

António Osvaldo Lima Évora e Évora

# INVESTIGAÇÃO DE NOVAS FORMAS SÓLIDAS DE DIFLUNISAL E DE LAMOTRIGINA. UMA ABORDAGEM TERMODINÂMICA

Tese de Doutoramento em Química, ramo de especialização em Termodinâmica Química, orientada pela Professora Doutora Maria Ermelinda da Silva Eusébio, co-orientada pelo Professor Doutor João Carlos Canotilho Lage, e apresentada ao Departamento de Química da Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra

2015



UNIVERSIDADE DE COIMBRA



Universidade de Coimbra  
Departamento de Química – Faculdade de Ciências e Tecnologia

**Investigação de Novas Formas Sólidas  
de Diflunisal e de Lamotrigina.  
Uma Abordagem Termodinâmica**

António Osvaldo Lima Évora e Évora

Tese de Doutoramento em Química, ramo de especialização em Termodinâmica Química, orientada pela Professora Doutora Maria Ermelinda da Silva Eusébio, co-orientada pelo Professor Doutor João Carlos Canotilho Lage, e apresentada ao Departamento de Química da Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra

Coimbra, 2015



À memória dos meus avós

Aos meus pais

À Ivete

Aos meus filhos, Tiago, Marcello e Rafaela



## **Agradecimentos**

É chegado o momento por que qualquer candidato a Doutoramento anseia, a entrega e defesa da tese. E para chegar a este momento muita gente deu o seu generoso contributo, visando a concretização dos objectivos propostos.

Assim, não posso deixar de aqui expressar os meus agradecimentos às muitas pessoas que me têm acompanhado neste percurso, sendo que estas simples palavras nunca serão suficientes para demonstrar o apreço que tenho por todo o apoio que recebi, dos mais diversos quadrantes, durante todos estes anos.

Deste modo, começo por agradecer aos meus Orientadores, a Professora Doutora Maria Ermelinda da Silva Eusébio e o Professor Doutor João Carlos Canotilho Lage, por toda a dedicação, ensinamentos, empenho e motivação que demonstraram, desde a concepção e elaboração do projecto até à sua concretização. Foi realmente um grande privilégio ter tido a oportunidade de aprender e conviver com pessoas tão extraordinárias durante este período de sete anos em que estive inserido neste grupo de trabalho. Vou ser para sempre grato por toda a generosidade de que fui alvo e por esse facto, o meu sincero e humilde, muito obrigado.

Deixo igualmente um agradecimento muito especial aos Professores Doutores Ricardo António Esteves de Castro, Teresa Margarida Roseiro Estronca e Mário Túlio dos Santos Rosado, por todo o extraordinário apoio prestado durante todos estes anos, na realização dos trabalhos e na preparação e execução da tese, assim como pela amizade manifestada.

Agradeço à Professora Doutora Manuela R. Silva do Centro de Estudos de Materiais por Difracção de raios-X, do Departamento de Física da Universidade de Coimbra por todo o apoio prestado no estudo da caracterização por difracção de raios-X de pó e de monocristal.

Ao Professor Doutor Jorge de Sousa Brito e à Universidade Jean Piaget de Cabo Verde, agradeço todo o apoio e a colaboração prestados no âmbito do Programa Ciência Global da Fundação para a Ciência e Tecnologia.

Queria, também, agradecer ao Professor Doutor Joop ter Horst e ao seu grupo pela hospitalidade manifestada durante a minha estadia no “Process & Energy Department”, Delft University of Technology, Holanda.

Agradeço à Fundação para a Ciência e Tecnologia a bolsa de Doutoramento SFRH/BD/51480/2011, no âmbito do Programa Ciência Global.

Ao Departamento de Química da Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra, Professores, Investigadores e Funcionários, onde fiz os meus estudos de Licenciatura, Mestrado e Doutoramento, agradeço todo o apoio e simpatia recebidos desde a minha entrada nesta casa no ano de 2001, até ao momento presente.

Para a Ivete, minha companheira nesta longa caminhada e a toda a minha família, um muito obrigado pelo amor, dedicação e suporte durante este percurso. Sem eles este processo não faria sentido.





# Índice

---

|  |             |
|--|-------------|
| <b>Índice de Figuras</b> .....   | <b>i</b>    |
| <b>Índice de Tabelas</b> .....   | <b>xi</b>   |
| <b>Resumo</b> .....  | <b>xiii</b> |
| <b>Abstract</b> .....  | <b>xv</b>   |
| <b>Abreviaturas</b> .....  | <b>xvii</b> |
| <b>1 Introdução</b> .....  | <b>1</b>    |
| 1.1 Química do estado sólido de compostos orgânicos: forma e<br>função .....   | 1           |
| 1.1.1 Co-cristais .....  | 8           |
| 1.2 Objectivo.....   | 17          |
| <b>2 Investigação de novas formas sólidas de (diflunisal +<br/>    nicotinamida): uma abordagem termodinâmica</b> .....              | <b>21</b>   |
| 2.1 Caracterização das formas sólidas de diflunisal utilizadas<br>neste trabalho .....   | 22          |
| 2.2 Investigação de novas formas sólidas (diflunisal +<br>nicotinamida): uma abordagem termodinâmica.....                            | 27          |
| 2.2.1 Investigação preliminar da viabilidade de formação de<br>co-cristais diflunisal:nicotinamida .....                             | 29          |
| 2.2.2 Determinação da estequiometria e caracterização do<br>co-cristal (diflunisal + nicotinamida).....                              | 32          |
| 2.3 Estabelecimento de condições para a cristalização do<br>co-cristal (diflunisal + nicotinamida) 2:1 em solução de<br>etanol ..... | 43          |

|          |  |            |
|----------|--|------------|
| 2.4      | Determinação da velocidade de dissolução intrínseca do co-cristal (diflunisal+nicotinamida) e comparação com a do API puro.....  | 45         |
| <b>3</b> | <b>Investigação da formação de co-cristais (diflunisal + isonicotinamida) e (diflunisal + picolinamida) .....</b>  | <b>49</b>  |
| 3.1      | Investigação do polimorfismo da picolinamida.....  | 51         |
| 3.1.1    | Transformações induzidas por mecanoquímica.....  | 59         |
| 3.2      | Pesquisa e caracterização de co-cristais (diflunisal + isonicotinamida) e (diflunisal +picolinamida) .....   | 62         |
| 3.2.1    | Estabelecimento do diagrama de fases sólido-líquido dos sistemas (diflunisal+isonicotinamida) e (diflunisal+picolinamida). Determinação da estequiometria dos co-cristais..... | 66         |
| 3.2.2    | Caracterização dos co-cristais por XRPD e por FTIR. ....   | 73         |
| 3.2.3    | Estabelecimento de condições para cristalização do co-cristal (diflunisal + isonicotinamida) 2:1 em etanol .....   | 78         |
| <b>4</b> | <b>Investigação de novas formas sólidas de lamotrigina.....</b>  | <b>81</b>  |
| 4.1      | Caracterização das amostras de lamotrigina utilizadas neste trabalho.....  | 84         |
| 4.2      | Investigação de formas sólidas binárias lamotrigina + piridinacarboxamidas .....   | 87         |
| 4.2.1    | Lamotrigina + picolinamida .....   | 88         |
| 4.2.2    | Lamotrigina + nicotinamida.....  | 90         |
| 4.2.3    | Lamotrigina + isonicotinamida.....   | 92         |
| 4.3      | Investigação de formas sólidas binárias de lamotrigina com as xantinas, teofilina e cafeína .....  | 101        |
| 4.3.1    | Lamotrigina + teofilina .....  | 101        |
| 4.3.2    | Lamotrigina + cafeína.....   | 110        |
| 4.4      | Investigação de formas sólidas binárias, lamotrigina + diflunisal .....  | 115        |
| <b>5</b> | <b>Notas finais .....</b>  | <b>121</b> |
|          | <b>Referências .....</b>   | <b>125</b> |
|          | <b>Anexo I Materiais, técnicas e condições experimentais .....</b>   | <b>141</b> |

## Índice de Figuras

---

|   |    |
|---|----|
| <b>Figura 1.1</b> Possíveis formas sólidas de um activo farmacêutico, (adaptado de Schultheiss N., Newman A.) [39].....   | 4  |
| <b>Figura 1.2-</b> Estrutura cristalina da quinidrona, realçando a disposição das moléculas na célula unitária [65].....  | 8  |
| <b>Figura 1.3</b> Sobreposição possível do domínio de formas sólidas multicomponentes; 1) co-cristal- hidrato; 2) co-cristal-sal; 3) sal-hidrato; 4)co-cristal-sal-hidrato, (adaptado de [88]). .....   | 11 |
| <b>Figura 1.4</b> Exemplos de sintões supramoleculares. a) Homossintão ácido-ácido, dímero cíclico e b) homossintão ácido-ácido, cadeia, c) sintão ácido-N-piridina, d) sintão ácido-amida. ....  | 13 |
| <b>Figura 1.5</b> a) diflunisal; b) lamotrigina.....  | 17 |
| <b>Figura 2.1</b> Empacotamento cristalino dos polimorfos I (a) e III (b) do Diflunisal [170].....  | 23 |
| <b>Figura 2.2</b> Difractograma de raios-X de pó de diflunisal;1) amostra comercial; 2) simulado para a forma I [170]; 3) amostra obtida por mecanoquímica assistida por etanol; 4) simulado para a forma III [170].....                            | 24 |
| <b>Figura 2.3</b> Espectro de infravermelho de diflunisal;1) forma I; 2) forma III. ....  | 24 |
| <b>Figura 2.4</b> Curvas DSC de aquecimento de diflunisal; 1) forma I; 2) forma III. $\beta = 10\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$ .....  | 25 |
| <b>Figura 2.5</b> Espectro de infravermelho de diflunisal;1) forma I; 2) forma III aquecida até $195^{\circ}\text{C}$ , seguida de arrefecimento até à temperatura ambiente, $ \beta  = 10\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$ .; 3) forma III..... | 26 |
| <b>Figura 2.6</b> Difractogramas de raios-X de pó de diflunisal. 1) Simulado para o polimorfo I [170]; 2) Amostra obtida por aquecimento do polimorfo III até $195\text{ }^{\circ}\text{C}$ , e   |    |

|   |    |
|---|----|
| posterior arrefecimento até à temperatura ambiente, $ \beta  = 10 \text{ }^\circ\text{C/min.}$ ; 3) Simulado para o polimorfo III [170].  | 26 |
| <b>Figura 2.7.</b> a) Fórmula de estrutura do diflunisal; b) molécula da nicotinamida; c) sintão ácido-amida e d) sintão ácido-N-piridina.  | 27 |
| <b>Figura 2.8.</b> Difractograma de raios-X de pó de nicotinamida. 1. Simulado para a forma I [179], 2. Experimental, amostra comercial.  | 28 |
| <b>Figura 2.9-</b> a) Célula unitária da nicotinamida, polimorfo I [179]; b) célula unitária da nicotinamida, Nic2. [181].  | 28 |
| <b>Figura 2.10.</b> a. Gráfico da equação de van't Hoff eq. 2.7: NA (●), DIF (■) e hipotético co-cristal DIF+NA (Δ) em etanol. b. Diferença ( $T_s - T_{ref}$ ), entre a temperatura de saturação medida $T_s$ de amostras com composição ( $x_{DIF}^*(T_{ref})$ , $x_{NA}^*(T_{ref})$ ), e $T_{ref}$ a temperatura à qual a solubilidade dos componentes puros é $x_{DIF}^*$ e $x_{NA}^*$ .  | 31 |
| <b>Figura 2.11</b> Difractogramas de raios-X de pó dos sólidos obtidos nas experiências realizadas com o equipamento Crystal 16, utilizando como solvente, etanol. 1. diflunisal forma III; 2. nicotinamida forma I; 3. sólido em equilíbrio com soluções de diflunisal+nicotinamida.   | 32 |
| <b>Figura 2.12</b> Curvas de DSC de aquecimento seleccionadas para o sistema diflunisal+nicotinamida. 1. $x_{DIF} = 0,000$ , 2. $x_{DIF} = 0,0499$ ; 3. $x_{DIF} = 0,0749$ ; 4. $x_{DIF} = 0,0995$ ; 5. $x_{DIF} = 0,1419$ ; 6. $x_{DIF} = 0,2785$ ; 7. $x_{DIF} = 0,5000$ ; 8. $x_{DIF} = 0,6647$ ; 9. $x_{DIF} = 0,6987$ ; 10. $x_{DIF} = 0,7695$ ; 11. $x_{DIF} = 0,9444$ ; 12. $x_{DIF} = 1,000$ . $\beta = 2 \text{ }^\circ\text{C/min}$ . | 33 |
| <b>Figura 2.13</b> Curvas de DSC de aquecimento, para misturas representativas do sistema diflunisal + nicotinamida. 1. $x_{DIF} = 0,000$ ; 2. $x_{DIF} = 0,0499$ ; 3. $x_{DIF} = 0,1419$ ; 4. $x_{DIF} = 0,4448$ ; 5. $x_{DIF} = 0,5524$ ; 6. $x_{DIF} = 0,6647$ ; 7. $x_{DIF} = 0,9444$ ; 8. $x_{DIF} = 1,000$ . $\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C/min}$ .  | 33 |
| <b>Figura 2.14</b> Diagrama de fases binário sólido+líquido de (diflunisal+nicotinamida). Símbolos a vermelho, $\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C/min}$ ; símbolos a azul $\beta = 2 \text{ }^\circ\text{C/min}$ . As linhas são guias de orientação visual.   | 35 |
| <b>Figura 2.15</b> Diagramas de Tammann para o sistema diflunisal+nicotinamida, identificando os dois pontos eutéticos, $x_{DIF} = 0,10$ e $x_{DIF} = 0,75$ , respectivamente.  | 36 |
| <b>Figura 2.16</b> Um exemplo de deconvolução da curva de DSC da mistura diflunisal+nicotinamida, $x_{DIF} = 0,6987$ , $\beta = 2 \text{ }^\circ\text{C/min}$ .   | 36 |
| <b>Figura 2.17</b> Diagrama de fases binário sólido+líquido de diflunisal+nicotinamida. Símbolos a vermelho, $\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C/min}$ ; símbolos a azul $\beta = 2 \text{ }^\circ\text{C/min}$ . As linhas a cheio são guias de orientação visual. O comportamento ideal está representado pelas linhas a tracejado (eq. 2.8 com $\gamma_i = 1$ , e eq. 2.10).   | 37 |
| <b>Figura 2.18</b> Espectros de infravermelho: 1. diflunisal, polimorfo III; 2. nicotinamida, polimorfo I; 3. co-cristal (diflunisal+nicotinamida) 2:1, $x_{DIF} = 0,67$ ; 4. mistura (diflunisal+nicotinamida) 1:4, $x_{DIF} = 0,21$ ; 5. mistura diflunisal+nicotinamida 3:1, $x_{DIF} = 0,77$ . a) 3600 a 1750 $\text{cm}^{-1}$ ; b) 1750 a 1000 $\text{cm}^{-1}$ .  | 39 |
| <b>Figura 2.19</b> Difractogramas de raios-X de pó: 1. diflunisal, polimorfo I [170]; 2. nicotinamida, polimorfo I [179]; 3. mistura sólida diflunisal+nicotinamida isolada nas experiências de cristalização em etanol, Crystal 16; 4. co-cristal (diflunisal+nicotinamida) 2:1, $x_{DIF} = 0,67$ , obtido por mecanoquímica; 5. diflunisal, polimorfo III.  | 40 |

|  |    |
|--|----|
| <b>Figura 2.20.</b> Difractogramas de raios-X de pó. 1. Simulado para o diflunisal, forma V [174]; 2. Simulado para o mono-hidrato do diflunisal [169]; 3. Co-cristal (diflunisal+nicotinamida) co-cristal 2:1, experimental; 4. simulado para a nicotinamida, nic2 [181].....   | 40 |
| <b>Figura 2.21</b> Termogramas obtidos em ensaios de solução para o sistema diflunisal + nicotinamida em DMSO: Água (10 % v/v); 1. processo 2.15; 2. processo 2.14; T = 25 °C. ....  | 42 |
| <b>Figura 2.22-</b> Estimativa do diagrama de fase parcial de (diflunisal + nicotinamida), em etanol a 25 °C (azul) e a 50 °C (vermelho), $x_{NA}^*$ e $x_{DIF}^*$ representam as solubilidades em etanol da nicotinamida e do diflunisal a cada uma dessas temperaturas, e as linhas a cheio representam a solubilidade do co-cristal (foi utilizada a equação 2.16, e os valores da Tabela 2.1)..... | 44 |
| <b>Figura 2.23</b> Proposta de diagrama de fases ternário do sistema (diflunisal+nicotinamida+etanol) a T = 25 °C.....   | 45 |
| <b>Figura 2.24</b> Espectros de absorção no ultravioleta de diflunisal ( $1,550 \times 10^{-4}$ M) e de nicotinamida ( $7,779 \times 10^{-4}$ M)). Percurso óptico de 5 cm.....  | 47 |
| <b>Figura 2.25.</b> Massa dissolvida do diflunisal em 900 mL do meio de dissolução em função do tempo, para comprimidos do diflunisal puro (■) e para comprimidos do co-cristal (●) .....  | 48 |
| <b>Figura 3.1-</b> Estruturas moleculares das três piridinacarboxamidas isoméricas: a) Picolinamida; b) Nicotinamida; c) Isonicotinamida. ....   | 50 |
| <b>Figura 3.2</b> Célula unitária da isonicotinamida, polimorfo I [216]. ....  | 51 |
| <b>Figura 3.3</b> Célula unitária da isonicotinamida, polimorfo II [216]. ....   | 51 |
| <b>Figura 3.4.a.</b> ORTEP do polimorfo II da picolinamida (Elipsóides desenhados ao nível de 50 % de probabilidade. (Os átomos de hidrogénio são desenhados como esferas de raio arbitrário); <b>b.</b> Célula unitária do polimorfo II da picolinamida (ligações de hidrogénio representadas por linhas a tracejado). T = 293 K. ....  | 52 |
| <b>Figura 3.5</b> Curva de DSC e imagens de PLTM obtidas no aquecimento de picolinamida comercial, polimorfo II, entre 25 e 115 °C, m = 1,41 mg; $\beta$ = 10 °C/min, ampliação 200x.....  | 53 |
| <b>Figura 3.6</b> Curvas de DSC aquecimento/arrefecimento; amostra de partida: picolinamida, II, m = 1,43 mg; $\beta$ =  10  °C/min. <b>b1.</b> 25 °C → 105 °C; <b>b2.</b> 105 °C → 25 °C; <b>b3.</b> 25 °C → 115 °C após o varrimento <b>b2.</b> ....   | 54 |
| <b>Figura 3.7</b> Difractogramas de raios-X de pó de picolinamida. 1. amostra de partida: picolinamida, II, 2. Amostra obtida por DSC após um ciclo térmico (b1+b2), Figura 3.6.....   | 54 |
| <b>Figura 3.8</b> Imagem dos cristais de picolinamida, polimorfo I, obtidos por sublimação da forma II em estufa, a 90 °C. ....  | 55 |
| <b>Figura 3.9 a.</b> ORTEP do polimorfo I da picolinamida (Elipsóides desenhados ao nível de 50 % de probabilidade). Os átomos de hidrogénio são desenhados como esferas de raio arbitrário); <b>b.</b> Empacotamento na picolinamida I; <b>c.</b> Um tetrâmero formado por ligações de hidrogénio representadas como linhas tracejadas. ....  | 55 |
| <b>Figura 3.10.</b> Espectros de infravermelho de polimorfos da picolinamida. 1. Polimorfo II; 2. Polimorfo I. ....  | 57 |
| <b>Figura 3.11.</b> Difractogramas de raios-X de pó de picolinamida. 1. Simulado para o polimorfo II; 2. Amostra comercial; 3. Amostra cristalizada em etanol; 4. Amostra cristalizada em acetato de etilo. ....   | 58 |

|   |    |
|---|----|
| <b>Figura 3.12.</b> Curvas de DSC registradas no aquecimento de amostras de picolinamida cristalizadas em solventes, nas condições descritas no texto. 1. de etanol; 2. e 3. de acetato de etilo; $\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$ .....  | 58 |
| <b>Figura 3.13.</b> Imagens de PLTM recolhidas no aquecimento de duas amostras de picolinamida, II, obtidas por cristalização em acetato de etilo; $\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$ , ampliação 200x.....   | 59 |
| <b>Figura 3.14</b> Espectros de infravermelho, picolinamida. 1. Polimorfo II; 2. Amostra obtida por moagem de II, sem assistência de solvente, a 15 Hz, durante 30 min; 3. Amostra obtida por moagem de II, sem assistência de solvente, a 15 Hz, durante 60 min 4. Amostra obtida por moagem de II, sem assistência de solvente, a 15 Hz, durante 120 min, polimorfo I. ....   | 60 |
| <b>Figura 3.15</b> Difractogramas de raios-X de pó de picolinamida. 1. Simulado para o polimorfo II; 2. Amostra obtida por moagem de II, sem assistência de solvente, a 15 Hz, durante 60 min; 3. Amostra obtida por moagem de II, sem assistência de solvente, a 15 Hz, durante 120 min 4. Simulado para o polimorfo I.....  | 60 |
| <b>Figura 3.16</b> Curvas de DSC de aquecimento de amostras de picolinamida. 1. Amostra obtida por moagem de II, sem assistência de solvente, a 15 Hz, durante 30 min; 2. Amostra obtida por moagem de II, sem assistência de solvente, a 15 Hz, durante 120 min; $\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$ .....  | 61 |
| <b>Figura 3.17</b> Espectros de infravermelho, picolinamida. 1. Amostra de polimorfo I obtida por mecanoquímica sem assistência de solvente, a partir da forma II. 2. A mesma amostra guardada em exsicador à temperatura ambiente durante: 2. 3 dias; 3. 13 dias; 4. 16 dias. 5. Polimorfo II.....   | 61 |
| <b>Figura 3.18</b> Gráfico da equação de van't Hoff, eq. 2.7. 1. picolinamida, 2. isonicotinamida, 3. Diflunisal. hipotéticos co-cristais 4. DIF+INA e 5. DIF+PA ; solvente etanol.....   | 62 |
| <b>Figura 3.19</b> Difractogramas de raios-X de pó. a. I. Simulado para o polimorfo III do diflunisal [170]; 2. Diflunisal cristalizado em etanol (Crystal 16); b.I. Simulado para o polimorfo Iso3, da isonicotinamida [181]; 2. Simulado para o polimorfo II, iso1, da isonicotinamida [224]; 3. Isonicotinamida, cristalizada em etanol (Crystal16); 4. Simulado do polimorfo I, (iso2) da isonicotinamida [216]; c.I. Simulado para o polimorfo I da picolinamida; 2. Picolinamida, cristalizada em etanol (Crystal16); 3. Simulado para o polimorfo II da picolinamida.....  | 63 |
| <b>Figura 3.20</b> Diferença ( $T_s - T_{ref}$ ) entre as temperaturas de saturação medidas, $T_s$ , de amostras com composições ( $x_{DIF}^*(T_{ref})$ , ( $x_{Cof}^*(T_{ref})$ ), e a temperatura para a qual a solubilidade dos componentes puros é ( $x_{DIF}^*(T_{ref})$ e $x_{Cof}^*(T_{ref})$ , (●) diflunisal + isonicotinamida; (□) diflunisal + picolinamida. (■) diflunisal + nicotinamida. ....   | 64 |
| <b>Figura 3.21.</b> Difractogramas de raios-X de pó. a.I. Simulado para o polimorfo III do diflunisal[170]; 2. Simulado para o polimorfo II Iso1, da isonicotinamida [224]; 3. Simulado para o polimorfo I, Iso2, da isonicotinamida [216] ; 4. Experimental obtido das misturas diflunisal + isonicotinamida cristalizadas em etanol nas experiências realizadas com o equipamento Crystal16. b.I. Simulado para o polimorfo III do diflunisal[170]; 2. Simulado para o polimorfo I da picolinamida [219] ; 3. Simulado para o polimorfo II da picolinamida [218, 219]; 4. Experimental obtido de misturas diflunisal + picolinamida cristalizadas em etanol nas experiências realizadas com o equipamento Crystal16. .... | 65 |

- Figura 3.22** Curvas de DSC de aquecimento seleccionadas para o sistema (diflunisal+isonicotinamida),  $\beta = 2 \text{ }^\circ\text{C/min}$ . 1.  $x_{\text{DIF}} = 0$ , isonicotinamida; 2.  $x_{\text{DIF}} = 0,0502$ ; 3.  $x_{\text{DIF}} = 0,1667$ ; 4.  $x_{\text{DIF}} = 0,1999$ ; 5.  $x_{\text{DIF}} = 0,2501$ ; 6.  $x_{\text{DIF}} = 0,4004$ ; 7.  $x_{\text{DIF}} = 0,6667$ ; 8.  $x_{\text{DIF}} = 0,7484$ ; 9.  $x_{\text{DIF}} = 0,7996$ ; 10.  $x_{\text{DIF}} = 0,8572$ ; 11.  $x_{\text{DIF}} = 1$ ..... 67
- Figura 3.23** Diagrama de fases (sólido + líquido) do sistema (diflunisal + isonicotinamida). ●, ○, temperatura de fusão de eutético, ▲, △, *liquidus*, ■, fusão de composto puro. (símbolos fechados,  $\beta = 2 \text{ }^\circ\text{C/min}$ , símbolos abertos,  $\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C/min}$ ); as linhas a cheio são guias para orientação visual (-----) descrição usando equação (2.8); (—) descrição usando equação (2.10). ..... 69
- Figura 3.24** Diagramas de Tammann para o sistema (diflunisal+isonicotinamida) a.  $x_{\text{DIF}} \leq 0,6667$  b.  $x_{\text{DIF}} \geq 0,6667$ ..... 69
- Figura 3.25** Curvas de DSC de aquecimento de misturas seleccionadas de diflunisal+picolinamida,  $\beta = 2 \text{ }^\circ\text{C/min}$ . 1.  $x_{\text{DIF}} = 0$ , picolinamida; 2.  $x_{\text{DIF}} = 0,1636$ ; 3.  $x_{\text{DIF}} = 0,3334$ ; 4.  $x_{\text{DIF}} = 0,3996$ ; 5.  $x_{\text{DIF}} = 0,5000$ ; 6.  $x_{\text{DIF}} = 0,5569$ ; 7.  $x_{\text{DIF}} = 0,6061$ ; 8.  $x_{\text{DIF}} = 0,6557$ ; 9.  $x_{\text{DIF}} = 0,7492$ ; 10.  $x_{\text{DIF}} = 0,8547$ ; 11.  $x_{\text{DIF}} = 0,8954$ ; 12.  $x_{\text{DIF}} = 0,8990$  (NG); 13.  $x_{\text{DIF}} = 1$ ..... 71
- Figura 3.26** Diagrama de fase sólido-líquido (diflunisal+picolinamida), ●, ○, temperatura de fusão de um eutético, ▲, △, *liquidus*, ■, fusão de composto puro. (símbolos a cheio,  $\beta = 2 \text{ }^\circ\text{C/min}$ , símbolos abertos,  $\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C/min}$ ); As linhas a cheio são guias para orientação visual (-----) descrição usando as equações (2.9) e (3.1). ..... 71
- Figura 3.27** Diagrama de Tammann para o sistema diflunisal+picolinamida,  $x_{\text{DIF}} \geq 0,5000$ . ..... 72
- Figura 3.28** Difractogramas de raios-X de pó. a. DIF+INA: 1. DIF, polimorfo I; 2. INA, polimorfo I, iso2; 3. Co-cristal  $x_{\text{DIF}} = 0,6667$ ; 4.  $x_{\text{DIF}} = 0,3323$  (excesso de INA I); 5.  $x_{\text{DIF}} = 0,8572$  (excesso de DIF I). b. DIF+PA: 1. DIF, polimorfo III; 2. PA, polimorfo II; 3. Co-cristal  $x_{\text{DIF}} = 0,5000$ ; 4.  $x_{\text{DIF}} = 0,3334$  (excesso de PA II); 5.  $x_{\text{DIF}} = 0,6654$  (excesso de DIF III). ..... 74
- Figura 3.29** Espectros de Infravermelho. DIF+INA: 1. DIF, polimorfo I; 2. INA, polimorfo I; 3. Co-cristal DIF+INA (2:1)  $x_{\text{DIF}} = 0,6667$ ; 4.  $x_{\text{DIF}} = 0,2501$  (excesso de INA); 5.  $x_{\text{DIF}} = 0,4999$  (excesso de INA); 6.  $x_{\text{DIF}} = 0,8988$  (excesso de DIF). ..... 76
- Figura 3.30** Espectros de Infravermelho. DIF+PA: 1. DIF, polimorfo III; 2. PA, polimorfo II; 3. Co-cristal DIF+PA (1:1)  $x_{\text{DIF}} = 0,5000$ ; 4.  $x_{\text{DIF}} = 0,3334$  (excesso de PA II); 5.  $x_{\text{DIF}} = 0,6654$  (LAG) (excesso de DIF III). ..... 76
- Figura 3.31** Espectros de Infravermelho. DIF + PA: 1. DIF, III; 2. DIF, I; 3. Co-cristal DIF + PA (1:1)  $x_{\text{DIF}} = 0,5000$ ; 4.  $x_{\text{DIF}} = 0,7492$  moagem sem solvente (excesso de DIF I); 5.  $x_{\text{DIF}} = 0,8990$  moagem sem solvente (excesso de DIF I). ..... 77
- Figura 3.32** Espectros de Infravermelho dos co-cristais: 1. DIF+INA (2:1); 2. DIF+PA (1:1); 3. DIF+NA (2:1). ..... 77
- Figura 3.33** Estimativa do diagrama de fase parcial de (diflunisal + isonicotinamida), em etanol a  $25 \text{ }^\circ\text{C}$  (azul) e a  $50 \text{ }^\circ\text{C}$  (vermelho),  $x_{\text{INA}}^*$  e  $x_{\text{DIF}}^*$  representam as solubilidades em etanol da isonicotinamida e do diflunisal a cada uma dessas temperaturas, e as linhas a cheio representam a solubilidade do co-cristal (foi utilizada a equação 2.16 com os parâmetros da Tabela 3.7 e a equação 2.7 com os parâmetros da Tabela 3.4). ..... 79
- Figura 3.34** Proposta de diagrama de fases ternário do sistema (diflunisal+isonicotinamida+etanol) a  $T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$ . ..... 79

|  |    |
|--|----|
| <b>Figura 4.1</b> ORTEP da lamotrigina mostrando o esquema da numeração dos átomos [245]. (Elipsóides desenhados ao nível de 50 % de probabilidade. (Os átomos de hidrogénio são desenhados como esferas de raio arbitrário); $T = 293$ K.....   | 83 |
| <b>Figura 4.2</b> Célula unitária da lamotrigina (é evidenciada a formação de dímeros através das ligações de hidrogénio $N-H\cdots N$ [245]. .....  | 83 |
| <b>Figura 4.3</b> Difractogramas de raios-X de pó. 1) Simulado para a lamotrigina [EFEMU01] [245]; 2) lamotrigina comercial; 3) lamotrigina, moagem na ausência de solvente.....   | 84 |
| <b>Figura 4.4.</b> Difractogramas de raios-X de pó; 1) lamotrigina comercial, 2) lamotrigina obtida por moagem assistida por 10 $\mu$ L de etanol, 15 Hz, 30 min.....  | 85 |
| <b>Figura 4.5</b> Espectros de infravermelho:1) lamotrigina comercial; 2) lamotrigina, moagem na ausência de solvente.....   | 85 |
| <b>Figura 4.6.</b> Espectros de infravermelho: 1) lamotrigina comercial, 2) lamotrigina, mecanoquímica assistida por etanol, 30 min, 15 Hz.....  | 86 |
| <b>Figura 4.7</b> Curvas de DSC de aquecimento; 1) lamotrigina comercial, $m = 1,46$ mg; 2) lamotrigina, mecanoquímica sem solvente, $m = 1,35$ mg; 3) lamotrigina, mecanoquímica LAG 10 $\mu$ L de etanol, $m = 1,73$ mg; $\beta = 10$ $^{\circ}$ C/min. ....   | 86 |
| <b>Figura 4.8</b> Ilustração de pontos de associação possíveis entre a lamotrigina e as piridincarboxamidas (a isonicotinamida é tomada como exemplo).....   | 88 |
| <b>Figura 4.9.</b> Curvas de DSC de aquecimento de misturas de lamotrigina+picolinamida, 1. picolinamida; 2. $x_{Lamo} = 0,10$ ; 3. $x_{Lamo} = 0,20$ ; 4. $x_{Lamo} = 0,33$ ; 5. $x_{Lamo} = 0,50$ ; 6. $x_{Lamo} = 0,67$ ; 7. Lamotrigina; $\beta = 10$ $^{\circ}$ C/min.....  | 89 |
| <b>Figura 4.10.</b> Espectros de infravermelho: 1. lamotrigina; 2. picolinamida, polimorfo I; 3. picolinamida, polimorfo II; 4. mistura lamotrigina+picolinamida, $x_{DIF} = 0,67$ , mecanoquímica sem solvente, 15Hz, 30 min; 5. Mistura 4, submetida a 30 minutos adicionais de moagem, 15 Hz; 6. mistura 5, espectro obtido após 1 semana de preparação. .... | 89 |
| <b>Figura 4.11.</b> Diagrama de fases com eutético simples, simulado para a mistura binária (lamotrigina+ picolinamida), eq. 2.8; ■ pontos experimentais obtidos dos termogramas da Figura 4.9.....  | 90 |
| <b>Figura 4.12</b> Difractogramas de raios-X de pó. 1. Lamotrigina; 2. Nicotinamida; 3. Mistura Lamo+NA 1:1, mecanoquímica, sem solvente.....  | 91 |
| <b>Figura 4.13</b> Espectros de infravermelho: 1. lamotrigina; 2. nicotinamida, polimorfo I; 3. Mistura Lamo+NA 1:1, mecanoquímica, sem solvente, 4. Co-cristal (Lamo+NA) 1:1, obtido por aquecimento a 140 $^{\circ}$ C.....  | 92 |
| <b>Figura 4.14</b> Curvas de DSC de aquecimento de misturas seleccionadas de (lamotrigina+isonicotinamida), 1) Isonicotinamida, polimorfo I; 2) $x_{Lamo} = 0,33$ ; 3) $x_{Lamo} = 0,50$ ; 4) $x_{Lamo} = 0,67$ ; 5) $x_{Lamo} = 0,80$ ; 6) lamotrigina. $\beta = 10$ $^{\circ}$ C/min. ....   | 93 |
| <b>Figura 4.15</b> Diagrama de fases binário sólido+líquido de (lamotrigina+isonicotinamida). As linhas a tracejado resultam de simulação usando as equações 2.10 e 4.1. $\beta = 10$ $^{\circ}$ C/min.....  | 94 |
| <b>Figura 4.16</b> Difractogramas de raios-X de pó. 1) Isonicotinamida polimorfo I; 2) Lamotrigina; 3) Lamotrigina + isonicotinamida (2:1) mecanoquímica sem solvente, 15 Hz, 30 min.....  | 95 |

|  |     |
|--|-----|
| <b>Figura 4.17</b> Curvas de DSC da mistura lamotrigina+isonicotinamida, $x_{\text{Lamo}} = 0,67$ . 1) Aquecimento até 180 °C; 2) Arrefecimento subsequente até temperatura ambiente; 3) Aquecimento até à fusão após 1+2. $\beta = 10$ °C/min.....  | 96  |
| <b>Figura 4.18</b> Difractogramas de raios-X de pó. 1. Isonicotinamida polimorfo I; 2. Lamotrigina; 3. Lamotrigina + isonicotinamida (2:1) mecanoquímica sem solvente, 15 Hz, 30 min; 4) Co-cristal (lamotrigina+isonicotinamida) 2:1 - mistura anterior após aquecimento até 180 °C e arrefecimento até à temperatura ambiente, $\beta = 10$ °C/min.....  | 96  |
| <b>Figura 4.19</b> Espectros de Infravermelho. 1) Lamotrigina; 2) Isonicotinamida, polimorfo I; 3) co-cristal (lamotrigina + isonicotinamida) 2:1.....   | 97  |
| <b>Figura 4.20</b> Célula unitária do etanoato da lamotrigina(1:1) CCDC 981033, realçando a rede de ligações de hidrogénio entre as cadeias de dímeros e as moléculas de etanol.....   | 98  |
| <b>Figura 4.21</b> ORTEP do etanoato da lamotrigina(1:1) CCDC 981033, mostrando o esquema da numeração dos átomos. ....  | 98  |
| <b>Figura 4.22</b> a) Diagrama de empacotamento cristalino do etanoato da lamotrigina (1:1) CCDC 981033, mostrando as cadeias de ligações de hidrogénio. b) Uma vista em pormenor da ligação de hidrogénio na formação dos dímeros de lamotrigina, e a associação às moléculas de etanol. ....   | 99  |
| <b>Figura 4.23.</b> Difractogramas de raios-X de pó. A vermelho - simulado para o etanoato de lamotrigina 1:1 CCDC 981033, a preto – etanoato de lamotrigina (1:2/3) [252]. ....   | 100 |
| <b>Figura 4.24</b> Difractogramas de raios-X de pó. 1.Simulado para o novo etanoato de lamotrigina 1:1; 2. Solvato obtido por moagem de lamotrigina assistida com etanol; 3. Lamotrigina comercial. ....   | 100 |
| <b>Figura 4.25</b> Difractogramas de raios-X de pó da teofilina. 1. Simulado para o polimorfo IV [260]; 2. Simulado para o polimorfo I [261]; 3. Simulado para o polimorfo II [262]; 4. Amostra comercial; 5. Amostra obtida por mecanoquímica, sem solvente, 15 Hz, 30min.....  | 102 |
| <b>Figura 4.26</b> Ilustração de pontos de associação possíveis entre a lamotrigina e a teofilina.....   | 102 |
| <b>Figura 4.27</b> Curvas de DSC de aquecimento de misturas seleccionadas de (lamotrigina+teofilina). 1. teofilina comercial; 2. $x_{\text{Lamo}} = 0,10$ ; 3. $x_{\text{Lamo}} = 0,20$ ; 4. $x_{\text{Lamo}} = 0,25$ ; 5. $x_{\text{Lamo}} = 0,50$ ; 6. $x_{\text{Lamo}} = 0,67$ ; 7. $x_{\text{Lamo}} = 0,90$ ; 8. lamotrigina. $\beta = 10$ °C/min..... | 103 |
| <b>Figura 4.28</b> Diagrama de fases binário sólido+liquido de (lamotrigina+teofilina), As linhas a tracejado resultam de simulação usando as equações 3.1 e 4.1. $\beta = 10$ °C/min.....   | 104 |
| <b>Figura 4.29</b> Difractogramas de raios-X de pó. 1. Lamotrigina; 2. Teofilina, polimorfo II; 3. (lamotrigina+teofilina) (1:1), mistura preparada por mecanoquímica.....   | 105 |
| <b>Figura 4.30</b> Curvas de DSC da mistura $x_{\text{Lamo}} = 0,5$ , sistema lamotrigina+teofilina. 1. Aquecimento até 250 °C; 2. Aquecimento de uma nova amostra até 205 °C; 3. Arrefecimento subsequente até temperatura ambiente. 4. Aquecimento até à fusão após 2+3. $\beta = 10$ °C/min.....  | 106 |
| <b>Figura 4.31</b> Difractogramas de raios-X de pó. 1. Lamotrigina; 2. Teofilina, polimorfo II; 3. Co-cristal lamotrigina+teofilina (1:1) obtido por tratamento térmico por DSC (ciclo 2+3, Figura 4.30) de uma mistura preparada por mecanoquímica.....   | 106 |
| <b>Figura 4.32</b> Espectros de Infravermelho. 1.Teofilina, polimorfo II; 2. Lamotrigina; 3. Co-cristal (lamotrigina + teofilina) 1:1.....   | 107 |

|  |     |
|--|-----|
| <b>Figura 4.33</b> Célula unitária mostrando o empacotamento na estrutura cristalina do co-cristal hidrato lamotrigina:teofilina:1:1:1.....  | 108 |
| <b>Figura 4.34</b> Diagrama ORTEP do co-cristal hidrato lamotrigina:teofilina ( $T = 293$ K). Os elipsóides são desenhados a um nível de probabilidade de 50 %. Os átomos de hidrogénio foram desenhados com esferas de raio arbitrário.....   | 108 |
| <b>Figura 4.35</b> Pormenor das interações entre a lamotrigina e a teofilina na estrutura cristalina co-cristal hidrato lamotrigina:teofilina:água (1:1:1), formando cadeias de heterodímeros, através da ligação de hidrogénio, $N(4)-H(4A)\cdots N(8)$ .....   | 109 |
| <b>Figura 4.36.</b> Difractogramas de raios-X de pó. 1. simulado para cafeína, polimorfo II [269]; 2. cafeína comercial; 3. simulado para cafeína, polimorfo I [270].....  | 111 |
| <b>Figura 4.37</b> Curvas de DSC de aquecimento de misturas binárias (lamotrigina+cafeína). 1) Cafeína comercial; 2) $x_{Lamo} = 0,33$ ; 3) $x_{Lamo} = 0,50$ ; 4) $x_{Lamo} = 0,67$ ; 5) $x_{Lamo} = 0,75$ ; 6) $x_{Lamo} = 0,80$ ; 7) lamotrigina. $\beta = 10$ °C/min. ....   | 111 |
| <b>Figura 4.38</b> Espectros de infravermelho; 1. lamotrigina, 2. Cafeína, polimorfo II; 3. mistura (lamotrigina+cafeína) $x_{Lamo} = 0,67$ , mecanoquímica sem solvente; 4) mistura de 3 após aquecimento em DSC, até 180 °C (ciclo 3+4, Figura 4.40).....  | 112 |
| <b>Figura 4.39.</b> Difractogramas de raios-X de pó; 1. lamotrigina, 2. Cafeína, polimorfo II; 3. mistura (lamotrigina+cafeína) $x_{Lamo} = 0,67$ , mecanoquímica sem solvente; 4) mistura de 3. após aquecimento em DSC, até 180 °C (ciclo 3+4, Figura 4.40).....   | 112 |
| <b>Figura 4.40</b> Curvas de DSC de aquecimento de misturas seleccionadas de lamotrigina+cafeína, 1. Cafeína, 2. $x_{Lamo} = 0,67$ , mecanoquímica 25 °C $\rightarrow$ 245 °C; 3. $x_{Lamo} = 0,67$ , mecanoquímica 25 °C $\rightarrow$ 180 °C ; 4. Arrefecimento 180 °C $\rightarrow$ 25 °C, após o ensaio 3; 5. Aquecimento 25 °C $\rightarrow$ 245 °C, após 3+4; 6. lamotrigina. $\beta = 10$ °C/min. ....  | 113 |
| <b>Figura 4.41</b> Curvas de DSC de aquecimento de misturas seleccionadas de (lamotrigina+cafeína). 1. cafeína comercial; 2. $x_{Lamo} = 0,10$ ; 3. $x_{Lamo} = 0,20$ ; 4. $x_{Lamo} = 0,33$ ; 5. $x_{Lamo} = 0,50$ ; 6. $x_{Lamo} = 0,67$ ; 7. $x_{Lamo} = 0,75$ ; 8. $x_{Lamo} = 0,80$ ; 9. $x_{Lamo} = 0,90$ ; 10.lamotrigina. $\beta = 2$ °C/min.....  | 114 |
| <b>Figura 4.42</b> Diagrama de fases binário sólido+líquido de (lamotrigina+cafeína). Símbolos a cheio $\beta = 2$ °C/min; símbolos abertos $\beta = 10$ °C/min. As linhas a tracejado resultam de simulação usando as equações 2.10 e 4.1.....  | 115 |
| <b>Figura 4.43</b> Ilustração de pontos de associação possíveis entre a lamotrigina e o diflunisal. ....   | 115 |
| <b>Figura 4.44</b> Curvas de DSC de aquecimento de misturas de (lamotrigina+diflunisal). 1. Diflunisal; 2. $x_{Lamo} = 0,17$ ; 3. $x_{Lamo} = 0,20$ ; 4. $x_{Lamo} = 0,25$ ; 5. $x_{Lamo} = 0,33$ ; 6. $x_{Lamo} = 0,50$ , mistura inicial, mecanoquímica sem solvente; 7. $x_{Lamo} = 0,50$ mistura inicial, Idia em estufa, 100 °C; 8. $x_{Lamo} = 0,67$ ; 9. $x_{Lamo} = 0,75$ ; 10. $x_{Lamo} = 0,83$ ; 11. lamotrigina. $\beta = 10$ °C/min. .... | 116 |
| <b>Figura 4.45</b> Diagrama de fases binário sólido+líquido de (lamotrigina+diflunisal). As linhas são guias para orientação visual. $\beta = 10$ °C/min. ....   | 117 |
| <b>Figura 4.46</b> Difractogramas de raios-X de pó. 1. lamotrigina, 2. diflunisal; 3. (lamotrigina+diflunisal) 1:1, mecanoquímica, sem solvente.....   | 117 |
| <b>Figura 4.47</b> Curvas de DSC da mistura $x_{Lamo} = 0,50$ , sistema (lamotrigina+diflunisal). 1. Aquecimento até 250 °C; 2. Aquecimento de uma nova amostra até 200 °C; 3. Arrefecimento subsequente até temperatura ambiente. 4. Aquecimento até à fusão após 2+3. $\beta = 10$ °C/min. ....  | 118 |

**Figura 4.48** Espectros de Infravermelho. 1. lamotrigina; 2. Diflunisal, polimorfo I; 3. Sal (lamotrigina+diflunisal) 1:1, aquecimento da mistura obtida por mecanoquímica, em estufa, 1 dia, 100 °C; 4) Sal (lamotrigina+diflunisal) 1:1 obtido por tratamento térmico por DSC (ciclo 2+3, Figura 4.47) da uma mistura preparada por mecanoquímica. .... I 18

**Figura 4.49** Difractogramas de raios-X de pó. 1. lamotrigina; 2. diflunisal, polimorfo I; 3. (lamotrigina+diflunisal) 1:1, mecanoquímica, sem solvente. 4. Sal lamotrigina+diflunisal (1:1) obtido por tratamento térmico por DSC (ciclo 2+3, Figura 4.47) de uma mistura preparada por mecanoquímica. .... I 19



## Índice de Tabelas

---

|   |    |
|---|----|
| <b>Tabela 1.1</b> Exemplos do impacto do polimorfismo em diferentes domínios de aplicação.....  | 3  |
| <b>Tabela 1.2</b> Exemplos de APIs comercializados sob a forma de amorfos, de hidratos e de sais.....   | 7  |
| <b>Tabela 1.3</b> Diversas definições encontradas na literatura para o termo co-cristal.....  | 9  |
| <b>Tabela 1.4</b> Exemplos da investigação da formação de co-cristais em diferentes domínios de aplicação.....  | 12 |
| <b>Tabela 1.5</b> Activos farmacêuticos, co-formadores utilizados neste estudo, e sintões supramoleculares prováveis.....   | 19 |
| <b>Tabela 2.1.</b> Parâmetros obtidos ajustando os valores de solubilidade de diflunisal e de nicotinamida em etanol, em função da temperatura, usando a equação 2.7.....   | 31 |
| <b>Tabela 2.2.</b> Temperaturas de transição $T_{E1}$ , $T_{E2}$ , e $T_{liq}$ , obtidas para as várias transições de fase observadas no aquecimento em DSC de misturas de (diflunisal+nicotinamida) com diferentes fracções molares de diflunisal, $x_{DIF}$ ..... | 34 |
| <b>Tabela 2.3.</b> Valores da entalpia experimental, $\Delta_{sol}H_m$ , para os processos (2.12) a (2.15), a $T = 25$ °C, ( $n$ indica o número de ensaios independentes.).....  | 42 |
| <b>Tabela 3.1</b> Parâmetros geométricos das ligações de hidrogénio, picolinamida, polimorfo II, $T = 293$ K.....   | 52 |
| <b>Tabela 3.2.</b> Parâmetros cristalográficos dos polimorfos I e II da picolinamida, $T = 293$ K.....  | 56 |
| <b>Tabela 3.3.</b> Parâmetros geométricos das ligações de hidrogénio, picolinamida, polimorfo I, $T = 293$ K.....   | 56 |

|  |     |
|--|-----|
| <b>Tabela 3.4</b> Parâmetros de ajuste à equação 2.7 dos dados experimentais obtidos na determinação das temperaturas de saturação, com o equipamento Crystal16, para diflunisal, isonicotinamida e picolinamida em etanol.....  | 63  |
| <b>Tabela 3.5</b> Temperaturas de transição $T_{E1}$ , $T_{E2}$ , $T_{E3}$ e $T_{liq}$ obtidas para as várias transições de fase observadas no aquecimento, em DSC, de misturas de (diflunisal+isonicotinamida) com diferentes fracções molares de diflunisal, $x_{DIF}$ .....               | 68  |
| <b>Tabela 3.6.</b> Temperaturas de transição $T_{E1}$ , $T_{E2}$ , $T_{E3}$ e $T_{liq}$ obtidas para as transições de fase observadas no aquecimento em DSC de misturas de diflunisal+picolinamida, $x_{DIF}$ . fracção molar de diflunisal,.....  | 70  |
| <b>Tabela 3.7</b> Parâmetros de ajuste à eq. 2.16, das temperaturas de saturação experimentais obtidas com o equipamento Crystal 16, para misturas de DIF+INA ou DIF+NA em etanol.....   | 78  |
| <b>Tabela 4.1</b> Geometria das ligações de hidrogénio no cristal de lamotrigina [245]. .....  | 82  |
| <b>Tabela 4.2</b> Temperaturas de transição $T_{E1}$ , $T_{E2}$ , e $T_{liq}$ obtidas para as várias transições de fase observadas no aquecimento em DSC de misturas de (lamotrigina+isonicotinamida) com diferentes fracções molares de lamotrigina, $x_{Lamo}$ , $\beta = 10$ °C/min. .... | 93  |
| <b>Tabela 4.3</b> Parâmetros geométricos das ligações de hidrogénio existentes na estrutura cristalina do etanoato da lamotrigina (1:1) CCDC 981033.....   | 99  |
| <b>Tabela 4.4</b> Temperaturas de transição $T_{E1}$ , $T_{E2}$ , e $T_{liq}$ obtidas para as várias transições de fase observadas no aquecimento em DSC de misturas de (lamotrigina+teofilina) com diferentes fracções molares de lamotrigina, $x_{Lamo}$ , $\beta = 10$ °C/min.....        | 104 |
| <b>Tabela 4.5</b> Parâmetros geométricos das ligações de hidrogénio existentes na estrutura cristalina do co-cristal hidrato lamotrigina:teofilina:água (1:1:1). .....   | 109 |
| <b>Tabela 4.6</b> Temperaturas de transição $T_{tr}$ , $T_{E1}$ , $T_{E2}$ , e $T_{liq}$ obtidas para as transições de fase observadas no aquecimento em DSC de misturas de lamotrigina+cafeína, $x_{Lamo}$ , fracção molar de lamotrigina. ....   | 114 |
| <b>Tabela 4.7</b> Temperaturas de transição $T_{E1}$ , $T_{E2}$ , e $T_{liq}$ obtidas para as várias transições de fase observadas no aquecimento em DSC de misturas de (lamotrigina+diflunisal) com diferentes fracções molares de lamotrigina, $x_{Lamo}$ , $\beta = 10$ °C/min.....       | 116 |

## Resumo

---

Nesta tese são investigadas novas formas sólidas de dois activos farmacêuticos com ampla aplicação em prática clínica, o diflunisal e a lamotrigina. O primeiro é um anti-inflamatório não-esteróide que tem recentemente sido alvo de interesse renovado pelo seu potencial na terapia oral da polineuropatia amiloidótica familiar. A lamotrigina tem actividade como anticonvulsivante e, também, no tratamento da doença bipolar. A biodisponibilidade oral destes dois activos é limitada pela sua baixa solubilidade aquosa, classe II do sistema de classificação biofarmacêutica. A importância clínica destes activos e o interesse em incrementar o seu desempenho biofarmacêutico fazem da pesquisa de novas formas sólidas um tema de elevado interesse e actualidade.

Nesta investigação foi dado particular relevo à pesquisa de co-cristais, não descurando a eventual identificação de polimorfos, solvatos ou sais. Numa perspectiva de engenharia de cristais foram escolhidos co-formadores com grupos funcionais complementares aos dos activos, nomeadamente as piridinacarboxamidas, picolinamida, nicotinamida e isonicotinamida, e as duas xantinas, cafeína e teofilina (estas últimas em associação com a lamotrigina).

Na pesquisa de co-cristais foi seguida uma abordagem termodinâmica, que incluiu o estudo de misturas binárias de diferente composição por calorimetria diferencial de varrimento e construção dos diagramas de fase binários sólido-líquido. Como método de preparação das misturas foi privilegiada a mecanoquímica, sendo a caracterização dos sólidos complementada por estudos de difracção de raios-X de pó, por espectroscopia de infravermelho, termomicroscopia e termogravimetria.

O estabelecimento dos diagramas de fase binários sólido-líquido permitiu identificar, inequivocamente, a formação de co-cristais entre o diflunisal e qualquer uma das três piridinacarboxamidas e a respectiva estequiometria: (1:1, diflunisal :co-formador) no caso do isómero *orto*, picolinamida, e (2:1) com os isómeros *meta*, nicotinamida, e *para*, isonicotinamida. Foram, também, identificadas misturas eutécticas que poderão ser igualmente úteis em desenvolvimento farmacêutico. Os diagramas ternários (diflunisal+piridinacarboxamida+etanol), estimados usando medidas de solubilidade, permitiram definir as condições de obtenção dos co-cristais puros por cristalização a partir deste solvente, o que poderá ser útil em processos de transposição de escala.

O estudo por espectroscopia de infravermelho aponta para arranjos cristalinos com semelhanças estruturais nos co-cristais com a mesma estequiometria, diflunisal:nicotinamida e diflunisal:isonicotinamida (pelo menos no que diz respeito a sintões supramoleculares), com diferenças acentuadas, relativamente ao co-cristal diflunisal:picolinamida. No entanto, é de destacar a identificação do heterossintão ácido-N-piridínico nos três sistemas.

Atendendo às potencialidades privilegiadas do sistema diflunisal:nicotinamida foi determinada a velocidade de dissolução intrínseca deste co-cristal resultando num incremento de 20 % relativamente ao diflunisal puro. Confirma-se a capacidade desta nova forma sólida de diflunisal para uma possível formulação mais eficiente deste activo.

O polimorfismo da picolinamida foi também investigado, dada a ausência de informação na literatura. Foram observadas duas formas sólidas enantiotrópicas, uma delas identificada pela primeira vez. A estrutura cristalina deste novo polimorfo foi resolvida, constatando-se a formação de dímeros centrossimétricos amida-amida, que se ligam dois a dois formando tetrâmeros, num arranjo que não é observado em nenhuma das estruturas de piridinacarboxamidas conhecidas.

O processo de mistura de lamotrigina com qualquer dos co-formadores, por mecanoquímica na ausência de solvente, resultou em misturas físicas. O estabelecimento dos diagramas de fase binários sólido-líquido revelou-se fundamental para identificar a formação de co-cristais e estabelecer procedimentos de síntese reprodutíveis. Esta ocorre no processo de aquecimento das amostras, como se verificou com a isonicotinamida (2:1, lamotrigina:co-formador), com a nicotinamida (1:1), com a cafeína (2:1) e com a teofilina (1:1). Com a picolinamida, possivelmente devido a impedimento do azoto no anel aromático, não ocorre formação de co-cristal nas condições experimentadas. A associação dos dois activos estudados nesta tese, diflunisal e lamotrigina, dá origem, também por aquecimento, a um sal na proporção 1:1. Este sal e os co-cristais com cafeína e teofilina são potencialmente úteis numa perspectiva de terapia dual.

Por fim, é de salientar a identificação e a resolução das estruturas cristalinas de duas outras formas sólidas da lamotrigina: um etanoato (1:1) e um co-cristal-hidrato lamotrigina:teofilina:H<sub>2</sub>O (1:1:1).

**Palavras-chave:** Lamotrigina, Diflunisal, Diagramas de fase, Co-cristais, Sintões supramoleculares, Piridinacarboxamidas, Cafeína, Teofilina.

# Abstract

---

In this thesis new solid forms of two active pharmaceutical ingredients, APIs, diflunisal and lamotrigine, both with extensive application in clinical practice, are investigated. Diflunisal is an anti-inflammatory non-steroid drug that has recently been the subject of renewed interest due to its potential use in the oral therapy of familial amyloid polyneuropathy. Lamotrigine is active as an anticonvulsant and also in the treatment of bipolar disorder. The oral bioavailabilities of these two APIs are limited by their low aqueous solubilities, class II of the Biopharmaceutical Classification System. Research of new solid forms of these APIs is, therefore, a topic of utmost relevance, taking into account their medical importance and the concern of incrementing their biopharmaceutical performance.

In this work, a special emphasis is put on the research of co-crystals, bearing also in mind the possible identification of polymorphs, solvates or salts. In a crystal engineering approach, co-formers were chosen that have functional groups that can give reliable supramolecular synthons with the APIs: pyridinecarboxamides, picolinamide, nicotinamide and isonicotinamide, and the two xanthines, caffeine and theophylline (the latter two in association with lamotrigine).

A thermodynamic based approach is employed, that includes the investigation of binary mixtures of different composition by differential scanning calorimetry and construction of the solid-liquid binary phase diagrams. Mechanochemistry is the method of choice for preparing the binary mixtures, and X-ray powder diffraction, infrared spectroscopy, thermogravimetric analysis and thermomicroscopy are used as complementary characterization methods.

Binary solid-liquid phase diagrams allowed identifying unequivocally the formation of co-crystals of diflunisal with each of the three pyridinecarboxamides and also their stoichiometry: (1:1, diflunisal:co-former) in the case of the *ortho* isomer, picolinamide, and (2:1) for the *meta*, nicotinamide, and for the *para*, isonicotinamide, isomers. Eutectic mixtures have also been identified, which may, as well, be useful in pharmaceutical formulation. Ternary diagrams (diflunisal+pyridinecarboxamide+ethanol), estimated using solubility measurements, allowed to set up conditions for obtaining pure co-crystals by crystallization from this solvent, which may be useful for scaling-up purposes.

Infrared spectroscopy data point out that the crystalline arrangements in the co-crystals with the same stoichiometry, diflunisal:nicotinamide and diflunisal:isonicotinamide, share significant structural similarities, at least in what concerns the supramolecular synthons, in opposition to what is observed for the diflunisal:picolinamide co-crystal. However, the acid – N-pyridine heterosynthon is identified in the three systems.

Due to its particular relevance, the intrinsic dissolution rate of the diflunisal: nicotinamide co-crystal was determined: an increase of 20 % is observed when compared to the pure API. This confirms the suitability of this new solid form of diflunisal to make part of a more efficient formulation of this API.

Polymorphism of picolinamide was also investigated, given the lack of information in literature. Two enantiotropically related solid forms were identified, one of them for the first time. In the crystal structure of this new polymorph, amide-amide centrosymmetric dimers exist which bind together in pairs, giving rise to tetramers, an arrangement that is not observed in any of the known pyridinecarboxamide structures.

Neat mechanochemical mixing of lamotrigine with any of the co-formers gives rise to physical mixtures. Binary solid-liquid phase diagrams were crucial to recognize co-crystal formation and their stoichiometries. Co-crystal synthesis occurs on the heating process, as observed for isonicotinamide (2:1, lamotrigine:co-former), nicotinamide (1:1), caffeine (2:1) and theophylline (1:1). With picolinamide, co-crystal formation does not take place, possibly due to hindrance of the nitrogen in the aromatic ring. Association of diflunisal and lamotrigine, the two APIs studied in this work, yields a 1:1 salt, again on the heating process. This salt and the co-crystals of lamotrigine with theophylline and caffeine are potentially useful in a dual drug therapy approach.

Finally, two other lamotrigine solid forms were identified and their crystal structures solved: a new lamotrigine ethanoate (1:1) and a co-crystal hydrate lamotrigine:theophylline:H<sub>2</sub>O (1:1:1).

**Keywords:** Lamotrigine, Diflunisal, Phase diagrams, Co-crystals, Supramolecular synthons, pyridinecarboxamides, Caffeine, Theophylline.

## **Abreviaturas**

---

|      |  |
|------|--|
| AINE | Anti-Inflamatório Não-Esteróide                          |
| ANDA | Do inglês <i>Abbreviated New Drug Application</i>        |
| API  | Do inglês <i>Active Pharmaceutical Ingredient</i>        |
| AVC  | Acidente Vascular Cerebral                               |
| BCS  | Do inglês <i>Biopharmaceutical Classification System</i> |
| Caf  | Cafeína  |
| CC   | Co-Cristal   |
| CCDC | Do inglês <i>Cambridge Crystallographic Data Centre</i>  |
| Cof  | Co-formador  |
| CSD  | Do inglês <i>Cambridge Structural Database</i>           |
| DIF  | Diflunisal   |
| DMSO | Dimetilsulfóxido   |
| DSC  | Do inglês <i>Differential Scanning Calorimetry</i>       |

|           |  |
|-----------|--|
| EAFUS     | Do inglês <i>Everything Added to Food in United States</i> |
| EMA       | Do inglês <i>European Medicines Agency</i>                 |
| endo      | Endotérmico  |
| FDA       | Do inglês <i>Food and Drug Administration</i>              |
| FTIR      | Do inglês <i>Fourier Transform Infra Red</i>               |
| GRAS      | Do inglês <i>Generally Recognized As Safe</i>              |
| INA       | Isonicotinamida  |
| LAG       | Do inglês <i>Liquid Assisted Grinding</i>                  |
| Lamo      | Lamotrigina  |
| NA        | Nicotinamida   |
| NG        | Do inglês <i>neat grinding</i>                             |
| ORTEP     | Do inglês <i>Oak Ridge Thermal Ellipsoid Plot Program</i>  |
| PA        | Picolinamida   |
| PLTM      | Do inglês <i>Polarized Light ThermoMicroscopy</i>          |
| rpm       | Rotações por minuto  |
| SIDA      | Síndrome de Imunodeficiência Adquirida                     |
| Soln.     | Solução  |
| $T_{E_i}$ | Temperatura de fusão de uma mistura eutética i             |
| Teof      | Teofilina  |
| $T_{liq}$ | Temperatura do <i>liquidus</i>                             |
| $T_{ref}$ | Temperatura de referência                                  |
| Tris      | Tri(hidroximetil)aminometano                               |
| $T_s$     | Temperatura de saturação                                   |
| VIH       | Vírus da Imunodeficiência Humana                           |
| XRPD      | Do inglês <i>X-ray Powder Diffraction</i>                  |

# 1 Introdução

---

## 1.1 Química do estado sólido de compostos orgânicos: forma e função

Em 1832 Friedrich Wöhler e Justus von Liebig, dois químicos de excelência, registaram pela primeira vez a observação de dimorfismo num composto molecular, a benzamida. Uma das formas sólidas, de morfologia acicular, foi obtida por cristalização a partir duma solução aquosa a temperatura elevada, observando-se transformação noutra estrutura cristalina, de hábito romboédrico, no espaço de algumas horas [1-3].

Contudo, em 1937, Martin Julian Buerger, um cristalógrafo brilhante, dizia: “*With the accumulation of data there is developing a gradual realization of the generality of polymorphic behavior but, to many chemists, polymorphism is still a strange and unusual phenomenon*“ [4, 5]. De facto, o interesse crescente que as comunidades académica e industrial têm vindo a colocar na investigação de formas sólidas de compostos orgânicos, só emergiu como consequência directa da tomada de consciência da importância da forma sólida duma entidade molecular para a função que se pretende que desempenhe. Dois acontecimentos, ambos envolvendo activos farmacêuticos, podem ser considerados

como marcos fundamentais para a mudança de paradigma. O primeiro diz respeito ao reconhecimento do efeito do polimorfismo do palmitato de cloranfenicol na biodisponibilidade oral deste activo farmacêutico, identificado em 1967 por Aguiar e colaboradores[6-8].

No entanto, só em 1998, após os graves problemas surgidos com o aparecimento de um novo polimorfo, até então desconhecido, do “ritonavir”, um medicamento usado no tratamento da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (VIH/SIDA) [9, 10], é que a Agência Norte Americana que regula os sectores dos alimentos e medicamentos (FDA, *Food Drug and Administration*), e as outras agências reguladoras internacionais passaram a exigir a pesquisa, elucidação e o controlo do polimorfismo durante a etapa de desenvolvimento farmacêutico. Sabendo-se que, a eficácia, a selectividade e o metabolismo são propriedades fundamentais na investigação de novos activos farmacêuticos, o estudo das propriedades físicas e químicas das formas sólidas deve também ser tido em conta de modo a otimizar e garantir, *in vivo*, o melhor desempenho, e, também, a reprodutibilidade necessária do processo de fabrico.

Deste modo, a investigação de formas sólidas de uma determinada molécula e a sua caracterização estrutural, são, actualmente, parte crucial em investigação e desenvolvimento na indústria farmacêutica [11-14] e também em todos os outros domínios em que a função do material pode depender da forma sólida. Merecem destaque as indústrias de pigmentos [15-21], explosivos [22], agro-alimentar [23-25], apesar do maior impacto se registar de facto na indústria farmacêutica. Na Tabela I.1, são coligidos alguns exemplos da relevância do estudo do polimorfismo em diversas áreas de aplicação.

Questões de protecção de propriedade intelectual e gestão do ciclo de vida dos produtos contribuem, também, para o grande impulso que a investigação e caracterização do universo de formas sólidas de uma molécula tem vindo a registar desde o final do século passado, especialmente, no que diz respeito a activos farmacêuticos [26].

Assim, é actualmente um dado adquirido que um grande número de compostos orgânicos pode apresentar-se sob diferentes estruturas em fase sólida, cristalinas ou amorfas [1, 5, 27].

Uma vez que formas sólidas distintas podem ter características físico-químicas diferentes, a pesquisa, identificação, caracterização de formas sólidas que permitam a

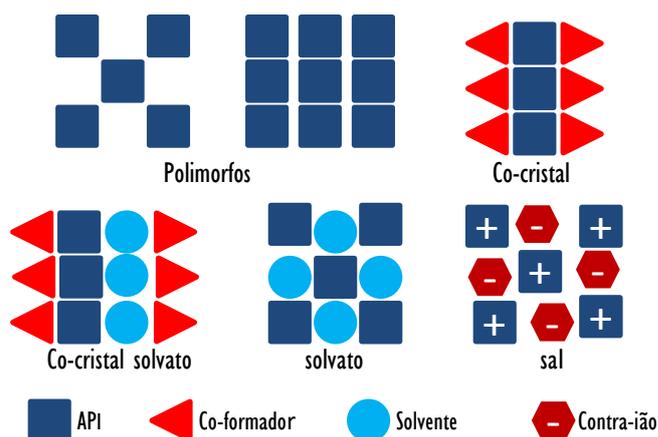
otimização das propriedades desejadas, é objecto de estudos de pré-formulação farmacêutica. A pesquisa de formas sólidas de uma molécula de interesse abrange polimorfos e também sólidos multicomponente como solvatos, sais e mais recentemente co-cristais. A Figura I.1 sintetiza as diversas formas sólidas descritas.

**Tabela I.1** Exemplos do impacto do polimorfismo em diferentes domínios de aplicação.

|                               |   |
|-------------------------------|---|
| Indústria                     |   |
| Farmacêutica                  |   |
| Ex: Carmabazepina             | Entre os activos que apresentam polimorfismo, a carbamazepina é um dos mais problemáticos, e tem um histórico de desempenho irregular e falhas clínicas [28]. Foi demonstrado que a velocidade de dissolução dos comprimidos da carbamazepina pode apresentar elevada variabilidade, mesmo entre os comprimidos da mesma marca [29]. Possui mais de 50 formas sólidas identificadas, entre os quais quatro polimorfos, formas I, II, III e IV [30]. É um dos activos de maior importância no tratamento da epilepsia. |
| Pigmentos                     |   |
| Ex: Quinacridona              | A quinacridona é o pigmento mais importante para os tons vermelho-violeta. A produção anual totaliza vários milhares de toneladas, com um volume de vendas superior a 100.000.000€ por ano. São conhecidos quatro polimorfos, formas $\alpha^1$ , $\alpha^2$ , $\beta$ , e $\gamma$ . A fase $\beta$ é avermelhada- violeta enquanto a fase $\gamma$ é vermelha. Ambas as fases são utilizadas para a coloração de lacas e tintas, plásticos e tintas de impressão [16].  |
| Alimentar                     |   |
| Ex: Manteiga de cacao         | Possui seis polimorfos, formas I a VI que fundem a temperaturas diferentes. A forma preferida na produção do chocolate é a forma V porque funde na boca, dado que a temperatura do corpo humano é superior à sua temperatura de solidificação 33,8 °C [25].   |
| Explosivos                    |   |
| Ex: Triperóxido de triacetona | O triperóxido de triacetona (TATP) é facilmente sintetizado pelo que atraiu a atenção de terroristas, tendo sido utilizado nos atentados ao metro de Londres de 2005. É de realçar o grande esforço feito no sentido de compreender as suas propriedades, devido à necessidade de identificação, controlo, manuseamento e armazenamento. Até à data foram descritas seis formas polimórficas [22, 31].  |

Na definição proposta por McCrone [8], a mais frequentemente citada na literatura, polimorfismo é a capacidade de uma mesma substância adoptar mais do que uma forma cristalina [5]. Numa interpretação mais abrangente, o termo polimorfismo

engloba também mesofases (cristais conformacionalmente desordenados, cristais plásticos, cristais líquidos) e o estado amorfo [32, 33]. Polimorfos, apresentam as mesmas propriedades nas fases líquida e gasosa, mas comportam-se de forma diferente no estado sólido [8, 34]. A FDA, na sua recomendação para a indústria, *ANDAs: Pharmaceutical Solid Polymorphism*, de 2007 [35], engloba também na definição de polimorfo, os solvatos do API (*Active Pharmaceutical Ingredient*): estruturas cristalinas multicomponentes, com moléculas de solvente incorporadas na rede cristalina da substância farmacologicamente activa, em quantidades que poderão ser ou não estequiométricas. Os solvatos são por vezes designados por pseudopolimorfos, uma vez que não são estritamente formas sólidas diferentes da mesma substância. É de salientar que aproximadamente um terço dos compostos orgânicos e cerca de 80 % dos activos farmacêuticos comercializados exibem polimorfismo [36-38].



**Figura I.1** Possíveis formas sólidas de um activo farmacêutico, (adaptado de Schultheiss N., Newman A.) [39].

Os polimorfos, possuem diferentes arranjos moleculares tridimensionais e interações intermoleculares, tais como interacções de van der Waals e ligações de hidrogénio. Como consequência, poderão apresentar diferentes propriedades físico-químicas, como por exemplo: solubilidade, estabilidade química, higroscopicidade, capacidade calorífica, ponto de fusão, temperatura de sublimação, densidade, dureza, morfologia, velocidade de dissolução.

O efeito do polimorfismo na solubilidade, e na velocidade de dissolução, afecta directamente a biodisponibilidade oral de activos farmacêuticos [32, 40], como se observou no caso do palmitato de cloranfenicol facto que, como já foi referido, esteve na

origem do despertar do interesse pela investigação de formas sólidas de APIs. As fases polimórficas diferem também na energia de Gibbs molar, o que é o mesmo que dizer, que a sua estabilidade termodinâmica, em condições específicas de pressão e de temperatura, não é a mesma, excepto nas condições de equilíbrio, caso existam. Neste caso, dois polimorfos constituirão um sistema enantiotrópico, e cada um será, a uma dada pressão, a forma termodinamicamente estável, numa gama de temperaturas específica. Num sistema monotrópico, um dos polimorfos é sempre termodinamicamente metastável relativamente ao outro. Aspectos cinéticos associados à obtenção de formas sólidas a partir do fundido, de solução e também às transições sólido/sólido, permitem, em muitos casos, a observação deste tipo de fases, que inclusivamente poderão ter estabilidade cinética apreciável.

Na indústria farmacêutica podem surgir diferentes fases sólidas durante os vários passos do ciclo de vida do medicamento [32]. Por exemplo, em etapas de cristalização poder-se-ão obter diferentes fases cristalinas, amorfos ou ainda solvatos. Estados amorfos podem surgir, também, por exemplo, durante a liofilização, secagem por dispersão, granulação, trituração ou mistura. O estado amorfo, termodinamicamente metastável, é responsável pela grande reactividade de alguns sistemas, o que pode originar problemas com a actividade e a estabilidade dos mesmos. Naturalmente que a garantia de estabilidade da forma sólida, aquando do armazenamento do produto acabado, se reveste de grande importância. As formas cristalinas são as preferidas para muitas aplicações, relativamente a amorfos, incluindo na preparação de soluções, também pela relativa facilidade de isolamento, rejeição de impurezas no processo de cristalização e estabilidade físico-química. No entanto, em anos recentes, o desenvolvimento de formulações em que uma forma amorfa do API é utilizada, tem sido alvo de interesse por parte da comunidade científica, em grande parte impulsionado pelo aumento da biodisponibilidade oral que proporcionam quando a solubilidade aquosa é reduzida [41].

No portefólio de formas sólidas clássicas, de um activo farmacêutico para além dos polimorfos, constituídos por um único componente, são também de interesse, como já se referiu, sólidos multicomponente como solvatos e sais. Mais recentemente, regista-se um grande entusiasmo no estudo de co-cristais, também sólidos multicomponente, mas obtidos por interacção entre duas ou mais substâncias, as quais são sólidas à

temperatura ambiente. Os solvatos/hidratos, sais e co-cristais, podem, também, apresentar polimorfismo.

No que diz respeito aos solvatos, estes normalmente não são apropriados para o desenvolvimento farmacêutico, com excepção dos hidratos e ocasionalmente etanoatos, devido à toxicidade de muitos solventes.

Os hidratos constituem formas sólidas de grande importância na indústria farmacêutica. Uma parte significativa dos activos existe como hidratos, aproximadamente 30 % dos compostos incluídos na Farmacopeia Europeia [42]. Como já foi referido, os hidratos são complexos moleculares, em que a molécula de água está ligada ao activo, normalmente numa relação estequiométrica fazendo parte da célula unitária [43-45]. Durante os processos de síntese e purificação do activo, a presença de água pode decorrer da cristalização, ou ser incorporada durante as etapas de fabrico do medicamento. As fases sólidas solvatadas do activo podem ter propriedades completamente novas [38, 44, 46]. As propriedades susceptíveis de experimentarem alterações com a presença de água nas estruturas do activo no estado sólido incluem, entre outras, a velocidade de degradação química, a cristalização, a dissolução, a capacidade de dispersão, a compactabilidade, e a dureza. No entanto, durante os processos de secagem, moagem, mistura e compressão pode ocorrer também, a dessolvatação. Convém ter em linha de conta que as substâncias activas e os medicamentos são sujeitos a diferentes temperaturas e humidades relativas, devido às condições climáticas, características de cada país, o que pode originar hidratação inesperada, ou fenómenos de envelhecimento por desidratação. A evolução em comprimidos da teofilina anidra para mono-hidrato [47, 48], que possui uma velocidade de dissolução mais baixa do que a observada para as duas formas anidras [49], é um dos exemplos encontrados na literatura.

O aumento da velocidade de dissolução de activos com características de ácidos fracos ou bases fracas, e o controlo da respectiva solubilidade aquosa, são as principais razões para a preparação de sais daqueles APIs [50-52]. De facto, cerca de metade dos activos são conhecidos sob a forma de sais [50, 53, 54], uma das principais estratégias para o aumento da sua solubilidade aquosa [55]. A formação de sais é também o método de eleição para o incremento da solubilidade aquosa em formulações líquidas de um API para administração parentérica [56, 57]. A maioria dos sais diz respeito a activos básicos, porque são em maior número que os ácidos e também porque a lista dos aniões

apropriados, quer em termos de valores de  $pK_a$  quer em termos de segurança farmacológica, é mais extensa que a dos aniões. No que diz respeito à formação de sais de activos ácidos verifica-se que muitas bases, sobretudo azotadas, exercem também funções biológicas e a maioria dos aniões inorgânicos, apesar de poderem exercer funções biológicas essenciais, são muitas vezes tóxicos em concentrações relativamente baixas, sendo que neste último caso, a dose pode restringir o âmbito da administração do medicamento [1]. Existe um número relativamente reduzido de contra-íões que poderão ser usados na formação de sais de APIs [50]. Além disso, não se pode assumir que todos os sais irão proporcionar um aumento da solubilidade de um activo, e por vezes certos sais podem mostrar solubilidade mais baixa do que a correspondente base livre. Por isso, é realizado frequentemente *screening* de sais, para identificação do contra-íão mais desejável. Na Tabela 1.2, encontram-se alguns exemplos de APIs desenvolvidos e comercializados numa das formas sólidas que temos vindo a descrever.

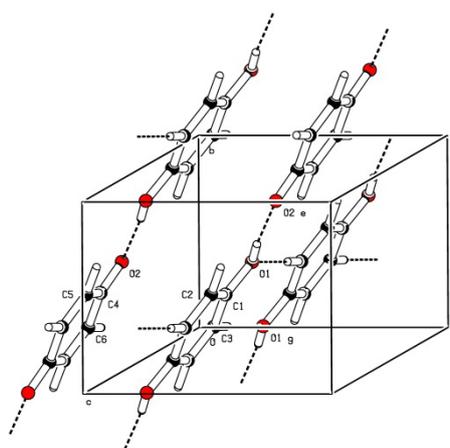
**Tabela 1.2** Exemplos de APIs comercializados sob a forma de amorfos, de hidratos e de sais.

|  |   |
|--|---|
| Amorfos ou parcialmente amorfos  |   |
| Ex: Lopinavir  | É um antiretroviral, desenvolvido pelos laboratórios Abbot, utilizado em co-formulação com o ritanovir, no tratamento da infecção do HIV/SIDA. Lopinavir existe sob a forma de amorfo e ainda em quatro formas cristalinas. O produto comercializado é uma mistura da forma amorfa e da forma cristalina I [1]. |
| Itraconazol  | Desenvolvida pela Janssen Pharmaceutical, é um activo antifúngico, comercializado sob o nome de SPORANOX. A sua formulação sólida consiste numa dispersão de itraconazol amorfo [41].   |
| Rosuvastatina cálcica  | Desenvolvida pela Astra- Zeneca, utilizada para reduzir o nível de colesterol no sangue, comercializada com a designação Crestor, é um sólido amorfo ligeiramente solúvel em água [58].   |
| Sais   |   |
| Cloridrato de terazosina   | Comercializado pelos laboratórios Abbot com o nome de Hytrin para o tratamento de hiperplasia benigna da próstata [59].   |
| Hidratos   |   |
| Cefalexina mono-hidrato, azitromicina di-hidrato e ampicilina tri-hidrato [60-62]. | Comercializados sob a forma de comprimidos, a sua desolvatação tem sido reportada tanto na fase de fabrico como durante o armazenamento [63].   |

Recentemente, o desenvolvimento e a utilização de co-cristais, como alternativa às formas sólidas clássicas dos APIs, tem recebido grande atenção por parte da comunidade científica.

### 1.1.1 Co-cristais

Co-cristais são conhecidos há mais de 160 anos: o primeiro relato da preparação de um co-cristal remonta a 1844, ano em que a quinidrona, um complexo formado entre a quinona e a hidroquinona, foi sintetizada por Wöhler [64]. A estrutura cristalina da quinidrona foi resolvida em 1965 e apresenta-se na Figura 1.2 [65].



**Figura 1.2-** Estrutura cristalina da quinidrona, realçando a disposição das moléculas na célula unitária [65].

Ao longo dos anos, várias denominações foram sendo utilizadas para designar este mesmo tipo de entidades químicas, como por exemplo, compostos de adição [66], complexos moleculares e compostos moleculares orgânicos [67].

O termo co-cristal, actualmente utilizado, tem suscitado um debate aceso no que toca à sua definição e até à sua grafia [37, 68-74]. A Tabela 1.3 resume o entendimento que diferentes autores foram assumindo sobre o conceito de co-cristal. Por exemplo para Aakeröy, co-cristais seriam novas substâncias cristalinas sintetizadas a partir de dois ou mais reagentes distintos, sólidos à temperatura ambiente [71, 75]. Já Stahly, discorda desta definição por achar de pouco valor científico a criação de designações com base no estado físico de um dos componentes [37]. Para este autor, co-cristais, são estruturas cristalinas que possuem propriedades únicas, formadas por dois ou mais componentes (o que, obviamente, não os distinguiria de solvatos).

**Tabela I.3** Diversas definições encontradas na literatura para o termo co-cristal.

| Definição de Co-cristal   | Autor                        | Ano  | Ref. |
|---|------------------------------|------|------|
| “Multi-component crystals, which have specific non-covalent interactions between the distinct molecules and the molecular complex”  | Desiraju D.R.                | 2003 | [68] |
| “compounds constructed from discrete neutral molecular species”<br>... “made from reactants that are solids at ambient conditions” ...<br>“structurally homogeneous crystalline material that contains two or more neutral building blocks that are present in definite stoichiometric amounts” | Aakerøy C. B. <i>et al.</i>  | 2005 | [71] |
| “a crystalline complex of two or more neutral molecular constituents bound together in the crystal lattice through noncovalent interactions, often including hydrogen bonding”  | Jones W. <i>et al.</i>       | 2006 | [73] |
| “are formed between a molecular or ionic API and a co-crystal former that is a solid under ambient conditions”  | Vishweshwar P. <i>et al.</i> | 2006 | [76] |
| “a molecular complex that contains two or more different molecules in the same crystal lattice“   | Stahly G. P.                 | 2007 | [37] |
| “crystalline material made up of two or more components, usually in a stoichiometric ratio, each component being an atom, ionic compound, or molecule”  | Childs S. L. <i>et al.</i>   | 2007 | [77] |
| “synonym for multi-component molecular crystal”   | Bond A. D.                   | 2007 | [70] |
| “multi-component solid-state assemblies of two or more compounds held together by any type or combination of intermolecular interactions”   | Bhogala B. R. <i>et al.</i>  | 2008 | [78] |
| “Broadly, a co-crystal is a multicomponent molecular crystal; that is, a crystalline substance comprising two or more chemically different molecules. Such a definition includes solvates, hydrates, and both stoichiometric and non-stoichiometric lattice inclusion compounds.”               | Jonathan W. Steed            | 2013 | [79] |

Quando se fala de co-cristais farmacêuticos, assume-se que um dos componentes é um API.

Recentemente, em 2013, a FDA publicou um documento *Regulatory Classification of Pharmaceutical Co-Crystals* [80], onde é proposto que “co-cristais são cristais mistos contendo dois ou mais componentes, que individualmente são sólidos à temperatura ambiente e que não interagem para formar sais”. Para a FDA os co-cristais não são classificados como novos APIs, mas como uma forma sólida diferente da mesma molécula, dado que as suas ligações covalentes não são alteradas [75, 80]. Apesar de

alguma controvérsia levantada por este documento [72, 81], no âmbito deste trabalho será adoptado o conceito de co-cristal proposto pela FDA.

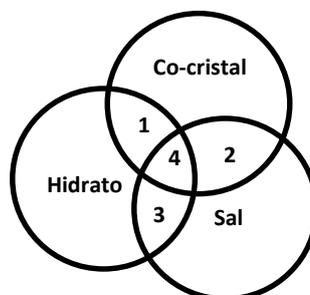
A distinção relativamente a solvatos/hidratos é clara; a diferenciação entre um co-cristal e um sal não é tão óbvia. O elemento chave na formação dos co-cristais é, em geral, o estabelecimento de ligações de hidrogénio fortes entre o composto de interesse e o co-formador, que normalmente são complementadas por ligações de hidrogénio fracas, interacções  $\pi$ - $\pi$  e forças de van der Waals. Uma combinação de forças fracas pode, ocasionalmente, ser suficiente para dar origem à formação do co-cristal [82, 83]. Alguma controvérsia pode resultar, no entanto, na distinção entre um co-cristal e um sal, uma vez que esta dependerá da extensão de transferência do protão entre os dois centros dador(D) e aceitador(A), (formação de sal, eq.1.1; formação de co-cristal, eq.1.2):



Na recomendação da FDA [80] é sugerido que a formação de co-cristais é esperada se  $\Delta pK_a = pK_a(\text{base}) - pK_a(\text{ácido}) < 1$ , e a formação de sais para  $\Delta pK_a > 1$ . A Agência Europeia do Medicamento, EMA [81], mantém os limites que habitualmente se encontram na literatura [50, 84] : para  $0 < \Delta pK_a < 3$ , seria inconclusiva a possibilidade da formação de sal ou de co-cristal [85]. A FDA recomenda a utilização de métodos espectroscópicos (FTIR, difracção de raios-X e de neutrões) como forma de aferir do grau de transferência de protão.

A formação de sais tem uma limitação importante visto que o API, como já foi referido, deve possuir pelo menos um grupo adequado ionizável (ácido ou base). A investigação de co-cristais farmacêuticos é vantajosa relativamente ao estudo de sais porque qualquer API, independentemente de possuir grupos ionizáveis, pode ser potencialmente co-cristalizado [86]. O número de potenciais co-formadores é elevado, para além de que os sistemas não terão que ser binários. A investigação de co-cristais vem complementar os métodos existentes, reintroduzindo no processo de investigação e desenvolvimento moléculas que possuem perfis farmacêuticos limitados [75], mesmo que não possuam grupos funcionais ionizáveis e potenciando, mesmo quando estes grupos existem, novas vias de optimização do desempenho do activo.

Encontra-se na literatura exemplos de co-cristais envolvendo compostos iónicos (sal-co-cristal) [54] e hidratos de co-cristais [87]. Na Figura 1.3, apresenta-se um esquema que mostra a possível sobreposição no domínio das formas multicomponente, co-cristal, hidrato e sal.



**Figura 1.3** Sobreposição possível do domínio de formas sólidas multicomponentes; 1) co-cristal- hidrato; 2) co-cristal-sal; 3) sal-hidrato; 4)co-cristal-sal-hidrato, (adaptado de [88]).

Constata-se que até 1960 eram em número reduzido os registos de estruturas de co-cristais depositados na base de dados de estruturas cristalinas CSD, (*Crystal Structural Database*), sendo que em 2006 o número era de 1350 [76]. A realidade tem vindo a alterar-se: nesta última década, é notório um crescente interesse por este tipo de formas sólidas, comprovado pelo número de depósitos de estruturas de co-cristais na CSD [89]. Este interesse deve-se às potenciais aplicações dos co-cristais, que como novos sólidos de uma substância de interesse poderão ser utilizados para a optimização do seu desempenho, ou ampliar o seu ciclo de vida [90]. Para além da indústria farmacêutica, a investigação de co-cristais é de elevado interesse em todos os domínios onde a forma sólida e função estão estreitamente relacionadas. A Tabela 1.4 mostra alguns exemplos.

No que diz respeito a co-cristais farmacêuticos, estes representam um novo paradigma no sentido de resolver problemas que persistem nos activos pertencentes à classe II do Sistema de Classificação Biofarmacêutica (BCS, *Biopharmaceutical Classification System*), caracterizados por possuírem baixa solubilidade aquosa, apesar da elevada permeabilidade membranar, o que afecta a sua biodisponibilidade oral [91]. Os co-cristais farmacêuticos são, ainda, investigados no sentido de conferir cristalinidade aos materiais, na redução da higroscopicidade, no controlo do polimorfismo de fármacos [76, 92-94], e ainda, no aumento da estabilidade dos activos no estado sólido [93].

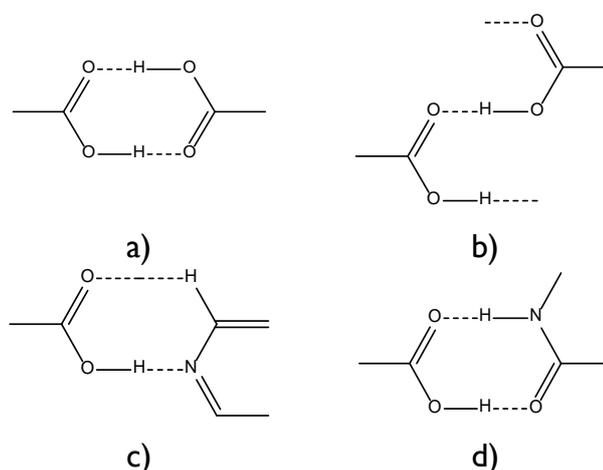
**Tabela 1.4** Exemplos da investigação da formação de co-cristais em diferentes domínios de aplicação.

| Domínio de aplicação                                       |   |
|--|---|
| Industria farmacêutica                                     | Possibilidade de controlo da estrutura e composição por conhecimento científico e previsão das interações não-covalentes; Múltiplas opções na escolha de co-formadores, originando um incremento na variabilidade estrutural de co-cristais a sintetizar com as propriedades desejadas; Redução no tempo gasto nas etapas de investigação e desenvolvimento, especialmente na etapa de avaliação de toxicidade [95, 96]; Como podem ser produzidos por mecanoquímica em fase sólida, não necessitam de solventes para a sua síntese, tornando o processo de obtenção mais “verde” [97, 98]. Para além dos exemplos já citados, existe um grande número de activos farmacêuticos alvo de estudos no âmbito de investigação e desenvolvimento de co-cristais farmacêuticos, como por exemplo com o antidepressivo cloridrato de fluoxetina mais conhecido por Prozac [99], o anti-epilético carbamazepina, o antifúngico itraconazol, entre outros [1]. |
| Sector industrial de materiais energéticos para explosivos | A co-cristalização desencadeou um grande progresso na indústria de materiais energéticos, nomeadamente no fabrico de explosivos [100-102]. Foi demonstrado que a formação de co-cristais de alguns materiais explosivos, pode originar materiais com maior potência explosiva e uma menor sensibilidade ou equivalente à dos explosivos mais potentes, logo mais seguros. Teriam também uma velocidade de detonação superior à dos explosivos mais potentes para fins militares. É o caso do co-cristal 2:1 CL-20:HXM, entre 2,4,6,8,10,12-hexanitro-2,4,6,8,10,12hexaazaisowurtziano (CL-20) e 1,3,5,7-tetranitro-1,3,5,7-tetrazaciclooctano (HXM) e o co-cristal 1:1DADP/TCTNB sintetizado entre diacetona diperoxido (DADP) e do 1,3,5-tricloro-2,4,6-trinitrobenzeno (TCTNB) [103, 104].  |
| Indústria agro-alimentar                                   | Foi patenteado um co-cristal 1:1 entre o pirimetanilo e ditiíno-tetracarboximida, que demonstrou ser útil numa formulação agrícola, para o controlo de pragas devido a sua acção como pesticida e fungicida [105]   |

Em 2013, a farmacêutica espanhola ESTEVE, num estudo dirigido ao desenvolvimento de novas terapias no combate a dor aguda e moderada, anunciou ter obtido bons resultados em fase II de estudos clínicos, com um co-cristal formado entre um placebo e tramadol [106]. Os estudos demonstraram que o novo co-cristal possui eficácia e segurança farmacológica superiores às dos activos utilizados na co-cristalização.

Quando falamos em co-cristais farmacêuticos, os co-formadores deverão ser escolhidos, preferencialmente, entre substâncias geralmente reconhecidas como seguras, *Generally Recognized As Safe* (GRAS) [107], ou, na família de substâncias conhecidas como *Everything Added to Food* (EAFUS) [108]. O formador de co-cristal pode também ser farmacologicamente activo [109], o que originará um co-cristal potencialmente utilizável em terapia dual [109].

Na investigação de co-cristais, a selecção do co-formador é frequentemente baseada na análise de potenciais sintões supramoleculares que resultam de reconhecimento molecular entre as espécies envolvidas, conhecida como engenharia de cristais [110]. No caso de homossintões o reconhecimento molecular envolve interacção entre funcionalidades idênticas; heterossintões descrevem interacções entre grupos funcionais diferentes. A abordagem do sintão supramolecular, sugere que determinados grupos funcionais, presentes no API e no formador, desempenham um papel importante na formação do co-cristal, de modo que numa experiência de co-cristalização bem-sucedida, devem ser usados formadores com grupos funcionais complementares dos do API. Alguns exemplos típicos de sintões supramoleculares, úteis na síntese de co-cristais, estão representados na Figura 1.4.: os homossintões ácido-ácido, amida-amida, os heterossintões ácido-N-piridina e o ácido-amida.



**Figura 1.4** Exemplos de sintões supramoleculares. a) Homossintão ácido-ácido, dímero cíclico e b) homossintão ácido-ácido, cadeia, c) sintão ácido-N-piridina, d) sintão ácido-amida.

A identificação de sintões supramoleculares robustos, e o estabelecimento de uma hierarquia de sintões supramoleculares tem sido tentada por análise de um conjunto elevado de estruturas cristalinas moleculares, por exemplo na *Cambridge Structural Database* (CSD) [111]. A importância da CSD na engenharia de cristais, é realçada na

literatura recente [112-114]. Contudo, esta abordagem da análise dos sintões supramoleculares apresenta algumas desvantagens, na medida em que a formação do sintão pode ser bem-sucedida, mas a supra unidade pode não dar origem a uma estrutura cristalina ordenada. Além disso, a abordagem não considera factores como a competição entre os diferentes grupos funcionais presentes no API ou no formador, nem efeitos estéreos em torno do dador e do aceitador [115]. É, no entanto, um excelente ponto de partida.

Em 1999, *Allen et al.* [83], recorrendo à CSD determinaram a probabilidade global de formação, ( $P_m$ ), de 75 sintões bimoleculares em cristais, utilizando a equação (1.3), onde,  $N_{obs}$ , representa o número total de ocorrências de um dado sintão na CSD e  $N_{poss}$ , o número de situações em que um tal sintão será possível, nos casos observados.

$$P_m = N_{obs}/N_{poss} \quad (1.3)$$

Neste estudo, classificaram todas as unidades de reconhecimento molecular de estruturas orgânicas, contendo um número superior ou igual a vinte átomos existente na CSD, formados por ligações de hidrogénio  $N_{amina}-H\cdots N_{aromático}$ ,  $N_{amina}-H\cdots O$ ,  $O-H\cdots N_{aromático}$  e  $O-H\cdots O$ . Concluíram que os sintões onde há a formação de ligações de hidrogénio: ( $N_{amina}-H\cdots O$ ,  $N_{aromático}\cdots H-N_{aromático}$ ,  $N_{amina}-H\cdots O$ ); ( $N_{aromático}\cdots H\cdots N_{aromático}$ ,  $N_{amina}-H\cdots O$ ) e ( $N_{aromático}\cdots H-O$ ,  $N_{amina}-H\cdots O$ ), são os mais prováveis, com uma probabilidade de formação de 97, 91 e 76 %, respectivamente [83, 116].

Os ácidos carboxílicos representam um dos grupos funcionais mais estudados no contexto da engenharia de cristais, e estão presentes nos activos mais vendidos mundialmente. Representam um excelente ponto de partida para a engenharia de co-cristais farmacêuticos, porque, as suas ligações de hidrogénio complementares, dador e aceitador, formam o homossintão ácido-ácido, que é, à partida, muito favorável [117, 118]. No entanto, a probabilidade de formar o homossintão ácido-ácido encontrada no estudo [83] foi de apenas 33 %. A causa desta baixa probabilidade relativa é atribuída à competição da ligação de hidrogénio com outros aceptadores tais como, por exemplo,  $COO^-$ , piridina, amina, amida,  $C=O$ ,  $S=O$ ,  $P=O$ .

Um estudo realizado por Steiner, [119], em 2001, através da CSD, e confirmado por cálculos computacionais, em dadores carboxílicos na ligação de hidrogénio, indica que a interacção ácido-piridina, através da ligação de hidrogénio,  $O-H\cdots N_{aromático}$ , ou seja

o heterossintão ácido-piridina é mais favorável do que as interações ácido-amida. N. Shan [96] em Janeiro de 2008 estudou 1950 estruturas cristalográficas de co-cristais depositados na CSD, nas quais foram identificados interações por ligação de hidrogénio. Destas, 570 entradas resultaram para a conjugação dos termos COOH e N<sub>aromático</sub>: 433 (76 %) destas estruturas apresentam o heterossintão supramolecular COOH...N<sub>aromático</sub> e 30 (5 %) o homossintão supramolecular COOH...COOH. Ambos os estudos mostram que o heterossintão COOH...N<sub>aromático</sub> é dominante. Estes autores e outros, propuseram a seguinte hierarquia de formação do sintão supramolecular, por ordem decrescente de probabilidade [120-122]:

Heterossintão ácido-N<sub>aromático</sub> > Homossintão ácido-ácido > Heterossintão ácido-amida > Homossintão amida-amida.

A validade da informação recolhida a partir das estruturas depositadas em CSD, permite implementar um programa racional para a concepção de co-cristais, seleccionando os melhores formadores e as melhores funcionalidades. Os heterossintões supramoleculares não estão limitados, naturalmente, aos que envolvem o grupo ácido carboxílico: interações N<sub>amina</sub>-H...N<sub>aromático</sub> e a formação dos sintões álcool-piridina e álcool-amida são, como já referido, outros exemplos de heterossintões possíveis [123, 124].

Têm sido tentadas outras metodologias para previsão da formação de co-cristais [125-133], contudo a informação recolhida a partir das estruturas depositadas na CSD revela-se de grande utilidade, e permite implementar um programa racional para a concepção de co-cristais.

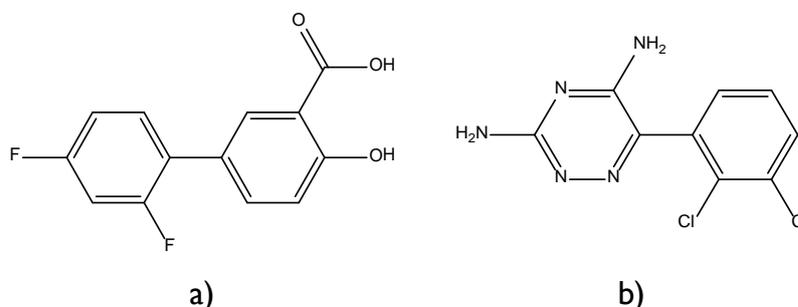
Após a selecção de possíveis co-formadores, várias abordagens podem ser seguidas na obtenção de co-cristais. A cristalização em solução [89, 134-137], a mecanoquímica [138-141], e a cristalização do fundido [142, 143], são algumas das técnicas mais utilizadas. A mecanoquímica, método pelo qual um processo é induzido por energia mecânica, na ausência, *neat grindinig*, NG, ou na presença de pequenas quantidades de solvente, *liquid assisted grinding*, LAG [141, 143-146], resultando num processo “verde” ambientalmente vantajoso, tem-se revelado muito eficiente para o *screening* de co-cristais [140, 147, 148]. Quando o processo é levado a cabo na ausência de solvente a formação da nova estrutura cristalina poderá resultar de diversos

mecanismos, por exemplo difusão molecular, (normalmente se um ou ambos os reagentes têm pressão de vapor apreciável em fase sólida); por indução de uma fase líquida (por exemplo um eutéctico metaestável) ou de uma fase amorfa [149]. A mecanoquímica assistida por solvente resulta com frequência num incremento na velocidade de formação de co-cristal, e também em maior rendimento e cristalinidade dos produtos. Não é ainda claro o papel do solvente no processo de co-cristalização. A quantidade de solvente adicionada poderá ter uma função puramente física, actuando como catalizador de reacção, facilitando a difusão molecular, ou poderá ter um papel mais activo, actuando como “*template*” na formação de rede cristalina [149]. Como desvantagem da mecanoquímica na síntese de co-cristais, é de referir que a dimensão dos cristais obtidos é de um modo geral demasiado reduzida para que seja possível a sua utilização na resolução da estrutura cristalina por métodos de difracção de raios-X de monocristal.

A cristalização em solução é o método de eleição para obtenção de cristais com dimensões adequadas à resolução da estrutura cristalina, e também para transposição de escala. A sobressaturação é a força motriz da cristalização e esta é frequentemente conseguida por evaporação do solvente, arrefecimento da solução ou adição de anti-solvente à solução contendo os dois componentes. O processo de co-cristalização visa obter cristais multicomponentes a partir da solução do API e do co-formador em solvente adequado. No entanto, uma grande desvantagem deste método é que um dos componentes do co-cristal pode não ter solubilidade adequada no solvente seleccionado para a co-cristalização, os componentes individuais podem cristalizar separadamente e obter-se misturas de co-cristais e dos componentes de partida. Assim, nem sempre é gerado o co-cristal a partir de solução de composição que obedece à estequiometria do sólido multicomponente pretendido. O conhecimento do diagrama de fases ternário do sistema formado pelos constituintes do co-cristal e pelo solvente é da maior importância na optimização do processo de co-cristalização em solução [150].

## 1.2 Objectivo

O trabalho apresentado nesta dissertação tem como objectivo a investigação de novas formas sólidas de dois activos farmacêuticos de grande importância em prática clínica, o diflunisal, Figura 1.5a, e a lamotrigina, Figura 1.5b.



**Figura 1.5** a) diflunisal; b) lamotrigina.

O diflunisal é um anti-inflamatório não-esteróide, AINE, sobre o qual se verificou recentemente um recrudescimento de interesse dado o potencial da sua utilização, também, em terapia oral da polineuropatia amiloidótica familiar [151, 152]. A lamotrigina, com actividade anti-convulsivante e também usada no tratamento da desordem bipolar, tem sido considerada, recentemente, um activo de eleição, relativamente a prescrição tradicional, devido a uma maior tolerabilidade apresentada pelos pacientes [153].

Tanto o diflunisal, Figura 1.5 a), como a lamotrigina, Figura 1.5 b) estão incluídos na classe II do sistema de classificação biofarmacêutica, o que resulta da sua biodisponibilidade oral ser limitada por baixa solubilidade aquosa, (0,16 mg/mL para o diflunisal [154, 155], e 0,17 mg/mL, para a lamotrigina [156] a 25°C). A expansão do conjunto de formas sólidas destes activos é, portanto, desejável numa perspectiva de potencial incremento do seu desempenho biofarmacêutico.

Neste trabalho é dado particular relevo à pesquisa de co-cristais, não descurando a eventual identificação de polimorfos, solvatos ou sais. Foi privilegiada uma abordagem termodinâmica, com estudo de misturas binárias de diferente composição, o que permite também a identificação adicional de outras composições de interesse em formulação farmacêutica, por exemplo misturas eutéticas [157].

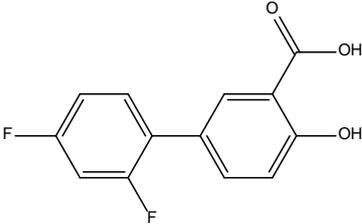
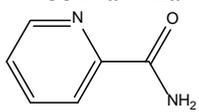
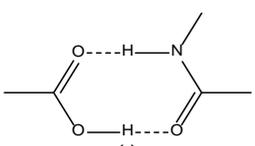
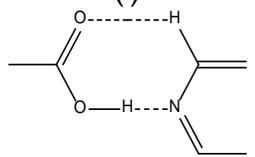
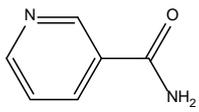
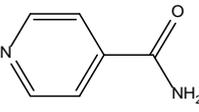
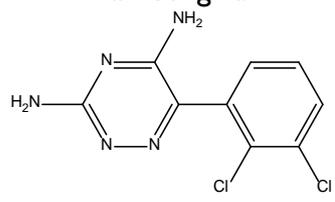
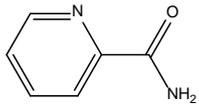
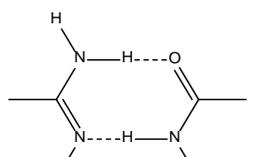
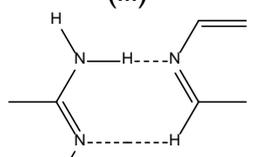
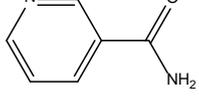
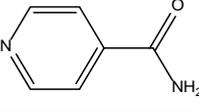
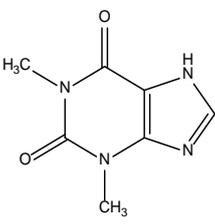
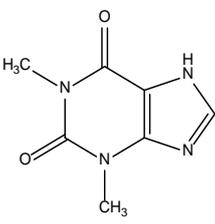
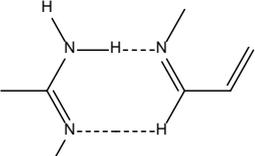
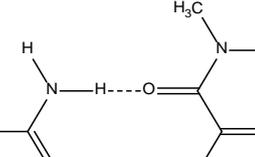
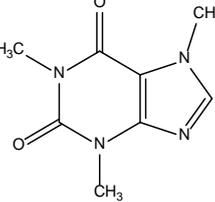
Como já foi referido, a formação de co-cristais resulta de processos de reconhecimento molecular, com formação de sintões supramoleculares. A escolha dos activos objecto de estudo, resultou da conjugação do seu interesse clínico, como

mencionado acima, com o facto de ambos possuírem um núcleo base derivado do bifenilo, mas apresentarem grupos funcionais muito distintos, o que antecipa a formação de sintões supramoleculares diferentes. Esta escolha permite, numa abordagem mais fundamental, contribuir para uma melhor compreensão da química supramolecular de grupos funcionais. No caso do diflunisal o grupo funcional principal é o ácido carboxílico, comum a muitos outros AINE. Obviamente que o hidroxilo fenólico poderá também participar na formação de ligação de hidrogénio em estruturas supramoleculares, não sendo de descurar a eventual contribuição dos átomos de flúor. A lamotrigina, por seu turno, possui um anel de triazina, e dois grupos amina nas posições 3 e 5. Este composto tem semelhanças óbvias a nível de estrutura molecular com uma família de inibidores da di-hidrofolato reductase, que contêm um grupo 2,4-diaminopirimidina, por exemplo a pirimetamina, o trimetroprim, o iclaprim.

Apesar da estrutura supramolecular final dum co-cristal não poder ser antecipada, é possível, a partir dos grupos funcionais dos APIs, muitas vezes os mesmos que lhes conferem actividade biológica, fazer um planeamento racional da pesquisa de co-cristais. Este processo de engenharia de cristais passa pela escolha de co-formadores que possuam as necessárias funcionalidades complementares. Na Tabela I.5 são indicadas as substâncias seleccionadas neste estudo como co-formadores, e também, os sintões supramoleculares mais prováveis para cada caso.

As três piridinacarboxamidas isoméricas, picolinamida, isonicotinamida e nicotinamida, foram investigadas quer em associação com o diflunisal quer com a lamotrigina. Este grupo de isómeros poderá dar indicação sobre a eventual consequência da maior/menor acessibilidade do azoto aromático na formação dos sintões (ii) e (iv). As duas xantinas, cafeína e teofilina, obviamente com estrutura molecular muito distinta da das piridinacarboxamidas e com potencialidade, portanto, para formação de outros sintões, completam o conjunto de formadores estudados com a lamotrigina. Foi ainda investigada a eventual associação entre os dois activos, diflunisal e lamotrigina.

**Tabela 1.5** Activos farmacêuticos, co-formadores utilizados neste estudo, e sintões supramoleculares prováveis.

| Activos   | Co-formadores   | Sintões supramoleculares prováveis  |
|---|---|---|
| <p style="text-align: center;"><b>Diflunisal</b></p>     | <p style="text-align: center;"><b>Picolinamida</b></p>       |  <p style="text-align: center;"><b>(i)</b></p>  <p style="text-align: center;"><b>(ii)</b></p>      |
|   | <p style="text-align: center;"><b>Nicotinamida</b></p>       |   |
|   | <p style="text-align: center;"><b>Isonicotinamida</b></p>    |   |
| <p style="text-align: center;"><b>Lamotrigina</b></p>  | <p style="text-align: center;"><b>Picolinamida</b></p>      |  <p style="text-align: center;"><b>(iii)</b></p>  <p style="text-align: center;"><b>(iv)</b></p> |
|   | <p style="text-align: center;"><b>Nicotinamida</b></p>     |   |
|   | <p style="text-align: center;"><b>Isonicotinamida</b></p>  |   |
| <p style="text-align: center;"><b>Teofilina</b></p>    | <p style="text-align: center;"><b>Teofilina</b></p>        |  <p style="text-align: center;"><b>(v)</b></p>  <p style="text-align: center;"><b>(vi)</b></p>  |
|   | <p style="text-align: center;"><b>Cafeína</b></p>          |   |



## **2 Investigação de novas formas sólidas de (diflunisal + nicotinamida): uma abordagem termodinâmica**

---

O diflunisal ou ácido 5-(2,4 difluorofenil)2-hidroxi-benzóico, Figura 1.5 a, como já referido anteriormente, é um anti-inflamatório não esteróide, derivado do ácido salicílico. Este activo foi desenvolvido pela Merck Sharp & Dohme [155, 158], tendo sido introduzido no mercado com o nome de marca Dolobid, como analgésico e anti-inflamatório não esteróide, indicado para o tratamento da artrite reumatóide, osteoartroses, e no tratamento da dor ligeira ou moderada [159]. O diflunisal mostrou vantagens tanto em termos de eficácia como de segurança num conjunto de mais de 500 salicilatos, desenvolvendo actividade superior ao ácido acetilsalicílico como agente analgésico e antipirético, em termos de duração de acção e efeito terapêutico [160].

Estudos recentes confirmam que a administração por via oral do diflunisal estabiliza as quatro unidades do homotetrâmero da transtirretina, impedindo a sua dissociação, o que parece ser a primeira etapa no combate à Polineuropatia Amiloidótica Familiar [151, 152], também conhecida por doença dos pezinhos, uma doença neurodegenerativa, que não obstante a sua baixa prevalência, tem particular incidência

em Portugal, no Japão e na Suécia [161-164] Foram obtidos resultados encorajadores, em experiências com animais, e também em testes em humanos [165-168], utilizando o diflunisal no tratamento desta doença [168]. A baixa solubilidade aquosa do diflunisal, aliada ao seu potencial em aplicações clínicas, torna muito relevante a investigação de novas formas sólidas deste API.

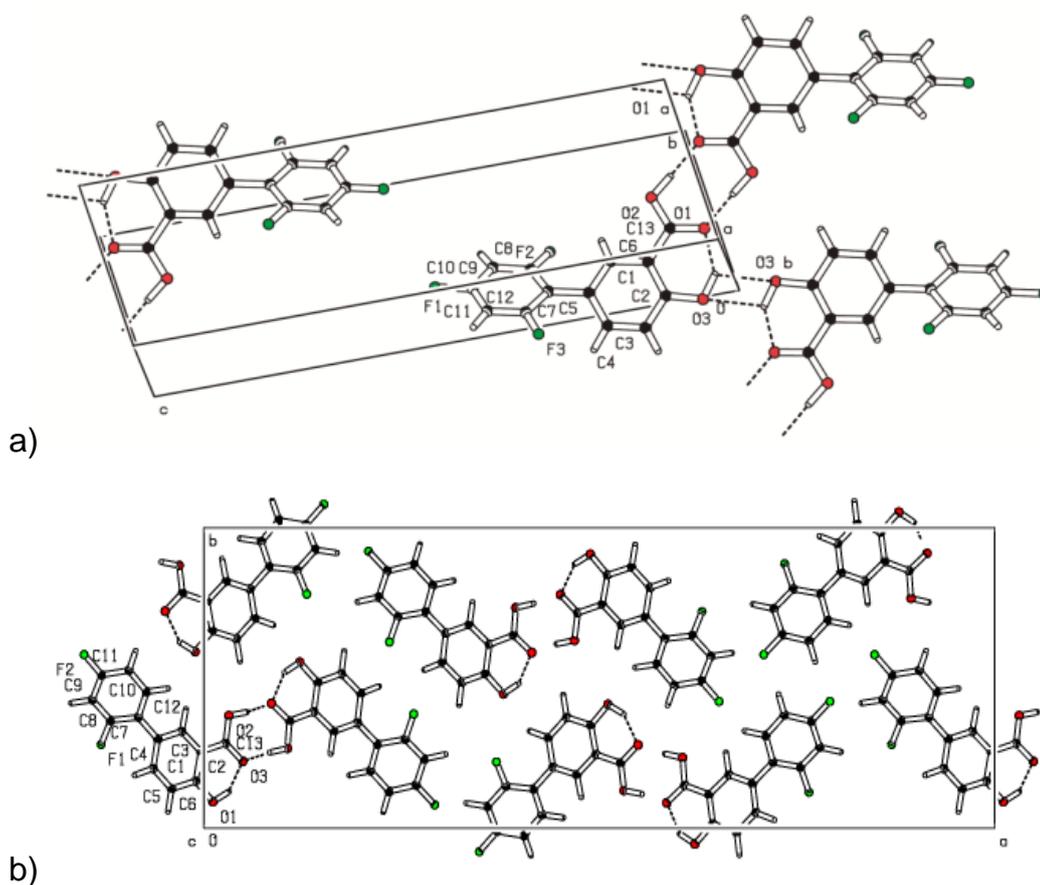
## **2.1 Caracterização das formas sólidas de diflunisal utilizadas neste trabalho**

A molécula do diflunisal possui flexibilidade conformacional e capacidade para estabelecer ligações de hidrogénio inter e intramoleculares, o que potencia a existência de formas polimórficas [169-171]. Nos vários estudos referidos na literatura, com a finalidade de identificar e caracterizar as suas diferentes fases cristalinas e amorfas [155, 169, 170, 172, 173], é reportada a existência de polimorfos, solvatos e hidratos. Observa-se, no entanto, uma certa indisciplina na designação atribuída às diversas formas deste composto. Os primeiros estudos revelaram a existência de três polimorfos, designados por formas I, II e III [155]. Davey *et al.* [170] resolveram em 2003 as estruturas cristalinas das formas I e III, Figura 2.1. Uma outra estrutura cristalina, a forma V, foi resolvida por Kim e colaboradores [174].

As estruturas cristalinas dos solvatos de diflunisal, obtidos por cristalização em água e em *n*-hexano, foram publicados por Perlovich *et al.* [169], e a estrutura do solvato de diflunisal em ácido acético glacial, foi resolvida por Davey [170]. Recentemente foi descoberto e descrito um novo hidrato do diflunisal, obtido por recristalização durante o arrefecimento duma micro-emulsão de água em óleo [173].

Observa-se, nas formas polimórficas e nos diferentes solvatos cuja estrutura foi resolvida por difracção de raios-X, a presença de unidades diméricas definidas pelo homossintão ácido-ácido, dímeros de ácido carboxílico, registando-se na maioria, com única exceção do polimorfo III, desordem entre duas posições do átomo de flúor em posição orto, com uma ocupação de 50 % [170]. Em todas elas existe, também, uma ligação de hidrogénio intramolecular entre o grupo hidroxilo e o grupo carbonilo. No polimorfo I está presente uma ligação de hidrogénio intermolecular, relativamente fraca,

entre os grupos hidroxilo, e no solvato de ácido acético existe uma ligação intermolecular O–H···F envolvendo o grupo carboxílico e o átomo de flúor em posição para [170].



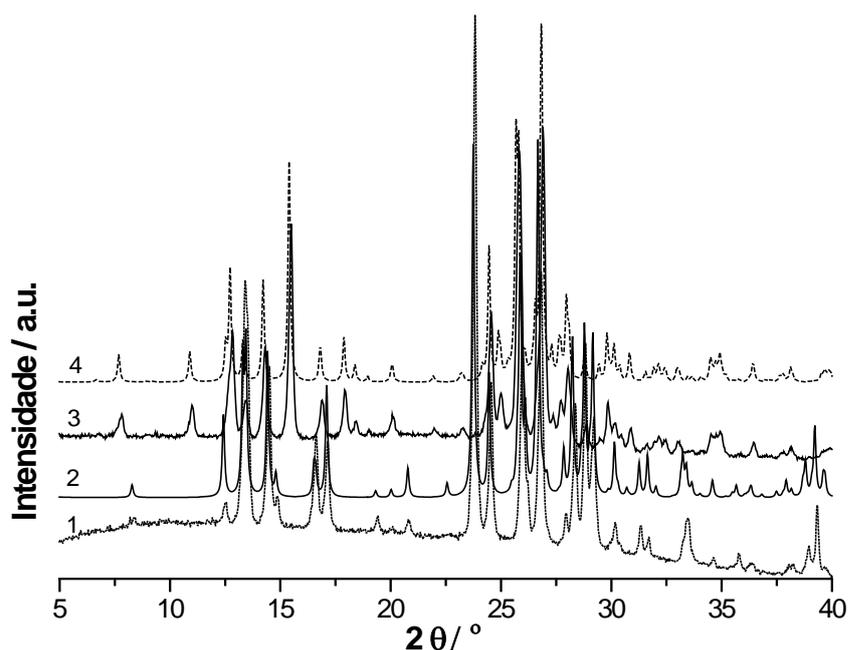
**Figura 2.1** Empacotamento cristalino dos polimorfos I (a) e III (b) do Diflunisal [170].

Neste trabalho utilizou-se uma amostra comercial de diflunisal adquirida à Sigma-Aldrich, com pureza superior a 99 % (anexo A1.1). A comparação do difractograma de raios-X de pó desta amostra com os diferentes difractogramas obtidos por simulação a partir de dados de raios-X de monocristal encontrados na literatura, [169, 170, 174], identifica o composto de partida como sendo diflunisal polimorfo I, Figura 2.2 (as condições de aquisição são descritas no anexo A1.9).

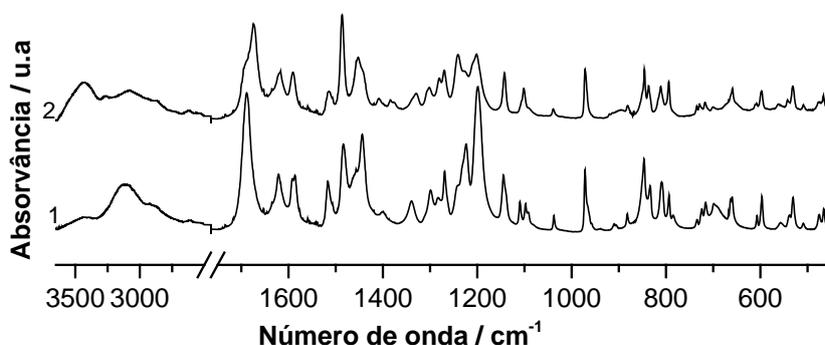
Uma vez que a preparação de misturas binárias foi realizada por mecanoquímica, foram também caracterizadas, por difracção de raios-X de pó, amostras do diflunisal sujeitas ao mesmo tratamento. As experiências de mecanoquímica foram conduzidas com uma frequência de vibração de 15 Hz e um tempo de moagem de 30 min, sem

qualquer solvente ou assistidas por 10 µl de etanol (ver anexo A1.3). Constatou-se que, quando a moagem é efectuada na ausência de solvente, o diflunisal permanece na forma I. Na presença de etanol a forma I transforma-se na forma III. A Figura 2.2 mostra os difractogramas de raios-X de pó do composto de partida e da amostra sujeita a mecanoquímica na presença de etanol, bem como os difractogramas simulados para as formas I e III.

Os espectros de infravermelho das formas I e III do diflunisal estão reunidos na Figura 2.3, e foram adquiridos nas condições descritas no anexo A1.8.



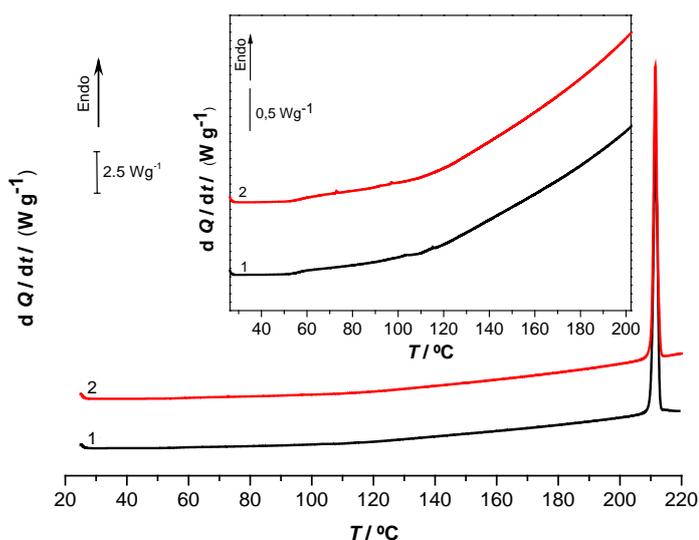
**Figura 2.2** Difractograma de raios-X de pó de diflunisal; 1) amostra comercial; 2) simulado para a forma I [170]; 3) amostra obtida por mecanoquímica assistida por etanol; 4) simulado para a forma III [170].



**Figura 2.3** Espectro de infravermelho de diflunisal; 1) forma I; 2) forma III.

As bandas de absorção observadas no espectro de infravermelho da forma I, sensíveis a interações intermoleculares são as seguintes: vibrações de alongação do grupo carbonilo, C=O, ( $1688\text{ cm}^{-1}$ ); alongação C=C do anel fenilo, ( $1621\text{ cm}^{-1}$ ); vibrações de alongação C-F ( $1223\text{ cm}^{-1}$ ); alongação C-OH no fenol ( $1199\text{ cm}^{-1}$ ) e naturalmente a alongação OH do grupo carboxílico, banda larga com máximo aos  $3128\text{ cm}^{-1}$ . Na forma III, por exemplo, o máximo desta última banda desloca-se para  $3266\text{ cm}^{-1}$  e banda de alongação do grupo carbonilo C=O experimenta um desvio de  $1688\text{ cm}^{-1}$  na forma I para  $1673\text{ cm}^{-1}$ . A banda a  $1100\text{ cm}^{-1}$ , presente na forma I, é menos intensa na forma III.

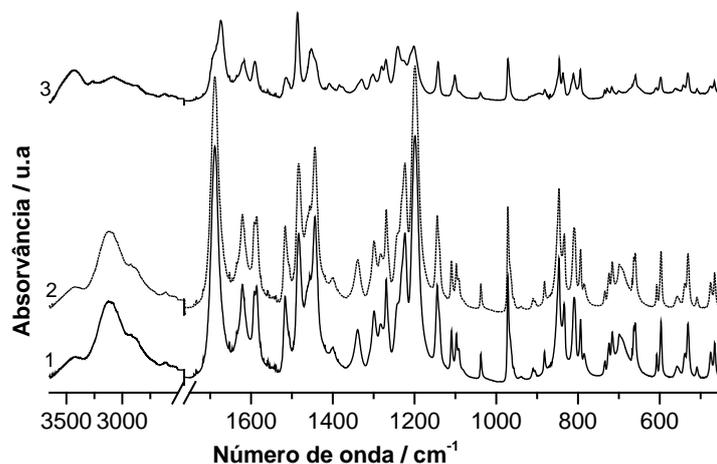
O comportamento térmico dos polimorfos I e III do diflunisal foi estudado por calorimetria diferencial de varrimento, DSC (anexo A1.4). As amostras foram aquecidas entre os  $25^\circ\text{C}$  e os  $220^\circ\text{C}$ , com uma velocidade de varrimento  $\beta = 10^\circ\text{C}/\text{min}$ . Em ambos os casos a fusão ocorre a  $T_{\text{fus}} = (212,8 \pm 0,3)^\circ\text{C}$  com uma entalpia de fusão  $\Delta_{\text{fus}}H = (36,5 \pm 1,0)\text{ kJ}/\text{mol}$ , Figura 2.4.



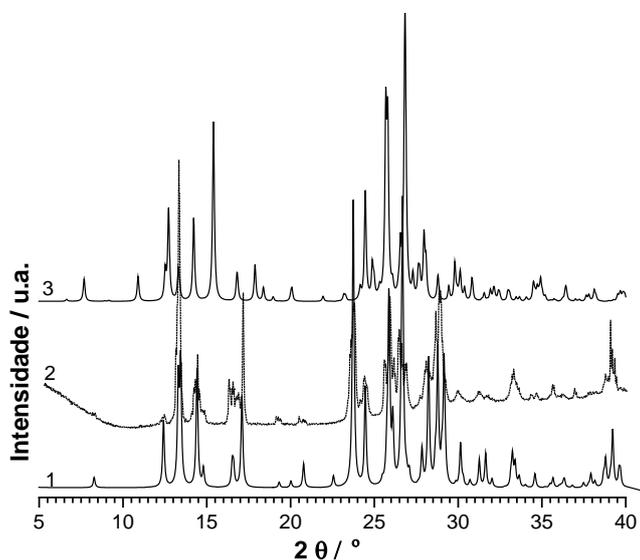
**Figura 2.4** Curvas DSC de aquecimento de diflunisal; 1) forma I; 2) forma III.  $\beta = 10^\circ\text{C}/\text{min}$ .

Nestas curvas não é visível qualquer transição de fase durante o processo de aquecimento. No sentido de clarificar esta questão, uma amostra do polimorfo III foi aquecida até  $195^\circ\text{C}$ , e depois arrefecida até à temperatura ambiente. A comparação do espectro de infravermelho e do difractograma de raios-X de pó da amostra sujeita a este ciclo com o esperado para os polimorfos I e III do diflunisal, Figura 2.5 e Figura 2.6, respectivamente, permite concluir que durante o aquecimento, a forma III transita para a forma I. Portanto, nos termogramas é registada a fusão do polimorfo I.

O facto de a transformação não ser visível por calorimetria diferencial de varrimento nas condições de estudo resulta, certamente, da energia total envolvida ser baixa, (10 – 24 J/g segundo Martinez-Ohárriz *et al.*) [172], a que eventualmente está associada uma cinética lenta.



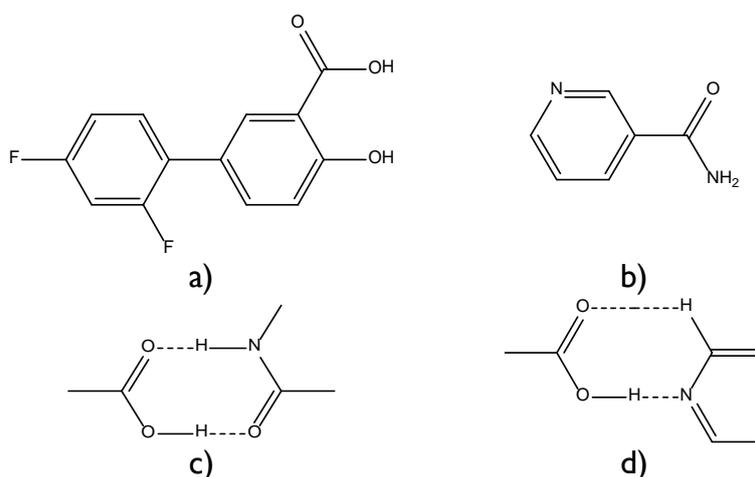
**Figura 2.5** Espectro de infravermelho de diflunisal; 1) forma I; 2) forma III aquecida até 195°C, seguida de arrefecimento até à temperatura ambiente,  $|\beta| = 10$  °C/min.; 3) forma III.



**Figura 2.6** Difractogramas de raios-X de pó de diflunisal. 1) Simulado para o polimorfo I [170]; 2) Amostra obtida por aquecimento do polimorfo III até 195 °C, e posterior arrefecimento até à temperatura ambiente,  $|\beta| = 10$  °C/min.; 3) Simulado para o polimorfo III [170].

## 2.2 Investigação de novas formas sólidas (diflunisal + nicotinamida): uma abordagem termodinâmica

Na investigação de novas formas sólidas de diflunisal, usando as três piridinacarboxamidas isoméricas, foi dado relevo ao sistema diflunisal+nicotinamida. A nicotinamida, Figura 2.7 b, é designada vitamina B3, e como tal é um bom candidato para a investigação de misturas binárias com o diflunisal, tendo em conta que pertence ao grupo de substâncias geralmente reconhecidas como seguras, GRAS [107], e também, pelas vantagens terapêuticas que poderão resultar da sua co-formulação com um anti-inflamatório não-esteróide. Numa perspectiva de síntese de co-cristais, esta associação com o diflunisal pode dar origem a dois importantes heterossintões: ácido-amida e ácido- $N_{\text{aromático}}$  [175], como mostra a Figura 2.7 c) e d).



**Figura 2.7.** a) Fórmula de estrutura do diflunisal; b) molécula da nicotinamida; c) sintão ácido-amida e d) sintão ácido- $N$ -piridina.

Tendo em conta os valores de  $pK_a$  de ambos os compostos (nicotinamida  $pK_a = 3,35$  [176] e diflunisal  $pK_a = 3,3$  [177]) a formação de sal não é esperada [80, 178].

A nicotinamida utilizada neste estudo é a forma I [179], como se pode verificar na Figura 2.8, onde se compara o difractograma de raios-X de pó da nicotinamida inicial com o difractograma simulado para o polimorfo I. Para o sólido utilizado foram obtidos, por DSC, os seguintes parâmetros para a fusão ( $n = 6$ ):  $T_{\text{fus,I}} = (128,0 \pm 0,5) ^\circ\text{C}$  e  $\Delta_{\text{fus,I}}H = (25,5 \pm 0,4) \text{ kJ/mol}$ , em excelente concordância com os valores descritos na literatura [180].

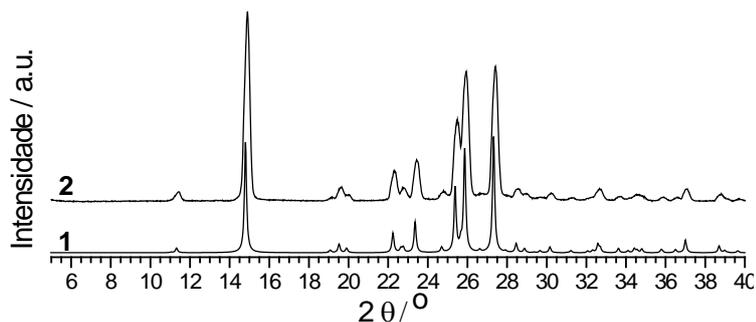


Figura 2.8. Difractograma de raios-X de pó de nicotinamida. 1. Simulado para a forma I [179], 2. Experimental, amostra comercial.

Não foi observada qualquer transição de fase, quando o composto é submetido a mecanoquímica nas condições utilizadas neste trabalho.

A forma sólida I, cuja estrutura foi resolvida por Miwa *et al.* em 1999 [179], mostra ligações de hidrogénio amida- $N_{\text{aromático}}$ , não existindo o homodímero centrossimétrico amida-amida, Figura 2.9 a. Hino *et al.* [180] identificaram três outros polimorfos de nicotinamida, obtidos por cristalização do fundido em ensaios de DSC e, mais recentemente, Bourne e Cairn [181] resolveram a estrutura de uma forma sólida, nic2, obtida acidentalmente, e apenas, em ensaios de co-cristalização com um tuberculostático em acetato de etilo. De referir que neste polimorfo há ocorrência do homodímero centrossimétrico amida-amida, Figura 2.9 b. Todos estes polimorfos são metaestáveis relativamente à forma I utilizada nesta investigação.

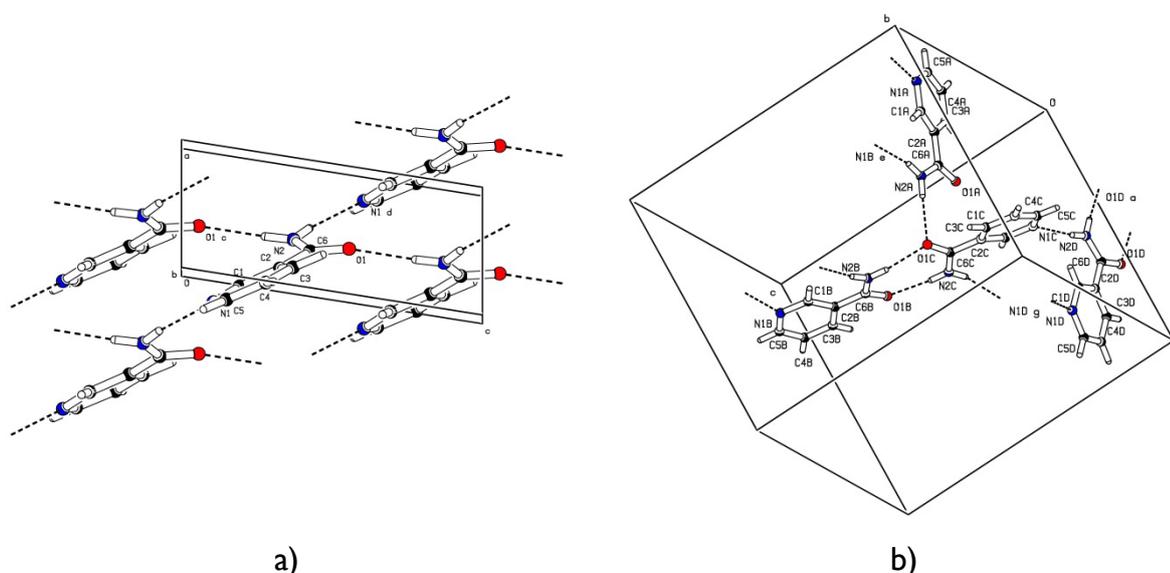
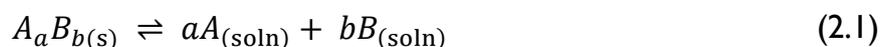


Figura 2.9- a) Célula unitária da nicotinamida, polimorfo I [179]; b) célula unitária da nicotinamida, Nic2. [181].

### 2.2.1 Investigação preliminar da viabilidade de formação de co-cristais diflunisal:nicotinamida

A viabilidade de formação de co-cristal entre o diflunisal e a nicotinamida foi confirmada aplicando a metodologia descrita por ter Horst *et al.* [182]. O método toma como ponto de partida a solubilidade dos componentes puros no solvente escolhido para investigar a viabilidade de formação de co-cristais.

A solubilidade, num determinado solvente à temperatura  $T$ , de um co-cristal  $A_aB_b$  formado por um API  $A$  e um co-formador  $B$ , se os componentes não formarem espécies complexas em solução nem se ionizarem, traduz-se pelo equilíbrio seguinte:



donde resulta que,

$$\begin{aligned} \mu_{A_aB_b,s}^* &= a \mu_{A,soln} + b \mu_{B,soln} = a (\mu_A^o + RT \ln a_A) + b (\mu_B^o + RT \ln a_B) \approx \\ &\approx a (\mu_A^o + RT \ln x_A) + b (\mu_B^o + RT \ln x_B) = a \mu_A^o + b \mu_B^o + RT \ln (x_A^a x_B^b) \end{aligned} \quad (2.2)$$

onde  $\mu_{A_aB_b}^*$  é o potencial químico do co-cristal,  $\mu_{A(soln)}$  e  $\mu_{B(soln)}$  os potenciais químicos dos componentes  $A$  e  $B$  na solução em equilíbrio com  $A_aB_b$ ,  $\mu_A^o$  e  $\mu_B^o$ , os potenciais químicos padrão de  $A$  e  $B$ ,  $a_A$  e  $a_B$ ,  $x_A$  e  $x_B$  as actividades e fracções molares de  $A$  e  $B$  na solução, respectivamente.

Numa solução saturada do API ou do co-formador



e por conseguinte

$$\mu_A^* = \mu_A^o + RT \ln a_A^* \approx \mu_A^o + RT \ln x_A^* \quad (2.5)$$

e

$$\mu_B^* = \mu_B^o + RT \ln a_B^* \approx \mu_B^o + RT \ln x_B^* \quad (2.6)$$

onde  $\mu_A^*$  e  $\mu_B^*$  são os potenciais químicos de  $A$  e  $B$  sólidos à temperatura considerada,  $a_A^*$ ,  $a_B^*$ ,  $x_A^*$ ,  $x_B^*$  representam, respectivamente, a actividade e a fracção molar de  $A$  e  $B$  em equilíbrio com os sólidos respectivos.

Se o co-cristal é mais estável que os componentes sólidos puros, então a sua solubilidade num solvente escolhido será inferior à combinação dos seus constituintes e  $(x_A^a \cdot x_B^b) < x_A^{a*} \cdot x_B^{b*}$ , que resulta da condição  $\mu_{A_a B_b}^* < a \mu_A^* + b \mu_B^*$ . Portanto se à temperatura  $T_1$  uma solução saturada de A, tem composição  $x_A^*(T_1)$  e uma solução saturada de B, composição  $x_B^*(T_1)$ , a temperatura de saturação  $T_2$ , de uma solução dos dois componentes com composição  $x_A^*(T_1)$  e  $x_B^*(T_1)$  deverá ser superior a  $T_1$ , caso a formação do co-cristal seja termodinamicamente viável.

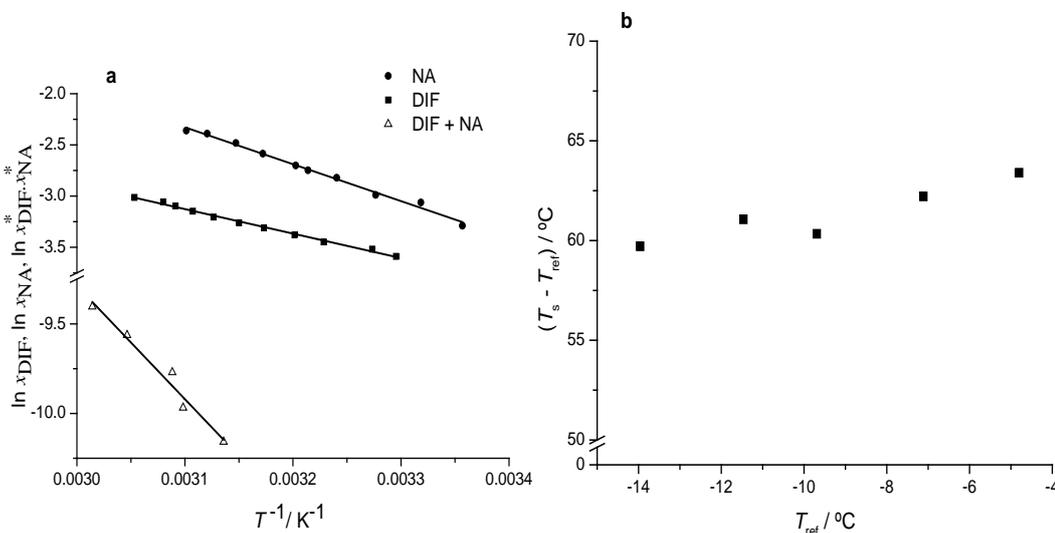
Na avaliação preliminar da viabilidade de formação de co-cristal entre o diflunisal e a nicotinamida utilizou-se um equipamento de alto rendimento Crystal 16 de Avantium Technologies (ver anexo A1.2), com o etanol como solvente. O equipamento permite medir os “clear points” e os “cloud points” com base na turbidez, de dezasseis alíquotas de 1 mL de solução em paralelo e automaticamente. A temperatura à qual a suspensão se transforma numa solução límpida, “clear point” durante o aquecimento à velocidade de 0,3 °C/min, é tomada como a temperatura de saturação para a composição de solução previamente estabelecida.

Numa primeira etapa, a solubilidade do diflunisal a uma temperatura de referência  $T_{ref}$ ,  $x_{DIF}^*(T_{ref})$ , e as solubilidades dos formadores a essa temperatura,  $x_{Cof}^*(T_{ref})$ , são determinadas. Numa segunda etapa, é testada a capacidade de formação de co-cristais para cada par constituído por diflunisal e um dos co-formadores. Se o diflunisal e o formador derem origem a um co-cristal, então uma solução com a concentração  $x_{Cof}^*(T_{ref})$  e  $x_{DIF}^*(T_{ref})$ , terá uma temperatura de saturação superior à temperatura de referência,  $T_s > T_{ref}$ .

Os valores de temperatura de saturação,  $T_s$ , registadas experimentalmente para soluções etanólicas de diflunisal e de nicotinamida podem ser descritas pela equação de van't Hoff simplificada, Equação 2.7, onde  $x$  é a fracção molar,  $\Delta H$  e  $T_0$  são parâmetros de ajuste e  $R$  é a constante dos gases, Figura 2.10.a. Os parâmetros de ajuste são apresentados na Tabela 2.1.

$$\ln x = \frac{\Delta H}{R} \left( \frac{1}{T_s} - \frac{1}{T_0} \right) \quad (2.7)$$

Em seguida, foram determinadas as temperaturas de saturação  $T_s$ , após dissolução e recristalização, de misturas com composição  $(x_{DIF}^*, x_{NA}^*)$ , no mesmo solvente, Figura 2.10. a.



**Figura 2.10.** a. Gráfico da equação de van't Hoff eq. 2.7: NA (●), DIF (■) e hipotético co-cristal DIF+NA (Δ) em etanol. b. Diferença  $(T_s - T_{ref})$ , entre a temperatura de saturação medida  $T_s$  de amostras com composição  $(x_{DIF}^*(T_{ref}), x_{NA}^*(T_{ref}))$ , e  $T_{ref}$  a temperatura à qual a solubilidade dos componentes puros é  $x_{DIF}^*$  e  $x_{NA}^*$ .

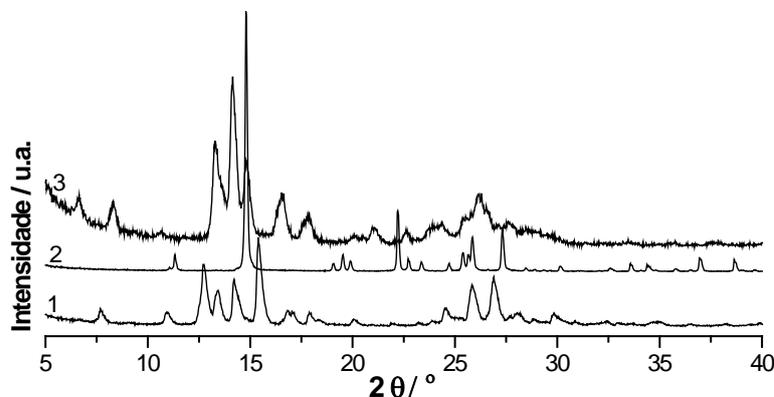
Os resultados obtidos foram comparados com os valores das temperaturas de saturação de referência,  $T_{ref}$ , para soluções em etanol de diflunisal puro ou de nicotinamida pura, com a mesma concentração  $x_{DIF}^*$  e  $x_{NA}^*$ , respectivamente. Estes valores foram extrapolados a partir do ajuste da equação de van't Hoff obtido anteriormente. Valores de  $T_s$  superiores a  $T_{ref}$  indicam a formação de co-cristais entre os componentes [182], o que foi observado para o sistema diflunisal+nicotinamida, Figura 2.10. b.

**Tabela 2.1.** Parâmetros obtidos ajustando os valores de solubilidade de diflunisal e de nicotinamida em etanol, em função da temperatura, usando a equação 2.7.

|              | $-(\Delta H/R) / K$            | $-\Delta H/(RT_0)$ | Coeficiente de correlação |
|--------------|--------------------------------|--------------------|---------------------------|
| Diflunisal   | $(23,97 \pm 0,56) \times 10^2$ | $4,30 \pm 0,17$    | 0,997                     |
| Nicotinamida | $(36,04 \pm 1,1) \times 10^2$  | $8,84 \pm 0,35$    | 0,995                     |

Os sólidos obtidos foram analisados por difracção de raios-X de pó. Apresenta-se na Figura 2.11, um difractograma de raios-X de pó representativo destes sólidos, confirmando a formação duma estrutura distinta da dos compostos de partida, como se

esperava. A nicotinamida, polimorfo I, e o diflunisal, forma III, são as formas sólidas em equilíbrio nas soluções saturadas destes compostos em etanol, como foi confirmado por XRPD, Figura 2.11.



**Figura 2.11** Difractogramas de raios-X de pó dos sólidos obtidos nas experiências realizadas com o equipamento Crystal 16, utilizando como solvente, etanol. 1. diflunisal forma III; 2. nicotinamida forma I; 3. sólido em equilíbrio com soluções de diflunisal+nicotinamida.

## 2.2.2 Determinação da estequiometria e caracterização do co-cristal (diflunisal + nicotinamida)

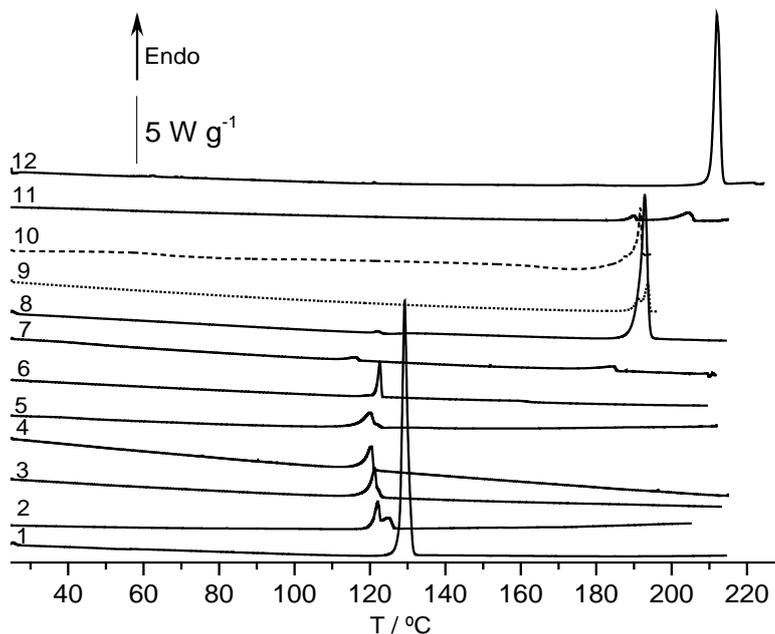
### 2.2.2.1 Diagrama de fases sólido-líquido (diflunisal + nicotinamida)

Tendo-se verificado que a formação do co-cristal entre diflunisal e nicotinamida é termodinamicamente viável, importa definir a respectiva estequiometria. Para tal recorreu-se à construção do diagrama de fases sólido-líquido para este sistema binário, à pressão atmosférica.

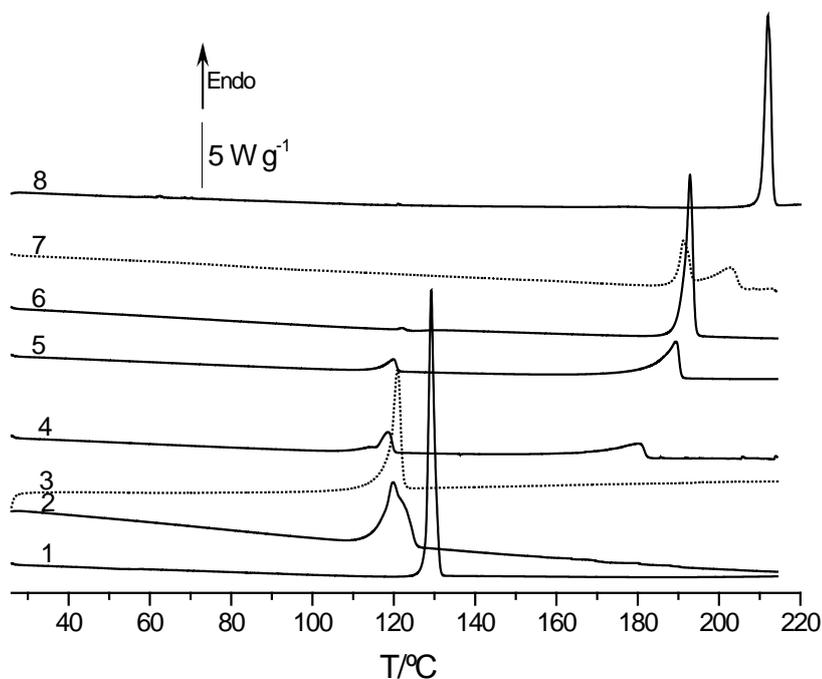
Diagramas de fases sólido-líquido entre um API e potenciais co-formadores são de grande importância, tendo em conta que fornecem evidência conclusiva da formação de co-cristal e da sua estequiometria, permitindo ainda a identificação de outras composições binárias importantes em formulação farmacêutica, como por exemplo as misturas eutéticas [183, 184].

O diagrama de fases foi traçado a partir das curvas de DSC de aquecimento obtidas para misturas binárias dos componentes em diferentes proporções, cobrindo toda a gama de concentrações  $0 < x_{\text{DIF}} < 1$ . As misturas foram preparadas por co-moagem das quantidades apropriadas de cada componente, a 15 Hz, durante 30 minutos e com assistência de 10  $\mu\text{L}$  de etanol (ver anexo A1.3). Os ensaios de DSC

foram efectuados às velocidades de varrimento  $\beta = 10\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$  e  $\beta = 2\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$ . As curvas de DSC de aquecimento obtidas para misturas seleccionadas são mostradas nas Figura 2.12 e 2.13.



**Figura 2.12** Curvas de DSC de aquecimento seleccionadas para o sistema diflunisal+nicotinamida. 1.  $x_{\text{DIF}} = 0,000$ ; 2.  $x_{\text{DIF}} = 0,0499$ ; 3.  $x_{\text{DIF}} = 0,0749$ ; 4.  $x_{\text{DIF}} = 0,0995$ ; 5.  $x_{\text{DIF}} = 0,1419$ ; 6.  $x_{\text{DIF}} = 0,2785$ ; 7.  $x_{\text{DIF}} = 0,5000$ ; 8.  $x_{\text{DIF}} = 0,6647$ ; 9.  $x_{\text{DIF}} = 0,6987$ ; 10.  $x_{\text{DIF}} = 0,7695$ ; 11.  $x_{\text{DIF}} = 0,9444$ ; 12.  $x_{\text{DIF}} = 1,000$ .  $\beta = 2\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$



**Figura 2.13** Curvas de DSC de aquecimento, para misturas representativas do sistema diflunisal + nicotinamida. 1.  $x_{\text{DIF}} = 0,000$ ; 2.  $x_{\text{DIF}} = 0,0499$ ; 3.  $x_{\text{DIF}} = 0,1419$ ; 4.  $x_{\text{DIF}} = 0,4448$ ; 5.  $x_{\text{DIF}} = 0,5524$ ; 6.  $x_{\text{DIF}} = 0,6647$ ; 7.  $x_{\text{DIF}} = 0,9444$ ; 8.  $x_{\text{DIF}} = 1,000$ .  $\beta = 10\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$

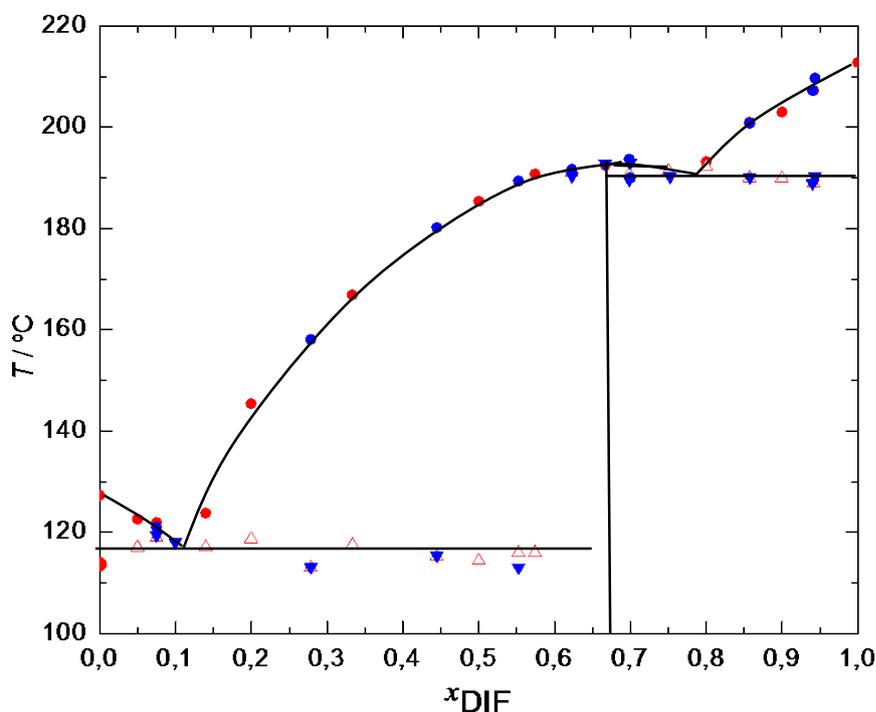
O *solidus* foi obtido a partir do *onset* do primeiro pico observado nas curvas de DSC,  $T_{E1}$ ,  $T_{E2}$ , e o *liquidus* a partir do máximo corrigido dos segundos picos,  $T_{liq}$  (se existirem), respectivamente [185, 186]. Os valores obtidos são apresentados Tabela 2.2 e o diagrama de fases sólido-líquido do sistema diflunisal-nicotinamida, traçado a partir destes dados está representado na Figura 2.14.

**Tabela 2.2.** Temperaturas de transição  $T_{E1}$ ,  $T_{E2}$ , e  $T_{liq}$ , obtidas para as várias transições de fase observadas no aquecimento em DSC de misturas de (diflunisal+nicotinamida) com diferentes fracções molares de diflunisal,  $x_{DIF}$ .

| $x_{DIF}$                | $T_{E1} / ^\circ C$ | $T_{E2} / ^\circ C$ | $T_{liq} / ^\circ C$ | $x_{DIF}$                 | $T_{E1} / ^\circ C$ | $T_{E2} / ^\circ C$ | $T_{liq} / ^\circ C$ |
|--------------------------|---------------------|---------------------|----------------------|---------------------------|---------------------|---------------------|----------------------|
| $\beta = 2 ^\circ C/min$ |                     |                     |                      | $\beta = 10 ^\circ C/min$ |                     |                     |                      |
| 0,0000                   |                     |                     | 127,7                | 0,0000                    |                     |                     | 128,0                |
| 0,0499                   | 117,8               |                     | 124,5                | 0,0499                    | 117,0               |                     | 123,5                |
| 0,0749                   | 119,4               |                     | 121,5                | 0,0749                    | 119,0               |                     | 121,9                |
| 0,0995                   | 118,0               |                     | 120,3                | 0,0991                    | 118,7               |                     | 120,9                |
| 0,1419                   | 116,8               |                     | 134,0                | 0,1419                    | 117,1               |                     | 133,7                |
| 0,2785                   | 113,1               |                     | 158,1                | 0,2134                    | 118,7               |                     | 145,4                |
| 0,4448                   | 115,4               |                     | 180,2                | 0,2785                    | 113,1               |                     | 158,1                |
| 0,5000                   | 112,7               |                     | 184,3                | 0,3333                    | 117,5               |                     | 166,9                |
| 0,5524                   | 113,0               |                     | 189,4                | 0,4448                    | 115,3               |                     | 180,2                |
| 0,62271                  |                     |                     | 191,7                | 0,5135                    | 114,4               |                     | 185,4                |
| 0,6647                   |                     |                     | 192,8                | 0,5524                    | 116,0               |                     | 189,4                |
| 0,6987                   |                     | 189,6               | 192,5                | 0,5742                    | 116,0               |                     | 190,8                |
| 0,7695                   |                     | 190,3               |                      | 0,6647                    |                     |                     | 192,9                |
| 0,8539                   |                     | 190,2               | 200,8                | 0,7695                    |                     | 191,4               |                      |
| 0,9444                   |                     | 189,0               | 207,3                | 0,8134                    |                     | 192,3               | 193,2                |
| 1,0000                   |                     |                     | 212,8                | 0,8539                    |                     | 190,0               | 201,0                |
|                          |                     |                     |                      | 0,9444                    |                     | 188,9               | 207,3                |
|                          |                     |                     |                      | 1,0000                    |                     |                     | 212,7                |

Para  $x_{DIF} = 0,67$  o termograma apresenta um pico único, estreito como se espera para um composto puro. Para misturas de composição  $x_{DIF} < 0,67$  é observado um ponto invariante a  $T_{E1} = (117,4 \pm 1,3) ^\circ C$ , ( $n = 14$ ), e para  $x_{DIF} > 0,67$  um outro a  $T_{E2} = (190,2 \pm 1,1) ^\circ C$ , ( $n = 8$ ), com o excesso de composto a fundir numa gama larga de temperaturas. A conjugação destes dados, que o diagrama de fases resume, permite confirmar a formação de um co-cristal diflunisal+nicotinamida na proporção, DIF:NA (2:1),  $x_{DIF} = 0,67$ . Este novo co-cristal funde a  $T_{fus} = (192,6 \pm 0,5) ^\circ C$ , (com uma entalpia de fusão  $\Delta_{fus}H = (95 \pm 2) kJ/mol$ , ( $n = 7$ ) o que é significativamente menor do

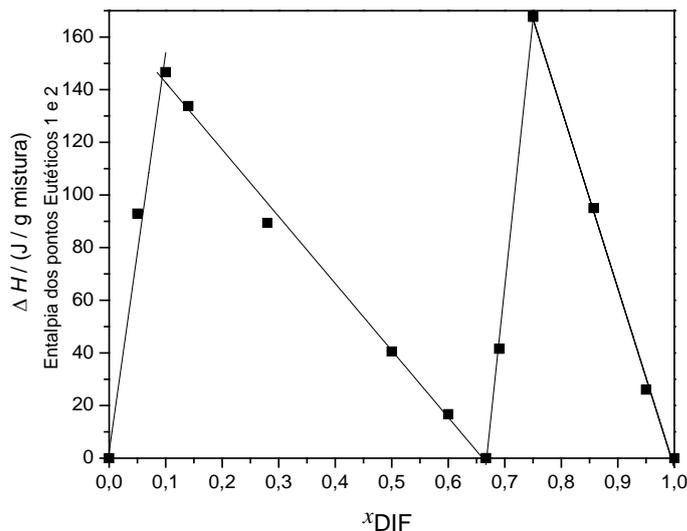
que o ponto de fusão do diflunisal,  $T_{\text{fus}} = (212,8 \pm 0,3) \text{ }^\circ\text{C}$ , mas muito superior ao da nicotinamida,  $T_{\text{fus}} = (128,0 \pm 0,5) \text{ }^\circ\text{C}$ , polimorfo I.



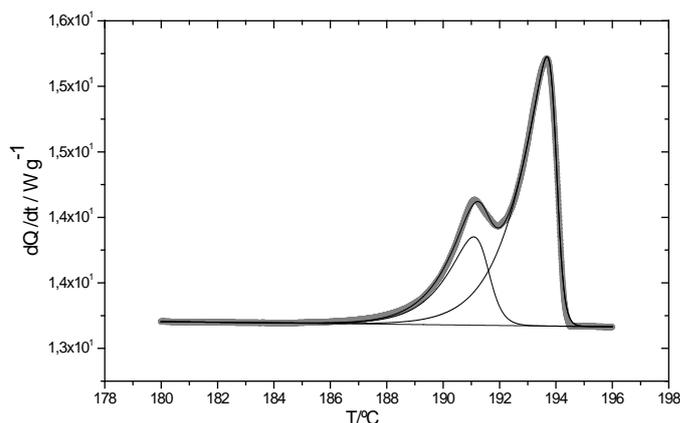
**Figura 2.14** Diagrama de fases binário sólido+líquido de (diflunisal+nicotinamida). Símbolos a vermelho,  $\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$ ; símbolos a azul  $\beta = 2 \text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$ . As linhas são guias de orientação visual.

Os diagramas de Tamman, Figura 2.15, ou seja a dependência da entalpia de fusão do eutético em função da fracção molar, foram construídos para os dois pontos eutéticos registados para este sistema binário. Usaram-se os resultados dos varrimentos realizados a  $2 \text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$  e recorreu-se a deconvolução das curvas de fusão para cálculo de entalpia quando necessário (dá-se um exemplo na Figura 2.16).

A análise dos diagramas de Tamman permite excluir a formação de soluções sólidas quer na vizinhança do co-cristal, quer na dos compostos puros e determina a fracção molar de diflunisal nos pontos eutéticos,  $x_{\text{DIF}} = 0,10$  e  $x_{\text{DIF}} = 0,75$ , respectivamente.



**Figura 2.15** Diagramas de Tamman para o sistema diflunisal+nicotinamida, identificando os dois pontos eutéticos,  $x_{DIF} = 0,10$  e  $x_{DIF} = 0,75$ , respectivamente.



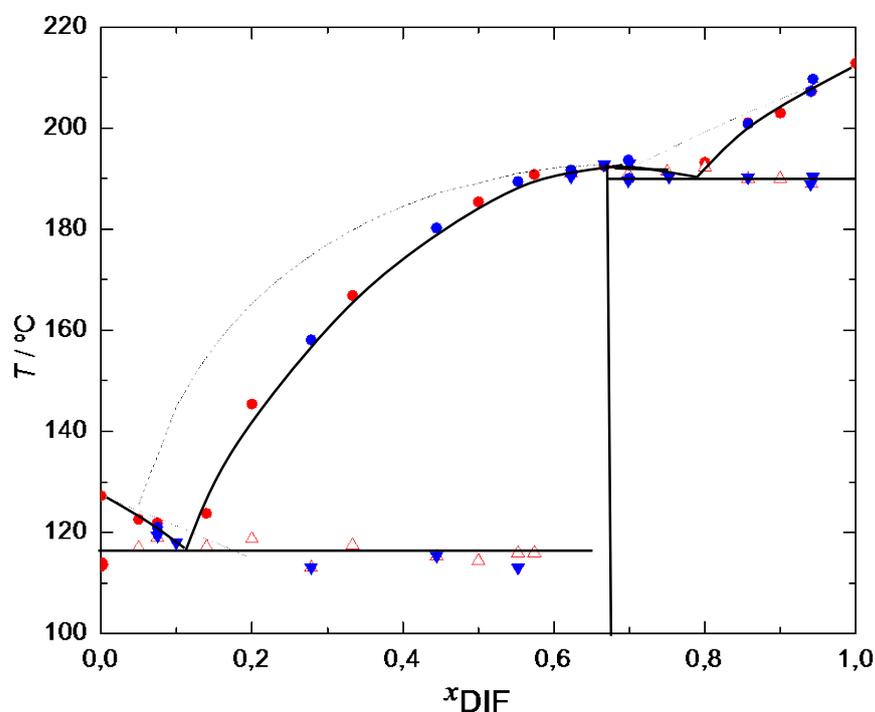
**Figura 2.16** Um exemplo de deconvolução da curva de DSC da mistura diflunisal+nicotinamida,  $x_{DIF} = 0,6987$ ,  $\beta = 2 \text{ } ^\circ\text{C}/\text{min}$ .

A equação 2.8 permite calcular as temperaturas do *liquidus*,  $T_{fus}$ , para misturas de composição  $x_i$  em que um excesso de composto  $i$  sólido está presente, após fusão do eutético, admitindo imiscibilidade em fase sólida, miscibilidade na fase líquida e ainda que a entalpia de fusão de  $i$ ,  $\Delta_{fus}H_{m,i}^*$  é constante na gama de temperatura considerada.

$$\frac{1}{T_{fus}} = \frac{1}{T_{fus_i}^*} - \frac{R}{\Delta_{fus}H_{m,i}^*} \ln x_i \gamma_i \quad (2.8)$$

$T_{fus_i}^*$  é a temperatura de fusão de  $i$  puro e  $\gamma_i$  o coeficiente de actividade de  $i$  na solução líquida. A equação resulta, obviamente, da condição de equilíbrio entre o sólido

em excesso e a solução. Esta equação é aplicável para  $x_{\text{DIF}} > 0,75$  (excesso de diflunisal) e para  $x_{\text{DIF}} < 0,10$  (excesso de nicotinamida). Usando valores determinados neste trabalho para o diflunisal ( $T_{\text{fus,DIF}} = 212,8 \text{ }^\circ\text{C}$  e  $\Delta_{\text{fus}}H_{\text{m,DIF}}^* = 36,5 \text{ kJ/mol}$ ) e para a nicotinamida ( $T_{\text{fus,NA}} = 128,0 \text{ }^\circ\text{C}$  e  $\Delta_{\text{fus}}H_{\text{m,NA}}^* = 25,5 \text{ kJ/mol}$ ), os coeficientes de actividade calculados para o diflunisal variam de  $\gamma_{\text{DIF}} = 0,96$  para  $x_{\text{DIF}} = 0,9444$  a  $\gamma_{\text{DIF}} = 0,85$  para  $x_{\text{DIF}} = 0,8134$  e para a nicotinamida obteve-se, por exemplo,  $\gamma_{\text{NA}} = 0,97$ , para  $x_{\text{DIF}} = 0,0499$ . As misturas líquidas apresentam desvios negativos relativamente a comportamento ideal que se traduzem por temperatura de *liquidus* inferior ao que se preveria para comportamento ideal (representado Figura 2.17 pelas linhas tracejadas).



**Figura 2.17** Diagrama de fases binário sólido+líquido de diflunisal+nicotinamida. Símbolos a vermelho,  $\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C/min}$ ; símbolos a azul  $\beta = 2 \text{ }^\circ\text{C/min}$ . As linhas a cheio são guias de orientação visual. O comportamento ideal está representado pelas linhas a tracejado (eq. 2.8 com  $\gamma_i = 1$ , e eq. 2.10)

O comportamento ideal na vizinhança do co-cristal, quando um excesso de co-cristal sólido está presente após fusão do eutético (para  $0,10 < x_{\text{DIF}} < 0,6667$  e para  $0,6667 < x_{\text{DIF}} < 0,75$ ) foi representado na Figura 2.17, utilizando a equação 2.10, resultante da condição de equilíbrio

$$\mu_{\text{DIF}_2\text{NA}}(\text{S}) = 2\mu_{\text{DIF}}(\text{soln}) + \mu_{\text{NA}}(\text{soln}) \quad (2.9)$$

com as restrições indicadas também para a equação 2.8 e admitindo, como se referiu, comportamento ideal em fase líquida [187].

$$\frac{1}{T_{\text{fus}}} = \frac{1}{T_{\text{fus,cc}}} - \frac{R}{\Delta_{\text{fus}}H_{\text{m,cc}}} \{ \ln[x_{\text{DIF}}^2 \cdot (1 - x_{\text{DIF}})] - \ln[(2/3)^2 \cdot (1/3)] \} \quad (2.10)$$

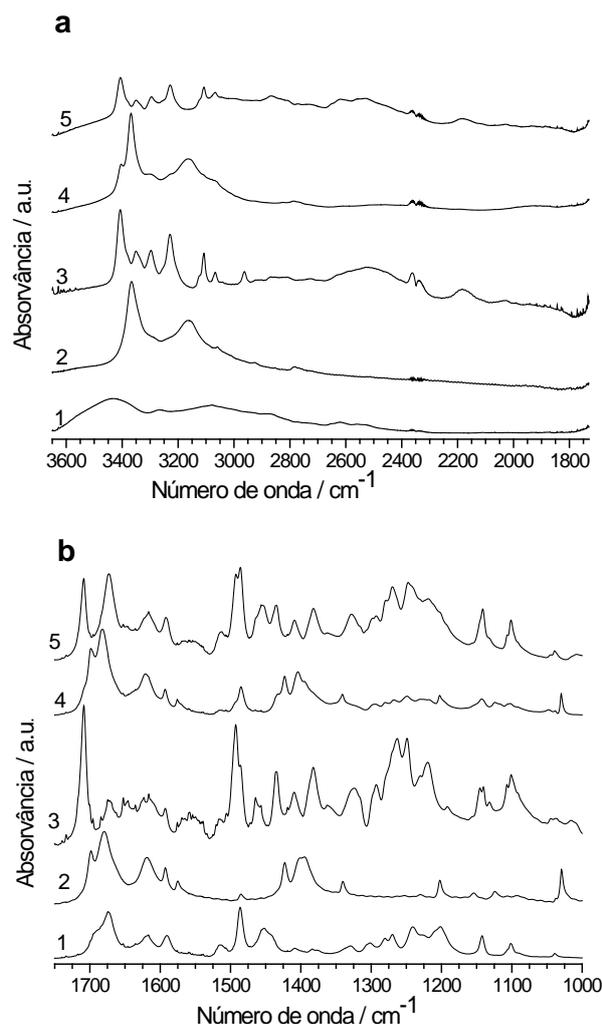
Desvios negativos de comportamento ideal na fase líquida são evidentes, indicando um grau de interacção apreciável entre os compostos.

### 2.2.2.2 Caracterização complementar do co-cristal (Diflunisal:Nicotinamida)

#### **FTIR E XRPD**

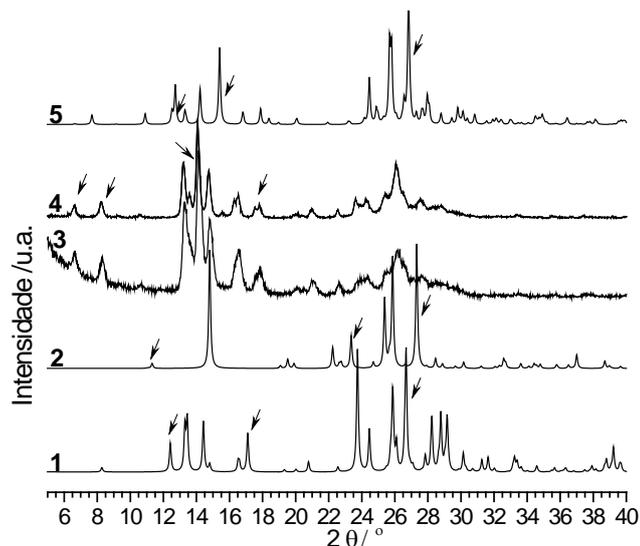
Os espectros de infravermelho, obtidos para o co-cristal e para misturas representativas com excesso de nicotinamida,  $x_{\text{DIF}} = 0,20$ , e excesso de diflunisal  $x_{\text{DIF}} = 0,75$ , são mostrados na Figura 2.18. No espectro da nicotinamida observam-se duas bandas de elevada intensidade na região de vibração de alongação do grupo  $\text{NH}_2$ , localizadas a  $3366$  e  $3163 \text{ cm}^{-1}$ ; no co-cristal estas bandas parecem deslocar-se para  $3407$  e  $3227 \text{ cm}^{-1}$ , e são observadas duas outras a  $3348$  e  $3297 \text{ cm}^{-1}$ . Na região de alongação do grupo  $\text{C=O} + \text{amida I}$ , a principal banda no co-cristal tem máximo a  $1708 \text{ cm}^{-1}$ , diferente do registado na amida,  $1697$  e  $1679 \text{ cm}^{-1}$ , e no espectro do diflunisal,  $1673 \text{ cm}^{-1}$ . Nota-se, também, muito claramente, no espectro do co-cristal, o aparecimento das bandas características da formação do sintão ácido- $\text{N}_{\text{aromático}}$ , por volta de  $2500$ ,  $2150$  e a  $1900 \text{ cm}^{-1}$  [188-192]. Como se esperaria, nos espectros das misturas com excesso de nicotinamida ou de diflunisal, são visíveis bandas características dos compostos puros, espectros 4 e 5, respectivamente, na Figura 2.18.

Na Figura 2.19 compara-se o difractograma de raios-X de pó do novo co-cristal diflunisal+nicotinamida com os difractogramas dos componentes puros (foram incluídos os difractogramas dos polimorfos I e III do diflunisal e o da nicotinamida I). Na Figura 2.20 é feita a comparação do difractograma deste co-cristal com os difractogramas de raios-X de pó simulados do diflunisal, forma V [174], do mono-hidrato de diflunisal [169], e da nicotinamida, nic2 [180]

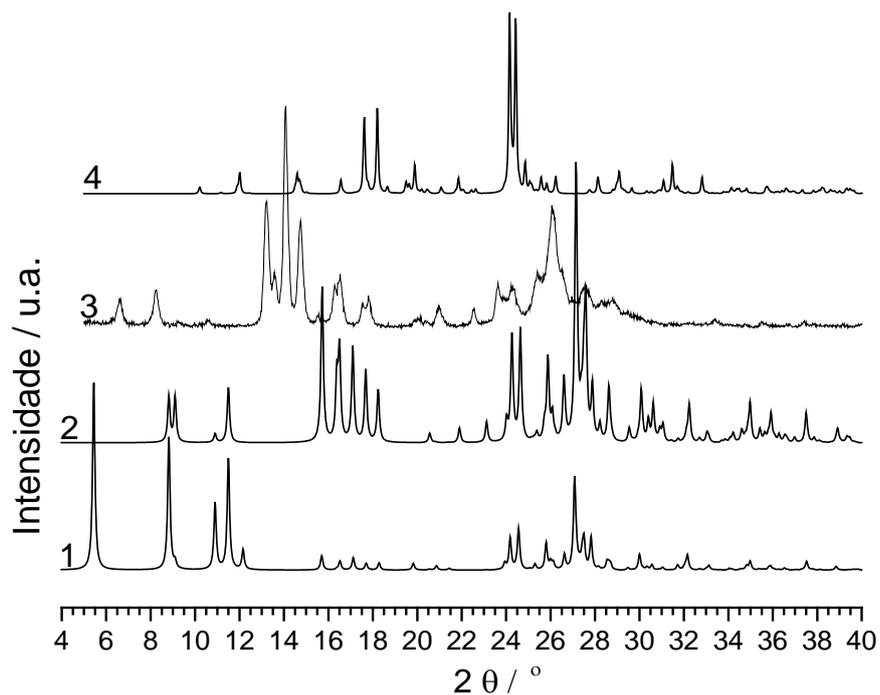


**Figura 2.18** Espectros de infravermelho: 1. diflunisal, polimorfo III; 2. nicotinamida, polimorfo I; 3. co-cristal (diflunisal+nicotinamida) 2:1,  $x_{\text{DIF}} = 0,67$ ; 4. mistura (diflunisal+nicotinamida) 1:4,  $x_{\text{DIF}} = 0,21$ ; 5. mistura diflunisal+nicotinamida 3:1,  $x_{\text{DIF}} = 0,77$ . a) 3600 a 1750  $\text{cm}^{-1}$ ; b) 1750 a 1000  $\text{cm}^{-1}$ .

A formação de co-cristal resulta no aparecimento de novas reflexões no difractograma, que não existem nos materiais de partida:  $2\theta = 6,6; 8,2; 14,0; 16,3^\circ$ , conjuntamente com a ausência de algumas outras que estão presentes nos difractogramas do API e do co-formador:  $2\theta = 7,7; 10,8; 12,5; 12,7; 15,4; 26,8^\circ$ , para DIF III:  $2\theta = 12,4; 17,1; 26,7^\circ$ , para DIF I, e  $2\theta = 11,3; 22,2; 27,3^\circ$ , para NA I. As diferenças relativamente a diflunisal V, diflunisal.H<sub>2</sub>O e nicotinamida, nic<sub>2</sub>, são também evidentes.



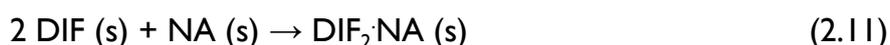
**Figura 2.19** Difractogramas de raios-X de pó: 1. diflunisal, polimorfo I [170]; 2. nicotinamida, polimorfo I [179]; 3. mistura sólida diflunisal+nicotinamida isolada nas experiências de cristalização em etanol, Crystal 16; 4. co-cristal (diflunisal+nicotinamida) 2:1,  $x_{DIF} = 0,67$ , obtido por mecanoquímica; 5. diflunisal, polimorfo III.



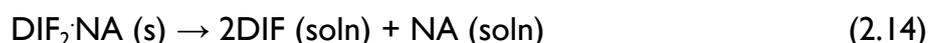
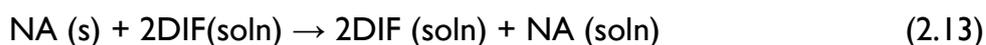
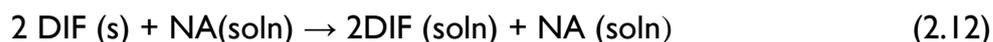
**Figura 2.20.** Difractogramas de raios-X de pó. 1. Simulado para o diflunisal, forma V[174]; 2. Simulado para o mono-hidrato do diflunisal [169]; 3. Co-cristal (diflunisal+nicotinamida) co-cristal 2:1, experimental; 4. simulado para a nicotinamida, nic2 [181].

## **ENTALPIA DE FORMAÇÃO DO CO-CRISTAL A PARTIR DOS COMPONENTES SÓLIDOS**

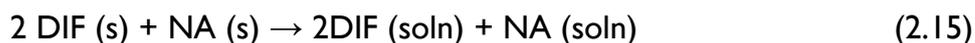
A entalpia de formação do co-cristal a partir dos seus componentes puros, representada pela equação 2.11, fornece informação importante sobre a intensidade das forças intermoleculares na nova entidade cristalina, quando comparadas com as existentes nos compostos de partida.



A entalpia deste processo pode ser obtida combinando a entalpia dos seguintes processos de solução, num procedimento próximo do que foi seguido por Oliveira et al.[193]:



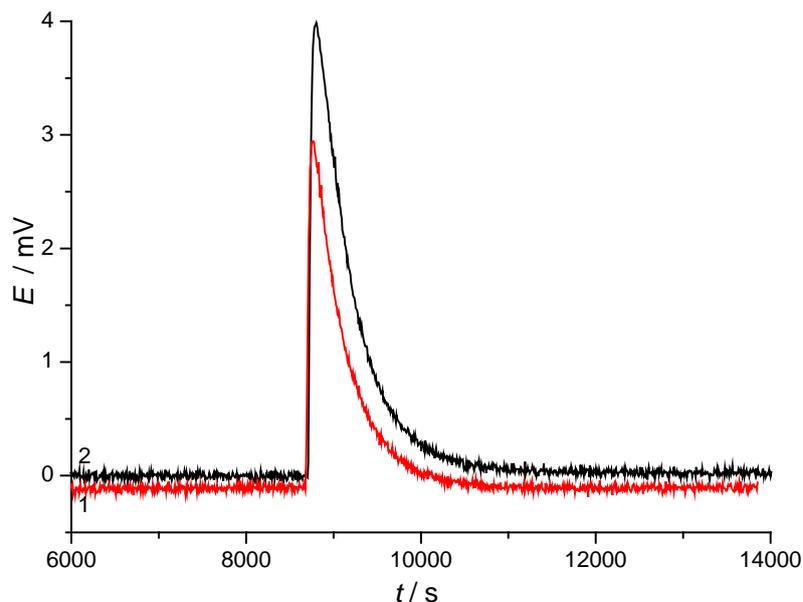
Alternativamente, a entalpia de formação do co-cristal pode ser obtida conjugando os processos representados pelas equações 2.14 e 2.15



Neste caso, o co-cristal sólido puro, ou os dois componentes sólidos puros, sujeitos ao mesmo processo de moagem, mas em separado, são dissolvidos no solvente puro. Nos processos 2.12 e 2.13, um dos componentes sólidos é dissolvido numa solução do outro componente, no mesmo solvente com a composição apropriada. Este último procedimento evita que ocorra interação entre os dois componentes durante a estabilização no calorímetro, necessária à realização dos ensaios experimentais.

As determinações de entalpia de solução foram realizadas num calorímetro C80 da Setaram, como descrito no anexo A1.7. A fim de utilizar uma solução de diflunisal com uma concentração relativamente elevada, utilizou-se o dimetilsulfóxido, DMSO, como solvente. Devido à alta higroscopicidade deste solvente, e no sentido de facilitar a manipulação experimental, foi utilizada uma mistura de DMSO:água, (composição em

água = 10 % v/v), que assegura ainda a solubilidade necessária do diflunisal. Nas experiências realizadas neste trabalho a solução final tem a mesma composição em todos os processos (0,093 molal para diflunisal e 0,046 molal para nicotinamida), Tabela A1.2, anexo A1.7. Na Figura 2.21 são exemplificados os termogramas obtidos num ensaio correspondente ao processo 2.14 (curva 2) e num relativo ao processo 2.15 (curva 1). Os resultados estão sumariados na Tabela 2.3.



**Figura 2.21** Termogramas obtidos em ensaios de solução para o sistema diflunisal + nicotinamida em DMSO: Água (10 % v/v); 1. processo 2.15; 2. processo 2.14;  $T = 25\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

**Tabela 2.3.** Valores da entalpia experimental,  $\Delta_{\text{sol}}H_m$ , para os processos (2.12) a (2.15), a  $T = 25\text{ }^{\circ}\text{C}$ , ( $n$  indica o número de ensaios independentes.)

| Processos | $\Delta_{\text{sol}}H_m / \text{kJ/mol}$ |
|-----------|--|
| (2.12)    | $10,2 \pm 0,6$ ( $n = 4$ )               |
| (2.13)    | $11,0 \pm 0,9$ ( $n = 4$ )               |
| (2.14)    | $56,7 \pm 0,9$ ( $n = 5$ )               |
| (2.15)    | $37,4 \pm 1,3$ ( $n = 5$ )               |

O valor da entalpia da reacção descrita pela equação 2.11 foi calculado a partir dos valores de entalpia dos processos 2.12, 2.13 e 2.14, tendo-se obtido  $\Delta H_m = -25\text{ kJ/mol}$ , com uma incerteza estimada de  $2\text{ kJ/mol}$ . Um outro valor, um pouco mais baixo,  $\Delta H_m = -19\text{ kJ/mol}$ , foi obtido quando foram utilizadas as equações 2.14 e 2.15. Este resultado confirma a ocorrência de reacção entre os componentes puros, dando

início à formação do co-cristal, aquando da estabilização na célula calorimétrica, antes da dissolução.

O resultado obtido para a entalpia de formação do co-cristal a partir dos formadores sólidos, aponta para um processo que é entálpicamente favorável.

### **2.3 Estabelecimento de condições para a cristalização do co-cristal (diflunisal + nicotinamida) 2:1 em solução de etanol**

Na Figura 2.19 foram incluídos, no caso do co-cristal, os difractogramas do composto preparado por mecanoquímica, e também o do sólido obtido por cristalização a partir de soluções em etanol, no equipamento Crystal 16. É evidente que os dois procedimentos conduzem à formação da mesma estrutura cristalina.

Como já foi referido, a síntese de co-cristais por cristalização em solução é de grande interesse para o processo de transposição de escala na produção do co-cristal, sendo também, em geral, uma metodologia mais promissora para a obtenção de monocristais. Neste sentido, para ir mais além na optimização deste processo de co-cristalização em solução, realizou-se um conjunto de experiências adicional que permitiu ter informação sobre o diagrama de fases ternário (diflunisal+nicotinamida+etanol). Numa primeira aproximação foi escolhido etanol como solvente, por pertencer à classe 3 da classificação de solventes residuais (solvente de baixo potencial tóxico) [194, 195], permitindo também assegurar uma adequada secagem do sólido a baixa temperatura.

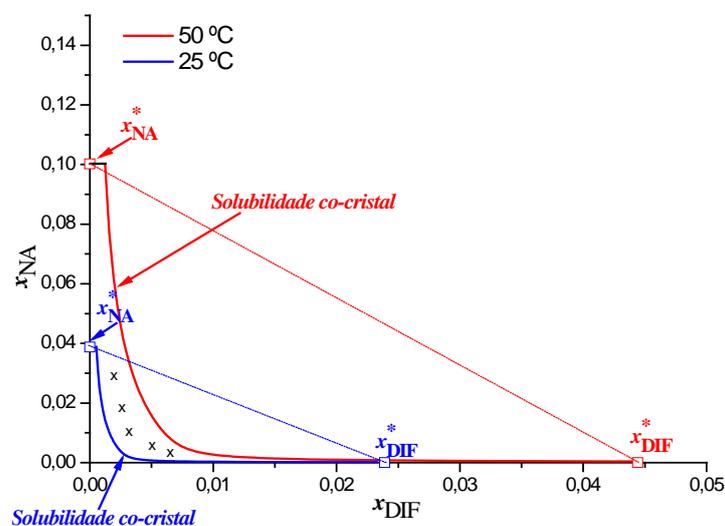
Foi usado o equipamento Crystal 16, seguindo o procedimento descrito por ter Horst *et al.* [182] e Vellema *et al.* [196]. Esta metodologia permite, de um modo rápido, fazer uma estimativa do diagrama ternário a uma temperatura de interesse. Preparam-se misturas com os componentes em diferentes fracções molares utilizando como solvente o etanol. As composições foram escolhidas por forma que, a uma dada temperatura, as fracções molares de cada componente se situassem na linha recta que une a fracção molar do API puro saturado,  $x_{DIF}^*$ , e a do co-formador puro saturado,  $x_{NA}^*$ . Estes valores foram obtidos utilizando a equação de van't Hoff, equação 2.7, e os parâmetros da Tabela 2.1..

A temperatura de saturação destas soluções foi determinada experimentalmente, como descrito no Anexo A1.2 e os sólidos gerados analisados por difracção de raios-X de pó. Em todos os ensaios o difractograma obtido foi o do co-cristal 2:1 que tem vindo a ser descrito.

As temperaturas de saturação experimentais,  $T_s$  (entre 24 e 58 °C), obtidas para 20 soluções de diflunisal e nicotinamida em etanol, com valores de  $y$  compreendidos entre 0,79 e 0,30 ( $y = x_{DIF} / (x_{DIF} + x_{NA})$ ), fracção molar de diflunisal, excluindo o solvente), foram representadas pela equação 2.16 [196].

$$\ln x_{DIF} x_{NA} = A / T_s + B y + C \quad (2.16)$$

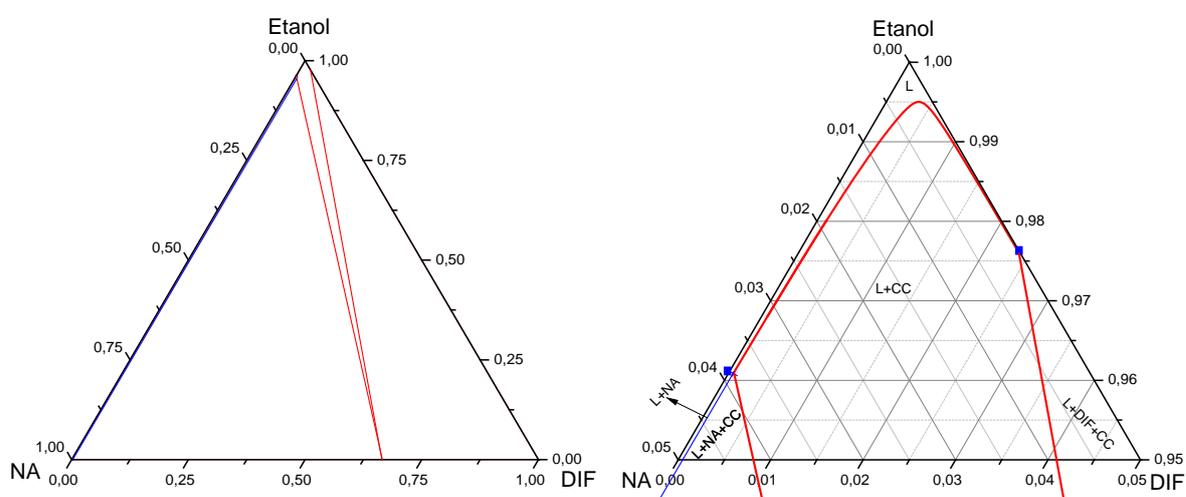
Obtiveram-se para os parâmetros de ajuste:  $A = -6975,0$ ,  $B = -1,96$  e  $C = 12,61$  com um desvio padrão de ajuste igual a 0,18 (a diferença entre os valores experimentais e os calculados não ultrapassa 2 %). A equação 2.16, foi utilizada para propor os diagramas de fase isotérmicos mostrados na Figura 2.22, a 25 °C e a 50 °C.



**Figura 2.22-** Estimativa do diagrama de fase parcial de (diflunisal + nicotinamida), em etanol a 25 °C (azul) e a 50 °C (vermelho),  $x_{NA}^*$  e  $x_{DIF}^*$  representam as solubilidades em etanol da nicotinamida e do diflunisal a cada uma dessas temperaturas, e as linhas a cheio representam a solubilidade do co-cristal (foi utilizada a equação 2.16, e os valores da Tabela 2.1).

Estes resultados, combinados com a estequiometria conhecida do co-cristal, permitem propor, a 25 °C, uma estimativa do diagrama ternário (diflunisal+nicotinamida+etanol) que se mostra na Figura 2.23.

O diagrama indica regiões de estabilidade termodinâmica e portanto dá informação relevante para identificar soluções com potencial para originar o co-cristal puro e prevenir a cristalização do co-cristal conjuntamente com os componentes isolados. Várias experiências de cristalização em etanol realizadas por dissolução a 50 °C de nicotinamida e de diflunisal, por exemplo nas proporções assinaladas com o símbolo x na Figura 2.22, conduziram, após arrefecimento até 25 °C, à formação de co-cristal puro, como seria espectável. Não foram, todavia, obtidos cristais com a dimensão adequada para a resolução de estrutura por difracção de raios-X de monocristal, o que é compreensível, atendendo à baixa solubilidade do co-cristal neste solvente.



**Figura 2.23** Proposta de diagrama de fases ternário do sistema (diflunisal+nicotinamida+etanol) a  $T = 25$  °C.

## 2.4 Determinação da velocidade de dissolução intrínseca do co-cristal (diflunisal+nicotinamida) e comparação com a do API puro.

Os estudos de dissolução de fármacos são indispensáveis durante as várias etapas dos processos de desenvolvimento, formulação, controlo de qualidade, e na obtenção de informações acerca da velocidade de libertação dos activos farmacêuticos no organismo animal. São, normalmente, realizados *in vitro*, no entanto a escolha dos parâmetros experimentais deve ser feita de forma a obter-se uma boa correlação *in vitro-in vivo* [197].

A velocidade de dissolução intrínseca ou taxa de dissolução intrínseca é definida como sendo a dissolução de um fármaco puro quando a área de superfície exposta,

temperatura, agitação ou velocidade de rotação, pH e força iônica do meio de dissolução são mantidas em condições constantes. A velocidade de dissolução intrínseca de um fármaco é influenciada pelas suas propriedades no estado sólido, tais como a cristalinidade, polimorfismo, hidratação, solvatação, tamanho e a área superficial das partículas. A velocidade de dissolução intrínseca depende também de factores extrínsecos, como por exemplo os factores hidrodinâmicos (tais como o equipamento de ensaio, a velocidade de rotação dos discos ou o fluxo do fluido) e as condições experimentais (temperatura, viscosidade do fluido, pH do meio, e a força do tampão no caso de compostos ionizáveis). Expondo a área superficial de um material num meio de dissolução apropriado enquanto se mantêm constantes a temperatura, a velocidade de agitação e o pH, podemos determinar a velocidade de dissolução intrínseca, que normalmente se expressa em  $\text{mg}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{cm}^{-2}$ . Regra geral, a maioria dos estudos de dissolução regem-se pelas denominadas *Sink conditions* [198]: a solubilidade do API deve ser dez vezes, ou no mínimo três vezes superior à concentração total do fármaco no reservatório. Em determinados casos, a solubilidade é igual a concentração teórica do fármaco no reservatório, o que é denominado de *non Sink conditions* [198, 199].

A teoria de dissolução teve como precursores Noyes e Witney, que em 1897 estabeleceram, com base na primeira lei de difusão de Fick, a relação entre a solubilidade máxima de soluto e a concentração ao tempo  $t$ , conhecida por equação de Noyes-Witney, equação 2.17 [200].

$$\frac{dC}{dt} = K(C_s - C) \quad (2.17)$$

onde,  $dC/dt$  representa a velocidade de dissolução,  $K$  o coeficiente de dissolução ou transferência de massa,  $C_s$  é a solubilidade máxima da substância no meio de dissolução e  $C$  a concentração da substância dissolvida no tempo  $t$ .

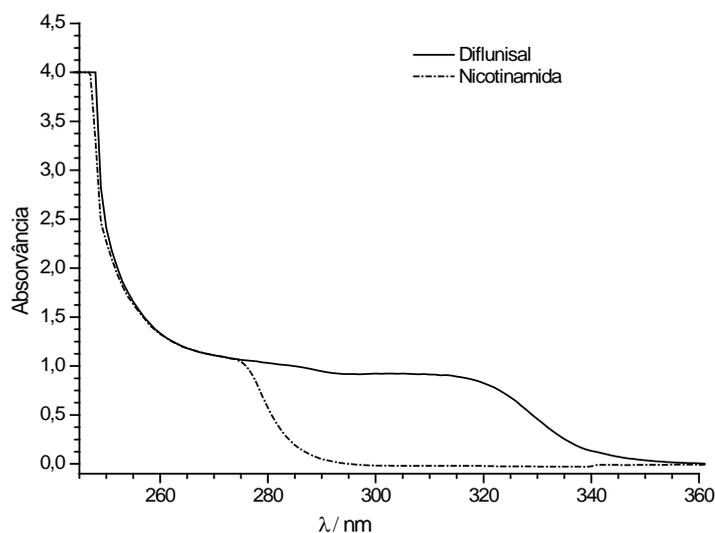
Nerst e Bruner modificaram a equação de Noyes-Witney, incluindo os parâmetros ( $D$ ), que são o coeficiente de difusão do fármaco dentro no líquido, ( $S$ ) a área de superfície, ( $h$ ) a espessura da camada de difusão e ( $V$ ) o volume do meio de dissolução, o que deu origem a equação de Nerst-Bruner, equação 2.18 [200].

$$\frac{dC}{dt} = K \frac{DS}{Vh} (C_s - C) \quad (2.18)$$

A velocidade de dissolução intrínseca do novo co-cristal foi determinada e comparada com a do diflunisal puro. Utilizou-se um equipamento SOTAX, tipo 2, nas condições recomendadas pela USP [201] e de acordo com o indicado na monografia para ensaios de comprimidos de diflunisal ( $T = 37\text{ °C}$ ,  $\text{pH} = 7,2$ , tampão TRIS 0,1 M, 900mL, 50 rpm, ver anexo A1.10)[202]. A concentração de diflunisal nas soluções foi determinada por medida de absorvância a 306 nm. Foi construída uma curva de calibração, representada pela equação 2.19, utilizando padrões preparados a partir de uma solução-mãe de diflunisal de concentração  $1,550 \times 10^{-3}$  M. A curva de calibração foi utilizada para a obtenção da massa de diflunisal dissolvida.

$$A = (0,04098 \pm 0,00091) [\text{DIF}] + (0,01608 \pm 0,0099); (r^2=0,9953) \quad (2.19)$$

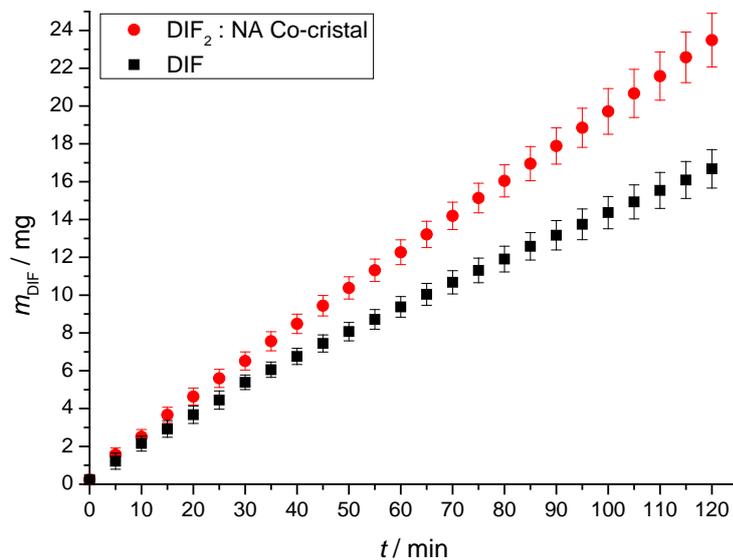
Nesta equação  $A$  é absorvância e  $[\text{DIF}]$  a concentração de diflunisal em mg/L. Como pode confirmar-se na Figura 2.24 tanto a nicotinamida como o diflunisal absorvem radiação no ultravioleta, não existindo sobreposição dos espectros, na região utilizada para quantificação do diflunisal.



**Figura 2.24** Espectros de absorção no ultravioleta de diflunisal ( $1,550 \times 10^{-4}$  M) e de nicotinamida ( $7,779 \times 10^{-4}$  M)). Percurso óptico de 5 cm.

O equipamento Sotax permite realizar seis ensaios replicados em simultâneo e os valores médios para a massa dissolvida do diflunisal em função do tempo, para o co-cristal e para o API puro, são apresentados na Figura 2.25. A partir desses valores,

obteve-se um valor de velocidade de dissolução intrínseca de  $533 \mu\text{g}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{cm}^{-2}$ , para o co-cristal e  $447 \mu\text{g}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{cm}^{-2}$  para o diflunisal puro. A velocidade de dissolução intrínseca do co-cristal é, portanto, cerca de 20 % superior à do API puro. Este resultado confirma o potencial desta nova forma do diflunisal, para formulação mais eficiente deste API.



**Figura 2.25.** Massa dissolvida do diflunisal em 900 mL do meio de dissolução em função do tempo, para comprimidos do diflunisal puro (■) e para comprimidos do co-cristal (●)

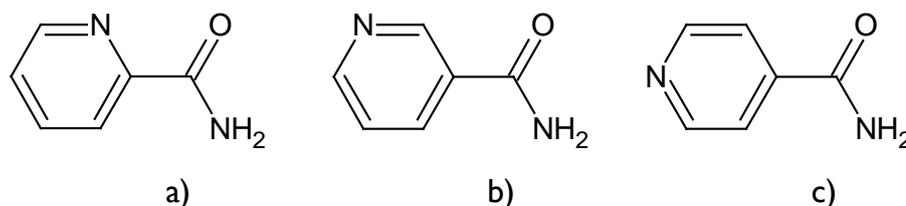
### 3 Investigação da formação de co-cristais (diflunisal + isonicotinamida) e (diflunisal + picolinamida)

---

A isonicotinamida e picolinamida têm sido recentemente estudadas, conjuntamente com a nicotinamida, como agentes com actividade antinociceptiva e anti-inflamatória [203]. A isonicotinamida é reconhecida como um activador de sirtuínas, as quais desempenham um papel importante na regulação de vários processos biológicos [204-206]. Por seu lado, a picolinamida é tida como actuando como inibidor de poli(ADP-ribose) sintetase e com acção na redução de danos renais induzidos por ferro [207, 208].

As três piridinacarboxamidas têm também sido alvo de grande interesse na síntese de compostos supramoleculares, com ênfase em co-cristais farmacêuticos [209-213]. Estes dois isómeros da nicotinamida diferem desta apenas na posição do átomo de azoto do anel piridina relativamente ao grupo amida: na molécula da picolinamida o azoto aromático está na posição *orto* e na isonicotinamida na posição *para*, como se pode verificar na Figura 3.1. O trabalho desenvolvido nesta dissertação teve como propósito investigar novas formas sólidas com potencial para melhoria das propriedades físico-

químicas do diflunisal, e, além disso, obter dados que permitissem discutir o efeito das mudanças estruturais nas moléculas das piridinacarboxamidas na formação de co-cristais com este API. Também no caso destes dois isómeros, a diferença de  $pK_a$  relativamente ao diflunisal,  $\Delta pK_a = 0,4$  para a INA e  $\Delta pK_a = -1,4$  para a PA, indicam uma propensão reduzida para formação de sais. (INA:  $pK_a = 3,67$  [214], PA:  $pK_a = 1,87$  [215]).



**Figura 3.1**-Estruturas moleculares das três piridinacarboxamidas isoméricas: a) Picolinamida; b) Nicotinamida; c) Isonicotinamida.

A pesquisa de co-cristais por reacção em fase sólida utilizando a mecanoquímica foi o método de eleição escolhido neste trabalho, e a caracterização das fases sólidas dos co-formadores (e do API, obviamente) reveste-se, portanto, de grande importância.

O polimorfismo da isonicotinamida tem sido alvo de vários estudos recentes sendo referida a existência de 5 polimorfos [181, 216, 217], apesar de 3 deles apenas terem sido detectados de forma irreprodutível (III, IV e V). A forma I seria obtida por cristalização em solventes doadores de próton em ligação de hidrogénio [216]. Existe na literatura alguma confusão na identificação dos polimorfos I e II da isonicotinamida. Neste trabalho, mantemos a designação dada por Aakeroy [216].

Na estrutura cristalina do polimorfo I, [código EHOWIH01] (iso2 na nomenclatura de Caira *et al* [181]), estável à temperatura ambiente, as moléculas associam-se em dímeros amida-amida, centrossimétricos, Figura 3.2. Este dímero está ausente em todos os outros polimorfos nos quais é registada a existência de ligação de hidrogénio amida- $N_{\text{aromático}}$ , que não existe no polimorfo I. Esta forma sólida tem uma relação enantiotrópica com a forma II, [código EHOWIH02, iso1] cuja célula unitária se mostra na Figura 3.3. Este é o polimorfo estável a temperatura elevada ( $T > 120$  °C) [181]. Assim, para além das diferenças relativamente a nicotinamida a nível molecular, também a nível de estado sólido a isonicotinamida apresenta diferenças relevantes.

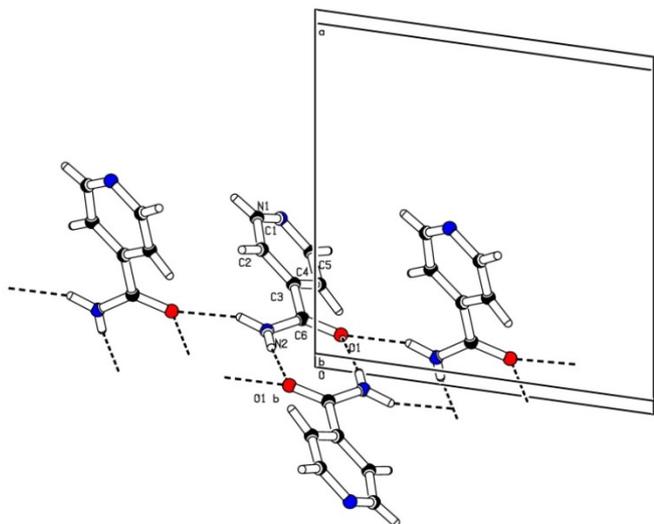


Figura 3.2 Célula unitária da isonicotinamida, polimorfo I [216].

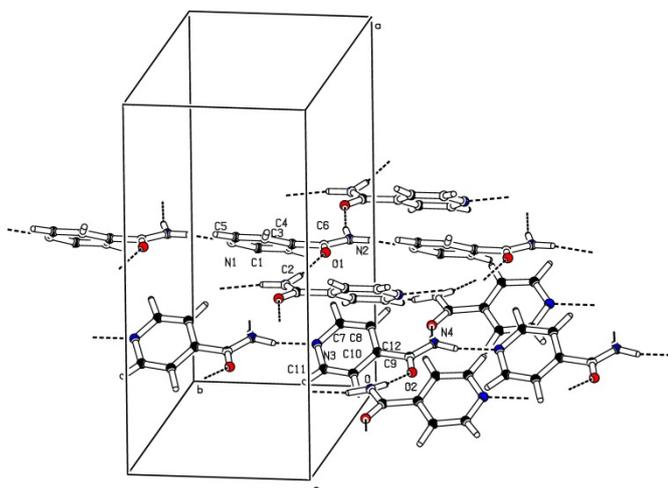


Figura 3.3 Célula unitária da isonicotinamida, polimorfo II [216].

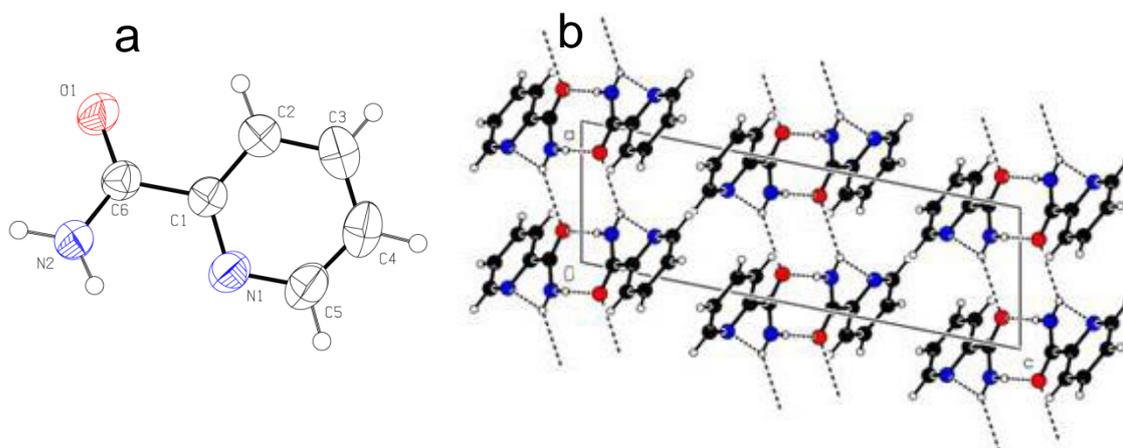
No que diz respeito à picolinamida, no início deste trabalho havia apenas referência na literatura a uma estrutura sólida, resolvida por Takano *et al*, em 1966 [218]. Foi, por isso, levada a cabo a investigação do estado sólido desta piridinocarboxamida, em condições relevantes para o estudo que se pretendia realizar.

### 3.1 Investigação do polimorfismo da picolinamida

A amostra comercial de picolinamida foi identificada, por XRPD, como a forma sólida descrita por Takano [218] e que neste trabalho será denominada forma II. A partir

de monocristais de boa qualidade, a estrutura foi redeterminada a 293 K apresentando-se na Figura 3.4 o diagrama ORTEP e a respectiva célula unitária.

Este cristal contém moléculas de picolinamida, correspondentes a um único conformero, no qual o ângulo de torção O1–C6–C1–C2 do grupo carboxamida relativamente ao anel aromático é de 18,34(1)°. As moléculas associam-se em dímeros centrossimétricos amida-amida e, dímeros adjacentes são agregados por associação por ligação de hidrogénio N–H···O, alinhadas perpendicularmente ao longo do eixo dos dímeros. O azoto piridínico não participa em ligações intermoleculares, estando envolvido numa ligação intramolecular que tem ângulo de ligação no limite do que é usualmente aceite para a ligação de hidrogénio [219, 220]. Na Tabela 3.1 apresentam-se os parâmetros de ligação de hidrogénio neste polimorfo de picolinamida.



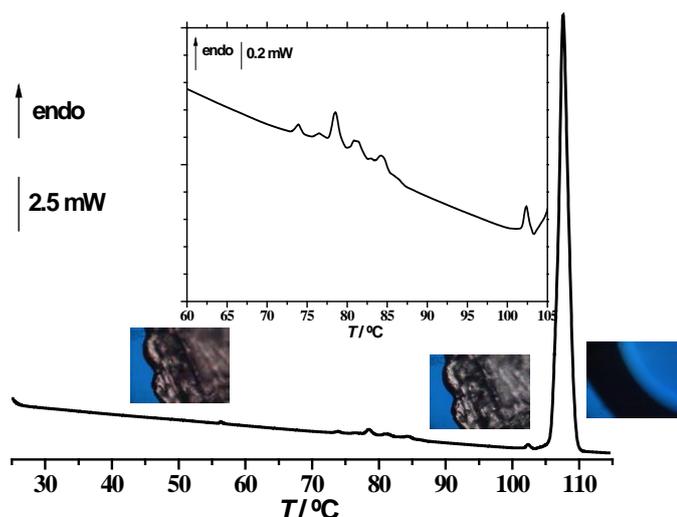
**Figura 3.4.a.** ORTEP do polimorfo II da picolinamida (Elipsóides desenhados ao nível de 50 % de probabilidade. (Os átomos de hidrogénio são desenhados como esferas de raio arbitrário); **b.** Célula unitária do polimorfo II da picolinamida (ligações de hidrogénio representadas por linhas a tracejado).  $T = 293$  K.

**Tabela 3.1** Parâmetros geométricos das ligações de hidrogénio, picolinamida, polimorfo II,  $T = 293$  K.

|                           | H···A / Å | D···A / Å  | $\angle$ D–H···A / ° |
|---------------------------|-----------|------------|----------------------|
| N2–H2A...O1 <sup>i</sup>  | 1,971(14) | 2,9249(17) | 173,9(13)            |
| N2–H2B...O1 <sup>ii</sup> | 2,395(16) | 3,0441(14) | 130,1(12)            |
| N2–H2B...N1               | 2,367(15) | 2,7196(17) | 103,9(11)            |

<sup>i</sup>: -x,-y,-z; <sup>ii</sup>: -l+x,y,z

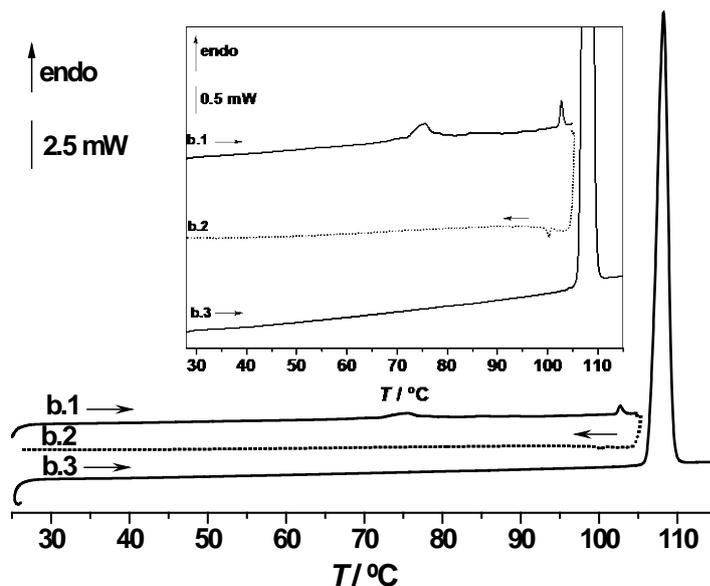
O comportamento térmico do polimorfo II, investigado pelo uso conjunto de DSC e PLTM, Figura 3.5, revelou a ocorrência de uma transição sólido-sólido que tipicamente se estende entre  $T \sim 60\text{ °C}$  e  $T \sim 100\text{ °C}$  ( $\beta = 10\text{ °C/min}$ ), seguida de fusão do novo polimorfo, I, a  $T_{fus, I} = (106,4 \pm 0,4)$  com  $\Delta_{fus}H_I = (19,4 \pm 0,4)\text{ kJ/mol}$  ( $n = 10$ ). Na maioria das experiências é ainda registado nas curvas de DSC, um pico endotérmico de baixa energia (sempre inferior a  $0,3\text{ kJ/mol}$ ) a  $T = (102,2 \pm 0,4)\text{ °C}$  ( $n = 8$ ).



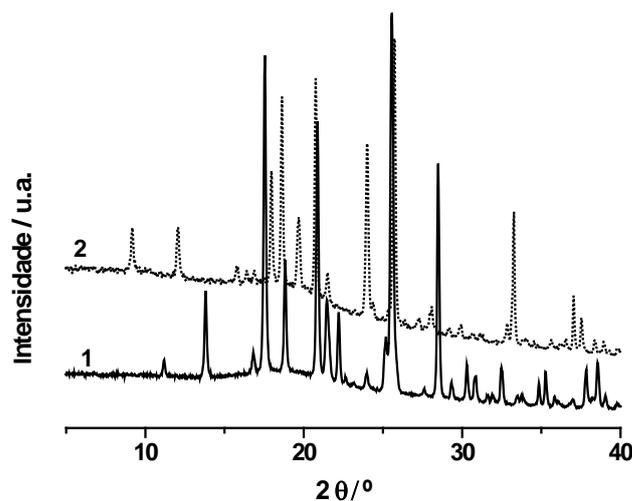
**Figura 3.5** Curva de DSC e imagens de PLTM obtidas no aquecimento de picolinamida comercial, polimorfo II, entre 25 e 115 °C,  $m = 1,41\text{ mg}$ ;  $\beta = 10\text{ °C/min}$ , ampliação 200x.

As curvas registadas no ciclo de varrimentos, em DSC, mostrado na Figura 3.6, permitem propor que esta última transição poderá corresponder à fusão de uma quantidade residual de forma II; o líquido formado cristalizaria no arrefecimento, curva b.2, Figura 3.6, e no aquecimento subsequente, b.3, Figura 3.6, apenas se observa a fusão da forma I. Este ensaio permite também concluir que a transição sólido-sólido é cineticamente impedida no arrefecimento, pelo menos nas condições que foram testadas neste trabalho, o que permitiu isolar a forma I.

Os difractogramas de pó da forma comercial e do sólido obtido da cápsula de DSC após o ciclo (b.1+b.2), Figura 3.6, apresentam-se na Figura 3.7.



**Figura 3.6** Curvas de DSC aquecimento/arrefecimento; amostra de partida: picolinamida, II,  $m = 1,43$  mg;  $\beta = |10|$  °C/min. **b1.** 25 °C → 105 °C; **b2.** 105 °C → 25 °C; **b3.** 25 °C → 115 °C após o varrimento **b2**.



**Figura 3.7** Difractogramas de raios-X de pó de picolinamida. 1. amostra de partida: picolinamida, II, 2. Amostra obtida por DSC após um ciclo térmico (b1+b2), Figura 3.6

A informação obtida por DSC/PLTM serviu de base para o planeamento da experiência que conduziu à obtenção de monocristais do polimorfo I de picolinamida. Foi possível gerar monocristais por sublimação da forma comercial numa estufa a 90 °C. A amostra de partida foi introduzida num balão cónico fechado e os cristais da nova forma condensaram nas paredes do frasco, Figura 3.8. Os parâmetros cristalográficos dos dois polimorfos de picolinamida são mostrados na Tabela 3.2.



Figura 3.8 Imagem dos cristais de picolinamida, polimorfo I, obtidos por sublimação da forma II em estufa, a 90 °C.

O diagrama ORTEP do polimorfo I e a célula cristalina estão representados na Figura 3.9.

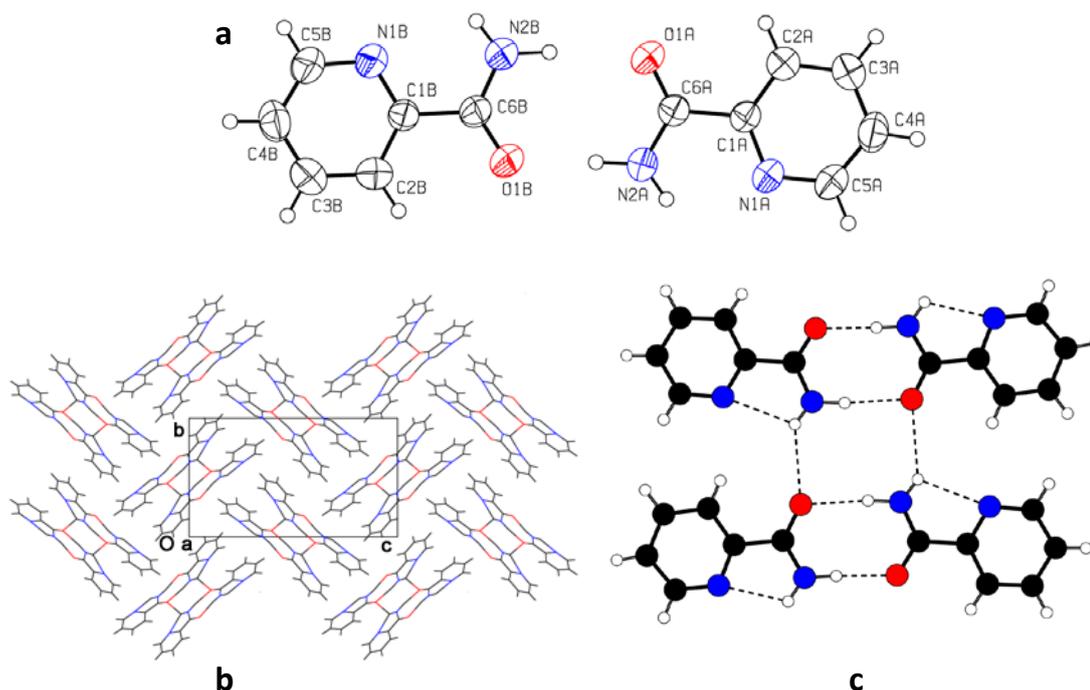


Figura 3.9 a. ORTEP do polimorfo I da picolinamida (Elipsóides desenhados ao nível de 50 % de probabilidade). Os átomos de hidrogénio são desenhados como esferas de raio arbitrário); b. Empacotamento na picolinamida I; c. Um tetrâmero formado por ligações de hidrogénio representadas como linhas tracejadas.

Neste caso há dois conformémeros diferentes na célula monoclinica, um deles com ângulo de torsão C2–C1–C6–O1 de  $-7,9(3)^\circ$ , sendo que no outro a molécula é quase

planar (ângulo C2–C1–C6–O1 = 0,7(3)°). Também aqui ocorre a formação de dímeros centrossimétricos amida-amida, que se ligam dois a dois formando tetrâmeros, Figura 3.9 .c que se empilham segundo o eixo a. Este é um arranjo que não é observado em nenhuma das estruturas de piridinacarboxamidas conhecidas. Mais uma vez o azoto piridínico aparece envolvido apenas na potencial ligação de H intramolecular de baixa energia (na Tabela 3.3 apresentam-se os parâmetros de ligação de hidrogénio, neste polimorfo).

**Tabela 3.2.** Parâmetros cristalográficos dos polimorfos I e II da picolinamida, T = 293 K.

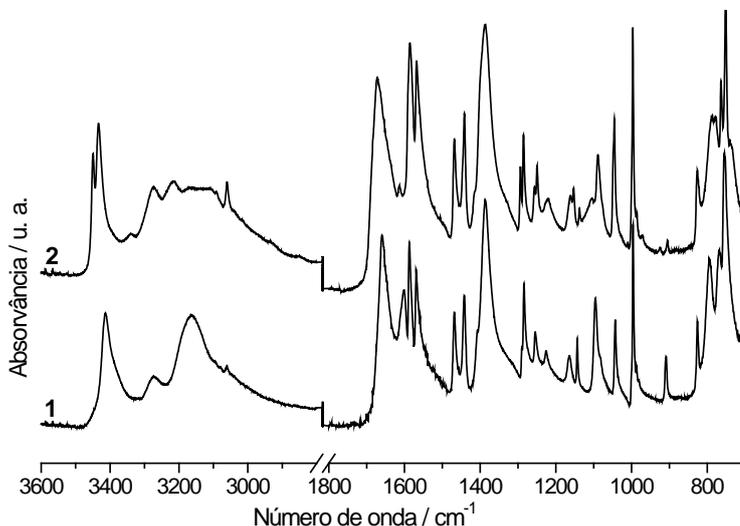
|                                      | Forma I            | Forma II           |
|--------------------------------------|--------------------|--------------------|
| Sistema cristalino                   | Monoclínico        | Monoclínico        |
| Grupo espacial                       | $P2_1/c$           | $P2_1/c$           |
| Forma e cor do cristal               | prisma, incolor    | prisma, incolor    |
| Tamanho do cristal / mm <sup>3</sup> | 0,18 x 0,12 x 0,05 | 0,30 x 0,22 x 0,14 |
| a / Å                                | 5,3463(2)          | 5,1973(3)          |
| b / Å                                | 11,3075(5)         | 7,0850(4)          |
| c / Å                                | 19,9400(10)        | 16,114(10)         |
| $\alpha$ / °                         | 90                 | 90                 |
| $\beta$ / °                          | 98,087(3)          | 101,233(4)         |
| $\gamma$ / °                         | 90                 | 90                 |
| V / Å <sup>3</sup>                   | 1193,45(9)         | 592,74(6)          |
| Z                                    | 8                  | 4                  |
| d / mg m <sup>-3</sup>               | 1,359              | 1,369              |
| $\mu$ / mm <sup>-1</sup>             | 0,097              | 0,097              |
| Refleções coligadas/únicas           | 13087/2287         | 12204/1309         |
| $R_{int}$                            | 0,0602             | 0,0349             |
| G·F                                  | 1,072              | 0,966              |
| Índices R finais                     | $R_1 = 0,0461$     | $R_1 = 0,0376$     |
| [I > 2 · (I)]                        | $wR_2 = 0,1014$    | $wR_2 = 0,0896$    |

**Tabela 3.3.** Parâmetros geométricos das ligações de hidrogénio, picolinamida, polimorfo I, T = 293 K.

|                           | H...A / Å | D...A / Å | $\angle$ D–H...A / ° |
|---------------------------|-----------|-----------|----------------------|
| N2A–H1...O1B              | 1,87(2)   | 2,826(3)  | 172(2)               |
| N2B–H3...O1A <sup>i</sup> | 2,52(2)   | 3,200(3)  | 136,0(19)            |
| N2B–H4...O1A              | 2,05(3)   | 3,040(3)  | 173(3)               |
| N2A–H2...N1A              | 2,23(3)   | 2,664(3)  | 110,2(19)            |

i: 1-x, 1-y, -z.

O espectro de infravermelho do polimorfo I, difere do da forma II, Figura 3.10, especialmente na região da elongação assimétrica do  $\text{NH}_2$ ,  $\nu_{\text{as}}(\text{NH}_2) = 3417 \text{ cm}^{-1}$ , forma II;  $\nu_{\text{as}}(\text{NH}_2) = 3450 / 3436 \text{ cm}^{-1}$ , forma I), na da elongação simétrica do  $\text{NH}_2$  ( $\nu_{\text{s}}(\text{NH}_2) = 3276 / 3178 \text{ cm}^{-1}$ , forma II;  $\nu_{\text{s}}(\text{NH}_2) = 3338 / 3279 / 3216 / 3171/3110 \text{ cm}^{-1}$ , forma I), e na elongação  $\text{C}=\text{O}$  ( $\nu(\text{C}=\text{O}) = 1662 \text{ cm}^{-1}$ , forma II;  $\nu(\text{C}=\text{O}) = 1680 \text{ cm}^{-1}$ , forma I). Pela semelhança dos espectros de infravermelho, o polimorfo I é a forma sólida obtida por Borba *et al.* [221] a  $7^\circ\text{C}$ , por *annealing* do vidro formado por deposição de vapor a  $-263^\circ\text{C}$ .



**Figura 3.10.** Espectros de infravermelho de polimorfos da picolinamida. 1. Polimorfo II; 2. Polimorfo I.

Foram também efectuadas algumas experiências de cristalização em solução utilizando etanol e acetato de etilo como solventes (0,5 mmol de picolinamida/5mL de solvente, filtrado para a caixa de Petri). Após evaporação do solvente à temperatura ambiente (*ca.*  $20^\circ\text{C}$ ), os sólidos obtidos foram analisados tipicamente decorrida uma semana, verificando-se que em todas as experiências foi obtido o polimorfo II, Figura 3.11.

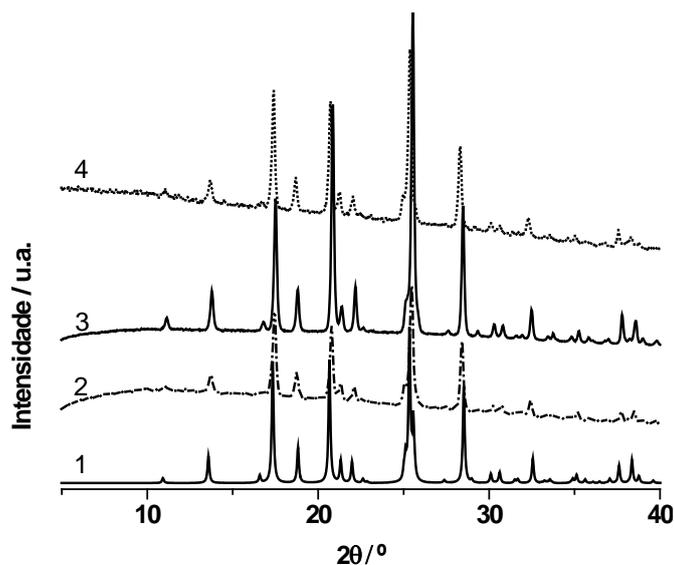


Figura 3.11. Difractogramas de raios-X de pó de picolinamida. 1. Simulado para o polimorfo II; 2. Amostra comercial; 3. Amostra cristalizada em etanol; 4. Amostra cristalizada em acetato de etilo.

No entanto, as diferenças de hábito cristalino e/ou a eventual presença de uma quantidade residual do polimorfo I, têm um efeito considerável no comportamento térmico, como é visível nas Figura 3.12 e Figura 3.13. Os ensaios de PLTM foram realizados com o equipamento descrito no anexo A1.5.

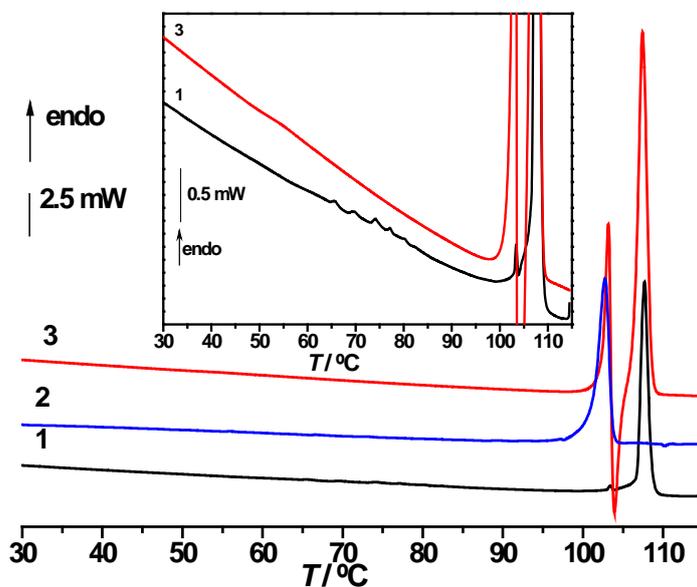
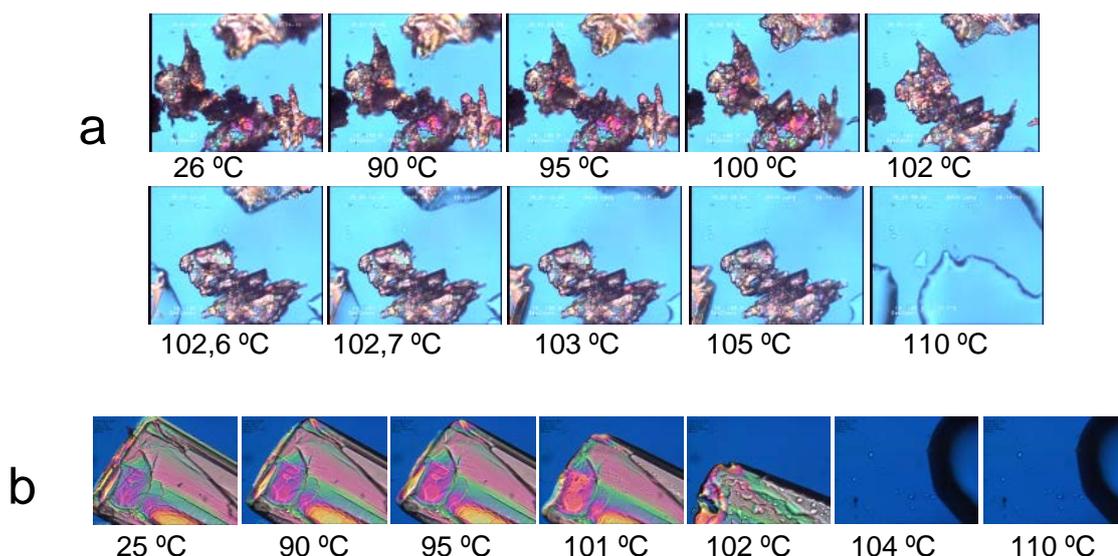


Figura 3.12. Curvas de DSC registadas no aquecimento de amostras de picolinamida cristalizadas em solventes, nas condições descritas no texto. 1. de etanol; 2. e 3. de acetato de etilo;  $\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$ .



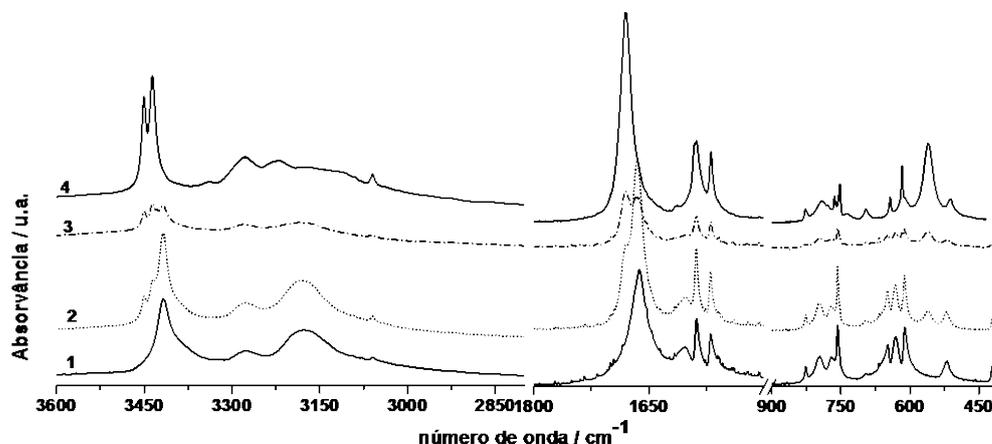
**Figura 3.13.** Imagens de PLTM recolhidas no aquecimento de duas amostras de picolinamida, II, obtidas por cristalização em acetato de etilo;  $\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C/min}$ , ampliação 200x.

Para o sólido obtido em etanol o termograma registado não difere do da substância comercial, Figura 3.12.1. Em duas das experiências realizadas com cristais obtidos em acetato de etilo, de maior dimensão, foi possível observar a fusão do polimorfo II, Figura 3.12.2 e Figura 3.13.b ( $T_{\text{fus,II}} = 102 \text{ }^\circ\text{C}$ ,  $\Delta_{\text{fus}}H_{\text{II}} = 20,4$  e  $20,6 \text{ kJ/mol}$ ). Foi mais comum que tivesse lugar a transição parcial de II para I, observando-se depois a fusão da fase II remanescente, seguido de recristalização do líquido e fusão do polimorfo I, Figura 3.12.3 e Figura 3.13.a. Os resultados obtidos estão em consonância com o que se espera para um sistema enantiotrópico [222, 223]: transição endotérmica  $\text{II} \rightarrow \text{I}$ , com  $\Delta_{\text{fus}}H_{\text{II}} > \Delta_{\text{fus}}H_{\text{I}}$ , e um *blueshift* nas bandas de infravermelho do polimorfo I quando comparado com o do polimorfo II. A fase II será termodinamicamente estável à temperatura ambiente.

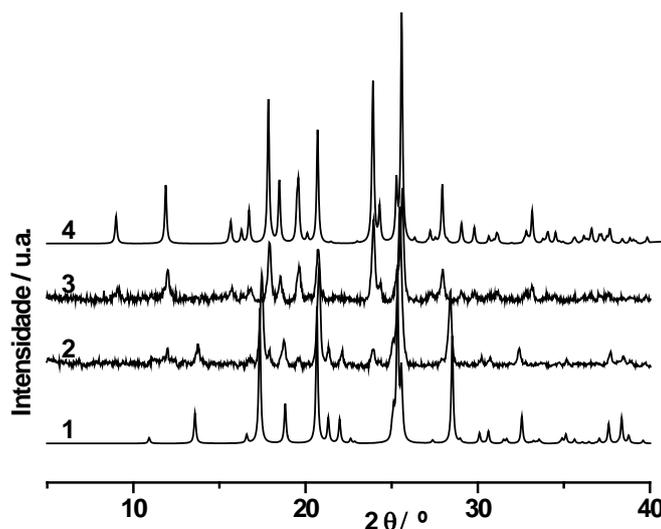
### 3.1.1 Transformações induzidas por mecanoquímica

Uma vez que é objectivo deste trabalho a síntese de co-cristais por mecanoquímica usando a picolinamida como co-formador, foi também investigado o comportamento desta piridinacarboxamida quando submetida a moagem. As experiências (anexo A1.3), realizadas com frequência de 15 Hz e sem assistência de qualquer solvente resultam em conversão da forma comercial, polimorfo II, no

polimorfo I numa extensão que depende do tempo de moagem, Figura 3.14 e Figura 3.15.



**Figura 3.14** Espectros de infravermelho, picolinamida. 1. Polimorfo II; 2. Amostra obtida por moagem de II, sem assistência de solvente, a 15 Hz, durante 30 min; 3. Amostra obtida por moagem de II, sem assistência de solvente, a 15 Hz, durante 60 min 4. Amostra obtida por moagem de II, sem assistência de solvente, a 15 Hz, durante 120 min, polimorfo I.

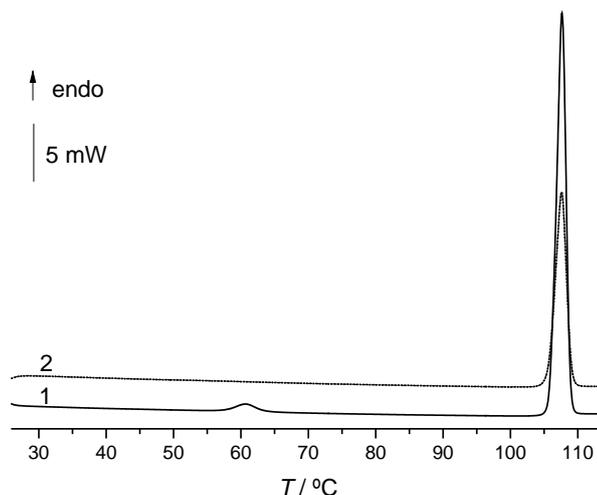


**Figura 3.15** Difractogramas de raios-X de pó de picolinamida. 1. Simulado para o polimorfo II; 2. Amostra obtida por moagem de II, sem assistência de solvente, a 15 Hz, durante 60 min; 3. Amostra obtida por moagem de II, sem assistência de solvente, a 15 Hz, durante 120 min 4. Simulado para o polimorfo I.

Após 30 ou 60 minutos de moagem é evidente a presença de uma mistura das 2 formas, enquanto que após 120 minutos a conversão no polimorfo I é completa.

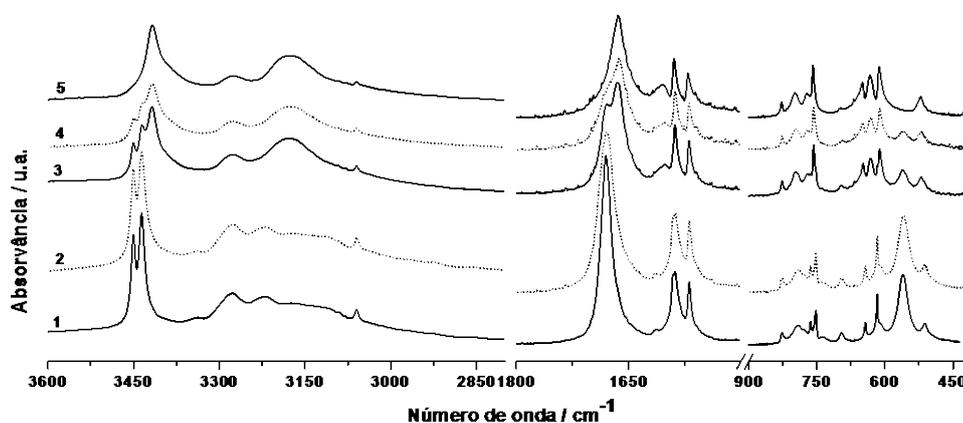
A curva de DSC do polimorfo I, obtido por mecanoquímica, Figura 3.16.2 apresenta uma transição de fase correspondente à fusão com  $\Delta_{fus}H_I = (19,2 \pm 0,3)$  kJ/mol. A transição sólido-sólido, é, como se espera, observada para misturas sujeitas a moagem

por 30 ou 60 minutos, Figura 3.16.1 - um pico endotérmico bem definido a  $T = (58,1 \pm 1,2) ^\circ\text{C}$  ( $n = 7$ ).



**Figura 3.16** Curvas de DSC de aquecimento de amostras de picolinamida. 1. Amostra obtida por moagem de II, sem assistência de solvente, a 15 Hz, durante 30 min; 2. Amostra obtida por moagem de II, sem assistência de solvente, a 15 Hz, durante 120 min;  $\beta = 10 ^\circ\text{C}/\text{min}$ .

A amostra de polimorfo I, gerada por mecanoquímica evolui para forma II quando armazenada à temperatura ambiente, Figura 3.17, como é espectável, com cinética favorável, para este sistema enantiotrópico.



**Figura 3.17** Espectros de infravermelho, picolinamida. 1. Amostra de polimorfo I obtida por mecanoquímica sem assistência de solvente, a partir da forma II. 2. A mesma amostra guardada em exsiccador à temperatura ambiente durante: 2. 3 dias; 3. 13 dias; 4. 16 dias. 5. Polimorfo II.

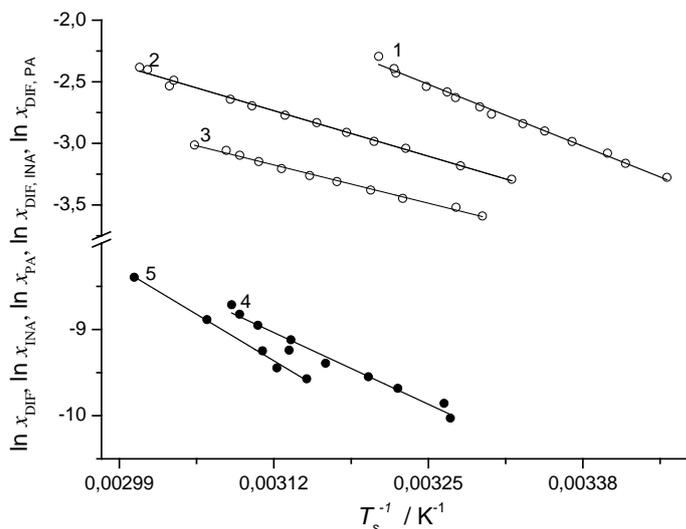
A presença de quantidades diminutas de solvente e a sua natureza, poderão dar lugar a comportamentos de transição de fase diferentes, em processos de mecanoquímica [139]. Assim, foram realizadas também experiências de moagem com frequência de 15 Hz e assistência de 10  $\mu\text{l}$  de solventes seleccionados por forma a variar

a polaridade e capacidade de participar em ligação de hidrogénio (*n*-heptano, tolueno, acetato de etilo, dimetilsulfóxido, álcool isopropílico, metanol, etanol). Em todas as experiências realizadas a presença de solventes estabiliza o polimorfo II, mesmo após 120 minutos de moagem (com *n*-heptano foi necessário usar 20 µl de solvente).

### 3.2 Pesquisa e caracterização de co-cristais (diflunisal + isonicotinamida) e (diflunisal +picolinamida)

A viabilidade da co-cristalização do diflunisal com a picolinamida e com a isonicotinamida foi verificada, tal como para o sistema (diflunisal+nicotinamida), aplicando a metodologia descrita por ter Horst *et al.*, [182] com o equipamento Crystall6 da Avantium Technology, utilizando etanol como solvente.

Os valores experimentais obtidos para a solubilidade dos dois co-formadores neste solvente podem ser descritas pela equação de van't Hoff simplificada, equação 2.7, como se pode verificar na Figura 3.18 e Tabela 3.4.

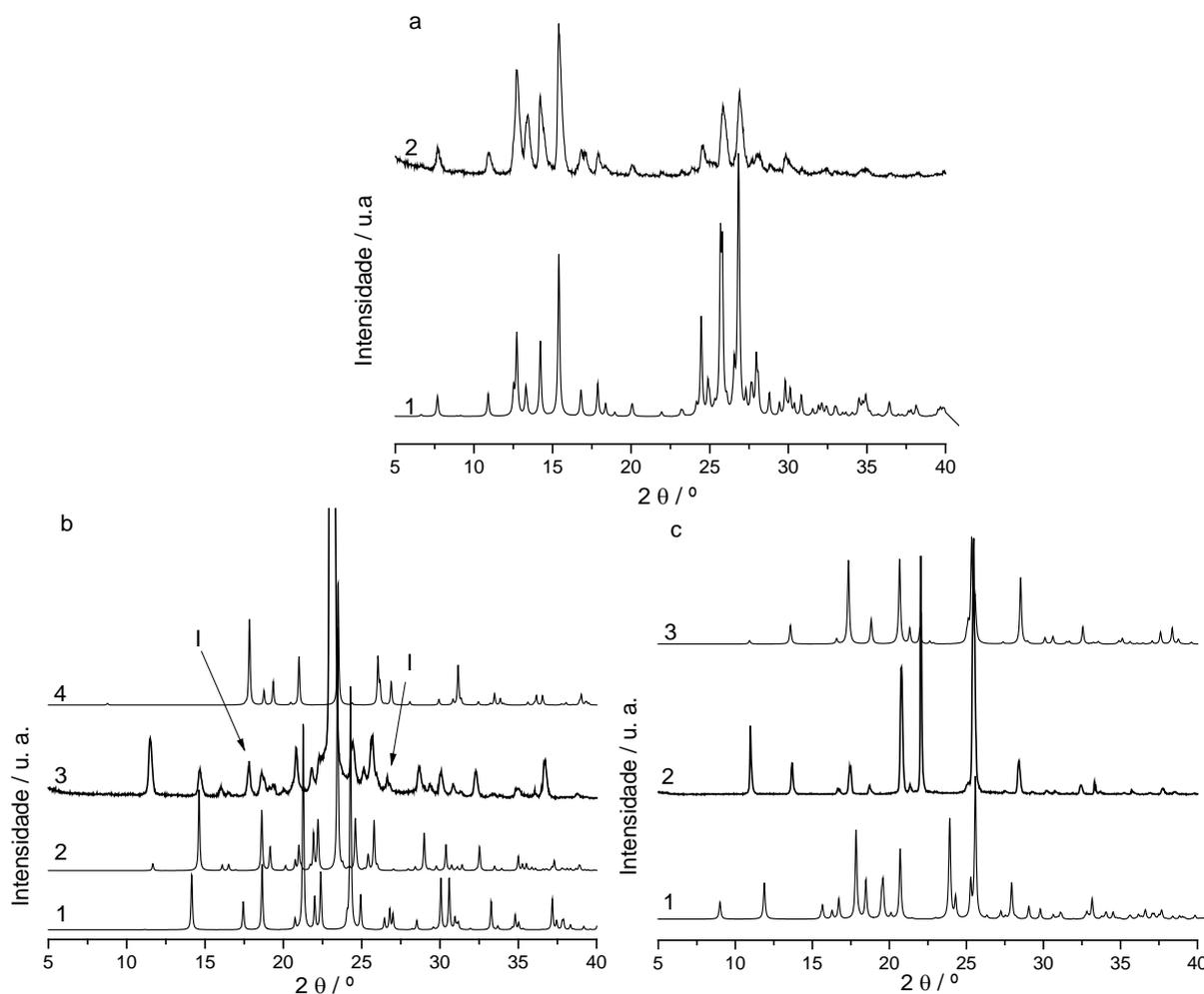


**Figura 3.18** Gráfico da equação de van't Hoff, eq. 2.7. 1. picolinamida, 2. isonicotinamida, 3. Diflunisal. hipotéticos co-cristais 4. DIF+INA e 5. DIF+PA ; solvente etanol.

**Tabela 3.4** Parâmetros de ajuste à equação 2.7 dos dados experimentais obtidos na determinação das temperaturas de saturação, com o equipamento Crystall6, para diflunisal, isonicotinamida e picolinamida em etanol.

|                 | $-(\Delta H/R) / K$            | $-\Delta H/(RT_0)$ | Coefficiente de correlação |
|-----------------|--------------------------------|--------------------|----------------------------|
| Diflunisal      | $(23,97 \pm 0,56) \times 10^2$ | $4,30 \pm 0,17$    | 0,997                      |
| Isonicotinamida | $(28,42 \pm 0,61) \times 10^2$ | $6,13 \pm 0,19$    | 0,997                      |
| Picolinamida    | $(38,55 \pm 0,94) \times 10^2$ | $10,01 \pm 0,31$   | 0,996                      |

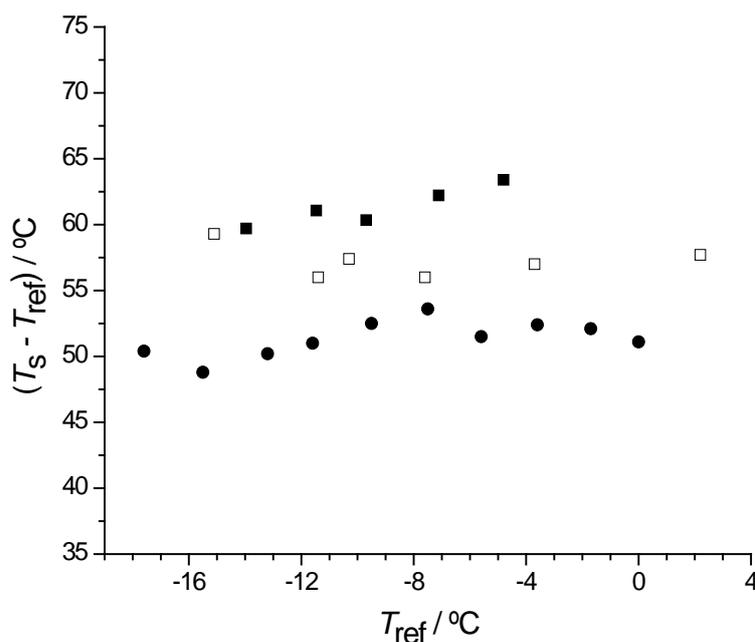
A análise por difração de raios-X de pó confirmou que os sólidos em equilíbrio com as soluções são o diflunisal forma III, como foi referido no capítulo anterior, a isonicotinamida, forma II, (iso1) com alguma contaminação da forma I, (iso2) e a picolinamida, forma II, Figura 3.19.



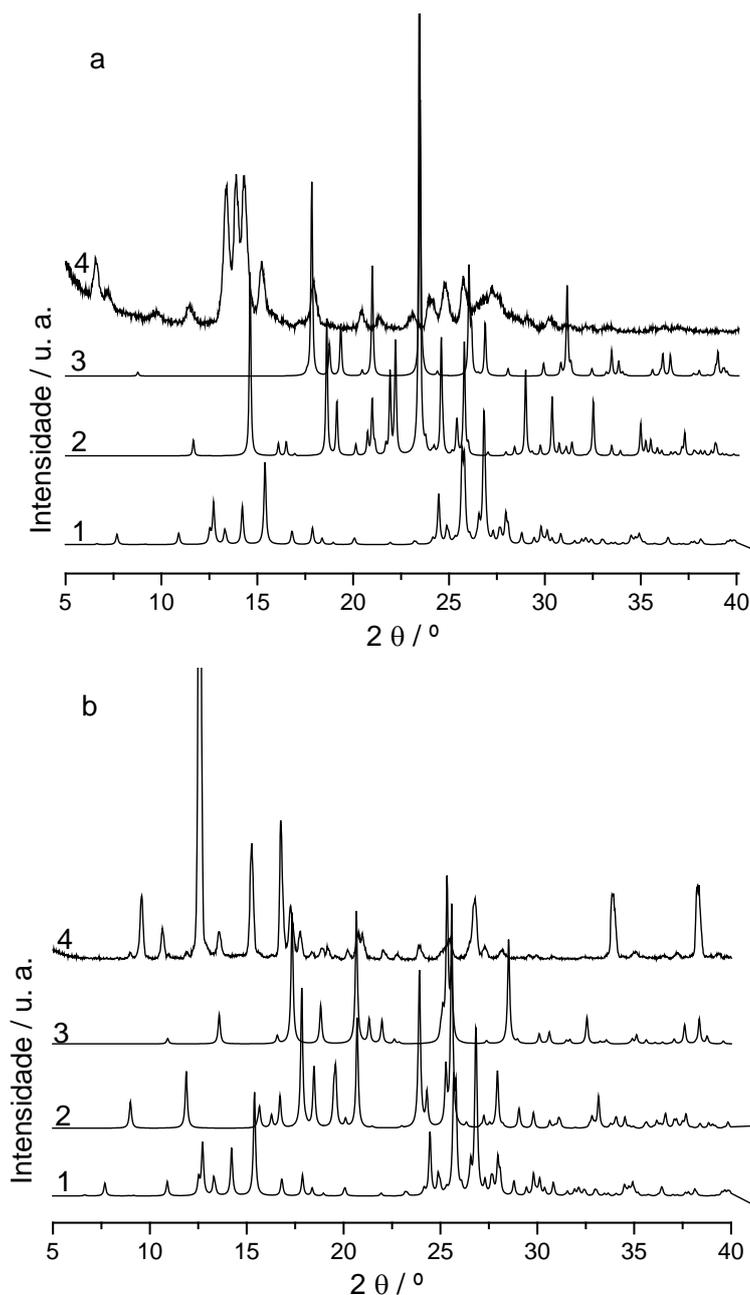
**Figura 3.19** Difractogramas de raios-X de pó. a. 1. Simulado para o polimorfo III do diflunisal [170]; 2. Diflunisal cristalizado em etanol (Crystall6); b.1. Simulado para o polimorfo Iso3, da isonicotinamida [181]; 2. Simulado para o polimorfo II, iso1, da isonicotinamida [224]; 3. Isonicotinamida, cristalizada em etanol (Crystall6); 4. Simulado do polimorfo I, (iso2) da isonicotinamida [216]; c.1. Simulado para o polimorfo I da picolinamida; 2. Picolinamida, cristalizada em etanol (Crystall6); 3. Simulado para o polimorfo II da picolinamida.

Numa segunda etapa, foram determinadas, depois de dissolvidas e recristalizadas em etanol, as temperaturas de saturação  $T_s$ , de misturas com composições  $(x_{DIF}^*, x_{Cof}^*)$ .

Os valores foram comparados com as temperaturas de saturação de referência,  $T_{ref}$ , para soluções em etanol, do diflunisal puro ou dos potenciais co-formadores puros com a mesma concentração  $x_{DIF}^*$  e  $x_{Cof}^*$ , respectivamente, obtidos a partir da equação de van't Hoff (2.7), com os parâmetros da Tabela 3.4. Os valores experimentais de  $T_s$  são superiores a  $T_{ref}$  em ambos os casos, como mostrado na Figura 3.20. Deste modo, a formação de co-cristal entre diflunisal e picolinamida, bem como com a isonicotinamida é possível do ponto de vista termodinâmico. Nos difractogramas de raios-X de pó dos sólidos gerados a partir das soluções API+co-formador podem observar-se novas reflexões, como é esperado quando se forma uma nova entidade sólida, Figura 3.21.



**Figura 3.20** Diferença  $(T_s - T_{ref})$  entre as temperaturas de saturação medidas,  $T_s$ , de amostras com composições  $(x_{DIF}^*(T_{ref}), x_{Cof}^*(T_{ref}))$ , e a temperatura para a qual a solubilidade dos componentes puros é  $(x_{DIF}^*(T_{ref})$  e  $x_{Cof}^*(T_{ref})$ , (●) diflunisal + isonicotinamida; (□) diflunisal + picolinamida. (■) diflunisal + nicotinamida.



**Figura 3.21.** Difractogramas de raios-X de pó. a.1. Simulado para o polimorfo III do diflunisal[170]; 2. Simulado para o polimorfo II Iso1, da isonicotinamida [224]; 3. Simulado para o polimorfo I, Iso2, da isonicotinamida [216] ; 4. Experimental obtido das misturas diflunisal + isonicotinamida cristalizadas em etanol nas experiências realizadas com o equipamento Crystal16. b.1. Simulado para o polimorfo III do diflunisal[170]; 2. Simulado para o polimorfo I da picolinamida [219] ; 3. Simulado para o polimorfo II da picolinamida [218, 219]; 4. Experimental obtido de misturas diflunisal + picolinamida cristalizadas em etanol nas experiências realizadas com o equipamento Crystal16.

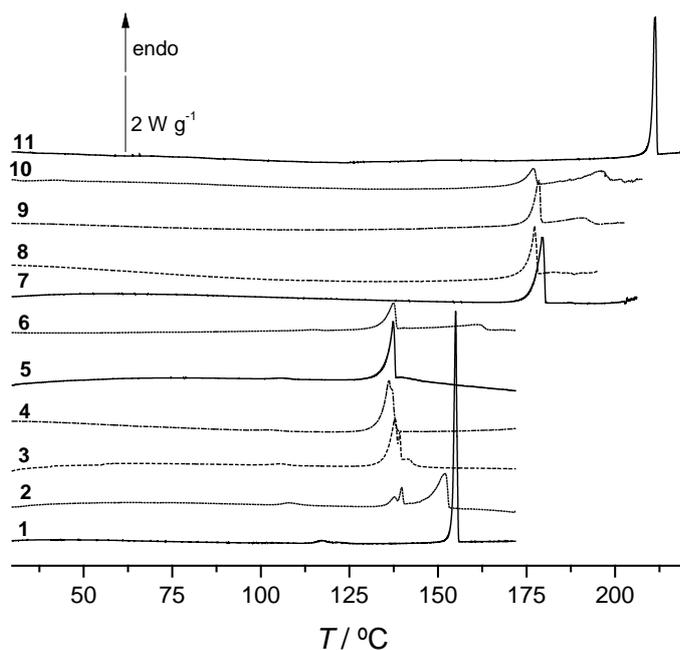
### **3.2.1 Estabelecimento do diagrama de fases sólido-líquido dos sistemas (diflunisal+isonicotinamida) e (diflunisal+picolinamida). Determinação da estequiometria dos co-cristais.**

Para a construção dos diagramas de fases binários (sólido+líquido) dos sistemas (diflunisal+isonicotinamida) e (diflunisal+picolinamida), foi utilizado o método já seguido para o sistema (diflunisal+nicotinamida). Realizaram-se, portanto, varrimentos de aquecimento em DSC de misturas com diferentes composições, preparadas por moagem, a  $\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$  e  $\beta = 2 \text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$ , a partir dos quais se determinaram o *solidus* e o *liquidus*. As misturas de diflunisal e de isonicotinamida foram preparadas por moagem sem assistência de solvente, (ver anexo A1.3), e nestas condições não foi registada alteração da forma sólida dos componentes de partida: diflunisal, forma I e isonicotinamida, polimorfo I, (iso2).

No caso da picolinamida, na generalidade dos ensaios, a moagem foi assistida por 10  $\mu\text{l}$  de etanol, o que resulta como já se referiu anteriormente, na transição do diflunisal I para diflunisal III e não ocasiona alteração na forma sólida original de picolinamida, forma II. Algumas misturas com  $x_{\text{DIF}} > 0,5$  foram preparadas sem adição de solvente.

#### **3.2.1.1 Diflunisal + Isonicotinamida**

Os valores de temperatura de interesse para todos os ensaios realizados são apresentados na Tabela 3.5. A Figura 3.22, representa um conjunto de termogramas ilustrativos do comportamento de sistema binário (diflunisal+isonicotinamida). Estes resultados foram utilizados na construção do diagrama de fases sólido+líquido, que se apresenta na Figura 3.23. Foi identificada a formação dum co-cristal (diflunisal:isonicotinamida) 2:1, com temperatura de fusão,  $T_{\text{fus}} = (179,1 \pm 0,3) \text{ }^\circ\text{C}$  e entalpia de fusão,  $\Delta_{\text{fus}}H_{\text{m}} = (88,6 \pm 1,8) \text{ kJ/mol}$  ( $n = 5$ ).



**Figura 3.22** Curvas de DSC de aquecimento seleccionadas para o sistema (diflunisal+isonicotinamida),  $\beta = 2\text{ }^\circ\text{C/min}$ . 1.  $x_{\text{DIF}} = 0$ , isonicotinamida; 2.  $x_{\text{DIF}} = 0,0502$ ; 3.  $x_{\text{DIF}} = 0,1667$ ; 4.  $x_{\text{DIF}} = 0,1999$ ; 5.  $x_{\text{DIF}} = 0,2501$ ; 6.  $x_{\text{DIF}} = 0,4004$ ; 7.  $x_{\text{DIF}} = 0,6667$ ; 8.  $x_{\text{DIF}} = 0,7484$ ; 9.  $x_{\text{DIF}} = 0,7996$ ; 10.  $x_{\text{DIF}} = 0,8572$ ; 11.  $x_{\text{DIF}} = 1$ .

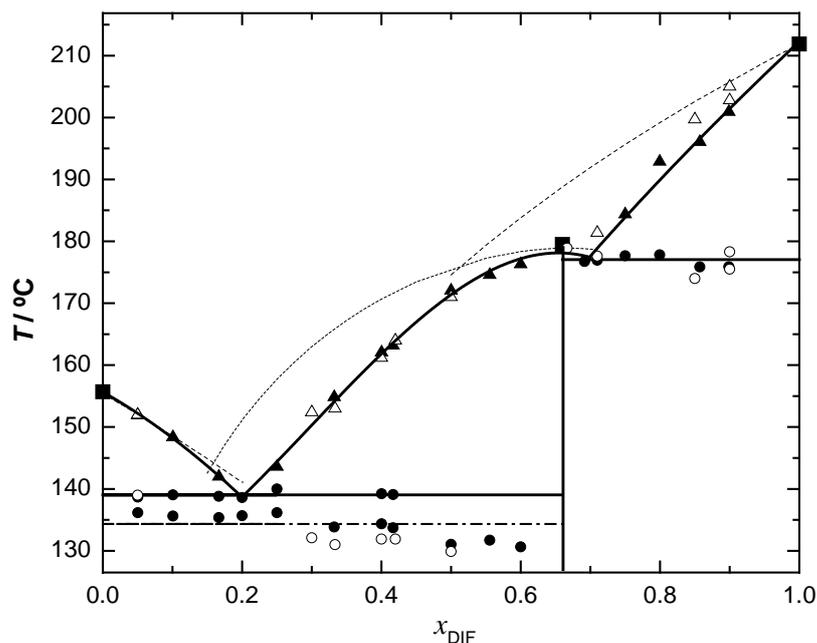
A isonicotinamida, polimorfo I (iso2), composto de partida, apresenta uma transição sólido-sólido no processo de aquecimento, como se observa na Figura 3.22, transformando-se no polimorfo II (iso1), como descrito na literatura [181] e confirmado nas experiências realizadas durante a execução deste trabalho. Nas curvas de DSC obtidas para as misturas que contêm um excesso do co-formador,  $x_{\text{DIF}} < 0,6667$ , aparece regularmente um pequeno pico endotérmico no termograma antes dos dois pontos invariantes a  $T_{\text{E1}} = (133,1 \pm 2,2)\text{ }^\circ\text{C}$ , ( $n = 12$ ), e  $T_{\text{E2}} = (139,1 \pm 0,6)\text{ }^\circ\text{C}$ , ( $n = 8$ ). Estes são imputáveis a dois pontos eutéticos envolvendo diferentes formas polimórficas da isonicotinamida, e o co-cristal. O diagrama de Tammann apresentado na Figura 3.24.a, foi obtido utilizando a soma dos valores das entalpias de ambos os picos, indicando uma composição eutética de  $x_{\text{DIF}} = 0,20$ . Estes valores de entalpia foram obtidos a partir das curvas de DSC traçadas com velocidade de varrimento  $\beta = 2\text{ }^\circ\text{C/min}$ , efectuando deconvolução, quando necessário. Foi registado ainda, um outro ponto invariante para composições  $x_{\text{DIF}} > 0,6667$  à temperatura,  $T_{\text{E3}} = (177,2 \pm 1,3)\text{ }^\circ\text{C}$ , ( $n = 6$ ). Os resultados apontam para uma composição de mistura eutética muito próximo da do co-cristal,  $x_{\text{DIF}} \approx 0,70$ . Também para este sistema é excluída a formação de soluções sólidas para as composições extremas do diagrama.

### Capítulo 3 Investigação da formação de co-cristal (diflunisal+isonicotinamida) e (diflunisal+picolinamida)

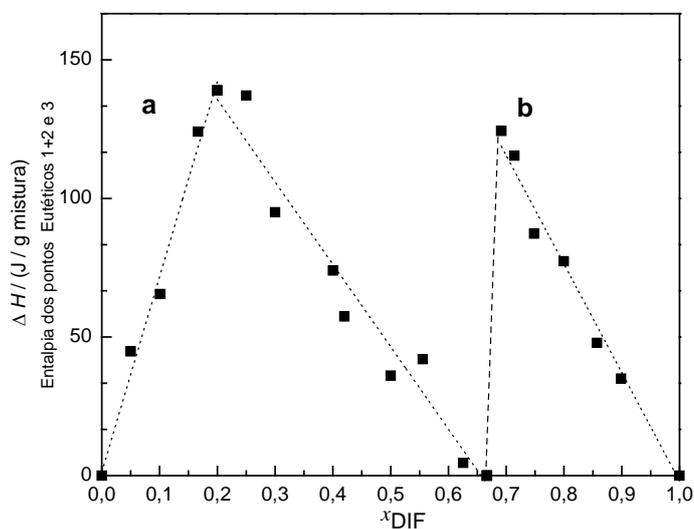
**Tabela 3.5** Temperaturas de transição  $T_{E1}$ ,  $T_{E2}$ ,  $T_{E3}$  e  $T_{liq}$  obtidas para as várias transições de fase observadas no aquecimento, em DSC, de misturas de (diflunisal+isonicotinamida) com diferentes fracções molares de diflunisal,  $x_{DIF}$ .

| $x_{DIF}$                | $T_{E1} / ^\circ C$ | $T_{E2} / ^\circ C$ | $T_{E3} / ^\circ C$ | $T_{liq} / ^\circ C$ | $x_{DIF}$                 | $T_{E1} / ^\circ C$ | $T_{E2} / ^\circ C$ | $T_{E3} / ^\circ C$ | $T_{liq} / ^\circ C$ |
|--------------------------|---------------------|---------------------|---------------------|----------------------|---------------------------|---------------------|---------------------|---------------------|----------------------|
| $\beta = 2 ^\circ C/min$ |                     |                     |                     |                      | $\beta = 10 ^\circ C/min$ |                     |                     |                     |                      |
| 0,0000                   |                     |                     |                     | 155,8                | 0,0000                    |                     |                     |                     | 155,8                |
| 0,0502                   | 136,2               | 138,7               |                     | 152,0                | 0,0502                    |                     | 139,1               |                     | 152,1                |
| 0,1008                   | 135,7               | 139,1               |                     | 148,4                | 0,3001                    | 132,2               |                     |                     | 152,5                |
| 0,1667                   | 135,4               | 138,9               |                     | 142,1                | 0,3323                    | 131,1               |                     |                     | 153,1                |
| 0,1999                   | 135,7               | 138,7               |                     |                      | 0,4002                    | 132,0               |                     |                     | 161,3                |
| 0,2501                   | 136,2               | 140,5               |                     | 143,6                | 0,4169                    | 132,0               |                     |                     | 164,1                |
| 0,3323                   | 133,9               | 139,3               |                     | 154,9                | 0,4999                    | 130,0               |                     |                     | 171,1                |
| 0,4004                   | 134,4               | 139,1               |                     | 162,1                | 0,6667                    |                     |                     |                     | 179,0                |
| 0,4169                   | 133,8               | 138,7               |                     | 163,2                | 0,7142                    |                     |                     | 177,7               | 181,5                |
| 0,4999                   | 131,1               |                     |                     | 172,1                | 0,8572                    |                     |                     | 174,1               | 196,8                |
| 0,5556                   | 131,8               |                     |                     | 174,6                | 0,8988                    |                     |                     | 178,4               | 202,9                |
| 0,6003                   | 130,7               |                     |                     | 176,4                | 1,0000                    |                     |                     |                     | 212,8                |
| 0,6254                   | 130,7               |                     |                     | 176,4                |                           |                     |                     |                     |                      |
| 0,6667                   |                     |                     |                     | 179,5                |                           |                     |                     |                     |                      |
| 0,6916                   |                     |                     | 176,8               |                      |                           |                     |                     |                     |                      |
| 0,7141                   |                     |                     | 177,0               |                      |                           |                     |                     |                     |                      |
| 0,7484                   |                     |                     | 177,7               | 184,4                |                           |                     |                     |                     |                      |
| 0,7996                   |                     |                     | 177,9               | 192,9                |                           |                     |                     |                     |                      |
| 0,8572                   |                     |                     | 177,9               | 196,1                |                           |                     |                     |                     |                      |
| 0,8988                   |                     |                     | 177,9               | 201,9                |                           |                     |                     |                     |                      |
| 1,000                    |                     |                     |                     | 212,8                |                           |                     |                     |                     |                      |

A previsão das temperaturas do *liquidus*, utilizando as equações 2.8 e 2.10, (admitindo  $\gamma_i = 1$ ), está representada na Figura 3.23, linhas tracejadas. São de registar desvios significativos a comportamento ideal para soluções ricas em diflunisal,  $x_{DIF} > 0,7$  com coeficientes de actividade que variam entre  $\gamma_{DIF} = 0,90$  para  $x_{DIF} = 0,8988$  e  $\gamma_{DIF} = 0,76$  para  $x_{DIF} = 0,7484$ . Para misturas mais abundantes em isonicotinamida os desvios à idealidade são menos significativos;  $\gamma_{INA} = 0,99$  para  $x_{DIF} = 0,0502$  e  $\gamma_{INA} = 0,98$  para  $x_{DIF} = 0,1667$ . Nestes últimos cálculos foram usadas os valores de temperatura e entalpia de fusão registados após aquecimento do polimorfo I da isonicotinamida,  $T_{fus} = (155,5 \pm 0,5) ^\circ C$  e  $\Delta_{fus}H_m = (22,9 \pm 0,5) kJ/mol$  ( $n = 6$ ).



**Figura 3.23** Diagrama de fases (sólido + líquido) do sistema (diflunisal + isonicotinamida). ●, ○, temperatura de fusão de um eutético, ▲, △, liquidus, ■, fusão de composto puro. (símbolos fechados,  $\beta = 2$  °C/min, símbolos abertos,  $\beta = 10$  °C/min); as linhas a cheio são guias para orientação visual (-----) descrição usando equação (2.8); (.....) descrição usando equação (2.10)..



**Figura 3.24** Diagramas de Tammann para o sistema (diflunisal+isonicotinamida) a.  $x_{DIF} \leq 0,6667$  b.  $x_{DIF} \geq 0,6667$ .

### 3.2.1.2 Diflunisal+Picolinamida

Para ambos os sistemas (diflunisal+isonicotinamida) e (diflunisal+nicotinamida), foi possível preparar co-cristais por moagem em moinho de bolas, na proporção de 2:1.

O diagrama de fases binário sólido-líquido do diflunisal com a *orto*-piridinacarboxamida, Figura 3.26, construído utilizando os dados da Tabela 3.6, evidencia claramente a formação de um composto de adição na proporção 1:1.

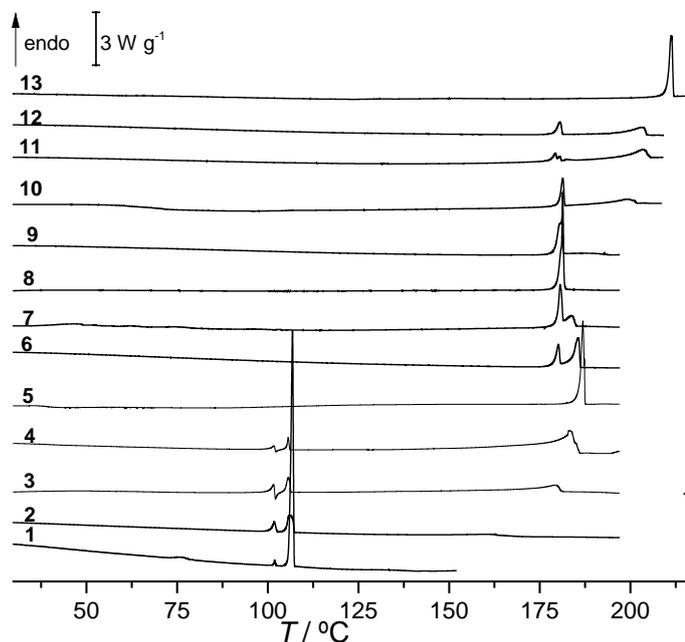
**Tabela 3.6.** Temperaturas de transição  $T_{E1}$ ,  $T_{E2}$ ,  $T_{E3}$  e  $T_{liq}$  obtidas para as transições de fase observadas no aquecimento em DSC de misturas de diflunisal+picolinamida,  $x_{DIF}$ - fracção molar de diflunisal,

| $x_{DIF}$                | $T_{E1} / ^\circ C$ | $T_{E2} / ^\circ C$ | $T_{E3} / ^\circ C$ | $T_{liq} / ^\circ C$ | $x_{DIF}$                 | $T_{E1} / ^\circ C$ | $T_{E2} / ^\circ C$ | $T_{E3} / ^\circ C$ | $T_{liq} / ^\circ C$ |
|--------------------------|---------------------|---------------------|---------------------|----------------------|---------------------------|---------------------|---------------------|---------------------|----------------------|
| $\beta = 2 ^\circ C/min$ |                     |                     |                     |                      | $\beta = 10 ^\circ C/min$ |                     |                     |                     |                      |
| 0,0000                   |                     |                     |                     | 102,1                | 0,0000                    |                     |                     |                     | 102,1                |
| 0,0000                   |                     |                     |                     | 106,4                | 0,0000                    |                     |                     |                     | 106,4                |
| 0,0259                   | 100,2               |                     |                     | 120,4                | 0,0259                    |                     | 105,6               |                     | 119,2                |
| 0,0501                   | 100,5               |                     |                     | 125,5                | 0,0501                    | 99,1                | 104,1               |                     | 131,1                |
| 0,1080                   | 100,6               | 104,9               |                     | 148,4                | 0,1080                    | 100,1               | 104,3               |                     | 145,1                |
| 0,1636                   | 100,9               | 104,1               |                     | 160,9                | 0,1636                    | 94,1                | 98,2                |                     | 160,1                |
| 0,2001                   | 99,8                | 104,6               |                     | 165,5                | 0,2509                    | 95,2                | 103,2               |                     | 172,3                |
| 0,2509                   | 100,5               | 104,8               |                     | 172,5                | 0,3334                    | 100,6               | 105,5               |                     | 180,3                |
| 0,3334                   | 100,5               | 104,8               |                     | 179,5                | 0,3996                    | 100,1               | 105,1               |                     | 184,1                |
| 0,3996                   |                     | 104,1               |                     | 183,1                | 0,4502                    | 90,8                | 98,9                |                     | 186,5                |
| 0,5000                   |                     |                     |                     | 186,7                | 0,5000                    |                     |                     |                     | 187,1                |
| 0,5569 <sup>(a)</sup>    |                     |                     | 180,1               | 185,1                | 0,5991                    |                     |                     | 178,0               | 185,0                |
| 0,5991                   |                     |                     | 180,1               | 184,1                | 0,6497                    |                     |                     | 180,3               |                      |
| 0,6061                   |                     |                     | 179,8               | 183,9                | 0,6654                    |                     |                     | 182,0               |                      |
| 0,6557 <sup>(a)</sup>    |                     |                     | 179,8               |                      | 0,7492 <sup>(a)</sup>     |                     |                     | 180,1               | 193,1                |
| 0,6654                   |                     |                     | 180,9               |                      | 0,9357                    |                     |                     | 180,3               | 205,3                |
| 0,7482                   |                     |                     | 180,9               | 190,4                | 0,9499                    |                     |                     | 178,3               | 211,1                |
| 0,7492 <sup>(a)</sup>    |                     |                     | 181,1               | 189,9                | 1,0000                    |                     |                     |                     | 212,8                |
| 0,8547                   |                     |                     | 180,3               | 198,9                |                           |                     |                     |                     |                      |
| 0,8954                   |                     |                     | 178,3               | 203,5                |                           |                     |                     |                     |                      |
| 0,8990 <sup>(a)</sup>    |                     |                     | 180,9               | 205,1                |                           |                     |                     |                     |                      |
| 0,9357                   |                     |                     | 175,6               | 207,3                |                           |                     |                     |                     |                      |
| 1,0000                   |                     |                     |                     | 212,8                |                           |                     |                     |                     |                      |

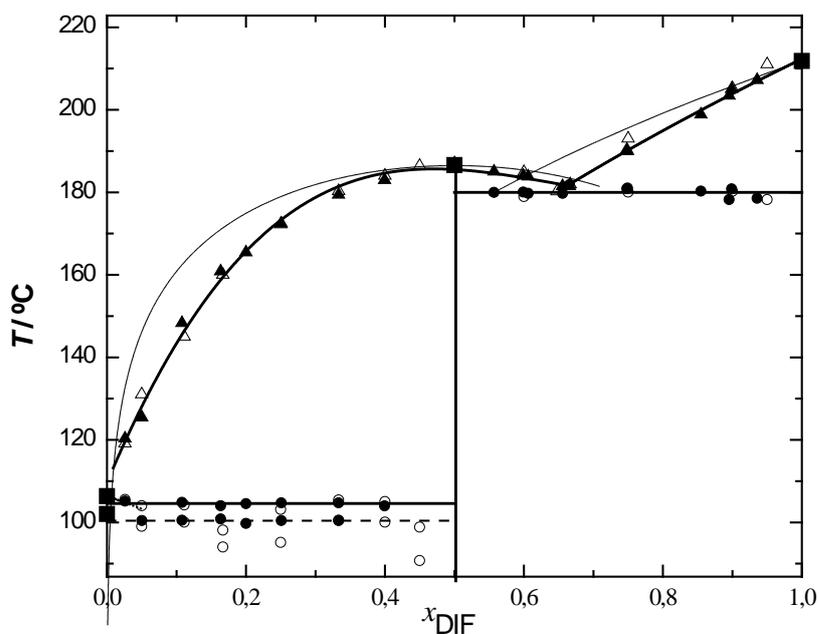
(a) Moagem não assistida por solvente, *neat grinding*, NG.

A Figura 3.25 mostra termogramas para misturas representativas deste sistema.

A temperatura e a entalpia de fusão do co-cristal são, respectivamente,  $T_{fus} = (186,6 \pm 0,2) \text{ } ^\circ\text{C}$  e  $\Delta_{fus}H_m = (65,8 \pm 2,2) \text{ kJ/mol}$ , ( $n = 8$ ).



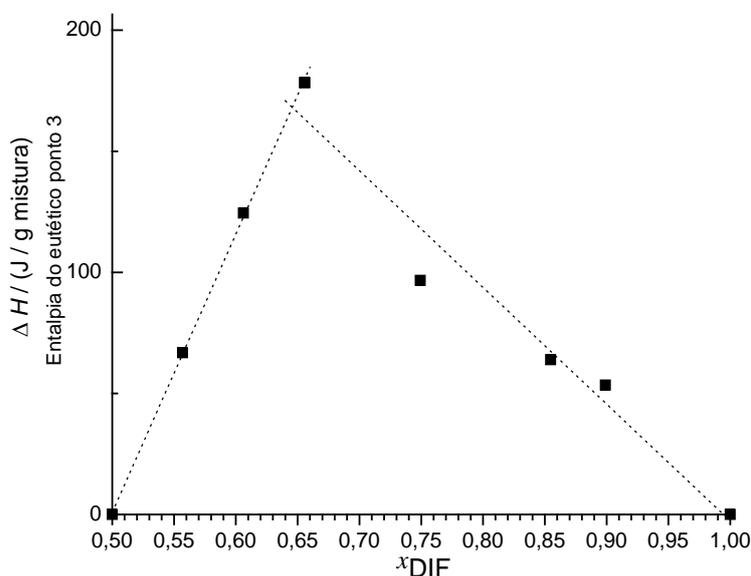
**Figura 3.25** Curvas de DSC de aquecimento de misturas seleccionadas de diflunisal+picolinamida,  $\beta = 2 \text{ } ^\circ\text{C/min}$ . 1.  $x_{DIF} = 0$ , picolinamida; 2.  $x_{DIF} = 0,1636$ ; 3.  $x_{DIF} = 0,3334$ ; 4.  $x_{DIF} = 0,3996$ ; 5.  $x_{DIF} = 0,5000$ ; 6.  $x_{DIF} = 0,5569$ ; 7.  $x_{DIF} = 0,6061$ ; 8.  $x_{DIF} = 0,6557$ ; 9.  $x_{DIF} = 0,7492$ ; 10.  $x_{DIF} = 0,8547$ ; 11.  $x_{DIF} = 0,8954$ ; 12.  $x_{DIF} = 0,8990$  (NG); 13.  $x_{DIF} = 1$ .



**Figura 3.26** Diagrama de fase sólido-líquido (diflunisal+picolinamida), ●, ○, temperatura de fusão de um eutético, ▲, △, liquidus, ■, fusão de composto puro. (símbolos a cheio,  $\beta = 2 \text{ } ^\circ\text{C/min}$ , símbolos abertos,  $\beta = 10 \text{ } ^\circ\text{C/min}$ ); As linhas a cheio são guias para orientação visual (-----) descrição usando as equações (2.9) e (3.1).

Constata-se que o primeiro ponto eutético possui uma composição que é muito próximo de picolinamida pura. Isto indica a formação dum co-cristal muito estável comparado com este composto. O polimorfismo da picolinamida [219] está evidenciado nas curvas de DSC para as misturas com excesso desta substância, relativamente a composição do co-cristal. De facto duas temperaturas invariantes foram determinadas,  $T_{E1} = (100,5 \pm 0,4) \text{ } ^\circ\text{C}$  e  $T_{E2} = (104,6 \pm 0,4) \text{ } ^\circ\text{C}$ , que são atribuídas à fusão de misturas eutéticas contendo os polimorfos II e I da picolinamida, com temperaturas de fusão, respectivamente,  $T_{fus,II} = (102,2 \pm 0,4) \text{ } ^\circ\text{C}$  e  $T_{fus,I} = (106,4 \pm 0,4) \text{ } ^\circ\text{C}$ .

É observado, um outro ponto invariante a  $T_{E3} = (180,2 \pm 0,9) \text{ } ^\circ\text{C}$ . Para composições  $x_{DIF} > 0,5$ , as misturas foram preparadas por moagem assistida com etanol e também na ausência de solvente. As curvas de DSC para misturas obtidas na presença de etanol apresentam um perfil mais complexo como é exemplificado pelas curvas 11 e 12 na Figura 3.25. Este facto resulta da transição, pelo menos em parte, do polimorfo III do diflunisal para a forma I, no processo de aquecimento. Na construção do diagrama de Tammann, representado na Figura 3.27, foram utilizadas apenas valores obtidos para misturas preparadas sem adição de solvente. A composição do eutético foi calculada e corresponde a um valor de  $x_{DIF} = 0,64$ , sem registo de formação de soluções sólidas.



**Figura 3.27** Diagrama de Tammann para o sistema diflunisal+picolinamida,  $x_{DIF} \geq 0,5000$ .

Também neste sistema se observam desvios negativos da idealidade ( $\gamma_{DIF} = 0,97$  para  $x_{DIF} = 0,9357$  e  $\gamma_{DIF} = 0,87$  para  $x_{DIF} = 0,7482$ ), representada na Figura 3.26, pelas linhas tracejadas obtidas usando a equação 2.8 para  $x > 0,64$  (excesso de diflunisal) e a

equação 3.1 [187] desenvolvida para um composto de adição 1:1, na vizinhança do co-cristal. Os desvios são no entanto, muito menores do que no caso do sistema (diflunisal+isonicotinamida).

$$\frac{1}{T_{\text{fus}}} = \frac{1}{T_{\text{fus,cc}}} - \frac{R}{\Delta_{\text{fus}}H_{\text{m,cc}}} \{ \ln[x_{\text{DIF}}(1 - x_{\text{DIF}})] - \ln 0,25 \} \quad (3.1)$$

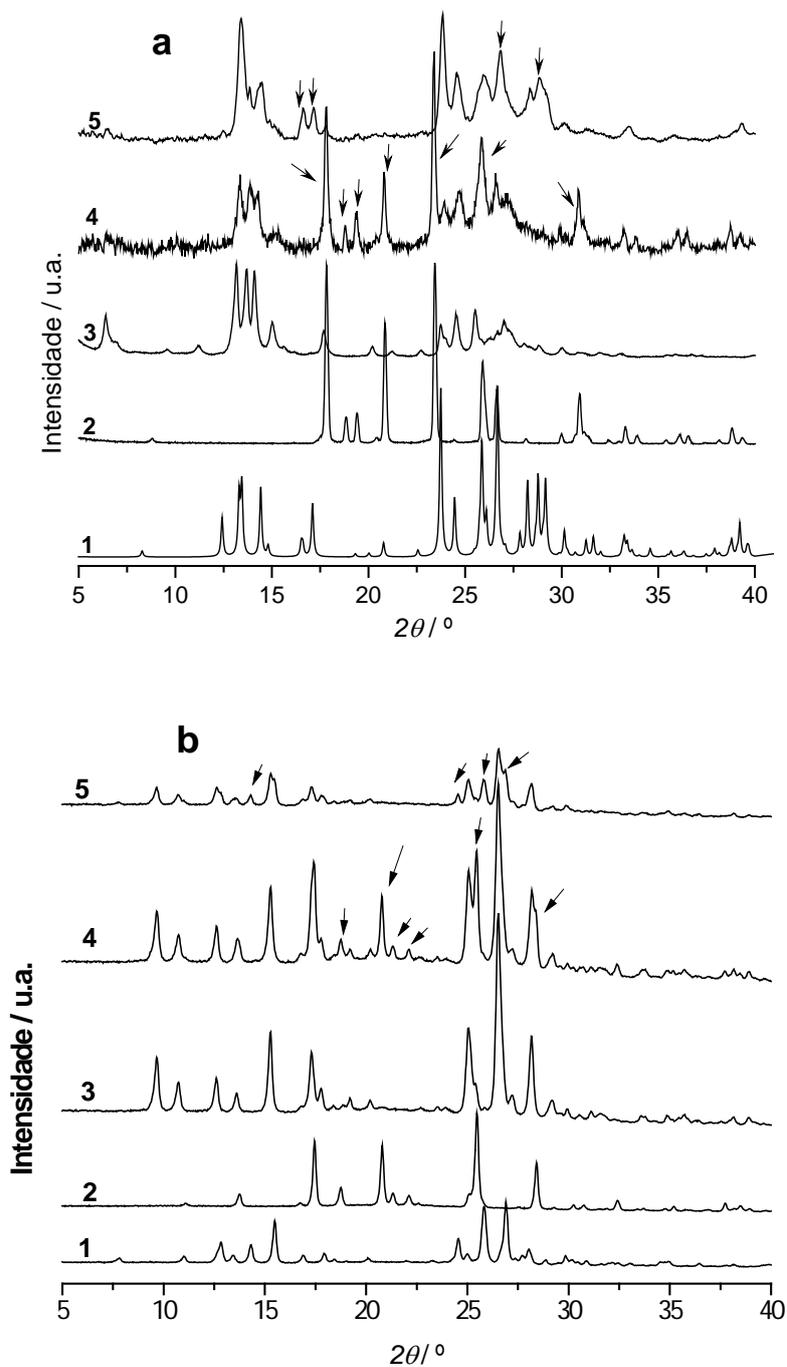
### 3.2.2 Caracterização dos co-cristais por XRPD e por FTIR.

Os dados de difracção de raios-X de pó representados na Figura 3.28. para os sistemas (diflunisal+isonicotinamida) e (diflunisal+picolinamida), identificam claramente novos arranjos no estado sólido, como se esperaria para co-cristais, com novas reflexões quando comparados com os difractogramas dos compostos puros. O co-cristal DIF:INA, 2:1 apresenta reflexões características a  $2\theta = 6,4; 9,6; 11,2$  e  $14,1^\circ$ . Para Dif:PA, 1:1, registam-se novas reflexões a  $2\theta = 9,6; 10,7; 12,6; 15,3; 19,3; 26,7^\circ$ .

Os picos correspondentes à presença de excesso dos componentes são claramente identificados na Figura 3.28a para  $x_{\text{DIF}} = 0,3323$  (excesso de INA I) e  $x_{\text{DIF}} = 0,8572$  (excesso de DIF I) e na Figura 3.28.b, para  $x_{\text{DIF}} = 0,3334$  (excesso de PA II) e  $x_{\text{DIF}} = 0,6654$  (excesso de DIF III).

Os espectros de infravermelho dos co-cristais estão representados na Figura 3.29 para DIF:INA e nas Figura 3.30 e 3.31 para DIF:PA. Os espectros dos componentes puros e de algumas misturas seleccionadas foram incluídos nas figuras para efeito de comparação. A diferença registada em misturas preparadas por LAG ou na ausência de solvente é claramente ilustrada nos espectros para o sistema DIF:PA.

Na Figura 3.32 são comparados os espectros de infravermelho dos três co-cristais identificados neste trabalho entre o diflunisal e cada uma das piridinacarboxamidas isoméricas. Na região de elongação do NH são observadas diferenças significativas entre o co-cristal DIF:PA e os formados pelo diflunisal com as piridinacarboxamidas *meta* e *para*. A banda de elongação assimétrica  $\nu_{\text{as}}(\text{NH}_2)$  que na INA aparece a  $3372 \text{ cm}^{-1}$  e na nicotinamida a  $3367 \text{ cm}^{-1}$ , é deslocada nos co-cristais para valores de energia superiores,  $3394 \text{ cm}^{-1}$  no primeiro caso e  $3406 \text{ cm}^{-1}$  no segundo. O mesmo acontece com o modo



**Figura 3.28** Difractogramas de raios-X de pó. a. DIF+INA: 1. DIF, polimorfo I; 2. INA, polimorfo I, iso2; 3. Co-cristal  $x_{\text{DIF}} = 0,6667$ ; 4.  $x_{\text{DIF}} = 0,3323$  (excesso de INA I); 5.  $x_{\text{DIF}} = 0,8572$  (excesso de DIF I). b. DIF+PA: 1. DIF, polimorfo III; 2. PA, polimorfo II; 3. Co-cristal  $x_{\text{DIF}} = 0,5000$ ; 4.  $x_{\text{DIF}} = 0,3334$  (excesso de PA II); 5.  $x_{\text{DIF}} = 0,6654$  (excesso de DIF III).

de alongação simétrica  $\nu_s(\text{NH}_2)$ :  $3176\text{ cm}^{-1}$  na INA e  $3209\text{ cm}^{-1}$  no co-cristal DIF:INA, 2:1, e  $3162\text{ cm}^{-1}$  na nicotinamida e  $3229$  em DIF:NA, 2:1. Este tipo de comportamento - *blueshift* - foi observado por Desiraju *et al.* [225] na formação de heterodímeros cíclicos ácido-amida, e proposto como uma forma de identificação deste sintão em co-cristais. Nesta região do espectro para os dois co-cristais, DIF:INA, 2:1 e DIF:NA, 2:1, são ainda claramente visíveis duas bandas adicionais, a  $3331$  e a  $3281\text{ cm}^{-1}$  no primeiro, e a  $3379$  e a  $3250\text{ cm}^{-1}$  no segundo.

No caso do isómero *orto*, picolinamida, o comportamento nesta região do espectro é completamente distinto, ocorrendo desvios para menores números de onda - *redshift*: a alongação assimétrica,  $\nu_{as}(\text{NH}_2)$ , a  $3417\text{ cm}^{-1}$  na picolinamida é deslocada no co-cristal para  $3394\text{ cm}^{-1}$  e a alongação simétrica,  $\nu_s(\text{NH}_2)$  de  $3176\text{ cm}^{-1}$  para  $3106\text{ cm}^{-1}$ . Na estrutura cristalina da picolinamida ocorre associação em dímeros amida-amida centrossimétricos. Desiraju *et al.* [192], numa tentativa de identificação de sintões em co-cristais e polimorfos utilizando a espectroscopia de infravermelho e com um foco especial em amidas primárias, associou o desvio para menores energias das bandas de alongação do  $\text{NH}_2$  à alteração de associação em dímeros para associação em cadeias.

Como seria de esperar, nos três co-cristais ocorrem alterações significativas relativamente aos co-formadores, na região atribuída à deformação angular do  $\text{NH}_2$  ( $1600\text{-}1640\text{ cm}^{-1}$ ).

O heterossintão formado pelos grupos ácido- $N_{\text{aromático}}$  foi identificado nos três co-cristais, pelas bandas características a cerca de  $2500$ ,  $2150$  e  $1900\text{ cm}^{-1}$  [189-192, 226]. O número de co-cristais referidos na literatura utilizando a picolinamida como co-formador é reduzido [210, 227]. O azoto piridínico neste isómero, *orto*, está numa posição mais impedida que nos outros dois isómeros. Foi no entanto observado que participa em ligações  $\text{N}_{\text{amida}}-\text{H}\cdots\text{N}_{\text{piridina}}$  na rede do co-cristal picolinamida:ácido salicílico e em ligação ácido- $N_{\text{aromático}}$ ,  $\text{O}-\text{H}\cdots\text{N}_{\text{piridina}}$  no co-cristal com ácido adípico [227]. Na associação com o diflunisal este último sintão é também observado.

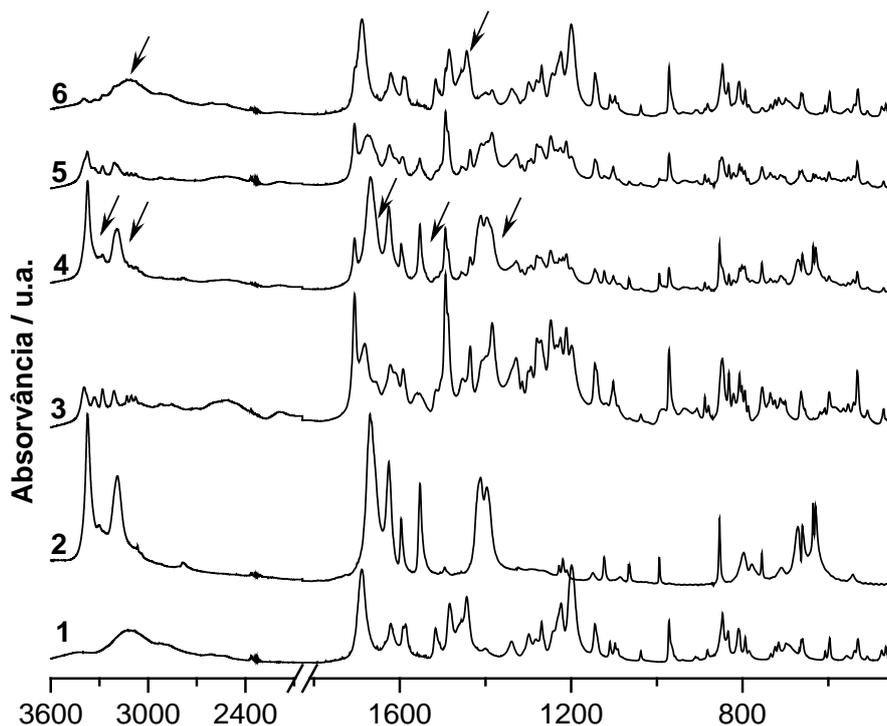


Figura 3.29 Espectros de Infravermelho. DIF+INA: 1. DIF, polimorfo I; 2. INA, polimorfo I; 3. Co-cristal DIF+INA (2:1)  $x_{\text{DIF}} = 0,6667$ ; 4.  $x_{\text{DIF}} = 0,2501$  (excesso de INA); 5.  $x_{\text{DIF}} = 0,4999$  (excesso de INA); 6.  $x_{\text{DIF}} = 0,8988$  (excesso de DIF).

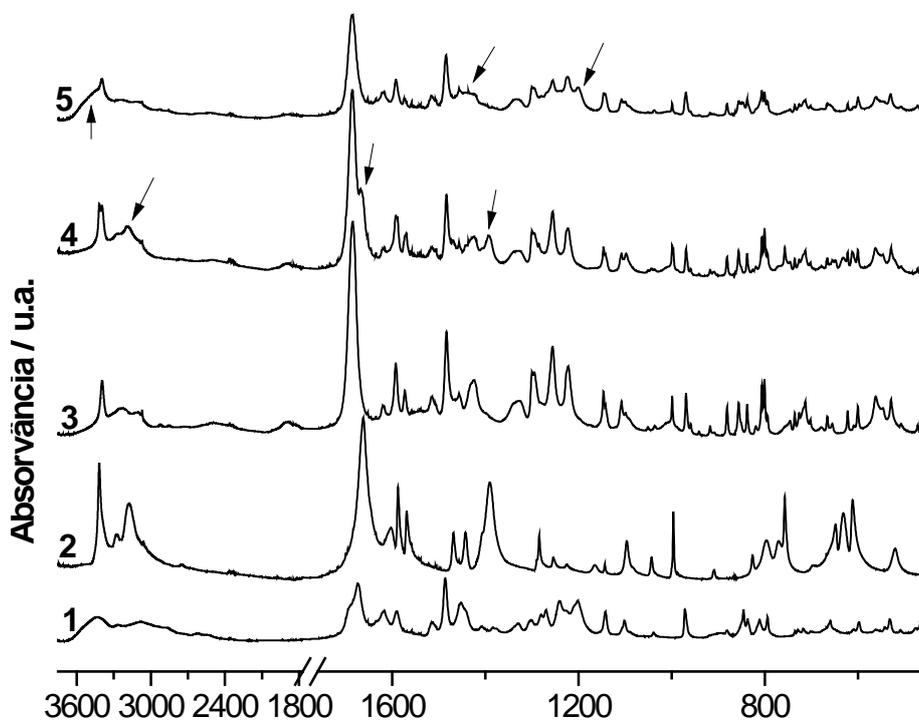


Figura 3.30 Espectros de Infravermelho. DIF+PA: 1. DIF, polimorfo III; 2. PA, polimorfo II; 3. Co-cristal DIF+PA (1:1)  $x_{\text{DIF}} = 0,5000$ ; 4.  $x_{\text{DIF}} = 0,3334$  (excesso de PA II); 5.  $x_{\text{DIF}} = 0,6654$  (LAG) (excesso de DIF III).

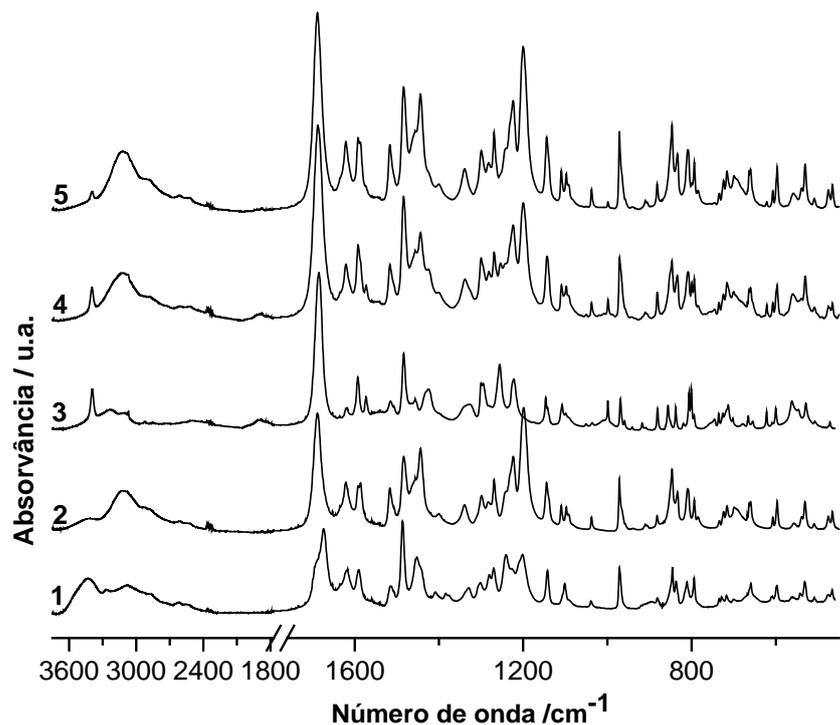


Figura 3.31 Espectros de Infravermelho. DIF + PA: 1. DIF, III; 2. DIF, I; 3. Co-cristal DIF + PA (1:1)  $x_{\text{DIF}} = 0,5000$ ; 4.  $x_{\text{DIF}} = 0,7492$  moagem sem solvente (excesso de DIF I); 5.  $x_{\text{DIF}} = 0,8990$  moagem sem solvente (excesso de DIF I).

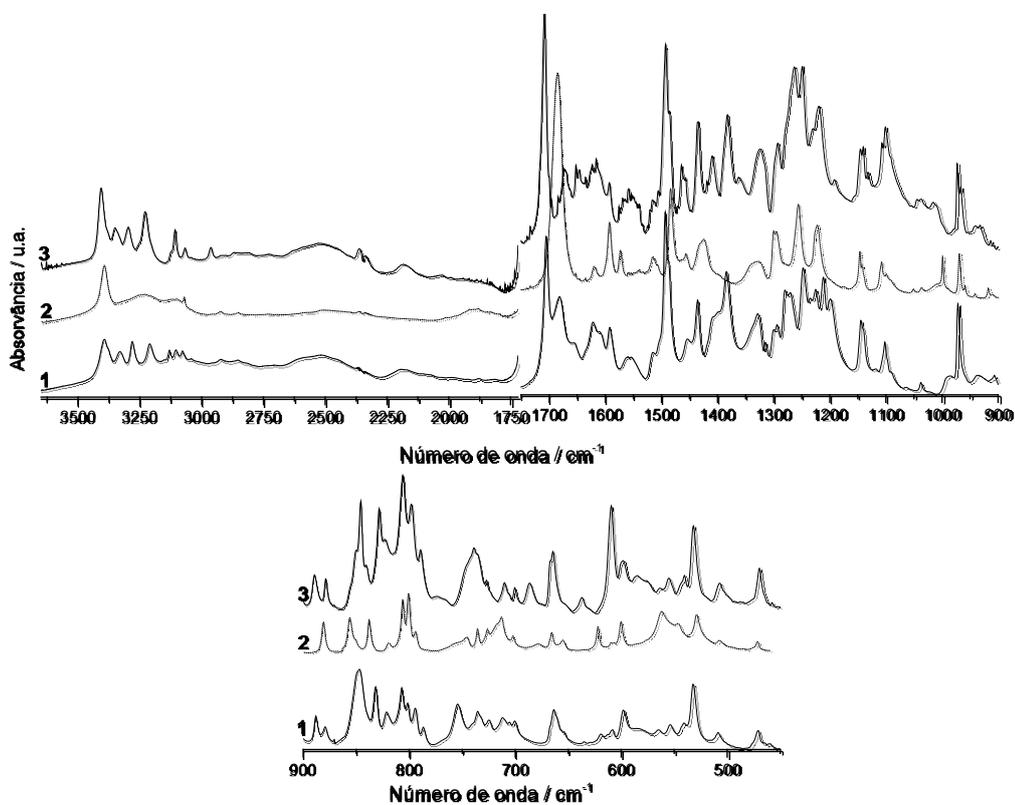


Figura 3.32 Espectros de Infravermelho dos co-cristais: 1. DIF+INA (2:1); 2. DIF+PA (1:1); 3. DIF+NA (2:1).

### **3.2.3 Estabelecimento de condições para cristalização do co-cristal (diflunisal + isonicotinamida) 2:1 em etanol**

Tal como para o sistema (diflunisal+nicotinamida) foi também avaliado o diagrama de fases ternário de (diflunisal+isonicotinamida) em etanol, usando a metodologia descrita por ter Horst e colaboradores [182, 196]. Esta metodologia permite, de um modo rápido, fazer uma estimativa destes diagramas. Como já foi referido, definir as condições de obtenção do co-cristal puro no diagrama de fases ternário é de grande relevância nos processos de *scaling-up* e também poderá ser útil no processo de preparação de monocristais para a resolução de estruturas cristalinas.

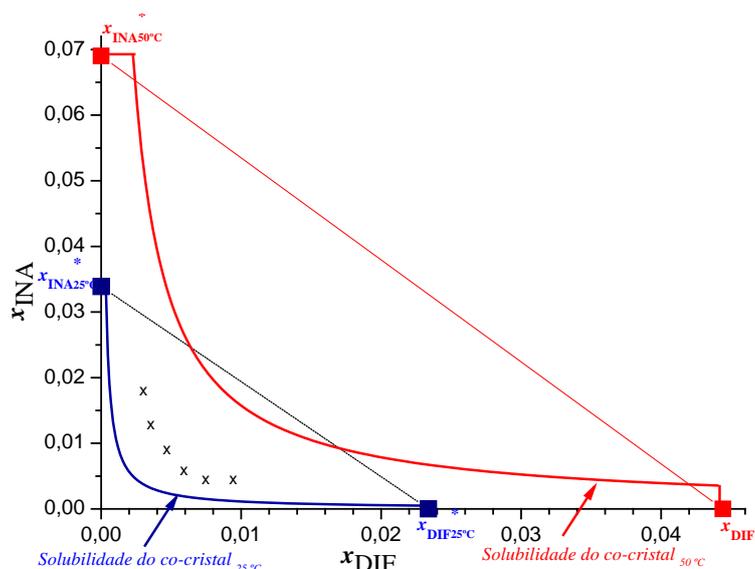
Tal como para o sistema DIF+NA foram preparadas em etanol, misturas de isonicotinamida e diflunisal com diferentes fracções molares calculadas a uma temperatura de referência, por exemplo 25 °C, utilizando os dados da equação de van't Hoff mostrados na Tabela 3.4, de forma a estarem abaixo do valor previsto para o API puro saturado e para o co-formador puro saturado.

Com a isonicotinamida estudaram-se 18 misturas, para valores de  $0,89 \leq y \leq 0,30$  obtendo-se temperaturas de saturação experimentais entre 24 e 51 °C. As temperaturas de saturação obtidas experimentalmente para estas misturas foram ajustadas à equação 2.16, apresentando-se os parâmetros de ajuste na Tabela 3.7, conjuntamente com os resultados anteriormente referidos para (diflunisal+nicotinamida+etanol).

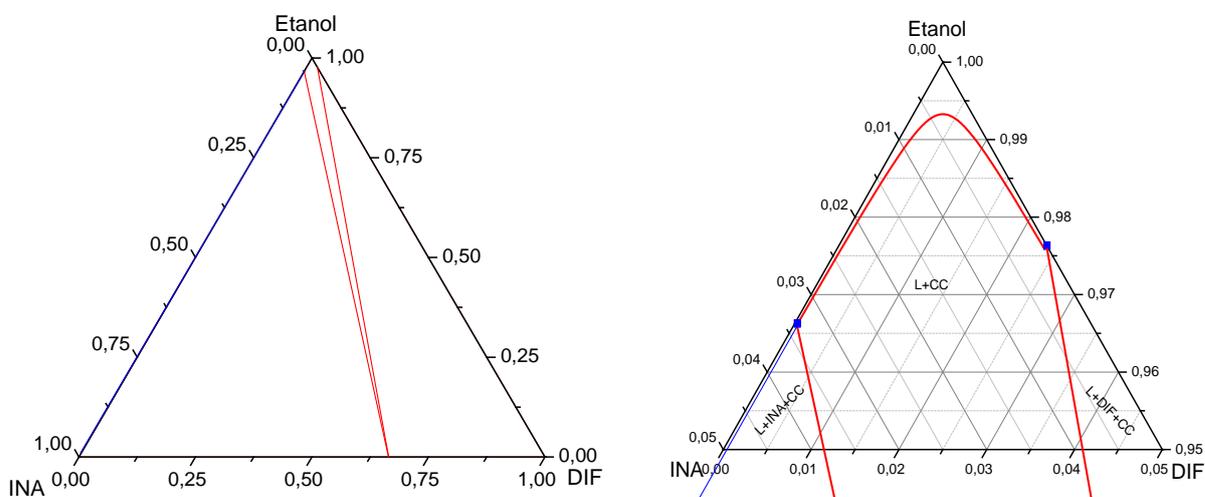
**Tabela 3.7** Parâmetros de ajuste à eq. 2.16, das temperaturas de saturação experimentais obtidas com o equipamento Crystal 16, para misturas de DIF+INA ou DIF+NA em etanol.

|                | A        | B     | C     | Desvio padrão do ajuste | (Valor experimental - valor calculado) |
|----------------|----------|-------|-------|-------------------------|--|
| DIF+INA+etanol | -10145,7 | 0     | 22,64 | 0,22                    | 3 %                                    |
| DIF+NA+etanol  | -6975,0  | -1,96 | 12,61 | 0,18                    | 2 %                                    |

As estimativas de diagramas ternários (diflunisal+isonicotinamida+etanol) representadas na Figura 3.33 e na Figura 3.34 foram obtidas a partir destes resultados. No que diz respeito ao sistema (diflunisal+picolinamida+etanol) não foi possível efectuar o número de ensaios replicados necessário para fazer a estimativa do diagrama.



**Figura 3.33** Estimativa do diagrama de fase parcial de (diflunisal + isonicotinamida), em etanol a 25 °C (azul) e a 50 °C (vermelho),  $x_{INA}^*$  e  $x_{DIF}^*$  representam as solubilidades em etanol da isonicotinamida e do diflunisal a cada uma dessas temperaturas, e as linhas a cheio representam a solubilidade do co-cristal (foi utilizada a equação 2.16 com os parâmetros da Tabela 3.7 e a equação 2.7 com os parâmetros da Tabela 3.4).



**Figura 3.34** Proposta de diagrama de fases ternário do sistema (diflunisal+isonicotinamida+etanol) a  $T = 25\text{ °C}$ .

Foram realizadas várias tentativas de cristalização do co-cristal (DIF:INA) 2:1 em etanol. Usaram-se soluções com as concentrações de cada um dos componentes que estão assinaladas com o símbolo x na Figura 3.33. As soluções foram preparadas a 50 °C e após arrefecimento até 25 °C, foram obtidos os co-cristais puros, como previsto. Não foram, todavia, conseguidos cristais com a dimensão adequada para a resolução de

### **Capítulo 3 Investigação da formação de co-cristal (diflunisal+isonicotinamida) e (diflunisal+picolinamida)**

---

estrutura por difracção de raios-X de monocristal, o que é compreensível, atendendo à baixa solubilidade do co-cristal neste solvente.

## 4 Investigação de novas formas sólidas de lamotrigina

---

A lamotrigina, 6-(2,3-diclorofenil)-1,2,4-triazina-3,5-diamina ou 3,5-diamina-6-(2,3-diclorofenil)-1,2,4-triazina, Figura 1.5 b, foi originalmente sintetizada, no início dos anos oitenta, por cientistas dos laboratórios Wellcome em resposta à necessidade de medicamentos antiepilépticos que pudessem melhorar os perfis de segurança e com índices terapêuticos mais amplos [228]. Quando foi sintetizada, não se tinha desenvolvido nenhum outro antiepiléptico num período de mais de trinta anos.

Um estudo recente, realizado no País de Gales, mostra que a percentagem de prescrições de lamotrigina como medicamento de primeira escolha no tratamento da epilepsia tem aumentado consideravelmente, verificando-se um decréscimo no que diz respeito a medicamentos de referência, como o valproato de sódio, a carbamazepina e a fenitoína [229]. A lamotrigina é também indicada no tratamento de crises generalizadas associadas com a síndrome de Lenox-Gastaut [230], uma das formas mais severas de epilepsia em crianças, podendo ser usada, conjuntamente, com outros antiepilépticos como a carbamazepina, fenitoína, fenobarbital, primadona, ou valproato [231]. Este activo tem outras aplicações terapêuticas [232-236], merecendo destaque a sua acção no tratamento de desordens psiquiátricas como transtornos de humor, incluindo a

desordem unipolar e bipolar [153, 237, 238]. Um estudo recente, feito pelo grupo da Universidade de Stanford que investiga a desordem bipolar, revela que na última década, a lamotrigina, devido a sua elevada tolerabilidade, foi o medicamento mais prescrito no tratamento desta patologia, registando-se um aumento para mais do dobro do número de pacientes medicados com lamotrigina, em comparação com as terapêuticas tradicionais com lítio e valproato de sódio [153].

A solubilidade aquosa da lamotrigina é muito baixa, 0,17 mg/ml a 25 °C [156], o que limita, naturalmente, a sua biodisponibilidade oral, e como tal incentiva a comunidade científica para a pesquisa de novas formas sólidas com o objectivo de melhorar a sua eficiência terapêutica [239-244].

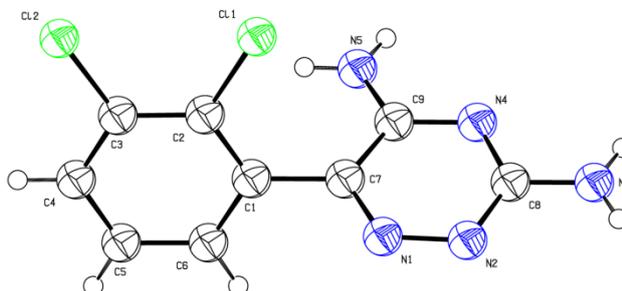
Até à data, apenas é conhecida uma estrutura cristalina da lamotrigina não havendo referência à observação de polimorfos. A estrutura cristalina foi recentemente resolvida e depositada na CSD [245], merecendo destaque por corresponder ao número meio milhão de estruturas cristalinas já depositadas nesta base de dados. O monocristal foi obtido em metanol, é monoclinico,  $C 2/c$  e a célula cristalina tem dimensões:  $a = 19,136(3) \text{ \AA}$ ;  $b = 8,6409(12) \text{ \AA}$ ;  $c = 13,5549(18) \text{ \AA}$ ;  $\beta = 109,172(2)^\circ$ ;  $Z = 8$ ,  $V = 2117,02 \text{ \AA}^3$ , ( $T = 21 \text{ }^\circ\text{C}$ ). Na estrutura cristalina da lamotrigina, as moléculas estão ligadas por ligações de hidrogénio que formam dímeros, através da ligação  $\text{N-H}_{\text{amina}} \cdots \text{N}_{\text{aromático}}$ , e é estabilizada pelas ligações de hidrogénio  $\text{N-H} \cdots \text{N}$  e  $\text{N-H} \cdots \text{Cl}$ . Todos os átomos de azoto do anel triazina participam em ligações de hidrogénio [245], Tabela 4.1.

**Tabela 4.1** Geometria das ligações de hidrogénio no cristal de lamotrigina [245].

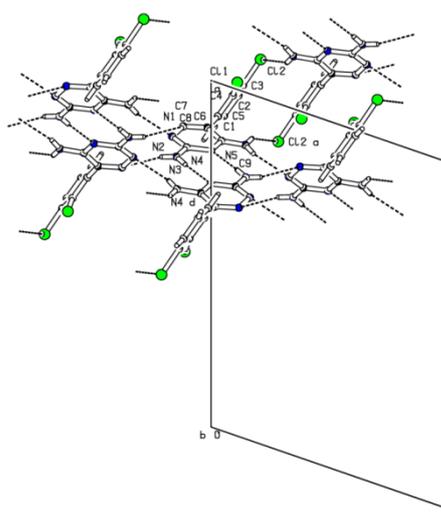
|   | $\text{D} \cdots \text{A} / \text{ \AA}$ | $\angle \text{D-H} \cdots \text{A} / ^\circ$ |
|---|--|--|
| $\text{N}(3)\text{-H}(4) \cdots \text{N}(1)$  | 3,284(2)                                 | 155(2)                                       |
| $\text{N}(3)\text{-H}(5) \cdots \text{N}(4)$  | 3,178(2)                                 | 176,8(18)                                    |
| $\text{N}(5)\text{-H}(6) \cdots \text{N}(2)$  | 3,152(2)                                 | 151(2)                                       |
| $\text{N}(5)\text{-H}(7) \cdots \text{Cl}(2)$ | 3,4122(18)                               | 151(2)                                       |

Na Figura 4.1 apresenta-se o diagrama ORTEP da estrutura da molécula da lamotrigina e a numeração dos átomos na estrutura cristalina, e na Figura 4.2, um diagrama mostrando o empacotamento cristalino das moléculas de lamotrigina na célula unitária. No empacotamento cristalino, camadas hidrofílicas estão intercalados com

cadeias hidrofóbicas, em que as ligações de hidrogénio levam à formação de uma rede de ligações de hidrogénio supramolecular [245].



**Figura 4.1** ORTEP da lamotrigina mostrando o esquema da numeração dos átomos [245]. (Elipsóides desenhados ao nível de 50 % de probabilidade. (Os átomos de hidrogénio são desenhados como esferas de raio arbitrário);  $T = 293$  K.

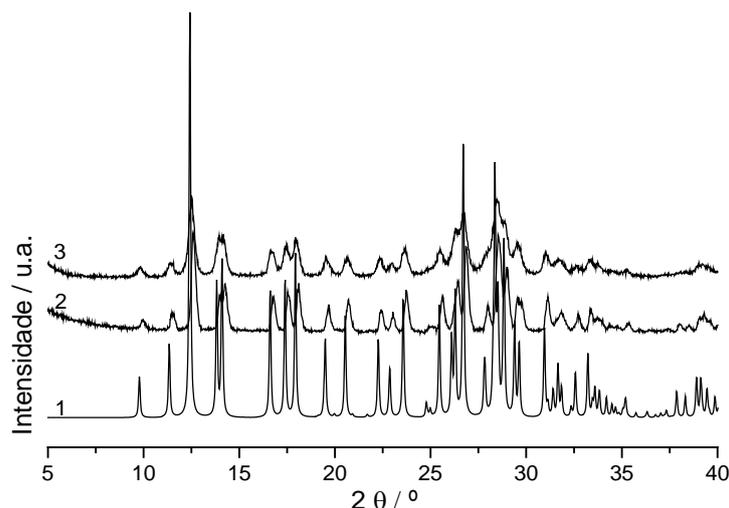


**Figura 4.2** Célula unitária da lamotrigina (é evidenciada a formação de dímeros através das ligações de hidrogénio  $N-H\cdots N$  [245].

Em trabalho anterior, Janes e colaboradores [246], haviam determinado as dimensões duma célula unitária de lamotrigina:  $a = 6,386(3)\text{\AA}$ ;  $b = 10,467(3)\text{\AA}$ ; e  $c = 14,856(4)\text{\AA}$ ;  $\beta = 100,774(3)^\circ$ , para um cristal monoclinico não tendo, no entanto, efectuado o depósito na CSD. As dimensões desta célula unitária são significativamente diferentes da descrita anteriormente, o que poderá ser indício de polimorfismo.

## 4.1 Caracterização das amostras de lamotrigina utilizadas neste trabalho

A amostra comercial de lamotrigina (Anexo A1.1) foi identificada, por análise por difracção de raios-X de pó, Figura 4.3, como a forma sólida que foi descrita na secção anterior (EFEMUX01) [245].

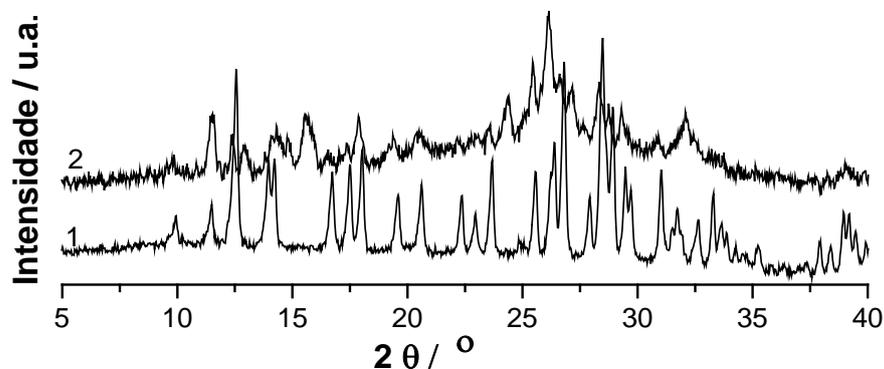


**Figura 4.3** Difractogramas de raios-X de pó. 1) Simulado para a lamotrigina [EFEMU01] [245]; 2) lamotrigina comercial; 3) lamotrigina, moagem na ausência de solvente.

Tendo em conta que nos ensaios de obtenção de co-cristais da lamotrigina será essencialmente utilizada a mecanoquímica, sem solvente ou assistida por etanol, estudou-se também o efeito deste procedimento na forma sólida do composto. Verificou-se que na ausência de solvente não ocorre alteração na estrutura cristalina, Figura 4.3. Contudo, a moagem assistida por etanol resulta em alteração notória do difractograma de raios-X de pó, Figura 4.4, e portanto, em modificação estrutural do composto de partida.

Os espectros de infravermelho da lamotrigina comercial e da amostra submetida a moagem na ausência de solvente não apresentam, como se esperava, diferenças entre si, Figura 4.5. Os modos vibracionais de alongação assimétrica e simétrica do  $\text{NH}_2$  registam-se, respectivamente, a  $3452\text{ cm}^{-1}$ ,  $3319\text{ cm}^{-1}$ ,  $3267\text{ cm}^{-1}$ ,  $3214\text{ cm}^{-1}$  [247]. A vibração de deformação angular do N-H da amina primária ocorre a  $1621\text{ cm}^{-1}$ . A vibração de alongação do grupo C-Cl, normalmente dá origem a bandas fortes, na região de 710 a

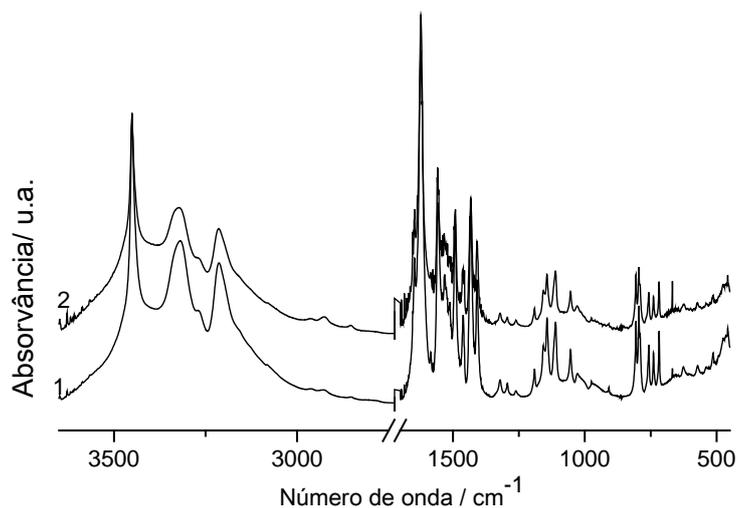
505  $\text{cm}^{-1}$  [248]. No espectro de infravermelho da lamotrigina as bandas a 512, 626, 717, e a 739  $\text{cm}^{-1}$ , são atribuídas a este modo vibracional [247].



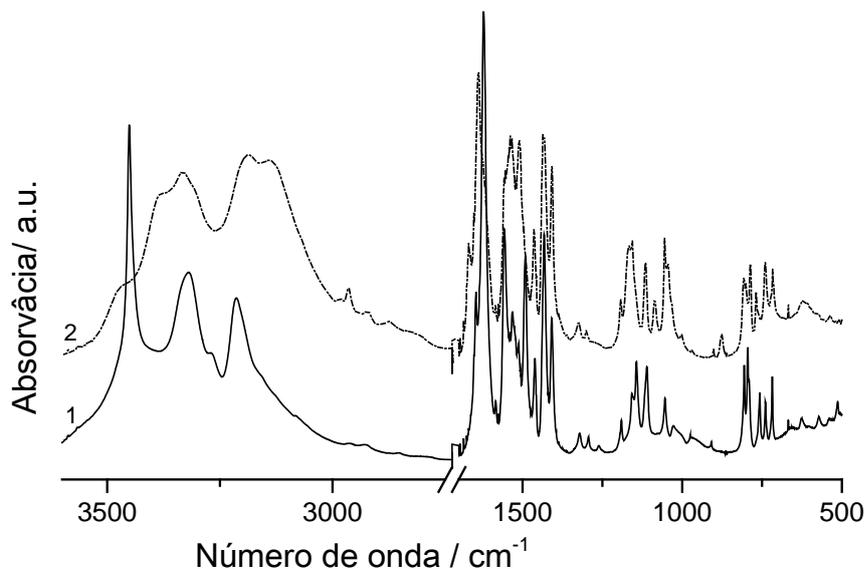
**Figura 4.4.** Difractogramas de raios-X de pó; 1) lamotrigina comercial, 2) lamotrigina obtida por moagem assistida por 10  $\mu\text{L}$  de etanol, 15 Hz, 30 min.

As bandas a 1490, 1583 e 1622  $\text{cm}^{-1}$  são atribuídas à elongação do grupo C=N [249, 250].

Como se esperaria os espectros de infravermelho da lamotrigina comercial e da lamotrigina moída na presença de etanol, Figura 4.6, apresentam diferenças significativas, merecendo destaque a banda larga centrada em 3100  $\text{cm}^{-1}$ .

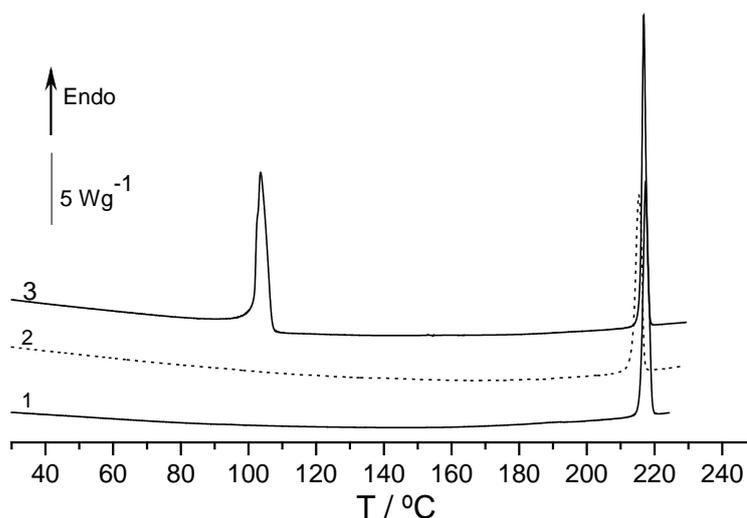


**Figura 4.5** Espectros de infravermelho: 1) lamotrigina comercial; 2) lamotrigina, moagem na ausência de solvente.



**Figura 4.6.** Espectros de infravermelho: 1) lamotrigina comercial, 2) lamotrigina, mecanoquímica assistida por etanol, 30 min, 15 Hz.

Estas amostras apresentam também diferenças no comportamento térmico, avaliado por calorimetria diferencial de varrimento, DSC, Figura 4.7. As amostras foram aquecidas entre 25 °C e 225 °C, com uma velocidade de varrimento  $\beta = 10$  °C/min, em cápsulas fechadas de 30  $\mu$ l e no caso da amostra preparada por LAG, em cápsula de 50  $\mu$ l com furos.



**Figura 4.7** Curvas de DSC de aquecimento; 1) lamotrigina comercial,  $m = 1,46$  mg; 2) lamotrigina, mecanoquímica sem solvente,  $m = 1,35$  mg; 3) lamotrigina, mecanoquímica LAG 10  $\mu$ L de etanol,  $m = 1,73$  mg;  $\beta = 10$  °C/min.

A lamotrigina comercial funde a  $T = (215,9 \pm 0,2) \text{ }^\circ\text{C}$  com uma entalpia de fusão  $\Delta_{\text{fus}}H = (35,2 \pm 0,7) \text{ kJ/mol}$ , ( $n = 6$ ), não se registando qualquer transição de fase antes da fusão. A amostra da lamotrigina obtida por moagem assistida por etanol tem um comportamento claramente distinto das duas outras amostras: a  $T = 101,7 \text{ }^\circ\text{C}$ , ocorre uma transição endotérmica,  $\Delta H = 16,0 \text{ kJ/mol}$ , atribuível a dessolvatação, registando-se de seguida a fusão a uma temperatura idêntica à da lamotrigina original.

Os resultados são compatíveis com a formação de um solvato, provavelmente um etanoato, aquando da moagem assistida por este solvente. É de referir que existe um número considerável de solvatos de lamotrigina descritos na literatura.

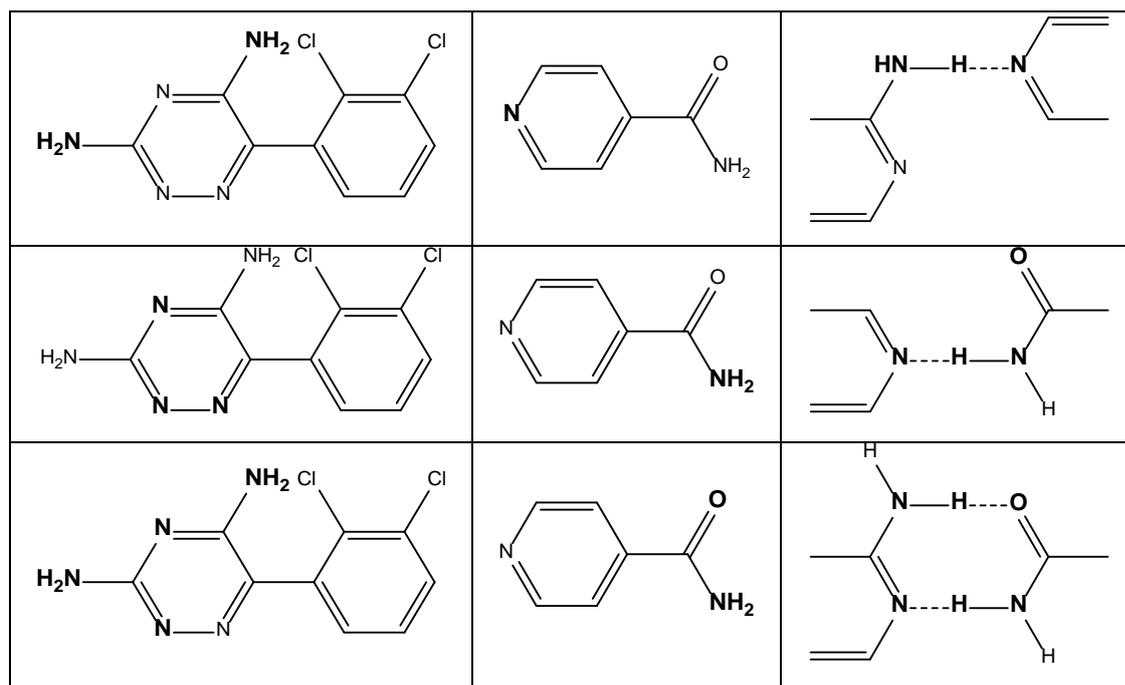
Assim, todos os ensaios de mecanoquímica foram realizados na ausência de solvente.

## 4.2 Investigação de formas sólidas binárias lamotrigina + piridinacarboxamidas

A avaliação da literatura evidencia a capacidade da lamotrigina para formação de co-cristais com co-formadores contendo grupos carbonilo e amida, através de ligações de hidrogénio  $\text{N-H}_{\text{amida}} \cdots \text{N}_{\text{aromático}}$  e  $\text{N-H}_{\text{amida}} \cdots \text{O}_{\text{carbonilo}}$  [240-242, 251]. Experiências de associação com alguns ácidos carboxílicos resultaram na formação de sais, com transferência de protão para o átomo de azoto N2, do anel de triazina, Figura 4.1 [241, 242].

Na associação com as piridinacarboxamidas é expectável a formação dos heterossintões que se exemplificam na Figura 4.8 para o caso da associação com a isonicotinamida. Obviamente que no caso da nicotinamida e, especialmente da picolinamida, o azoto aromático tem um maior impedimento no estabelecimento de ligações de hidrogénio intermoleculares.

A pesquisa de co-cristais foi efectuada, como para os sistemas descritos nas secções anteriores, por mecanoquímica, tomando como condições de partida uma frequência de 15 Hz e um tempo de moagem de 30 minutos.

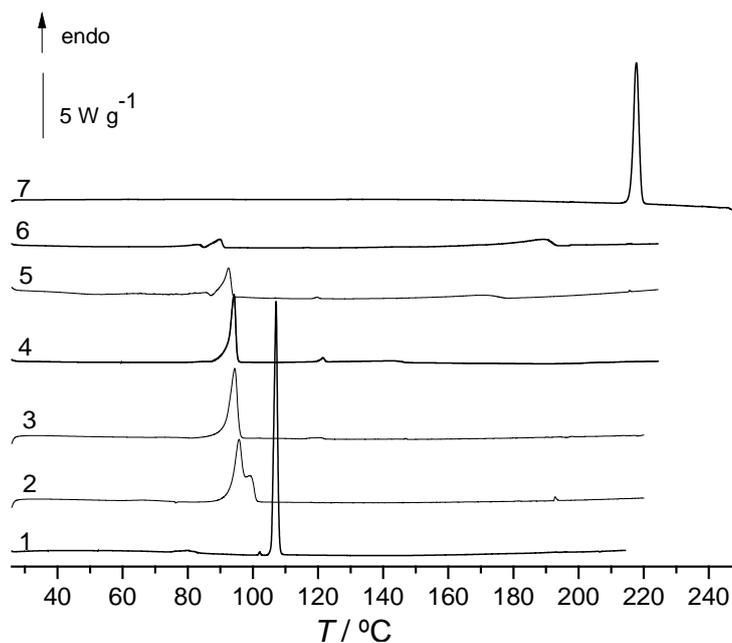


**Figura 4.8** Ilustração de pontos de associação possíveis entre a lamotrigina e as piridinacarboxamidas (a isonicotinamida é tomada como exemplo).

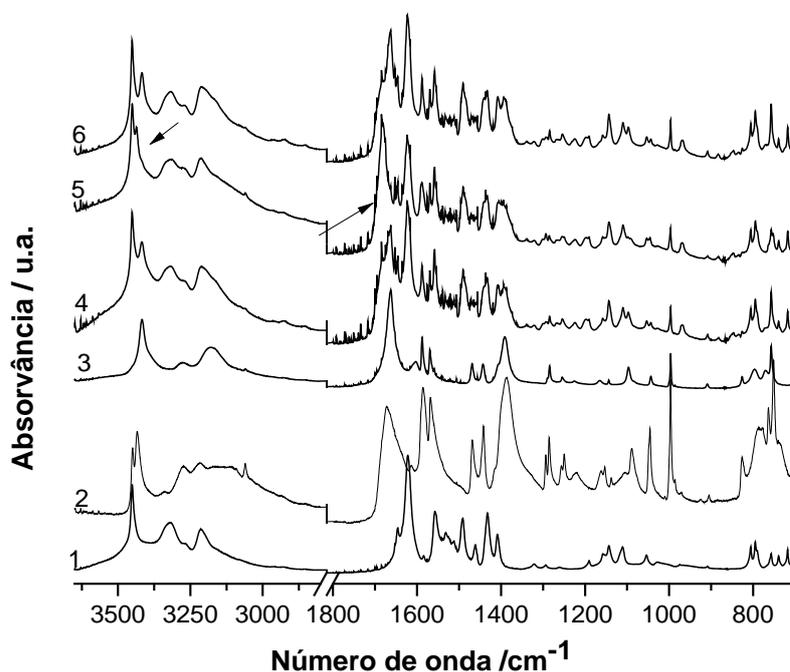
#### 4.2.1 Lamotrigina + picolinamida

As misturas de lamotrigina e picolinamida foram preparadas por moagem a 15 Hz por um período de 30 minutos, sem adição de qualquer solvente. Termogramas representativos do processo de aquecimento em DSC dessas misturas, com composições estequiométricas diferentes, são mostrados na Figura 4.9, curvas 2 a 6.

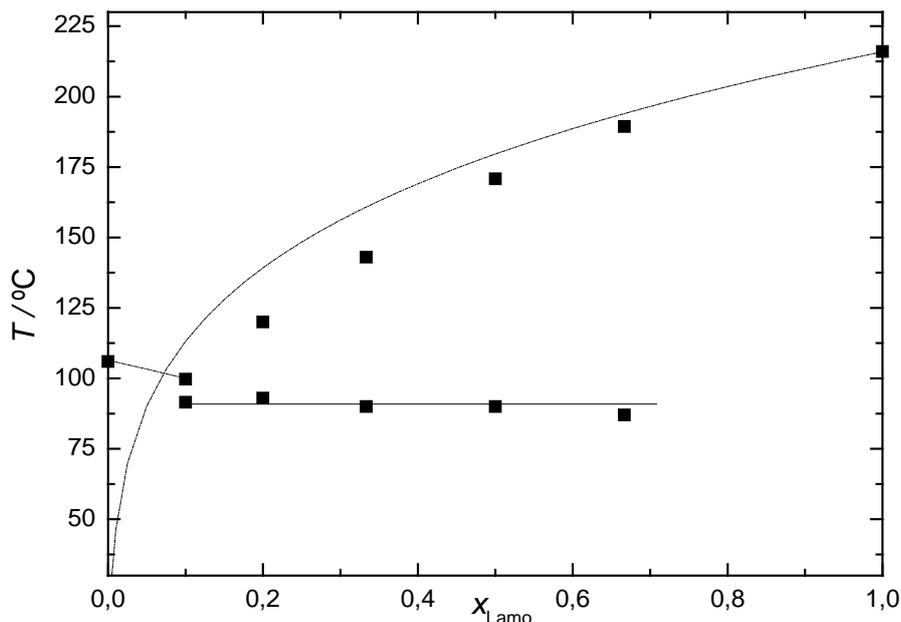
O perfil dos termogramas e a análise dos espectros de infravermelho, Figura 4.10, apontam para que não ocorra associação entre os dois compostos. De facto, os espectros das misturas correspondem à soma dos espectros da lamotrigina e da picolinamida II (Ver espectro 4, Figura 4.10). Adicionalmente, as temperaturas das transições registadas experimentalmente não se afastam do previsto para um diagrama de fases com eutético simples, Figura 4.11, calculado utilizando a equação 2.8, secção 2.2.2.1, usando os valores de temperaturas e entalpias de fusão dos compostos puros e admitindo solução ideal.



**Figura 4.9.** Curvas de DSC de aquecimento de misturas de lamotrigina+picolinamida, 1. picolinamida; 2.  $x_{\text{Lamo}} = 0,10$ ; 3.  $x_{\text{Lamo}} = 0,20$ ; 4.  $x_{\text{Lamo}} = 0,33$ ; 5.  $x_{\text{Lamo}} = 0,50$ ; 6.  $x_{\text{Lamo}} = 0,67$ ; 7. Lamotrigina;  $\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C/min}$ .



**Figura 4.10.** Espectros de infravermelho: 1. lamotrigina; 2. picolinamida, polimorfo I; 3. picolinamida, polimorfo II; 4. mistura lamotrigina+picolinamida,  $x_{\text{DIF}} = 0,67$ , mecanoquímica sem solvente, 15Hz, 30 min; 5. Mistura 4, submetida a 30 minutos adicionais de moagem, 15 Hz; 6. mistura 5, espectro obtido após 1 semana de preparação.



**Figura 4.11.** Diagrama de fases com eutético simples, simulado para a mistura binária (lamotrigina+picolinamida), eq. 2.8; ■ pontos experimentais obtidos dos termogramas da Figura 4.9.

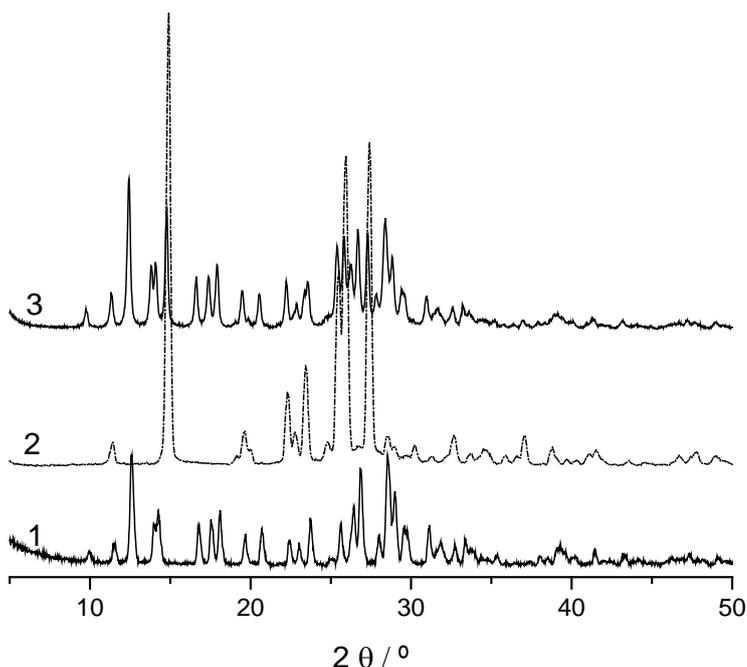
Um tempo adicional de moagem, num total de 60 minutos, resulta numa mistura física da picolinamida, polimorfo I, com a lamotrigina, espectro 5, Figura 4.10. Esta amostra guardada à temperatura ambiente evolui, como esperado, para uma mistura de lamotrigina e PA, polimorfo II, espectro 6, Figura 4.10.

Neste sistema, a mecanoquímica, na ausência de solvente, não resulta em associação entre os dois compostos, obtendo-se uma mistura física. As tentativas que foram realizadas com assistência de etanol também não foram bem-sucedidas.

#### 4.2.2 Lamotrigina + nicotinamida

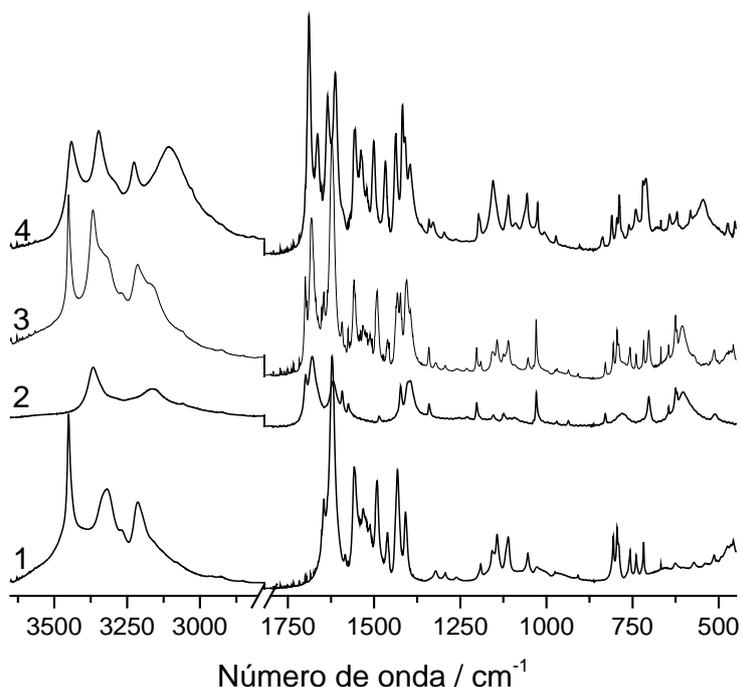
O sistema lamotrigina + nicotinamida foi investigado por Cheney e colaboradores [241] resultando na obtenção de um co-cristal na estequiometria 1:1, ainda que os autores não tenham conseguido resolver a respectiva estrutura cristalina. O co-cristal foi obtido por mecanoquímica assistida por metanol e também por fusão de uma mistura dos dois componentes.

Neste trabalho tentou-se gerar o co-cristal por mecanoquímica sem assistência de solvente, mas sem resultado, Figura 4.12.



**Figura 4.12** Difractogramas de raios-X de pó. 1. Lamotrigina; 2. Nicotinamida; 3. Mistura Lamo+NA 1:1, mecanoquímica, sem solvente.

O co-cristal descrito por Cheney e colaboradores [241] foi obtido com sucesso, por aquecimento desta mistura física em DSC até 140 °C. Na Figura 4.13, apresentam-se os espectros de infravermelho da lamotrigina, da nicotinamida e do co-cristal. Este último espectro é coincidente com o do co-cristal referido [241]. As alterações no espectro do co-cristal em relação aos compostos puros são evidentes: no espectro da lamotrigina as bandas a  $3452,3 \text{ cm}^{-1}$  e  $3318,8 \text{ cm}^{-1}$ , atribuídas à vibração de alongação assimétrica do  $\text{NH}_2$ , sofrem desvios para os  $3441 \text{ cm}^{-1}$  e os  $3291 \text{ cm}^{-1}$ , respectivamente, enquanto as bandas correspondentes a vibração de alongação simétrica se deslocam de  $3267$  e  $3214 \text{ cm}^{-1}$  para  $3226$  e  $3107 \text{ cm}^{-1}$ . A vibração da deformação angular do N–H da amina primária, observada a  $1621 \text{ cm}^{-1}$ , desvia-se para  $1612 \text{ cm}^{-1}$ . No espectro da nicotinamida as alterações mais significativas são observadas a nível dos modos de vibração de alongação assimétrica e simétrica do N–H do grupo amida, de  $3366 \text{ cm}^{-1}$  e  $3164 \text{ cm}^{-1}$ , para  $3347 \text{ cm}^{-1}$  e  $3106 \text{ cm}^{-1}$ , respectivamente. A banda aos  $1679 \text{ cm}^{-1}$  atribuída à alongação do carbonilo do grupo amida desloca-se para a  $1664 \text{ cm}^{-1}$ .

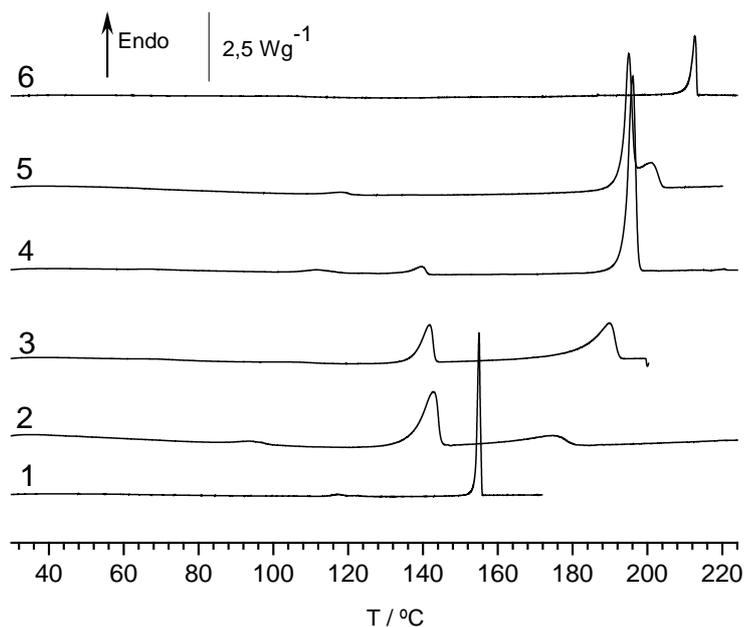


**Figura 4.13** Espectros de infravermelho: 1. lamotrigina; 2. nicotinamida, polimorfo I; 3. Mistura Lamo+NA 1:1, mecanoquímica, sem solvente, 4. Co-cristal (Lamo+NA) 1:1, obtido por aquecimento a 140 °C.

### 4.2.3 Lamotrigina + isonicotinamida

Na sequência do procedimento que tem vindo a ser seguido neste trabalho, preparam-se misturas binárias de lamotrigina e isonicotinamida em diferentes proporções, por mecanoquímica na ausência de solvente. Inicialmente caracterizaram-se as amostras obtidas por calorimetria diferencial de varrimento, DSC.

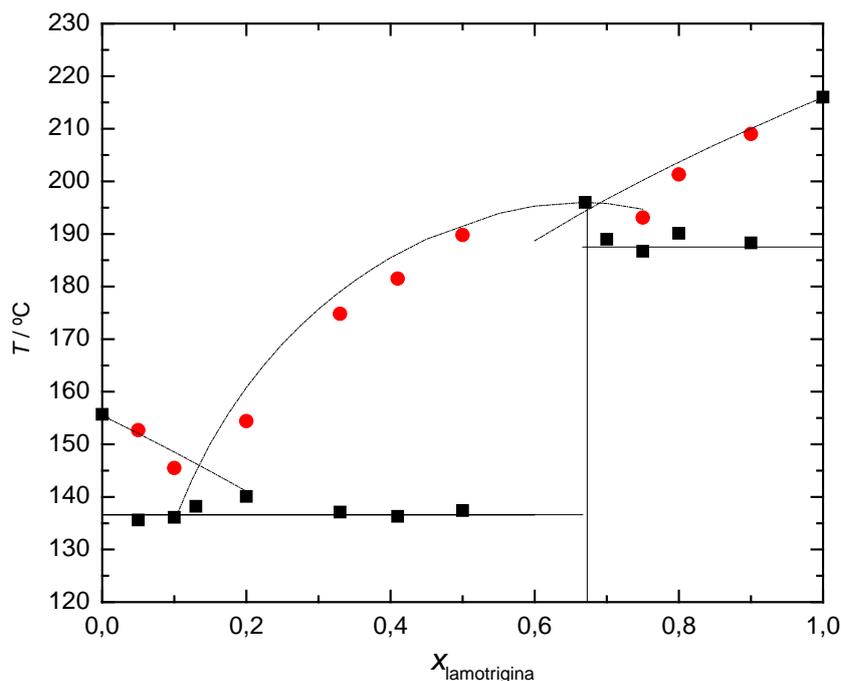
Analisando os termogramas obtidos, Figura 4.14, constatou-se que a mistura da lamotrigina com a isonicotinamida,  $x_{\text{Lamo}} = 0,67$  (2:1), apresenta temperatura de fusão,  $T_{\text{fus}} = (196,2 \pm 0,2) \text{ } ^\circ\text{C}$ ,  $\Delta_{\text{fus}}H = (89,4 \pm 2,6) \text{ kJ/mol}$ , ( $n = 5$ ), superior ao ponto de fusão da isonicotinamida,  $T_{\text{fus}} = (155,5 \pm 0,5) \text{ } ^\circ\text{C}$ , e inferior ao da lamotrigina,  $T_{\text{fus}} = (215,9 \pm 0,2) \text{ } ^\circ\text{C}$ . A fusão da mistura traduz-se por um pico estreito, o que normalmente é interpretado como sendo uma característica de um composto puro. A partir das curvas de aquecimento obtidas por DSC, para as diferentes misturas de lamotrigina+isonicotinamida, Tabela 4.2, é possível construir o diagrama de fases sólido-líquido que se mostra na Figura 4.15.



**Figura 4.14** Curvas de DSC de aquecimento de misturas seleccionadas de (lamotrigina+isonicotinamida), 1) Isonicotinamida, polimorfo I; 2)  $x_{Lamo} = 0,33$ ; 3)  $x_{Lamo} = 0,50$ ; 4)  $x_{Lamo} = 0,67$ ; 5)  $x_{Lamo} = 0,80$ ; 6) lamotrigina.  $\beta = 10\text{ }^\circ\text{C/min}$ .

**Tabela 4.2** Temperaturas de transição  $T_{E1}$ ,  $T_{E2}$ , e  $T_{liq}$  obtidas para as várias transições de fase observadas no aquecimento em DSC de misturas de (lamotrigina+isonicotinamida) com diferentes fracções molares de lamotrigina,  $x_{Lamo}$ ,  $\beta = 10\text{ }^\circ\text{C/min}$ .

| $x_{Lamo}$ | $T_{E1} / ^\circ\text{C}$ | $T_{E2} / ^\circ\text{C}$ | $T_{liq} / ^\circ\text{C}$ |
|------------|---------------------------|---------------------------|----------------------------|
| 0,00       |                           |                           | 155,7                      |
| 0,05       | 135,6                     |                           | 152,7                      |
| 0,10       | 136,1                     |                           | 145,5                      |
| 0,13       | 138,2                     |                           |                            |
| 0,20       | 140,1                     |                           | 154,4                      |
| 0,33       | 137,1                     |                           | 174,8                      |
| 0,41       | 136,3                     |                           | 185,5                      |
| 0,50       | 137,4                     |                           | 189,8                      |
| 0,67       |                           |                           | 196,3                      |
| 0,70       |                           | 189,0                     |                            |
| 0,75       |                           | 186,8                     | 193,1                      |
| 0,80       |                           | 190,1                     | 201,3                      |
| 0,90       |                           | 188,3                     | 209,0                      |
| 1,00       |                           |                           | 216,0                      |



**Figura 4.15** Diagrama de fases binário sólido+líquido de (lamotrigina+isonicotinamida). As linhas a tracejado resultam de simulação usando as equações 2.10 e 4.1.  $\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C/min}$ .

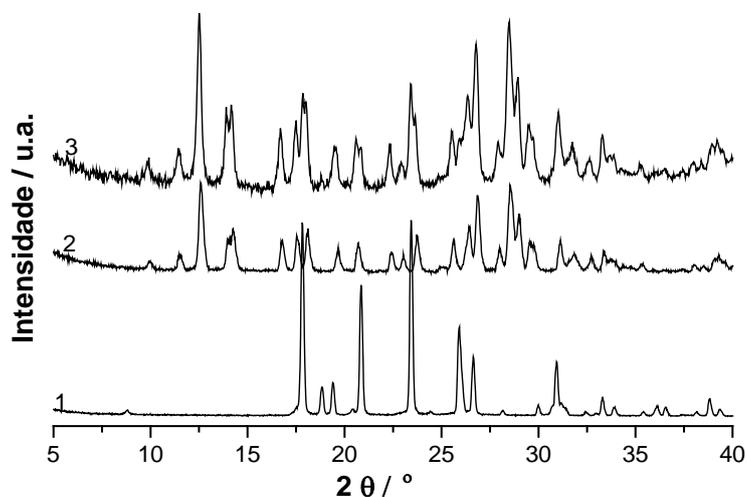
No diagrama de fases é possível identificar dois pontos invariantes, ambos correspondentes a misturas com temperaturas de fusão inferiores à da mistura  $x_{\text{Lamo}} = 0,67$ , o que possibilitou a identificação da formação do co-cristal (lamotrigina:isonicotinamida) (2:1).

A previsão do *liquidus*, quer na região entre os dois pontos eutéticos, (equação 2.10), quer nas regiões ricas em lamotrigina ou em isonicotinamida, (equação 4.1), representa uma boa estimativa, quando comparada com os resultados obtidos experimentalmente, o que reforça a conclusão de formação dum novo composto supramolecular.

$$\frac{1}{T_{\text{fus},i}} = \frac{1}{T_{\text{fus},i}^*} - \frac{R}{\Delta_{\text{fus}}H_{m,i}^*} \ln x_i \quad (4.1)$$

Prosseguindo o estudo da caracterização da mistura identificada como sendo o co-cristal (lamotrigina:isonicotinamida) 2:1, uma amostra da mistura  $x_{\text{Lamo}} = 0,67$  foi analisada por difração de raios-X de pó. Comparando o difractograma desta mistura, com os difractogramas das substâncias de partida, Figura 4.16, constatou-se que se trata

de um difractograma soma dos difractogramas destas, o que indica que o processo de mecanoquímica não resultou em alteração estrutural.



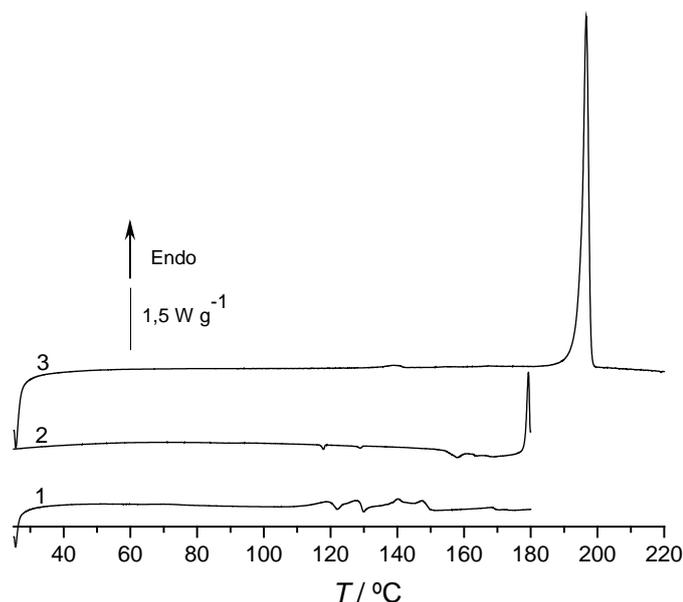
**Figura 4.16** Difractogramas de raios-X de pó. 1) Isonicotinamida polimorfo I; 2) Lamotrigina; 3) Lamotrigina + isonicotinamida (2:1) mecanoquímica sem solvente, 15 Hz, 30 min.

Esta conclusão não é concordante com os resultados obtidos a partir do diagrama de fases, onde foi possível identificar a formação de um novo composto e a sua estequiometria.

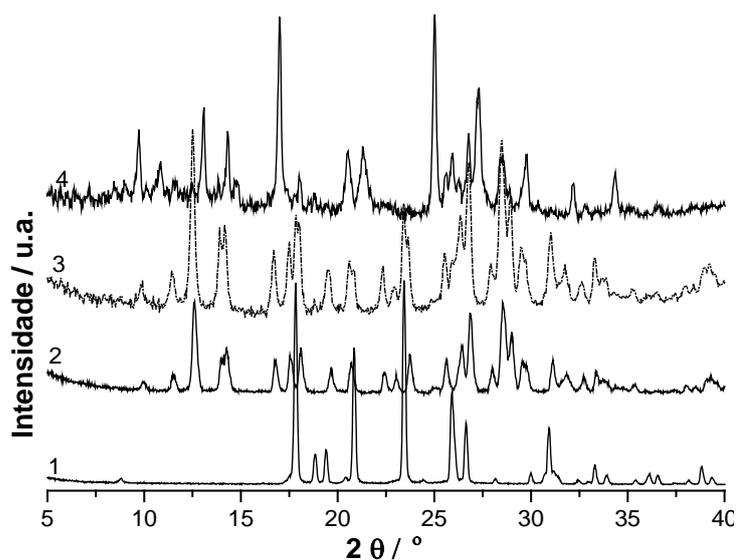
No entanto, analisando a curva de aquecimento da mistura  $x_{\text{Lamo}} = 0,67$ , Figura 4.14, é evidente a ocorrência de eventos térmicos entre 120 e 150 °C. Estas alterações no perfil do termograma indicam que a amostra sofre transformações durante o processo de aquecimento, que deverão corresponder à formação do co-cristal. Foi confirmado por termogravimetria (anexo A1.5) que não ocorre degradação das misturas em toda a gama de temperaturas investigada. De facto, a amostra gerada no ciclo de aquecimento/arrefecimento 1+2, Figura 4.17, apresenta um difractograma de raios-X de pó, com alterações significativas quando comparado com os difractogramas dos compostos iniciais, como se espera para o co-cristal, Figura 4.18. De notar que no processo de aquecimento 3 (após o ciclo 1+2), Figura 4.17, se obtém um termograma onde se regista apenas a fusão do co-cristal a  $T_{\text{fus}} = 192,6$  °C.

O espectro de infravermelho do co-cristal lamotrigina:isonicotinamida (2:1), Figura 4.19, reflecte a formação de uma rede de ligações de hidrogénio distinta da dos compostos de partida. Merecem destaque as alterações na região de elongação do grupo amida da isonicotinamida – a banda a  $3371\text{ cm}^{-1}$  desloca-se para  $3433\text{ cm}^{-1}$  – e na

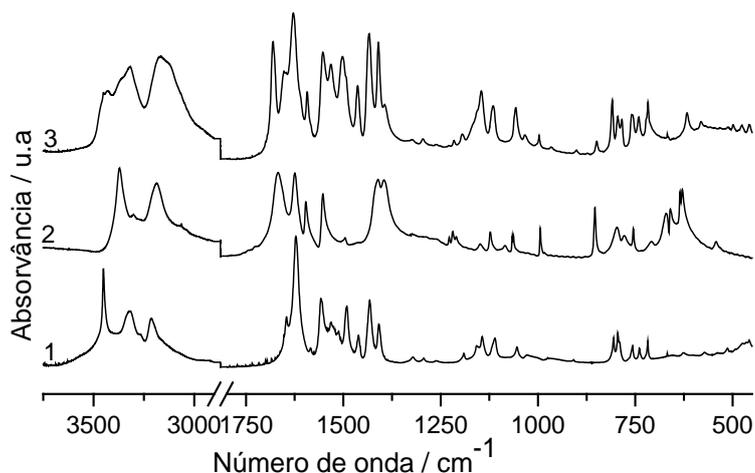
elongação do carbonilo do grupo amida da isonicotinamida – a banda a  $1668\text{ cm}^{-1}$ , desloca-se para  $1680\text{ cm}^{-1}$ .



**Figura 4.17** Curvas de DSC da mistura lamotrigina+isonicotinamida,  $x_{\text{Lamo}} = 0,67$ . 1) Aquecimento até  $180\text{ }^\circ\text{C}$ ; 2) Arrefecimento subsequente até temperatura ambiente; 3) Aquecimento até à fusão após 1+2.  $\beta = 10\text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$ .



**Figura 4.18** Difractogramas de raios-X de pó. 1. Isonicotinamida polimorfo I; 2. Lamotrigina; 3. Lamotrigina + isonicotinamida (2:1) mecanoquímica sem solvente, 15 Hz, 30 min; 4) Co-cristal (lamotrigina+isonicotinamida) 2:1 - mistura anterior após aquecimento até  $180\text{ }^\circ\text{C}$  e arrefecimento até à temperatura ambiente,  $\beta = 10\text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$ .



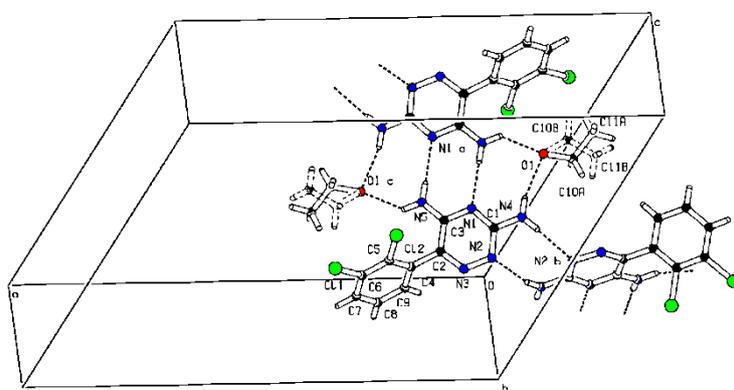
**Figura 4.19** Espectros de Infravermelho. 1) Lamotrigina; 2) Isonicotinamida, polimorfo I; 3) co-cristal (lamotrigina + isonicotinamida) 2:1.

#### 4.2.3.1 Estrutura cristalina dum novo etanoato de lamotrigina (1:1)

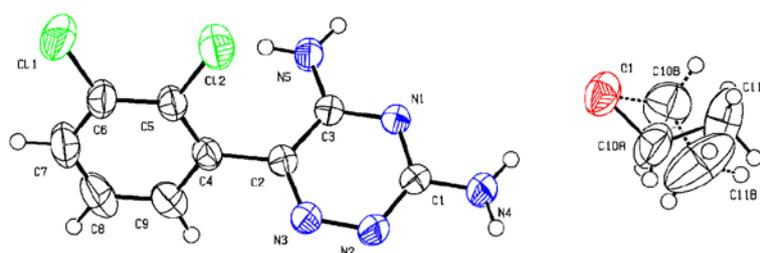
Um aspecto importante durante a realização de um *screening* de co-cristais é a resolução da estrutura cristalina. No entanto, tal objectivo muitas vezes é de difícil concretização pelas dificuldades inerentes à obtenção de monocristais. A cristalização em solução é um dos métodos mais utilizados para este fim, no entanto, poderá não dar resultado, principalmente quando as duas substâncias têm solubilidades muito diferentes no solvente utilizado. No caso da lamotrigina a tarefa é dificultada também pela sua tendência para formar solvatos.

Foram efectuadas várias tentativas no sentido de obter cristais de dimensão adequada para resolução da estrutura cristalina do co-cristal (Lamo+INA) 2:1, utilizando vários solventes e diferentes condições experimentais. Não foi possível atingir este objectivo, no entanto, como acontece por vezes neste tipo de pesquisas, podem surgir novas formas sólidas como no caso da nicotinamida [181]. No caso concreto, uma outra forma sólida de lamotrigina foi descoberta durante estas experiências: um novo etanoato de lamotrigina (1:1). Monocristais deste solvato foram obtidos a partir de uma amostra de 1,50 mg da mistura lamotrigina:isonicotinamida (2:1), preparada em moinho de bolas, dissolvida em 10 mL de etanol, após evaporação do solvente à temperatura ambiente.

A estrutura deste etanoato foi resolvida por difração de raios-X de monocristal, (ver anexo A1.9). Pertence ao grupo espacial monoclinico,  $C2/c$ , e a célula unitária, Figura 4.20, possui as seguintes dimensões:  $a = 21,300(2)$  Å;  $b = 10,4709(1)$  Å;  $c = 15,0238(6)$  Å;  $\beta = 119,190(7)^\circ$ ;  $Z = 8$ ,  $V = 2925,2(5)$  Å<sup>3</sup>;  $T = 293$  K. A estrutura cristalina do etanoato da lamotrigina foi depositada no CSD com o número CCDC 981033. Na Figura 4.21, apresenta-se o diagrama ORTEP, mostrando o esquema da numeração dos átomos na estrutura cristalina do etanoato da lamotrigina. Os dois anéis da lamotrigina formam entre si um ângulo de  $61,39(7)^\circ$  e as moléculas de etanol apresentam desordem posicional.



**Figura 4.20** Célula unitária do etanoato da lamotrigina(1:1) CCDC 981033, realçando a rede de ligações de hidrogênio entre as cadeias de dímeros e as moléculas de etanol.



**Figura 4.21** ORTEP do etanoato da lamotrigina(1:1) CCDC 981033, mostrando o esquema da numeração dos átomos.

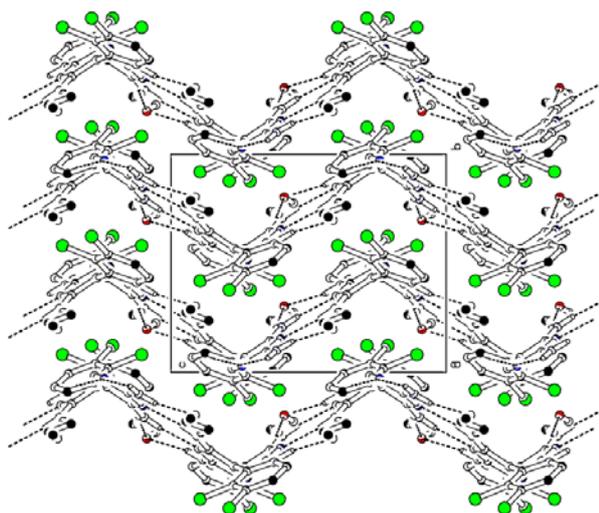
Na rede cristalina, as moléculas de lamotrigina formam cadeias de dímeros, Figura 4.22, através das ligações de hidrogênio intermoleculares,  $N(5)-H(5A)\cdots N(1)$ ,  $N(1)\cdots H(5A)-N(5)$  e  $N(4)-H(4A)\cdots N(2)$ . As moléculas de etanol estão integradas nas cadeias por ligações de hidrogênio entre o átomo de oxigênio e os átomos de

hidrogénio do grupo amina da lamotrigina,  $O(1)\cdots H(4B)-N(4)$  e  $O(1)\cdots H(5B)-N(5)$ , Tabela 4.3.

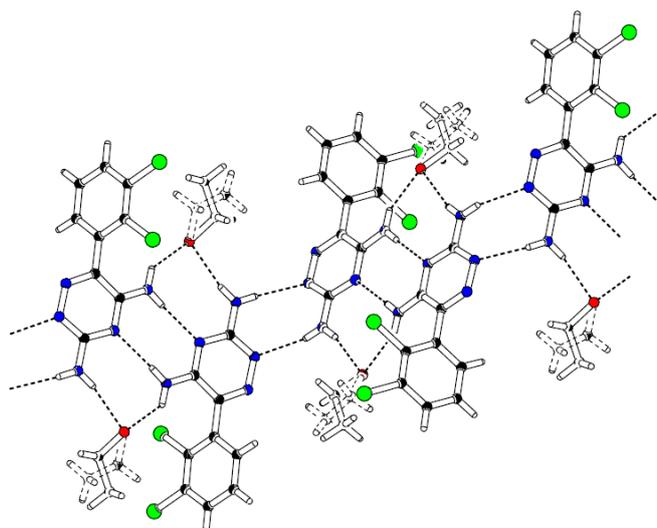
**Tabela 4.3** Parâmetros geométricos das ligações de hidrogénio existentes na estrutura cristalina do etanoato da lamotrigina (1:1) CCDC 981033.

|                          | D $\cdots$ A/Å | $\angle$ D-H $\cdots$ A / ° |
|--------------------------|----------------|-----------------------------|
| N(4)-H(4A) $\cdots$ N(2) | 3,0270(18)     | 162                         |
| N(4)-H(4B) $\cdots$ O(1) | 3,01447(16)    | 162                         |
| N(5)-H(5A) $\cdots$ N(1) | 3,0147(16)     | 174                         |
| N(5)-H(5B) $\cdots$ O(1) | 2,8734(18)     | 135                         |

a)

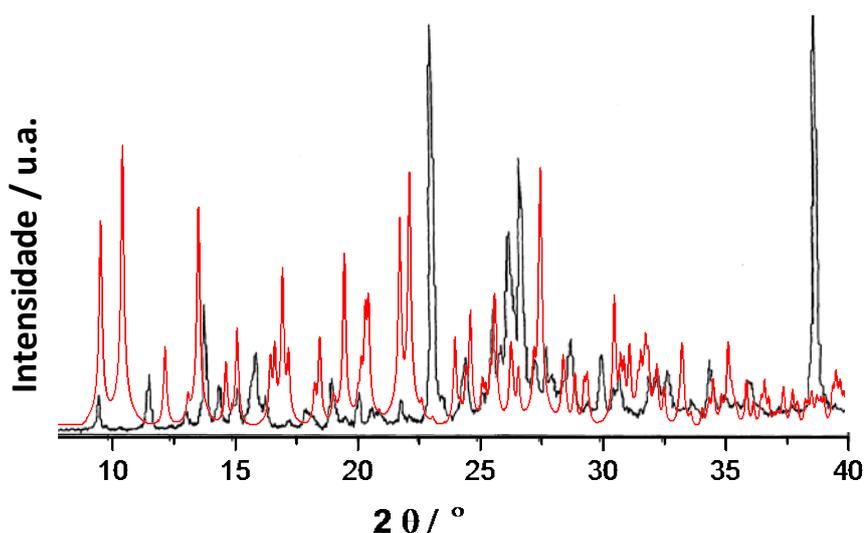


b)

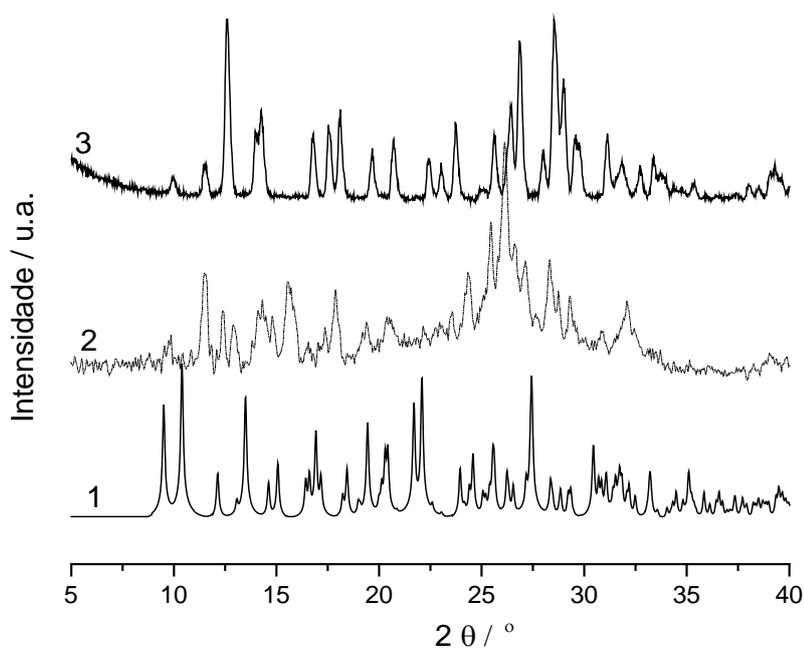


**Figura 4.22** a) Diagrama de empacotamento cristalino do etanoato da lamotrigina (1:1) CCDC 981033, mostrando as cadeias de ligações de hidrogénio. b) Uma vista em pormenor da ligação de hidrogénio na formação dos dímeros de lamotrigina, e a associação às moléculas de etanol.

É interessante registrar a capacidade da lamotrigina dar origem a etanoatos com diferentes estequiometrias. Assim, uma patente, registada nos Estados Unidos, [252] dá conta dum outro etanoato, Lamo:etanol mas numa proporção de (1:2/3), tendo os autores publicado o respectivo difractograma de raios-X de pó, Figura 4.23. Quer o etanoato patenteado, quer o solvato (etanoato) que se obtém por moagem da lamotrigina assistida por etanol, Figura 4.24, são distintos da estrutura resolvida neste trabalho.



**Figura 4.23.** Difractogramas de raios-X de pó. A vermelho - simulado para o etanoato de lamotrigina 1:1 CCDC 981033, a preto – etanoato de lamotrigina (1:2/3) [252].



**Figura 4.24** Difractogramas de raios-X de pó. 1.Simulado para o novo etanoato de lamotrigina 1:1; 2. Solvato obtido por moagem de lamotrigina assistida com etanol; 3. Lamotrigina comercial.

### 4.3 Investigação de formas sólidas binárias de lamotrigina com as xantinas, teofilina e cafeína

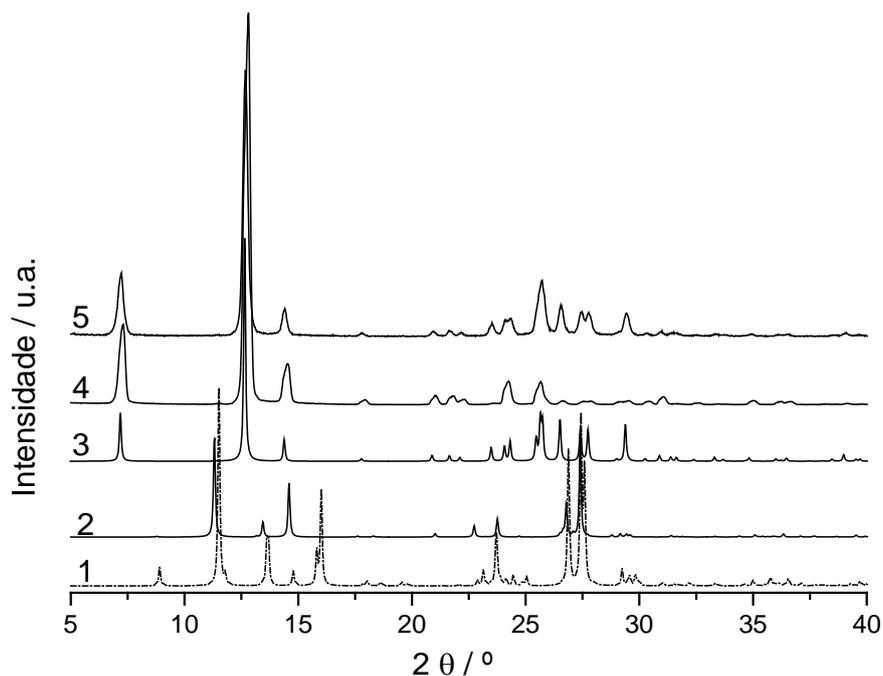
#### 4.3.1 Lamotrigina + teofilina

A teofilina, uma metilxantina, é um activo farmacêutico com acção broncodilatadora usado no tratamento da asma.

O polimorfismo deste composto tem sido alvo de estudo continuado, tendo sido identificadas inicialmente duas formas polimórficas, II e I, que Legendre e Randzio [253] e Suzuki *et al.* [49] propuseram como enantiotrópicas. A forma II seria termodinamicamente mais estável à temperatura ambiente que a forma I, ocorrendo a transição II→I a  $T = 264\text{ °C}$ , com uma entalpia baixa  $\Delta H = 2\text{ kJ/mol}$  [253]. Recentemente Seton *et al.* [254] resolveram a estrutura de um novo polimorfo, IV, e por medidas de solubilidade em metanol concluíram que esta seria a forma termodinamicamente estável à temperatura ambiente e propuseram uma ordem inversa de estabilidade para as formas I e II. Qualquer destas formas é cineticamente estável à temperatura ambiente [254]. Duas outras formas, III [255-257] e V [258], metaestáveis, foram também identificadas.

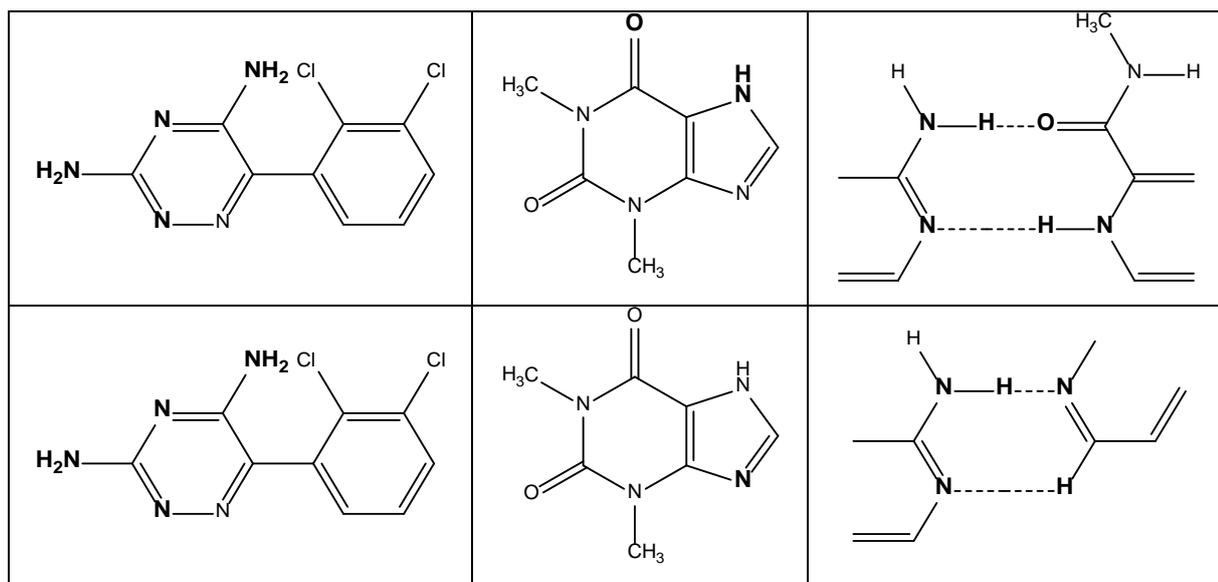
A teofilina usada neste trabalho tem a estrutura cristalina do polimorfo II, não se alterando por mecanoquímica, nas condições de ensaio, Figura 4.25.

Do ponto de vista físico-químico, a teofilina representa um grande desafio em formulação farmacêutica uma vez que forma um mono-hidrato estável a partir das formas anidras, mesmo em condições de actividade relativamente baixa de água. Estudos têm demonstrado que uma forma possível de resolver o problema da estabilidade das formas anidras da teofilina em relação ao hidrato poderá ser a co-cristalização da teofilina [259], uma vez que foi demonstrado que na teofilina, forma hidratada, existe, uma preferência para a formação da ligação de hidrogénio O–H⋯N.



**Figura 4.25** Difractogramas de raios-X de pó da teofilina. 1. Simulado para o polimorfo IV [260]; 2. Simulado para o polimorfo I [261]; 3. Simulado para o polimorfo II [262]; 4. Amostra comercial; 5. Amostra obtida por mecanoquímica, sem solvente, 15 Hz, 30min.

A co-cristalização entre a lamotrigina e a teofilina, do ponto de vista da engenharia de cristais, representa uma oportunidade para explorar a formação de diferentes heterossintões intermoleculares, ilustrados na Figura 4.26.

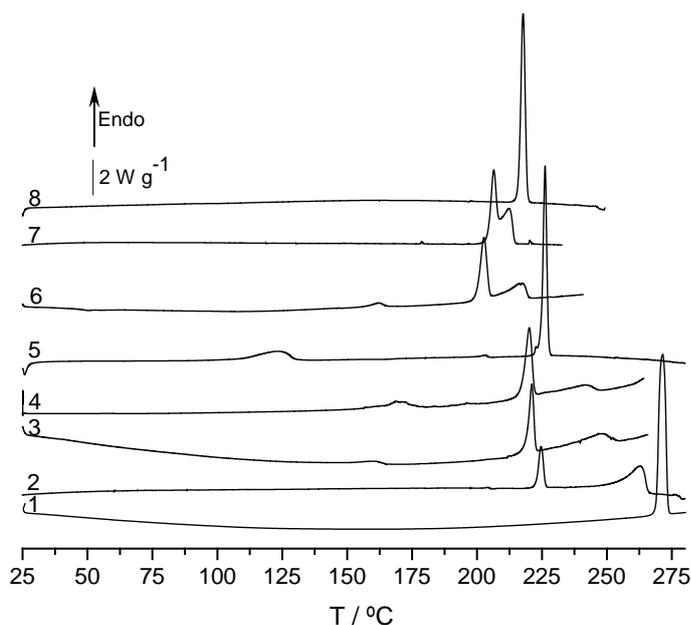


**Figura 4.26** Ilustração de pontos de associação possíveis entre a lamotrigina e a teofilina.

Tendo em conta que em nenhuma das moléculas intervenientes na co-cristalização existe o grupo OH, obviamente não terá lugar a formação da ligação de hidrogénio O–H...N. Será interessante averiguar se estes heterossintões serão suficientemente eficazes, de modo a evitar a formação de hidratos.

Por outro lado, sabendo que a lamotrigina e a teofilina são ambos activos farmacêuticos, um co-cristal com os dois activos poderá ser potencialmente útil em terapia dual [109].

Neste sistema, lamotrigina + teofilina, seguiu-se a mesma metodologia de estudo: preparação de misturas binárias com diferentes fracções molares de lamotrigina, por mecanoquímica, sem solvente, seguida de análise das misturas por DSC. A análise dos termogramas, Figura 4.27, permite identificar dois pontos invariantes, ambos com temperatura de fusão inferior à da mistura (1:1).



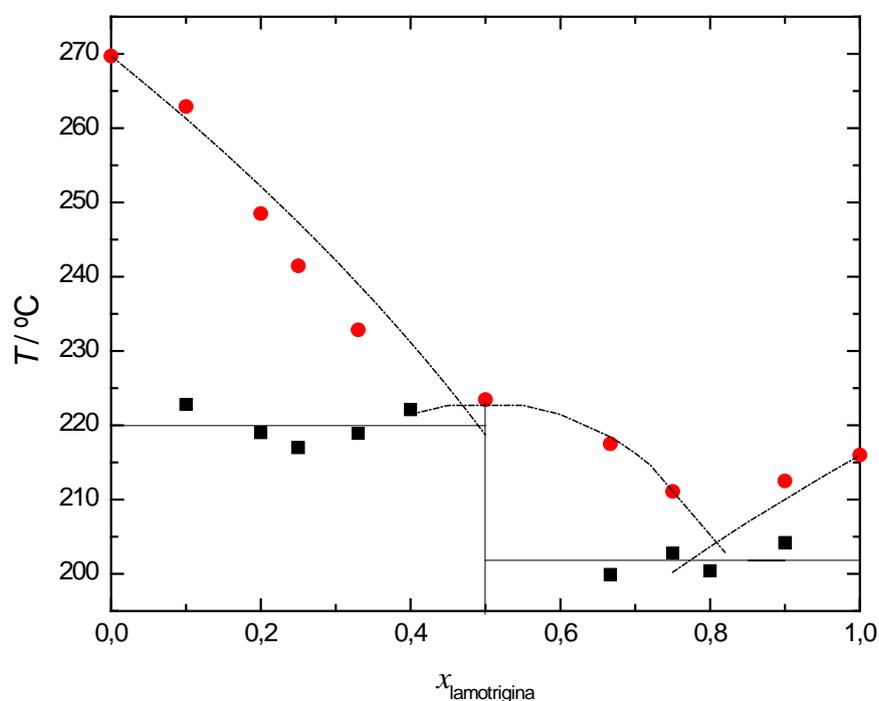
**Figura 4.27** Curvas de DSC de aquecimento de misturas seleccionadas de (lamotrigina+teofilina). 1. teofilina comercial; 2.  $x_{\text{Lamo}} = 0,10$ ; 3.  $x_{\text{Lamo}} = 0,20$ ; 4.  $x_{\text{Lamo}} = 0,25$ ; 5.  $x_{\text{Lamo}} = 0,50$ ; 6.  $x_{\text{Lamo}} = 0,67$ ; 7.  $x_{\text{Lamo}} = 0,90$ ; 8. lamotrigina.  $\beta = 10$  °C/min.

A mistura (1:1) apresenta um pico de fusão estreito, à temperatura  $T_{\text{fus}} = (223,1 \pm 0,4)$  °C,  $\Delta_{\text{fus}}H = (51,1 \pm 1,3)$  kJ/mol, ( $n = 6$ ) ( lamotrigina,  $T_{\text{fus}} = (215,9 \pm 0,2)$  °C; teofilina,  $T_{\text{fus}} = (269,7 \pm 0,7)$  °C. A partir dos dados extraídos dos termogramas,

Tabela 4.4, foi possível construir o diagrama de fase sólido-líquido deste sistema, Figura 4.28.

**Tabela 4.4** Temperaturas de transição  $T_{E1}$ ,  $T_{E2}$ , e  $T_{liq}$  obtidas para as várias transições de fase observadas no aquecimento em DSC de misturas de (lamotrigina+teofilina) com diferentes frações molares de lamotrigina,  $x_{Lamo}$ ,  $\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C/min}$ .

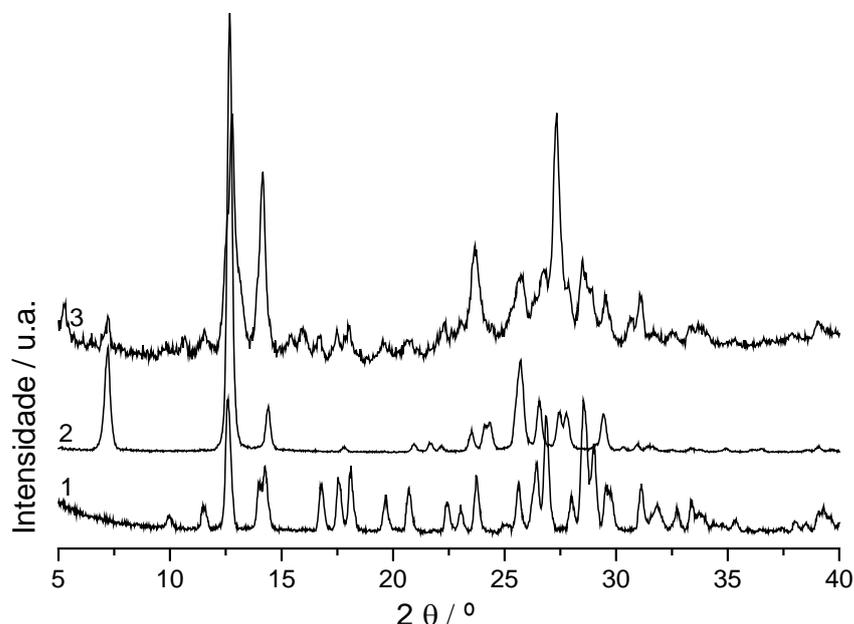
| $x_{Lamo}$ | $T_{E1} / \text{ }^\circ\text{C}$ | $T_{E2} / \text{ }^\circ\text{C}$ | $T_{liq} / \text{ }^\circ\text{C}$ |
|------------|-----------------------------------|-----------------------------------|------------------------------------|
| 0,00       |                                   |                                   | 269,7                              |
| 0,10       | 222,8                             |                                   | 262,9                              |
| 0,20       | 219,0                             |                                   | 248,5                              |
| 0,25       | 217,0                             |                                   | 241,5                              |
| 0,33       | 218,9                             |                                   | 232,8                              |
| 0,40       | 222,1                             |                                   |                                    |
| 0,50       |                                   |                                   | 223,5                              |
| 0,67       |                                   | 199,9                             | 217,5                              |
| 0,75       |                                   | 202,8                             | 211,1                              |
| 0,80       |                                   | 200,4                             |                                    |
| 0,90       |                                   | 204,2                             | 212,5                              |
| 1,00       |                                   |                                   | 216,0                              |



**Figura 4.28** Diagrama de fases binário sólido+liquido de (lamotrigina+teofilina), As linhas a tracejado resultam de simulação usando as equações 3.1 e 4.1.  $\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C/min}$ .

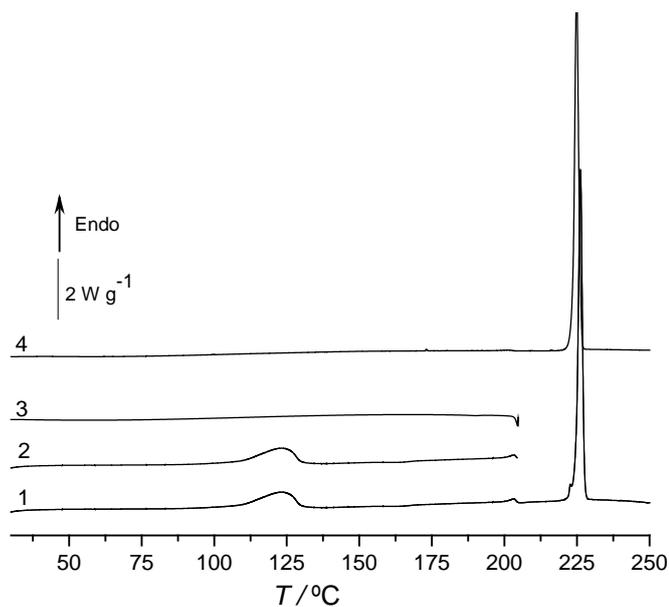
Os resultados mostram a formação de um co-cristal (Lamo+Teof) 1:1. As curvas do *liquidus* calculadas utilizando as equações 3.1 e 4.1 (a tracejado na Figura 4.28) estão em excelente concordância com os dados experimentais.

No entanto, tal como verificado no sistema (lamotrigina:isonicotinamida), a análise por difracção de raios-X de pó da mistura  $x_{\text{Lamo}} = 0,50$ , preparada por mecanoquímica, Figura 4.29, veio mostrar que a reacção não ocorreu, pelo menos por completo, no processo de moagem: o difractograma da mistura com composição equimolar apresenta reflexões dos compostos de partida, apesar de aparecerem também novas reflexões. A formação do co-cristal ocorre, portanto, durante o aquecimento.

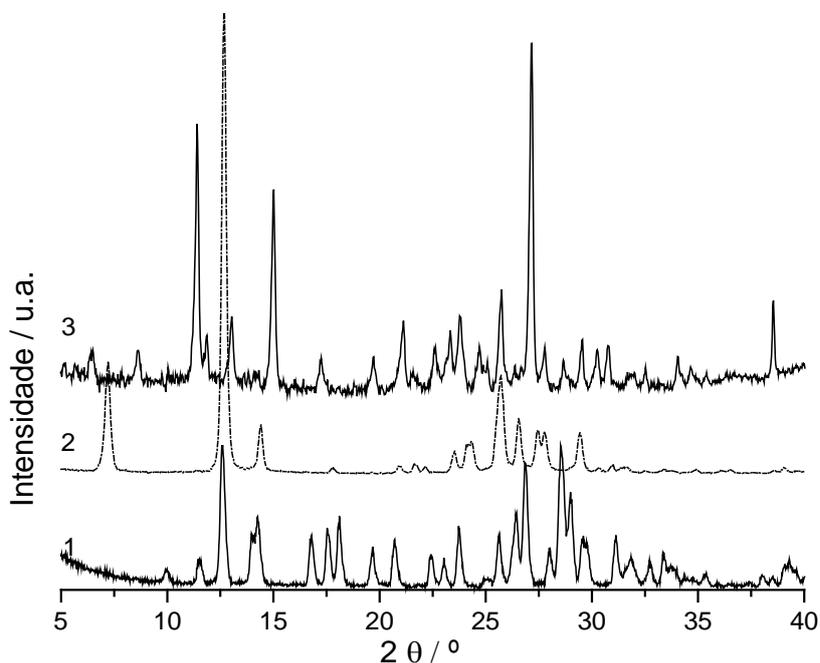


**Figura 4.29** Diffractogramas de raios-X de pó. 1. Lamotrigina; 2. Teofilina, polimorfo II; 3. (lamotrigina+teofilina) (1:1), mistura preparada por mecanoquímica.

Assim, uma amostra preparada aquecendo a mistura  $x_{\text{Lamo}} = 0,50$ , obtida por mecanoquímica, até aos 205 °C e arrefecendo-a de seguida até a temperatura ambiente, ciclo 2+3, Figura 4.30, resulta em conversão no co-cristal: no termograma 4, Figura 4.30, observa-se apenas a fusão deste novo sólido. O difractograma de raios-X de pó do co-cristal (lamotrigina+teofilina) 1:1, gerado no ciclo aquecimento/arrefecimento 2+3 é mostrado na Figura 4.31 e o respectivo espectro de infravermelho na Figura 4.32.



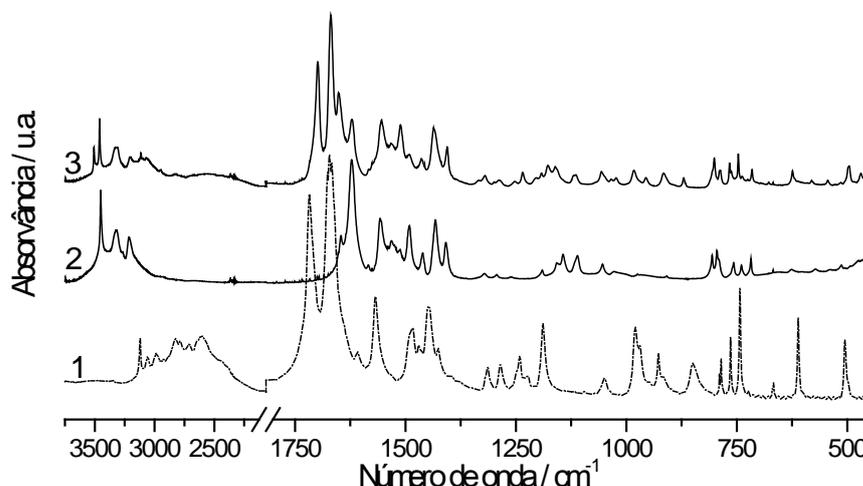
**Figura 4.30** Curvas de DSC da mistura  $x_{\text{Lamo}} = 0,5$ , sistema lamotrigina+teofilina. 1. Aquecimento até 250 °C; 2. Aquecimento de uma nova amostra até 205 °C; 3. Arrefecimento subsequente até temperatura ambiente. 4. Aquecimento até à fusão após 2+3.  $\beta = 10$  °C/min.



**Figura 4.31** Difractogramas de raios-X de pó. 1. Lamotrigina; 2. Teofilina, polimorfo II; 3. Co-cristal lamotrigina+teofilina (1:1) obtido por tratamento térmico por DSC (ciclo 2+3, Figura 4.30) de uma mistura preparada por mecanoquímica.

Algumas das alterações verificadas na comparação dos espectros de infravermelho da teofilina, polimorfo II, da lamotrigina e do co-cristal são as seguintes: o aparecimento

duma banda nova no co-cristal a  $3507\text{ cm}^{-1}$ , o deslocamento da banda de vibração assimétrica da ligação NH da lamotrigina de  $3450$  para  $3460\text{ cm}^{-1}$ , o deslocamento da banda da vibração do grupo CO da teofilina, de  $1717\text{ cm}^{-1}$  para  $1698\text{ cm}^{-1}$ .

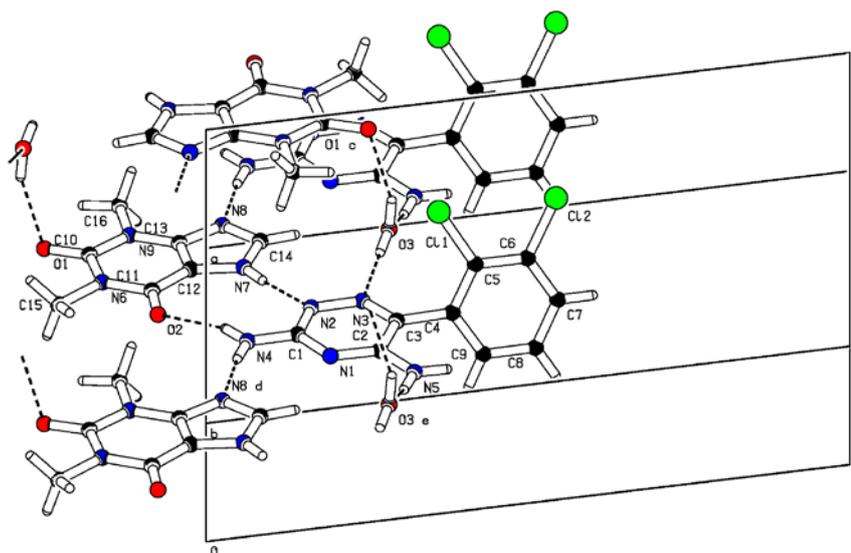


**Figura 4.32** Espectros de Infravermelho. 1. Teofilina, polimorfo II; 2. Lamotrigina; 3. Co-cristal (lamotrigina + teofilina) 1:1.

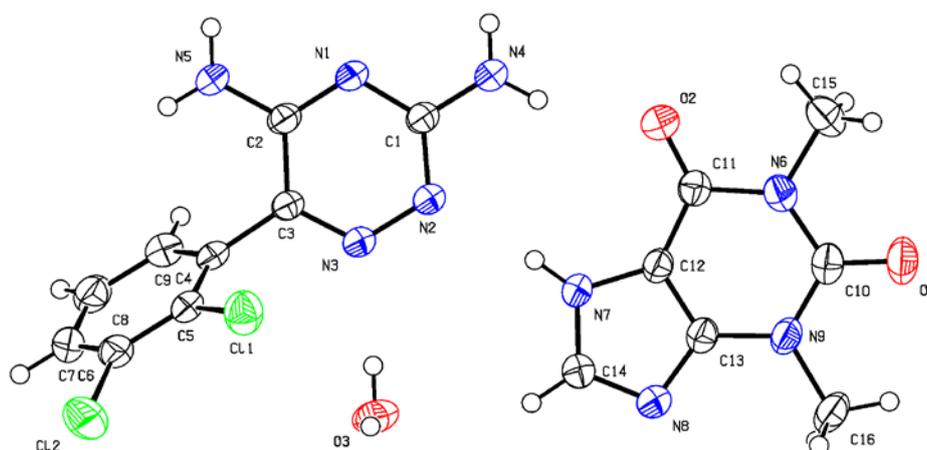
#### 4.3.1.1 Co-cristal hidrato de lamotrigina+teofilina+água (1:1:1)

Num dos múltiplos ensaios realizados na tentativa de obtenção do monocristal de (Lamo+Teof) 1:1 foram utilizadas as condições seguintes: dissolução de  $0,2\text{ mmol}$  de lamotrigina e  $0,2\text{ mmol}$  de teofilina em  $5\text{ ml}$  de tetra-hidrofurano (saturado com água), a uma temperatura de  $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ . A solução foi deixada a evaporar à temperatura ambiente. A observação em microscópio dos sólidos obtidos levou à selecção de um monocristal cuja estrutura foi possível resolver.

Trata-se de um co-cristal hidrato lamotrigina:teofilina: $\text{H}_2\text{O}$  (1:1:1), confirmando a tendência de ambos os compostos para formação de solvatos. A estrutura cristalina deste co-cristal hidrato foi depositada na CSD com o número CCDC 988214. Este solvato cristaliza no sistema triclinico P-1, com os seguintes parâmetros de célula unitária, Figura 4.33:  $a = 7,6371(2)\text{ \AA}$ ;  $b = 8,1757(2)\text{ \AA}$ ;  $c = 16,8031(4)\text{ \AA}$ ;  $\alpha = 84,2400(10)^{\circ}$ ;  $\beta = 83,1620(10)^{\circ}$ ;  $\gamma = 67,885(2)^{\circ}$ ,  $Z = 2$ ,  $V = 963,34(4)\text{ \AA}^3$ ,  $T = 293\text{ K}$ . Na Figura 4.34 apresenta-se o diagrama ORTEP, mostrando o esquema da numeração dos átomos na estrutura cristalina deste solvato. Os dois anéis da lamotrigina formam entre si um ângulo de  $67,74(11)^{\circ}$ .



**Figura 4.33** Célula unitária mostrando o empacotamento na estrutura cristalina do co-cristal hidrato lamotrigina:teofilina:1:1:1.



**Figura 4.34** Diagrama ORTEP do co-cristal hidrato lamotrigina:teofilina ( $T = 293$  K). Os elipsóides são desenhados a um nível de probabilidade de 50 %. Os átomos de hidrogênio foram desenhados com esferas de raio arbitrário.

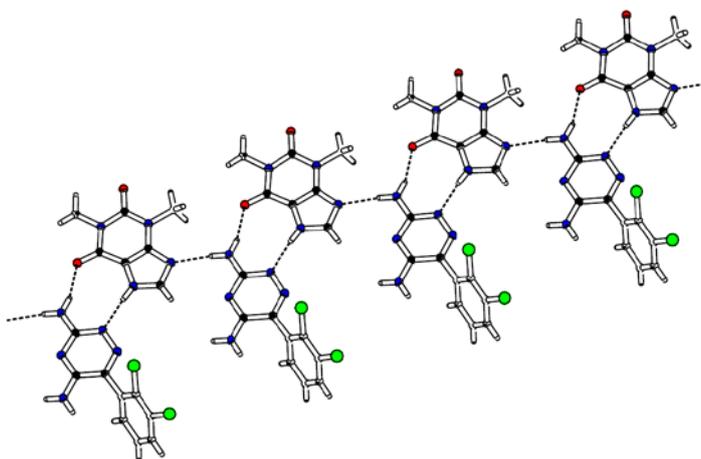
Na Tabela 4.5, estão representados os parâmetros geométricos das ligações de hidrogênio existentes na estrutura cristalina do co-cristal hidrato. As moléculas de lamotrigina e de teofilina estão ligadas por ligações de hidrogênio  $N(4)-H(4A)\cdots N(8)$  e  $N(7)-H(7A)\cdots N(2)$  formando heterodímeros. Os dímeros estão ligados em cadeia, Figura 4.33 e Figura 4.35, através da ligação de hidrogênio intermolecular,  $N(4)-H(4A)\cdots N(8)$ .

Duas camadas de cadeias de dímeros, Figura 4.33, ligam-se entre si por intermédio de moléculas de água através das ligações de hidrogénio intermoleculares, O(3)–H(3A)⋯H(1), O(3)–H(3B)⋯N(3), e da ligação, N(5)–H(5A)⋯O(3).

A resolução da estrutura cristalina do co-cristal hidrato da lamotrigina:teofilina:água (1:1:1), veio comprovar a formação dos sintões supramoleculares indicados na Figura 4.26, confirmando a previsão feita, através do *design* das estruturas supramoleculares, pela análise estrutural e funcional do API e do co-formador.

**Tabela 4.5** Parâmetros geométricos das ligações de hidrogénio existentes na estrutura cristalina do co-cristal hidrato lamotrigina:teofilina:água (1:1:1).

|                 | D⋯A / Å    | ∠D–H⋯A / ° |
|-----------------|------------|------------|
| O(3)–H(3A)⋯O(1) | 2,883(2)   | 157        |
| O(3)–H(3B)⋯N(3) | 2,90000(2) | 172(2)     |
| N(4)–H(4A)⋯N(8) | 2,921(3)   | 173        |
| N(4)–H(4B)⋯O(2) | 2,872      | 162        |
| N(5)–H(5A)⋯O(3) | 2,904(3)   | 157        |
| N(7)–H(7A)⋯N(2) | 2,853      | 174        |



**Figura 4.35** Pormenor das interações entre a lamotrigina e a teofilina na estrutura cristalina co-cristal hidrato lamotrigina:teofilina:água (1:1:1), formando cadeias de heterodímeros, através da ligação de hidrogénio, N(4)–H(4A)⋯N(8).

### 4.3.2 Lamotrigina + cafeína

A cafeína, tal como a teofilina, é uma xantina e ocorre naturalmente em diversas plantas. Tem sido utilizada como aditivo alimentar e também como estimulante do sistema nervoso central.

Do ponto de vista estrutural, a molécula de cafeína difere apenas da de teofilina na substituição do átomo de hidrogénio do N–H do anel de imidazol por um grupo metilo. Assim, a teofilina possui relativamente à cafeína um grupo dador em ligação de hidrogénio adicional, N–H do imidazol, o que pode implicar que a cafeína poderá participar em estruturas supramoleculares diferentes das da teofilina. Por exemplo, o N–H do imidazol está envolvida nas ligações de hidrogénio da estrutura do co-cristal hidrato de lamotrigina-teofilina apresentado na secção anterior.

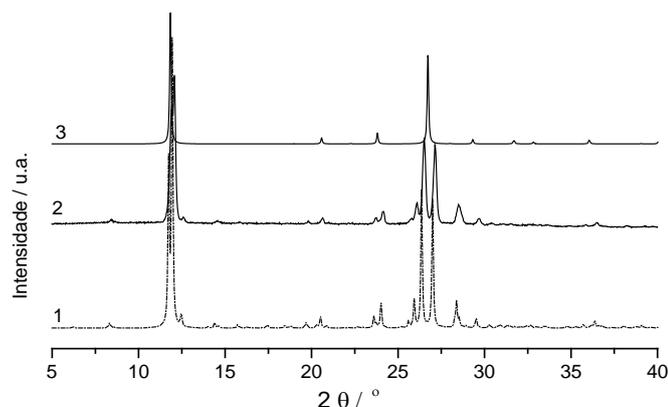
A tentativa de obter um co-cristal da lamotrigina com a cafeína seria uma oportunidade de explorar o efeito desta alteração estrutural na formação de co-cristal. Um outro objectivo desta associação seria sintetizar um co-cristal com duplo efeito terapêutico de forma a potenciar as propriedades físico-químicas dos dois activos e melhorar a acção terapêutica dos mesmos.

São conhecidas duas formas polimórficas da cafeína [263], enantiotrópicas [264, 265], e também um mono-hidrato [266, 267]. A forma II (identificada por alguns autores como forma  $\beta$ ) é estável à temperatura ambiente, ocorrendo a transição para a forma I (forma  $\alpha$ ) a cerca de 150 °C, com um a entalpia de  $\Delta H = 4$  kJ/mol [265]. Recentemente foi reportada a existência de um eventual polimorfo III [268].

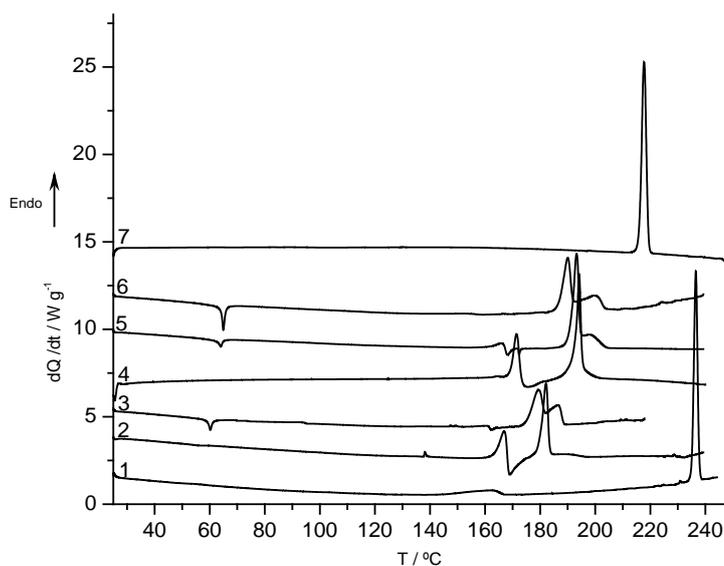
Neste trabalho foi utilizada a cafeína, polimorfo II, como amostra de partida, Figura 4.36, não se alterando a forma sólida por mecanoquímica, nas condições deste trabalho.

As misturas de lamotrigina+cafeína, com diferentes proporções de cada um dos compostos, foram preparadas em moinho de bolas, sem solvente, e inicialmente caracterizadas por DSC, com velocidade de varrimento  $\beta = 10$  °C/min. Na Figura 4.37, estão representadas curvas de aquecimento destas misturas, revelando um comportamento complexo. Em algumas curvas é observado um primeiro evento endotérmico, de energia relativamente elevada, curvas 2 e 4, Figura 4.37, compatível com fusão, seguido de um processo exotérmico. Após este evento são observados picos

endotérmicos compostos para todas as misturas, com exceção da mistura de composição  $x_{\text{Lamo}} = 0,67$ . De facto, esta é a única que apresenta fusão sem indicação de excesso de um dos componentes.

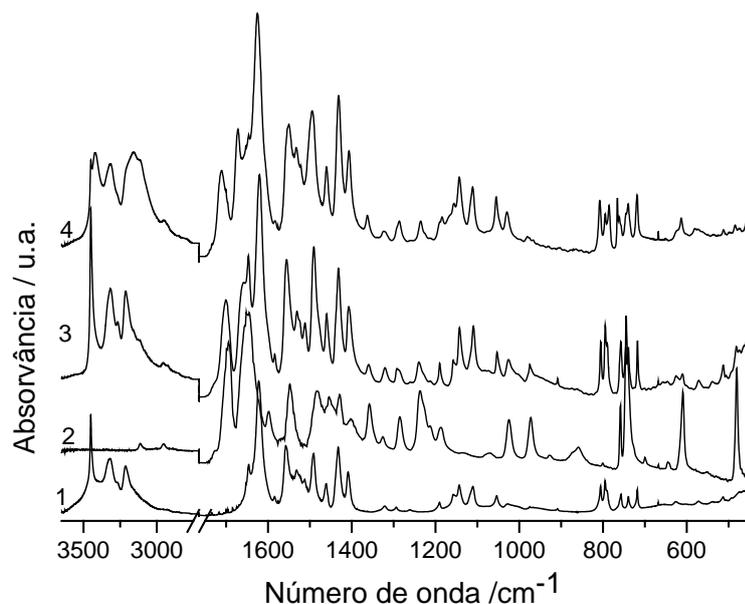


**Figura 4.36.** Difractogramas de raios-X de pó. 1. simulado para cafeína, polimorfo II [269]; 2. cafeína comercial; 3. simulado para cafeína, polimorfo I [270].

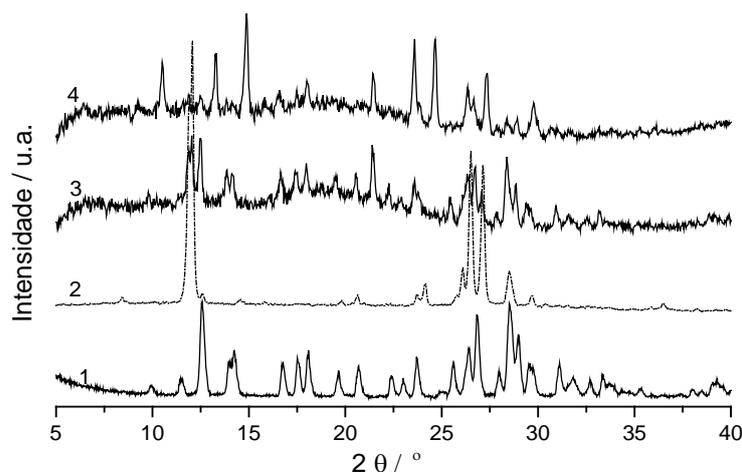


**Figura 4.37** Curvas de DSC de aquecimento de misturas binárias (lamotrigina+cafeína). 1) Cafeína comercial; 2)  $x_{\text{Lamo}} = 0,33$ ; 3)  $x_{\text{Lamo}} = 0,50$ ; 4)  $x_{\text{Lamo}} = 0,67$ ; 5)  $x_{\text{Lamo}} = 0,75$ ; 6)  $x_{\text{Lamo}} = 0,80$ ; 7) lamotrigina.  $\beta = 10^\circ\text{C}/\text{min}$ .

A análise da amostra (lamo+caf)  $x_{\text{Lamo}} = 0,67$  por espectroscopia de infravermelho, Figura 4.38, e por difração de raios-X de pó, Figura 4.39 mostra que a mistura de partida é uma mistura física dos compostos iniciais, como acontece com outros sistemas estudados neste trabalho, envolvendo a lamotrigina.



**Figura 4.38** Espectros de infravermelho; 1. lamotrigina, 2. Cafeína, polimorfo II; 3. mistura (lamotrigina+cafeína)  $x_{\text{Lamo}} = 0,67$ , mecanoquímica sem solvente; 4) mistura de 3 após aquecimento em DSC, até 180 °C (ciclo 3+4, Figura 4.40).

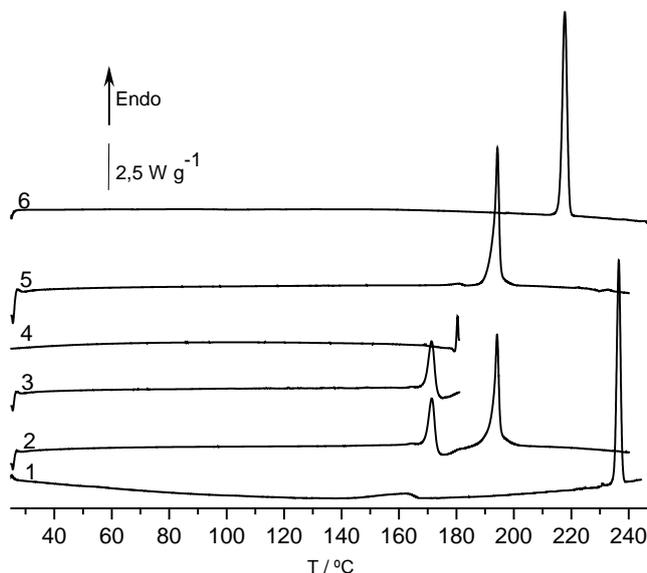


**Figura 4.39** Difractogramas de raios-X de pó; 1. lamotrigina, 2. Cafeína, polimorfo II; 3. mistura (lamotrigina+cafeína)  $x_{\text{Lamo}} = 0,67$ , mecanoquímica sem solvente; 4) mistura de 3. após aquecimento em DSC, até 180 °C (ciclo 3+4, Figura 4.40).

Neste caso, os dados de DSC, nas condições utilizadas, não permitem a construção do diagrama de fases sólido+líquido para este sistema. No entanto, evidenciam claramente a ocorrência de transformações no processo de aquecimento. Assim, fez-se o tratamento térmico duma amostra da mistura  $x_{\text{Lamo}} = 0,67$ , como indicado na Figura 4.40, curvas 3+4. O espectro de infravermelho, Figura 4.38, e o difractograma de raios-X de pó, Figura 4.39, do sólido obtido mostram alterações que

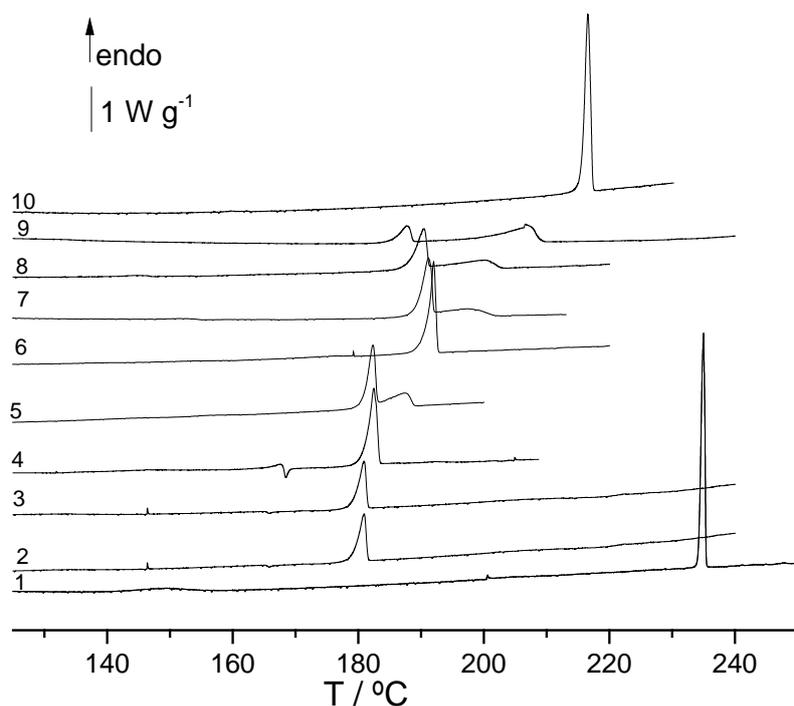
sugerem a formação de uma nova estrutura. No espectro do infravermelho, na região de alongação do NH da lamotrigina é de registar o aparecimento de bandas novas na mistura depois de aquecida a 180 °C, a 3421 e a 3158  $\text{cm}^{-1}$ . A banda da lamotrigina a 1700  $\text{cm}^{-1}$  desloca-se para 1711  $\text{cm}^{-1}$  e a banda a 1662  $\text{cm}^{-1}$  para 1671  $\text{cm}^{-1}$ .

Como se pode verificar, a curva de DSC obtida no aquecimento após o ciclo 3+4, curva 5, Figura 4.40, apresenta um pico da fusão estreito a  $T_{\text{fus}} = (192,7 \pm 0,4) \text{ } ^\circ\text{C}$ ,  $\Delta_{\text{fus}}H = (99 \pm 2) \text{ kJ/mol}$ , ( $n = 5$ ), temperatura inferior às temperaturas de fusão da cafeína  $T_{\text{fus}} = (236,9 \pm 0,2) \text{ } ^\circ\text{C}$  e da lamotrigina,  $T_{\text{fus}} = (215,9 \pm 0,2) \text{ } ^\circ\text{C}$ . Este resultado conjugado com os dados de FTIR e XRPD, sugere a formação dum co-cristal lamotrigina:cafeína (2:1). A hipótese alternativa de uma mistura eutética constituída por novos polimorfos de lamotrigina e de cafeína é muito improvável.



**Figura 4.40** Curvas de DSC de aquecimento de misturas seleccionadas de lamotrigina+cafeína, 1. Cafeína, 2.  $x_{\text{Lamo}} = 0,67$ , mecanoquímica 25 °C → 245 °C; 3.  $x_{\text{Lamo}} = 0,67$ , mecanoquímica 25 °C → 180 °C; 4. Arrefecimento 180 °C → 25 °C, após o ensaio 3; 5. Aquecimento 25 °C → 245 °C, após 3+4; 6. lamotrigina.  $\beta = 10 \text{ } ^\circ\text{C/min}$ .

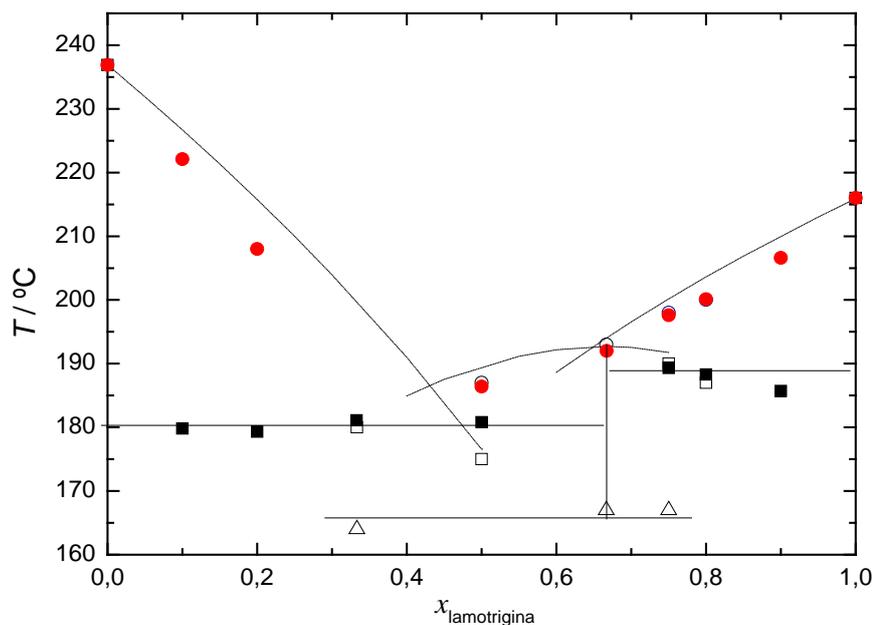
O estudo de DSC efectuado sobre misturas binárias lamotrigina + cafeína, de diferente composição, com velocidade de varrimento  $\beta = 2 \text{ } ^\circ\text{C/min}$ , Figura 4.41, permitiu obter dados, Tabela 4.6 a partir dos quais foi possível construir o diagrama de fases sólido-líquido mostrado na Figura 4.42. A formação de um co-cristal lamotrigina + cafeína na proporção 2:1 é indiscutível.



**Figura 4.41** Curvas de DSC de aquecimento de misturas seleccionadas de (lamotrigina+cafeína). 1. cafeína comercial; 2.  $x_{Lamo} = 0,10$ ; 3.  $x_{Lamo} = 0,20$ ; 4.  $x_{Lamo} = 0,33$ ; 5.  $x_{Lamo} = 0,50$ ; 6.  $x_{Lamo} = 0,67$ ; 7.  $x_{Lamo} = 0,75$ ; 8.  $x_{Lamo} = 0,80$ ; 9.  $x_{Lamo} = 0,90$ ; 10.lamotrigina.  $\beta = 2\text{ °C/min}$

**Tabela 4.6** Temperaturas de transição  $T_{tr}$ ,  $T_{E1}$ ,  $T_{E2}$ , e  $T_{liq}$  obtidas para as transições de fase observadas no aquecimento em DSC de misturas de lamotrigina+cafeína,  $x_{Lamo}$ , fracção molar de lamotrigina.

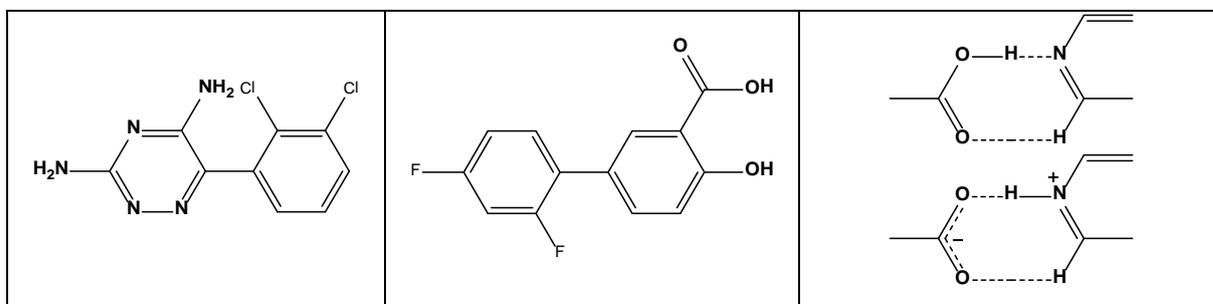
| $x_{Lamo}$                | $T_{E1} / \text{°C}$ | $T_{E2} / \text{°C}$ | $T_{liq} / \text{°C}$ | $x_{Lamo}$                 | $T_{tr} / \text{°C}$ | $T_{E1} / \text{°C}$ | $T_{E2} / \text{°C}$ | $T_{liq} / \text{°C}$ |
|---------------------------|----------------------|----------------------|-----------------------|----------------------------|----------------------|----------------------|----------------------|-----------------------|
| $\beta = 2\text{ °C/min}$ |                      |                      |                       | $\beta = 10\text{ °C/min}$ |                      |                      |                      |                       |
| 0,00                      |                      |                      | 236,9                 | 0,00                       |                      |                      |                      | 236,7                 |
| 0,10                      | 179,8                |                      | 222,1                 |                            |                      |                      |                      |                       |
| 0,20                      | 179,3                |                      | 208,0                 |                            |                      |                      |                      |                       |
| 0,333                     | 181,1                |                      |                       | 0,333                      | 164                  | 180                  |                      |                       |
| 0,50                      | 180,8                |                      | 186,4                 | 0,50                       |                      |                      | 175                  | 187                   |
| 0,667                     |                      |                      | 192,5                 | 0,667                      | 167                  |                      |                      | 193                   |
| 0,75                      |                      | 189,3                | 197,6                 | 0,75                       | 167                  |                      | 190                  | 198                   |
| 0,80                      |                      | 188,3                | 200,1                 | 0,80                       |                      |                      | 187                  | 200                   |
| 0,90                      |                      | 185,7                | 206,6                 |                            |                      |                      |                      |                       |
| 1,00                      |                      |                      | 216,0                 | 1,00                       |                      |                      |                      | 216,1                 |



**Figura 4.42** Diagrama de fases binário sólido+líquido de (lamotrigina+cafeína). Símbolos a cheio  $\beta = 2 \text{ }^\circ\text{C/min}$ ; símbolos abertos  $\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C/min}$ . As linhas a tracejado resultam de simulação usando as equações 2.10 e 4.1.

#### 4.4 Investigação de formas sólidas binárias, lamotrigina + diflunisal

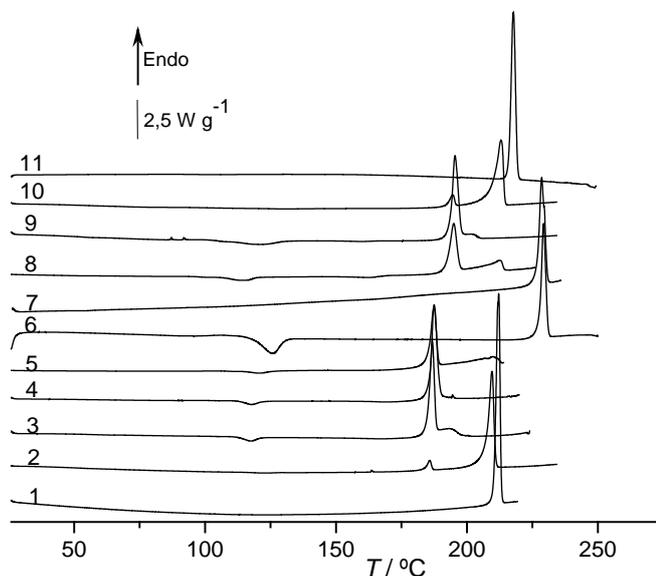
A investigação da associação dos dois activos que estiveram na base deste trabalho, diflunisal e lamotrigina, constituiu o último tópico desenvolvido. Neste caso, atendendo à diferença de  $pK_a$ , ( $pK_{a, \text{Lamo}} = 5,7$  [156],  $pK_{a, \text{DIF}} = 3,3$ [155],  $\Delta pK_a = 2,4$ ) não é de excluir a formação de sal, Figura 4.43. Uma nova forma sólida com estes dois activos é, naturalmente, de interesse na perspectiva de terapia dual.



**Figura 4.43** Ilustração de pontos de associação possíveis entre a lamotrigina e o diflunisal.

Os termogramas das misturas binárias com diferente composição, Figura 4.44 e Tabela 4.7, preparadas seguindo a metodologia adoptada nos outros sistemas estudados,

indicam claramente a existência de dois pontos invariantes distintos a 183 e a 191 °C, e a ocorrência duma transição exotérmica com início a cerca de 120 °C.

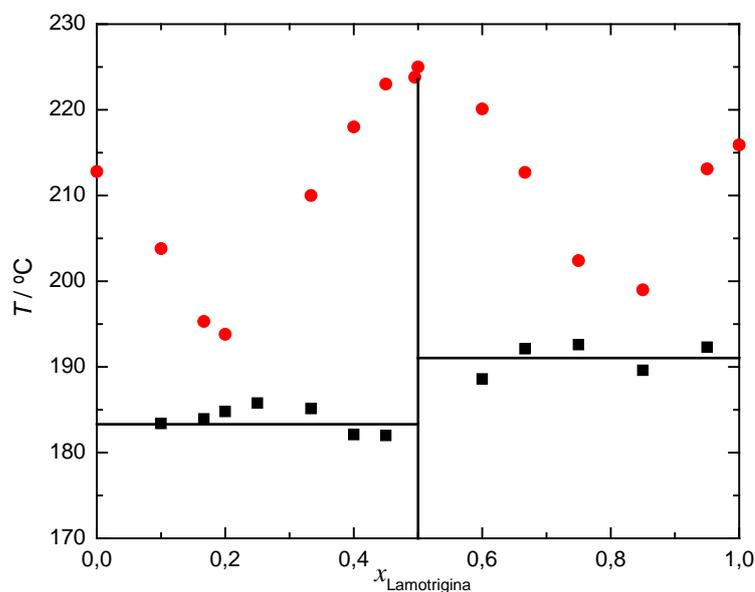


**Figura 4.44** Curvas de DSC de aquecimento de misturas de (lamotrigina+diflunisal). 1. Diflunisal; 2.  $x_{Lamo} = 0,17$ ; 3.  $x_{Lamo} = 0,20$ ; 4.  $x_{Lamo} = 0,25$ ; 5.  $x_{Lamo} = 0,33$ ; 6.  $x_{Lamo} = 0,50$ , mistura inicial, mecanoquímica sem solvente; 7.  $x_{Lamo} = 0,50$  mistura inicial, Idia em estufa, 100 °C; 8.  $x_{Lamo} = 0,67$ ; 9.  $x_{Lamo} = 0,75$ ; 10.  $x_{Lamo} = 0,83$ ; 11. lamotrigina.  $\beta = 10$  °C/min.

**Tabela 4.7** Temperaturas de transição  $T_{E1}$ ,  $T_{E2}$ , e  $T_{liq}$  obtidas para as várias transições de fase observadas no aquecimento em DSC de misturas de (lamotrigina+diflunisal) com diferentes frações molares de lamotrigina,  $x_{Lamo}$ ,  $\beta = 10$  °C/min.

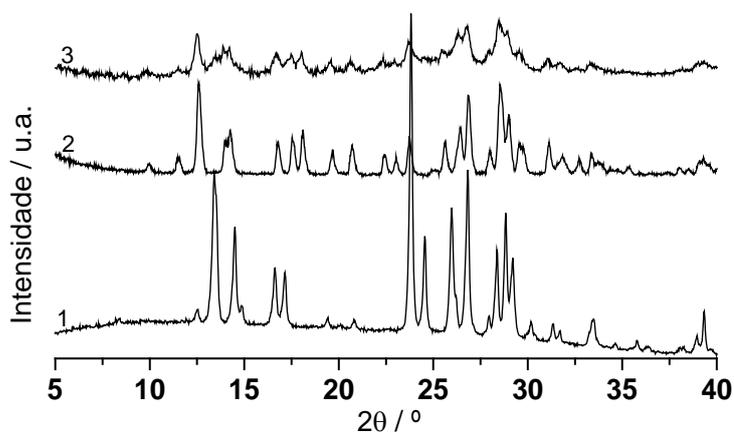
| $x_{Lamo}$ | $T_{E1} / ^\circ C$ | $T_{E2} / ^\circ C$ | $T_{liq} / ^\circ C$ |
|------------|---------------------|---------------------|----------------------|
| 0,00       |                     |                     |                      |
| 0,11       | 183,4               |                     | 203,8                |
| 0,17       | 183,94              |                     | 195,3                |
| 0,20       | 184,8               |                     | 193,8                |
| 0,25       | 185,8               |                     |                      |
| 0,33       | 185,1               |                     | 210,1                |
| 0,40       | 182,1               |                     | 217,9                |
| 0,45       | 182,0               |                     | 223,0                |
| 0,49       |                     |                     | 223,8                |
| 0,50       |                     |                     | 225,5                |
| 0,61       |                     | 188,6               | 220,1                |
| 0,67       |                     | 192,1               | 212,7                |
| 0,75       |                     | 192,6               | 202,4                |
| 0,85       |                     | 189,6               | 198,9                |
| 0,95       |                     | 192,3               | 213,1                |
| 1,00       |                     |                     | 216,0                |

A mistura equimolar funde a  $T_{\text{fus}} = (225,5 \pm 0,6) \text{ }^\circ\text{C}$ , ( $n = 4$ ) um valor superior à temperatura de fusão dos dois compostos de partida. O diagrama de fases mostrado na Figura 4.45 permite uma visualização clara deste comportamento.



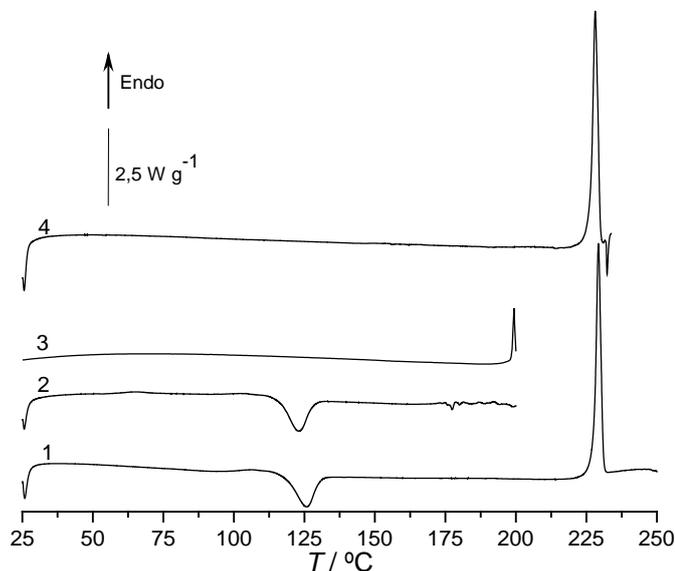
**Figura 4.45** Diagrama de fases binário sólido+líquido de (lamotrigina+diflunisal). As linhas são guias para orientação visual.  $\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$ .

Os resultados permitem concluir que a lamotrigina e o diflunisal se associam numa nova entidade na proporção 1:1. Também neste caso, a associação não acontece por mecanoquímica, como se comprova por XRPD, Figura 4.46.

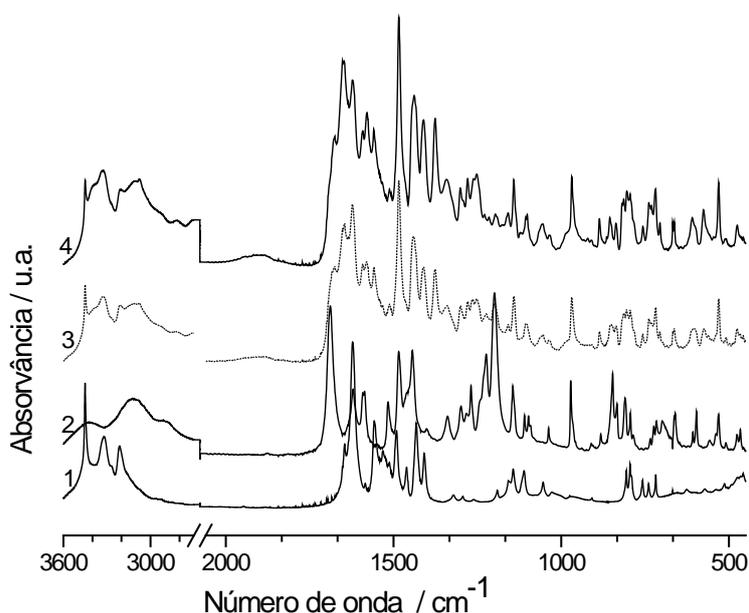


**Figura 4.46** Diffractogramas de raios-X de pó. 1. lamotrigina, 2. diflunisal; 3. (lamotrigina+diflunisal) 1:1, mecanoquímica, sem solvente.

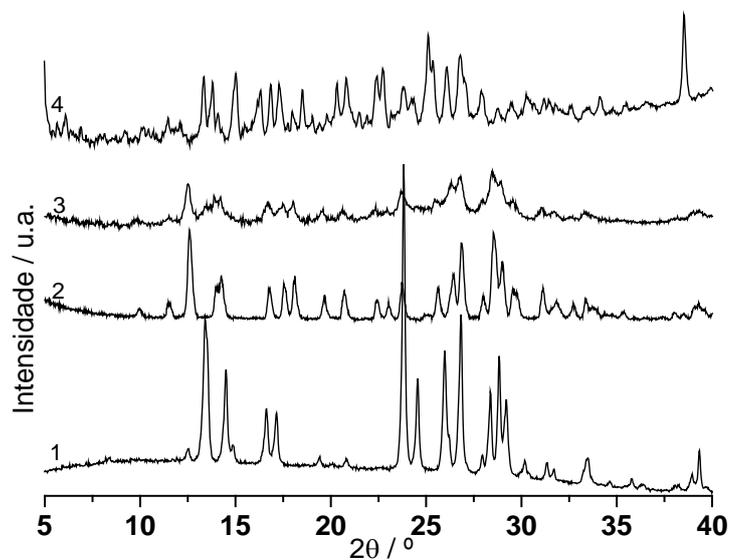
Tal como para a isonicotinamida, a teofilina e a cafeína, um ciclo de aquecimento/arrefecimento (2+3, Figura 4.47), que é sugerido pelo comportamento térmico observado, permite gerar a nova forma sólida, Figura 4.48 e Figura 4.49.



**Figura 4.47** Curvas de DSC da mistura  $x_{\text{Lamo}} = 0,50$ , sistema (lamotrigina+diflunisal). 1. Aquecimento até 250 °C; 2. Aquecimento de uma nova amostra até 200 °C; 3. Arrefecimento subsequente até temperatura ambiente. 4. Aquecimento até à fusão após 2+3.  $\beta = 10$  °C/min.



**Figura 4.48** Espectros de Infravermelho. 1. lamotrigina; 2. Diflunisal, polimorfo I; 3. Sal (lamotrigina+diflunisal) I:I, aquecimento da mistura obtida por mecanoquímica, em estufa, 1 dia, 100 °C; 4) Sal (lamotrigina+diflunisal) I:I obtido por tratamento térmico por DSC (ciclo 2+3, Figura 4.47) da uma mistura preparada por mecanoquímica.



**Figura 4.49** Difractogramas de raios-X de pó. 1. lamotrigina; 2. diflunisal, polimorfo I; 3. (lamotrigina+diflunisal) 1:1, mecanoquímica, sem solvente. 4. Sal lamotrigina+diflunisal (1:1) obtido por tratamento térmico por DSC (ciclo 2+3, Figura 4.47) de uma mistura preparada por mecanoquímica.

O espectro de infravermelho apresenta alterações de relevo na região de alongação do carboxilato com a presença de bandas a  $1650$  e  $1374\text{ cm}^{-1}$  que são atribuídas, respectivamente à alongação assimétrica ( $1650\text{-}1540\text{ cm}^{-1}$  [271, 272]) e simétrica do ião carboxilato ( $1450\text{-}1360\text{ cm}^{-1}$  [271, 272]), confirmando a formação de um sal. Este novo sal foi também obtido após cerca de 24 horas em estufa a  $100\text{ }^\circ\text{C}$ .



## 5 Notas finais

---

Este trabalho teve como foco a investigação de novas formas sólidas dos activos diflunisal e lamotrigina, com relevância para a pesquisa de co-cristais. A abordagem termodinâmica adoptada revelou-se uma excelente ferramenta na identificação inequívoca de co-cristais (ou sais) e da respectiva estequiometria.

A metodologia descrita por ter Horst *et al.* [182], aplicada neste trabalho aos sistemas diflunisal+piridinacarboxamidas, revelou-se um método eficaz na avaliação da viabilidade de formação de co-cristais. O método baseia-se em medidas de temperatura de saturação num solvente escolhido, conjugadas com análise por difracção de raios-X de pó. Havendo disponibilidade de equipamento, esta metodologia permite tornar mais eficiente o *screening* de co-cristais.

O estabelecimento dos diagramas de fase binários sólido-líquido, com base no estudo por calorimetria diferencial de varrimento, permitiu identificar de forma clara a estequiometria dos três co-cristais de diflunisal: (2:1) com a nicotinamida e a isonicotinamida e (1:1) com a picolinamida. O estudo complementar por difracção de raios-X de pó, confirma, como se esperava, a formação de novas estruturas cristalinas. Estas novas formas sólidas de diflunisal têm temperaturas de fusão inferiores à do diflunisal e superiores às dos co-formadores:  $T_{\text{fus}}(\text{DIF}_2\text{:NA}) = 192,6 \text{ }^\circ\text{C}$ ,

$T_{\text{fus}}(\text{DIF}_2:\text{INA}) = 179,1 \text{ }^\circ\text{C}$ ,  $T_{\text{fus}}(\text{DIF}:\text{PA}) = 186,6 \text{ }^\circ\text{C}$ . Foram estabelecidas condições reprodutíveis para a obtenção dos co-cristais: por mecanoquímica e também, com auxílio de diagramas ternários (diflunisal+piridinacarboxamida+etanol), por cristalização em etanol.

A velocidade de dissolução intrínseca do co-cristal (diflunisal:nicotinamida) foi determinada como sendo superior em 20 % à do diflunisal puro. Confirma-se a capacidade desta nova forma sólida de diflunisal para uma possível formulação mais eficiente deste activo. A partir dos diagramas de fases binários foram também identificadas as misturas eutécticas com composição  $x_{\text{DIF}} = 0,10$  e  $x_{\text{DIF}} = 0,75$  (diflunisal+nicotinamida) e  $x_{\text{DIF}} = 0,20$  (diflunisal+isonicotinamida) e  $x_{\text{DIF}} = 0,65$  (diflunisal+picolinamida) que poderão, a par dos co-cristais, ser igualmente úteis em formulação farmacêutica [183, 184].

Foram efectuadas inúmeras tentativas no sentido de obter cristais de dimensão adequada para resolução das estruturas cristalinas dos co-cristais, utilizando vários solventes e diferentes condições experimentais. Estas experiências não foram, para já, bem-sucedidas, como não é incomum neste tipo de estudos. Todavia, a investigação por espectroscopia de infravermelho distingue claramente o co-cristal de diflunisal com a *orto*-piridinacarboxamida dos formados com os isómeros *meta* e *para*. Nestes últimos os arranjos cristalinos deverão ter semelhanças estruturais, pelo menos no que diz respeito a sintões supramoleculares, com diferenças acentuadas relativamente ao co-cristal diflunisal:picolinamida. No entanto, é de destacar a identificação do heterossintão ácido- $\text{N}_{\text{aromático}}$  nos três sistemas.

Na investigação de novas formas sólidas de lamotrigina, o estabelecimento dos diagramas de fase binários sólido-líquido revelou-se fundamental para identificar a formação de co-cristais e estabelecer procedimentos de síntese reprodutíveis. Para estes sistemas a mecanoquímica, na ausência de solvente, revelou-se, por si só, ineficaz na síntese de co-cristais. Por aquecimento das misturas físicas foram sintetizados co-cristais da lamotrigina com a nicotinamida (1:1), com a isonicotinamida (2:1),  $T_{\text{fus}}(\text{Lamo}_2:\text{INA}) = 196,2 \text{ }^\circ\text{C}$ , com a cafeína (2:1),  $T_{\text{fus}}(\text{Lamo}_2:\text{Caf}) = 192,7 \text{ }^\circ\text{C}$  e com a teofilina (1:1),  $T_{\text{fus}}(\text{Lamo}:\text{Teof}) = 223,1 \text{ }^\circ\text{C}$ . É interessante verificar que com a picolinamida, possivelmente devido a impedimento do azoto no anel aromático, não ocorre formação de co-cristal nas condições experimentadas.

A associação dos dois activos estudados nesta tese, diflunisal e lamotrigina, dá origem, também por aquecimento, a um sal na proporção 1:1,  $T_{fus}(Lamo:DIF) = 225,5 \text{ }^\circ\text{C}$ . A diferença de  $pK_a$  entre os dois activos sugeria esta possibilidade de associação.

O sal (lamotrigina:diflunisal) e os co-cristais (lamotrigina:caféina) e (lamotrigina:teofilina) são potencialmente úteis numa perspectiva de terapia dual.

No decurso das várias tentativas de gerar monocristais destas novas formas sólidas obtiveram-se cristais de dimensões apropriadas para resolução estrutural por difracção de raios-X, de duas outras formas sólidas da lamotrigina: um etanoato (1:1) e um co-cristal-hidrato lamotrigina:teofilina:H<sub>2</sub>O (1:1:1). Nesta última estrutura identificam-se os sintões supramoleculares que foram previstos pela análise estrutural e funcional do API e do co-formador, confirmando a importância da engenharia de cristais.

O polimorfismo da picolinamida, um dos co-formadores utilizados, foi também investigado, dada a ausência de informação na literatura, e a importância de ter informação sobre o estado sólido dos diferentes intervenientes nos processos de co-cristalização. Foram observadas duas formas sólidas enantiotrópicas, uma delas identificada pela primeira vez. A estrutura cristalina deste novo polimorfo foi resolvida, constatando-se a formação de dímeros centrossimétricos amida-amida, que se ligam dois a dois formando tetrâmeros, num arranjo que não é observado em nenhuma das estruturas de piridinacarboxamidas conhecidas.



## Referências

---

1. Brittain, H.G., *Polymorphism in Pharmaceutical Solids*, 2<sup>nd</sup>, 2009, New York: Informa Healthcare USA.
2. Thun, J., Seyfarth, L., Senker, J., Dinnebier, R.E., e Breu, J., *Polymorphism in Benzamide: Solving a 175-Year-Old Riddle*, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 46 ( 2007) 6729.
3. Wohler, F. e Liebig, J., *Untersuchungen über das Radikal der Benzoessäure*, *J. Ann. Pharm.*, (1832) 249.
4. Buerger, M.J. e Bloom, M.C., *Crystal polymorphism*, *Z. Krist.*, A96 (1937) 182.
5. Bernstein, J., *Polymorphism in Molecular Crystals*, 2002, Oxford: Oxford Science Publications.
6. Aguiar, A.J. e Zelmer, J.E., *Dissolution behavior of polymorphs of chloramphenicol palmitate and mefenamic acid*, *J. Pharm. Sci.*, 58 (1969) 983.
7. Giron, D., *Thermal-analysis and calorimetric methods in the characterization of polymorphs and solvates*, *Thermochim. Acta*, 248 (1995) 1.
8. McCrone, W.C., Fox, D., e Labes, M.M., *Polymorphism in Physical Chemistry of the Organic Solid State*, 1965, New York: Interscience.
9. Bauer, J., Spanton, S., Henry, R., Quick, J., Dziki, W., Porter, W., e Morris, J., *Ritonavir: An extraordinary example of conformational polymorphism*, *Pharm. Res.*, 18 (2001) 859.
10. Chemburkar, S.R., Bauer, J., Deming, K., Spiwek, H., Patel, K., Morris, J., Henry, R., Spanton, S., Dziki, W., Porter, W., Quick, J., Bauer, P., Donaubaue, J., Narayanan, B.A., Soldani, M., Riley, D., e McFarland, K., *Dealing with the impact of ritonavir polymorphs on the late stages of bulk drug process development*, *Org. Process Res. Dev.*, 4 (2000) 413.
11. dos Santos Farias, M.A. e Carneiro, R.L., *Simultaneous Quantification of Three Polymorphic Forms of Carbamazepine using Raman Spectroscopy and Multivariate Calibration*, *Anal. Lett.*, 47 (2014) 1043.

## Referências

---

12. Chadha, R., Bala, M., Rani, D., e Arora, P., *Retrospection on Polymorphism and Cocrystallization of Anti-Retrovirals*, Curr. Top. Med. Chem., 13 (2013) 1933.
13. Minamisono, T. e Takiyama, H., *Control of polymorphism in the anti-solvent crystallization with a particular temperature profile*, J. Cryst. Growth, 362 (2013) 135.
14. Gana, I., Barrio, M., Do, B., Tamarit, J.-L., Ceolin, R., e Rietveld, I.B., *Benzocaine polymorphism: Pressure-temperature phase diagram involving forms II and III*, Int. J. Pharm., 456 (2013) 480.
15. Herbst, W. e Hunger, K., *Industrial Organic Pigments*, 3<sup>rd</sup>, 2004, Weinheim: Wiley-VCH.
16. Paulus, E.F., Leusen, F.J.J., e Schmidt, M.U., *Crystal structures of quinacridones*, CrystEngComm, 9 (2007) 131.
17. Lomax, S.Q., *The application of x-ray powder diffraction for the analysis of synthetic organic pigments. Part 1: dry pigments*, J. Coating. Tech. Res., 7 (2010) 331.
18. Schmidt, M.U., Dinnebier, R.E., e Kalkhof, H., *Crystal engineering on industrial diaryl pigments using lattice energy minimizations and X-ray powder diffraction*, J. Phys. Chem. B, 111 (2007) 9722.
19. Luo, G.-G., Xia, J.-X., Fang, K., Zhao, Q.-H., Wu, J.-H., e Dai, J.-C., *Discovery of polymorphism-dependent emission for crystalline boron-dipyrromethene dye*, Dalt. Trans., 42 (2013) 16268.
20. Chen, S., Guzei, I.A., e Yu, L., *New polymorphs of ROY and new record for coexisting polymorphs of solved structures*, J. Am. Chem. Soc., 127 (2005) 9881.
21. Vasileiadis, M., Kazantsev, A.V., Karamertzanis, P.G., Adjiman, C.S., e Pantelides, C.C., *The polymorphs of ROY: application of a systematic crystal structure prediction technique*, Acta Crystallogr., Sect. B: Struct. Sci., 68 (2012) 677.
22. Peterson, G.R., Bassett, W.P., Weeks, B.L., e Hope-Weeks, L.J., *Phase Pure Triacetone Triperoxide: The Influence of Ionic Strength, Oxidant Source, and Acid Catalyst*, Cryst. Growth Des., 13 (2013) 2307.
23. Ribeiro, A.P.B., Correa Basso, R., Goncalves, L.A.G., Gioielli, L.A., Oliveira dos Santos, A., Pavie Cardoso, L., e Guenter Kieckbusch, T., *Physico-chemical properties of Brazilian cocoa butter and industrial blends. Part II - Microstructure, polymorphic behavior and crystallization characteristics*, Grasas Aceites, 63 (2012) 89.
24. Ray, J., MacNaughtan, W., Chong, P.S., Vieira, J., e Wolf, B., *The Effect of Limonene on the Crystallization of Cocoa Butter*, J. Am. Oil Chem. Soc., 89 (2012) 437.
25. Wille, L.R. e Lutton, S.E., *Polymorphism of Cocoa Butter*, J. Am. Oil Chem. Soc., 43 (1966) 491.
26. Correa, C.M., *Pharmaceutical inventions: when is the granting of a patent justified?*, Int. J. Intell. Prop. Mgt., (2006) 1.
27. Datta, S. e Grant, D.J.W., *Crystal structures of drugs: Advances in determination, prediction and engineering*, Nat. Rev. Drug Discov., 3 (2004) 42.
28. Flicker, F., Eberle, V.A., e Betz, G., *Variability in commercial carbamazepine samples - Impact on drug release*, Int. J. Pharm., 410 (2011) 99.
29. Meyer, M.C., Straughn, A.B., Mhatre, R.M., Shah, V.P., Williams, R.L., e Lesko, L.J., *The relative bioavailability and in vivo in vitro correlations for four marketed carbamazepine tablets*, Pharm. Res., 15 (1998) 1787.
30. Arlin, J.B., Price, L.S., Price, S.L., e Florence, A.J., *A strategy for producing predicted polymorphs: catemeric carbamazepine form V*, Chem. Comm., 47 (2011) 7074.
31. Reany, O., Kapon, M., Botoshansky, M., e Keinan, E., *Rich Polymorphism in Triacetone-Triperoxide*, Cryst. Growth Des., 9 (2009) 3661.

## Referências

---

32. Hilfiker, R., *Polymorphism in the Pharmaceutical Industry*, 2006, Weinheim: Wiley-VCH.
33. Buerger, M.J. e Bloom, M.C.Z., *Crystal polymorphism*, *Kristallogr.*, 97 (1937) 182.
34. Bernstein, J., *Polymorphism – A Perspective*, *Cryst. Growth Des.*, 11 (2011) 632.
35. Guidance for Industry, ANDAs: Pharmaceutical Solid Polymorphism, disponível em <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/Guidances/UCM072866.pdf>, última consulta: 12-02-2015.
36. Lohani, S. e Grant, D.J.W., *Thermodynamics of Polymorphs, in Polymorphism in the Pharmaceutical Industry*, 2006, Weinheim: Wiley VCH.
37. Stahly, G.P., *Diversity in single- and multiple-component crystals. The search for and prevalence of polymorphs and cocrystals*, *Cryst. Growth Des.*, 7 (2007) 1007.
38. Williams, P.A., Hughes, C.E., Buanz, A.B.M., Gaisford, S., e Harris, K.D.M., *Expanding the Solid-State Landscape of L-Phenylalanine: Discovery of Polymorphism and New Hydrate Phases, with Rationalization of Hydration/Dehydration Processes*, *J. Phys. Chem. C*, 117 (2013) 12136.
39. Schultheiss, N. e Newman, A., *Pharmaceutical Cocrystals and Their Physicochemical Properties*, *Cryst. Growth Des.*, 9 (2009) 2950.
40. Jambhekar, S.S. e Breen, P.J., *Drug dissolution: significance of physicochemical properties and physiological conditions*, *Drug Discovery Today*, 18 (2013) 1173.
41. Bhardwaj, S.P., Arora, K.K., Kwong, E., Templeton, A., Clas, S.-D., e Suryanarayanan, R., *Mechanism of amorphous itraconazole stabilization in polymer solid dispersions: role of molecular mobility*, *Mol. Pharm.*, 11 (2014) 4228.
42. Griesser, U.J., *The importance of solvates*, in Hilfiker, R., ed. *Polymorphism in the pharmaceutical industry*, 2006, Weinheim: Wiley-VCH, p.211.
43. Morris, K.R., *Structural aspects of hydrates and solvates*, in Brittain, H., ed. *Polymorphism in pharmaceutical solids*, 1999, New York: Marcel Dekker, p.125.
44. Khankari, R.K. e Grant, D.J.W., *Pharmaceutical hydrates*, *Thermochim. Acta*, 248 (1995) 61.
45. Giron, D., Goldbronn, C., Mutz, M., Pfeffer, S., Piechon, P., e Schwab, P., *Solid state characterizations of pharmaceutical hydrates*, *J. Therm. Anal. Calorim.*, 68 (2002) 453.
46. Haleblia.J e McCrone, W., *Pharmaceutical applications of polymorphism*, *J. Pharm. Sci.*, 58 (1969) 911.
47. Adeyeye, C.M., Rowley, J., Madu, D., Javadi, M., e Sabnis, S.S., *Evaluation of crystallinity and drug-release stability of directly compressed theophylline hydrophilic matrix tablets stored under varied moisture conditions*, *Int. J. Pharm.*, 116 (1995) 65.
48. Ando, H., Ishii, M., Kayano, M., e Watanabe, S., *Effect of crystallization of theophylline on physical-properties of tablets*, *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 21 (1995) 2227.
49. Suzuki, E., Shimomura, K., e Sekiguchi, K., *Thermochemical study of theophylline and its hydrate*, *Chem. Pharm. Bull.*, 37 (1989) 493.
50. Stahl, P.H. e Wermuth, C.G., *IUPAC - Handbook of Pharmaceutical Salts - Properties, Selection and Use*, 2008, Zürich: VHCA e Wiley-VCH.
51. Tilborg, A., Norberg, B., e Wouters, J., *Pharmaceutical salts and cocrystals involving amino acids: A brief structural overview of the state-of-art*, *Eur. J. Med. Chem.*, 74 (2014) 411.
52. Goud, N.R., Suresh, K., e Nangia, A., *Solubility and Stability Advantage of Aceclofenac Salts*, *Cryst. Growth Des.*, 13 (2013) 1590.

## Referências

---

53. Griesser, U.J. e Stowell, J.G., *Solid-state analysis and polymorphism*, in Lee, D.C. e Webb, M.L., eds. *Pharmaceutical Analysis*, 2003, Oxford: Blackwell Publishing, p.240.
54. Andre, V., Martins, I., Quaresma, S., Martins, M., e Duarte, M.T., *Transforming aspirin into novel molecular salts of salicylic acid*, *Struct. Chem.*, 25 (2014) 707.
55. Elder, D.P., Holm, R., e de Diego, H.L., *Use of pharmaceutical salts and cocrystals to address the issue of poor solubility*, *Int. J. Pharm.*, 453 (2013) 88.
56. Berge, S.M., Bighley, L.D., e Monkhouse, D.C., *Pharmaceutical salts*, *J. Pharm. Sci.*, 66 (1977) 1.
57. Sweetana, S. e Akers, M.J., *Solubility principles and practices for parenteral drug dosage form development*, *PDA J. Pharm. Sci. Technol.*, 50 (1996) 330.
58. Ramu, A., Vidyadhara, S., Devanna, N., Anusha, C., e Keerthi, J., *Formulation and Evaluation of Rosuvastatin Fast Dissolving Tablets*, *Asian J. Chem.*, 25 (2013) 5340.
59. Wouters, J. e Quéré, I., *Pharmaceutical Salts and Co-crystals*, 2012, London: Royal Society of Chemistry.
60. Stephenson, G.A., Groleau, E.G., Kleemann, R.L., Xu, W., e Rigsbee, D.R., *Formation of isomorphic desolvates: Creating a molecular vacuum*, *J. Pharm. Sci.*, 87 (1998) 536.
61. Blanco, M., Valdes, D., Llorente, I., e Bayod, M., *Application of NIR spectroscopy in polymorphic analysis: Study of pseudo-polymorphs stability*, *J. Pharm. Sci.*, 94 (2005) 1336.
62. James, M.N.G., Hall, D., e Hodgkin, D.C., *Crystalline modifications of ampicillin i - trihydrate*, *Nature*, 220 (1968) 168.
63. Arora, K.K., Thakral, S., e Suryanarayanan, R., *Instability in Theophylline and Carbamazepine Hydrate Tablets: Cocrystal Formation Due to Release of Lattice Water*, *Pharm. Res.*, 30 (2013) 1779.
64. Wöler, F., *Untersuchungen über das Chinon Quinhydrone*, *Annalen*, 51 (1844) 153.
65. Sakurai, T., *The crystal structure of the triclinic modification of quinhydrone*, *Acta Crystallogr.*, 19 (1965) 320.
66. Buck, J.S. e Ide, W.S., *Mixed benzoins. VI. Further examples of reversibility. The formation of addition compounds*, *J. Am. Chem. Soc.*, 53 (1931) 2784.
67. Anderson, J.S., *Structure of organic molecular compounds*, *Nature*, 140 (1937) 583.
68. Desiraju, G.R., *Pharmaceutical co-crystal*, *CrystEngComm*, 5 (2003) 466.
69. Dunitz, J.D., *Crystal and co-crystal: a second opinion*, *CrystEngComm*, 5 (2003) 506.
70. Bond, A.D., *What is a co-crystal?*, *CrystEngComm*, 9 (2007) 833.
71. Aakeroy, C.B. e Salmon, D.J., *Building co-crystals with molecular sense and supramolecular sensibility*, *CrystEngComm*, 7 (2005) 439.
72. Aitipamula, S., Banerjee, R., Bansal, A.K., Biradha, K., Cheney, M.L., Choudhury, A.R., Desiraju, G.R., Dikundwar, A.G., Dubey, R., Duggirala, N., Ghogale, P.P., Ghosh, S., Goswami, P.K., Goud, N.R., Jetty, R.R.K.R., Karpinski, P., Kaushik, P., Kumar, D., Kumar, V., Moulton, B., Mukherjee, A., Mukherjee, G., Myerson, A.S., Puri, V., Ramanan, A., Rajamannar, T., Reddy, C.M., Rodriguez-Hornedo, N., Rogers, R.D., Row, T.N.G., Sanphui, P., Shan, N., Shete, G., Singh, A., Sun, C.C., Swift, J.A., Thaimattam, R., Thakur, T.S., Thaper, R.K., Thomas, S.P., Tothadi, S., Vangala, V.R., Variankaval, N., Vishweshwar, P., Weyna, D.R., e Zaworotko, M.J., *Polymorphs, Salts, and Cocrystals: What's in a Name?*, *Cryst. Growth Des.*, 12 (2012) 2147.
73. Jones, W., Motherwell, S., e Trask, A.V., *Pharmaceutical cocrystals: An emerging approach to physical property enhancement*, *Mrs Bull.*, 31 (2006) 875.

## Referências

---

74. P., S.G., *Diversity in Single- and Multiple-Component Crystals. The Search for and Prevalence of Polymorphs and Cocrystals*, Cryst. Growth Des., 7 (2007) 1007.
75. Brittain, H.G., *Pharmaceutical cocrystals: The coming wave of new drug substances*, J. Pharm. Sci., 102 (2013) 311.
76. Vishweshwar, P., McMahon, J.A., Bis, J.A., e Zaworotko, M.J., *Pharmaceutical co-crystal*, J. Pharm. Sci., 95 (2006) 499.
77. Childs, S.L. e Hardcastle, K.I., *Cocrystals of piroxicam with carboxylic acids*, Cryst. Growth Des., 7 (2007) 1291.
78. Bhogala, B.R. e Nangia, A., *Ternary and quaternary co-crystals of 1,3-cis,5-cis-cyclohexanetricarboxylic acid and 4,4'-bipyridines*, New J. Chem., 32 (2008) 800.
79. Steed, J.W., *The role of co-crystals in pharmaceutical design*, Trends Pharm. Sci., 34 (2013) 185.
80. Guidance for Industry: Regulatory Classification of Pharmaceutical Co-Crystals disponível em <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/Guidances/UCM281764.pdf>, última consulta: 12-02-2015.
81. European Medicines Agency, Reflection paper on the use of cocrystals and other solid state forms of active substances in medicinal products, disponível em [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Scientific\\_guideline/2014/07/WC500170467](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2014/07/WC500170467), última consulta: 09-02-2015.
82. Desiraju, G.R., *Hydrogen bridges in crystal engineering: Interactions without borders*, Acc. Chem. Res., 35 (2002) 565.
83. Allen, F.H., Motherwell, W.D.S., Raithby, P.R., Shields, G.P., e Taylor, R., *Systematic analysis of the probabilities of formation of bimolecular hydrogen-bonded ring motifs in organic crystal structures*, New J. Chem., 23 (1999) 25.
84. Delori, A., Suresh, E., e Pedireddi, V.R., *pK(a)-directed host-guest assemblies: Rational analysis of molecular adducts of 2,4-diamino-6-methyl-1,3,5-triazine with various aliphatic dicarboxylic acids*, Chem. Eur. J., 14 (2008) 6967.
85. Childs, S.L., Stahly, G.P., e Park, A., *The salt-cocrystal continuum: The influence of crystal structure on ionization state*, Mol. Pharm., 4 (2007) 323.
86. Friscic, T. e Jones, W., *Benefits of cocrystallisation in pharmaceutical materials science: an update*, J. Pharm. Pharmacol., 62 (2010) 1547.
87. Karki, S., Friscic, T., Jones, W., e Motherwell, W.D.S., *Screening for pharmaceutical cocrystal hydrates via neat and liquid-assisted grinding*, Mol. Pharm., 4 (2007) 347.
88. Sun, C.C., *Cocrystallization for successful drug delivery*, Expert Opin Drug Deliv., 10 (2013) 201.
89. Childs, S.L. e Zaworotko, M.J., *The Reemergence of Cocrystals: The Crystal Clear Writing Is on the Wall Introduction to Virtual Special Issue on Pharmaceutical Cocrystals*, Cryst. Growth Des., 9 (2009) 4208.
90. Huang, K.S., Britton, D., Etter, M.C., e Byrn, S.R., *A novel class of phenol-pyridine co-crystals for second harmonic generation*, J. Mater. Chem., 7 (1997) 713.
91. Takagi, T., Ramachandran, C., Bermejo, M., Yamashita, S., Yu, L.X., e Amidon, G.L., *A provisional biopharmaceutical classification of the top 200 oral drug products in the United States, Great Britain, Spain, and Japan*, Mol. Pharm., 3 (2006) 631.
92. Almarsson, O. e Zaworotko, M.J., *Crystal engineering of the composition of pharmaceutical phases. Do pharmaceutical co-crystals represent a new path to improved medicines?*, Chem. Comm., (2004) 1889.

## Referências

---

93. Jayasankar, A., Good, D.J., e Rodriguez-Hornedo, N., *Mechanisms by which moisture generates cocrystals*, Mol. Pharm., 4 (2007) 360.
94. Blagden, N., de Matas, M., Gavan, P.T., e York, P., *Crystal engineering of active pharmaceutical ingredients to improve solubility and dissolution rates*, Adv. Drug Deliv. Rev., 59 (2007) 617.
95. Trask, A.V., *An overview of pharmaceutical cocrystals as intellectual property*, Mol. Pharm., 4 (2007) 301.
96. Shan, N. e Zaworotko, M.J., *The role of cocrystals in pharmaceutical science*, Drug Discovery Today, 13 (2008) 440.
97. Trask, A.V. e Jones, W., *Crystal engineering of organic cocrystals by the solid-state grinding approach*, Top. Curr. Chem., 254 (2005) 41.
98. Braga, D. e Grepioni, F., *Making crystals from crystals: a green route to crystal engineering and polymorphism*, Chem. Comm., (2005) 3635.
99. Childs, S.L., Chyall, L.J., Dunlap, J.T., Smolenskaya, V.N., Stahly, B.C., e Stahly, G.P., *Crystal engineering approach to forming cocrystals of amine hydrochlorides with organic acids. Molecular complexes of fluoxetine hydrochloride with benzoic, succinic, and fumaric acids*, J. Am. Chem. Soc., 126 (2004) 13335.
100. Landenberger, K.B. e Matzger, A.J., *Cocrystal Engineering of a Prototype Energetic Material Supramolecular Chemistry of 2,4,6-Trinitrotoluene*, Cryst. Growth Des., 10 (2010) 5341.
101. Thottempudi, V. e Shreeve, J.n.M., *Synthesis and Promising Properties of a New Family of High-Density Energetic Salts of 5-Nitro-3-trinitromethyl-1H-1,2,4-triazole and 5,5'-Bis(trinitronethyl)-3,3'-azo-1H-1,2,4-triazole*, J. Am. Chem. Soc., 133 (2011) 19982.
102. Millar, D.I.A., Maynard-Casely, H.E., Allan, D.R., Cumming, A.S., Lennie, A.R., Mackay, A.J., Oswald, I.D.H., Tang, C.C., e Pulham, C.R., *Crystal engineering of energetic materials: Co-crystals of CL-20*, CrystEngComm, 14 (2012) 3742.
103. Bolton, O., Simke, L.R., Pagoria, P.F., e Matzger, A.J., *High Power Explosive with Good Sensitivity: A 2:1 Cocrystal of CL-20:HMX*, Cryst. Growth Des., 12 (2012) 4311.
104. Landenberger, K.B., Bolton, O., e Matzger, A.J., *Two Isostructural Explosive Cocrystals with Significantly Different Thermodynamic Stabilities*, Angew. Chem. Int. Ed., 52 (2013) 6468.
105. Bratz, M., Chiodo, T., Koulelis, D., e Mertoglu, M., *Co-crystals of pyrimethanil and selected dithiine tetracarboximide*, 2014, Patente Nº: WO2014135392-A1.
106. ESTEVE Announces Positive Results From its Phase II Clinical Study of E-58425 in Acute Pain, disponível em <http://cnw.ca/OYDLH>, última consulta: 9-02-2015.
107. FDA list of GRAS substances, disponível em <http://www.accessdata.fda.gov/scripts/fdcc/?set=SCOGS>, última consulta: 12-02-2015.
108. FDA List of EAFUS substances, disponível em <http://www.accessdata.fda.gov/scripts/fcn/fcnNavigation.cfm?rpt=eafusListing>, última consulta: 12-02-2015.
109. Evora, A.O.L., Castro, R.A.E., Maria, T.M.R., Rosado, M.T.S., Silva, M.R., Beja, A.M., Canotilho, J., e Eusebio, M.E.S., *Pyrazinamide-Diflunisal: A New Dual-Drug Co-Crystal*, Cryst. Growth Des., 11 (2011) 4780.
110. Desiraju, G.R., *Supramolecular synthons in crystal engineering - a new organic-synthesis*, Angew. Chem. Int. Ed., 34 (1995) 2311.
111. Allen, F.H., *The Cambridge Structural Database: a quarter of a million crystal structures and rising*, Acta Crystallogr., Sect. B: Struct. Sci., 58 (2002) 380.

## Referências

---

112. Allen, F.H. e Motherwell, W.D.S., *Applications of the Cambridge Structural Database in organic chemistry and crystal chemistry*, Acta Crystallogr., Sect. B: Struct. Sci., 58 (2002) 407.
113. Nangia, A., *Database research in crystal engineering*, CrystEngComm, (2002) 1.
114. Groom, C.R. e Allen, F.H., *Crystal structure information in drug discovery and development: current perspectives and new possibilities from the Cambridge Crystallographic Data Centre*, Future Med Chem., 2 (2010) 933.
115. Thakuria, R., Delori, A., Jones, W., Lipert, M.P., Roy, L., e Rodriguez-Hornedo, N., *Pharmaceutical cocrystals and poorly soluble drugs*, Int. J. Pharm., 453 (2013) 101.
116. Macor, J.E., *Annual Reports in Medicinal Chemistry*, 2008, Wallingford, CT, United States: Academic Press.
117. Kuduva, S.S., Craig, D.C., Nangia, A., e Desiraju, G.R., *Cubanecarboxylic acids. Crystal engineering considerations and the role of C-H center dot center dot center dot O hydrogen bonds in determining O-H center dot center dot center dot O networks*, J. Am. Chem. Soc., 121 (1999) 1936.
118. Leiserowitz, L., *Molecular packing modes - carboxylic-acids*, Acta Crystallogr., Sect. B: Struct. Sci., 32 (1976) 775.
119. Steiner, T., *Competition of hydrogen-bond acceptors for the strong carboxyl donor*, Acta Crystallogr., Sect. B: Struct. Sci., 57 (2001) 103.
120. Bis, J.A., Vishweshwar, P., Weyna, D., e Zaworotko, M.J., *Hierarchy of supramolecular synthons: Persistent hydroxyl center dot center dot center dot pyridine hydrogen bonds in cocrystals that contain a cyano acceptor*, Mol. Pharm., 4 (2007) 401.
121. McMahon, J.A., Bis, J.A., Vishweshwar, P., Shattock, T.R., McLaughlin, O.L., e Zaworotko, M.J., *Crystal engineering of the composition of pharmaceutical phases. 3. Primary amide supramolecular heterosynthons and their role in the design of pharmaceutical co-crystals*, Z. Krist., 220 (2005) 340.
122. Bucar, D.-K., Henry, R.F., Lou, X., Duerst, R.W., MacGillivray, L.R., e Zhang, G.G.Z., *Cocrystals of Caffeine and Hydroxybenzoic Acids Composed of Multiple Supramolecular Heterosynthons: Screening via Solution-Mediated Phase Transformation and Structural Characterization*, Cryst. Growth Des., 9 (2009) 1932.
123. Ermer, O. e Eling, A., *Molecular recognition among alcohols and amines - super-tetrahedral crystal architectures of linear diphenol-diamine complexes and aminophenolse*, J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2, (1994) 925.
124. Vangala, V.R., Bhogala, B.R., Dey, A., Desiraju, G.R., Broder, C.K., Smith, P.S., Mondal, R., Howard, J.A.K., e Wilson, C.C., *Correspondence between molecular functionality and crystal structures. Supramolecular chemistry of a family of homologated aminophenols*, J. Am. Chem. Soc., 125 (2003) 14495.
125. Fayos, J., *Molecular Crystal Prediction Approach by Molecular Similarity: Data Mining on Molecular Aggregation Predictors and Crystal Descriptors*, Cryst. Growth Des., 9 (2009) 3142.
126. Musumeci, D., Hunter, C.A., Prohens, R., Scuderi, S., e McCabe, J.F., *Virtual cocrystal screening*, Chem. Sci., 2 (2011) 883.
127. Issa, N., Karamertzanis, P.G., Welch, G.W.A., e Price, S.L., *Can the Formation of Pharmaceutical Cocrystals Be Computationally Predicted? I. Comparison of Lattice Energies*, Cryst. Growth Des., 9 (2009) 442.

## Referências

---

128. Karamertzanis, P.G., Kazantsev, A.V., Issa, N., Welch, G.W.A., Adjiman, C.S., Pantelides, C.C., e Price, S.L., *Can the Formation of Pharmaceutical Cocrystals Be Computationally Predicted?* 2. *Crystal Structure Prediction*, J. Chem. Theory Comput., 5 (2009) 1432.
129. Galek, P.T.A., Fabian, L., Motherwell, W.D.S., Allen, F.H., e Feeder, N., *Knowledge-based model of hydrogen-bonding propensity in organic crystals*, Acta Crystallogr., Sect. B: Struct. Sci., 63 (2007) 768.
130. Delori, A., Galek, P.T.A., Pidcock, E., e Jones, W., *Quantifying Homo- and Heteromolecular Hydrogen Bonds as a Guide for Adduct Formation*, Chem. Eur. J., 18 (2012) 6835.
131. Delori, A., Galek, P.T.A., Pidcock, E., Patni, M., e Jones, W., *Knowledge-based hydrogen bond prediction and the synthesis of salts and cocrystals of the anti-malarial drug pyrimethamine with various drug and GRAS molecules*, CrystEngComm, 15 (2013) 2916.
132. Abramov, Y.A., Loschen, C., e Klamt, A., *Rational coformer or solvent selection for pharmaceutical cocrystallization or desolvation*, J. Pharm. Sci., 101 (2012) 3687.
133. Fábíán, L., *Cambridge Structural Database Analysis of Molecular Complementarity in Cocrystals*, Cryst. Growth Des., 9 (2009) 1436.
134. Fücke, K., Myz, S.A., Shakhtshneider, T.P., Boldyreva, E.V., e Griesser, U.J., *How good are the crystallisation methods for co-crystals? A comparative study of piroxicam*, New J. Chem., 36 (2012) 1969.
135. Meanwell, N.A., *Annual Reports in Medicinal Chemistry*, 2008, Wallingford: Elsevier.
136. Childs, S.L., Rodriguez-Hornedo, N., Reddy, L.S., Jayasankar, A., Maheshwari, C., McCausland, L., Shipplett, R., e Stahly, B.C., *Screening strategies based on solubility and solution composition generate pharmaceutically acceptable cocrystals of carbamazepine*, CrystEngComm, 10 (2008) 856.
137. Rodriguez-Hornedo, N., Jayasankar, A., Nehm, S.J., Good, D.J., e Reddy, L.S. *I&EC 75-Transforming pharmaceutical crystals to cocrystals by reaction crystallization methods. in 235<sup>th</sup> American-Chemical-Society National Meeting Local*. 2008. New Orleans.
138. Barin, G., Forgan, R.S., e Stoddart, J.F., *Mechanostereochemistry and the mechanical bond*, Proc. Math. Phys. Eng. Sci., 468 (2012) 2849.
139. Altheimer, B.D., Pagola, S., Zeller, M., e Mehta, M.A., *Mechanochemical Conversions Between Crystalline Polymorphs of a Complex Organic Solid*, Cryst. Growth Des., 13 (2013) 3447.
140. Braga, D., Maini, L., e Grepioni, F., *Mechanochemical preparation of co-crystals*, Chem. Soc. Rev., 42 (2013) 7638.
141. Weyna, D.R., Shattock, T., Vishweshwar, P., e Zaworotko, M.J., *Synthesis and Structural Characterization of Cocrystals and Pharmaceutical Cocrystals: Mechanochemistry vs Slow Evaporation from Solution*, Cryst. Growth Des., 9 (2009) 1106.
142. 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., e Blagden, N., *Applying hot-stage microscopy to co-crystal screening: A study of nicotinamide with seven active pharmaceutical ingredients*, Cryst. Growth Des., 8 (2008) 1697.
143. Lu, E., Rodriguez-Hornedo, N., e Suryanarayanan, R., *A rapid thermal method for cocrystal screening*, CrystEngComm, 10 (2008) 665.
144. Friscic, T., Childs, S.L., Rizvi, S.A.A., e Jones, W., *The role of solvent in mechanochemical and sonochemical cocrystal formation: a solubility-based approach for predicting cocrystallisation outcome*, CrystEngComm, 11 (2009) 418.

## Referências

---

145. Reddy, L.S., Bhatt, P.M., Banerjee, R., Nangia, A., e Kruger, G.J., *Variable-temperature powder X-ray diffraction of aromatic carboxylic acid and carboxamide cocrystals*, Chem. An Asian J., 2 (2007) 505.
146. Sarma, B., Nath, N.K., Bhogala, B.R., e Nangia, A., *Synthon Competition and Cooperation in Molecular Salts of Hydroxybenzoic Acids and Aminopyridines*, Cryst. Growth Des., 9 (2009) 1546.
147. Delori, A., Friscic, T., e Jones, W., *The role of mechanochemistry and supramolecular design in the development of pharmaceutical materials*, CrystEngComm, 14 (2012) 2350.
148. Jones, W. e Eddleston, M.D., *Introductory Lecture: Mechanochemistry, a versatile synthesis strategy for new materials*, Faraday Discuss., 170 (2014) 9.
149. Friscic, T. e Jones, W., *Recent Advances in Understanding the Mechanism of Cocrystal Formation via Grinding*, Cryst. Growth Des., 9 (2009) 1621.
150. Chiarella, R.A., Davey, R.J., e Peterson, M.L., *Making co-crystals - The utility of ternary phase diagrams*, Cryst. Growth Des., 7 (2007) 1223.
151. Sacchettini, J.C. e Kelly, J.W., *Therapeutic strategies for human amyloid diseases*, Nat. Rev. Drug Discov., 1 (2002) 267.
152. Sekijima, Y., *Recent progress in the understanding and treatment of transthyretin amyloidosis*, J. Clin. Pharm. Therapeut., 39 (2014) 225.
153. Hooshmand, F., Miller, S., Dore, J., Wang, P.W., Hill, S.J., Portillo, N., e Ketter, T.A., *Trends in pharmacotherapy in patients referred to a bipolar specialty clinic, 2000-2011*, J. Affect. Disord., 155 (2014) 283.
154. Perlovich, G.L., Kurkov, S.V., Kinchin, A.N., e Bauer-Brandl, A., *Thermodynamics of solutions IV: Solvation of ketoprofen in comparison with other NSAIDs*, J. Pharm. Sci., 92 (2003) 2502.
155. Cotton, L.M. e Hux, R.A., *Diflunisal*, Anal. Prof. Drug Subs., 14 (1985).
156. O'Neil, M.J., *Merck Index 14*, 2006, Whitehouse Station, NJ: Merck Sharp & Dohme.
157. Marinescu, D.-C., Pincu, E., e Meltzer, V., *Thermodynamic study of binary system Propafenone Hydrochloride with Metoprolol Tartrate: Solid-liquid equilibrium and compatibility with alpha-lactose monohydrate and corn starch*, Int. J. Pharm., 448 (2013) 366.
158. Brogden, R.N., Hell, R.C., Pakes, G.E., Speigth, T.M., e Avery, G.S., *Diflunisal - review of its pharmacological properties and therapeutic use in pain and musculoskeletal strains and sprains and pain in osteo-arthritis*, Drugs, 19 (1980) 84.
159. Maher, H.M., *Development and validation of a stability-indicating hplc-dad method with ann optimization for the determination of diflunisal and naproxen in pharmaceutical tablets*, J. Liq. Chromatogr., 37 (2014) 634.
160. Hannah, J., Ruyle, W.V., Jones, H., Matzuk, A.R., Kelly, K.W., Witzel, B.E., Holtz, W.J., House, R.A., Shen, T.Y., e Sarett, L.H., *Novel analgesic-antiinflammatory salicylates*, J. Med. Chem., 21 (1978) 1093.
161. Sequeiros, J., *Corino Andrade (1906-2005): a clinical geneticist before its own time - In memoriam*, Clinical Genetics, 69 (2006) 194.
162. Sousa, A., Coelho, T., Barros, J., e Sequeiros, J., *Genetic epidemiology of familial amyloidotic polyneuropathy (FAP)-type I in Povoá do Varzim and Vila do Conde (North of Portugal)*, Am. J. Med. Genet., 60 (1995) 512.
163. Holmgren, G., Hellman, U., Jonasson, J., Lundgren, H.E., Westermarck, P., e Suhr, O.B., *A Swedish family with the rare Phe33Leu transthyretin mutation*, Amyloid: J. Protein Folding Disord., 12 (2005) 189.

## Referências

---

164. Kodaira, M., Morita, H., Shimojima, Y., e Ikeda, S.-i., *Electrophysiological features of familial amyloid polyneuropathy in endemic area*, *Amyloid: J. Protein Folding Disord.*, 18 (2011) 10.
165. Sekijima, Y., Dendle, M.A., e Kelly, J.W., *Orally administered diflunisal stabilizes transthyretin against dissociation required for amyloidogenesis*, *Amyloid: J. Protein Folding Disord.*, 13 (2006) 236.
166. Tojo, K., Sekijima, Y., Kelly, J.W., e Ikeda, S.-i., *Diflunisal stabilizes familial amyloid polyneuropathy-associated transthyretin variant tetramers in serum against dissociation required for amyloidogenesis*, *Neurosci. Res.*, 56 (2006) 441.
167. Castano, A., Helmke, S., Alvarez, J., Delisle, S., e Maurer, M.S., *Diflunisal for ATTR cardiac amyloidosis*, *Congest. Heart Fail.*, 18 (2012) 315.
168. Berk, J.L., Suhr, O.B., Sekijima, Y., Yamashita, T., Heneghan, M., Zeldenrust, S.R., Ando, Y., Ikeda, S.-i., Gorevic, P., Merlini, G., Kelly, J.W., Skinner, M., Bisbee, A.B., Dyck, P.J., Obici, L., e Familial Amyloidosis, C., *The Diflunisal Trial: Study accrual and drug tolerance*, *Amyloid: J. Protein Folding Disord.*, 19 (2012) 37.
169. Perlovich, G.L., Hansen, L.K., e Bauer-Brandl, A., *Interrelation between thermochemical and structural data of polymorphs exemplified by diflunisal*, *J. Pharm. Sci.*, 91 (2002) 1036.
170. Cross, W.I., Blagden, N., Davey, R.J., Pritchard, R.G., Neumann, M.A., Roberts, R.J., e Rowe, R.C., *A whole output strategy for polymorph screening: Combining crystal structure prediction, graph set analysis, and targeted crystallization experiments in the case of diflunisal*, *Cryst. Growth Des.*, 3 (2003) 151.
171. Brittain, H.G., Elder, B.J., Isbester, P.K., e Salerno, A.H., *Solid-state fluorescence studies of some polymorphs of diflunisal*, *Pharm. Res.*, 22 (2005) 999.
172. Martinezoharriz, M.C., Martin, C., Goni, M.M., Rodriguezespinosa, C., Deilarduyaapaolaza, M.C.T., e Sanchez, M., *Polymorphism of diflunisal - isolation and solid-state characteristics of a new crystal form*, *J. Pharm. Sci.*, 83 (1994) 174.
173. Sung, H.L., Fan, Y.L., Yeh, K., Chen, Y.F., e Chen, L.J., *A new hydrate form of diflunisal precipitated from a microemulsion system*, *Colloids Surf. B: Bioint.*, 109 (2013) 68.
174. Kim, Y.B. e Park, I.Y., *Disordered crystal structure of diflunisal*, *J. Korean Pharm. Sci.*, 26 (1996) 55.
175. Shattock, T.R., Arora, K.K., Vishweshwar, P., e Zaworotko, M.J., *Hierarchy of Supramolecular Synthons: Persistent Carboxylic Acid center dot center dot center dot Pyridine Hydrogen Bonds in Cocrystals That also Contain a Hydroxyl Moiety*, *Cryst. Growth Des.*, 8 (2008) 4533.
176. Jellinek, H.H.G. e Wayne, M.G., *Nicotinamide - ultraviolet absorption spectra and dissociation constants*, *J. Phys. Colloid. Chem.*, 55 (1951) 173.
177. Lemke, T.L., Williams, D.A., Roche, V.F., e Zito, S.W., *Foye's Principles of Medicinal Chemistry*, 2008, Philadelphia: Wolter Kluwer Health, Lippincott Williams & Wilkins
178. Johnson, S.L. e Rumon, K.A., *Infrared spectra of solid 1-1 pyridine-benzoic acid complexes nature of hydrogen bond as a function of acid-base levels in complex*, *J. Phys. Chem.*, 69 (1965) 74.
179. Miwa, Y., Mizuno, T., Tsuchida, K., Taga, T., e Iwata, Y., *Experimental charge density and electrostatic potential in nicotinamide*, *Acta Crystallogr., Sect. B: Struct. Sci.*, 55 (1999) 78.
180. Hino, T., Ford, J.L., e Powell, M.W., *Assessment of nicotinamide polymorphs by differential scanning calorimetry*, *Thermochim. Acta*, 374 (2001) 85.
181. Li, J., Bourne, S.A., e Caira, M.R., *New polymorphs of isonicotinamide and nicotinamide*, *Chem. Comm.*, 47 (2011) 1530.

## Referências

---

182. ter Horst, J.H., Deij, M.A., e Cains, P.W., *Discovering New Co-Crystals*, Cryst. Growth Des., 9 (2009) 1531.
183. Dhirendra, K., Lewis, S., Udupa, N., e Atin, K., *Solid dispersions: A review*, Pak. J. Pharm. Sci., 22 (2009) 234.
184. Florence, A.T. e Attwood, D., *Physicochemical Principles of Pharmacy*, 5<sup>th</sup>, 2011, London: Pharmaceutical Press.
185. Gallis, H.E. e vanMiltenburg, J.C., *Mixtures of d- and l-carvone .2. Adiabatic calorimetry on the equimolar mixture*, Thermochim. Acta, 274 (1996) 223.
186. Hohne, G.W.H., Cammenga, H.K., Eysel, W., Gmelin, E., e Hemminger, W., *The temperature calibration of scanning calorimeters*, Thermochim. Acta, 160 (1990) 1.
187. Prigogine, I. e Defay, R., *Chemical Thermodynamics*, 1954, Glasgow: Wiley.
188. Aakeroy, C.B., Hussain, I., e Desper, J., *2-Acetaminopyridine: A highly effective cocrystallizing agent*, Cryst. Growth Des., 6 (2006) 474.
189. Cassidy, C.S., Reinhardt, L.A., Cleland, W.W., e Frey, P.A., *Hydrogen bonding in complexes of carboxylic acids with 1-alkylimidazoles: steric and isotopic effects on low barrier hydrogen bonding*, J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2, (1999) 635.
190. Castaneda, J.P., Denisov, G.S., Kucherov, S.Y., Schreiber, V.M., e Shurukhina, A., *Infrared and ab initio studies of hydrogen bonding and proton transfer in the complexes formed by pyrazoles*, J. Mol. Struct., 660 (2003) 25.
191. Hadzi, D. e Kobilario, N., *Hydrogen bonding in some adducts of oxygen bases with acids .2. Infrared spectra of liquid adducts of carboxylic acids with sulphoxides phosphine oxides and other bases*, J. Chem. Soc. A - Inorg. Phys. Theor., (1966) 439.
192. Mukherjee, A., Tothadi, S., Chakraborty, S., Ganguly, S., e Desiraju, G.R., *Synthon identification in co-crystals and polymorphs with IR spectroscopy. Primary amides as a case study*, CrystEngComm, 15 (2013) 4640.
193. Oliveira, M.A., Peterson, M.L., e Davey, R.J., *Relative Enthalpy of Formation for Co-Crystals of Small Organic Molecules*, Cryst. Growth Des., 11 (2011) 449.
194. International Conference on Harmonisation, ICH Topic Q3C (R5) Impurities: Guideline for Residual Solvents, disponível em [http://www.ich.org/fileadmin/Public\\_Web\\_Site/ICH\\_Products/Guidelines/Quality/Q3C/Step4/Q3C\\_R5\\_Step4.pdf](http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q3C/Step4/Q3C_R5_Step4.pdf), última consulta: 12-02-2015.
195. United States Pharmacopeia, USP30, Residual solvents <467>, disponível em <http://www.usp.org/search/site/USP30%2C%20Residual%20solvents>, última consulta: 10-02-2015.
196. Vellema, J., Hunfeld, N.G.M., van den Akker, H.E.A., e ter Horst, J.H., *Avoiding crystallization of lorazepam during infusion*, Eur. J. Pharm. Sci., 44 (2011) 621.
197. United States Pharmacopeia, USP29, In vitro and in vivo evaluation of dosage forms, disponível em [http://www.pharmacopeia.cn/v29240/usp29nf24s0\\_c1088.html](http://www.pharmacopeia.cn/v29240/usp29nf24s0_c1088.html), última consulta: 12-02-2015.
198. Guidance for Industry: Dissolution Testing of Immediate Release Solid Oral Dosage Forms, disponível em <http://www.fda.gov/downloads/drugs/guidancecomplianceregulatoryinformation/guidances/ucm070237.pdf>, última consulta: 12-02-2015.

## Referências

---

199. Lijuan Tang, S.U.K., and Nouman A. Muhammad, *Evaluation and Selection of Bio-relevant Dissolution Media for a Poorly WaterSoluble New Chemical Entity*, Pharm. Dev. Technol., 6 (2001) 531.
200. Siepmann, J. e Siepmann, F., *Mathematical modeling of drug dissolution*, Int. J. Pharm., 453 (2013) 12.
201. United States Pharmacopeia, USP35, Dissolution <711> disponível em [http://www.usp.org/sites/default/files/usp\\_pdf/EN/USPNF/2011-02-25711DISSOLUTION.pdf](http://www.usp.org/sites/default/files/usp_pdf/EN/USPNF/2011-02-25711DISSOLUTION.pdf), última consulta: 10-02-2015.
202. United States Pharmacopeia, USP29, Diflunisal Tablet, disponível em [http://www.pharmacopeia.cn/v29240/usp29nf24s0\\_m25878.html](http://www.pharmacopeia.cn/v29240/usp29nf24s0_m25878.html), última consulta: 10-02-2015.
203. Godin, A.M., Ferreira, W.C., Rocha, L.T.S., Seniuk, J.G.T., Paiva, A.L.L., Merlo, L.A., Nascimento, E.B., Jr., Bastos, L.F.S., e Coelho, M.M., *Antinociceptive and anti-inflammatory activities of nicotinamide and its isomers in different experimental models*, Pharmacol. Biochem. Behav., 99 (2011) 782.
204. Sauve, A.A., *Pharmaceutical Strategies for Activating Sirtuins*, Curr. Pharm. Design, 15 (2009) 45.
205. Lee, S.I., Park, K.H., Kim, S.J., Kang, Y.G., Lee, Y.M., e Kim, E.C., *Mechanical stress-activated immune response genes via Sirtuin 1 expression in human periodontal ligament cells*, Clin. Exp. Immunol., 168 (2012) 113.
206. Kulkarni, S.A., McGarrity, E.S., Meekes, H., e ter Horst, J.H., *Isonicotinamide self-association: the link between solvent and polymorph nucleation*, Chem. Comm., 48 (2012) 4983.
207. Yamamoto, H. e Okamoto, H., *Protection by picolinamide - a novel inhibitor of poly(adp-ribose) synthetase, against both streptozotocin-induced depression of proinsulin synthesis and reduction of nad content in pancreatic-islets*, Biochem. Biophys. Res. Commun., 95 (1980) 474.
208. Kawabata, T., Ogino, T., Mori, M., e Awai, M., *Effects of nicotinamide and its isomers on iron-induced renal damage*, Acta Pathol. Jpn., 42 (1992) 469.
209. Bathori, N.B., Lemmerer, A., Venter, G.A., Bourne, S.A., e Caira, M.R., *Pharmaceutical Co-crystals with Isonicotinamide-Vitamin B3, Clofibrac Acid, and Diclofenac-and Two Isonicotinamide Hydrates*, Cryst. Growth Des., 11 (2011) 75.
210. Castro, R.A.E., Ribeiro, J.D.B., Maria, T.M.R., Ramos Silva, M., Yuste-Vivas, C., Canotilho, J., e Eusebio, M.E.S., *Naproxen Cocrystals with Pyridinecarboxamide Isomers*, Cryst. Growth Des., 11 (2011) 5396.
211. Habgood, M., Deij, M.A., Mazurek, J., Price, S.L., e ter Horst, J.H., *Carbamazepine Co-crystallization with Pyridine Carboxamides: Rationalization by Complementary Phase Diagrams and Crystal Energy Landscapes*, Cryst. Growth Des., 10 (2010) 903.
212. Basavoju, S., Bostrom, D., e Velaga, S.P., *Pharmaceutical cocrystal and salts of norfloxacin*, Cryst. Growth Des., 6 (2006) 2699.
213. Lu, J. e Rohani, S., *Preparation and Characterization of Theophylline-Nicotinamide Cocrystal*, Org. Process Res. Dev., 13 (2009) 1269.
214. Dorn, T.F., K.M.; Janiak, C., *[Ag(isonicotinamide)2NO3]2 - A Stable Form of Silver Nitrate*, Aust.J. Chem., 59 (2006) 22.
215. Nigond, L., Condamines, N., Cordier, P.Y., Livet, J., Madic, C., Cuillerdier, C., Musikas, C., e Hudson, M.J., *Recent advances in the treatment of nuclear wastes by the use of diamide and picolinamide extractants*, Sep. Sci. Technol., 30 (1995) 2075.

## Referências

---

216. Aakeroy, C.B., Beatty, A.M., Helfrich, B.A., e Nieuwenhuyzen, M., *Do polymorphic compounds make good cocrystallizing agents? A structural case study that demonstrates the importance of synthon flexibility*, Cryst. Growth Des., 3 (2003) 159.
217. Eccles, K.S., Deasy, R.E., Fabian, L., Braun, D.E., Maguire, A.R., e Lawrence, S.E., *Expanding the crystal landscape of isonicotinamide: concomitant polymorphism and co-crystallisation*, CrystEngComm, 13 (2011) 6923.
218. Takano, T., Sasada, Y., e Kakudo, M., *Crystal and molecular structure of picolinamide*, Acta Crystallogr., 21 (1966) 514.
219. Evora, A.O.L., Castro, R.A.E., Maria, T.M.R., Rosado, M.T.S., Ramos Silva, M., Canotilho, J., e Eusebio, M.E.S., *Resolved structures of two picolinamide polymorphs. Investigation of the dimorphic system behaviour under conditions relevant to co-crystal synthesis*, CrystEngComm, 14 (2012) 8649.
220. Desiraju, G.R. e Steiner, T., *The Weak Hydrogen Bond in Structural Chemistry and Biology*, 1999, Oxford: Oxford University Press.
221. Borba, A., Gomez-Zavaglia, A., e Fausto, R., *Molecular structure, vibrational spectra, quantum chemical calculations and photochemistry of picolinamide and isonicotinamide isolated in cryogenic inert matrixes and in the neat low-temperature solid phases*, J. Phys. Chem. A, 112 (2008) 45.
222. Burger, A. e Ramberger, R., *Polymorphism of pharmaceuticals and other molecular-crystals .1. Theory of thermodynamic rules*, Mikrochim. Acta, 2 (1979) 259.
223. Burger, A. e Ramberger, R., *Polymorphism of pharmaceuticals and other molecular-crystals .2. Applicability of thermodynamic rules*, Mikrochim. Acta, 2 (1979) 273.
224. Vishweshwar, P., Nangia, A., e Lynch, V.M., *CSD Ref Code EHOWTH*, Private Communication, (2003).
225. Tothadi, S., Joseph, S., e Desiraju, G.R., *Synthon Modularity in Cocrystals of 4-Bromobenzamide with n-Alkanedicarboxylic Acids: Type I and Type II Halogen center dot center dot center dot Halogen Interactions*, Cryst. Growth Des., 13 (2013) 3242.
226. Aakeroy, C.B., Salmon, D.J., Smith, M.M., e Desper, J., *Cyanophenylloximes: Reliable and versatile tools for hydrogen-bond directed supramolecular synthesis of cocrystals*, Cryst. Growth Des., 6 (2006) 1033.
227. Chan, H.C.S., Woollam, G.R., Wagner, T., Schmidt, M.U., e Lewis, R.A., *Can picolinamide be a promising cocrystal former?*, CrystEngComm, 16 (2014) 4365.
228. Risner, M., *The development of lamotrigine*, in Arts, N., ed. *Epilepsy Through the Ages*, 2001, Nederland: Van Zuiden Communications, p.339.
229. Pickrell, W.O., Lacey, A.S., Thomas, R.H., Lyons, R.A., Smith, P.E.M., e Rees, M.I., *Trends in the first antiepileptic drug prescribed for epilepsy between 2000 and 2010*, Seizure-Eur. J.Epilep., 23 (2014) 77.
230. Motte, J., et al., *For generalized seizures associated with the Lennox-Gastaut syndrome.*, New Engl. J. Med., 337 ( 1997) 1807.
231. Smith, D., et al., *Outcomes of add-on treatment with lamotrigine in partial epilepsy.*, Epilepsia, 34 (1993) 312.
232. Sporn, J.a.G.S., *The anticonvulsant lamotrigine in treatment-resistant manic-depressive illness*, J. Clin. Psychopharmacol., 17 (1997) 185.
233. Nomura, S., Shimakawa, S., Fukui, M., Tanabe, T., e Tamai, H., *Lamotrigine for intractable migraine-like headaches in Sturge-Weber syndrome*, Brain Dev., 36 (2014) 399.

## Referências

---

234. Takacs, R., Makkos, Z., Kassai-Farkas, A., Pusztai, A., Ungvari, G.S., e Gazdag, G., *Lamotrigine in the treatment of psychotic depression associated with hereditary coproporphyrinemia - case report and a brief review of the literature*, *Neuropsychopharmacol. Hung.*, 16 (2014) 43.
235. Sykes, L., Wood, E., e Kwan, J., *Antiepileptic drugs for the primary and secondary prevention of seizures after stroke*, *Cochrane Database Syst. Rev.*, (2014) 1.
236. Ohnuma, T., Takebayashi, Y., Higashiyama, R., Shibata, N., e Arai, H., *Low-dose lamotrigine augmentation therapy improves residual symptoms in treatment-resistant schizophrenia: A report of five cases*, *Asia Pac. Psychiatry*, 5 (2013) 336.
237. Bowden, C.L. e Karren, N.U., *Lamotrigine in the treatment of bipolar disorder*, *Expert Opin. Pharmacother.*, 3 (2002) 1513.
238. Katayama, Y., Terao, T., Kamei, K., Hatano, K., Kohno, K., Makino, M., Mizokami, Y., Kodama, K., e Itoh, H., *Therapeutic window of lamotrigine for mood disorders: a naturalistic retrospective study*, *Pharmacopsychiatry*, 47 (2014) 111.
239. Sawyer, D.A. e Copp, F.C., Triazine salt, 1989, Patente Nº: U.S. 4,847,249.
240. Chadha, R., Saini, A., Khullar, S., Jain, D.S., Mandal, S.K., e Row, T.N.G., *Crystal Structures and Physicochemical Properties of Four New Lamotrigine Multicomponent Forms*, *Cryst. Growth Des.*, 13 (2013) 858.
241. Cheney, M.L., Shan, N., Healey, E.R., Hanna, M., Wojtas, L., Zaworotko, M.J., Sava, V., Song, S., e Sanchez-Ramos, J.R., *Effects of Crystal Form on Solubility and Pharmacokinetics: A Crystal Engineering Case Study of Lamotrigine*, *Cryst. Growth Des.*, 10 (2010) 394.
242. Chadha, R., Saini, A., Arora, P., Jain, D.S., Dasgupta, A., e Row, T.N.G., *Multicomponent solids of lamotrigine with some selected coformers and their characterization by thermoanalytical, spectroscopic and X-ray diffraction methods*, *CrystEngComm*, 13 (2011) 6271.
243. Leksic, E., Pavlovic, G., e Mestrovic, E., *Cocrystals of Lamotrigine Based on Coformers Involving Carbonyl Group Discovered by Hot-Stage Microscopy and DSC Screening*, *Cryst. Growth Des.*, 12 (2012) 1847.
244. Alkorta, I., Elguero, J., Font, A., Galcera, J., Mata, I., Molins, E., e Virgili, A., *An experimental and theoretical study of the structure of Lamotrigine in its neutral and protonated forms: evidence of Lamotrigine enantiomers\**, *Tetrahedron*, 70 (2014) 2784.
245. Sridhar, B. e Ravikumar, K., *Lamotrigine, an antiepileptic drug, and its chloride and nitrate salts*, *Acta Crystallogr., Sect. C: Cryst. Struct. Commun.*, 65 (2009) 460.
246. Janes, R.W., Lisgarten, J.N., e Palmer, R.A., *Structure of lamotrigine methanol solvate - 3,5-diamino-6-(2,3-dichlorophenyl)-1,2,4-triazine-methanol, a novel anticonvulsant drug*, *Acta Crystallogr., Sect. C: Cryst. Struct. Commun.*, 45 (1989) 129.
247. Ramya, T., Gunasekaran, S., e Ramkumaar, G.R., *Density functional theory, restricted Hartree - Fock simulations and FTIR, FT-Raman and UV-Vis spectroscopic studies on lamotrigine*, *Spectrochim. Acta, Part A*, 114 (2013) 277.
248. Gunasekaran, S. e Ponnusamy, S., *Vibrational spectra and normal coordinate analysis on an organic non-linear optical crystal-3-methoxy-4-hydroxy benzaldehyde*, *Indian J. Pure Appl. Phys.*, 43 (2005) 838.
249. Gunasekaran, S.N., RK; Syamala, D; Syamala, D, *Normal coordinate analysis of urea meta nitro benzoic acid crystal*, *Indian J. Pure Appl. Phys.*, 44 (2006) 315.
250. Gunasekaran, S.A., L, *Spectroscopic investigation and vibrational analysis of paraldehyde by FTIR and laser Raman techniques*, *Indian J. Phys. Proc. Indian Assoc. Cultiv. Sci.*, 78 (2004) 485.

## Referências

---

251. Sridhar, B. e Ravikumae, K., *Crystal structure of lamotriginium hydrogen phthalate dimethylformamide solvate (1:1:1)*, Mol. Cryst. Liq. Cryst., 461 (2007) 131.
252. Garti, N., Berkovich, Y., Dolitzky, B.-Z., Aronhime, J., Singer, C., Liebermann, A., e Gershon, N., *Crystal forms of lamotrigine and processes for their preparations*, 2008, Patente Nº: US 7,390,807B2.
253. Legendre, B. e Randzio, S.L., *Transitiometric analysis of solid II/solid I transition in anhydrous theophylline*, Int. J. Pharm., 343 (2007) 41.
254. Seton, L., Khamar, D., Bradshaw, I.J., e Hutcheon, G.A., *Solid State Forms of Theophylline: Presenting a New Anhydrous Polymorph*, Cryst. Growth Des., 10 (2010) 3879.
255. Matsuo, K. e Matsuoka, M., *Solid-state polymorphic transition of theophylline anhydrate and humidity effect*, Cryst. Growth Des., 7 (2007) 411.
256. Phadnis, N.V. e Suryanarayanan, R., *Polymorphism in anhydrous theophylline - Implications on the dissolution rate of theophylline tablets*, J. Pharm. Sci., 86 (1997) 1256.
257. Nunes, C., Mahendrasingam, A., e Suryanarayanan, R., *Investigation of the multi-step dehydration reaction of theophylline monohydrate using 2-dimensional powder X-ray diffractometry*, Pharm. Res., 23 (2006) 2393.
258. Roy, C., Vega-Gonzalez, A., e Subra-Paternault, P., *Theophylline formulation by supercritical antisolvents*, Int. J. Pharm., 343 (2007) 79.
259. Trask, A.V., Motherwell, W.D.S., e Jones, W., *Physical stability enhancement of theophylline via cocrystallization*, Int. J. Pharm., 320 (2006) 114.
260. Khamar, D., Pritchard, R.G., Bradshaw, I.J., Hutcheon, G.A., e Seton, L., *Polymorphs of anhydrous theophylline: stable form IV consists of dimer pairs and metastable form I consists of hydrogen-bonded chains*, Acta Crystallogr. Sect. C-Struct. Chem., 67 (2011) O496.
261. Smith, E.D.L., Hammond, R.B., Jones, M.J., Roberts, K.J., Mitchell, J.B.O., Price, S.L., Harris, R.K., Apperley, D.C., Cherryman, J.C., e Docherty, R., *The determination of the crystal structure of anhydrous theophylline by X-ray powder diffraction with a systematic search algorithm, lattice energy calculations, and C-13 and N-15 solid-state NMR: A question of polymorphism in a given unit cell*, J. Phys. Chem. B, 105 (2001) 5818.
262. Ebisuzaki, Y., Boyle, P.D., e Smith, J.A., *Methylxanthines .1. Anhydrous theophylline*, Acta Crystallogr. Sect. C-Struct. Chem., 53 (1997) 777.
263. Enright, G.D., Terskikh, V.V., Brouwer, D.H., e Ripmeester, J.A., *The structure of two anhydrous polymorphs of caffeine from single-crystal diffraction and ultrahigh-field solid-state C-13 NMR spectroscopy*, Cryst. Growth Des., 7 (2007) 1406.
264. Bothe, H. e Cammenga, H.K., *Phase transitions and thermodynamic properties of anhydrous caffeine*, J. Therm. Anal., 16 (1979) 267.
265. Cesaro, A. e Starec, G., *Thermodynamic properties of caffeine crystal forms*, J. Phys. Chem., 84 (1980) 1345.
266. Sutor, D., *The structures of the pyrimidines and purines. VII. The crystal structure of caffeine*, Acta Crystallogr., 11 (1958) 453.
267. G. M. Edwards, H., Lawson, E., de Matas, M., Shields, L., e York, P., *Metamorphosis of caffeine hydrate and anhydrous caffeine*, J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2, (1997) 1985.
268. Dichi, E., Legendre, B., e Sghaier, M., *Physico-chemical characterisation of a new polymorph of caffeine*, J. Therm. Anal. Calorim., 115 (2014) 1551.

## Referências

---

269. Edwards, H.G.M., Lawson, E., deMatas, M., Shields, L., e York, P., *Metamorphosis of caffeine hydrate and anhydrous caffeine*, J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2, (1997) 1985.
270. Derollez, P., Correia, N.T., Danede, F., Capet, F., Affouard, F., Lefebvre, J., e Descamps, M., *Ab initio structure determination of the high-temperature phase of anhydrous caffeine by X-ray powder diffraction*, Acta Crystallogr., Sect. B: Struct. Sci., 61 (2005) 329.
271. Smith, B.C., *Infrared Spectral Interpretation, a systematic approach*, 1999, Boca Raton: CRC press.
272. Brittain, H.G., *Vibrational Spectroscopic Studies of Cocrystals and Salts. 2. The Benzylamine-Benzoic Acid System*, Cryst. Growth Des., 9 (2009) 3497.
273. Sabbah, R., An, X.W., Chickos, J.S., Leitao, M.L.P., Roux, M.V., e Torres, L.A., *Reference materials for calorimetry and differential thermal analysis*, Thermochim. Acta, 331 (1999) 93.
274. Della Gatta, G., Richardson, M.J., Sarge, S.M., e Stolen, S., *Standards, calibration, and guidelines in microcalorimetry - Part 2. Calibration standards for differential scanning calorimetry - (IUPAC Technical Report)*, Pure Appl. Chem., 78 (2006) 1455.
275. Tome, L.I.N., Lopes Jesus, A.J., Esteves de Castro, R.A., Teixeira, M.H.S.F., Canotilho, J., e Eusebio, M.E.S., *Solvation enthalpy and the thermodynamics of hydration of trans-cyclohexyl-1,4-diamine and cis-cyclohexyl-1, 2-diamine*, J. Chem. Thermodyn., 39 (2007) 1357.
276. Kilday, M.V., *The enthalpy of solution of srm-1655 (KCl) in H<sub>2</sub>O*, J. Res. Natl. Bur. Stand., 85 (1980) 467.
277. Goffredi, F., Goffredi, M., e Liveri, V.T., *Effect of tetrahydrofuran on the conductance and ion-pairing of hydrogen-chloride in wet and dry methanol mixtures*, J. Solution Chem., 24 (1995) 813.
278. Gonçalves, E.M.D.R., *Thermodynamic studies of nicotinic acid*, Tese de Doutorado, 2011, Universidade de Lisboa.
279. Sheldrick, G.M., *SHELXS-97, Program for solution of crystal structures*, 1997, University of Göttingen, Germany:
280. Sheldrick, G.M., *SHELXL-97, Program for refinement of crystal structures*, 1997, University of Göttingen, Germany:

# Anexo I Materiais, técnicas e condições experimentais

---

## A1.1 Materiais

Os materiais de partida, utilizados neste estudo, o diflunisal ( $C_{13}H_8F_2O_3$ , MW 250,2  $g \cdot mol^{-1}$ ), polimorfo I, [170], os três isômeros das piridinacarboxamidas ( $C_6H_6N_2O$ , MW=122,12  $g \cdot mol^{-1}$ ), a nicotinamida, polimorfo I, [179], picolinamida, polimorfo II [218, 219] a isonicotinamida, polimorfo I, (código de referência EHOWIH01) [216] e a teofilina ( $C_7H_8N_4O_2$ , MW 180,15  $g/mol$ ), polimorfo II [262], foram adquiridos na Sigma-Aldrich, com uma pureza de 99,5 %, 99,5 %, 98 %, 99 %, e 99 % respectivamente. A lamotrigina [245] ( $C_9H_7Cl_2N_5$ , MW=256,09  $g/mol$ ), utilizada neste estudo foi adquirida à firma Jai Radhe Sales, Índia, com uma pureza de 99,79 %. A cafeína ( $C_8H_{10}N_4O_2$ , MW=194,19  $g/mol$ ), polimorfo II [269], foi adquirida à Fluka com uma pureza  $\geq 99,0$  %. Todos os compostos foram usados sem tratamento adicional.

A origem e a pureza dos solventes utilizados neste trabalho figuram na Tabela A1.1

**Tabela A1.1** Origem e pureza dos solventes utilizados neste trabalho.

| Solvente            | Origem          | Pureza/ % |
|---------------------|-----------------|-----------|
| acetato de etilo    | Romil Chemicals | ≥ 99,8    |
| álcool isopropílico | Lab-Scan        | 99,7      |
| DMSO                | Sigma-Aldrich   | > 99,9    |
| etanol              | Ficher Chemical | 99,99     |
| metanol             | Fluka           | ≥ 99      |
| <i>n</i> -heptano   | Riedel-de Haën  | ≥ 99      |
| tolueno             | Merck           | ≥ 99,5    |

## A1.2 Medida de temperatura de saturação com o equipamento Crystal 16 da Avantium Technologies

A viabilidade da formação de co-cristal entre o diflunisal e as piridinacarboxamidas, a nicotinamida, picolinamida e a isonicotinamida, foi confirmada com a utilização do equipamento de alto rendimento Crystal16 da Avantium Technologies, Figura A1.1, aplicando a metodologia descrita por ter Horst *et al.* [182], utilizando etanol como solvente (secções 2.2.1 e 3.2).



**Figura A1.1** Equipamento para a determinação da solubilidade, Crystal 16 da Avantium Technologies.

O equipamento permite medir *clear points* e pontos de turvação, *cloud points*, baseado na turbidez, de dezasseis alíquotas de 1 mL de solução em paralelo e

automaticamente. Soluções de composição conhecida são sujeitas a ciclos de arrefecimento/aquecimento à velocidade de 0,3 °C/min. A temperatura à qual a suspensão se transforma numa solução límpida, durante o aquecimento a uma velocidade de 0,3 °C/min, é tomada como a temperatura de saturação, (a composição da solução estabelecida previamente, por pesagem, é a solubilidade da amostra a essa temperatura).

Após a medida das temperaturas de saturação, as soluções são arrefecidas até 20 °C, e os sólidos cristalizados analisados por difracção de raios-X de pó.

### A1.3 Mecanoquímica

Na preparação das misturas binárias com diferentes composições, foram pesadas quantidades exactas de cada uma das substâncias, numa balança da Mettler MI63 ( $\pm 0,01$  mg), tipicamente entre 80 e 100 mg, que foram sujeitas a moagem num moinho de bolas Retsch MM 400, Figura A1.2. Usaram-se dois vasos de aço inoxidável de 10 mL, onde são colocadas as amostras pesadas, e em cada vaso duas esferas de 7 mm também de aço inoxidável. Usou-se um tempo de moagem de 30 min com frequência de 15 Hz.



**Figura A1.2.** Moinho de bolas Retsch MM 400.

Nos sistemas (diflunisal+nicotinamida) e (diflunisal+picolinamida), os ensaios foram efectuados com assistência de 10  $\mu$ l de etanol, e no sistema (diflunisal+isonicotinamida) e nalgumas experiências para (diflunisal+picolinamida) não foi usado qualquer solvente. Todas as misturas binárias envolvendo a lamotrigina foram

preparadas por mecanoquímica, massa tipicamente entre 80 a 100 mg, nas condições descritas e sem adição de qualquer solvente.

Todos os componentes individuais das misturas foram testados em condições idênticas às usadas na preparação das misturas e caracterizadas de seguida.

No caso da picolinamida foram efectuadas ensaios adicionais sem assistência de solvente, com a mesma frequência, mas tempo de moagem de 60 e 120 minutos. Realizaram-se, também, várias experiências de LAG, com esta carboxamida, usando *n*-heptano, tolueno, acetato de etilo, dimetilsulfóxido, álcool isopropílico, metanol, a 15 Hz com tempos de moagem até 120 minutos.

### A1.4 Análise térmica por calorimetria diferencial de varrimento (DSC)

Neste estudo foi utilizado um calorímetro de compensação de potência, Pyris 1, da Perkin Elmer, Figura A1.3, e o software versão 3.51 para o Windows.



**Figura A1.3.** Calorímetro de compensação de potência Pyris 1, da Perkin Elmer.

O arrefecimento é feito por meio de um intracooler com circulação de uma mistura 1:1 (v/v) de (etilenoglicol + água) a  $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Como gás de purga utilizou-se o azoto com um débito de 20 mL/min. A calibração da temperatura [273, 274], foi feita com os seguintes padrões primários de alta qualidade: bifenilo (CRM LGC 2610,  $T_{\text{fus}} = (68,93 \pm 0,03)\text{ }^{\circ}\text{C}$ ), ácido benzóico (CRM LGC 2606  $T_{\text{fus}} = 122,4\text{ }^{\circ}\text{C}$ ), cafeína, substância de

calibração da Mettler Toledo (ME 18 872,  $T_{\text{fus}} = (235,6 \pm 0,2) \text{ }^\circ\text{C}$ ) e índio, padrão primário da Perkin Elmer  $x = 99,99 \%$   $T_{\text{fus}} = 156,60 \text{ }^\circ\text{C}$ ,  $\Delta_{\text{fus}}H = 3286 \text{ J/mol}$  ou  $28,6 \text{ J/g}$ . O índio foi também utilizado na calibração de entalpia.

As amostras foram preparadas com massas que variam entre 1 e 2 mg, em cápsulas de alumínio de  $30 \text{ } \mu\text{l}$  da Perkin Elmer para compostos voláteis. Foi usada uma cápsula vazia como referência. Os ensaios foram realizados com velocidades de varrimento  $\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C/min}$  e  $\beta = 2 \text{ }^\circ\text{C/min}$ .

### A1.5 Termomicroscopia

Foram realizados alguns ensaios por termomicroscopia de luz polarizada, PLTM, utilizando um *Hot stage* DSC600 da Linkam, Figura A1.4. A placa de aquecimento/arrefecimento, permite efectuar varrimento numa gama de temperatura que varia de  $-160 \text{ }^\circ\text{C}$  a  $600 \text{ }^\circ\text{C}$ , e com velocidades de varrimento entre os  $0,1 \text{ }^\circ\text{C/min}$  e  $130 \text{ }^\circ\text{C/min}$ .



**Figura A1.4** PLTM (*Polarized Light ThermoMicroscopy*), *Hot Stage* DSC600 da Linkam.

A temperatura da placa é controlada por uma unidade central C1194 e a refrigeração pode ser efectuada por circulação de azoto líquido através da unidade LNP94/2.

Nas observações das amostras foi utilizado um microscópio da Leica, DMRB, com ampliação 200 x. Na captação de imagens utilizou-se uma câmara de vídeo da Sony, CCD-IRIS/ RGB, e a visualização foi feita num monitor Sony HR Trinitron, modelo PVM-2053MD. As imagens foram obtidas combinando o uso da luz polarizada e

compensadores de ondas. A gravação das imagens foi realizada com um gravador de DVD Sony.

Na análise das imagens foi utilizado o software fornecido pela Linkam Systems, com RTVMS, *Real Time Video Measurement system*. O software permite acompanhar as transformações experimentais pela variação da intensidade luminosa. Utilizaram-se células de vidro de 7 mm de diâmetro e 2 mm de altura, cobertas com uma tampa do mesmo material.

A calibração foi efectuada com ácido benzóico e cafeína, cujas características foram referidas na secção anterior.

### A1.6 Termogravimetria

Os estudos de termogravimetria, TG-DSC, foram realizados com um aparelho da Perkin-Elmer, STA 6000, Figura A1.5, utilizando uma unidade de arrefecimento estabilizado a 15 °C e um fluxo de azoto de 20 mL/min. A calibração de temperatura foi realizada com índio (Perkin-Elmer,  $x = 99,99\%$ ,  $T_{fus} = 156,60\text{ °C}$ ) e zinco (Perkin Elmer, material de referência,  $T_{fus} = 419,47\text{ °C}$ ). A escala de massa foi verificada com o termograma de  $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ .

As amostras foram aquecidas de 25 °C a 800 °C com uma velocidade de varrimento de 20 °C/min, em cadinhos de alumina.



**Figura A1.5** Equipamento utilizado nos estudos de termogravimetria STA 6000, da Perkin Elmer.

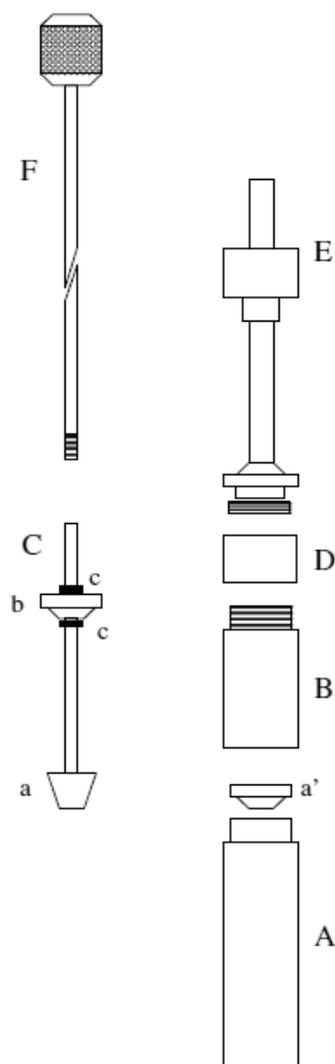
## A1.7 Calorimetria de solução

As entalpias de solução indicadas na secção 2.2.2.2 foram determinadas, a  $T = 25\text{ }^{\circ}\text{C}$ , num calorímetro de fluxo de calor, Calvet C80 da Setaram, Figura A1.6



**Figura A1.6** Calorímetro de fluxo de calor, Calvet C80 da Setaram.

Nestes ensaios foram utilizadas as células, Figura A1.7, e o procedimento descritos por Tomé *et al.* [275].



**Figura A1.7.** Célula calorimétrica utilizada nas medições das entalpias de solução, mostrando os vários componentes que a constituem: A-Compartmento do solvente; B-compartmento do soluto; C- Haste vedante; D- Peça auxiliar; E-Componente auxiliar; F-Haste; a'- o-ring; a- Tampa; b-Tampa; c- o-ring [275].

Coloca-se um volume de solvente conhecido ( $\approx 3 \text{ cm}^3$ ) no compartimento de aço A. Coloca-se o o-ring *a* e o compartimento do soluto, B e A são enroscados. Introduzimos a haste de selagem, C, permitindo a vedação do compartimento do solvente pela tampa *a*. Uma quantidade conhecida da substância em estudo é introduzida em B. Os compartimentos D, E e B são depois ligados entre si e o compartimento que contém o soluto é então selado pela rolha *b*. A célula fica montada completamente enroscando a haste F. Após estabilização, a mistura do soluto e do solvente é conseguida puxando a haste F e por inversão do calorímetro. As quantidades de solvente e soluto são determinadas por pesagem.

O sistema calorimétrico foi calibrado utilizando a entalpia de solução de KCl em água ( $m = 0,111 \text{ mol/kg}$ ;  $\Delta_{\text{sol}}H_m = 17,584 \text{ kJ/mol}$ ) [273, 276]. Utilizou-se KCl Panreac,  $x > 0,995$ , triplamente recristalizado em água [277] e seco em estufa de vácuo a  $T = 150 \text{ }^\circ\text{C}$ , durante uma semana [277].

A calibração foi verificada por medida de entalpia de solução de ácido nicotínico (Sigma-Aldrich  $x > 99,5 \%$ ) em dimetilsulfóxido, DMSO, para concentrações de solução entre 0,05 e 0,20 molal ( $n = 6$ ). Obteve-se um valor da entalpia de solução a diluição infinita de  $\Delta_{\text{sol}}H_m^\infty = (20,7 \pm 0,9) \text{ kJ/mol}$ , valor este concordante com o obtido por Gonçalves em 2011 ( $\Delta_{\text{sol}}H_m^\infty = (20,02 \pm 0,08) \text{ kJ/mol}$ ) [278].

A Tabela A1.2 resume o procedimento experimental seguido para cada um dos processos detalhados na secção 2.2.2.2.

**Tabela A1.2.** Procedimento experimental seguido na determinação de entalpia de solução, secção 2.2.2.2

| Processo | Solvente ( $m \approx 3,2 \text{ g}$ )   | Nicotinamida              | Diflunisal                | Co-cristal                |
|----------|--|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| (2.12)   | Solução $\approx 0,046$ molal de NA em DMSO+H <sub>2</sub> O (10 %v/v H <sub>2</sub> O)  | –                         | $m \approx 75 \text{ mg}$ | –                         |
| (2.13)   | Solução $\approx 0,093$ molal de DIF em DMSO+H <sub>2</sub> O (10 %v/v H <sub>2</sub> O) | $m \approx 18 \text{ mg}$ | –                         | –                         |
| (2.14)   | DMSO+H <sub>2</sub> O (10 %v/v H <sub>2</sub> O)   | –                         | –                         | $m \approx 93 \text{ mg}$ |
| (2.15)   | DMSO+H <sub>2</sub> O (10 %v/v H <sub>2</sub> O)   | $m \approx 18 \text{ mg}$ | $m \approx 75 \text{ mg}$ | –                         |

## A1.8 Espectroscopia de infravermelho (FTIR)

Os espectros de infravermelho foram obtidos, com uma resolução espectral de  $1 \text{ cm}^{-1}$ , num espectrómetro de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) Thermo Nicolet IR300, Figura A1.8, equipado com um detector de sulfato de triglicina deuterado (DTGS) e um divisor de feixe Ge/KBr, utilizando a técnica de pastilha numa matriz de brometo de potássio.



**Figura A1.8** Espectrómetro de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) ThermoNicolet IR300.

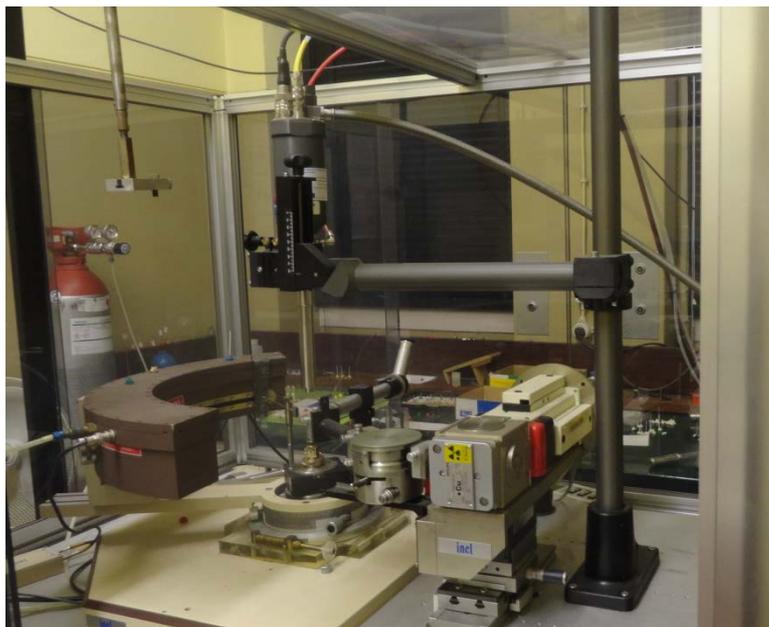
## A1.9 Difracção de raios-X

Os difractogramas de raios-X de pós foram efectuados no Centro de Estudos de Materiais por Difracção de raios-X, no Departamento de Física da Universidade de Coimbra, e também no *Process & Energy Laboratory*, na Universidade de Tecnologia de Delft, Holanda.

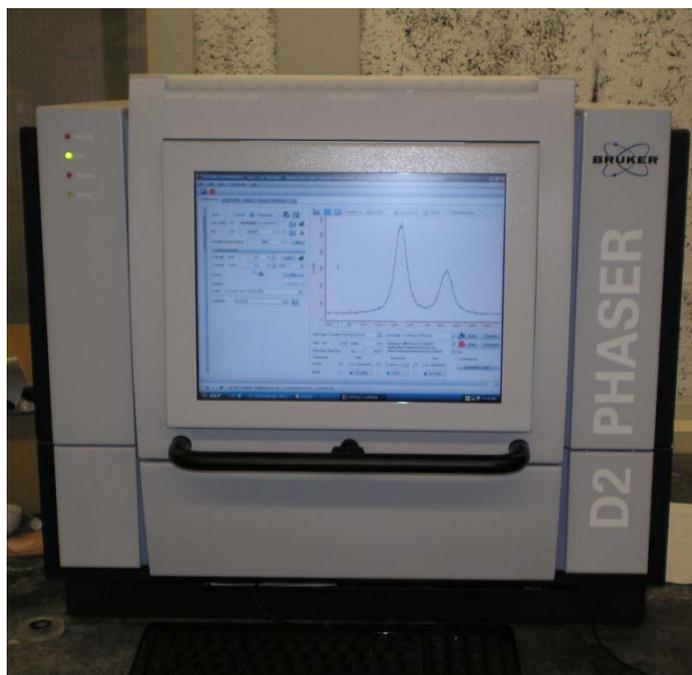
Em Coimbra, os difractogramas foram obtidos à temperatura ambiente num difractómetro ENRAF-NONIUS FR 5900, Figura A1.9, com um detector INEL CPS 120°. Foi usada radiação do tipo  $\text{CuK}\alpha_1$  ( $\lambda = 1,540598 \text{ \AA}$ ). As amostras foram pulverizadas e inseridas num capilar de vidro de 0,3 mm de diâmetro. Nalgumas ensaios, para evitar manipulação da amostra, esta foi colada ao exterior do capilar com auxílio de vaselina. O capilar foi colocado sob rotação e a recolha de dados efectuada por períodos que variam entre 15 minutos e 1 hora.

Na Holanda, utilizou-se o difractómetro de raios-X de pó Bruker-AXS D2 Phaser, Figura A1.10, com a geometria Bragg-Brentano, radiação  $\text{CuK}\alpha$ , ( $\lambda = 1,54184 \text{ \AA}$ , filtro de Níquel) equipado com o detector Lynxeye. A colheita de dados foi efectuada, tipicamente, por períodos que variam entre 1 horas e 2 horas.

Os espectros de raios-X de pó simulados foram obtidos com o programa PLATON, A.L.Spek, versão 161008.



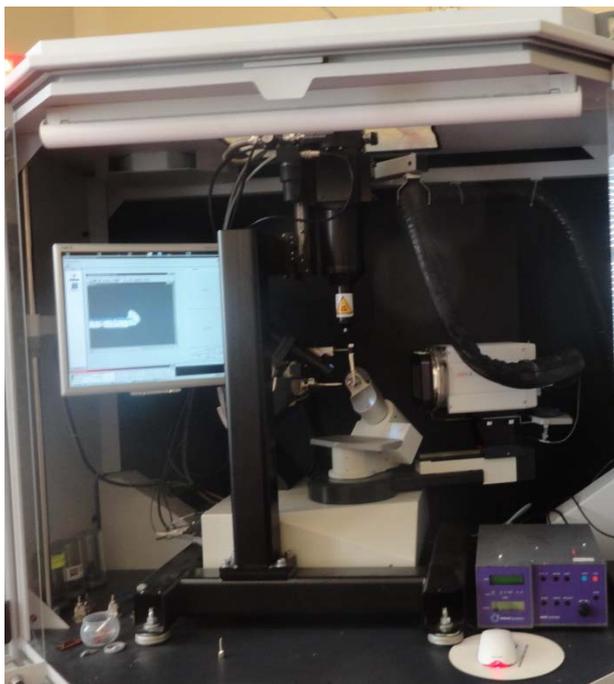
**Figura AI.9.** Difractómetro ENRAF-NONIUS FR 5900.



**Figura AI.10** Difractómetro de raios-X de pó Bruker-AXS D2 Phaser

Na determinação das estruturas cristalinas, por análise de difracção de raios-X de monocristais, foi utilizado um difractómetro Bruker–Nonius Kappa Apex II CCD, Figura AI.11, radiação  $\text{MoK}\alpha$  ( $\lambda = 0.71073 \text{ \AA}$ , monocromador de grafite), a  $T = 293 \text{ K}$

e a  $T = 150$  K. Foi usado um sistema criostato N-HELIX Oxford (*Oxford Cryosystems*) para manter os cristais sob um fluxo de azoto arrefecido na recolha de dados a baixa temperatura. As estruturas foram resolvidas por métodos directos e pela síntese de Fourier convencional (SHELXS-97) [279]. O refinamento das estruturas foi efectuado pelos mínimos quadrados das matrizes por  $F^2$  (SHELXL-97) [280] Todos os outros átomos, para além dos átomos de hidrogénio, foram refinados anisotropicamente.



**Figura A1.11** Difractómetro Bruker–Nonius Kappa Apex II CCD.

### **A1.10 Medidas de velocidade de dissolução intrínseca**

Na determinação da velocidade de dissolução intrínseca do co-cristal diflunisal+nicotinamida e do diflunisal, foi utilizado 70 mg das substâncias moídas, que foram comprimidas durante 30 s, sujeitos à uma pressão de 0,5 toneladas. Foi aplicado nos comprimidos obtidos com um diâmetro de 7,0 mm, uma camada fina de resina impermeável à água numa das faces e também lateralmente. Os estudos de dissolução intrínseca foram realizados utilizando o equipamento do tipo 2 da SOTAX, Figura A1.12, em conformidade com os requisitos da USP <711> [201], incluindo os referidos na monografia sobre a determinação da velocidade de dissolução dos comprimidos de diflunisal ( $T = 37$  °C, pH = 7,2, tampão Tris 0,1M, 50 rpm e meio de dissolução de 900 mL) [202].

## Anexo I

---

Seis réplicas são medidas simultaneamente no aparelho. As concentrações de diflunisal na solução, num período de tempo determinado, foram obtidas por medidas de absorvâncias a 306 nm, como recomendado na monografia para este API.



**Figura AI.12.** Equipamento do tipo 2 da SOTAX, utilizado na realização das experiências para determinação da velocidade de dissolução intrínseca.