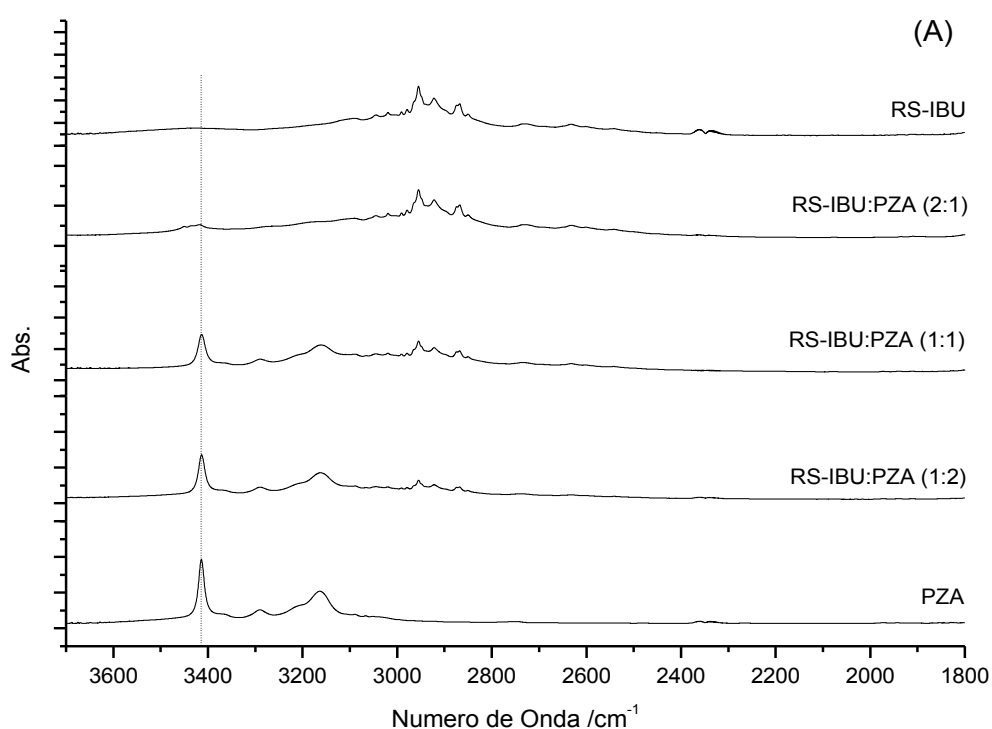
	$T_{\text{onset}} / ^\circ\text{C}$	$T_{\text{pico}} / ^\circ\text{C}$	$\Delta H / \text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$
<i>RS-IBU</i>	$74,9 \pm 0,2$	$77,1 \pm 0,3$	$25,7 \pm 0,2$
<i>RS-IBU:PZA</i> (3:1)	62,8	68,7	-
<i>RS-IBU:PZA</i> (2:1)	46,6	49,4	-
	-	64,4	-
<i>RS-IBU:PZA</i> (1,5:1)	71,4	72,7	47,5
<i>RS-IBU:PZA</i> (1:1)	70,4	72,8	26,9
	-	148,7	
<i>RS-IBU:PZA</i> (1:2)	70,3	72,2	7,2
		161,0	
<i>PZA</i>	148		
	Sólido-Sólido		
	$188,9 \pm 0,1$	$191,0 \pm 0,2$	$28,3 \pm 0,2$

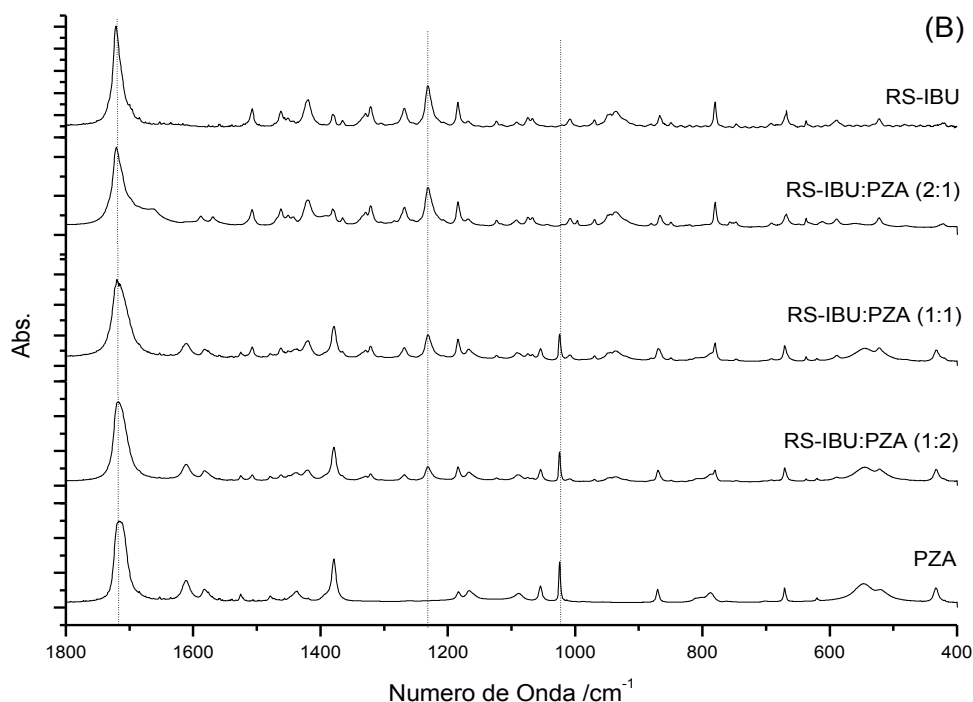
A pirazinamida comercial utilizada foi identificada como o polimorfo  $\alpha$  que no aquecimento se transforma na forma  $\gamma$ , tendo esta última fundido a cerca dos 189°C.

A análise das curvas de DSC, conjugada com os dados de espectroscopia de infravermelho, aponta para a formação de um eutético com temperatura de fusão de aproximadamente 70°C. Atendendo ao comportamento registado para a mistura *RS*-IBU:PZA (2:1), foram também investigadas misturas nas proporções (1,5:1) e (3:1). No entanto, a interpretação dos resultados obtidos para as misturas *RS*-IBU:PZA (2:1) e (3:1) carece de informação adicional.

- **FTIR**

Na Figura 40 são apresentados os espectros de FTIR dos compostos puros *RS*-IBU e PZA e das misturas *RS*-IBU:NA (1:1), (1:2) e (2:1).





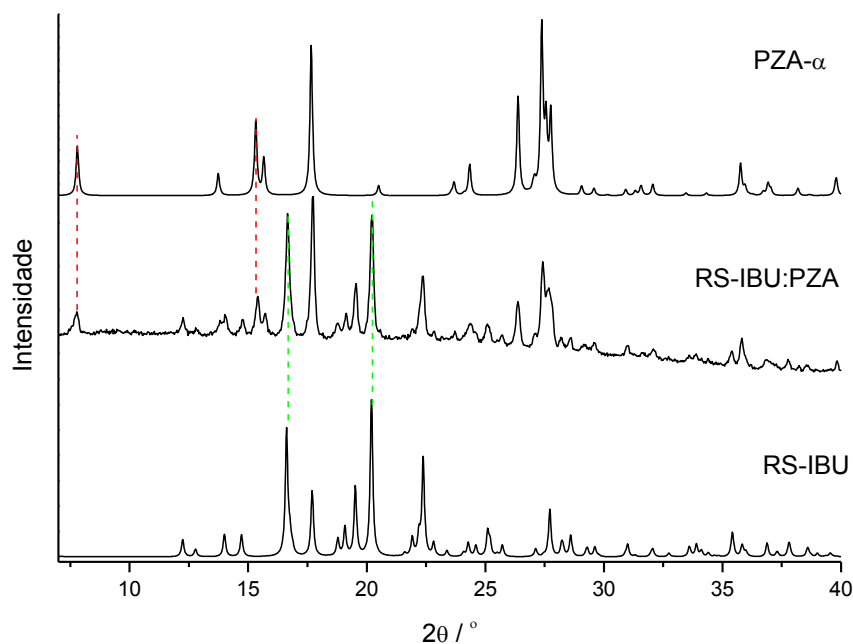
**Figura 40.** Espectros experimentais de infravermelho dos componentes puros *RS-IBU* e *PZA* e das misturas *RS-IBU:PZA* (1:1), (1:2) e (2:1) obtidas no moinho de bolas. (A) Números de onda entre 3700 – 1800  $\text{cm}^{-1}$ ; (B) Números de onda entre 1800 – 400  $\text{cm}^{-1}$ .

No espectro de infravermelho da pirazinamida as bandas  $\nu_{\text{ass}}(\text{NH}_2) = 3412$ ,  $\nu_{\text{s}}(\text{NH}_2) = 3290$  e  $\nu(\text{C}=\text{O}) = 1714 \text{ cm}^{-1}$  confirmam a forma sólida obtida como o polimorfo  $\alpha$ . [84]

Da análise dos espectros apresentados na figura podemos afirmar que não houve alteração da rede de ligações intermoleculares e que estaremos perante espectros que mostram a presença de *PZA* e *RS-IBU* em diferentes proporções.

- **XRPD**

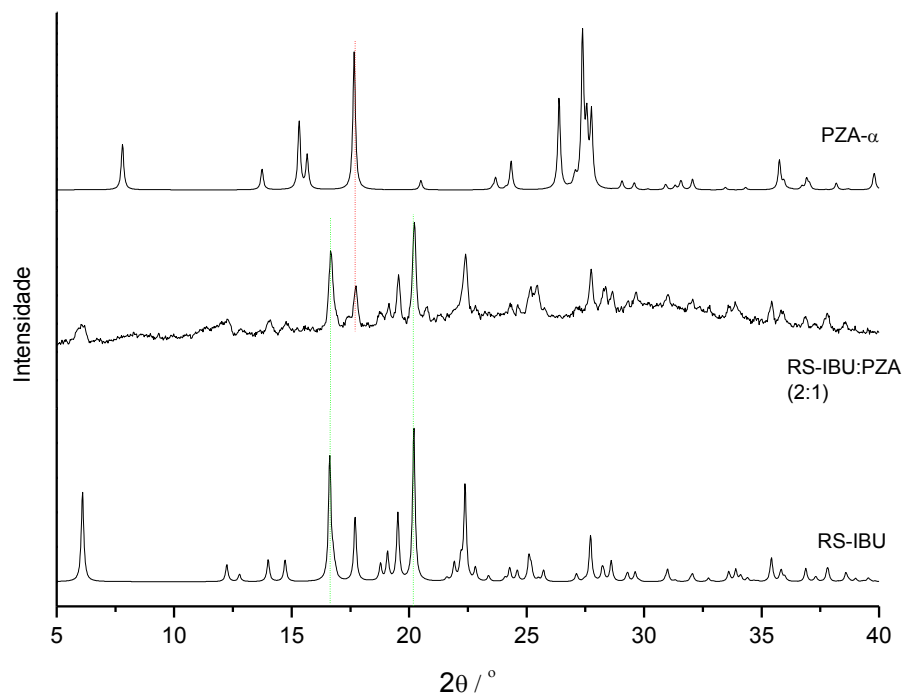
A comparação dos difractogramas experimentais de raios-X de pó para a mistura *RS-IBU:PZA* (1:1) com os difractogramas simulados a partir de dados cristalográficos dos compostos puros, mostrados na Figura 41, confirmam as conclusões obtidas pelos outros métodos de estudo.



**Figura 41.** Difractograma de pó da mistura *RS-IBU:PZA* (1:1), obtida por moagem em moinho de bolas e difratogramas simulados do *RS-IBU* I e da *PZA-α*.

Assinalaram-se as reflexões a  $7,8^\circ$  e a  $15,4^\circ$ , *PZA-α*, claramente visíveis no difractograma da mistura, e as linhas a  $16,7^\circ$  e a  $20,2^\circ$ , *RS-IBU*, que também estão presentes no difractograma da mistura. Concluimos assim que não houve interação e, conseqüentemente, não houve a formação de novas ligações entre os dois compostos, não tendo havido portanto a formação de co-cristal.

Na Figura 42 apresenta-se o difractograma experimental de raios-X de pó para a mistura *RS-IBU:PZA* (2:1) e os difratogramas simulados a partir de dados cristalográficos de raios-X de monocristal depositados na CCDC, do *RS-IBU* e da *PZA-α*.



**Figura 42.** Difratograma de pó da mistura *RS-IBU:PZA* (2:1), obtida por moagem em moinho de bolas e difratogramas simulados do *RS-IBU* e da *PZA-α*.

No espectro obtido observam-se todas as reflexões do *RS-IBU* puro e concluímos que não houve portanto a formação de co-cristal.

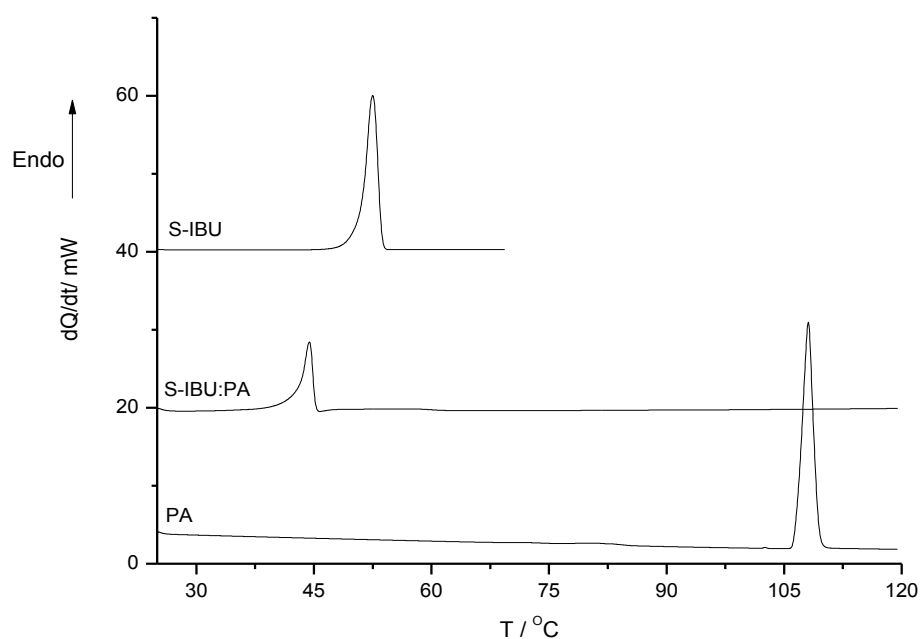
## 3.2 Pesquisa e caracterização de co-cristais: (*S*)-Ibuprofeno

Dado que o método de Kofler não foi tão elucidativo quanto desejado para os sistemas formados com a mistura racêmica de ibuprofeno, optou-se por não realizar estes ensaios na investigação de co-cristais do enantiômero *S*-IBU.

### 3.2.1 Sistema *S*-IBU:PA

- DSC

Na Figura 43 são apresentadas as curvas de DSC obtidas para a mistura *S*-IBU:PA na proporção de 1:1 e para os compostos puros, e na Tabela 13 os respectivos parâmetros termodinâmicos.



**Figura 43.** Curvas de DSC do primeiro aquecimento do *S*-IBU, da PA e da mistura (1:1), obtida em moinho de bolas;  $\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$ , cápsula fechada de 30  $\mu\text{l}$ .

**Tabela 13.** Parâmetros termodinâmicos obtidos a partir das curvas de DSC dos primeiros aquecimentos de *S*-IBU, PA e *S*-IBU:PA.

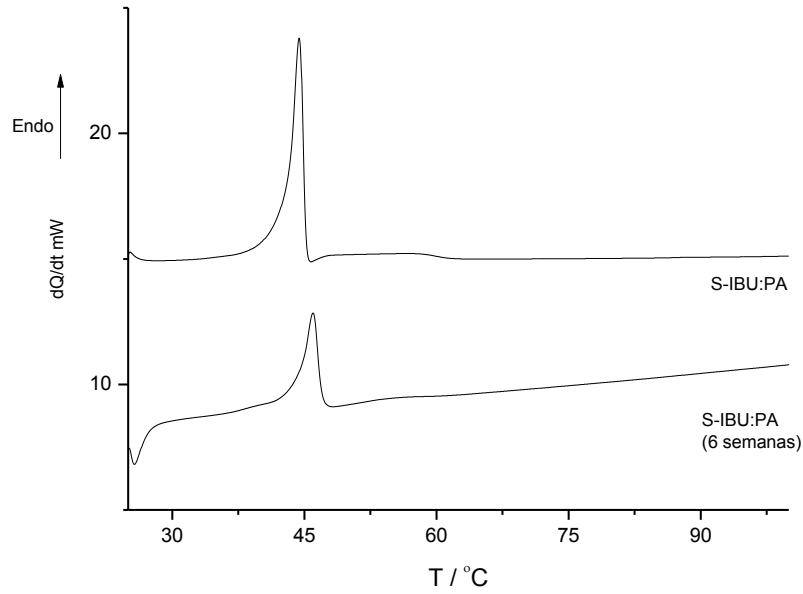
	$T_{\text{onset}} / ^\circ\text{C}$	$T_{\text{pico}} / ^\circ\text{C}$	$\Delta H / \text{kJ.mol}^{-1}$
<i>S</i> -IBU	$50,9 \pm 0,2$	$52,5 \pm 0,3$	$29,7 \pm 0,2$
<i>S</i> -IBU:PA (1:1)	$43,1 \pm 0,5$	$44,8 \pm 0,4$	-
	70-90		
PA	Sólido-Sólido	$108,1 \pm 0,4$	$19,5 \pm 0,3$
	$106,4 \pm 0,4$		

Para esta mistura observa-se um pico de fusão a cerca de  $44\ ^\circ\text{C}$ . O facto deste valor de temperatura ser inferior às temperaturas de fusão de ambos os compostos deixa a dúvida de estarmos perante um eutético ou um co-cristal, sendo necessária informação adicional, por exemplo de FTIR.

Uma vez que só foi possível obter os difratogramas de raios-X 6 semanas após a preparação da mistura, esta foi estudada por DSC e FTIR após este período de tempo, durante o qual a amostra esteve guardada à temperatura ambiente.

Na Figura 44 são apresentadas as curvas de DSC obtidas imediatamente após moagem e após 6 semanas à temperatura ambiente. Observa-se uma mudança no perfil da curva da mistura ao final de 6 semanas, comparativamente com a que foi obtida logo após a moagem da mesma. A mistura ao final de 6 semanas, apresenta uma  $T_{\text{fus}} = 45,2\ ^\circ\text{C}$ . Isto indica-nos que poderá ter havido a formação de uma nova rede de ligações, com o tempo.

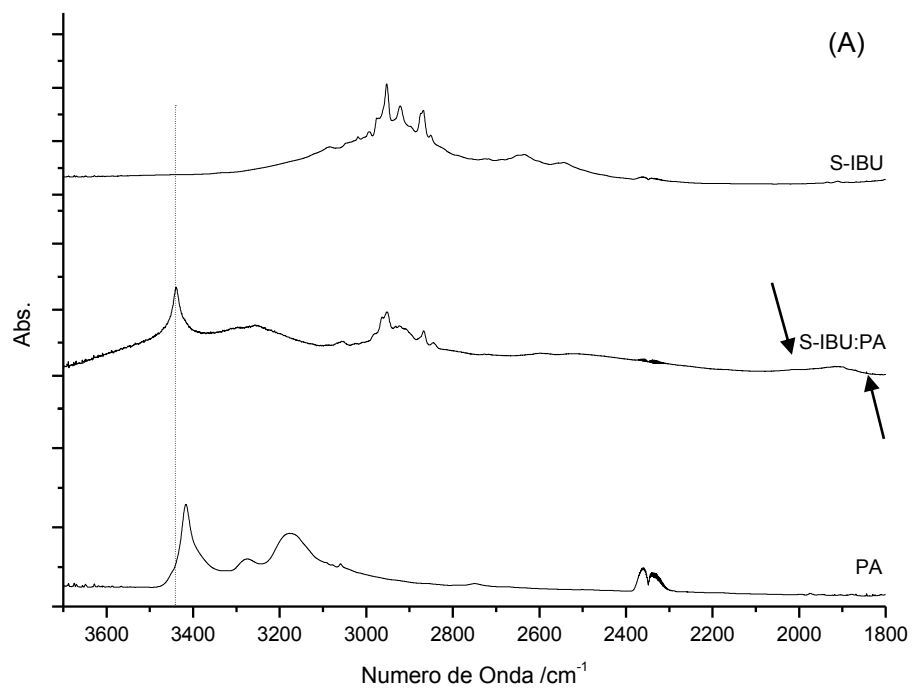


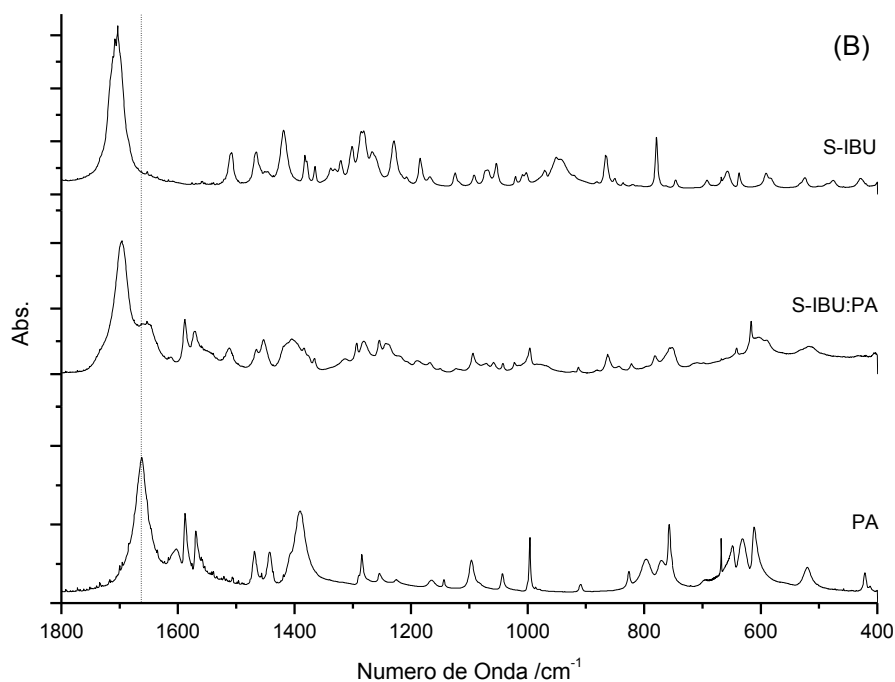


**Figura 44.** Curvas de DSC do primeiro aquecimento da mistura *S*-IBU:PA (1:1), analisada imediatamente após moagem no moinho de bolas e após 6 semanas à temperatura ambiente;  $\beta = 10$  °C min<sup>-1</sup>, cápsula fechada de 30  $\mu$ l.

- **FTIR**

Na Figura 45 são apresentados os espectros de FTIR dos compostos *S*-IBU e PA e da mistura *S*-IBU:PA (1:1), 6 semanas após a sua moagem.





**Figura 45.** Espectros experimentais de infravermelho, obtidos após 6 semanas, dos componentes puros *S*-IBU e PA e da mistura *S*-IBU:PA (1:1), obtida no moinho de bolas. (A) Números de onda entre 3700 – 1800  $\text{cm}^{-1}$ ; (B) Números de onda entre 1800 – 400  $\text{cm}^{-1}$ .

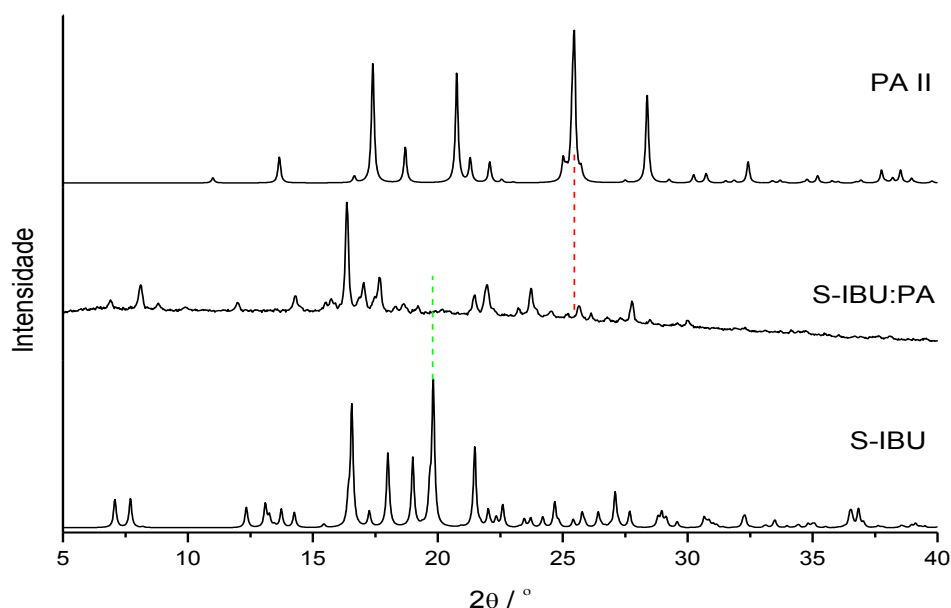
Devido a um erro informático, não foi possível apresentar o espectro da mistura obtido imediatamente após a moagem da mesma, no moinho de bolas. Assim, na Figura 44, apresenta-se o obtido 6 semanas após a moagem da mesma. É possível verificar o deslocamento da banda da elongação do grupo carbonilo, que no *S*-IBU se encontra a  $1705 \text{ cm}^{-1}$ , na mistura *S*-IBU:PA a  $1697 \text{ cm}^{-1}$  e na PA a  $1663 \text{ cm}^{-1}$ . O modo vibracional de elongação assimétrico do grupo  $\text{NH}_2$  da PA a  $3418 \text{ cm}^{-1}$ , encontra-se na mistura a  $3441 \text{ cm}^{-1}$ . Estas duas alterações, são indicativas de que podemos estar perante um novo composto.

A  $1663 \text{ cm}^{-1}$ , com a linha tracejada, está assinalada uma banda na mistura que mostra que os compostos puros podem não ter reagido na totalidade e que a reacção pode estar ainda incompleta, devido à presença de uma banda que pertence à PA.

- **XRPD**

Na Figura 46 apresenta-se o difractograma experimental de raios-X de pó para a mistura *S*-IBU:PA (1:1) e os difractogramas simulados a partir de dados

cristalográficos de raios-X de monocristal depositados na CCDC, do *S*-IBU e da PA II.



**Figura 46.** Difratoograma de pó da mistura *S*-IBU:PA (1:1), obtida por moagem em moinho de bolas e difratogramas simulados do *S*-IBU e da PA II.

Tal como se observou para o sistema *RS*-IBU:PA, também no sistema *S*-IBU:PA o difratograma da mistura indica que estamos em presença de um arranjo cristalino diferente dos dos compostos de partida. No difratograma da PA II, está assinalada uma reflexão a 26,3°, que não existe no difratograma do *S*-IBU:PA, no difratograma do *S*-IBU, está assinalada, como exemplo a reflexão a 20,9°, uma das que não são observadas no difratograma da mistura. Estes resultados, que são consentâneos com a formação de um co-cristal, vão de encontro com os obtidos por espectroscopia de infravermelho.

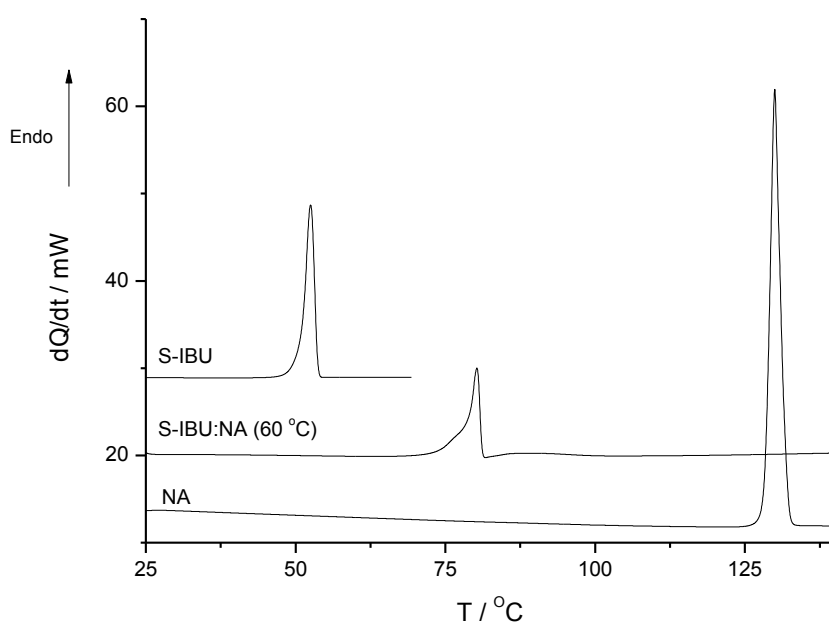
### 3.2.2 Sistema *S*-IBU:NA

Neste sistema procedeu-se da mesma forma que no sistema *RS*-IBU:NA. Ou seja, depois de obtidas as curvas de DSC e os espectros FTIR do composto, depois de moído no moinho de bolas, verificámos que os compostos puros não tinham completado a sua reacção e portanto levámos o sistema à estufa, durante 3 dias, a 60 °C (temperatura acima da temperatura de fusão do *S*-IBU). Por fim,

procedeu-se à análise desta mistura, apresentando-se de seguida os resultados obtidos.

- **DSC**

Na Figura 47 são apresentadas as curvas de DSC obtidas para a mistura S-IBU:NA na proporção de 1:1 e dos compostos puros, e na Tabela 14 os respectivos parâmetros termodinâmicos.



**Figura 47.** Curvas de DSC do primeiro aquecimento do S-IBU, da NA e da mistura (1:1), obtida em moinho de bolas e que esteve na estufa, a 60 °C durante 3 dias;  $\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$ , cápsula fechada de 30  $\mu\text{l}$ .

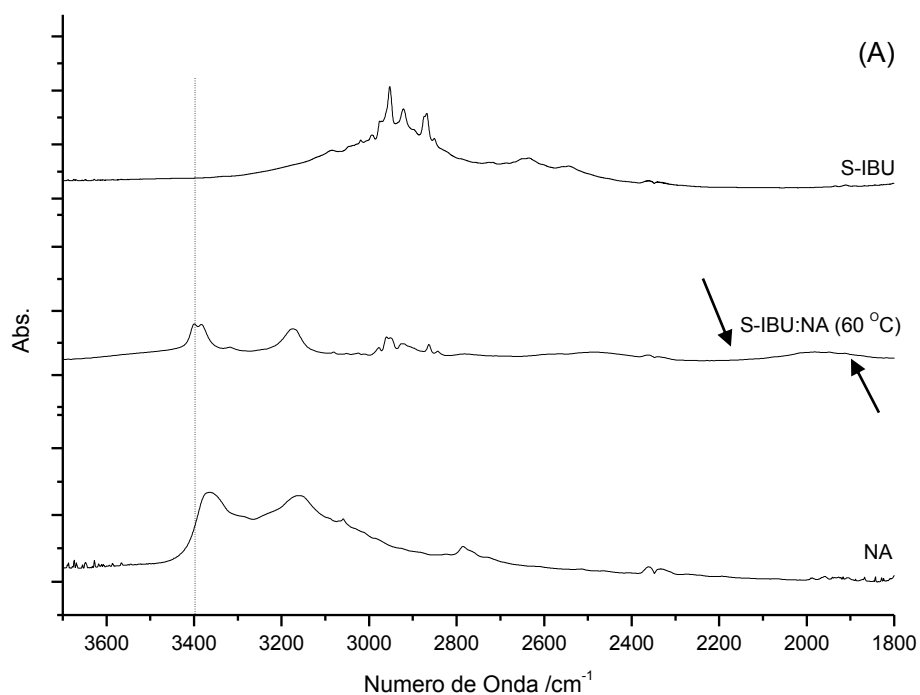
**Tabela 14.** Parâmetros termodinâmicos obtidos a partir das curvas de DSC dos primeiros aquecimentos de S-IBU, NA e S-IBU:NA (1:1).

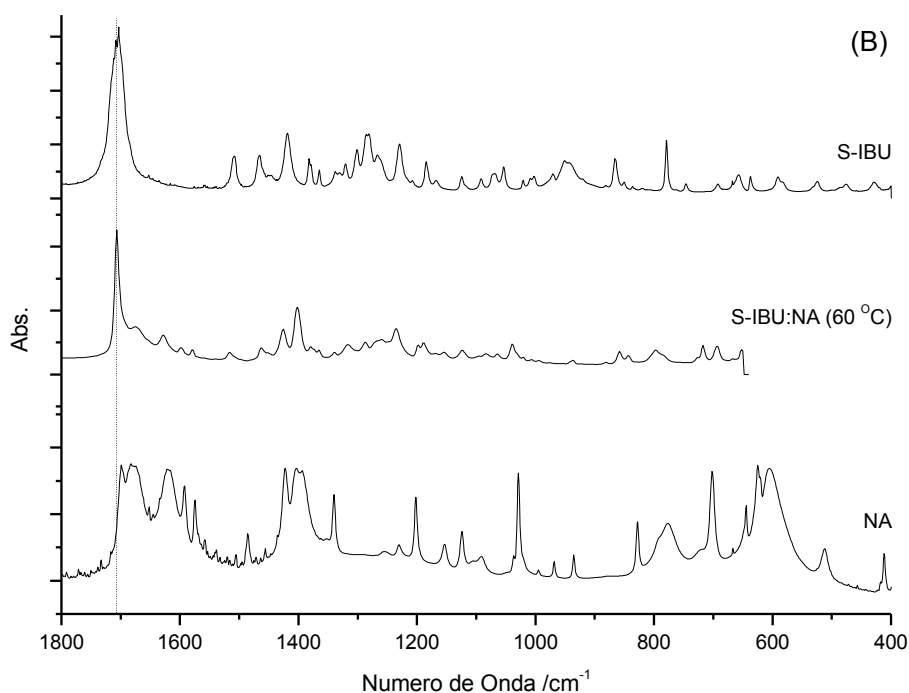
	$T_{\text{onset}} / \text{ }^\circ\text{C}$	$T_{\text{peak}} / \text{ }^\circ\text{C}$	$\Delta H / \text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$
S-IBU	$50,9 \pm 0,2$	$52,5 \pm 0,3$	$29,7 \pm 0,2$
S-IBU:NA (1:1)	$79,6 \pm 1,0$	$81,2 \pm 0,9$	-
NA	$128,4 \pm 0,2$	$130,0 \pm 0,9$	$23,7 \pm 0,2$

É de registrar a existência de um pico a cerca de 80 °C para a mistura *S*-IBU:NA (1:1). Este encontra-se entre as temperaturas de fusão dos compostos puros, o que poderá indicar a formação de um novo composto, um co-cristal.

- **FTIR**

Na Figura 48 são apresentados os espectros de FTIR dos compostos *S*-IBU e NA e da mistura *S*-IBU:NA (1:1).



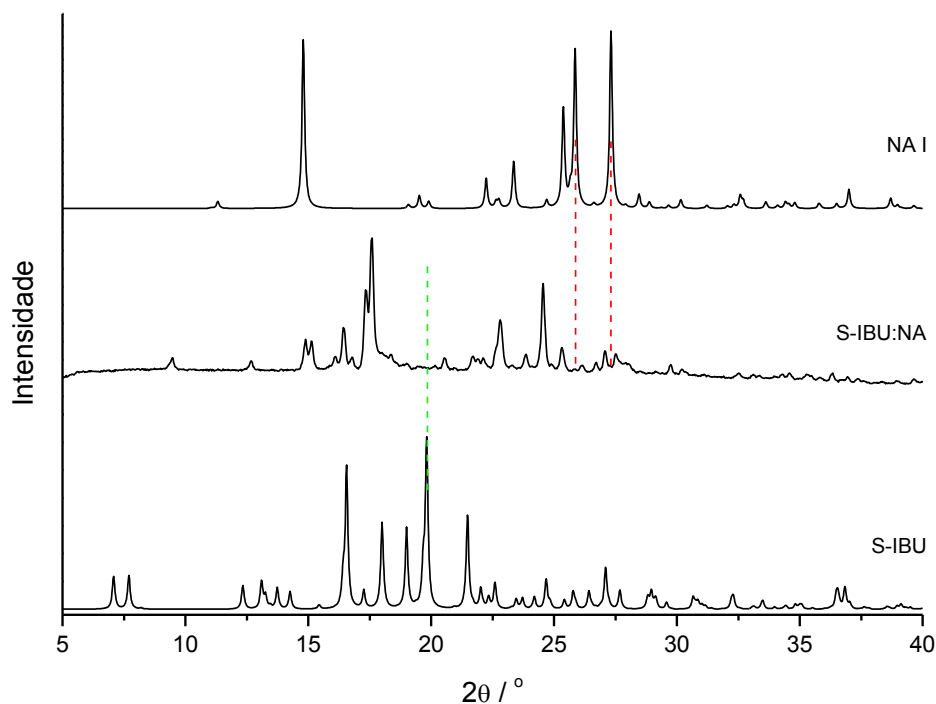


**Figura 48.** Espectros experimentais de infravermelho dos componentes puros *S*-IBU e NA e da mistura *S*-IBU:NA (1:1), obtida no moinho de bolas e depois de ter estado na estufa a 60 °C, durante 3 dias; (A) Números de onda entre 3700 – 1800  $\text{cm}^{-1}$ ; (B) Números de onda entre 1800 – 400  $\text{cm}^{-1}$ .

O modo vibracional de alongação assimétrico do grupo  $\text{NH}_2$  presente na NA a  $3364 \text{ cm}^{-1}$ , é deslocado na mistura para  $3398 \text{ cm}^{-1}$ . A alongação do grupo carbonilo apresenta-se no IBU a  $1705 \text{ cm}^{-1}$ , na mistura o máximo ocorre no mesmo número de onda, mas a largura a meia altura é consideravelmente inferior e na NA a  $1699 \text{ cm}^{-1}$ . Estes resultados, formação de novas ligações intermoleculares, suportam a formação de um co-cristal.

- **XRPD**

Na Figura 49 apresenta-se o difratograma experimental de raios-X de pó para a mistura *S*-IBU:NA (1:1) e os difratogramas simulados a partir de dados cristalográficos de raios-X de monocristal depositados na CCDC, do *S*-IBU e da NA I.



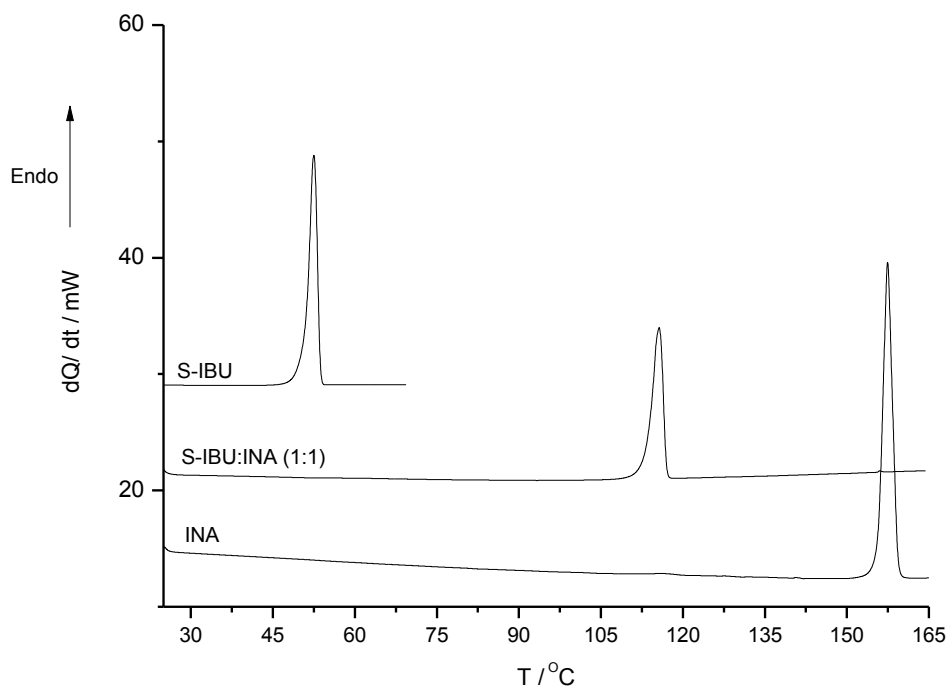
**Figura 49.** Difratoograma de pó da mistura *S*-IBU:NA (1:1), obtida por moagem em moinho de bolas e difratoogramas simulados do *S*-IBU e da NA I.

São notórias as diferenças entre os difratogramas. No difratoograma da NA I, estão assinaladas as linhas a 25,9° e 27,3°, ambas ausentes no difratograma da mistura. Relativamente ao difratograma do *S*-IBU, por exemplo a reflexão assinalada a 19,8° não existe no difratograma da mistura. Confirmam-se assim os resultados obtidos pelas técnicas anteriores: existe um novo arranjo cristalino, formou-se de um co-cristal.

### 3.2.3 Sistema *S*-IBU:INA

- **DSC**

Na Figura 50 são apresentadas as curvas de DSC obtidas para a mistura *S*-IBU:INA na proporção de 1:1 e para os compostos puros, e na Tabela 15 os respectivos parâmetros termodinâmicos.



**Figura 50.** Curvas de DSC do primeiro aquecimento do *S*-IBU, da INA e da mistura (1:1), obtida em moinho de bolas;  $\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$ , cápsula fechada de 30  $\mu\text{l}$ .

**Tabela 15.** Parâmetros termodinâmicos obtidos a partir das curvas de DSC dos primeiros aquecimentos de *S*-IBU, INA e *S*-IBU:INA (1:1).

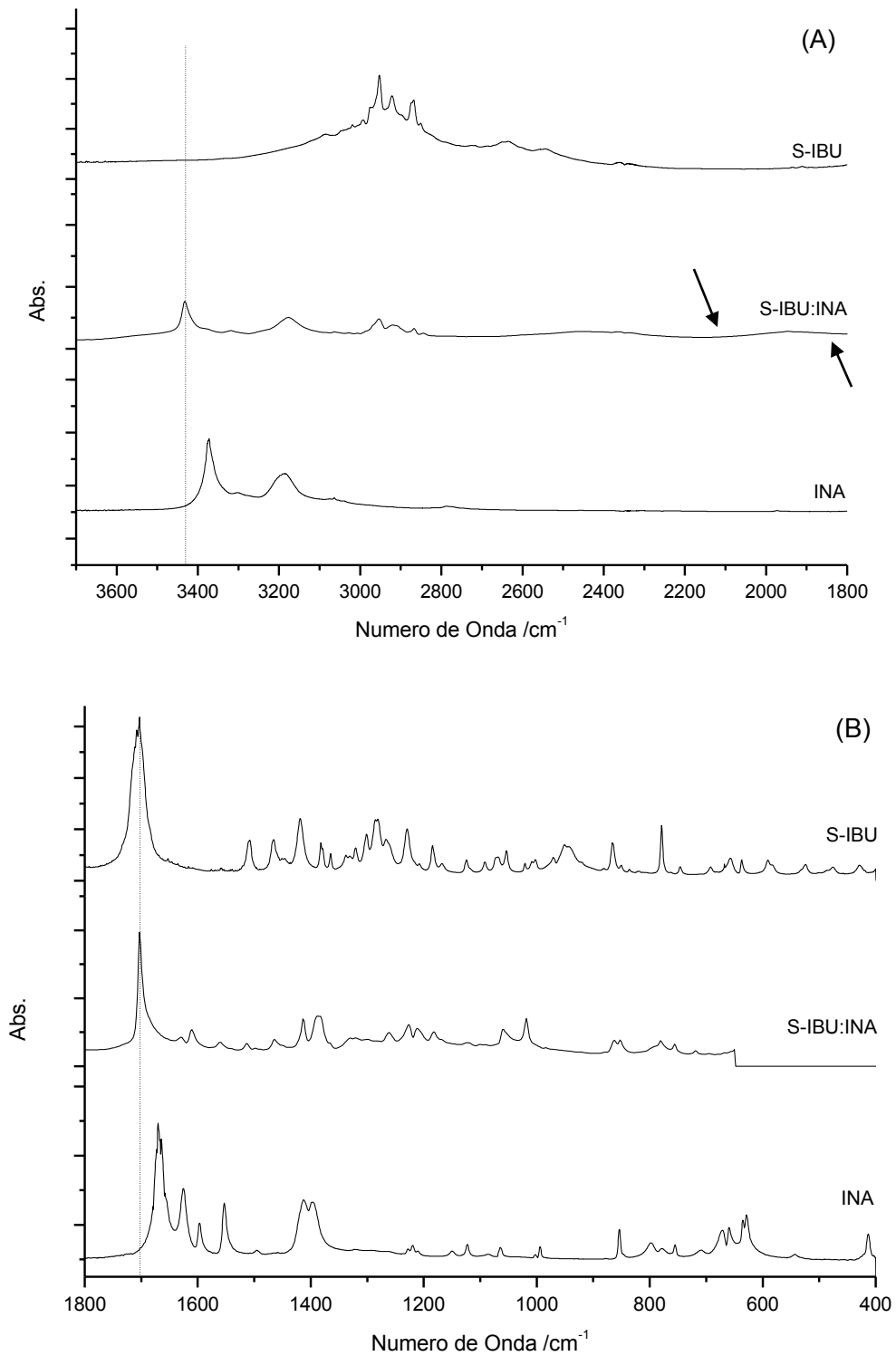
	$T_{\text{onset}} / \text{ }^\circ\text{C}$	$T_{\text{pico}} / \text{ }^\circ\text{C}$	$\Delta H / \text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$
<i>S</i> -IBU	$50,9 \pm 0,2$	$52,5 \pm 0,3$	$29,7 \pm 0,2$
<i>S</i> -IBU:INA (1:1)	$114,5 \pm 0,9$	$116,2 \pm 0,5$	$42,3 \pm 4,1$
INA	$155,6 \pm 0,3$	$156,5 \pm 0,3$	$24,5 \pm 0,8$

Através da análise das curvas obtidas por DSC, verifica-se a fusão da mistura *S*-IBU:INA (1:1) ocorre a  $T = 114 \text{ }^\circ\text{C}$ . Esta temperatura encontra-se entre as temperaturas de fusão dos dois compostos puros, o que nos indica que pode ter havido interacção entre ambos e, portanto, a formação de um co-cristal.

- **FTIR**

Nos espectros apresentados na Figura 51 são visíveis alterações que suportam a conclusão de que ocorreu interacção entre os dois compostos puros, com formação de uma nova entidade.





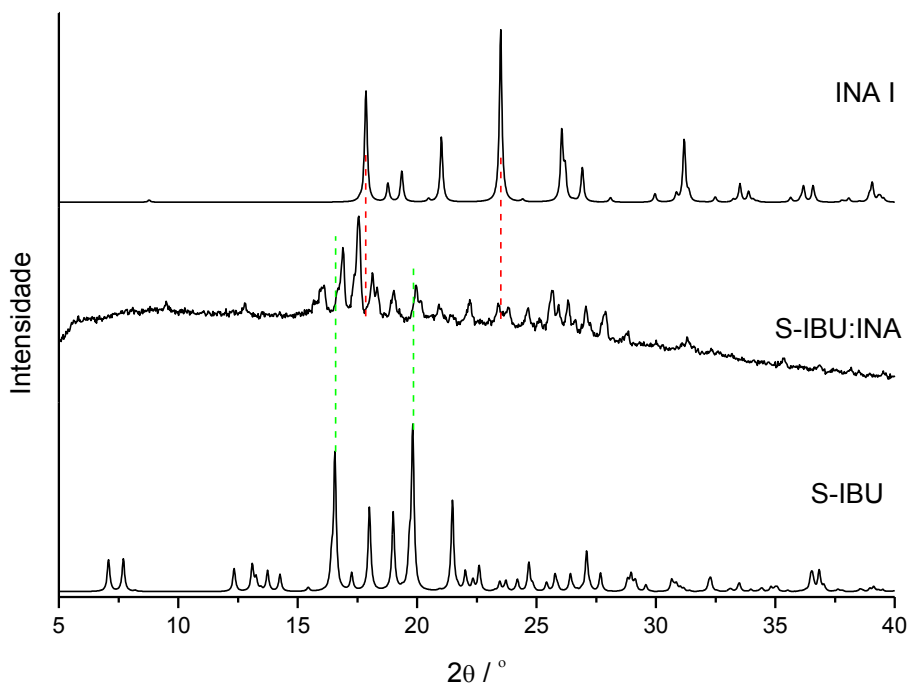
**Figura 51.** Espectros experimentais de infravermelho dos componentes puros *S*-IBU e INA e da mistura *S*-IBU:INA (1:1), obtida no moinho de bolas. (A) Números de onda entre 3700 – 1800  $\text{cm}^{-1}$ ; (B) Números de onda entre 1800 – 400  $\text{cm}^{-1}$ .

Uma das alterações mais importantes observa-se na posição da banda de vibração de alongação do  $\text{NH}_2$  da INA: 3372  $\text{cm}^{-1}$  no composto puro e 3431  $\text{cm}^{-1}$

no co-cristal. Também a elongação C=O, assinalada na figura, apresenta alteração, no espectro do *S*-IBU encontra-se a  $1705\text{ cm}^{-1}$ , no *S*-IBU:INA aparece aos  $1702\text{ cm}^{-1}$  e na INA aos  $1692\text{ cm}^{-1}$ . Mais uma vez as bandas que indicam a presença do heterosintão  $\text{OH}\cdots\text{N}_{\text{aromático}}$  são claramente visíveis no espectro.

- **XRPD**

Analisando os difratogramas apresentados na Figura 52, facilmente se percebe que se formou um novo arranjo cristalino, após mistura dos dois compostos, confirmando os resultados obtidos pelas técnicas anteriores. Na Figura 52 estão assinaladas linhas características da INA I, a  $17,9^\circ$  e a  $23,5^\circ$ , e do *S*-IBU a  $16,6^\circ$  e a  $19,8^\circ$  que são claramente modificadas no difratograma da mistura.

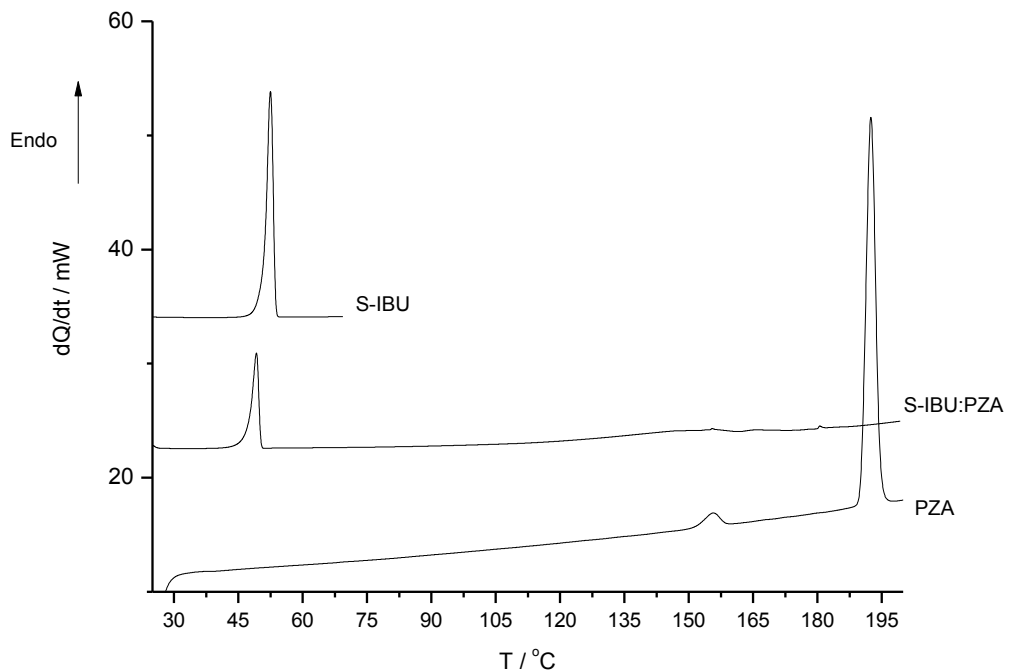


**Figura 52.** Difratograma de pó da mistura *S*-IBU:INA (1:1), obtida por moagem em moinho de bolas e difratogramas simulados do *S*-IBU e da INA I.

### 3.2.4 Sistema S-IBU:PZA

- DSC

Na curva de DSC apresentada na Figura 53 para a mistura S-IBU:PZA (1:1), cujos parâmetros figuram na Tabela 16, observa-se um pico estreito a  $T = 49\text{ }^{\circ}\text{C}$ , seguido de um processo de fusão arrastado. O primeiro pico corresponde certamente à fusão de um eutético, apesar de não ser óbvia a natureza dos seus componentes, não sendo ainda de descartar a formação de co-cristal numa composição não equimolar. É necessária informação adicional, para poder tirar conclusões.



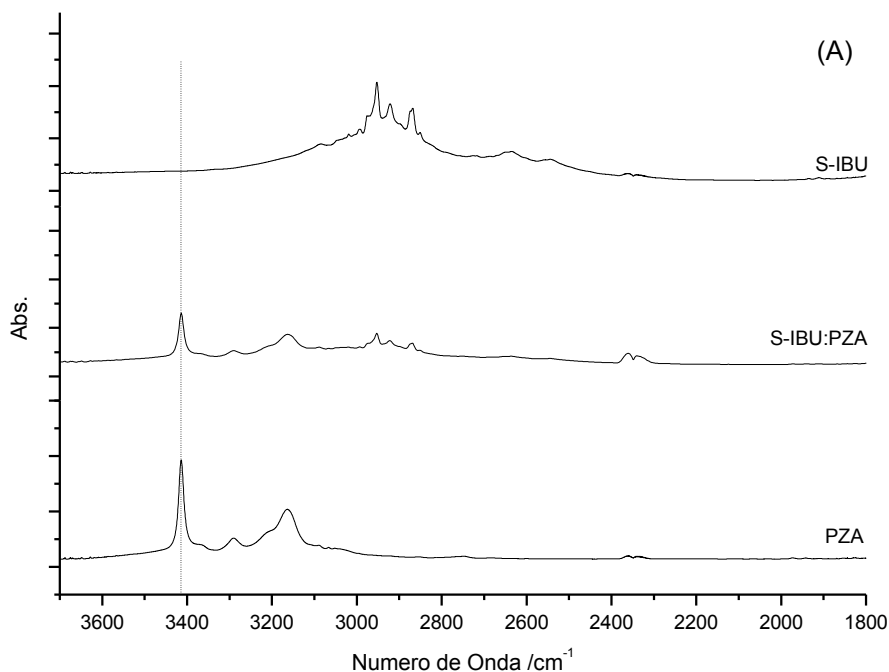
**Figura 53.** Curvas de DSC do primeiro aquecimento do S-IBU, da PZA e da mistura (1:1), obtida em moinho de bolas;  $\beta = 10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ , cápsula fechada de 30  $\mu\text{l}$ .

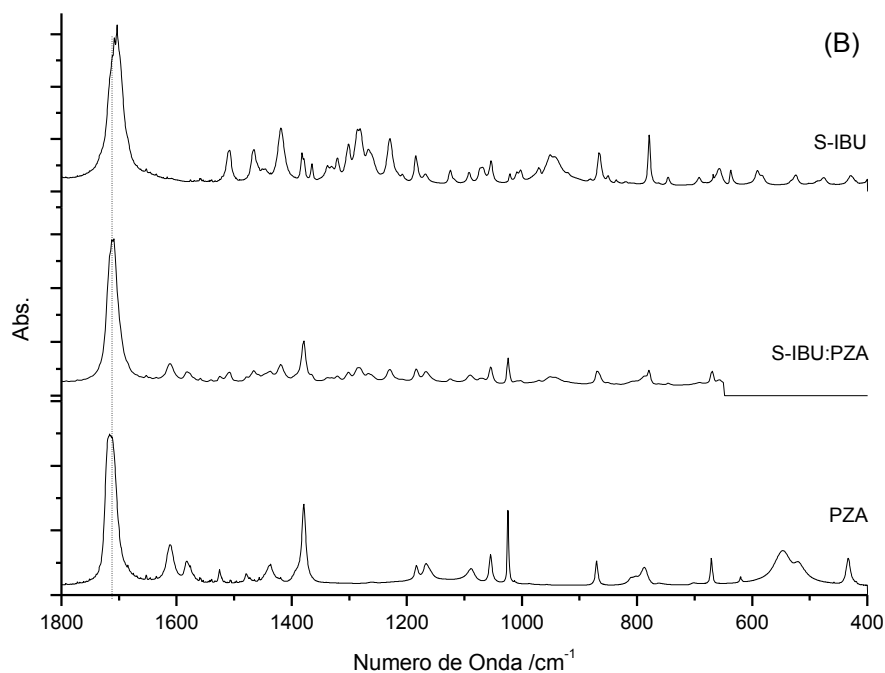
**Tabela 16.** Parâmetros termodinâmicos da curva de DSC do primeiro aquecimento de *S*-IBU, PZA e *S*-IBU:PZA (1:1).

	$T_{\text{onset}} / ^\circ\text{C}$	$T_{\text{pico}} / ^\circ\text{C}$	$\Delta H / \text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$
<i>S</i> -IBU	$50,9 \pm 0,2$	$52,5 \pm 0,3$	$29,7 \pm 0,2$
<i>S</i> -IBU:PZA (1:1)	47,2	49,2	
PZA	148,0		
	Sólido-sólido	$191,0 \pm 0,2$	$28,6 \pm 0,2$
	$188,9 \pm 0,1$		

- **FTIR**

Os espectros apresentados na Figura 54, confirmam que a mistura *S*-IBU:PZA é apenas uma mistura física dos dois compostos, uma vez que o seu espectro é a resultante da soma dos espectros individuais.

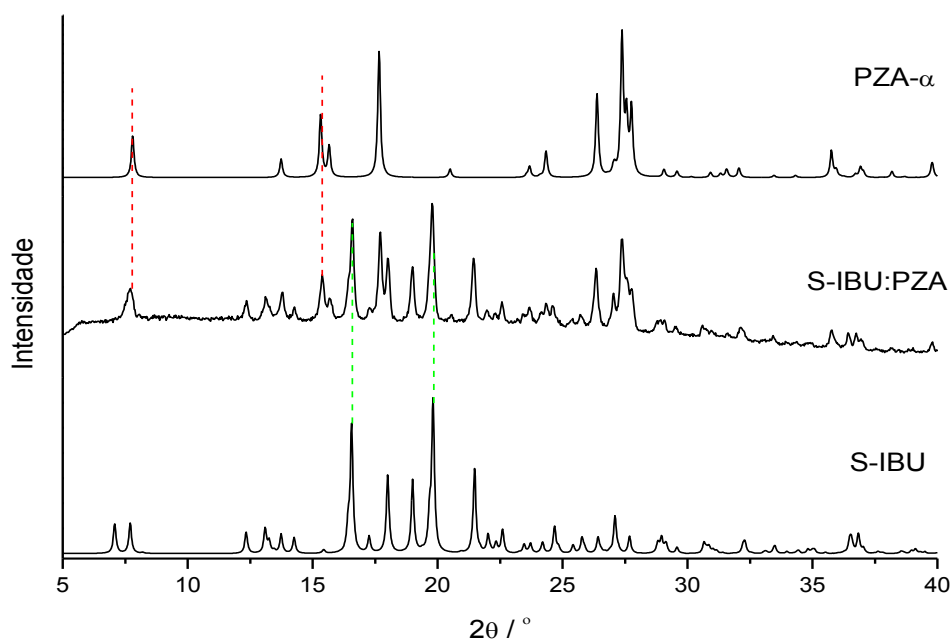




**Figura 54.** Espectros experimentais de infravermelho dos componentes puros *S*-IBU e PZA e da mistura *S*-IBU:PZA (1:1), obtida no moinho de bolas. (A) Números de onda entre 3700 – 1800  $\text{cm}^{-1}$ ; (B) Números de onda entre 1800 – 400  $\text{cm}^{-1}$ .

- **XRPD**

A mesma conclusão resulta da análise do difratograma experimental da mistura *S*-IBU:PZA (1:1) confrontado na Figura 55 com os difratogramas simulados a partir de dados cristalográficos de raios-X de monocristal, do *S*-IBU e da PZA- $\alpha$ .

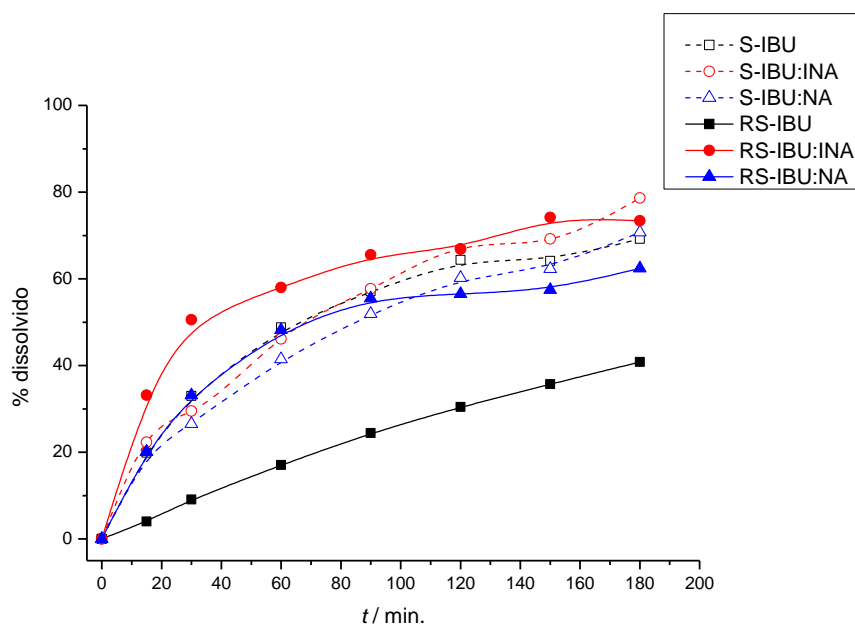


**Figura 55.** Difratoograma de pó da mistura S-IBU:PZA (1:1), obtida por moagem em moinho de bolas e difratogramas simulados do S-IBU e da PZA- $\alpha$ .

Todas as figuras de difração quer da PZA quer do S-IBU estão presentes no difratograma da mistura. Assinalaram-se algumas para melhor visualização - PZA- $\alpha$ , a 7,8° e a 15,4° e S-IBU, a 16,6° e 19,8°.

### 3.3 Estudo preliminar dos perfis de dissolução

Foi efetuado um estudo preliminar dos perfis de dissolução de (*R,S*)-ibuprofeno e (*S*)-ibuprofeno, em água a  $T = (37,0 \pm 0,5) ^\circ\text{C}$ , usando os co-cristais sintetizados neste trabalho, nas condições referidas na secção 2.2.6. Os resultados obtidos estão apresentados na Figura 56, em conjunto com os perfis de dissolução traçados a partir dos APIs puros.



**Figura 56.** Perfis de dissolução do *RS*- e *S*-ibuprofeno puros, e dos co-cristais obtidos com a NA e INA, ao fim de 3 horas, utilizando água como meio de dissolução,  $T = (37,0 \pm 0,5) ^\circ\text{C}$ .

Esta figura permite verificar, claramente, que em nenhum dos co-cristais obtidos, se observa a melhoria do perfil de dissolução do (*S*)-ibuprofeno.

Já no caso do (*R,S*)-ibuprofeno, verifica-se uma melhoria clara dessa mesma propriedade, tanto no co-cristal com a INA como no co-cristal com a NA.

Em ambos os casos se observa que seria necessário um tempo mais alargado de análise, de forma a que a totalidade dos compostos se dissolvesse no meio de dissolução.





## *Capítulo 4*

Notas finais e Perspetivas futuras



## 4. Notas Finais e Perspetivas futuras

Os co-cristais farmacêuticos permitem alterar determinadas propriedades físico-químicas de um API, salvaguardando as suas ligações covalentes uma vez que a sua estrutura não é alterada.

Neste trabalho, foi realizada a pesquisa de co-cristais de (*R,S*)-ibuprofeno e (*S*)-ibuprofeno com a NA, PA, INA e PZA e foram obtidos co-cristais nos sistemas (*RS*)-ibuprofeno : isonicotinamida, (*R,S*)-ibuprofeno : nicotinamida, (*S*)-ibuprofeno : isonicotinamida, (*S*)-ibuprofeno : nicotinamida, todos na proporção de (1:1).

Os dados termodinâmicos obtidos neste trabalho para os co-cristais sintetizados estão resumidos na Tabela 17, em conjunto com os valores dos compostos puros.

**Tabela 17.** Temperatura e entalpia de fusão dos componentes puros e dos co-cristais sintetizados neste trabalho.

	$T_{\text{onset}} / ^\circ\text{C}$	$\Delta_{\text{fus}} H / \text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$
<i>RS</i> -IBU	$74,9 \pm 0,2$	$25,7 \pm 0,2$
<i>S</i> -IBU	$50,9 \pm 0,2$	$29,7 \pm 0,2$
NA	$128,4 \pm 0,2$	$23,7 \pm 0,2$
INA	$155,6 \pm 0,3$	$24,5 \pm 0,8$
<i>RS</i> -IBU:NA	$91,7 \pm 0,3$	$37,8 \pm 0,9$
<i>RS</i> -IBU:INA	$118,8 \pm 0,2$	$43,8 \pm 0,8$
<i>S</i> -IBU:NA	$79,6 \pm 1,0$	-
<i>S</i> -IBU:INA	$114,5 \pm 0,9$	$42,3 \pm 4,1$

Com a isonicotinamida como co-formador, a moagem a 15 Hz durante 30 minutos é suficiente para obtenção dos co-cristais. Com a nicotinamida é necessário ativar a mistura moída a temperatura superior à de fusão do API para que a conversão no co-cristal seja completa. Estranhamente, Hateet [45] refere a obtenção do co-cristal de *RS*-IBU e NA apenas por moagem em almofariz durante

15 minutos. A verificar-se, será interessante estudar o efeito de agitação mecânica na formação  $\leftrightarrow$  dissociação deste co-cristal.

Relativamente aos sistemas  $(R,S)$ -ibuprofeno e  $(S)$ -ibuprofeno com a picolinamida, estes carecem de informação adicional, embora os resultados obtidos por XRPD indiquem que estamos perante uma nova forma cristalina, que não as dos compostos puros. No entanto o espectro de infravermelho parece ser a soma das substâncias de partida com o  $(R,S)$ -ibuprofeno e no caso do  $(S)$ -ibuprofeno, já temos indicação que pode ter ocorrido uma interação entre os compostos puros.

Numa investigação futura pretende-se estudar os sistemas  $(R,S)$ - e  $(S)$ -ibuprofeno com a picolinamida usando o FTIR-ATR, que permitirá avaliar a amostra sem qualquer tratamento prévio, e de modo a tentar esclarecer as discrepâncias observadas. Uma vez que os difratogramas de raios-X de pó só puderam ser realizados 6 semanas após a preparação da mistura, é também importante registar estes dados imediatamente após a moagem.

Nas condições de ensaio não foi possível obter co-cristais com a pirazinamida. Este composto e a picolinamida têm em comum a presença de um azoto aromático em posição orto relativamente ao grupo carboxamida, havendo uma ligação de hidrogénio intramolecular envolvendo esses grupos. Não querendo retirar conclusões baseadas em resultados ainda escassos, fica o registo da maior dificuldade em obtenção de co-cristais de  $RS$ -IBU e  $S$ -IBU com estes formadores.

Apesar das diferenças de estrutura entre o  $(R,S)$ -ibuprofeno e o  $(S)$ -ibuprofeno não se registaram diferenças entre estas substâncias na capacidade de formação de co-cristais com os formadores investigados.

Obter cristais de dimensão adequada para o estudo por difração de raios-X de monocristal, por forma a estudar o arranjo tridimensional dos co-cristais de  $(R,S)$ - e  $(S)$ -ibuprofeno com a isonicotinamida, será um passo a executar no futuro.

O estudo preliminar dos perfis de dissolução aponta para que uma melhoria do perfil de dissolução do  $(R,S)$ -ibuprofeno poderá ser conseguida utilizando os co-cristais sintetizados neste trabalho. Esta indicação deverá ser confirmada em trabalho a desenvolver com validação do método e avaliação dos perfis noutros meios de dissolução.

## 5. Referências Bibliográficas



## 5. Referências Bibliográficas

- [1] a) Braga D, Desiraju G R, Miller J S, Orpen A G, Price S L, *CrystEngComm* 2002, 4, 500; b) Erk P, Hengelsberg H, Haddow M F, Van Gelder R, *CrystEngComm* 2004, 6, 474; c) Desiraju G R, *Angew Chem, Int Ed* 2007, 46, 8342.
- [2] Evans W E, Schentag J J, Jusko W J, Harrison H, *Applied Pharmacokinetics: Principles of Therapeutic Drug Monitoring*, 3<sup>a</sup> ed. Applied Therapeutics, São Francisco, 1992.
- [3] Lipka E, Amidon G L, *J Control Release* 1999, 62, 41.
- [4] Nai-Ning S, Shao-Yu Z, Chang-Xiao L, *Asian J Drug Metab Pharmacok* 2004, 4, 167.
- [5] Amidon G L, Lennernas H, Shah V P, Crison J R A, *J Pharm Res* 1995, 12, 413.
- [6] Yua L X, Carlina A S, Amidon G L, Hussain A S, *Int J Pharm* 2004, 270, 221.
- [7] Devane J, *J Pharm Tech* 1998, 11; 68.
- [8] Augustijns P, Brewster M E, *Solvent Systems and Their Selection in Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, Springer; Nova Iorque, 2007.
- [9] Davey R, Garside J, *From Molecules to Crystallizers – An Introduction to Crystallization*, Oxford Chemistry Primers, Oxford, 2000.
- [10] Stegemann S, Leveiller F, Franchi D, de Jong H, Lindén H, *Eur J Pharm Sci* 2007, 31, 249.
- [11] Manadas R, Pina M E, Veiga F, *Br J Pharm Sci* 2002, 38, 4.
- [12] Wells J I, *Pharmaceutical Preformulation – the Physicochemical Properties of Drug Substances*, Ellis Horwood, Chichester, 1988.
- [13] Nauha E, Saxell H, Nissinen M, Kolehmainem E, Schaferm A, Schlecker R, *CrystEngComm* 2009, 11, 2536.
- [14] Giron D, *J Therm Anal Calorim* 2001, 64, 37.
- [15] Giron D, *J Therm Anal Calorim* 2002, 68, 335.
- [16] Lachman L, Lieberman H A, Kanig J L, *Teoria e Prática na Indústria Farmacêutica*, Fundação Calouste Gulbenkian, Lisboa, 2005.
- [17] Llinàs A, Goodman J M, *Drug Discov Today*, 2008, 13, 198.
- [18] Froehlich P E, Gasparotto F S, *Rev Ciênc Farm Básica Apl* 2005, 26, 205.

- [19] Fleischman S G, Kuduva S S, McMahon J A, Moulton B, Bailey Walsh R D, Rodriguez-Hornedo N, Zaworotko M J, Cryst Growth Des 2003, 3, 909.
- [20] Adalder T K, Sankolli R, Dastidar P, Cryst Growth Des; 2012, 12, 2533.
- [21] Chow K, Tong H H Y, Lum S, Chow A H L, J. Pharm. Sci. 2008, 97, 2855.
- [22] Aakeröy C B, Fasulo M E, Desper J, Mol. Pharm 2007, 4, 317.
- [23] Babu N J, Reddy L S, Nangia A; Mol Pharm 2007, 4, 417.
- [24] Weyna D R, Shattock T, Vishweshwar P, Zaworotko M J, Cryst Growth Des 2009, 9, 1106.
- [25] Hickey M B, Peterson M L, Scoppettuolo L A, Morrisette S L, Vetter A, Guzmán H, Eur J Pharm Biopharm 2007, 67,112.
- [26] Trask A V, van de Streek J, Motherwell W D S, Jones W, Cryst Growth Des 2005, 5, 2233.
- [27] Trask A V, Motherwell W D S, Jones W, Cryst Growth Des 2005, 5, 1013.
- [28] Bushra R, Aslam N, Oman Med J, 2010, 25, 3.
- [29] Davies N M, *Chirality and Drug Design and Development – Chiral Inversion*, Marcel Dekker, Nova Iorque, 2004.
- [30] Geisslinger G, Stock K P, Bach G L, Loew D, Brune K, Agents Act, 1989, 27, 3/4.
- [31] Nanau R M, Neuman M G, Transl Res 2010, 155, 275.
- [32] Evans A M, Clin Rheumatol 2001, 20, S9.
- [33] Duggan K C, Hermanson D J, Musee J, Prusakiewicz J J, Scheib J L, Carter B D, Banerjee S, Oates J A, Marnett L J, Nat Chem Biol, 2011, 7, 803.
- [34] Carvalho P O, Cass Q B, Calafatti S A, Contesini F J, Bizaco R, Braz J Chem Eng 2006, 23, 3.
- [35] <http://m.infarmed.pt/Genericos/ListaMedicamentosB.aspx?dci=71&dciid=1> (acedido a 20 de Junho de 2012).
- [36] <http://www.infarmed.pt/prontuario/navegavalores.php?id=928&edcipt=1&flag=1> (acedido a 7 de Julho de 2012).
- [37] Burger A, Koller K T, Schiermeier W M, Eur J Pharm Biopharm 1996, 43, 142.
- [38] Berry D J, Seaton C C, Clegg W, Harrington R W, Coles S J, Horton P N, Hursthouse M B, Storey R, Jones W, Friscic T, Blagden N, Cryst Growth Des 2008, 8, 1697.



- [39] a) Rasenack N, Muller B, *Int. J. Pharm* 2002, 244, 45; b) Rasenack N, Muller B, *Int J Pharm* 2002, 245, 9.
- [40] Dudognon E, Danède F, Descamps M, Correia N T, *Pharm Res* 2008, 25, 12.
- [41] Hédoux A, Guinet Y, Derollez P, Dudognon E, Correia N T, *Int J Pharm* 2011, 421, 45.
- [42] Nerurkar J, Beach J W, *Pharma Devel Techn*, 2005, 10, 413.
- [43] Wang S, Song Z, Wang J, Dong Y, Wu M, *J Chem Eng* 2010, 55, 5283.
- [44] Garzón L C, Martínez F, *J Sol Chem* 2004, 33, 11.
- [45] Hateet S F A, *Mol Cryst Liq Cryst* 2010, 533, 152.
- [46] Alshahateet S F, *J Chem Crystallogr* 2011, 41, 276.
- [47] Dhumal R S, Kelly A L, York P, Coates P D, Paradkar A, *Pharm Res* 2010, 27, 2725.
- [48] Castro R A E, Ribeiro J D B, Maria T M R, Ramos Silva M, Yuste-Vivas C, Canotilho J, Eusébio M E S, *Cryst Growth Des* 2011, 11, 5396.
- [49] Borba A, Albrecht M, Gómez-Zavaglia A, Lapinski L, Nowak M J, Suhm M A, Fausto R, *Phys Chem Chem Phys*, 2008, 10, 7010.
- [50] Takano T, Sasada Y, Kakudo M, *Acta Crystallogr* 1966, 21, 514.
- [51] [www.greatvistachemicals.com/pharmaceutical\\_intermediates/nicotinamide.html&ei=\\_anw](http://www.greatvistachemicals.com/pharmaceutical_intermediates/nicotinamide.html&ei=_anw) (acedido a 16 de Junho de 2011).
- [52] Hino T, Ford J L, Powell M W, *Thermochim Acta* 2001, 374, 85.
- [53] Li J, Bourne S A, Caira M R, *Chem Commun* 2011, 47, 1530.
- [54] Yurdakul S, Ataç A, Sahin E, Ide S, *Vib. Spectrosc* 2003, 31, 41.
- [55] Aakeroy C B, Beatty A M, Helfrich B A, Nieuwenhuyzen M, *Cryst Growth Des* 2003, 3, 159.
- [56] Eccles K S, Deasy R E, Fabian L, Braun D E, Maguire A R, Lawrence S E, *CrystEngComm* 2011, 13, 6923.
- [57] Singh P, Mishra A K, Malonia S K, Chauhan D S, Sharma V D, Venkatesan K, Katoch V M, *J Commun Dis* 2006; 38, 288.
- [58] Takaki Y, Sasada Y, Watanabe T, *Acta Crystallogr* 1960, 13,693.
- [59] Ro G, Sorum H, *Acta Crystallogr B* 1972, 28, 991.
- [60] Nakata K, Takaki Y, *Mem. Osaka Kyoiku Univ. Ser. III* 1987, 36, 93.
- [61] G. Ro, H. Sorum, *Acta Crystallogr, Sect B: Struct Sci B*, 1972, 28, 1677.
- [62] Friscic T, Childs S L, Rizvi S A A, Jones W, *CrystEngComm* 2009, 11, 418.
- [63] Friscic T, Jones W, *CrysT Growth Des* 2009, 9, 1621.

- [64] Nunes S, *Fases sólidas obtidas por arrefecimento do pindolol líquido*, Dissertação de Mestrado, Universidade de Coimbra, Coimbra, 2002.
- [65] Castro R., Estudos de termomicroscopia e calorimetria de solução de derivados hidroxilados do ciclo-hexano. Departamento de Química, Universidade de Coimbra, Coimbra, 2000.
- [66] Davis R E, Lorimer K A, M.A. Wilkowsi, J.H. Rivers, K.A. Wheeler, J. Bowers, in: A.M. Beatty (Ed.), *Crystals in Supramolecular Chemistry*, American Crystallographic Association, Inc., Buffalo, NY, 2004.
- [67] M. Brown; “Introduction to Thermal Analysis: Techniques and Applications - 2nd edition”; Kluwer, 2004;
- [68] Lisbão A S, *Estrutura e Propriedades dos Polímeros*, EDUFSCAR, 2004.
- [69] Settle F A, *Handbook of Instrumental Techniques for Analytical Chemistry*, Prentice-Hall, Nova Jérсия, 1997.
- [70] <http://www.panalytical.com/index.cfm?pid=135> (acedido a 19 de Maio de 2012).
- [71] [http://www.encyclopedia.com/topic/X-ray\\_crystallography.aspx](http://www.encyclopedia.com/topic/X-ray_crystallography.aspx) (acedido a 19 de Maio de 2012).
- [72] Skoog D M W D, Holler F J, Crouch S R, *Fundamentos de Química Analítica*, Thomsom, S. Paulo, 2006.
- [73] Derollez P, Dudognon E, Affouard F, Danede F, Correia N T, Descamps M, *Acta Crystallogr B* 2010, 66, 76.
- [74] Connolly J R, *Introduction to X-Ray Powder Diffraction*, EPS400-002, Springer 2007.
- [<http://epswww.unm.edu/xrd/xrdclass/01-XRD-Intro.pdf>]
- [75] <http://www.pharmainfo.net/reviews/advances-dissolution-tests-pharmaceutical-analysis> (acedido a 16 de Maio de 2012).
- [76] Dressman J B, Amidon G L, Reppas C, Shah V P, *Pharm Res* 1998, 15, 1.
- [77] Brown C K, Chokshi H P, Nickerson B, Reed R A, Rohrs B R, Shah P A, *Pharma Techn*, 2004, 11, 13.
- [78] *FIP guidelines for dissolution testing of solid oral products*; Joint report of the section for official laboratories and medicines control services and the section of industrial pharmacists of the F.I.P; 1997.

- [79] General Chapters <711>, “Dissolution” in *The United States Pharmacopeia 27-National Formulary 22* (United States Pharmacopeial Convention, Inc., Rockville,
- [80] Wang Q, Ma D, Higgins J P, *Dissolution Techn*, 2006, 13, 6.
- [81] Mehta A C, *Analytical Proceedings Including Analytical Communications*, 1994, 31, 245.
- [82] Brown C K, Chokshi H P, Nickerson B, Reed R A, Rohrs B R, Shah P A, *Pharm. Tech.* 2004, 20, 4.
- [83] Dhumal R S, Kelly A L, York P, Coates P D, Paradkar A, *Pharm Res* 2010, 27, 2725.
- [84] Castro R A E, Maria T M R, Évora A O L, Feiteira J C, Ramos Silva M, Matos Beja A, Canotilho J, Eusébio M E S, *Cryst Growth Des* 2010; 10, 274.
- [85] Hansen L K, Perlovich G L, Bauer-Brandl A., *Acta Crystallogr E*; 2003, 59, 1357.
- [86] Hansen T W R, *Eur J Pediatr*, 2003, 162, 356.
- [87] Perlovich G L, Kurkov S V, Hansen L K R, Bauer-Brandl A, *J Pharm Sci* 2004, 93, 654.
- [88] McConnell J F, *Cryst Struct Commun*, 1974, 3, 73.
- [89] Derollez P, Dudognon E, Affouard F, Danede F, Correia N T, Descamps M, *Acta Crystallogr B* 2010, 66,76.



- **Anexos**

Na Tabela A1 apresentam-se os parâmetros cristalográficos das estruturas conhecidas do (*S*)-ibuprofeno e do (*R,S*)-ibuprofeno.

**Tabela A1.** Parâmetros cristalográficos para o (*S*)-ibuprofeno e (*R,S*)-ibuprofeno, forma I e II.

<i>T</i> / K	<i>a</i> / Å	<i>b</i> / Å	<i>c</i> / Å	$\beta$	<i>V</i> / Å <sup>3</sup>	<i>Z</i>	Ref.
<b>(<i>S</i>)-ibuprofeno, Monoclínico <i>P2</i><sub>1</sub></b>							
298	12,456	8,0362	13,533	112,86	1248,2	4	[85-87]
<b>(<i>R,S</i>)-ibuprofeno, Forma I, Monoclínico <i>P2</i><sub>1</sub></b>							
T.a	14,667	7,886	10,730	99,362	1224,5	4	[88]
<b>(<i>R,S</i>)-ibuprofeno, Forma II, Monoclínico <i>P2</i><sub>1</sub></b>							
258	12,3794	5,8723	17,5615	94,873	1272,03	4	[89]

Os parâmetros geométricos das ligações de hidrogénio dos co-cristais de (*R,S*)-ibuprofeno e (*S*)-ibuprofeno com nicotinamida são apresentados na Tabela A2.

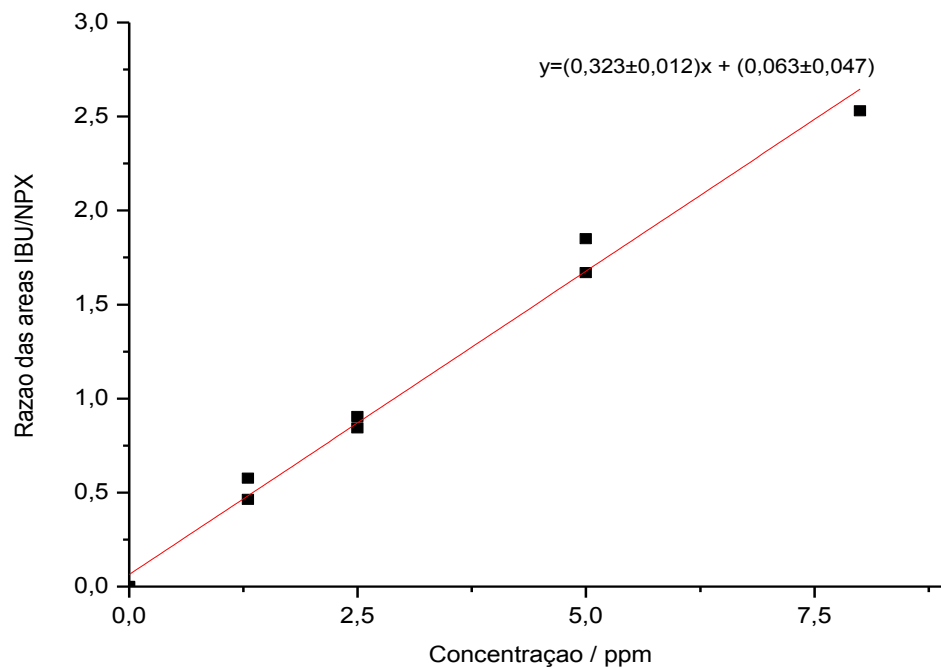
**Tabela A2.** Parâmetros geométricos das ligações de hidrogénio nos co-cristais de *RS*-IBU:NA e *S*-IBU:NA.

	D–H...A	D...A / Å	H...A / Å	D–H...A / °
<b>RS-IBU:NA</b>	O1–H1...N42	2,658	1,84	165
	O21–H21...N52	2,664	1,83	170
	N41–H41A...O51	2,901	2,05	164
	N41–H41B...O2	3,116	2,25	167
	N51–H51A...O41	2,916	2,06	164
	N51–H51B...O22	3,113	2,25	165
<b>S-IBU:NA</b>	O2–H20...N1	2,652	1,82	168
	O5–H50...N3	2,625	1,81	163
	O8–H80...N5	2,653	1,82	174
	O11–H110...N7	2,632	1,81	166
	N2–H2N1...O12	2,898	2,04	164
	N2–H2N2...O1	2,971	2,11	167
	N4–H4N1...O9	2,924	2,07	164
	N4–H4N2...O4	3,135	2,28	165
	N6–H6N1...O6	2,883	2,02	167
	N6–H6N2...O7	2,968	2,10	167
	N8–H8N1...O3	2,897	2,03	166
	N8–H8N2...O10	3,157	2,30	166

- Preparação das soluções padrão de ibuprofeno e obtenção das curvas de calibração

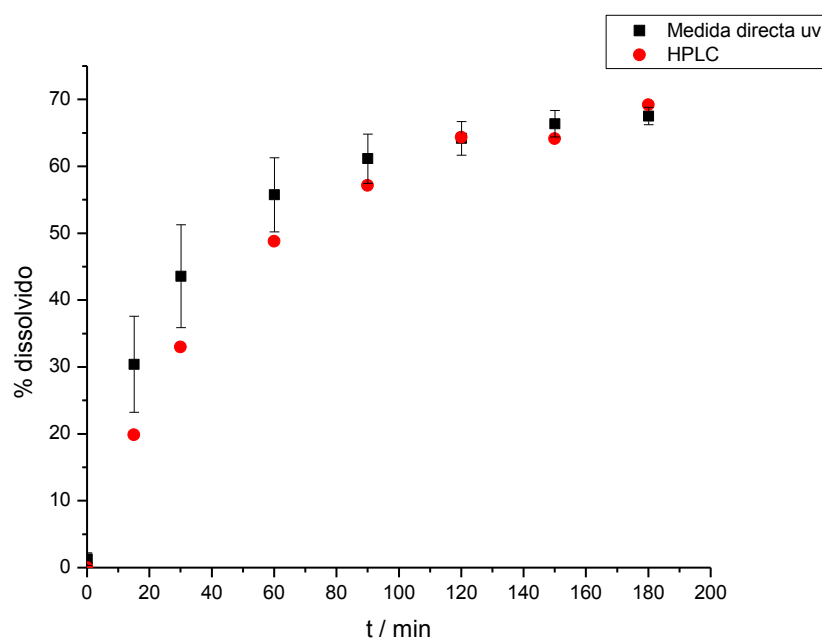
Foram preparadas soluções de *RS*- e *S*-ibuprofeno em água ultrapura, com concentração de 10 ppm. De seguida, fizeram-se diluições através destas soluções-mãe de forma a se obterem soluções de cada um dos compostos nas concentrações de 8,4; 5,0; 2,5 e 1,25 ppm.

Para a obtenção das curvas de calibração, foi adotado o mesmo procedimento que para a análise das amostras para os perfis de dissolução, por HPLC. Na Figura A1, estão representadas as curvas de calibração obtidas para o (*R,S*)- e (*S*)-ibuprofeno e que foram usadas para a obtenção da percentagem de massa de ibuprofeno dissolvida nos ensaios de dissolução.



**Figura A1.** Exemplo de curva de calibração obtida para o (R,S)- e (S)-ibuprofeno.

Na Figura A2 comparam-se os perfis de dissolução de (S)-ibuprofeno em água, a  $T = (37,0 \pm 0,5) \text{ } ^\circ\text{C}$ , obtidos pelo método de fluxo contínuo com análise *online* por absorção no ultravioleta a 222 nm e usando a metodologia de HPLC descrita na secção 2.2.6.



**Figura A2.** Comparação dos perfis de dissolução do S-IBU obtidos por análise por *online* UV e por HPLC.