

Ana Margarida Vaz Cortesão e Silva

Investigação da formação de cocristais de bexaroteno

Dissertação de Mestrado em Química Farmacêutica Industrial, orientada pelo Professor Doutor Ricardo António Esteves Cardoso e pela Professora Doutora Teresa Margarida Roseiro Maria Estronca e apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Setembro 2016



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Ana Margarida Vaz Cortesão e Silva

Investigação da formação de cocrystalis de bexaroteno

Dissertação de Mestrado em Química Farmacêutica Industrial, orientada pelo Professor Doutor Ricardo António Esteves Cardoso e pela Professora Doutora Teresa Margarida Roseiro Maria Estronca e apresentada à
Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Setembro 2016



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Agradecimentos

Agradeço ao Professor Doutor Ricardo António Esteves de Castro, meu orientador, por todo o conhecimento transmitido e tempo disponibilizado. O facto de ser uma pessoa extremamente dedicada e bem-disposta contribuiu, decididamente, para que este trabalho decorresse nas melhores condições. Para mim foi, sem dúvida, o orientador exemplar.

Agradeço à Professora Doutora Teresa Margarida Roseiro Estronca, minha coorientadora, pelo apoio e rigor sempre demonstrados.

Agradeço à Professora Doutora Ermelinda da Silva Eusébio e ao Professor Doutor João Carlos Canotilho Lage, por toda a colaboração, ensinamentos e simpatia.

Este grupo de trabalho pauta-se pelo profissionalismo, dedicação, amabilidade e pelo bom acolhimento, características que tornaram esta experiência muito mais gratificante.

Agradeço à Professora Doutora Manuela R. Silva do Centro de Estudos de Materiais por Difração de raios-X, do Departamento de Física da Universidade de Coimbra pelo estudo da caracterização por difração de raios-X de pó.

Agradeço aos colegas do grupo de investigação Ana Luísa, Eloisa, Liliana e Osvaldo pelos bons momentos passados.

A todos os que contribuíram para que este projeto fosse realizado, os meus mais sinceros agradecimentos.

Índice

Índice de figuras	iii
Índice de tabelas	xi
Resumo	xiii
Abstract	xv
Abreviaturas	xvii
1 Introdução	1
1.1 Objetivos.....	1
1.2 Características do estado sólido.....	1
1.2.1 Polimorfismo.....	3
1.2.2 Cocristais.....	6
1.3 Coformadores.....	11
1.4 Bexaroteno.....	15
2 Materiais e métodos	19
2.1 Materiais.....	19
2.2 Métodos.....	20
2.2.1 Cristalização em solvente.....	20
2.2.2 Mecanoquímica.....	20
2.2.3 Calorimetria diferencial de varrimento.....	21
2.2.4 Termomicroscopia com luz polarizada.....	22
2.2.5 Espectroscopia de Infravermelho.....	22
2.2.6 Difração de raios-X.....	22
2.2.6.1 Difração de raios-X de monocristal.....	22
2.2.6.2 Difração de raios-X de pó.....	23
3 Resultados	25
3.1 Bexaroteno.....	25
3.2 Screening de cocristais de bexaroteno.....	30
3.2.1 Sistema Bexaroteno + Ácido benzoico.....	30
3.2.2 Sistema Bexaroteno + Ácido tartárico.....	32
3.2.3 Sistema Bexaroteno + Cafeína.....	35
3.2.4 Sistema Bexaroteno + Pirazinamida.....	37
3.2.5 Sistema Bexaroteno + Isonicotinamida.....	40
3.2.6 Sistema Bexaroteno + Picolinamida.....	46
3.2.7 Sistema Bexaroteno + Nicotinamida.....	53
3.2.8 Considerações finais.....	61
3.3 Coformador + coformador.....	62

3.3.1	Sistema Nicotinamida + Picolinamida	62
3.3.2	Sistema Picolinamida + Isonicotinamida	65
3.3.3	Sistema Nicotinamida + Isonicotinamida	67
3.3.4	Considerações finais	73
3.4	Cocrystal + coformador	74
3.4.1	Sistema BEX:INA + PA.....	74
3.4.2	Sistema BEX:INA + NA	77
3.4.3	Sistema BEX:PA + INA.....	79
3.4.4	Sistema BEX:PA +NA.....	82
3.4.5	Sistema BEX:NA +PA.....	83
3.4.6	Sistema BEX:NA + INA	85
3.4.7	Sistema BEX+PA+INA	88
3.4.8	Sistema BEX+NA+INA	90
3.4.9	Considerações finais	93
4	Conclusão.....	95
5	Perspetivas futuras.....	97
6	Referências bibliográficas.....	99
7	Anexos.....	105
7.1	Anexo I.....	105
7.2	Anexo 2.....	106

Índice de figuras

Figura 1.1 – Ligações de hidrogénio típicas utilizadas em engenharia de cristais.....	8
Figura 1.2 – Estrutura molecular do bexaroteno.....	16
Figura 1.3 – Conformação da molécula obtida por difração de raios-X.....	16
Figura 3.1 – Curvas de DSC do bexaroteno: 1. aquecimento; 2. arrefecimento. $m = 1,38$ mg; $\beta = 10$ °C·min ⁻¹	25
Figura 3.2 – Curvas de DSC de aquecimento para o bexaroteno: a) cápsula fechada em atmosfera ambiente, $m = 1,05$ mg; b) cápsula fechada sob ambiente de azoto, $m = 1,28$ mg. Primeiro aquecimento (—); segundo aquecimento (—); terceiro aquecimento (---).	26
Figura 3.3 – Imagens obtidas por termomicroscopia com luz polarizada no aquecimento de uma amostra de bexaroteno comercial. $\beta = 10$ °C·min ⁻¹ , ampliação de 200x.....	27
Figura 3.4 – Espectros de FTIR-ATR de bexaroteno comercial: 1. amostra comercial; 2. amostra comercial com moagem.....	27
Figura 3.5 – Curvas de DSC registadas no aquecimento de amostras de bexaroteno cristalizado em solventes, nas condições descritas no texto; 1. tetra-hidrofurano; 2. acetona; 3. bexaroteno comercial; 4. acetato de etilo; 5. metanol; 6. propanol-1; 7. etanol. $\beta = 10$ °C·min ⁻¹	28
Figura 3.6 – Espectros de FTIR-ATR de: 1. bexaroteno; 2. ácido benzoico; 3. mistura de bexaroteno e ácido benzoico na proporção 1:1 obtida por moagem.....	30
Figura 3.7– Curvas de DSC de aquecimento para: 1. bexaroteno; 2. mistura de bexaroteno e ácido benzoico (1:1); 3. ácido benzoico. $\beta = 10$ °C·min ⁻¹	31
Figura 3.8 – Diagrama de fases sólido-líquido simulado para o sistema binário bexaroteno e ácido benzoico utilizando a equação de Schröder-van Laar: --- <i>solidus</i> ; – <i>liquidus</i> ; ■ T_{fus} , mistura eutética; ▲ $T_{liquidus}$	32
Figura 3.9 – Espectros FTIR-ATR de: 1. bexaroteno; 2. ácido tartárico; 3. mistura de bexaroteno e ácido tartárico na proporção 1:1 obtida por moagem.....	33
Figura 3.10 – Difrátogramas de raios-X de pó: 1. simulado para o bexaroteno; 2. experimental obtido da mistura de BEX:TA (1:1), *vaselina; 3. simulado para o ácido tartárico.....	33
Figura 3.11 – Curvas de DSC de aquecimento para: 1. bexaroteno; 2. mistura de bexaroteno e ácido tartárico (1:1), ensaio 1; 3. ácido tartárico; 4. mistura de bexaroteno e ácido tartárico (1:1), ensaio 2. $\beta = 10$ °C·min ⁻¹	34
Figura 3.12 – Espectros FTIR-ATR de: 1. bexaroteno; 2. cafeína; 3. mistura de bexaroteno e cafeína na proporção 1:1 obtida por moagem.....	35
Figura 3.13 – Curvas de DSC de aquecimento para: 1. bexaroteno; 2. mistura de bexaroteno e cafeína, na proporção 1:1; 3. cafeína. $\beta = 10$ °C·min ⁻¹	36
Figura 3.14 – Diagrama de fases sólido-líquido simulado para o sistema binário bexaroteno e cafeína utilizando a equação de Schröder-van Laar: --- <i>solidus</i> ; – <i>liquidus</i> ; ■ T_{fus} , mistura eutética; ▲ $T_{liquidus}$	36
Figura 3.15 – Curva de DSC de aquecimento da pirazinamida comercial, forma α , obtida por moagem; $m = 1,31$ mg; $\beta = 10$ °C·min ⁻¹	37

Figura 3.16 – Espectros de FTIR-ATR da amostra comercial de pirazinamida: 1. sem moagem; 2. com moagem.....	38
Figura 3.17 – Curvas de DSC de aquecimento para: 1. bexaroteno; 2. mistura de bexaroteno e pirazinamida na proporção de 1:1; 3. pirazinamida. $\beta = 10\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$	38
Figura 3.18 – Diagrama de fases sólido-líquido simulado para o sistema binário bexaroteno e pirazinamida utilizando a equação de Schröder-van Laar: --- <i>solidus</i> ; – <i>liquidus</i> ; ■ T_{fus} , mistura eutética; ▲ $T_{liquidus}$	39
Figura 3.19 – Espectros FTIR-ATR de: 1. bexaroteno; 2. pirazinamida; 3. mistura de bexaroteno e pirazinamida na proporção 1:1 obtida por moagem.	39
Figura 3.20 – Curvas de DSC de aquecimento para: 1. bexaroteno; 2. mistura de bexaroteno e isonicotinamida na proporção de 1:1; 3. isonicotinamida forma I. $\beta = 10\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$	40
Figura 3.21 – Espectros FTIR-ATR de: 1. bexaroteno; 2. Isonicotinamida, forma II; 3. mistura de bexaroteno e isonicotinamida na proporção 1:1 obtida por moagem.....	41
Figura 3.22 – Difrátogramas de raios-X de pó: 1. simulado para o bexaroteno; 2. experimental obtido da mistura de BEX:INA (1:1); 3. simulado para a isonicotinamida, forma II.	42
Figura 3.23 – Curvas de DSC da mistura de bexaroteno e isonicotinamida na proporção 1:1 obtida por moagem: 1. primeiro aquecimento; 2. primeiro arrefecimento; 3. segundo aquecimento; 4. segundo arrefecimento; $m = 1,36\text{ mg}$; $\beta = 10\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$	42
Figura 3.24 – Imagens de cristais de bexaroteno:isonicotinamida obtidos em solução de etanol, registadas por termomicroscopia com luz polarizada à temperatura ambiente.....	44
Figura 3.25 – Imagens de PLTM recolhidas no aquecimento de BEX:INA (1:1) obtidos em solução de etanol a $2\text{ }^{\circ}\text{C}$; $\beta = 10\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$; ampliação 200x.	44
Figura 3.26 – Diagrama ORTEP do cocrystal BEX:INA. Os elipsoides são desenhados a um nível de probabilidade de 50%.	45
Figura 3.27 – Rede de ligações de hidrogénio de BEX:INA. As ligações de hidrogénio são desenhadas com linhas a tracejado.	45
Figura 3.28 – Difrátogramas de raios-X para a mistura de BEX:INA (1:1): 1. simulado a partir do ficheiro CIF obtido por difração de raios-X de monocristal; 2. Experimental obtido por difração de raios-X de pó.	46
Figura 3.29 – Espectros FTIR-ATR de: 1. bexaroteno; 2. picolinamida, I; 3. picolinamida, II; 4. primeira moagem da mistura de bexaroteno e picolinamida na proporção 1:1; 5. segunda moagem da mistura de bexaroteno e picolinamida na proporção 1:1.....	47
Figura 3.30 – Curvas de DSC de aquecimento para: 1. bexaroteno; 2. segunda moagem da mistura de bexaroteno e picolinamida na proporção de 1:1; 3. picolinamida, II. $\beta = 10\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$	47
Figura 3.31 – Espectros FTIR-ATR de: 1. bexaroteno; 2. picolinamida, forma II; 3. mistura de bexaroteno e picolinamida na proporção 1:1 obtida por moagem (90 min).....	48
Figura 3.32 – Difrátogramas de raios-X de pó: 1. simulado para o bexaroteno; 2. experimental obtido da moagem da mistura de bexaroteno + picolinamida na proporção 1:1; 3. simulado para o polimorfo I da picolinamida; 4. simulado para o polimorfo II da picolinamida;.....	49
Figura 3.33 – Curvas de DSC de aquecimento para: 1. bexaroteno; 2. mistura de bexaroteno e picolinamida na proporção de 1:1 obtida por moagem (15 Hz, 5 μL de etanol, 90 min); 3. picolinamida, forma II. $\beta = 10\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$	49

Figura 3.34 – Imagens de PLTM recolhidas no aquecimento da mistura de bexaroteno e picolinamida na proporção 1:1 obtida por moagem (90 min); $\beta = 20 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$; ampliação 200x.....	50
Figura 3.35 – Curvas de DSC da mistura de bexaroteno e picolinamida na proporção de 1:1 para: 1. primeiro aquecimento; 2. segundo aquecimento; 3. terceiro aquecimento; 4. primeiro arrefecimento; 5. segundo arrefecimento; 6. terceiro arrefecimento. $m = 1,48 \text{ mg}$; $\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$	51
Figura 3.36 – Espetros FTIR-ATR de: 1. bexaroteno; 2. picolinamida, forma I; 3. picolinamida, forma II; 4. $x_{\text{Bex}} = 0,33$; 5. $x_{\text{Bex}} = 0,50$; 6. $x_{\text{Bex}} = 0,67$	52
Figura 3.37 – Curvas de DSC para o sistema BEX:PA. 1. Picolinamida II, $x_{\text{BEX}} = 0$; 2. $x_{\text{BEX}} = 0,33$; 3. $x_{\text{BEX}} = 0,50$; 4. $x_{\text{BEX}} = 0,67$; 5. Bexaroteno, $x_{\text{BEX}} = 1$. a) Primeiro aquecimento; b) Segundo aquecimento. $\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$	52
Figura 3.38 – Diagrama de fases sólido-líquido simulado para o sistema binário bexaroteno e picolinamida utilizando a equação de Schröder-van Laar: --- <i>solidus</i> ; – <i>liquidus</i> ; ■ T_{fus} , mistura eutética; ▲ T_{liquidus} . a) primeiro aquecimento; b) segundo aquecimento.....	53
Figura 3.39 – Espetros FTIR-ATR de: 1. bexaroteno; 2. nicotinamida, forma I; 3. mistura de bexaroteno e nicotinamida na proporção 1:1 obtida por moagem.....	54
Figura 3.40 – Curvas de DSC: a) 1. bexaroteno; 2. primeiro aquecimento da mistura de bexaroteno e nicotinamida na proporção de 1:1 obtida por moagem durante 30 min; 3. segundo aquecimento da mistura de bexaroteno e nicotinamida na proporção de 1:1 obtida por moagem durante 30 min; 4. nicotinamida, forma I. b) mistura de bexaroteno e nicotinamida na proporção de 1:1 obtida por moagem durante 60 min: 1. primeiro aquecimento; 2. primeiro arrefecimento; 3. segundo aquecimento; 4. segundo arrefecimento; 5. terceiro aquecimento; 6. terceiro arrefecimento. $m = 1,54 \text{ mg}$; $\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$. c) mistura de bexaroteno e nicotinamida na proporção de 1:1 obtida por moagem durante 90 min: 1. primeiro aquecimento; 2. segundo aquecimento; 3. primeiro arrefecimento; 4. segundo arrefecimento. $m = 1,58 \text{ mg}$; $\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$	55
Figura 3.41 – Diagrama de fases sólido-líquido simulado para o sistema binário bexaroteno e nicotinamida utilizando a equação de Schröder-van Laar: --- <i>solidus</i> ; – <i>liquidus</i> ; ■ T_{fus} , mistura eutética; ▲ T_{liquidus}	56
Figura 3.42 – Espetros FTIR-ATR da mistura de bexaroteno e nicotinamida na proporção 1:1: 1. após moagem; 2. arrefecimento do fundido.....	57
Figura 3.43 – Difrátogramas de raios-X de pó: 1. simulado para o bexaroteno; 2. experimental obtido da mistura de bexaroteno + nicotinamida na proporção 1:1 após arrefecimento do fundido; 3. simulado para a nicotinamida, forma I.....	58
Figura 3.44 – Imagens de PLTM recolhidas no aquecimento do sólido obtido por cristalização do fundido da mistura moída de bexaroteno e nicotinamida na proporção 1:1; ampliação 200x. a) $\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$; b) $\beta = 20 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$	59
Figura 3.45 – Curvas de DSC para diferentes misturas para o sistema BEX+NA. A fração molar de bexaroteno em cada mistura está indicada no final da curva de DSC respetiva. a) primeiro aquecimento; b) segundo aquecimento.....	60
Figura 3.46 – Diagrama de fases sólido-líquido simulado para o sistema binário bexaroteno e nicotinamida utilizando a equação de Schröder-van Laar: --- <i>solidus</i> ; – <i>liquidus</i> ; ■ T_{fus} , mistura eutética; ▲ T_{liquidus} . a) Primeiro aquecimento; b) Segundo aquecimento.....	60
Figura 3.47 – Espetros FTIR-ATR de: 1. nicotinamida, forma I; 2. picolinamida, forma I; 3. picolinamida, forma II; 4. mistura de nicotinamida e picolinamida na proporção 1:1 obtida por moagem (90 min, 5 μL de etanol, 15 Hz).....	63

Figura 3.48 – Curvas de DSC de aquecimento para: 1. nicotinamida, forma I; 2. mistura de nicotinamida e picolinamida na proporção 1:1 (90 min, 5 μ L de etanol, 15 Hz); 3. picolinamida, forma II. $\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$.	63
Figura 3.49 – Diagrama de fases sólido-líquido simulado para o sistema binário nicotinamida e picolinamida utilizando a equação de Schröder-van Laar: --- <i>solidus</i> ; – <i>liquidus</i> ; ■ T_{fus} , mistura eutética; ▲ T_{liquidus} .	64
Figura 3.50 – Espetros FTIR-ATR de: 1. picolinamida, forma II; 2. isonicotinamida, forma I I; 3. mistura de isonicotinamida e picolinamida na proporção 1:1 obtida por moagem (90 min, 5 μ L de etanol, 15 Hz).	65
Figura 3.51 – Curvas de DSC de aquecimento para: 1. picolinamida, forma II; 2. mistura de picolinamida e isonicotinamida na proporção 1:1 moagem (90 min, 5 μ L de etanol, 15 Hz); 3. isonicotinamida, forma I. $\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$.	66
Figura 3.52 – Diagrama de fases sólido-líquido simulado para o sistema binário picolinamida e isonicotinamida utilizando a equação de Schröder-van Laar: --- <i>solidus</i> ; – <i>liquidus</i> ; ■ T_{fus} , mistura eutética; ▲ T_{liquidus} .	66
Figura 3.53 – Espetros FTIR-ATR de: 1. nicotinamida, forma I; 2. isonicotinamida, forma II; 3. mistura de nicotinamida e isonicotinamida na proporção 1:1 obtida por moagem (90 min, 5 μ L de etanol, 15 Hz).	67
Figura 3.54 – Curvas de DSC de aquecimento para: 1. isonicotinamida, forma I; 2. mistura de nicotinamida e isonicotinamida na proporção 1:1 obtida por moagem (90 min, 5 μ L de etanol, 15 Hz); 3. nicotinamida, forma I. $\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$.	67
Figura 3.55 – Espetros FTIR-ATR de: 1. isonicotinamida, forma II; 2. $x_{\text{NA}} = 0,33$; 3. cocristal NA:INA (1:1) $x_{\text{NA}} = 0,50$; 4. $x_{\text{NA}} = 0,67$. 5. nicotinamida, forma I.	68
Figura 3.56 – Curvas de DSC de aquecimento para o sistema NA+INA: 1. Isonicotinamida, forma I, $x_{\text{NA}} = 0$; 2. $x_{\text{NA}} = 0,33$; 3. cocristal NA:INA (1:1), $x_{\text{NA}} = 0,50$; 4. $x_{\text{NA}} = 0,67$; 5. nicotinamida, forma I, $x_{\text{NA}} = 1,0$. $\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$.	69
Figura 3.57 – Diagrama de fases sólido-líquido simulado para o sistema binário nicotinamida e isonicotinamida: --- <i>solidus</i> ; – <i>liquidus</i> ; ■ T_{fus} mistura eutética; ▲ T_{liquidus} .	69
Figura 3.58 – Curvas de DSC da mistura de nicotinamida e isonicotinamida na proporção de 1:1 obtida por moagem: 1. primeiro aquecimento; 2. segundo aquecimento; 3. primeiro arrefecimento; 4. segundo arrefecimento. $m = 1,55 \text{ mg}$; $\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$.	70
Figura 3.59 – Imagens de PLTM recolhidas no aquecimento da mistura de nicotinamida e isonicotinamida (NA+INA) na proporção 1:1 obtida por cristalização em acetato de etilo; $\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$; ampliação 200x.	72
Figura 3.60 – Espetros FTIR-ATR da mistura de nicotinamida e isonicotinamida na proporção 1:1 obtida após: 1. moagem (90 min, 5 μ L de etanol, 15 Hz); 2. cristalização em acetato de etilo (NA+INA); 3. arrefecimento do fundido (moagem).	73
Figura 3.61 – Espetros FTIR-ATR de: 1. picolinamida, II; 2. cocristal de BEX:INA; 3. mistura de BEX:INA + PA (1:1) obtida por moagem.	75
Figura 3.62 – Difractogramas de raios-X de pó: 1. simulado para o bexaroteno; 2. experimental obtido da mistura de BEX:INA; 3. experimental obtido da mistura de BEX:INA+PA; 4. simulado para a picolinamida, II.	75

Figura 3.63 – Curvas de DSC de aquecimento para: 1. bexaroteno; 2. picolinamida, II; 3. cocrystal BEX:PA; 4. isonicotinamida, forma I; 5. mistura de BEX:INA+PA após moagem; 6. cocrystal BEX:INA na proporção 1:1. $\beta = 10\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$	76
Figura 3.64 – Diagrama de fases sólido-líquido simulado para o sistema binário BEX:INA e picolinamida forma II utilizando a equação de Schröder-van Laar: --- <i>solidus</i> ; – <i>liquidus</i> ; ■ T_{fus} , mistura eutética; ▲ $T_{liquidus}$	76
Figura 3.65 – Espetros FTIR-ATR de: 1. nicotinamida, I; 2. cocrystal de BEX:INA (1:1); 3. mistura de BEX:INA+NA (1:1) após a moagem.	77
Figura 3.66 – Difractogramas de raios-X de pó: 1. simulado para o bexaroteno; 2. experimental obtido da mistura de BEX:INA+ NA; 3. experimental obtido da mistura de BEX:INA; 4. simulado para a nicotinamida, I.	78
Figura 3.67 – Curvas de DSC de aquecimento para: 1. bexaroteno; 2. nicotinamida, I; 3. cocrystal BEX:NA; 4. isonicotinamida, I; 5. mistura de BEX:INA+NA após moagem; 6. cocrystal BEX:INA na proporção 1:1. $\beta = 10\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$	78
Figura 3.68 – Diagrama de fases sólido-líquido simulado para o sistema binário BEX:INA e nicotinamida utilizando a equação de Schröder-van Laar: --- <i>solidus</i> ; – <i>liquidus</i> ; ■ T_{fus} , mistura eutética; ▲ $T_{liquidus}$	79
Figura 3.69 – Espetros FTIR-ATR de: 1. bexaroteno; 2. picolinamida forma II; 3. isonicotinamida, II; 4. cocrystal de BEX:INA na proporção 1:1; 5. cocrystal BEX:PA; 6. mistura de BEX:PA+INA (1:1) após a moagem.	80
Figura 3.70 – Difractogramas de raios-X de pó: 1. simulado para o bexaroteno; 2. experimental obtido da mistura de BEX:PA+INA após moagem; 3. experimental obtido da mistura de BEX:INA após moagem; 4. experimental obtido da mistura BEX:PA após moagem; 4. simulado para a picolinamida II.....	80
Figura 3.71 – Curvas de DSC de aquecimento para: 1. bexaroteno; 2. mistura de BEX:PA na proporção 1:1 após moagem; 3. picolinamida, forma II; 4. mistura de BEX:PA+INA após moagem; 5. isonicotinamida, I; 6. cocrystal BEX:INA na proporção 1:1. $\beta = 10\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$	81
Figura 3.72 – Diagrama de fases sólido-líquido simulado para o sistema binário BEX:INA e picolinamida utilizando a equação de Schröder-van Laar: --- <i>solidus</i> ; – <i>liquidus</i> ; ■ T_{fus} , mistura eutética; ▲ $T_{liquidus}$	81
Figura 3.73 – Espetros FTIR-ATR de: 1. bexaroteno; 2. picolinamida forma II; 3. nicotinamida forma I; 4. cocrystal de BEX:PA; 5. cocrystal de BEX:NA; 6. mistura de BEX:PA+NA (1:1) após a moagem.	82
Figura 3.74 – Curvas de DSC de aquecimento para: 1. bexaroteno; 2. cocrystal BEX:NA; 3. nicotinamida, forma I; 4. cocrystal BEX:PA; 5. picolinamida, forma II; 6. mistura de BEX:PA+NA na proporção 1:1. $\beta = 10\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$	83
Figura 3.75 – Espetros FTIR-ATR de: 1. bexaroteno; 2. picolinamida, forma II; 3. nicotinamida, forma I; 4. cocrystal de Bex:PA; 5. cocrystal de BEX:NA; 6. mistura de BEX:NA+PA (1:1) após a moagem.	84
Figura 3.76 – Curvas de DSC de aquecimento para: 1. bexaroteno; 2. cocrystal de BEX:NA; 3. nicotinamida, forma I; 4. cocrystal de BEX:PA; 5. picolinamida, forma II; 6. mistura de BEX:NA+PA na proporção 1:1. $\beta = 10\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$	84
Figura 3.77 – Espetros FTIR-ATR de: 1. bexaroteno; 2. isonicotinamida, forma II; 3. nicotinamida, forma I; 4. cocrystal de BEX:INA na proporção 1:1; 5. cocrystal de BEX:NA; 6. mistura de BEX:NA+INA (1:1) após a moagem.	86

Figura 3.78 – Difractogramas de raios-X de pó: 1. simulado para o bexaroteno; 2. simulado para a nicotinamida I; 3. experimental obtido da mistura de BEX:INA; 4. experimental obtido da mistura de BEX:NA; 5. experimental obtido da mistura de BEX:NA+INA.	86
Figura 3.79 – Curvas de DSC de aquecimento para: 1. bexaroteno; 2. cocrystal de BEX:NA; 3. nicotinamida, forma I; 4. isonicotinamida, forma I; 5. mistura de BEX:NA+INA após moagem; 6. cocrystal BEX:INA na proporção 1:1. $\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$	87
Figura 3.80 – Diagrama de fases sólido-líquido simulado para o sistema binário BEX:INA e nicotinamida utilizando a equação de Schröder-van Laar: --- <i>solidus</i> ; – <i>liquidus</i> ; ■ T_{fus} , mistura eutética; ▲ T_{liquidus}	87
Figura 3.81 – Espectros FTIR-ATR de: 1. bexaroteno; 2. isonicotinamida, forma II; 3. picolinamida, forma II; 4. cocrystal de BEX:INA na proporção 1:1; 5. cocrystal de BEX:PA; 6. mistura de BEX+PA+INA (1:1:1) após a moagem.	88
Figura 3.82 – Difractogramas de raios-X de pó: 1. simulado para o bexaroteno; 2. simulado para a picolinamida II; 3. experimental obtido da mistura de BEX:PA; 4. experimental obtido da mistura de BEX:INA; 5. experimental obtido da mistura de BEX+PA+INA.	89
Figura 3.83 – Curvas de DSC de aquecimento para: 1. bexaroteno; 2. mistura de Bex:PA; 3. mistura de Bex+PA+INA após moagem; 4. isonicotinamida, forma I; 5. picolinamida, forma II; 6. cocrystal Bex:INA na proporção 1:1. $\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$	89
Figura 3.84 – Diagrama de fases sólido-líquido simulado para o sistema binário BEX:INA e picolinamida II utilizando a equação de Schröder-van Laar: --- <i>solidus</i> ; – <i>liquidus</i> ; ■ T_{fus} , mistura eutética; ▲ T_{liquidus}	90
Figura 3.85 – Espectros FTIR-ATR de: 1. bexaroteno; 2. isonicotinamida, forma II; 3. nicotinamida, forma I; 4. cocrystal de BEX:INA na proporção 1:1; 5. cocrystal de BEX:NA; 6. cocrystal de NA:INA na proporção 1:1; 7. mistura de BEX+NA+INA (1:1:1) após a moagem.	91
Figura 3.86 – Curvas de DSC de aquecimento para: 1. bexaroteno; 2. cocrystal de BEX:NA; 3. nicotinamida, forma I; 4. isonicotinamida, forma I; 5. mistura de BEX+NA+INA após moagem; 6. cocrystal BEX:INA na proporção 1:1. $\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$	91
Figura 3.87 – Diagrama de fases sólido-líquido simulado para o sistema binário BEX:INA e nicotinamida utilizando a equação de Schröder-van Laar: --- <i>solidus</i> ; – <i>liquidus</i> ; ■ T_{fus} , mistura eutética; ▲ T_{liquidus}	92
Figura 3.88 – Curvas de DSC da mistura de bexaroteno, nicotinamida e isonicotinamida na proporção de 1:1:1 para: 1. primeiro aquecimento; 2. segundo aquecimento. $m = 1,14 \text{ mg}$, $\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$	93
Figura 3.89 – Espectros FTIR-ATR da mistura de bexaroteno, nicotinamida I e isonicotinamida II na proporção 1:1: 1. após moagem; 2. após cristalização do fundido.	93
Figura 7.1 – Curvas de DSC para o aquecimento de bexaroteno: 1. sem moagem; 2. com moagem.	105
Figura 7.2 – Curvas de DSC para o bexaroteno após moagem para diferentes ciclos de aquecimento/arrefecimento: 1. primeiro aquecimento; 2. segundo arrefecimento; 3. segundo aquecimento; 4. primeiro arrefecimento; 5. terceiro aquecimento; $m = 1,97 \text{ mg}$, $\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$	105
Figura 7.3 – Espectros de FTIR-ATR do bexaroteno obtido em diferentes solventes por cristalização: 1. bexaroteno comercial; 2. tetra-hidrofurano; 3. propanol-1; 4. acetato de etilo; 5. acetona; 6. etanol; 7. metanol.	106

Figura 7.4 – Espectros de FTIR-ATR dos sólidos obtidos em diferentes solventes por cristalização (sistema nicotinamida + isonicotinamida na proporção 1:1): 1. após moagem; 2. etanol (NA+INA); 3. acetato de etilo; 4. Etanol (NA+INA) ; 5. tetra-hidrofurano.....	106
Figura 7.5 – Imagens de PLTM recolhidas no aquecimento da mistura de nicotinamida e isonicotinamida na proporção 1:1 obtida por cristalização em acetato de etilo; $\beta = 10\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$; ampliação 200x.....	107
Figura 7.6 – Imagens de PLTM recolhidas no aquecimento da mistura após moagem de nicotinamida e isonicotinamida (NA:INA) na proporção 1:1 obtida por cristalização em acetato de etilo; $\beta = 10\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$; ampliação 200x.....	108
Figura 7.7 – Imagens de PLTM recolhidas no aquecimento da mistura após moagem de nicotinamida e isonicotinamida na proporção 1:1 obtida por cristalização em tetra-hidrofurano. $\beta = 10\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$; ampliação 200x.....	108

Índice de tabelas

Tabela 1.1 – Sínteses supramoleculares possíveis na formação de cocrystal.....	12
Tabela 2.1 – Origem dos compostos e informações do fornecedor.	19
Tabela 2.2 – Origem e grau de pureza dos solventes utilizados.....	19
Tabela 2.3 – Condições utilizadas nas diferentes cristalizações.....	20
Tabela 2.4 – Condições experimentais dos ensaios de mecanoquímica.....	21
Tabela 3.1 – Temperatura de fusão e variação de entalpia de fusão obtidas para os vários aquecimentos por DSC do bexaroteno referentes às curvas da figura 3.2 a) e b).....	26
Tabela 3.2 – Imagens e hábito cristalino dos cristais de bexaroteno obtidos nos diferentes solventes utilizados (luz polarizada, ampliação 200x) e parâmetros termodinâmicos da fusão.....	29
Tabela 3.3 – Parâmetros geométricos das ligações de hidrogénio existentes na estrutura cristalina do cocrystal BEX:INA.....	46
Tabela 3.4 – Parâmetros termodinâmicos de transição de fase observados por DSC para o BEX, coformadores e cocristais.	62
Tabela 3.5 – Parâmetros termodinâmicos das curvas de DSC do primeiro e segundo aquecimento de NA:INA (1:1).....	70
Tabela 3.6 – Imagens e hábito cristalino dos cristais de nicotinamida e isonicotinamida obtidos em diferentes solventes (luz polarizada, ampliação 200x).....	71
Tabela 3.7 – Parâmetros termodinâmicos de transição de fase observados por DSC para a nicotinamida e isonicotinamida e cocrystal (NA:INA).....	74
Tabela 3.8 – Resumo dos resultados obtidos por mecanoquímica.....	94

Resumo

O bexaroteno é um composto indicado para o tratamento do linfoma cutâneo das células T (CTCL-*cutaneous T-cell lymphoma*). Pertence à classe II do Sistema de Classificação Biofarmacêutica, isto é, baixa solubilidade aquosa e elevada permeabilidade membranar. No sentido de otimizar as suas propriedades físico-químicas foi feita a pesquisa de cocristais.

Tendo como base a engenharia de cristais foram escolhidos coformadores com grupos funcionais complementares ao do API, nomeadamente as carboxamidas, picolinamida (PA), nicotinamida (NA), isonicotinamida (INA) e pirazinamida (PZA), e a cafeína (CAF), o ácido benzoico (BA) e o ácido tartárico (TA). Todos estes coformadores têm grupos capazes de estabelecer ligações de hidrogénio com o bexaroteno, que apresenta o ácido carboxílico como grupo funcional, possibilitando a formação de diferentes sintões supramoleculares, característicos dos cocristais.

No *screening* de cocristais foram preparadas misturas binárias de diferente composição por mecanoquímica, com assistência de solvente, e analisadas por calorimetria diferencial de varrimento, DSC, com posterior construção dos diagramas de fase binários sólido-líquido simulados, que se mostraram bastante úteis para a identificação da formação de cocristais ou misturas eutéticas.

Os sólidos obtidos foram caracterizados no que diz respeito à estabilidade termodinâmica e transições de fase, usando calorimetria diferencial de varrimento, termomicroscopia de luz polarizada, espectroscopia de infravermelho e difração de raios-X.

Foram sintetizados cocristais entre o bexaroteno e os coformadores ácido tartárico e as três piridinacarboxamidas. Os cocristais de BEX:INA foram obtidos por cristalização a partir de etanol, tendo sido a sua estrutura cristalina resolvida por difração de raios-X de monocristal. Por espectroscopia de infravermelho foi feita a identificação do heterossintão ácido...N_{piridínico} para os três cocristais com as piridinacarboxamidas.

O processo de mistura por mecanoquímica, com assistência de solvente, para os outros coformadores resultou em misturas eutéticas, nas condições experimentais utilizadas.

O polimorfismo do bexaroteno foi também investigado, não tendo sido observadas novas formas sólidas.

Relativamente à associação entre os coformadores piridinacarboxamidas com o bexaroteno conclui-se que o sistema mais estável é o BEX:INA.

A partir do estudo da interação entre os coformadores piridinacarboxamidas, obteve-se o cocrystal NA:INA (1:1), que apresenta polimorfismo.

Palavras-chave: Bexaroteno, cocrystal farmacêutico, piridinacarboxamidas, ácido tartárico, diagrama de fases binário sólido-líquido, sínteses supramoleculares.

Abstract

Bexarotene is a compound used for treatment of cutaneous T-cell lymphoma (CTCL). It belongs to class II of the Biopharmaceutical Classification System, the drugs of this class have low water solubility and high membrane permeability. A cocrystal research was done in order to improve its physical and chemical properties.

Based on the engineering crystals were chosen conformers with complementary functional groups to the API, including carboxamides, picolinamide (PA), nicotinamide (NA), isonicotinamide (INA), pirazinamide (PZA), and caffeine (CAF), benzoic acid (BA) and tartaric acid (TA). All these cofomers have groups capable of establishing hydrogen bonds with bexarotene, which has the carboxylic acid as a functional group, allowing the formation of different supramolecular synthons characteristic of cocrystals.

In screening cocrystals were prepared binary mixtures of different composition by mechanochemical with solvent assistance, and analyzed by differential scanning calorimetry, DSC, with subsequent construction of the binary solid-liquid phase diagrams, which have proven very useful for the identification of formation of cocrystals or eutectic mixtures.

The solids obtained were characterized with respect to thermodynamic stability and phase transitions using differential scanning calorimetry, polarized light thermomicroscopy, infrared spectroscopy and X-ray powder diffraction.

Cocrystals were synthesized between bexarotene and the cofomers tartaric acid and the three pyridinecarboxamides. The BEX:INA cocrystals were obtained by crystallization from the ethanol and the crystalline structure of this cocrystal have been solved by single-crystal X-ray diffraction. The infrared spectroscopy enabled the identification of the acid-N-pyridine heterosynthon in the three cocrystals with the pyridinecarboxamides.

The mixing process by mechanochemistry, with liquid-assisted solvent, to the other cofomers resulted in eutectic mixtures, under experiential conditions used.

The polymorphism of the bexarotene was also investigated but new solid forms were not observed.

Relative to the association between the pyridinecarboxamides with bexarotene it conclude that the most stable system is BEX:INA.

From the study of interaction between the conformers pyridinecarboxamides, cocrystal NA:INA (1:1) was obtained, which exhibits polymorphism.

Keywords: Bexarotene, pharmaceutical cocrystals, pyridinecarboxamides, tartaric acid, binary solid-liquid phase diagram, supramolecular synthons.

Abreviaturas

API	Do inglês <i>Active Pharmaceutical Ingredient</i>
Aq	Aquecimento
BA	Do inglês <i>benzoic acid</i>
BCS	Do inglês <i>Biopharmaceutical Classification System</i>
BEX	Bexaroteno
CAF	Cafeína
CCDC	Do inglês <i>Cambridge Crystallographic Data Centre</i>
CIF	Do inglês <i>Crystallographic Information File</i>
CSD	Do inglês <i>Cambridge Structural Database</i>
DSC	Do inglês <i>Differential scanning calorimetry</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>
FTIR-ATR	Do inglês <i>Fourier Transform Infra Red Attenuated Total Reflectance</i>
GRAS	Do inglês <i>Generally Recognized as Safe</i>
INA	Isonicotinamida
IV	Infravermelho
LAG	Do inglês <i>Liquid Assisted Grinding</i>
NA	Nicotinamida
NAS	Do inglês <i>New Active Substance</i>
ORTEP	Do inglês <i>Oak Ridge Thermal Ellipsoid Plot Program</i>
PA	Picolinamida
PLTM	Do inglês <i>Polarized Light Thermal Microscopy</i>
PZA	Pirazinamida
RTVMS	Do inglês <i>Real Time Video Measurement System</i>
TA	Do inglês <i>tartaric acid</i>
XRPD	Do inglês <i>X-Ray Powder Difraccion</i>

I Introdução

I.1 Objetivos

O objetivo principal desta dissertação de mestrado foi realizar o *screening* de cocrystalis do bexaroteno com coformadores seguros para o consumo humano, tendo em vista a melhoria das propriedades físico-químicas do bexaroteno. Pretendeu-se também avaliar a influência da posição e número de átomos de azotos piridínicos na formação de heterossintões.

Para caracterizar os cocrystalis sintetizados por mecanoquímica foram usados os métodos de espectroscopia de infravermelho, calorimetria diferencial de varrimento, termomicroscopia de luz polarizada e difração de raios-X.

I.2 Características do estado sólido

As propriedades de um material sólido não dependem apenas da identidade dos seus constituintes, mas também da sua organização. [1] Como tal, os sólidos podem ser divididos em sólidos amorfos ou sólidos cristalinos.

Os sólidos amorfos apresentam ordem de curto alcance. [2] Já, os sólidos cristalinos apresentam uma estrutura bem definida em que as suas unidades constituintes ocupam posições específicas, apresentando uma periodicidade de longo alcance. [1]

Assim sendo, num sólido cristalino há uma unidade estrutural básica que se repete, a célula unitária, a menor subcomponente de uma estrutura cristalina, ou seja, a menor unidade de organização. As células unitárias são repetidas regularmente e indefinidamente em três dimensões no espaço, [3] sendo conhecidos sete tipos de células unitárias: cúbico simples, tetragonal, ortorrômbico, romboédrico, monoclinico, triclinico e hexagonal [4].

As forças responsáveis pela estabilidade de um cristal podem ser iónicas, ligações covalentes, forças de van der Waals, ligações de hidrogénio ou uma combinação destas forças, dependendo das unidades estruturais. [5]

Os sólidos cristalinos são caracterizados por apresentar uma determinada morfologia, o hábito cristalino. Este é influenciado pelas condições de cristalização, em que diferentes hábitos cristalinos podem ser produzidos quando o ambiente de um cristal em crescimento afeta a sua forma exterior, sem mudar a sua estrutura interna. [6] O hábito cristalino desempenha um papel importante nas características de empacotamento, de fluidez, de dissolução, compressão, e sedimentação. [6]

Quando o arranjo periódico e repetido for perfeito ou se estender através de toda a amostra sem interrupção, o resultado é um monocristal. Por outro lado, as amostras policristalinas são formadas por uma infinidade de cristais, denominados cristalitos, com orientações e dimensões aleatórias, fortemente unidos entre si, que preenchem todo o volume do sólido.

Quando é possível obter um monocristal com as características exigidas para análise por difração de raios-X de monocristal, a distribuição eletrônica na célula unitária de um sólido cristalino pode ser conhecida, permitindo estabelecer modelos consistentes em relação aos comprimentos de ligação, aos ângulos e às posições dos átomos no cristal.

Além disso, a difração de raios-X de pó, XRPD (*X-Ray Powder Diffraction*), fornece informações sobre a estrutura do material, se ele exibe ordem de longo alcance, como nos materiais cristalinos, ou ordem de curto alcance como nos materiais amorfos. Estas diferenças na periodicidade resultam numa diferença substancial nas propriedades físicas e químicas dos cristais e dos sólidos amorfos.

Na indústria farmacêutica, os sólidos cristalinos são preferidos relativamente aos sólidos amorfos na formulação de medicamentos, porque estes apresentam uma maior estabilidade física e química, apesar de apresentarem uma menor solubilidade e menor velocidade de dissolução. [7, 8] Além disso, os sólidos amorfos apresentam uma certa tendência para cristalizarem e degradarem. [2]

Deste modo, a forma sólida preferencial é geralmente a forma cristalina termodinamicamente estável do composto, devido à sua relativa facilidade de isolamento, à separação de impurezas inerentes ao processo de cristalização e à estabilidade físico-química. Os problemas que surgem com o uso do material cristalino são geralmente relacionadas com fracas propriedades de solubilidade e a existência de mais do que uma forma cristalina de um API, *Active Pharmaceutical Ingredient*. [9]

Um API é definido pela Agência Reguladora de Alimentos e Medicamentos dos Estados Unidos (FDA, *Food Drug Administration*) como “qualquer substância ou mistura de substâncias destinada a ser usada na produção de um medicamento e que se torna um ingrediente ativo, em relação ao medicamento. Tais substâncias destinam-se a proporcionar uma atividade farmacológica ou outro efeito direto no diagnóstico, cura, mitigação, tratamento ou prevenção de doenças ou para afetar a estrutura ou qualquer outra função do corpo humano.” [10]

Deve notar-se que os sólidos amorfos também foram selecionados para utilização em medicamentos, mas a necessidade de satisfazer as especificações em termos de estabilidade

termodinâmica, pureza e meios de processamento, a forma cristalina do fármaco é geralmente preferida. [11]

1.2.1 Polimorfismo

Em 1822, o químico alemão Eilhard Mitscherlich cria o termo polimorfismo, no contexto da cristalografia, na descoberta de diferentes estruturas cristalinas para o mesmo composto numa série de sais de fosfatos e arsénio. [12] Mas a primeira definição de polimorfismo aparece em 1965, proposta por McCrone, como sendo “uma fase sólida cristalina de um determinado composto resultante da possibilidade de existirem dois ou mais arranjos diferentes de moléculas desse composto no estado sólido”. [9, 12, 13] Em 1937, Buerger apresenta uma definição mais alargada em que define polimorfismo como sendo diferentes formas do mesmo composto que apresentam propriedades físicas e químicas distintas. [14] Mais recentemente distingue-se ainda entre polimorfismo de empacotamento ou orientacional e/ou polimorfismo conformacional na rede cristalina. [4, 12, 15]

Deste modo, os polimorfos têm a mesma composição química, estruturas de rede diferentes e/ou diferentes conformações moleculares. [3, 8, 12]

Pelo menos um em dois compostos, quando examinados para a deteção de polimorfos, exhibe polimorfismo, [16] sendo que a sua caracterização pode fazer-se através de técnicas como a análise térmica, a difração de raios-X, a espectroscopia de infravermelho, entre outras. [2, 17]

A capacidade de um composto apresentar polimorfismo não está correlacionada com a flexibilidade ou tamanho molecular. As moléculas quirais, no entanto, apresentam uma menor propensão ao polimorfismo do que as suas contrapartes não quirais e compostos capazes de ligação de hidrogénio exibem apenas uma propensão ligeiramente mais elevada para o polimorfismo do que aqueles que não apresentam este tipo de interação intermolecular. [16]

Contudo, no caso de ocorrência de polimorfismo, os diferentes polimorfos coexistem frequentemente à mesma temperatura mas, na ausência de barreiras cinéticas significativas, têm tendência a evoluir com o tempo para a forma termodinamicamente mais estável, isto é, a forma que exhibe menor energia de Gibbs, menor solubilidade e máxima estabilidade química.

Deste modo, é importante estabelecer a hierarquia de estabilidade entre as diferentes formas observadas, à pressão atmosférica e numa gama de temperatura tão vasta quanto possível.

É com base em diferenças nas propriedades termodinâmicas, que os polimorfos são classificados como enantiotrópicos ou monotrópicos, dependendo se uma forma se pode transformar reversivelmente para outra ou não. No sistema enantiotrópico, uma transição reversível entre polimorfos é possível a uma temperatura de transição definida abaixo do ponto de fusão. Num sistema monotrópico, nenhuma transição reversível é observada entre os polimorfos abaixo do ponto de fusão. [3]

A obtenção de estruturas diferentes depende das condições experimentais em que se realiza a cristalização como a temperatura, o solvente, o mecanismo pelo qual a sobressaturação é alcançada e a presença de sementes de cristalização correspondentes a um dos polimorfos. São estas variáveis da cristalização que influenciam o hábito cristalino, mas a descoberta de diferentes hábitos cristalinos de um mesmo composto não implica necessariamente que se trata de polimorfos diferentes. [6]

No entanto, ainda não se tem maneira de saber sem as experiências adequadas quantas formas cristalinas podem existir para cada composto, como preparar essas formas cristalinas desconhecidas, ou uma vez preparadas, quais as suas propriedades. Pode haver algumas tendências sobre a relação entre a natureza molecular do composto e a sua propensão para o polimorfismo, mas a verdade é que a possibilidade do composto apresentar polimorfismo é imprevisível com base na sua estrutura molecular. [16]

O polimorfismo desempenha um papel muito importante em diversas aplicações industriais e comerciais, sendo a pesquisa e caracterização de formas polimórficas um objetivo estratégico em diversas indústrias, destacando-se a indústria farmacêutica. [2] As agências que regulam o setor farmacêutico na Europa, *European Medicines Agency*, EMA, e nos Estados Unidos, FDA, apresentam um entendimento diferente para o polimorfismo. A EMA adota a definição de McCrone enquanto que a FDA ampliou a definição formal de polimorfismo, como sendo a ocorrência de diferentes formas cristalinas de um mesmo fármaco, incluindo os solvatos/hidratos e as formas amorfas. [18]

Como estado sólido de um API, fazendo parte de uma forma de dosagem aprovada, pode-se entender forma polimórfica, solvato, hidrato, sal, cocrystal e sólido amorfo. [19] No caso em que o API apresenta diferentes polimorfos, estes podem alterar o desempenho farmacocinético e farmacodinâmico do medicamento e ocasionar desvios de qualidade durante o processo de produção, pelo que diferentes formas polimórficas apresentam diferentes propriedades físico-químicas, tais como solubilidade, velocidade de dissolução, biodisponibilidade, estabilidade, temperatura de fusão, hábito cristalino, capacidade calorífica, entre outras. [17, 20] Das propriedades referidas anteriormente, as mais estudadas são a dissolução e solubilidade, frequentemente, fatores cruciais para a escolha da forma cristalina

no processo de formulação de um medicamento. De um modo geral, estes dois fatores desempenham um papel importante na determinação da biodisponibilidade da substância, podendo apresentar implicações para a administração de dosagens corretas. [12, 21] Portanto, a biodisponibilidade de um API é influenciada pela sua forma polimórfica e é considerada a mais importante consequência do fenómeno na área farmacêutica. [22]

Na indústria farmacêutica, é geralmente preferível selecionar a forma cristalina termodinamicamente mais estável para evitar a transformação polimórfica da forma metaestável à forma mais estável durante a produção e armazenamento. Contudo, a forma metaestável pode exibir suficiente estabilidade química e física nas condições de armazenamento que justifiquem a sua utilização por razões de melhor dissolução ou características de compressão, pelo que a seleção da forma metaestável seria um desafio para o desenvolvimento do medicamento devido à sua instabilidade termodinâmica. [23] Portanto, o controlo do polimorfismo permite, dentro de certos limites, modelar as propriedades de um produto tendo em vista uma dada aplicação, sem alterar a molécula que o constitui.

O polimorfismo interfere na eficácia, segurança e qualidade de um fármaco, pelo que deve ser investigado em todas as etapas de desenvolvimento, manipulação e regulação de um fármaco, assim como no controle de qualidade do produto final. É neste sentido que a indústria farmacêutica tem sido pressionada pelos organismos reguladores, tais como a FDA e EMA a adotar metodologias e técnicas analíticas inovadoras exigindo estudos que assegurem o monitoramento e o controle de qualidade das formas cristalinas existentes, [24] que devem fornecer uma melhor compreensão do fenómeno polimorfismo para cada fármaco em desenvolvimento, e ativar a qualidade dos serviços de controlo para avaliar adequadamente o estado sólido de lotes produzidos. [24, 25]

Foi em julho de 2007, que a FDA publicou os principais aspetos do polimorfismo sobre a qualidade dos medicamentos, além de recomendar os métodos analíticos a serem utilizados para detetar as formas cristalinas, indicando a difração de raios-X para a comprovação inequívoca do polimorfismo. [26]

O desenvolvimento de métodos complementares para a exploração eficiente do polimorfismo, seria portanto, altamente desejável e iria melhorar a compreensão dos fatores que são responsáveis pelos arranjos de empacotamento observados nas moléculas orgânicas no estado sólido. [21]

1.2.2 Cocristais

Atualmente para que um fármaco seja lançado no mercado são necessários 10 a 15 anos de trabalho intensivo e sustentado, que transforma uma simples molécula num fármaco a ser consumido. A maior parte dos fármacos pertence à classe II do Sistema de Classificação Biofarmacêutica (BSC, *Biopharmaceutical Classification System*), sendo pouco solúveis em água, pelo que é imperativo um estudo rigoroso e eficiente dos fármacos atualmente comercializados. Nesse sentido têm sido propostos vários tipos de abordagens, sendo a mais promissora o aumento da solubilidade e/ou a velocidade de dissolução do fármaco para aumentar a sua biodisponibilidade oral. [23] Uma das metodologias que tem vindo a ser desenvolvida nos últimos anos com sucesso é a síntese dos cocristais. [11]

Várias definições de cocrystal têm aparecido na literatura, mas uma definição simples pode ser considerada como "um sistema multicomponente estequiométrico ligado por interações não covalentes, onde todos os componentes presentes são sólidos à temperatura ambiente". [27, 28]

Utiliza-se o termo cocrystal farmacêutico quando, pelo menos, um dos componentes é um API e o outro(s) componente(s) é chamado de coformador, que é um composto farmacêuticamente aceitável. [29-31] Exemplos representativos de coformadores aceitáveis que sejam capazes de cocrystalizar com APIs incluem ácidos carboxílicos, amidas, carbo-hidratos, álcoois e aminoácidos. [29]

Em dezembro de 2011, a FDA publicou uma *guideline*, em que classificou os cocristais como "complexo molecular dissociável API-excipientes". Segundo a FDA, um cocrystal é definido como uma estrutura supramolecular cristalina contendo dois ou mais componentes, que individualmente são sólidos à temperatura ambiente e que não interagem para formar sais. [32] Esta *guideline* provocou uma resposta do mundo académico pedindo para uma classificação de regulamentação alternativa. Aitipamula *et al.* desafiou a classificação regulamentar, propondo como definição para cocristais: "materiais apresentando uma única fase cristalina formada por dois ou mais compostos moleculares e/ou iónicos interagindo intermolecularmente e que, isolados, são sólidos em condições ambientais". [33] Nesta proposta está implícito que sais e cocristais não devem estar sujeitos a diferentes conjuntos de regras e regulamentos, porque cocristais e sais são por vezes difíceis de distinguir. [34]

A EMA publicou um documento de reflexão que resume a sua posição sobre o tema de cocristais farmacêuticos. [35] São considerados cocristais estruturas cristalinas homogêneas compostas de dois ou mais componentes definidos por uma razão estequiométrica onde a disposição na rede cristalina não se baseia no emparelhamento de

iões. Além disso, também considera que cocrystalis, à semelhança dos sais, solvatos e sólidos amorfos são considerados elegíveis para o uso em medicamentos. Os cocrystalis não são considerados como substâncias ativas (NAS, *New Active Substance*), a menos que demonstrem diferentes perfis de segurança e eficácia. [35]

Tanto a EMA como a FDA têm documentos que fornecem a orientação para a indústria e atestam o crescente interesse na utilização de cocrystalis farmacêuticos em medicamentos. [11]

Mais recentemente foi proposto um sistema de classificação viável para todos os crystalis de multicomponentes, em que são propostas sete classes (sistemas com dois componentes - cocrystal, solvato, sal; sistemas com três componentes - sal solvato, cocrystal solvato, cocrystal sal; sistemas com quatro componentes - cocrystal sal solvato). [34]

O desenvolvimento do cocrystal farmacêutico não é mais uma estratégia emergente. Em vez disso, estabeleceu-se como parte de uma rotina das fases iniciais do desenvolvimento do fármaco. Isto é devido, pelo menos em parte, à oportunidade de modificar, às vezes drasticamente, as propriedades físico-químicas de um API, sem modificação da sua estrutura molecular. O mais intrigante é que há cada vez mais evidências de que a cocrystalização pode não só ter impacto na absorção do fármaco, mas também alterar outros aspetos da farmacocinética do fármaco. [30]

A síntese e desenho de um cocrystal têm como base a engenharia de crystalis, que é um ramo científico relacionado com o desenho de estruturas cristalinas, baseada nas interações intermoleculares. No estudo desta área, os sintões supramoleculares e a competição entre eles têm um papel fundamental. Estes sintões são padrões de interações não covalentes que se repetem entre as moléculas e contribuem para a sua estrutura tridimensional, sendo os principais sintões formados por interações π - π , interações de van der Waals, ligações de halogéneo ou ligações de hidrogénio. [36-38]

A ligação de hidrogénio é o tipo de interação mais importante em engenharia de crystalis porque combina força com direccionalidade. [39, 40] O estudo extensivo das ligações de hidrogénio, como elemento de *design* e preparação de crystalis multicomponentes foi feito por Etter que desenvolveu um conjunto de regras empíricas para determinar a propensão para a ligação de hidrogénio dadas várias combinações dador/aceitador. [11]

Os sintões supramoleculares podem ser divididos em duas categorias: homossintões, em que as interações ocorrem entre o mesmo tipo de grupos funcionais e heterossintões, onde os grupos funcionais que estabelecem interações são diferentes, mas complementares. [31] Na figura 1.1 estão representados os sintões supramoleculares mais utilizados em cocrystalis farmacêuticos. [29]

Um dos grupos funcionais extensivamente estudado na pesquisa de cocristais farmacêuticos é o ácido carboxílico. O hidrogénio atua como dador e aceitador na formação do homossintão de ácido carboxílico através da ligação de hidrogénio $C=O \cdots H-O$, como se mostra na figura I.1 (1). Outro homossintão amplamente estudado é o homodímero amida, representado na figura I.1 (3), estabelecendo uma ligação de hidrogénio $C=O \cdots H-N$. Os outros sintões representados na figura I.1 são os heterossintões ácido carboxílico-piridina (2), ácido carboxílico-amida (4) e álcool-éter (5). [29]

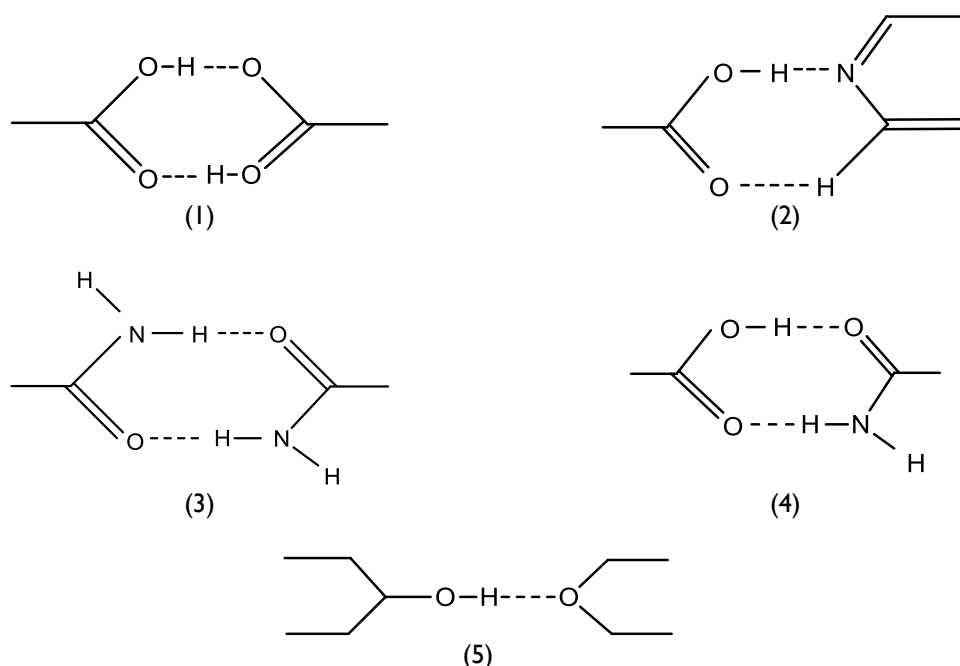


Figura I.1 – Ligações de hidrogénio típicas utilizadas em engenharia de cristais.

Geralmente, os heterossintões são mais robustos do que os homossintões. A robustez dos sintões constitui uma característica de elevada importância para a engenharia de cristais, pois permite que a síntese supramolecular seja focada no sentido de se obter a estrutura cristalina desejada com elevados rendimentos. Assim, compreender a reatividade molecular a partir de sintões torna-se essencial na previsão do tipo de interações supramoleculares, na sua possível distribuição espacial que leva à formação de determinado empacotamento cristalino.

A base de dados estrutural da *Cambridge Structural Database* (CDS) torna-se uma ferramenta bastante útil na determinação de probabilidades associadas à formação de determinados sintões. Quanto maior for essa probabilidade, maior a capacidade de se formarem estruturas cristalinas com esse tipo de interações. A análise da CDS indica que os heterossintões ácido carboxílico-piridina são mais favoráveis que o homodímero de ácido carboxílico. Esta conclusão na hierarquia dos sintões supramoleculares é particularmente útil

no desenho de cocristais. No entanto, estas conclusões empíricas podem apenas fornecer uma orientação complementar para o estudo da síntese de cocristais. [11, 29]

Não ocorrendo a formação de cocrystal, a situação mais comum é a formação de uma mistura eutética. No entanto, como as misturas com a composição de eutético fundem num intervalo de temperatura estreito, tal como as substâncias puras ou cocristais, através da construção do diagrama de fases sólido-líquido simulado para um sistema binário, à pressão atmosférica, é possível identificar se se está na presença de um eutético ou de um cocrystal. Para qualquer outra composição a fusão inicia-se com a fusão da mistura eutética, o *solidus*, ocorrendo seguidamente a fusão do composto em excesso. O diagrama de fases teórico (curva de *liquidus*) é construído com base na equação de Schröder-van Laar, equação 1.1:

$$T_x = \left(\frac{1}{T_{fus}} - \frac{R \ln x}{\Delta_{fus} H} \right)^{-1} \quad (1.1)$$

onde x é a fração molar, T_x é a temperatura de fusão na composição da fração molar x , T_{fus} é a temperatura de fusão dos compostos puros (API e coformador), $\Delta_{fus} H$ é a entalpia de fusão dos compostos puros e R é a constante dos gases perfeitos. A partir dos valores de temperatura e entalpia de fusão dos compostos puros é obtido o diagrama de fases binário sólido-líquido da temperatura de fusão em função da fração molar do API (x_{API}). O *solidus* é obtido a partir da temperatura de *onset* do primeiro pico endotérmico observado nas curvas de DSC e o *liquidus* a partir do máximo corrigido do segundo pico endotérmico.

Quando o diagrama não corresponde a um eutético simples, mas sim à formação de cocrystal, tendo em conta a estequiometria do referido cocrystal, a partir da equação 1.2 é possível calcular as temperaturas do *liquidus* na vizinhança do cocrystal, entre os dois pontos eutéticos. [41, 42]

$$\frac{1}{T_{fus}} = \frac{1}{T_{fus,cc}} - \frac{R}{\Delta_{fus} H_{m,cc}} \{ \ln [x_{API}(1 - x_{API})] - \ln 0,25 \} \quad (1.2)$$

Deste modo, os diagramas de fases sólido-líquido entre um API e potenciais coformadores são de grande importância, pois permitem a identificação de misturas eutéticas bem como a evidência ou não da formação de cocrystal e da sua estequiometria.

Em alguns sistemas, um API pode formar cocristais em várias estequiometrias com o mesmo coformador, não se sabendo como a estequiometria influencia a solubilidade, pois experiências de dissolução mostram que não existe uma correlação entre a estequiometria do cocrystal e a velocidade de dissolução nesses sistemas. [43]

Até à data, têm sido relatados muitos métodos para a obtenção de cocristais, sendo os métodos mais comuns baseados em cristalização a partir de uma solução (evaporação do solvente e precipitação), moagem e por cristalização a partir do fundido. [44-49] Para além destes, existem outros métodos emergentes, como cocrystalização utilizando fluido supercrítico, cocrystalização assistida por ultrassons [29] e moagem assistida por polímeros. [36, 50, 51]

A cristalização em solução é um método de grande importância, uma vez que podem ser obtidos monocristais com dimensão adequada para a resolução da estrutura por difração de raios-X, o que não é possível por mecanoquímica.

A mecanoquímica é um método pelo qual a síntese de cocristais é induzida por energia mecânica, na ausência, *neat grinding*, ou na presença de pequenas quantidades de solvente, *liquid assisted grinding* (LAG). [52-54] A técnica, *neat grinding*, consiste em misturar os componentes em proporções estequiométricas triturando-os, quer manualmente, utilizando um almofariz e pilão, ou mecanicamente, utilizando um moinho de bolas ou um moinho vibratório. [29] A técnica LAG apresenta melhorias significativas na cinética da formação do cocrystal por moagem conseguida pela adição de pequenas quantidades de um solvente adequado. [29, 45, 55] A natureza dos solventes utilizados na moagem pode ter um efeito profundo no processo da mecanoquímica, nomeadamente na obtenção de uma forma polimórfica particular do cocrystal. [29, 55, 56] Também a escolha do solvente utilizado na moagem é importante, sendo uma exigência básica a capacidade de dissolver pelo menos uma parte dos componentes originais. [29]

Os requisitos básicos a uma tecnologia verde para a produção de cocrystal incluem baixo consumo de energia e materiais, mínimos resíduos sólidos/líquidos, não utilização de líquidos orgânicos como solventes, reagentes e materiais não perigosos, processos sem fase gasosa, baixa escala de produção e alta seletividade. [31] Assim, pode considerar-se o método LAG como uma tecnologia verde, tendo em conta que satisfaz todos os requisitos referidos anteriormente. [29]

O sucesso da mecanoquímica na síntese e na descoberta de cocristais farmacêuticos pode ser atribuído a duas razões principais. A primeira é a facilidade com que interações supramoleculares responsáveis pela formação de cocrystal, isto é, ligações de hidrogénio, ligações de halogénio, interações π - π e outros tipos de interações intermoleculares mais fracas, podem ser quebradas e reformadas sob agitação mecânica suave. A segunda razão é a recente introdução da metodologia mecanoquímica assistida por solvente (LAG). [54]

Outro método chamado *cooling crystallisation* envolve a variação da temperatura do sistema de cristalização, o que tem atraído recentemente muito mais atenção para o

potencial de produção de cocrystal em grande escala. Em primeiro lugar, grandes quantidades de reagentes e solvente são misturados num reator, e em seguida o sistema é aquecido a uma temperatura mais elevada para garantir que todos os solutos estão completamente dissolvidos no solvente, seguido por um passo de arrefecimento. O cocrystal irá precipitar quando a solução se torna sobressaturada em relação ao cocrystal com a diminuição da temperatura. [29, 57]

É ainda de referir que a última década foi testemunha de numerosos pedidos de patentes concedidas para cocrystal farmacêuticos que apresentam aumento da solubilidade e estabilidade. Os cocrystal satisfazem os três critérios de patenteabilidade: a novidade, a utilidade e a atividade inventiva. [11] As patentes são um mecanismo para promover a investigação para o benefício da sociedade: o direito de excluir outros de praticar a invenção patenteada proporciona um incentivo económico para o inventor, enquanto o termo limitado de direito exclusivo, em última análise, fornece a invenção para o domínio público. [58]

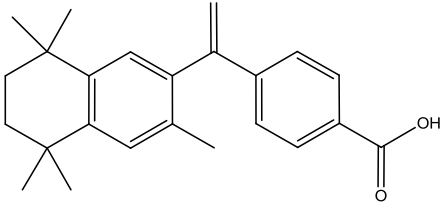
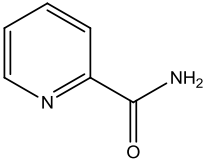
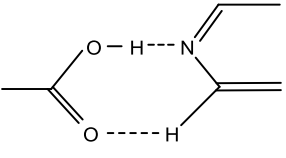
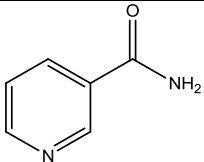
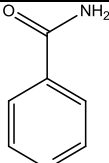
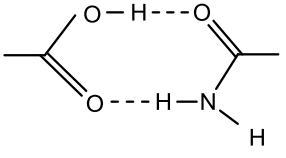
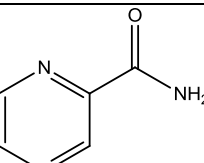
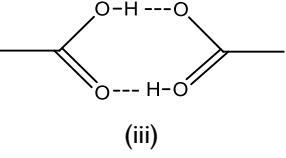
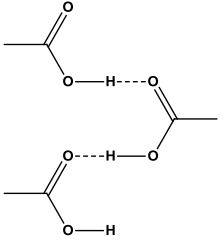
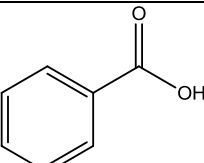
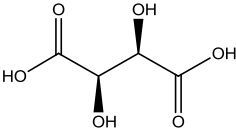
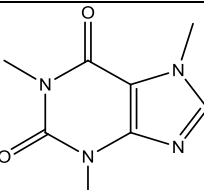
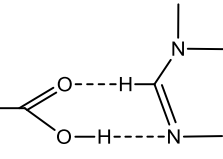
1.3 Coformadores

Um aspeto crítico do *design* e *screening* de cocrystal é a seleção do coformador baseada na compatibilidade supramolecular entre o API e o coformador. [59] Este é o primeiro passo na descoberta de um cocrystal farmacêutico. [11] A abordagem do sintão supramolecular sugere que determinados grupos funcionais presentes no API e no coformador vão desempenhar um papel importante na formação de cocrystal e, para o sucesso da cocrystalização devem ser usados coformadores com grupos funcionais complementares aos do API. [60] Nesta seleção também se deve ter em conta se o coformador é uma molécula considerada segura para o consumo humano (GRAS – *Generally Recognized As Safe*). Esta listagem GRAS contém mais de 2000 substâncias. [34]

A escolha do coformador é de extrema importância pois as suas características definem uma variável crítica para a alteração das propriedades de dissolução de cocrystal farmacêuticos com implicações importantes para o seu desempenho *in vivo*. [61]

Na investigação de novas formas sólidas do bexaroteno que apresenta como grupo funcional o ácido carboxílico (COOH) utilizaram-se os coformadores apresentados na tabela 1.1. Na mesma tabela são ainda apresentados os possíveis sintões supramoleculares.

Tabela I.1 – Sintões supramoleculares possíveis na formação de cocrystal.

API	Conformador	Sintões supramoleculares
 <p data-bbox="308 1238 438 1267">Bexaroteno</p>	 <p data-bbox="715 479 855 508">Picolinamida</p>	 <p data-bbox="1157 622 1189 651">(i)</p>
	 <p data-bbox="715 714 855 743">Nicotinamida</p>	
	 <p data-bbox="699 958 871 987">Isonicotinamida</p>	 <p data-bbox="1157 1037 1189 1066">(ii)</p>
	 <p data-bbox="715 1198 855 1227">Pirazinamida</p>	 <p data-bbox="1157 1373 1189 1402">(iii)</p>  <p data-bbox="1157 1675 1189 1704">(iv)</p>
	 <p data-bbox="699 1440 871 1469">Ácido benzoico</p>	
 <p data-bbox="699 1657 871 1686">Ácido tartárico</p>		
 <p data-bbox="746 1944 823 1973">Cafeína</p>	 <p data-bbox="1157 1921 1189 1951">(v)</p>	

Os três isómeros da piridinacarboxamida apresentam o grupo amida com dois grupos doadores e dois pares de elétrons livres no átomo de oxigênio do grupo carbonilo, grupo aceitador. Um segundo aceitador da ligação de hidrogênio é o par de elétrons não ligantes no átomo de azoto do anel de piridina. Isso faz com que estas moléculas sejam muito versáteis para uma variedade de interações de ligação de hidrogênio, especialmente como coformadores com APIs que apresentam o grupo ácido carboxílico, sendo possível a formação dos heterossintões ácido-N_{piridina}, tabela 1.1 (i), e ácido-amida (ii). Explorou-se também o homossintão ácido-ácido dímero (iii) e cadeia aberta (iv), e o heterossintão ácido-imidazol (v).

A nicotinamida (NA), 3-piridinacarboxamida, pertence ao complexo da vitamina B, sendo uma vitamina solúvel em água. [62] É particularmente utilizada como coformador na obtenção de cocristais por pertencer ao grupo de substâncias geralmente reconhecidas como seguras, GRAS. [63]

Para a nicotinamida são conhecidos quatro polimorfos, forma I, II, III e IV, [64] sendo a forma I a mais estável, cuja estrutura foi resolvida por Miwa *et al.* em 1999, [65] com $T_{fus} = (128,2 \pm 0,2) \text{ } ^\circ\text{C}$ e com $\Delta_{fus}H = (23,2 \pm 0,4) \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$. [66] Recentemente a forma II foi isolada e estudada verificando-se uma relação monotrópica entre a forma I e II. [67] São inúmeros os exemplos de cocristais formados com este coformador e com diferentes APIs, nomeadamente naproxeno [68], ácido pimélico [69] e teofilina [70].

A picolinamida (PA), 2-piridinacarboxamida, é um isómero da nicotinamida e difere apenas na posição do grupo carboxamida, ou seja, na nicotinamida encontra-se na posição *para* enquanto na picolinamida encontra-se na posição *orto*. A picolinamida desempenha um papel importante na atividade biológica como um forte inibidor da ação da poli(ADP-ribose) sintetase, que se traduz na proteção da síntese da pró-insulina, que é uma substância proteica sintetizada no pâncreas e que vai originar a insulina. [71, 72]

O hidrogênio do grupo amida e o nitrogênio do heterociclo estão próximos, pelo que os seus potenciais eletrostáticos associados cancelam-se de uma forma significativa, reduzindo assim a possibilidade de formação de ligações de hidrogênio. [41, 73, 74] Deste modo, a formação de cocrystal com este coformador é mais reduzida em relação aos seus isómeros, nicotinamida e isonicotinamida. A picolinamida apresenta duas formas polimórficas, a forma II com $T_{fus} = (102,0 \pm 0,4) \text{ } ^\circ\text{C}$ e com $\Delta_{fus}H_{II} = 20,5 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ e a forma I, metaestável, com $T_{fus} = (106,4 \pm 0,4) \text{ } ^\circ\text{C}$, cujas estruturas foram resolvidas por difração de raios-X. [75, 76] O polimorfo II apresenta uma transição sólido-sólido que tipicamente se estende entre $T \sim 60 \text{ } ^\circ\text{C}$ e $T \sim 100 \text{ } ^\circ\text{C}$, seguida da fusão do polimorfo I. [75] A conversão do

polimorfo II no polimorfo I pode ser observada durante o processo de moagem, dependendo a conversão do tempo de moagem, assistência ou não de solvente e do solvente utilizado. [75] O número de cocristais formados com este coformador registados na CCDC, *Cambridge Crystallographic Data Center*, são em menor número do que os formados com a nicotinamida, [74] salientando-se os cocristais formados com o diflunisal [41], naproxeno [66] e carbamazepina [73].

A isonicotinamida (INA), 4-piridinacarboxamida, é um derivado da piridina com o grupo carboxamida na posição *meta*, e possui fortes propriedades antituberculosas, antipiréticas e antibacterianas. É reconhecida como ativador de sirtuínas [77], que são uma classe de enzimas que participam na regulação de vários processos biológicos. A INA apresenta cinco polimorfos, [67, 78, 79] sendo que três foram detetados de forma irreprodutível (III, IV e V). As formas polimórficas II e III apresentam uma transição sólido-sólido no processo de aquecimento, transformando-se no polimorfo I. As formas II e III apresentam uma relação monotrópica, enquanto a forma I apresenta uma relação enantiotrópica com as formas II e III. [67] A forma II é a forma mais estável e a forma I tem $T_{fus} = (155,4 \pm 0,6) \text{ }^\circ\text{C}$ e $\Delta_{fus}H = (24,5 \pm 0,8) \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$. [66, 78] Já foram referenciados na literatura alguns cocristais farmacêuticos, nomeadamente com o ácido benzoico [80], diflunisal [41, 81] e niclosamida [82].

A pirazina-2-carboxamida, vulgarmente conhecida por pirazinamida (PZA) é um fármaco utilizado no tratamento da tuberculose, o qual é bastante eficaz contra a infeção causada pela bactéria *Mycobacterium tuberculosis*. [83] É classificada como API e reconhecida pela Organização Mundial de Saúde na Lista Modelo de Medicamentos Essenciais. Apesar de ser uma molécula relativamente rígida, são conhecidas quatro formas polimórficas da pirazinamida, α , β , γ e δ , e ainda uma possível quinta forma α' similar à forma α . [84-86] Já foram referenciados pelo menos nove cocristais de pirazinamida. [87-89]

A cafeína, 1,3,7-trimetilpurina-2,6-diona, é um alcaloide do grupo das xantinas e ocorre naturalmente em diversas plantas. É usado como fármaco em associação com analgésicos e antipiréticos e possui propriedades estimulantes do sistema nervoso central, cardíaco, respiratório e propriedades diuréticas. São conhecidas duas formas polimórficas da cafeína, enantiotrópicas, e também um mono-hidrato [90-93]. A forma α transita para a forma β para $T_{onset} = (140,24 \pm 0,03) \text{ }^\circ\text{C}$, sendo o valor molar de entalpia desta transição de $\Delta H = (3,43 \pm 0,02) \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$. A temperatura de fusão da forma β da cafeína é $T_{fus} = (235,85 \pm 0,10) \text{ }^\circ\text{C}$ com entalpia de fusão de $\Delta_{fus}H = (19,86 \pm 0,03) \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$. [94] Vários

cocristais e cocristais solvatos da cafeína com diferentes coformadores estão descritos na literatura. [95-98]

O ácido benzoico (BA) é um composto aromático pertencente ao grupo dos ácidos carboxílicos. Possui propriedades antibacterianas e antifúngicas e é uma substância segura para consumo humano (GRAS). [99] Este ácido é altamente solúvel em acetona, benzeno, etanol, clorofórmio, éter etílico e metanol e praticamente insolúvel em água. [99] Apresenta uma temperatura de fusão $T_{fus} = (122,3 \pm 0,02) \text{ }^\circ\text{C}$. [100] Cocristais com ácido benzoico estão descritos na literatura, destacando-se como coformadores a isonicotinamida [80, 101] e a isoniazida [102].

O ácido tartárico (TA), ácido 2,3-di-hidroxibutanodióico, é um composto orgânico de função mista que apresenta os grupos funcionais de ácido carboxílico e álcool. Este ácido encontra-se presente em muitas plantas, nas uvas e bananas e é o principal ácido do vinho. Também é adicionado a alguns alimentos, sendo usado como antioxidante.[103] O ácido tartárico é uma substância que pertence à lista da FDA como substância geralmente reconhecida como segura (GRAS). Na sua constituição tem dois átomos de carbono assimétricos, o que possibilita quatro diferentes formas: L(+)-ácido tartárico, D(-)-ácido tartárico, (DL-) ácido tartárico racémico [104] e meso-ácido tartárico. [103, 105] A forma mais comum na natureza é o L- ácido tartárico e a meso-ácido tartárico é apenas produzida por humanos. [106] O L-ácido tartárico anidro apresenta uma temperatura de fusão $T_{fus} = 169,9 \text{ }^\circ\text{C}$, seguida imediatamente de degradação [106]. Na literatura são descritos vários cocristais com o ácido tartárico e diferentes APIs, nomeadamente com a ureia [107] e pirazina [108].

1.4 Bexaroteno

O bexaroteno é um composto obtido por síntese química indicado no tratamento do linfoma cutâneo das células T (CTCL – *cutaneous T-cell lymphoma*) [109, 110]. É um agente antineoplásico, o que significa que funciona como bloqueante na produção de células cancerígenas. O bexaroteno foi aprovado em 1999 pela FDA e foi licenciado na Europa em 2002 [111], sendo comercializado com o nome de *Targretin*[®].

Em 2012 foi publicado um estudo do efeito do bexaroteno sobre a doença de Alzheimer. [112] Desde então tem havido uma discussão generalizada sobre o bexaroteno, bem como uma série de estudos de acompanhamento, [110] uma vez que quatro grupos distintos de investigadores não conseguiram replicar totalmente os resultados preliminares publicados em 2012. [113-116]

Apesar disso, o bexaroteno é um bom candidato para o desenvolvimento de fármacos no tratamento da doença de Alzheimer, dada a sua alta permeabilidade da barreira hemato-encefálica e o perfil de segurança atual. [110] Nesse sentido, continuam as investigações tendo sido publicados estudos controversos em relação à eficácia do bexaroteno no tratamento da doença de Alzheimer em humanos. [110, 117, 118] Nalguns desses estudos é mesmo referido que o tratamento dessa doença com bexaroteno apresenta efeitos secundários adversos. [119] Contudo, este API abriu a porta para encontrar uma nova abordagem de tratamento para a patologia da doença e, de facto, pode um dia representar uma nova classe de terapias desta doença. [110]

O bexaroteno pertence à classe dos retinoides, substâncias que derivam da vitamina A, [120] os quais são responsáveis pelo controlo da divisão celular. O seu mecanismo de ação ainda não está bem elucidado. [111]

Este API apresenta baixa solubilidade aquosa e alta permeabilidade pelo que está incluído na classe II do Sistema de Classificação Biofarmacêutica, BSC, apresentando baixa biodisponibilidade. [121-123] Na figura 1.2 está representada a fórmula de estrutura do bexaroteno e na figura 1.3 é apresentada a molécula de bexaroteno determinada por difração de raios-X, que foi resolvida por Daiss *et al.* [124]

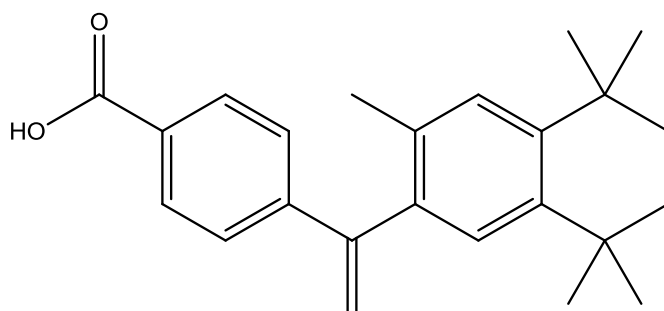


Figura 1.2 – Estrutura molecular do bexaroteno.

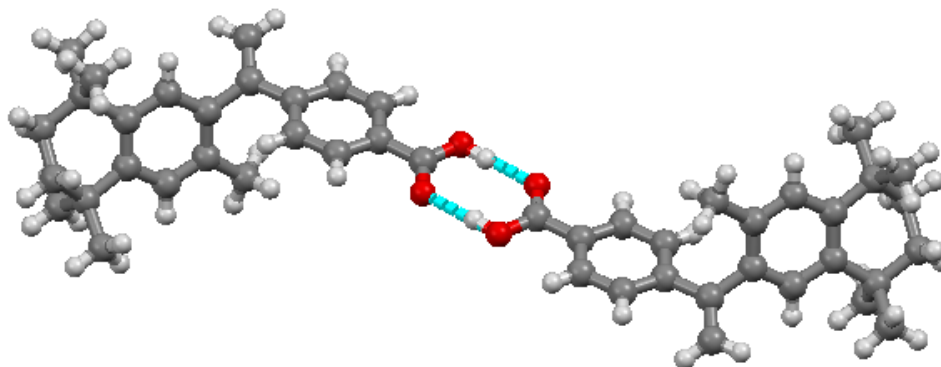


Figura 1.3 – Conformação da molécula obtida por difração de raios-X.

Este composto apresenta ligações intermoleculares de hidrogénio $O-H\cdots O$, levando à formação de dímeros centrossimétricos, [124] em que o grupo funcional ácido carboxílico presente no bexaroteno é considerado o principal fator na formação de ligações de hidrogénio intermoleculares. Recentemente foram preparados nanocristais de bexaroteno [123, 125] com o objetivo de aumentar a biodisponibilidade deste fármaco.

2 Materiais e métodos

2.1 Materiais

Os compostos utilizados neste trabalho estão apresentados na tabela 2.1, onde se indica para cada um o laboratório de onde provém, a massa molecular, o ponto de fusão e o grau de pureza, características estas indicadas pelo fornecedor.

Tabela 2.1 - Origem dos compostos e informações do fornecedor.

Composto	Laboratório	M / g mol ⁻¹	T _{fus} / °C	Pureza / %
Bexaroteno	LC Laboratories	348,48	222,5 - 223,5	> 99
Picolinamida, II	Aldrich	122,13	110	98
Nicotinamida, I	Aldrich	122,13	128 - 131	99
Isonicotinamida, I	Sigma - Aldrich	122,13	156	99
Pirazinamida, α	Fluka	123,12	189 - 191	≥ 99
Cafeína, α	Fluka	194,19	233 - 238 234 - 236,5	≥ 99
Ácido L- tartárico anidro	Fluka	150,09	166 - 170	≥ 99,5
Ácido benzoico	Sigma - Aldrich	122,12	122,4	≥ 99,5

Nas experiências de cristalização foram utilizados os solventes indicados na tabela 2.2, em que se faz referência à sua proveniência e ao seu grau de pureza.

Tabela 2.2 – Origem e grau de pureza dos solventes utilizados.

Solvente	Laboratório	Pureza / %
Tetra-hidrofurano	Panreak	99,5
Acetona	Lab-Scan	99,8
Metanol	Fluka	≥ 99
Etanol	Fisher Chemical	95
Propanol- I	Merck	99,5
Acetato de etilo	Romil Chemicals	≥ 99,8

2.2 Métodos

Na síntese de cocristais são usados alguns métodos tradicionais incluindo cristalização por evaporação lenta do solvente e mecanoquímica.

2.2.1 Cristalização em solvente

A recristalização foi realizada por meio da solubilização de 10 mg da amostra comercial de bexaroteno em 5 mL de solvente. As soluções foram filtradas para caixas de *Petri*, que foram tapadas e deixadas à temperatura ambiente para a evaporação lenta do solvente.

Para o sistema nicotinamida + isonicotinamida todas as misturas foram preparadas na proporção 1:1 em que se pesaram os dois compostos em separado (NA+INA) ou em que se utilizou a mistura obtida por mecanoquímica (NA:INA). Também se fez a filtração das soluções para caixas de *Petri*, que foram tapadas e deixadas à temperatura ambiente para a evaporação lenta do solvente. Na tabela 2.3 são apresentados os valores de massa de coformador e volume de solvente utilizados para a obtenção dos cristais.

Tabela 2.3 – Condições utilizadas nas diferentes cristalizações.

Sistema	m / mg	Solvente	V _{solvente} / mL
NA+INA	m(NA) = 6,16 m(INA) = 6,27	Etanol	2
NA+INA	m(NA) = 13,90 m(INA) = 13,98	Acetato de etilo	5
NA:INA	6,05	Acetato de etilo	3
NA:INA	3,93	Etanol	5
NA:INA	10,38	Tetra-hidrofurano	5

2.2.2 Mecanoquímica

A preparação das misturas foi feita por moagem num moinho de bolas Retsch MM 400, em que se usaram vasos de 1,5 mL ou 10 mL de aço inoxidável com uma ou duas esferas em aço inoxidável de 4 ou 7 mm de diâmetro, respetivamente.

Na tabela 2.4 são apresentadas as condições experimentais utilizadas nas moagens efetuadas para cada sistema.

Tabela 2.4 – Condições experimentais dos ensaios de mecanoquímica.

Sistema	Volume dos vasos / mL	Nº de esferas	Diâmetro das esferas / mm	Tempo de moagem / min	Frequência de vibração / Hz	Volume de etanol / μL
BEX+BA (1:1) BEX+TA (1:1) BEX+CAF (1:1)	1,5	1	4	60	15	5
BEX+PA (1:1)	1,5	1	4	60 + 60	30	5
(todas as proporções)	10	2	7	90	15	5
BEX+NA (1:1)	1,5	1	4	30	15	5
(1:1)	10	2	7	90	15	5
(todas as proporções)	10	2	7	60	15	10
BEX PZA BEX+INA (1:1) BEX+PZA (1:1) Coformador+coformador Cocristal+coformador	10	2	7	90	15	5

2.2.3 Calorimetria diferencial de varrimento

Neste estudo foi utilizado um calorímetro de potência compensada, Perkin-Elmer DSC7, com refrigeração ajustada a $-7,8\text{ }^{\circ}\text{C}$ (*intracooler* com circulação da mistura etilenoglicol/água (1:1) (v/v)). O azoto de pureza N50, utilizado como gás de purga, circulou com um fluxo de 20 mL/min.

O calorímetro foi calibrado com padrões certificados utilizando-se bifenilo (CRM LGC 2610), $T_{fus} = (68,93 \pm 0,03)\text{ }^{\circ}\text{C}$, $\Delta_{fus}H_m = 18,60\text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ e índio (Perkin Elmer, $x = 99,99\%$), $T_{fus} = 156,60\text{ }^{\circ}\text{C}$, $\Delta_{fus}H_m = 3286\text{ J}\cdot\text{mol}^{-1}$ para a calibração da temperatura. A calibração de entalpia foi efetuada com índio. As amostras foram preparadas em cápsulas de alumínio de 30 μL da Perkin Elmer, hermeticamente fechadas, com uma massa entre 1 mg a 2 mg, em que se usou uma cápsula vazia para referência. Cada ensaio foi realizado a uma velocidade de varrimento de $\beta = 10\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$.

2.2.4 Termomicroscopia com luz polarizada

Nos ensaios realizados por termomicroscopia de luz polarizada, PLTM (*Polarized Light Thermal Microscopy*), utilizou-se uma placa de aquecimento de Linkam, modelo DSC600, ligada a uma interface CI94, cuja função é controlar a temperatura nas etapas de aquecimento/arrefecimento. A unidade LNP94/2 controla a refrigeração que é efetuada por circulação de azoto líquido. A temperatura do forno é monitorizada por sensores de Pt100.

Na observação ótica das amostras utilizou-se um microscópio Leica DMRB, com uma ampliação de 200x. A captação das imagens é feita por uma câmara de vídeo Sony CCD-IRIS/RGB de modelo DXC-151 AP.

Na análise de imagem utilizou-se o *software* fornecido pela Linkam Systems, com RTVMS, *Real Time Video Measurement System*.

As células de vidro utilizadas foram de 7 mm de diâmetro, sendo cobertas com uma tampa do mesmo material. Os ensaios foram realizados a uma velocidade de varrimento de $\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ e em ambiente de azoto.

2.2.5 Espectroscopia de Infravermelho

Os espectros de absorção no infravermelho foram obtidos, à temperatura ambiente, num espectrómetro com transformada de Fourier ThermoNicolet FT-IR 380, com acessório de refletância total atenuada com um cristal de diamante (ATR SmartOrbit, modelo ATR Diamond) na gama de número de onda entre 4000 cm^{-1} e 400 cm^{-1} , com uma resolução de 2 cm^{-1} .

2.2.6 Difração de raios-X

2.2.6.1 Difração de raios-X de monocristal

As experiências de difração de raios-X de monocristal foram efetuadas num difratómetro Bruker-AXS SMART APEX CCD, $T = 20 \text{ }^\circ\text{C}$, radiação $\text{Mo K}\alpha$ ($\lambda = 0.71073 \text{ \AA}$, monocromador de grafite). As estruturas foram resolvidas por métodos diretos e refinadas pelo método dos mínimos quadrados das matrizes utilizando o *software* SHELXS-979. Todos os átomos, excluindo o hidrogénio, foram refinados anisotropicamente por F^2 . Os átomos de hidrogénio são calculados isotropicamente e a sua posição é fixada permitindo o acompanhamento do átomo pesado a que estão ligados.

2.2.6.2 Difração de raios-X de pó

As experiências de difração de raios-X de pó foram efetuadas num difratômetro ENRAF-NONIUS FR 5900, com um detetor INEL CPS 120°, em que se usou a radiação do tipo $\text{CuK}\alpha$ ($\lambda = 1,540598 \text{ \AA}$). As amostras foram colocadas em capilares de 3 mm de diâmetro, após terem sido pulverizadas. A recolha de dados foi feita em períodos que variaram entre 15 min e 1 h, estando o capilar em movimento de rotação, de modo a garantir uma correta intensidade relativa das reflexões. Na obtenção dos difratogramas de raios-X de pó simulados a partir do CIF, *Crystallographic Data Center*, utilizou-se o programa PLATON, A.L.Spek, versão 161008.

3 Resultados

3.1 Bexaroteno

O comportamento térmico do bexaroteno foi estudado por calorimetria diferencial de varrimento, DSC (*Differential scanning calorimetry*). As amostras foram submetidas a ciclos de aquecimento/arrefecimento entre 25 °C e 230 °C, com velocidade de varrimento $\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$. Na figura 3.1 está apresentado um termograma que corresponde ao primeiro aquecimento de uma amostra de bexaroteno na qual se regista um pico endotérmico correspondente ao processo de fusão, $T_{\text{onset}} = (223,3 \pm 0,8) \text{ }^\circ\text{C}$ com entalpia de fusão $\Delta_{\text{fus}}H = (40,3 \pm 1,1) \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$, $n = 5$. O valor de n corresponde ao número de ensaios que foram contabilizados para a média e as incertezas apresentadas correspondem a uma unidade de desvio padrão (S).

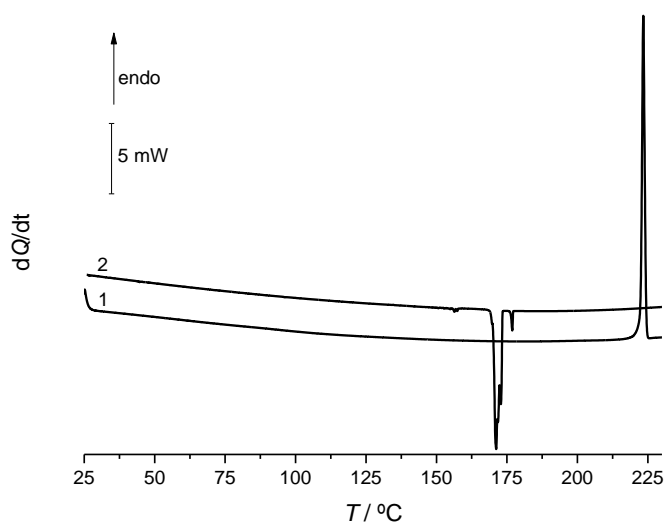


Figura 3.1 – Curvas de DSC do bexaroteno: 1. aquecimento; 2. arrefecimento. $m = 1,38 \text{ mg}$; $\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$.

Como resultado do arrefecimento do fundido observa-se a cristalização para valores de temperatura $\sim 175 \text{ }^\circ\text{C}$. O sólido obtido por cristalização do fundido foi sujeito a novo aquecimento, registando-se uma alteração considerável de T_{fus} e alargamento do pico de fusão, como está registado na figura 3.2 a). Estes resultados parecem indicar a ocorrência de degradação do bexaroteno no processo de fusão, o que foi confirmado pela cor amarela apresentada pelo composto depois do ensaio de DSC.

Atendendo que a atmosfera ambiente contém oxigénio, este poderá contribuir para um processo degradativo. Por esta razão, preparou-se uma cápsula em ambiente de azoto, a

qual foi submetida ao mesmo programa de aquecimentos/arrefecimentos, que se encontra registado na figura 3.2 b).

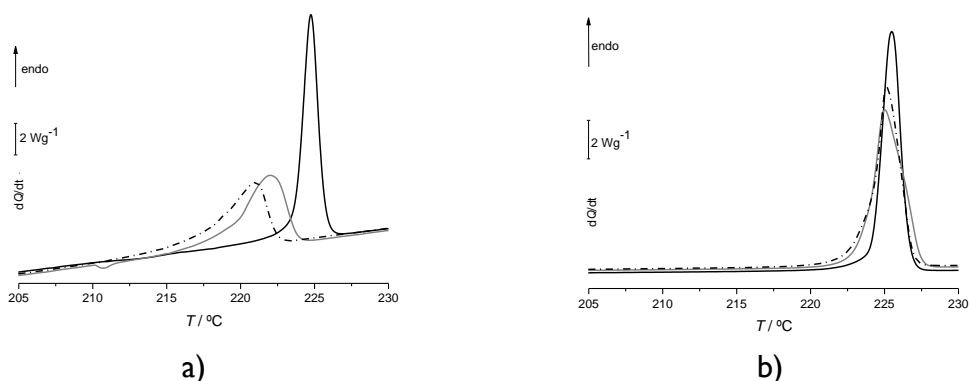


Figura 3.2 – Curvas de DSC de aquecimento para o bexaroteno: a) cápsula fechada em atmosfera ambiente, $m = 1,05$ mg; b) cápsula fechada sob ambiente de azoto, $m = 1,28$ mg. Primeiro aquecimento (—); segundo aquecimento (—); terceiro aquecimento (---).

Na tabela 3.1 está o registo das temperaturas de fusão e variação de entalpia obtidas para os três aquecimentos da amostra comercial de bexaroteno, em cápsula fechada em atmosfera ambiente e em atmosfera de azoto.

Tabela 3.1 – Temperatura de fusão e variação de entalpia de fusão obtidas para os vários aquecimentos por DSC do bexaroteno referentes às curvas da figura 3.2 a) e b).

	Cápsula fechada em atmosfera ambiente		Cápsula fechada em ambiente de azoto	
	$T_{fus} / ^\circ\text{C}$	$\Delta_{fus}H / \text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$	$T_{fus} / ^\circ\text{C}$	$\Delta_{fus}H / \text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$
1º Aq	223,7	41,1	224,2	41,8
2º Aq	219,0	33,8	223,7	42,4
3º Aq	217,3	32,7	224,0	41,9

Pela análise das curvas de DSC, na figura 3.2 b), e dos dados da tabela 3.1 verifica-se que aparentemente não houve degradação, dado que a temperatura de fusão e os valores de entalpia se mantêm muito próximos nos diferentes ciclos de aquecimento.

O bexaroteno foi analisado por termomicroscopia, PLTM, e fez-se o aquecimento da amostra comercial de 25 °C até 230 °C, com velocidade de varrimento de 10 °C·min⁻¹, em atmosfera de azoto. Na figura 3.3 estão registadas algumas imagens obtidas neste processo. Verificou-se que à temperatura de aproximadamente 205 °C ocorre sublimação, que é

comprovada com a progressiva perda de nitidez da imagem, bem como com a acumulação do sublimado no vidro da tampa da placa de aquecimento. A fusão ocorre a uma temperatura $\sim 224\text{ }^{\circ}\text{C}$.

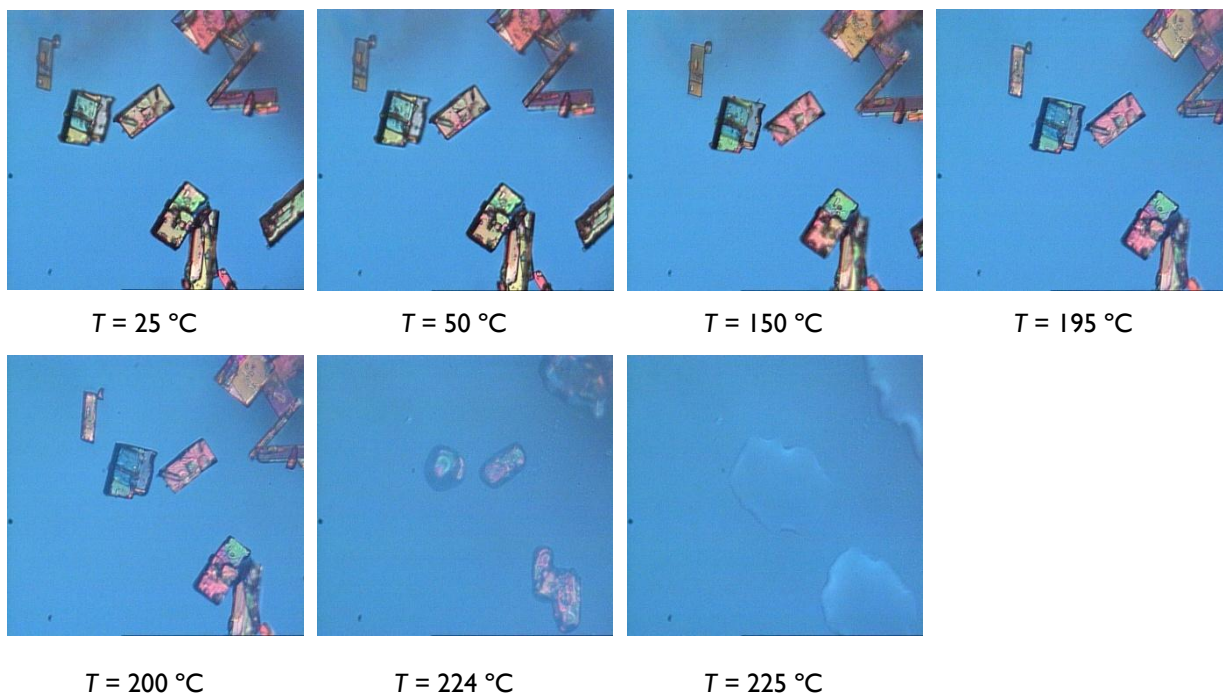


Figura 3.3 – Imagens obtidas por termomicroscopia com luz polarizada no aquecimento de uma amostra de bexaroteno comercial. $\beta = 10\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$, ampliação de 200x.

Como neste estudo foi feita a moagem do bexaroteno com vários coformadores procedeu-se à moagem de bexaroteno, nas mesmas condições que são indicadas na tabela 2.4, com o intuito de verificar se haveria alguma alteração relativamente à amostra comercial.

Na figura 3.4 são apresentados o espectro do bexaroteno comercial e o espectro do bexaroteno comercial resultante da moagem.

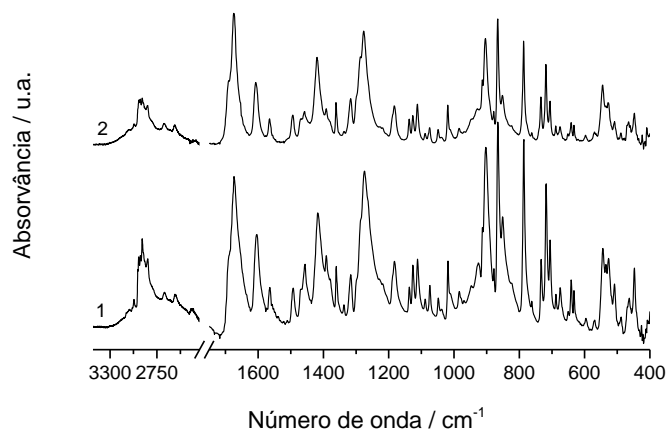


Figura 3.4 – Espectros de FTIR-ATR de bexaroteno comercial: 1. amostra comercial; 2. amostra comercial com moagem.

No espectro I da figura 3.4 as bandas de absorção observadas mais relevantes correspondem às vibrações de alongação do grupo carbonilo, C=O (1674 cm^{-1}), alongação C=C do anel fenilo (1604 cm^{-1}) e à alongação OH do grupo carboxílico que é representada como uma banda larga, característica dos ácidos carboxílicos (3265 cm^{-1} a 2700 cm^{-1}). Pela comparação dos dois espectros conclui-se que não houve qualquer alteração do composto após a moagem em relação à amostra comercial.

O comportamento térmico do bexaroteno após a moagem foi também estudado por DSC (Anexo I) e pela análise das curvas verifica-se que não houve alteração da amostra uma vez que, relativamente ao composto comercial, o processo de fusão ocorre à mesma temperatura.

Com o objetivo de obter novas formas polimórficas para o bexaroteno foi feita a cristalização por evaporação lenta em vários solventes, à temperatura ambiente. Na figura 3.5 encontram-se as curvas de DSC do bexaroteno comercial e do bexaroteno cristalizado em diferentes solventes em que se mostra apenas o intervalo de temperatura entre $200\text{ }^{\circ}\text{C}$ e a fusão, pois não ocorre nenhum evento antes desta temperatura.

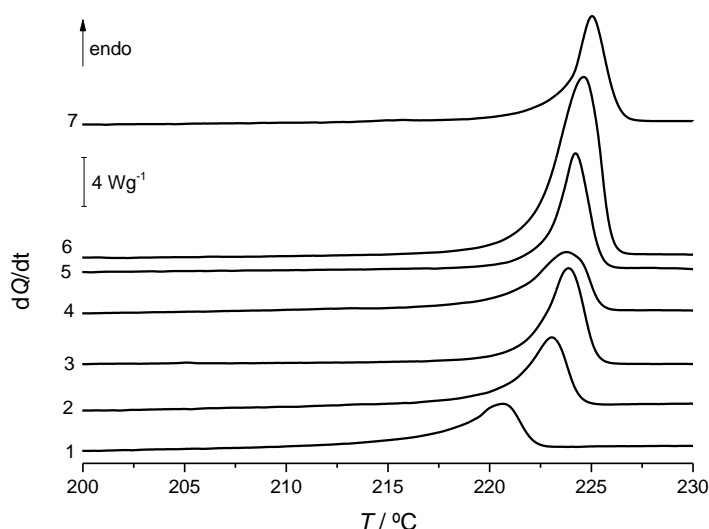

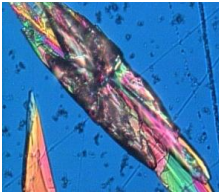
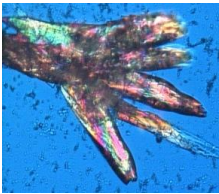
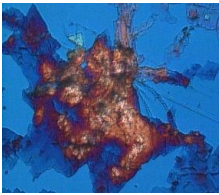
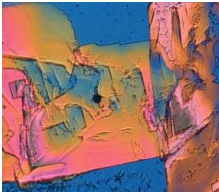
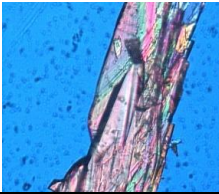


Figura 3.5 – Curvas de DSC registadas no aquecimento de amostras de bexaroteno cristalizado em solventes, nas condições descritas no texto; 1. tetra-hidrofurano; 2. acetona; 3. bexaroteno comercial; 4. acetato de etilo; 5. metanol; 6. propanol-1; 7. etanol. $\beta = 10\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$.

As imagens, o hábito cristalino e os parâmetros termodinâmicos da fusão dos cristais obtidos estão apresentadas na tabela 3.2. Os sólidos obtidos nos diferentes solventes apresentam como forma mais comum as placas. No entanto, ainda é possível observar como hábito cristalino o dendrítico, agulhas e estrela ramificada. Pode-se ainda verificar que, com

exceção do sólido obtido por cristalização em tetra-hidrofurano, que apresenta temperatura de fusão significativamente mais baixa do que a do bexaroteno comercial, nos restantes solventes a temperatura de fusão encontra-se dentro do erro obtido para a fusão do bexaroteno. É de referir que o pico de fusão do sólido obtido em tetra-hidrofurano é muito largo, o que poderá ser devido à incompleta evaporação do solvente.

Tabela 3.2 – Imagens e hábito cristalino dos cristais de bexaroteno obtidos nos diferentes solventes utilizados (luz polarizada, ampliação 200x) e parâmetros termodinâmicos da fusão.

Solvente	Hábito cristalino	Imagem	$T_{\text{onset}} / ^\circ\text{C}$	$\Delta_{\text{fus}}H / \text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$
Propanol-1	Estrela ramificada (<i>branched stars</i>) + placas		222,1	41,5
Acetona	Placas		220,8	34,6
Etanol	Placas		223,6	40,7
Tetra-hidrofurano	Dendrítico		217,9	40,8
Acetato de etilo	Dendrítico + placas + agulhas		220,8	39,7
Metanol	Placas		222,8	39,0

Os sólidos obtidos a partir das cristalizações foram analisados por FTIR-ATR verificando-se que os espetros obtidos são iguais ao do bexaroteno comercial (Anexo I).

A análise das curvas de DSC dos sólidos obtidos por cristalização em diversos solventes e os resultados obtidos para esses sólidos por FTIR-ATR permitem concluir, que nas condições utilizadas, não se obtiveram novas formas sólidas do bexaroteno.

3.2 Screening de cocristais de bexaroteno

No *screening* de cocristais do bexaroteno utilizou-se a moagem assistida por solvente para a mistura do bexaroteno com o coformador, na proporção de 1:1. Para cada uma das misturas obtidas fez-se o espectro de FTIR-ATR e posterior aquecimento, no DSC, como método de análise preliminar da afinidade entre os compostos e as suas relações estruturais supramoleculares em sistemas de cocrystalização.

Nos sistemas em que, a partir da análise dos resultados obtidos pelos métodos anteriores, se indicava uma possível associação entre os dois compostos, também foi feito o estudo por difração de raios-X e por termomicroscopia de luz polarizada, PLTM, da mistura em diferentes proporções.

3.2.1 Sistema Bexaroteno + Ácido benzoico

Após a moagem da mistura de bexaroteno e ácido benzoico, nas condições indicadas na tabela 2.4, foi feito o seu estudo por espectroscopia de infravermelho. Na figura 3.6 estão reunidos os espectros de FTIR-ATR do bexaroteno, do ácido benzoico e da mistura (1:1).

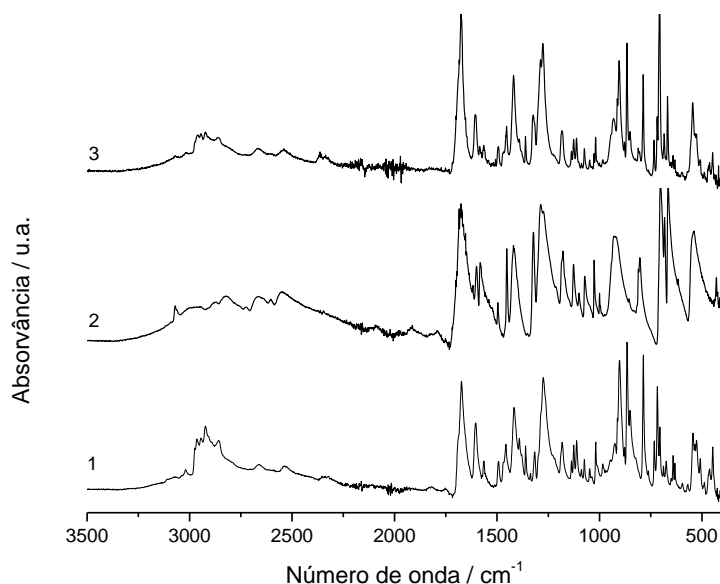


Figura 3.6 – Espectros de FTIR-ATR de: 1. bexaroteno; 2. ácido benzoico; 3. mistura de bexaroteno e ácido benzoico na proporção 1:1 obtida por moagem.

A comparação dos espectros dos compostos puros, bexaroteno e ácido benzoico, com o espectro da mistura destes dois compostos permite concluir que não há qualquer deslocamento nas bandas observadas, sendo que o espectro da mistura é a soma das contribuições dos compostos puros.

O comportamento térmico desta mistura foi estudado por DSC. A amostra foi aquecida desde 25 °C até 235 °C, com velocidade de varrimento $\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$. Na figura 3.7 estão representados os termogramas do primeiro aquecimento da mistura e dos compostos puros.

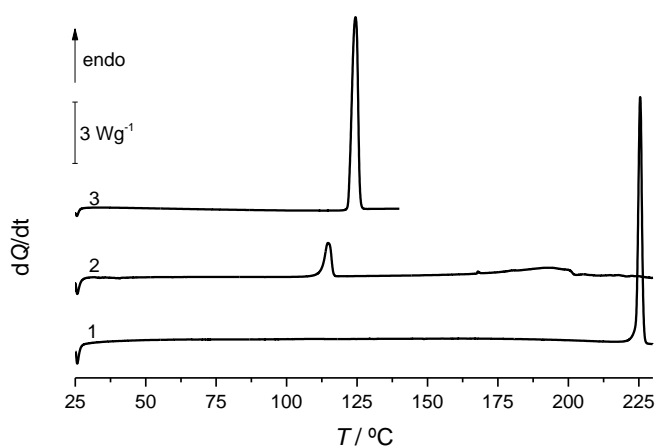


Figura 3.7 – Curvas de DSC de aquecimento para: 1. bexaroteno; 2. mistura de bexaroteno e ácido benzoico (1:1); 3. ácido benzoico. $\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$.

A partir da análise da curva de DSC obtida para a mistura de bexaroteno e ácido benzoico, curva 2, pode-se prever que se trata de um sistema eutético pois observa-se um pico estreito a 112,6 °C correspondente à fusão da mistura eutética e um pico largo a 193,2 °C, correspondente à fusão do composto em excesso. Como forma de comprovar esta conclusão foi determinado o diagrama de fases previsto teoricamente para o sistema bexaroteno/ácido benzoico a partir dos valores de temperatura e entalpia de fusão dos compostos puros utilizando a equação de Schröder-van Laar, figura 3.8.

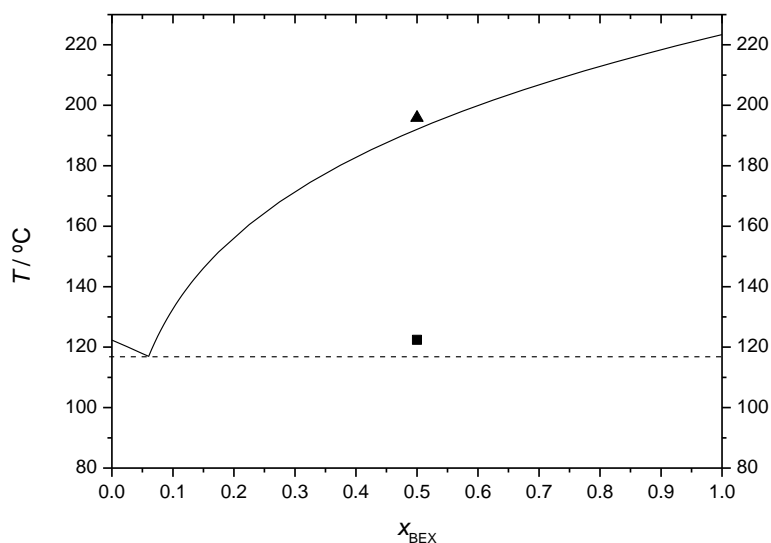


Figura 3.8 – Diagrama de fases sólido-líquido simulado para o sistema binário bexaroteno e ácido benzoico utilizando a equação de Schröder-van Laar: --- *solidus*; — *liquidus*; ■ $T_{\text{fus, mistura eutética}}$; ▲ T_{liquidus} .

A figura 3.8 mostra que os valores experimentais obtidos, T_{solidus} e T_{liquidus} , estão de acordo com o diagrama, previsto pela equação de Schröder-van Laar, para a formação de um sistema eutético. A partir do exposto anteriormente, conclui-se que não é possível, através de métodos mecanoquímicos, a obtenção de cocrystal entre o bexaroteno e o ácido benzoico nestas condições.

3.2.2 Sistema Bexaroteno + Ácido tartárico

A mistura de bexaroteno e ácido tartárico obtida por moagem nas condições indicadas na tabela 2.4 foi analisada por espectroscopia de infravermelho, apresentando-se os espectros de FTIR-ATR dos compostos puros e da mistura de bexaroteno e ácido tartárico, na figura 3.9.

O espectro de infravermelho do ácido tartárico está bem caracterizado quanto aos seus modos vibracionais. [126] Esta informação facilita a interpretação das bandas referentes ao ácido tartárico no espectro da mistura. Assim, a banda que aparece no espectro do ácido tartárico a 3401 cm^{-1} é atribuída à vibração de alongação do grupo hidroxilo ligado ao grupo carbonilo e não sofre alteração da posição no espectro da mistura. No entanto, observa-se um desvio para a banda característica do grupo hidroxilo que se observa a 3333 cm^{-1} no ácido tartárico para 3360 cm^{-1} na mistura. As bandas características do grupo carbonilo que no

ácido tartárico se observam a 1739 cm^{-1} e 1717 cm^{-1} são deslocadas para 1747 cm^{-1} e para 1732 cm^{-1} na mistura.

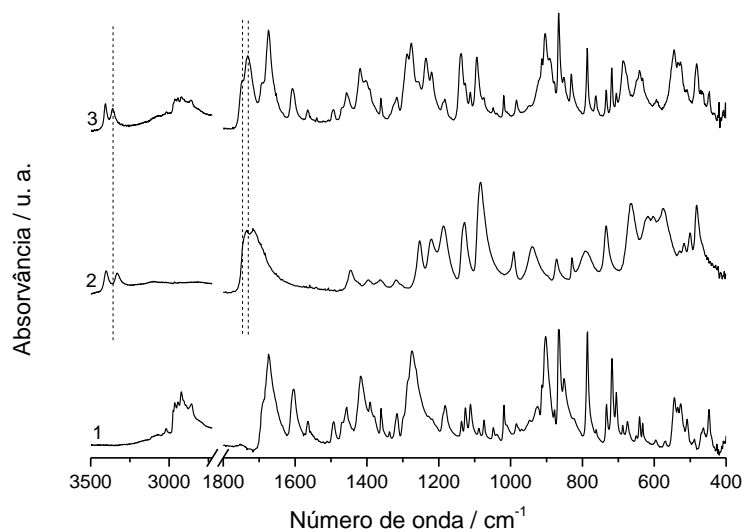


Figura 3.9 – Espectros FTIR-ATR de: 1. bexaroteno; 2. ácido tartárico; 3. mistura de bexaroteno e ácido tartárico na proporção 1:1 obtida por moagem.

Na figura 3.10 apresenta-se o difratograma experimental de raios-X de pó para a mistura de bexaroteno e ácido tartárico obtida por moagem e os difratogramas simulados, a partir de dados cristalográficos de raios-X de monocristal depositados na CCDC, do bexaroteno e do ácido tartárico.

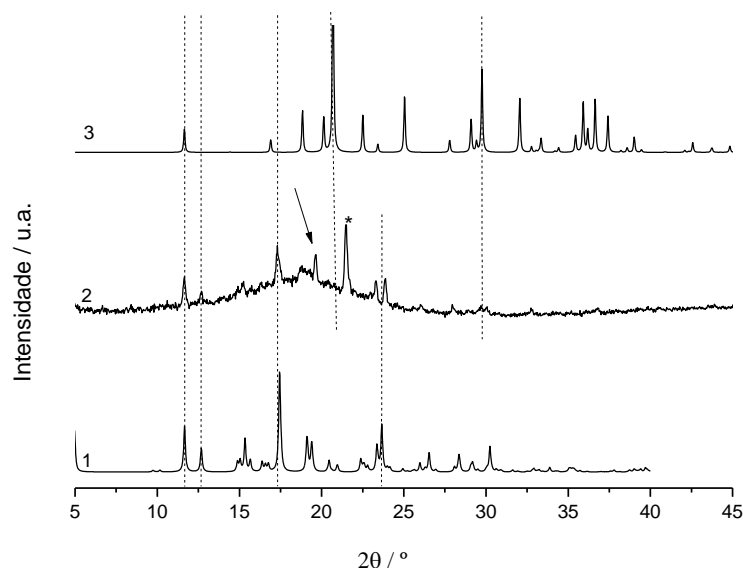


Figura 3.10 – Difratogramas de raios-X de pó: 1. simulado para o bexaroteno; 2. experimental obtido da mistura de BEX:TA (1:1), *vaselina; 3. simulado para o ácido tartárico.

Na figura 3.10 estão assinaladas algumas linhas a tracejado características dos compostos puros, nomeadamente a $11,6^\circ$ e $12,7^\circ$ que são picos observados no difratograma do bexaroteno os quais também estão presentes no difratograma da mistura. Já as linhas a $20,7^\circ$ e $29,8^\circ$ que assinalam picos característicos do difratograma do ácido tartárico, não são visíveis no difratograma da mistura. Ainda no difratograma da mistura são assinaladas com uma seta uma figura de difração a $19,7^\circ$ que não se observa nos difratogramas dos compostos puros. Deste modo, constata-se que a mistura apresenta um novo arranjo cristalino que poderá ser o de um cocrystal, o que vem corroborar a informação obtida por infravermelho.

A curva de DSC do aquecimento de 25°C até 250°C , com velocidade de varrimento $\beta = 10^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$, para esta mistura encontra-se na figura 3.11 (ensaio 1 e 2), assim como as dos compostos puros.

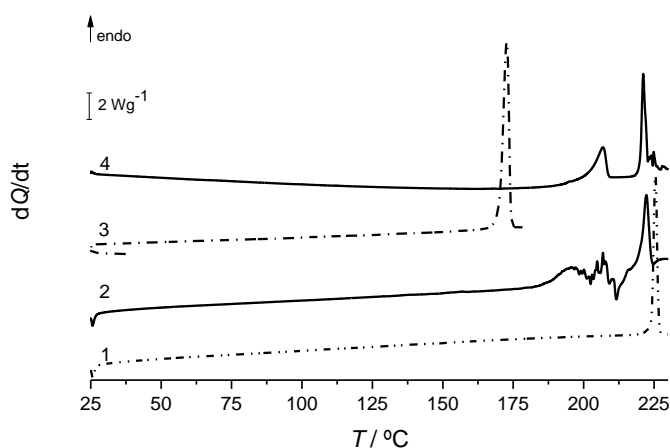


Figura 3.11 – Curvas de DSC de aquecimento para: 1. bexaroteno; 2. mistura de bexaroteno e ácido tartárico (1:1), ensaio 1; 3. ácido tartárico; 4. mistura de bexaroteno e ácido tartárico (1:1), ensaio 2. $\beta = 10^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$.

A figura 3.11 mostra que no aquecimento da mistura de bexaroteno e ácido tartárico, na proporção 1:1, ocorreram dois eventos endotérmicos compreendidos entre as temperaturas de fusão do ácido tartárico, $170,2^\circ\text{C}$, e do bexaroteno, $223,3^\circ\text{C}$. É de referir que o primeiro evento endotérmico ocorre 20°C acima do ponto de fusão do ácido tartárico, parecendo indicar que houve uma estabilização do mesmo. No entanto, como o ácido tartárico se degrada imediatamente após a fusão [106], a interpretação das curvas de DSC da mistura é dificultada.

A partir dos resultados obtidos por infravermelho, XRPD, e DSC conclui-se, assim, que ocorreu a formação de cocrystal com bexaroteno e ácido tartárico, necessitando este sistema de mais estudo.

3.2.3 Sistema Bexaroteno + Cafeína

A mistura de bexaroteno e cafeína foi feita por mecanoquímica nas condições indicadas na tabela 2.4. Após a moagem, o sólido obtido foi analisado por espectroscopia de infravermelho. Na figura 3.12 apresenta-se o espectro de infravermelho da mistura, bem como os espectros dos compostos puros.

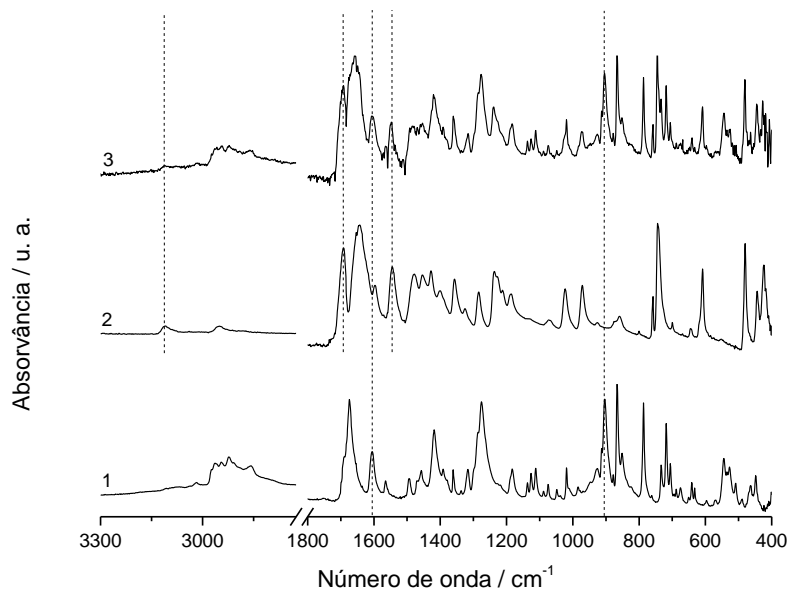


Figura 3.12 – Espectros FTIR-ATR de: 1. bexaroteno; 2. cafeína; 3. mistura de bexaroteno e cafeína na proporção 1:1 obtida por moagem.

A comparação dos espectros permite concluir que não há qualquer deslocamento nas bandas observadas, assinalando-se com linhas a tracejado na figura, algumas das bandas características dos compostos puros que se observam também no espectro da mistura. O espectro da mistura é a soma das contribuições dos compostos puros.

Também se estudou o comportamento térmico da amostra de bexaroteno e cafeína por DSC, aquecendo-se a mistura de 25 °C até 250 °C, com velocidade de varrimento $\beta = 10 \text{ } ^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$. Na figura 3.13 estão representados os termogramas do primeiro aquecimento da mistura e dos compostos puros.

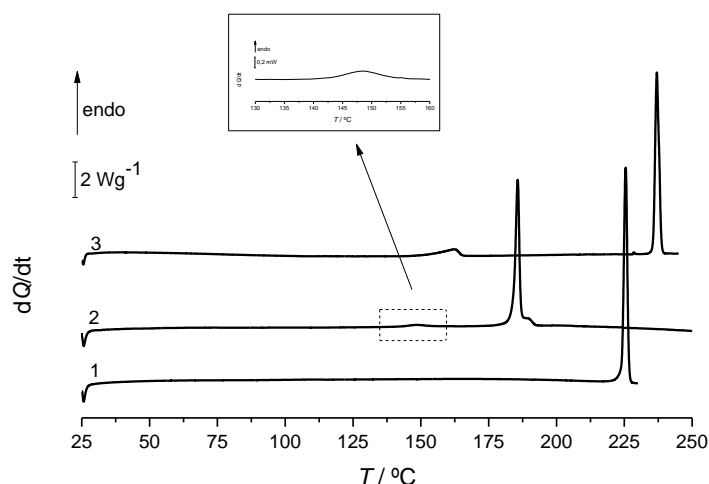


Figura 3.13 – Curvas de DSC de aquecimento para: 1. bexaroteno; 2. mistura de bexaroteno e cafeína, na proporção 1:1; 3. cafeína. $\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$.

Para esta mistura, curva 2, observa-se a 144,3 °C, um pico endotérmico pouco energético que pode ser atribuído a uma transição sólido-sólido da forma α para a forma β da cafeína [94] e dois picos endotérmicos a cerca de 184,1 °C e a 190,0 °C. A observação do termograma da mistura parece evidenciar a fusão de uma mistura eutética seguida da fusão do composto em excesso. Os valores de temperatura destas duas transformações foram colocados no diagrama de fases simulado para este sistema usando a equação de Schröder-van Laar, figura 3.14.

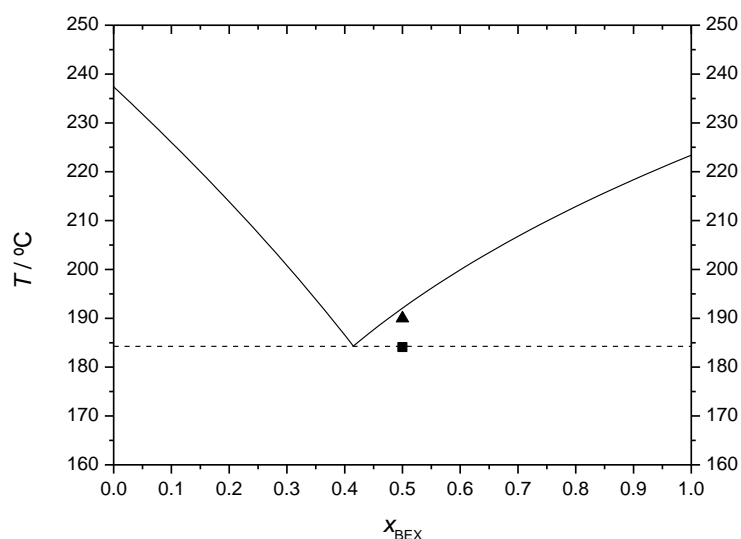


Figura 3.14 – Diagrama de fases sólido-líquido simulado para o sistema binário bexaroteno e cafeína utilizando a equação de Schröder-van Laar: --- solidus; — liquidus; ■ T_{fus} , mistura eutética; ▲ T_{liquidus} .

Verifica-se, pela análise do diagrama, que as temperaturas obtidas experimentalmente correspondentes à fusão da mistura eutética e à fusão do excesso de bexaroteno, não se afastam do previsto para um diagrama de fases de um sistema com eutético simples. Conclui-se, assim, que não se está perante um novo arranjo cristalino, e portanto, não há formação de cocrystal entre estes dois compostos nas condições experimentais utilizadas.

3.2.4 Sistema Bexaroteno + Pirazinamida

Como nos ensaios de obtenção de cocrists de bexaroteno é utilizada a mecanoquímica assistida por solvente, fez-se a moagem da pirazinamida, nas mesmas condições, com o intuito de verificar possíveis alterações em relação à amostra comercial que se encontra na forma polimórfica α . Na figura 3.15 está o registo do comportamento térmico da pirazinamida após a moagem para um aquecimento de 25 °C até 200 °C com velocidade de varrimento de $\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$. De 25 °C até 40 °C não há qualquer alteração, pelo que a curva só está representada a partir desse valor de temperatura.

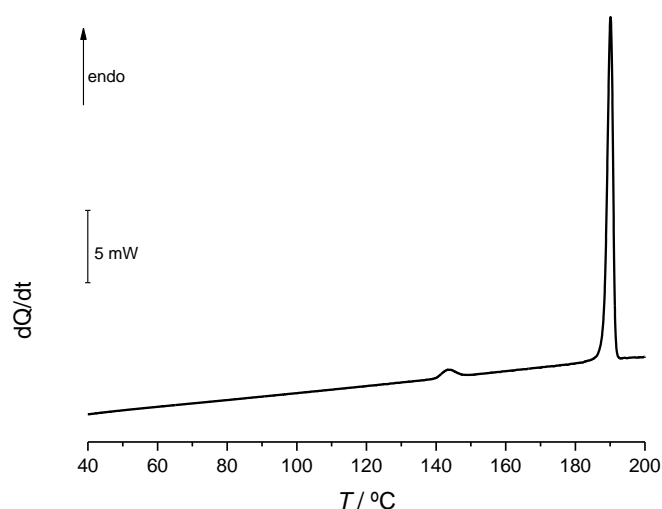


Figura 3.15 – Curva de DSC de aquecimento da pirazinamida comercial, forma α , obtida por moagem; $m = 1,31 \text{ mg}$; $\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$.

Pela análise da curva de DSC constata-se uma transição sólido-sólido a 140,4 °C e a fusão a 188,3 °C correspondentes a duas transições de fase endotérmicas características da pirazinamida comercial. Na transição sólido-sólido a forma polimórfica α transforma-se na forma γ ocorrendo a sua fusão à temperatura indicada. [84]

Os espetros de infravermelho correspondentes à amostra comercial sem moagem (1) e com moagem (2) estão apresentados na figura 3.16.

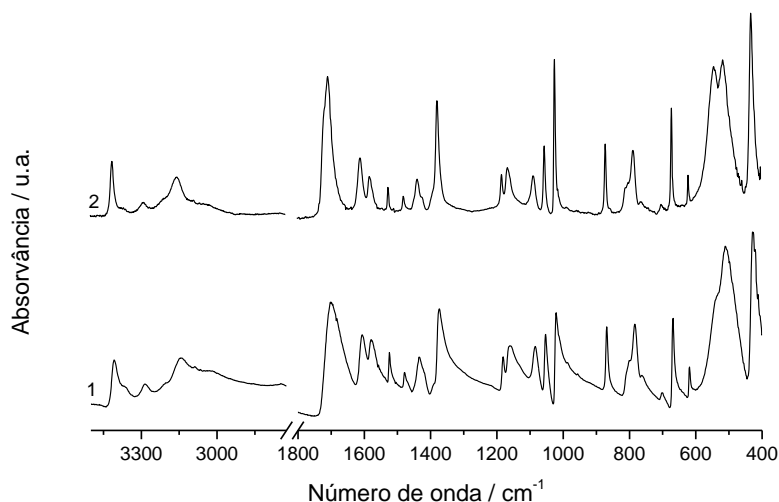


Figura 3.16 – Espectros de FTIR-ATR da amostra comercial de pirazinamida: 1. sem moagem; 2. com moagem.

A comparação dos espectros permite concluir que a amostra de pirazinamida com e sem moagem corresponde ao polimorfo α , sendo de salientar a banda a 3412 cm^{-1} característica da elongação assimétrica N–H (NH_2) e outra a 1707 cm^{-1} associada ao modo vibracional amida I (elongação do grupo carbonilo e deformação angular do NH_2), características desta forma polimórfica. Conclui-se, assim, que a pirazinamida não sofre qualquer transição polimórfica durante o processo de moagem.

Na figura 3.17 estão representadas as curvas de DSC da mistura equimolar de bexaroteno e pirazinamida, preparada por mecanoquímica nas condições indicadas na tabela 2.4, e dos compostos puros para o primeiro aquecimento.

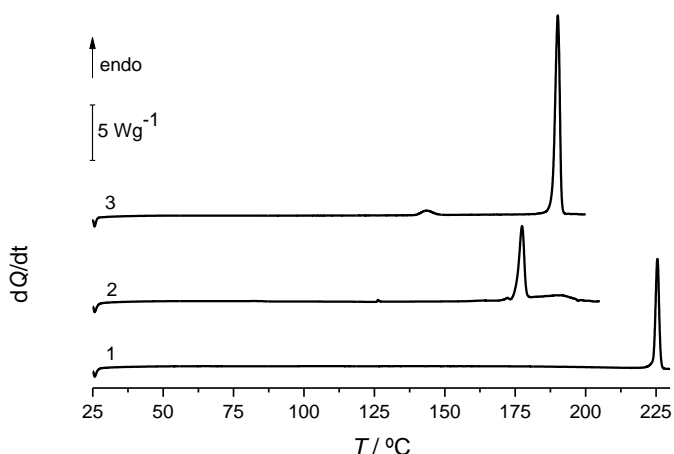


Figura 3.17 – Curvas de DSC de aquecimento para: 1. bexaroteno; 2. mistura de bexaroteno e pirazinamida na proporção de 1:1; 3. pirazinamida. $\beta = 10\text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$.

A curva 2 regista dois picos endotérmicos correspondentes à fusão da mistura eutética a 175,4 °C com entalpia de fusão de 41,6 kJ·mol⁻¹ e a fusão do excesso de bexaroteno a 191,6 °C.

Na figura 3.18 está representado o diagrama de fases sólido-líquido simulado para este sistema, em que é possível identificar os dois pontos experimentais que não se afastam muito dos resultados teóricos, previstos pela equação de Schröder-van Laar.

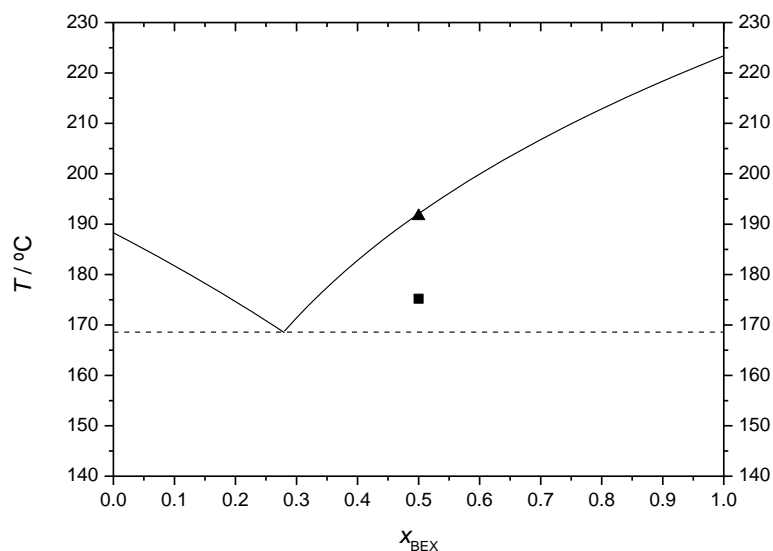


Figura 3.18 – Diagrama de fases sólido-líquido simulado para o sistema binário bexaroteno e pirazinamida utilizando a equação de Schröder-van Laar: --- solidus; — liquidus; ■ T_{fus} , mistura eutética; ▲ $T_{liquidus}$.

A mistura de bexaroteno e pirazinamida também foi analisada por espectroscopia de infravermelho após a moagem, sendo o espectro obtido o que se inclui na figura 3.19.

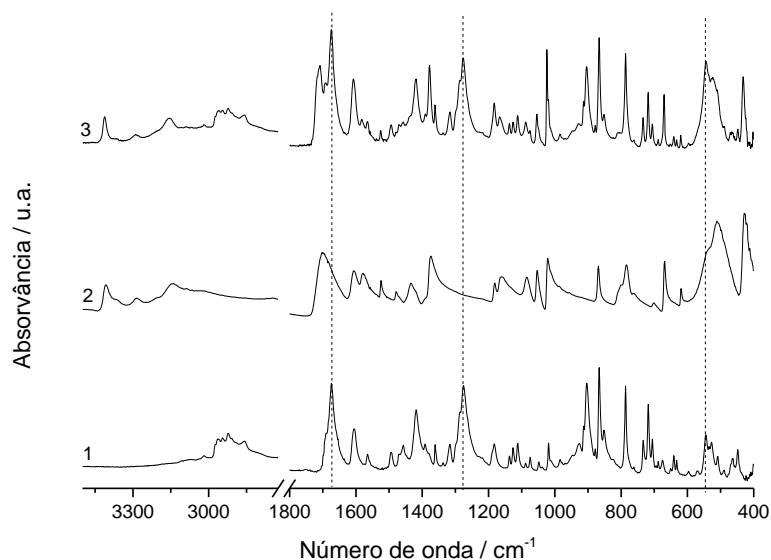


Figura 3.19 – Espectros FTIR-ATR de: 1. bexaroteno; 2. pirazinamida; 3. mistura de bexaroteno e pirazinamida na proporção 1:1 obtida por moagem.

Comparando o espectro da mistura com os espectros de bexaroteno e pirazinamida, espectros 1 e 2, respetivamente, verifica-se que se trata da soma das contribuições dos compostos puros.

Tendo como base os resultados obtidos por DSC e por espectroscopia de infravermelho para este sistema conclui-se, assim, que não há formação de cocrystal entre os dois compostos nestas condições.

3.2.5 Sistema Bexaroteno + Isonicotinamida

O comportamento térmico da amostra de bexaroteno e isonicotinamida, na proporção de 1:1, preparada por mecanoquímica foi estudado, aquecendo-se a mistura de 25 °C até 232 °C, com velocidade de varrimento $\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$. Na figura 3.20 estão representadas os termogramas do primeiro aquecimento da mistura, do bexaroteno e da isonicotinamida, forma I, forma comercial. A forma I transforma-se na forma II por moagem assistida por etanol, sendo esta a forma mais estável à temperatura ambiente. [66, 67]

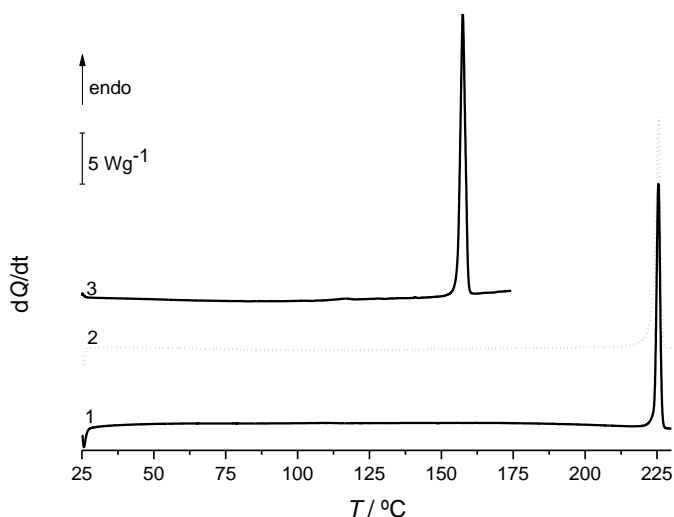


Figura 3.20 – Curvas de DSC de aquecimento para: 1. bexaroteno; 2. mistura de bexaroteno e isonicotinamida na proporção de 1:1; 3. isonicotinamida forma I. $\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$.

Analisando o termograma obtido, curva 2, verifica-se que a mistura de bexaroteno e isonicotinamida apresenta um pico endotérmico correspondente a um processo de fusão a 223,7 °C, com entalpia de fusão de $\Delta_{\text{fus}}H = 73,0 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$, superior à temperatura de fusão da isonicotinamida a 155,5 °C e semelhante à do bexaroteno a 223,3 °C. O pico apresentado é estreito o que é característico de um composto puro, mas poderá corresponder à fusão de um eutético. Para esclarecer a natureza da mistura bexaroteno/isonicotinamida, a amostra

foi analisada por FTIR-ATR. Na figura 3.21 são apresentados os espectros de FTIR-ATR do BEX e INA, forma II, puros e da mistura BEX:INA (1:1).

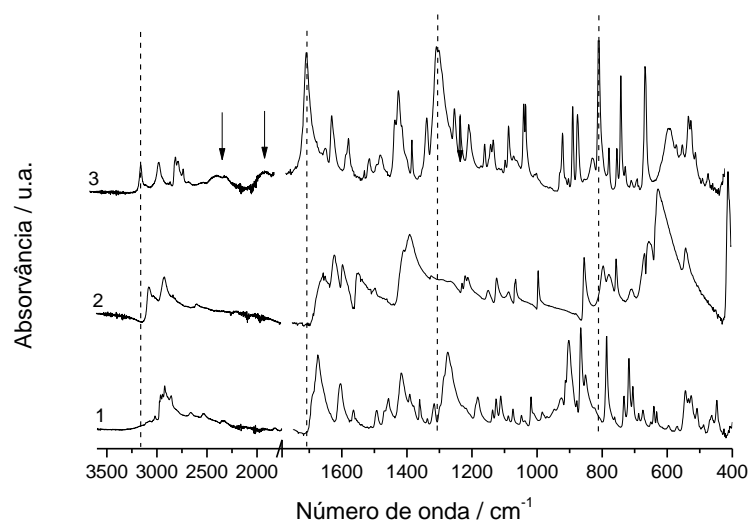


Figura 3.21 – Espectros FTIR-ATR de: 1. bexaroteno; 2. Isonicotinamida, forma II; 3. mistura de bexaroteno e isonicotinamida na proporção 1:1 obtida por moagem.

No espectro apresentado para esta mistura, espectro 3, observam-se algumas alterações relativamente aos espectros dos compostos puros. Uma das alterações está relacionada com as bandas a cerca de 2454 cm^{-1} e 1874 cm^{-1} , assinaladas pelas setas na figura 3.21, características do heterossintão formado pelos grupos ácido carboxílico-átomo de azoto do anel piridina. [127] No espectro da isonicotinamida, forma II, as bandas correspondentes à vibração de elongação do NH_2 assimétrica e simétrica localizadas a 3357 cm^{-1} e 3167 cm^{-1} , respetivamente, deslocaram-se para 3375 cm^{-1} e 3155 cm^{-1} no espectro da mistura. Observa-se no espectro do bexaroteno uma banda a 1674 cm^{-1} na região de elongação do grupo $\text{C}=\text{O}$ havendo um deslocamento para 1686 cm^{-1} no espectro do cocrystal.

Na figura 3.22 apresenta-se o difratograma experimental de raios-X de pó para a mistura BEX:INA (1:1) e os difratogramas simulados a partir de dados cristalográficos de raios-X de monocristal depositados na CCDC do BEX e da INA, forma II.

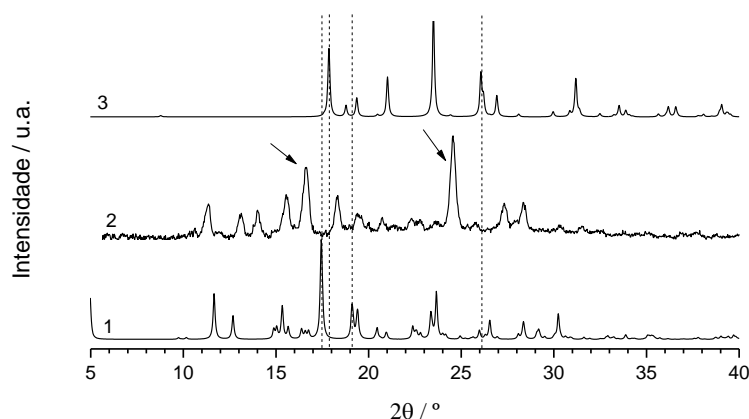


Figura 3.22 – Difratogramas de raios-X de pó: 1. simulado para o bexaroteno; 2. experimental obtido da mistura de BEX:INA (1:1); 3. simulado para a isonicotinamida, forma II.

Na observação do difratograma da mistura são identificadas novas reflexões relativamente às dos compostos puros, como sejam $2\theta = 24,5^\circ$ e $16,7^\circ$, que se encontram assinaladas com setas na figura 3.22, confirmando a presença de um novo arranjo no estado sólido, como é esperado pela formação do cocrystal. São também assinaladas com linhas a tracejado algumas das principais figuras de difração dos compostos puros que não são observadas no difratograma da mistura, como sejam as reflexões a $17,9^\circ$ e $26,1^\circ$ para a isonicotinamida, forma II, e a $17,5^\circ$ para o bexaroteno.

Prosseguindo o estudo de caracterização da mistura, esta foi novamente analisada por DSC efetuando-se dois ciclos de aquecimento/arrefecimento entre 25°C e 232°C , como é visível na figura 3.23.

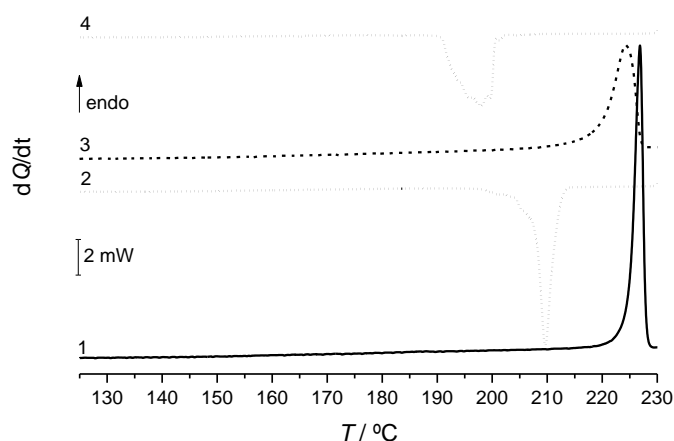


Figura 3.23 – Curvas de DSC da mistura de bexaroteno e isonicotinamida na proporção 1:1 obtida por moagem: 1. primeiro aquecimento; 2. primeiro arrefecimento; 3. segundo aquecimento; 4. segundo arrefecimento; $m = 1,36\text{ mg}$; $\beta = 10^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$.

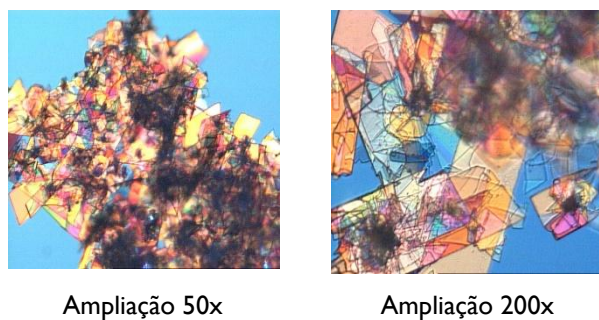
Pela análise dos termogramas pode concluir-se que o cocrystal também se forma por arrefecimento do fundido uma vez que, por aquecimento do sólido obtido após cristalização do fundido, observa-se a existência de um único pico endotérmico a um valor de temperatura próximo do valor de temperatura obtido para a fusão do cocrystal. A formação de cocrystal por arrefecimento do fundido foi confirmada pela análise do espectro de FTIR-ATR da mistura após este ensaio de DSC, pois é igual ao do cocrystal obtido diretamente por moagem.

Procurou-se obter cristais de dimensão adequada ao estudo por difração de raios-X de monocristal. Para tal, seguiu-se a estratégia da cristalização incongruente desenvolvida por Joop H. ter Horst e colaboradores, [128, 129] na qual se prepara uma solução em que o API e o coformador estão perto da saturação. Nestas condições é provável que precipite o cocrystal. Com base nos valores de solubilidade da isonicotinamida em etanol a 25 °C, $x_{\text{INA/etanol}} = 0,0333$ [66, 128] e do bexaroteno em etanol 0,5 mg/mL [130], embora este último seja um valor do fornecedor do produto não havendo valores publicados, foi possível estabelecer as condições para preparar uma solução como a seguir se descreve.

Num frasco dissolveu-se 54,17 mg de isonicotinamida em 1 mL de etanol e levou-se 1 min aos ultrassons, pelo que a dissolução foi completa. Em seguida adicionou-se 5,18 mg de bexaroteno, adicionando-se etanol até obter completa dissolução do bexaroteno a qual foi conseguida após adição de mais 1,5 mL de etanol. Tapou-se o frasco de modo a minimizar a evaporação do etanol. A solução foi mantida a uma temperatura de 2 °C.

Como foi necessário adicionar mais etanol do que o previsto na literatura para solubilização completa, conclui-se que o valor da solubilidade do bexaroteno em etanol não será o correto.

Passada uma semana fez-se a filtração por vácuo com lavagem dos cristais com etanol arrefecido a 2 °C, de modo a que os cristais obtidos não fossem solubilizados. A análise do sólido obtido nestas condições por FTIR-ATR permitiu concluir que estes cristais correspondem ao cocrystal de bexaroteno e isonicotinamida também obtido por moagem. Na figura 3.24 encontram-se duas imagens obtidas por termomicroscopia com luz polarizada dos cristais à temperatura ambiente.

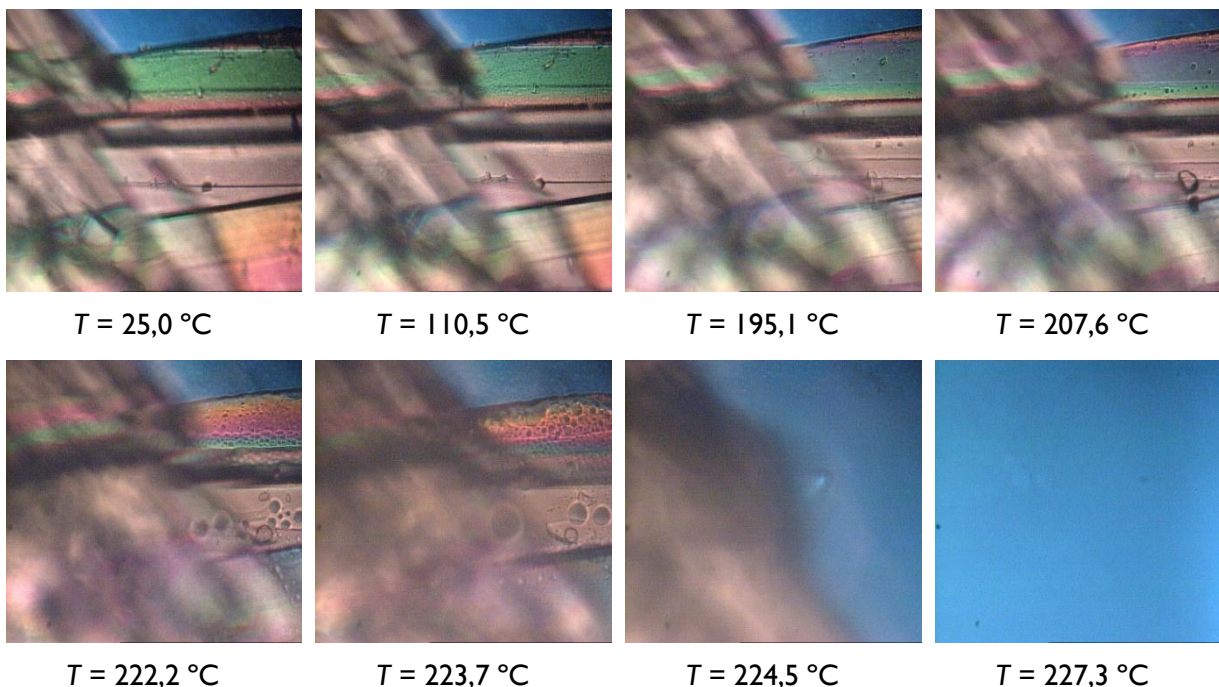


Ampliação 50x

Ampliação 200x

Figura 3.24 – Imagens de cristais de bexaroteno:isonicotinamida obtidos em solução de etanol, registadas por termomicroscopia com luz polarizada à temperatura ambiente.

Com os cristais obtidos em solução de etanol também foi possível fazer o seu estudo por PLTM. Algumas das imagens obtidas no aquecimento de 25 °C até 250 °C, a uma velocidade de varrimento de 10 °C·min⁻¹ são apresentadas na figura 3.25.



$T = 25,0 \text{ } ^\circ\text{C}$

$T = 110,5 \text{ } ^\circ\text{C}$

$T = 195,1 \text{ } ^\circ\text{C}$

$T = 207,6 \text{ } ^\circ\text{C}$

$T = 222,2 \text{ } ^\circ\text{C}$

$T = 223,7 \text{ } ^\circ\text{C}$

$T = 224,5 \text{ } ^\circ\text{C}$

$T = 227,3 \text{ } ^\circ\text{C}$

Figura 3.25 – Imagens de PLTM recolhidas no aquecimento de BEX:INA (1:1) obtidos em solução de etanol a 2 °C; $\beta = 10 \text{ } ^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$; ampliação 200x.

Pela análise das imagens verifica-se o início da fusão a $\sim 223,7 \text{ } ^\circ\text{C}$ o que está de acordo com a temperatura de fusão do cocrystal determinada por DSC.

Estes cristais foram analisados com sucesso por difração de raios-X de monocristal, apresentando-se na figura 3.26 o diagrama ORTEP, mostrando o esquema de numeração dos átomos da estrutura cristalina do cocrystal de BEX:INA.

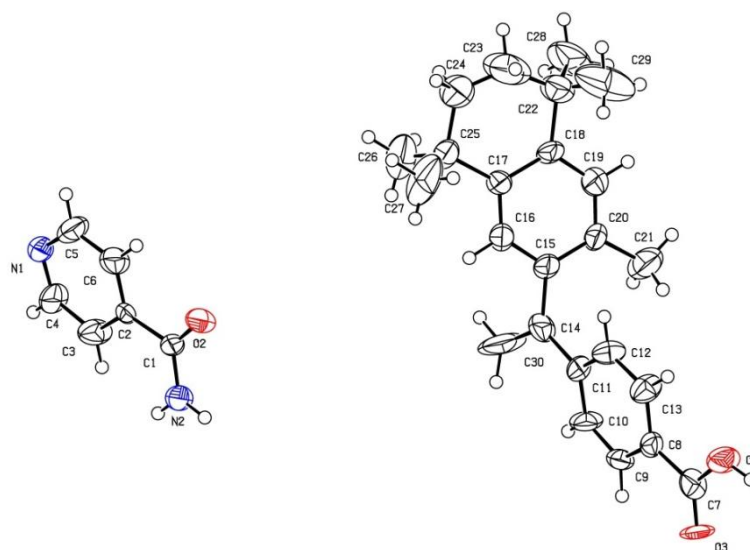


Figura 3.26 – Diagrama ORTEP do cocrystal BEX:INA. Os elipsoides são desenhados a um nível de probabilidade de 50%.

A rede de ligações de hidrogénio do cocrystal bexaroteno:isonicotinamida é apresentada na figura 3.27.

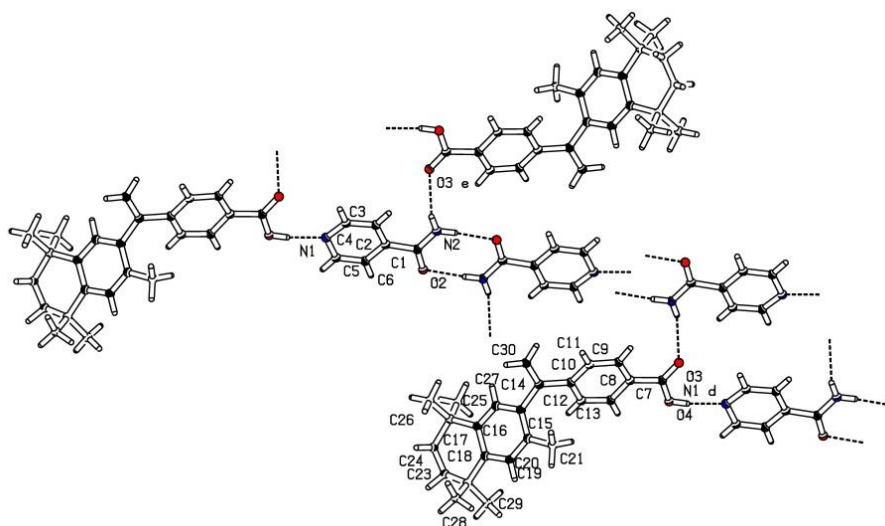


Figura 3.27 – Rede de ligações de hidrogénio de BEX:INA. As ligações de hidrogénio são desenhadas com linhas a tracejado.

A análise da figura e os parâmetros geométricos das ligações de hidrogénio apresentados na tabela 3.3 permitem identificar o heterossintão entre o hidroxilo do grupo ácido do bexaroteno e o azoto aromático da isonicotinamida, O4–H4...N1, conforme já se tinha antecipado pelas informações retiradas da análise dos espectros de infravermelho. Outra informação importante é a formação de dímeros entre as moléculas de isonicotinamida, N2–H2A...O2. Verifica-se ainda que o grupo carbonilo do bexaroteno estabelece uma ligação de hidrogénio com o NH da isonicotinamida, N2–H2B...O3.

Tabela 3.3 – Parâmetros geométricos das ligações de hidrogénio existentes na estrutura cristalina do cocrystal BEX:INA.

Dador...Aceitador	H...A / Å	D...A / Å	D–H...A / °
N2–H2A...O2 ⁱ	2,05	2.903(16)	174
N2–H2B...O3 ⁱⁱ	2,23	3.010(18)	150
O4–H4...N1 ⁱⁱⁱ	1,85	2.638(16)	162

ⁱ 2-x, 1-y, -z

ⁱⁱ 1-x, 2-y, -z

ⁱⁱⁱ x, 2+y, z

Comparando o difratograma obtido experimentalmente para a mistura BEX:INA com o simulado a partir do ficheiro CIF obtido por difração de raios-X de monocristal, figura 3.28, verifica-se uma boa concordância, confirmando que o monocristal analisado corresponde ao cocrystal obtido por moagem.

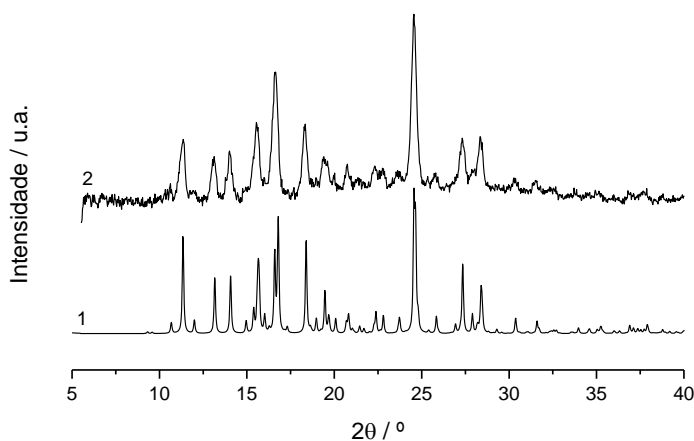


Figura 3.28 – Difratogramas de raios-X para a mistura de BEX:INA (1:1): 1. simulado a partir do ficheiro CIF obtido por difração de raios-X de monocristal; 2. experimental obtido por difração de raios-X de pó.

3.2.6 Sistema Bexaroteno + Picolinamida

A mistura de bexaroteno e picolinamida na proporção 1:1 foi preparada por moagem a 30 Hz por um período de 60 min, com a adição de 5 µL de etanol, no vaso de 1,5 mL com uma bola de 4 mm de diâmetro. Pela análise do espectro de infravermelho da mistura

anterior verificou-se que não ocorreu associação entre os dois compostos, pois o espectro da mistura corresponde à soma dos espectros do bexaroteno e da picolinamida na forma II. Como tal, procedeu-se a uma segunda moagem da mesma mistura, nas mesmas condições, e pelos resultados obtidos por infravermelho e DSC verificou-se que se tratava de uma mistura eutética, figura 3.29 e 3.30, respetivamente.

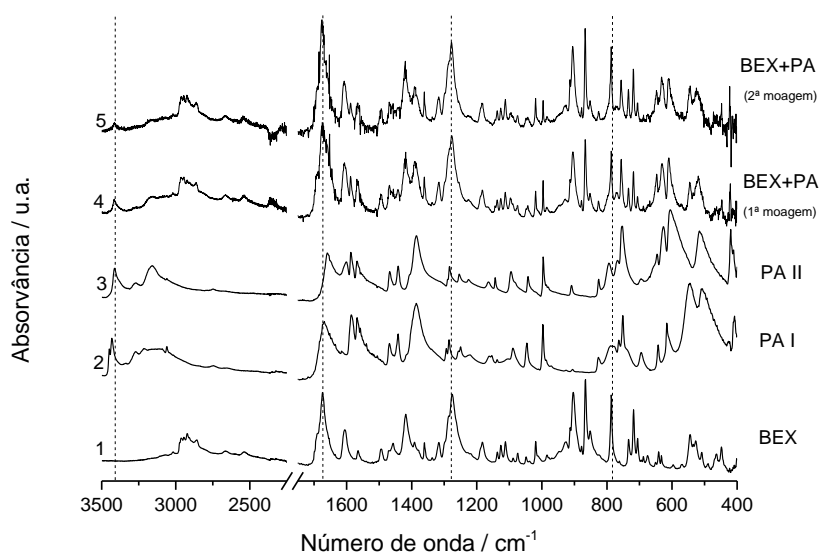


Figura 3.29 – Espectros FTIR-ATR de: 1. bexaroteno; 2. picolinamida, I; 3. picolinamida, II; 4. primeira moagem da mistura de bexaroteno e picolinamida na proporção 1:1; 5. segunda moagem da mistura de bexaroteno e picolinamida na proporção 1:1

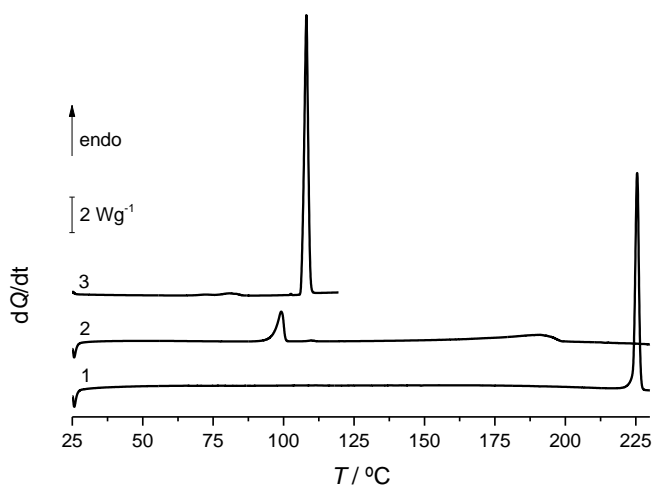


Figura 3.30 – Curvas de DSC de aquecimento para: 1. bexaroteno; 2. segunda moagem da mistura de bexaroteno e picolinamida na proporção de 1:1; 3. picolinamida, II. $\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$.

Na curva 2 de DSC apresentada na figura 3.30 para a mistura de bexaroteno e picolinamida (1:1) observa-se um pico endotérmico a 96,3 °C e um processo de fusão arrastado com temperatura do pico a 191,4 °C, confirmando-se que a mistura é apenas uma

mistura eutética dos dois compostos. Na figura 3.30, a curva 3 corresponde à amostra comercial de picolinamida, polimorfo II, que é a forma que é estabilizada durante a moagem com assistência de etanol, ou seja, não há a conversão para a forma I, como é observado quando a moagem é feita sem adição de solvente, sendo essa conversão dependente do tempo de moagem. [75]

Para prosseguir o estudo deste sistema fez-se uma nova moagem durante 90 min, a uma frequência de 15 Hz, com a adição de 5 μ L de etanol no vaso de 10 mL em que se usaram duas bolas de aço inoxidável de 7 mm de diâmetro. Pela análise do espectro de infravermelho da mistura, verifica-se que este não corresponde à soma dos espectros de bexaroteno e picolinamida, forma II, como se pode observar na figura 3.31.

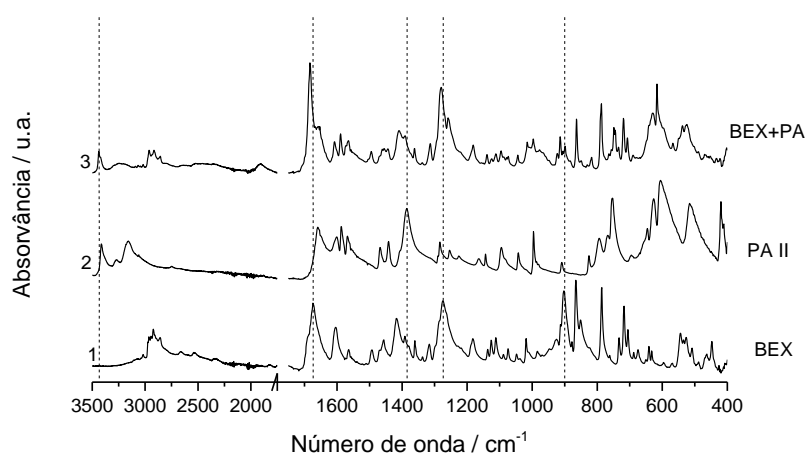


Figura 3.31 – Espectros FTIR-ATR de: 1. bexaroteno; 2. picolinamida, forma II; 3. mistura de bexaroteno e picolinamida na proporção 1:1 obtida por moagem (90 min).

O espectro da mistura BEX+PA apresenta diferenças consideráveis relativamente aos espectros dos compostos puros. São de realçar a vibração de alongação do grupo carbonilo que no BEX ocorre a 1674 cm^{-1} , na PA II a 1662 cm^{-1} e na mistura BEX+PA a 1681 cm^{-1} e o modo vibracional referente à alongação assimétrica do grupo NH_2 que na PA II ocorre a 3417 cm^{-1} e na mistura BEX+PA observa-se a 3375 cm^{-1} . É ainda de realçar o aparecimento das bandas características do heterossintão ácido carboxílico-azoto do anel piridina a $\sim 1908\text{ cm}^{-1}$ e $\sim 2520\text{ cm}^{-1}$.

Os dados de difração de raios-X de pó representados na figura 3.32 para o sistema bexaroteno + picolinamida (1:1) identificam claramente novos arranjos no estado sólido, com reflexões características a $2\theta = 8,6^\circ$; $12,3^\circ$ e $24,6^\circ$, como se esperaria para um sistema com formação de cocrystal, quando comparados com os difratogramas dos compostos puros.

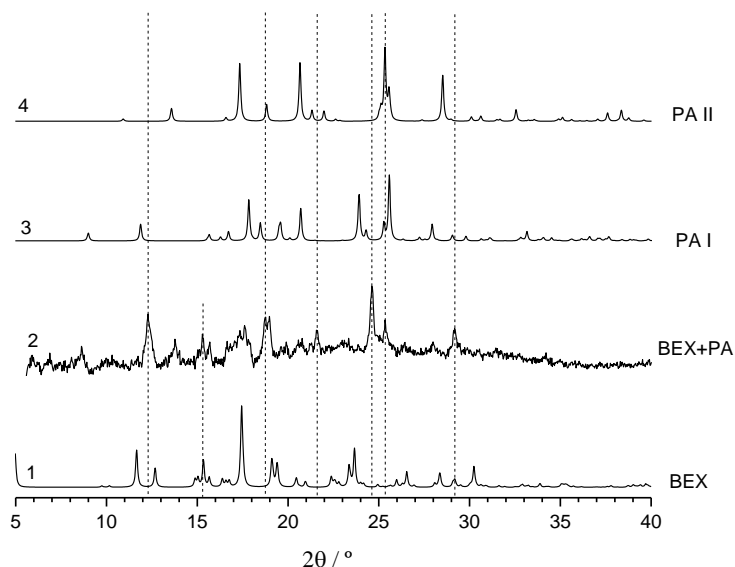


Figura 3.32 – Difratoogramas de raios-X de pó: 1. simulado para o bexaroteno; 2. experimental obtido da moagem da mistura de bexaroteno + picolinamida na proporção 1:1; 3. simulado para o polimorfo I da picolinamida; 4. simulado para o polimorfo II da picolinamida;

Os resultados obtidos por difração de raios-X de pó estão em concordância com os resultados obtidos por espectroscopia de infravermelho.

As curvas de DSC correspondentes ao primeiro aquecimento para a mistura de bexaroteno e picolinamida na proporção 1:1 obtida por moagem (90 min) e para os compostos puros estão ilustradas na figura 3.33.

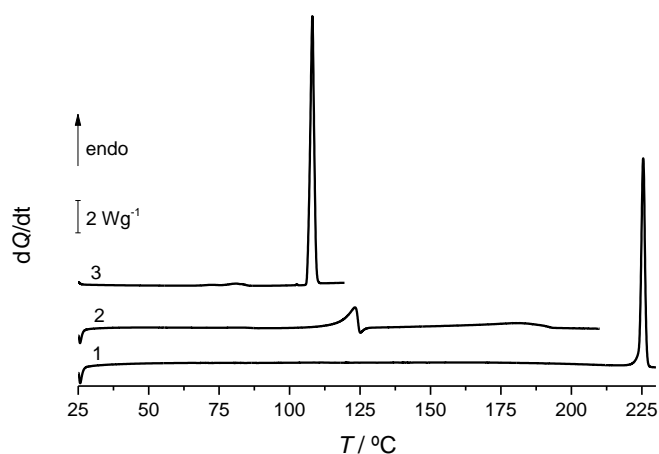


Figura 3.33 – Curvas de DSC de aquecimento para: 1. bexaroteno; 2. mistura de bexaroteno e picolinamida na proporção de 1:1 obtida por moagem (15 Hz, 5 μL de etanol, 90 min); 3. picolinamida, forma II. $\beta = 10 \text{ } ^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$.

Pela análise da curva 2 de DSC da mistura binária, figura 3.33, observa-se um pico endotérmico a 117,7 °C. Imediatamente a seguir regista-se uma cristalização e a 184,2 °C observa-se um pico endotérmico largo que é atribuído à fusão do bexaroteno. Assim, o processo de cristalização registado deverá corresponder à cristalização de bexaroteno proveniente da fusão.

Na figura 3.34 são apresentadas algumas das imagens obtidas por termomicroscopia com luz polarizada para o sistema BEX+PA (1:1) após a moagem de 90 min.

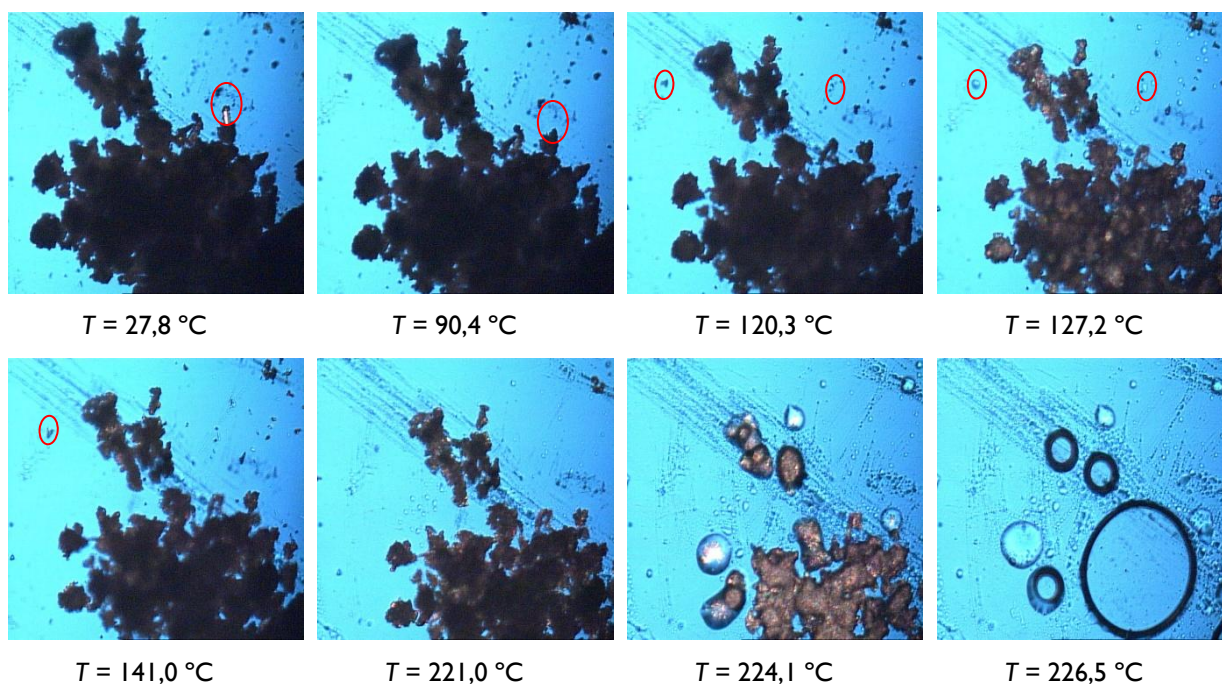


Figura 3.34 – Imagens de PLTM recolhidas no aquecimento da mistura de bexaroteno e picolinamida na proporção 1:1 obtida por moagem (90 min); $\beta = 20 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$; ampliação 200x.

Analisando as imagens verifica-se que a cerca de 90,4 °C terá ocorrido sublimação, pois deixa de ser visível o cristal assinalado na imagem com um círculo vermelho. A 120,3 °C começam a notar-se algumas alterações que correspondem ao início da fusão, registando-se a ocorrência da cristalização do bexaroteno, o que é visível comparando as imagens correspondentes à temperatura de 127,2 °C e 141,0 °C. A 221,0 °C inicia-se a fusão observando-se o desaparecimento dos últimos cristais a 226,5 °C, que é uma temperatura próxima da temperatura de fusão do bexaroteno. Os resultados obtidos estão em consonância com a interpretação do termograma obtido em DSC para este sistema.

O estudo do comportamento térmico desta mistura de BEX+PA (1:1) foi feito por DSC, em que se realizaram três ciclos de aquecimento/arrefecimento entre 25 °C a 230 °C a uma velocidade de varrimento de $10 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$, como mostra a figura 3.35.

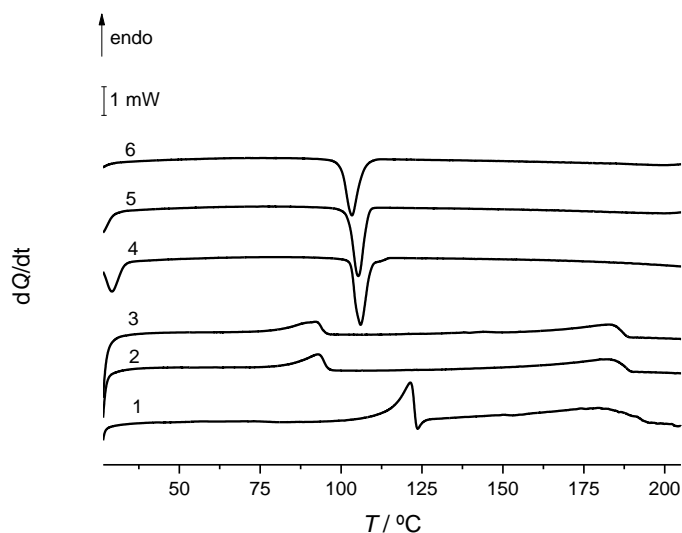


Figura 3.35 – Curvas de DSC da mistura de bexaroteno e picolinamida na proporção de 1:1 para: 1. primeiro aquecimento; 2. segundo aquecimento; 3. terceiro aquecimento; 4. primeiro arrefecimento; 5. segundo arrefecimento; 6. terceiro arrefecimento. $m = 1,48 \text{ mg}$; $\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$.

Pela análise dos termogramas verifica-se que o cocrystal não se forma no arrefecimento do fundido. Sabendo isto, no passo seguinte em que se pretendia estudar o diagrama de fases binário sólido-líquido, teve-se em conta esta informação, e assim, foi estudado o diagrama para o primeiro e segundo aquecimento. Deste modo, foram preparadas misturas com diferentes proporções de bexaroteno e picolinamida, por moagem nas condições que deram origem a formação de cocrystal (15 Hz, 5 μL de etanol, 90 min).

Após cada moagem obtiveram-se os espectros de infravermelho que são mostrados na figura 3.36. Também foram incluídos nesta figura os espectros dos compostos puros para efeito de comparação.

Pela análise da figura 3.36 observa-se que os espectros de infravermelho das misturas de bexaroteno com picolinamida nas diferentes proporções apresentam as bandas características do heterossintão a $\sim 1908 \text{ cm}^{-1}$ e a $\sim 2520 \text{ cm}^{-1}$, indicando a presença de cocrystal.

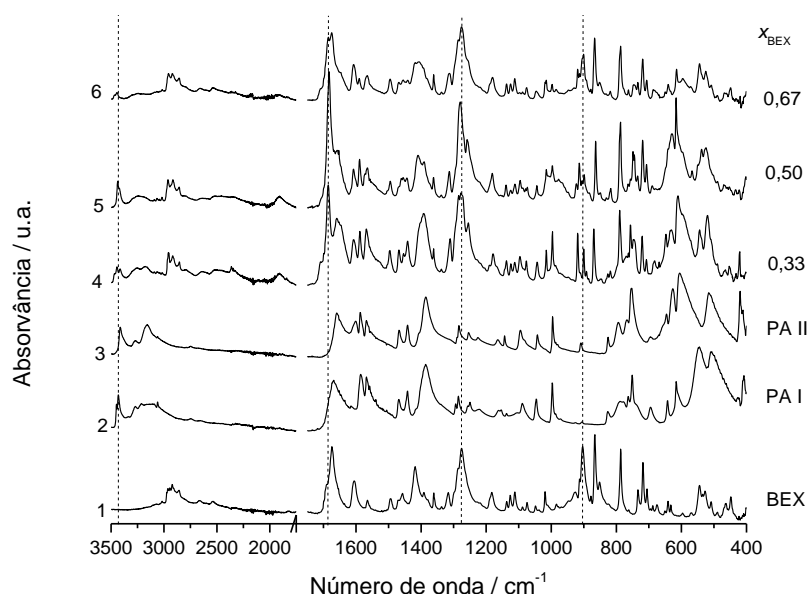


Figura 3.36 – Espectros FTIR-ATR de: 1. bexaroteno; 2. picolinamida, forma I; 3. picolinamida, forma II; 4. $x_{\text{BEX}} = 0,33$; 5. $x_{\text{BEX}} = 0,50$; 6. $x_{\text{BEX}} = 0,67$.

Os termogramas obtidos por calorimetria diferencial de varrimento do primeiro aquecimento são mostrados na figura 3.37 a) e para o segundo aquecimento, figura 3.37 b).

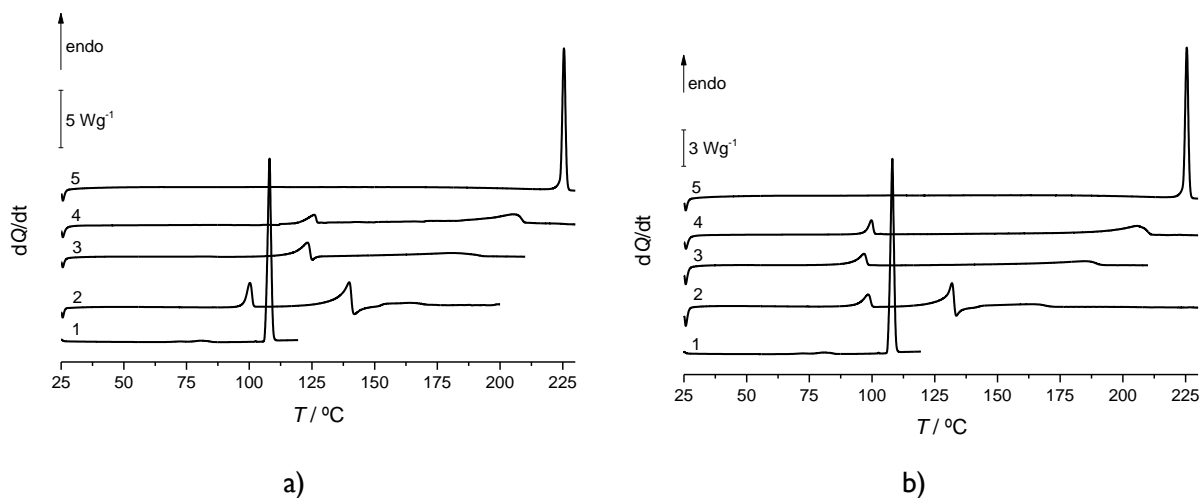


Figura 3.37 – Curvas de DSC para o sistema BEX+PA. 1. picolinamida II, $x_{\text{BEX}} = 0$; 2. $x_{\text{BEX}} = 0,33$; 3. $x_{\text{BEX}} = 0,50$; 4. $x_{\text{BEX}} = 0,67$; 5. bexaroteno, $x_{\text{BEX}} = 1$. a) Primeiro aquecimento; b) Segundo aquecimento. $\beta = 10 \text{ } ^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$

A previsão das temperaturas do *liquidus*, utilizando a equação de Schröder-van Laar, está representada nos diagramas de fases sólido-líquido simulados para o primeiro aquecimento, figura 3.38 a), e para o segundo aquecimento, figura 3.38 b). Nos diagramas foram incluídas as temperaturas do *solidus* dos dois polimorfos da picolinamida, I e II, para entender qual dos dois polimorfos estaria presente na mistura eutética. Os pontos marcados

nos diagramas de fase referem-se às temperaturas das transformações de fase obtidas a partir das curvas de DSC respectivas.

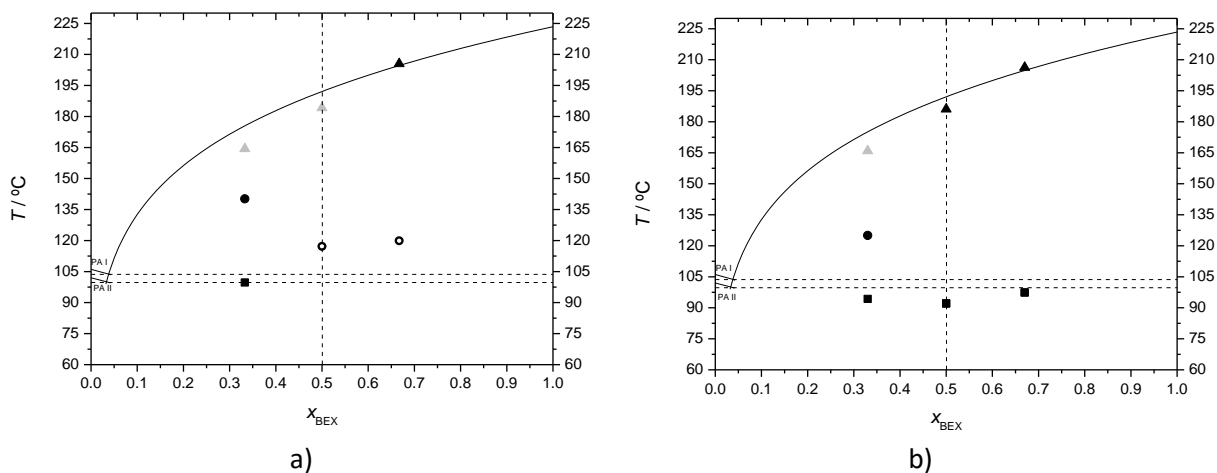


Figura 3.38 – Diagrama de fases sólido-líquido simulado para o sistema binário bexaroteno e picolinamida utilizando a equação de Schröder-van Laar: --- solidus; — liquidus; ■ T_{fus} , mistura eutética; ▲ $T_{liquidus}$. a) Primeiro aquecimento; b) Segundo aquecimento.

A curva 4 do primeiro aquecimento, da figura 3.37 a), reflete o comportamento térmico aquando da presença de excesso de bexaroteno. Pode-se observar um pico endotérmico referente à temperatura de fusão da mistura eutética de cocrystal-bexaroteno e um segundo pico endotérmico arrastado típico da fusão do excesso de bexaroteno. Na curva 3 no primeiro aquecimento, figura 3.37 a), pode-se observar a fusão do eutético de cocrystal-bexaroteno seguida de cristalização do bexaroteno e posterior fusão. As curvas 3 e 4 no segundo aquecimento, figura 3.37 b), refletem o comportamento térmico típico de uma mistura eutética. Assim, podemos observar a fusão da mistura eutética de bexaroteno com picolinamida e a fusão do excesso de bexaroteno, sem a presença de qualquer cristalização. As curvas 2, das figuras 3.37 a) e b), correspondentes à mistura com excesso de picolinamida, apresentam sempre três eventos térmicos. O primeiro evento deverá corresponder à fusão da mistura eutética de cocrystal-picolinamida. O segundo evento será a fusão do excesso do cocrystal seguida de cristalização do bexaroteno e a sua posterior fusão.

A estequiometria do cocrystal deverá estar compreendida entre $0,33 < x_{BEX} < 0,50$.

3.2.7 Sistema Bexaroteno + Nicotinamida

Foram preparadas misturas de bexaroteno e nicotinamida na proporção (1:1), por mecanoquímica, em condições diversas:

- (i) 30 min, 15 Hz, 5 μ L de etanol, vaso de 1,5 mL, esfera de aço inoxidável de 4 mm de diâmetro;

- (ii) 60 min, 15 Hz, 10 μL de etanol, vaso de 10 mL, 2 esferas de aço inoxidável de 7 mm de diâmetro;
- (iii) 90 min, 15 Hz, 5 μL de etanol, vaso de 10 mL, 2 esferas de aço inoxidável de 7 mm de diâmetro.

Foram registrados os espectros de infravermelho das misturas e para os três casos analisados, o espectro obtido corresponde à soma dos espectros dos compostos puros, figura 3.39. Não há deste modo evidência da formação de cocristal de bexaroteno e nicotinamida nestas condições.

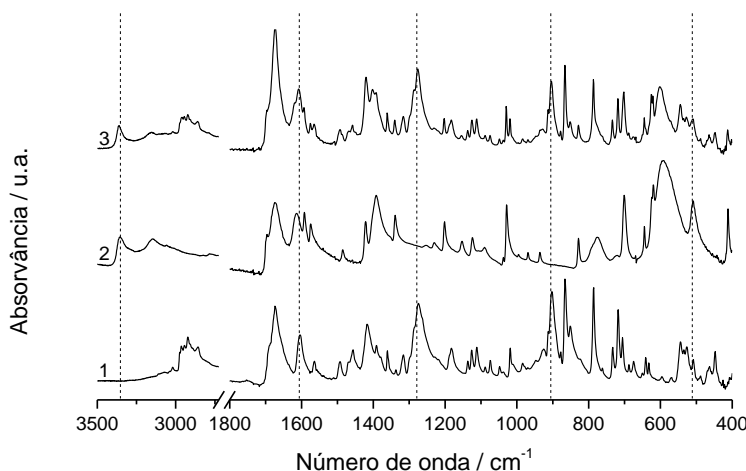


Figura 3.39 – Espectros FTIR-ATR de: 1. bexaroteno; 2. nicotinamida, forma I; 3. mistura de bexaroteno e nicotinamida na proporção 1:1 obtida por moagem.

As três misturas de bexaroteno com nicotinamida preparadas por moagem foram analisadas por DSC em ciclos de aquecimento/arrefecimento em diversas condições:

- (i) Uma amostra, moagem 30 min, foi submetida a dois ciclos de aquecimento/arrefecimento sendo as velocidades de varrimento de $10\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ e $200\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$, respectivamente. Na figura 3.40 a) encontram-se ilustradas as curvas de DSC obtidas no aquecimento da mistura (curva 2 – primeiro aquecimento; curva 3 – segundo aquecimento). Estão também incluídas as curvas de DSC dos compostos puros (curva 1 e 4).
- (ii) Uma amostra, moagem 60 min, foi submetida a três ciclos de aquecimento/arrefecimento a $\beta = 10\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$, figura 3.40 b).
- (iii) Uma amostra, moagem 90 min, foi sujeita a dois ciclos de aquecimento/arrefecimento utilizando em todos os ciclos velocidade de varrimento de $10\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$, figura 3.40 c).

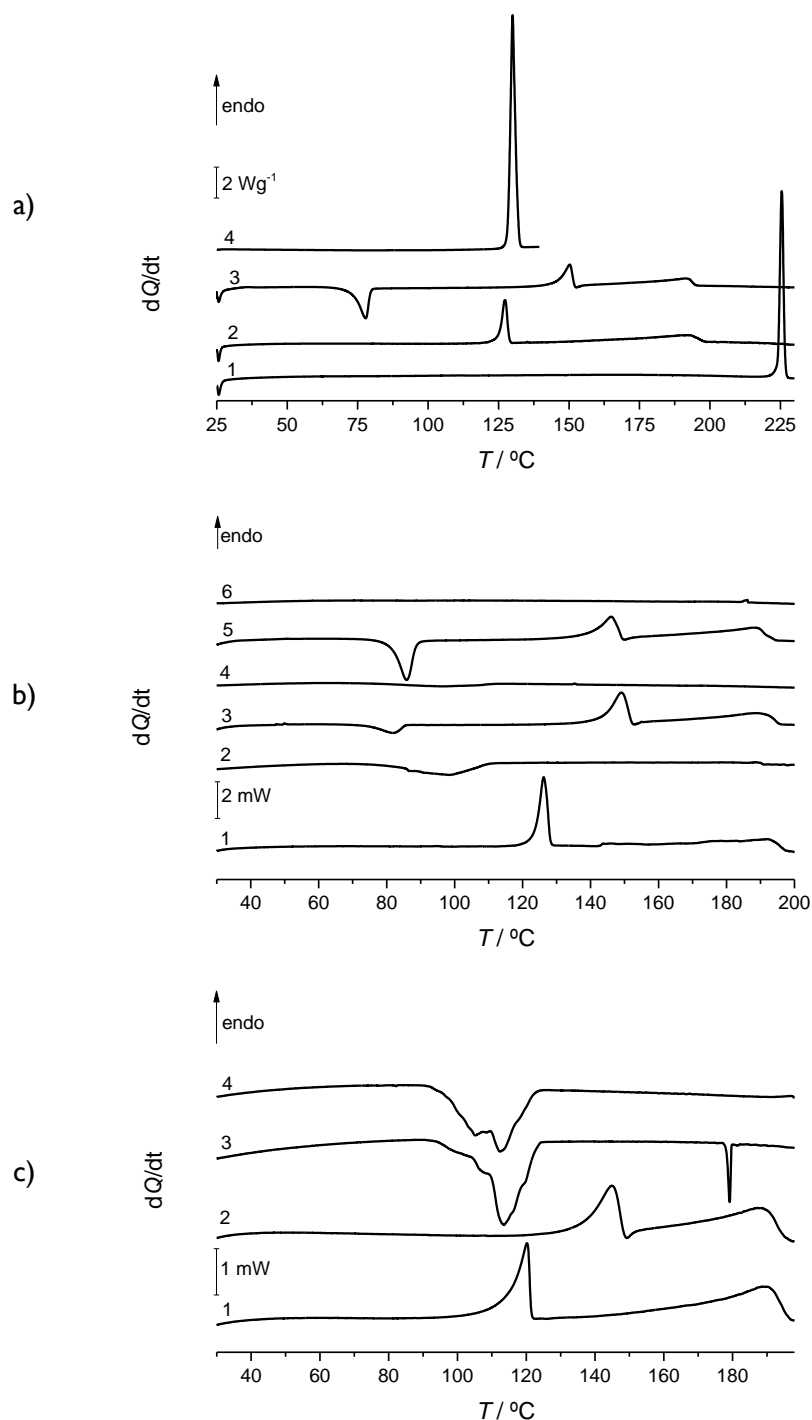


Figura 3.40 – Curvas de DSC: **a)** 1. bexaroteno; 2. primeiro aquecimento da mistura de bexaroteno e nicotinamida na proporção de 1:1 obtida por moagem durante 30 min; 3. segundo aquecimento da mistura de bexaroteno e nicotinamida na proporção de 1:1 obtida por moagem durante 30 min; 4. nicotinamida, forma I. **b)** mistura de bexaroteno e nicotinamida na proporção de 1:1 obtida por moagem durante 60 min: 1. primeiro aquecimento; 2. primeiro arrefecimento; 3. segundo aquecimento; 4. segundo arrefecimento; 5. terceiro aquecimento; 6. terceiro arrefecimento. $m = 1,54$ mg; $\beta = 10$ °C·min⁻¹. **c)** mistura de bexaroteno e nicotinamida na proporção de 1:1 obtida por moagem durante 90 min: 1. primeiro aquecimento; 2. segundo aquecimento; 3. primeiro arrefecimento; 4. segundo arrefecimento. $m = 1,58$ mg; $\beta = 10$ °C·min⁻¹.

A nicotinamida encontra-se na forma polimórfica I, o que é confirmado pela curva 4 da figura 3.40 a), em que se regista apenas um pico endotérmico correspondente à fusão a 128 °C. [64]

Para a mistura equimolar de bexaroteno e nicotinamida referente ao primeiro aquecimento, curva 2 da figura 3.40 a), observa-se um pico endotérmico a 125,2 °C e outro a 193,2 °C. Colocando estes dois pontos no diagrama de fases sólido-líquido simulado pela equação de Schröder-van Laar, figura 3.41, verifica-se que estão de acordo com a equação, sendo que o primeiro evento corresponde à fusão da mistura eutética de bexaroteno com nicotinamida e o segundo à fusão do excesso de bexaroteno.

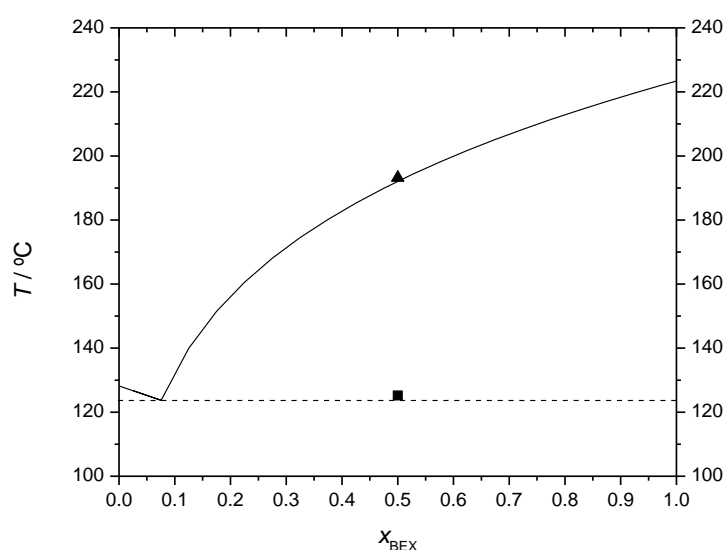


Figura 3.41 – Diagrama de fases sólido-líquido simulado para o sistema binário bexaroteno e nicotinamida utilizando a equação de Schröder-van Laar: --- solidus; — liquidus; ■ T_{fus} , mistura eutética; ▲ $T_{liquidus}$.

A afirmação anterior é corroborada pela informação obtida pela análise do espectro de infravermelho da mistura, espectro 3 da figura 3.39, pelo que se está na presença de um sistema com eutético simples. Analisando o termograma do segundo aquecimento da cápsula, curva 3 da figura 3.40 a), verifica-se a ocorrência de cristalização, *cold-crystallization*, registando-se a fusão do sólido formado a 145,7 °C, 20 °C acima da temperatura de fusão da mistura eutética, seguida imediatamente de um processo de cristalização, e por fim de um processo de fusão que deverá corresponder à fusão do bexaroteno, em tudo idêntica à da curva anterior (curva 2). Deste modo, poderá ter ocorrido a formação de cocrystal durante a *cold-crystallization*.

Na análise da figura 3.40 b) observa-se, tanto no segundo como no terceiro aquecimento, curva 3 e 5, respetivamente, a ocorrência de *cold-crystallization*, seguida de um

pico endotérmico correspondente à fusão de cocrystal com cristalização imediata de bexaroteno e posterior fusão deste.

Nos ensaios em que o arrefecimento do fundido foi efetuado com velocidade de varrimento de $10\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$, curvas 3 e 4 da figura 3.40 c) observa-se cristalização durante o processo de arrefecimento a cerca de $123\text{ }^{\circ}\text{C}$. O segundo aquecimento desta amostra, curva 2 da figura 3.40 c), é idêntico ao do segundo aquecimento da primeira amostra a partir de $120\text{ }^{\circ}\text{C}$, curva 3 figura 3.40 a).

Estes resultados mostram que o bexaroteno e a nicotinamida formam cocrystal a partir do fundido. Esta conclusão é corroborada pelo espectro de infravermelho do sólido obtido por cristalização do fundido, figura 3.42.

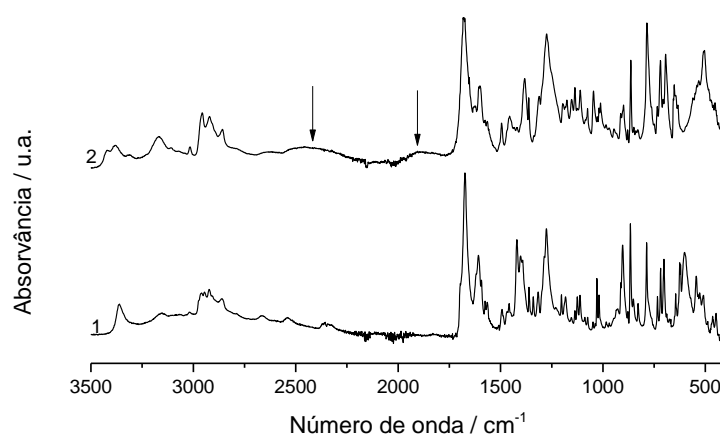


Figura 3.42 – Espectros FTIR-ATR da mistura de bexaroteno e nicotinamida na proporção 1:1: 1. após moagem; 2. arrefecimento do fundido.

As setas assinaladas na figura 3.42 evidenciam as bandas a cerca de 2454 cm^{-1} e 1874 cm^{-1} , características do heterossintão formado pelos grupos ácido carboxílico-átomo de azoto do anel piridina, o que confirma a formação de cocrystal.

Para obter o difratograma de raios-X de pó foi feita a síntese de cocrystal no DSC, um aquecimento/arrefecimento entre $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ e $220\text{ }^{\circ}\text{C}$ e segundo aquecimento até $100\text{ }^{\circ}\text{C}$, de modo a garantir a cristalização completa desta mistura. O difratograma obtido está representado na figura 3.43, assim como os difratogramas correspondentes aos dos compostos puros.

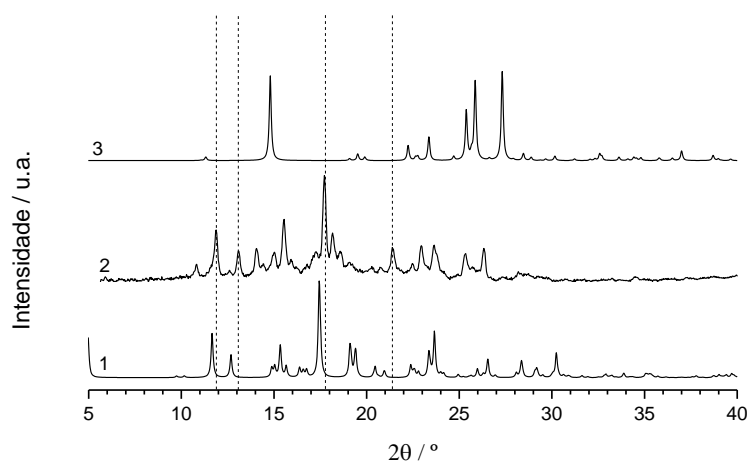


Figura 3.43 – Difratogramas de raios-X de pó: 1. simulado para o bexaroteno; 2. experimental obtido da mistura de bexaroteno + nicotina na proporção 1:1 após arrefecimento do fundido; 3. simulado para a nicotina, forma I.

Comparando o difratograma experimental da mistura bexaroteno e nicotina (1:1) com os difratogramas simulados para os compostos puros verifica-se o aparecimento de novas reflexões, algumas delas assinaladas na figura com linhas a tracejado, correspondentes a $2\theta = 11,9^\circ$; $13,0^\circ$; $17,7^\circ$ e $21,4^\circ$. Também se verifica a ausência de algumas reflexões que estão presentes nos difratogramas correspondentes ao coformador e ao API, nomeadamente a $2\theta = 11,3^\circ$; $14,8^\circ$; $22,2^\circ$ e $27,3^\circ$ para a nicotina e a $2\theta = 19,4^\circ$; $23,3^\circ$ e $30,3^\circ$ para o bexaroteno.

Com o intuito de analisar o cocristal de bexaroteno e nicotina por termomicroscopia com luz polarizada este foi previamente preparado no DSC. Uma amostra da mistura 1:1 foi submetida a um ciclo de aquecimento/arrefecimento entre 25°C e 200°C com velocidade de varrimento de $10^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$. Após o arrefecimento o sólido obtido foi analisado por PLTM com velocidade de varrimento de $10^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ e de $20^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$, sendo algumas das imagens recolhidas durante os processos de aquecimento registadas na figura 3.44 a) e b), respetivamente.

A análise das imagens da figura 3.44 a) permite verificar que ocorreram alterações entre $121,1^\circ\text{C}$ e 144°C , provavelmente devido à fusão de cocristal e posterior cristalização do bexaroteno. No decorrer do aquecimento verifica-se a sublimação da nicotina tornando a imagem pouco nítida. Esta sublimação diminui a percentagem de nicotina presente na amostra fazendo com que a temperatura de fusão do excesso de bexaroteno seja superior relativamente ao valor registado por DSC.

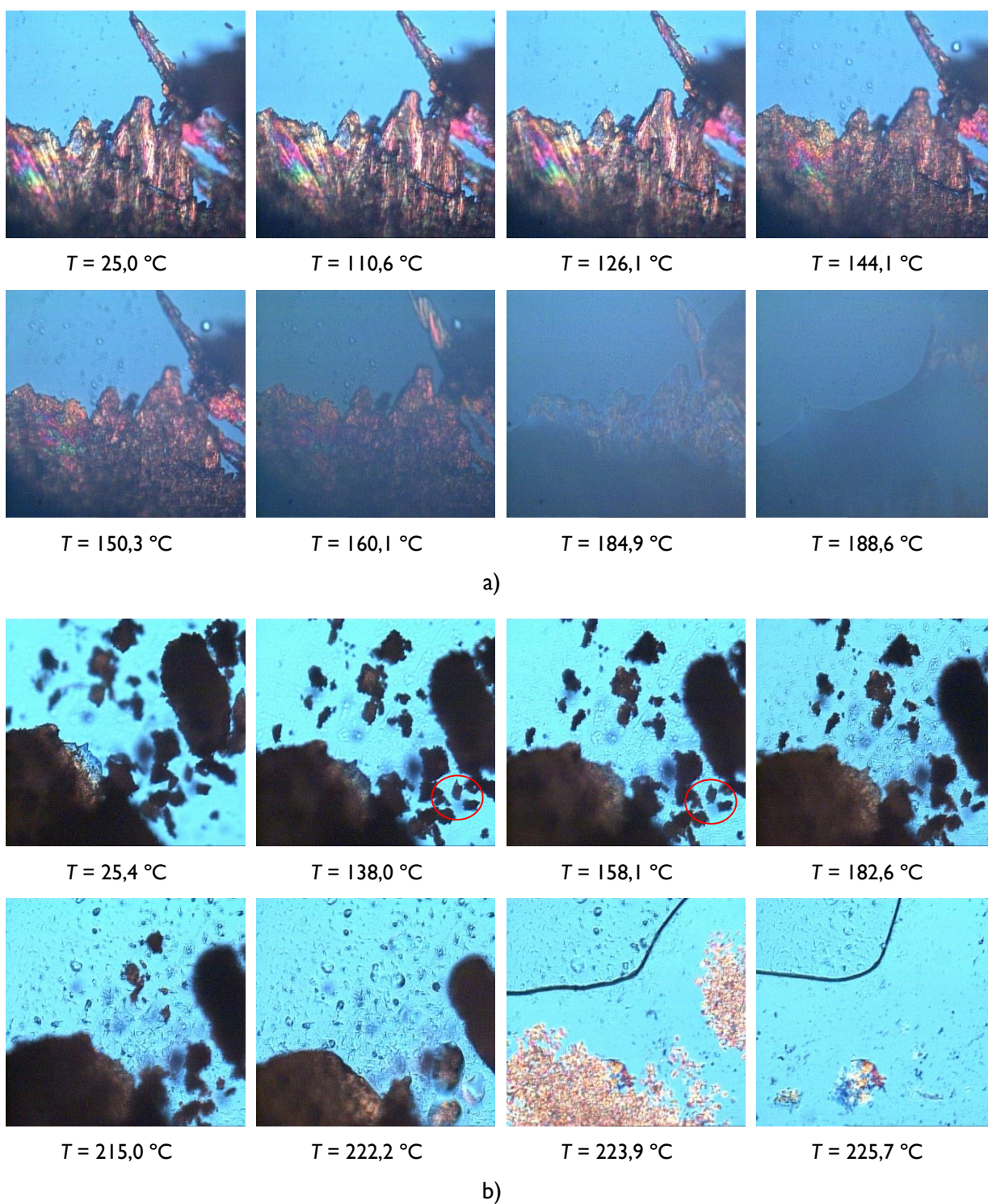


Figura 3.44 – Imagens de PLTM recolhidas no aquecimento do sólido obtido por cristalização do fundido da mistura moída de bexaroteno e nicotinamida na proporção 1:1; ampliação 200x. a) $\beta = 10\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$; b); $\beta = 20\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$

Na análise da figura 3.44 b), embora não sendo muito perceptível nas imagens, às temperaturas de 138,0 °C e 182,6 °C, assinala-se com um círculo vermelho cristais onde é mais visível a alteração do seu formato devido ao processo de fusão de cocrystal que ocorre a ~ 140 °C, seguida de cristalização do bexaroteno, que funde a ~ 223,9 °C.

Com o objetivo de traçar o diagrama de fases para o sistema bexaroteno + nicotinamida prepararam-se misturas com diferentes proporções dos compostos em análise por mecanoquímica (60 min, 15Hz, 10 μ L de etanol, vaso 10 mL, duas bolas de aço inoxidável 7 mm).

Uma amostra de cada mistura foi analisada em dois ciclos de aquecimento/arrefecimento por DSC, $\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$. Os termogramas registados para o primeiro e segundo aquecimentos encontram-se nas figuras 3.45 a) e b), respetivamente.

Nas figuras 3.46 a) e b) encontram-se os diagramas de fases T vs x_{BEX} simulados para o sistema binário bexaroteno e nicotinamida, em que no diagrama referente ao segundo aquecimento se inclui o polimorfo II da nicotinamida com temperatura de fusão $105,8 \text{ }^\circ\text{C}$ e entalpia de fusão $\Delta_{\text{fus}}H = 20,2 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$. [67]

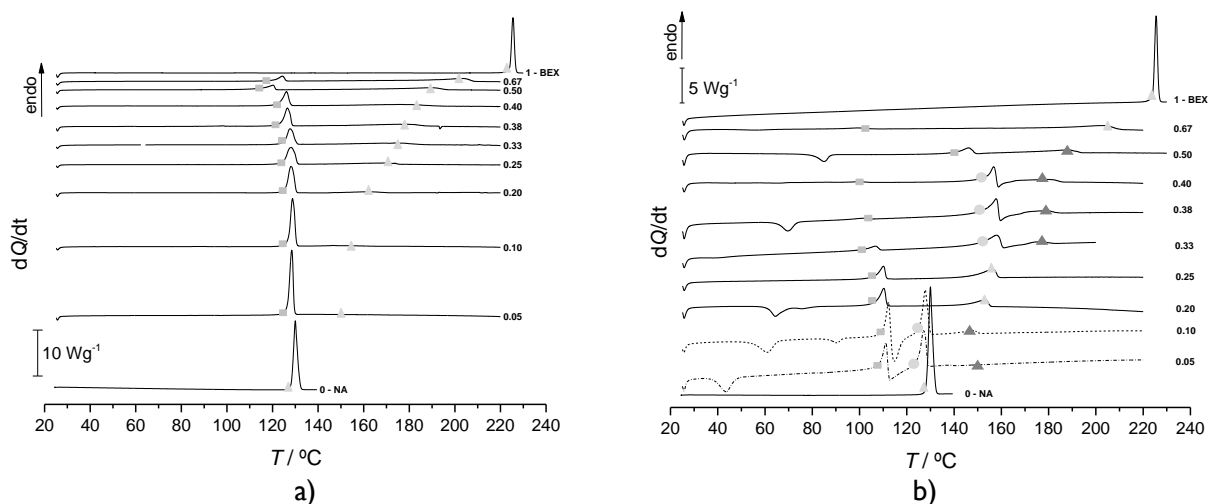


Figura 3.45 – Curvas de DSC para diferentes misturas para o sistema BEX+NA. A fração molar de bexaroteno em cada mistura está indicada no final da curva de DSC respetiva. a) primeiro aquecimento; b) segundo aquecimento.

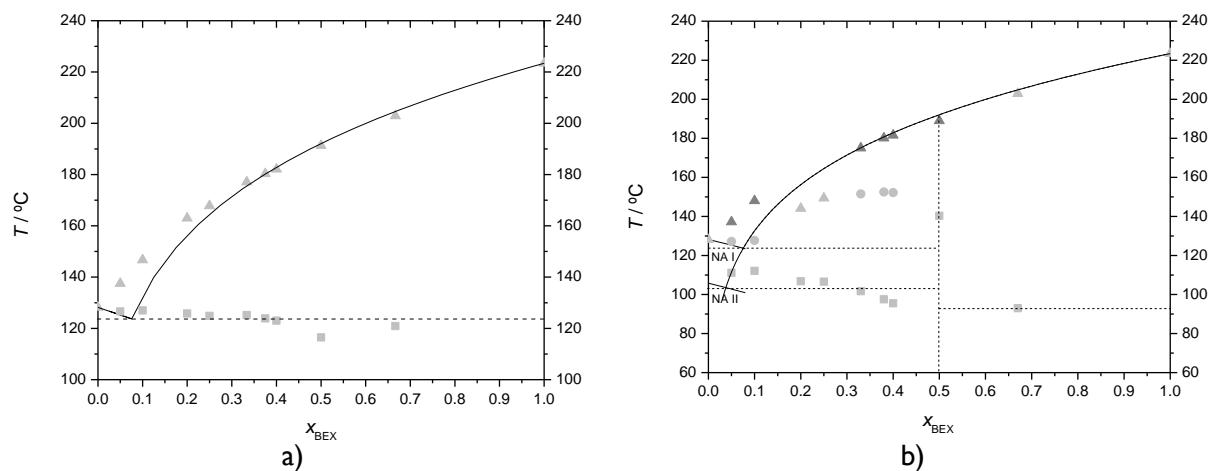


Figura 3.46 – Diagrama de fases sólido-líquido simulado para o sistema binário bexaroteno e nicotinamida utilizando a equação de Schröder-van Laar: --- solidus; — liquidus; ■ T_{fus} , mistura eutética; ▲ T_{liquidus} . a) Primeiro aquecimento; b) Segundo aquecimento.

Os pontos incluídos no diagrama de fases correspondem aos valores de temperatura de transições de fase que estão registados nas curvas de DSC, figura 3.45.

Pela análise das figuras 3.45 a) e 3.46 a) conclui-se que as misturas de BEX+NA preparadas por mecanoquímica apresentam valores de temperatura de *solidus* e *liquidus* que não se afastam do previsto para um diagrama de fases com eutético simples, calculado utilizando a equação de Schröder-van Laar, como seria de esperar pela análise feita anteriormente.

Uma vez que a formação de cocrystal bexaroteno:nicotinamida ocorre durante a cristalização do fundido foi também analisado por DSC o segundo aquecimento das diferentes misturas, figura 3.45 b). Como se pode observar nessa figura, as curvas para $x = 0,05$ e $0,10$, em que há excesso de nicotinamida, apresentam dois picos endotérmicos correspondentes à fusão das misturas eutéticas devido há existência de polimorfismo da nicotinamida, forma I e II. As proporções $x = 0,20$ e $0,25$ registam um primeiro evento térmico que parece estar associado a uma mistura eutética com o polimorfo II da nicotinamida, e um segundo evento difícil de identificar. As proporções $x = 0,33$ a $0,40$ apresentam um primeiro evento endotérmico que também pode ser associado à fusão da mistura eutética com o polimorfo II da nicotinamida, um segundo evento endotérmico de difícil identificação concomitante com cristalização do excesso de bexaroteno que funde à temperatura prevista pela equação I.I. A dificuldade em identificar alguns eventos térmicos pode dever-se ao facto do cocrystal só se formar na cristalização do fundido, podendo ocorrer a formação de diversas formas polimórficas.

A proporção de $x = 0,5$ foi analisada anteriormente e a proporção $x = 0,67$ evidencia a fusão da mistura eutética de cocrystal-bexaroteno seguida da fusão do excesso de bexaroteno.

Os dados disponíveis evidenciam a formação de cocrystal de bexaroteno e nicotinamida, não tendo sido possível esclarecer a estequiometria do cocrystal.

3.2.8 Considerações finais

A tabela 3.4 sumariza os resultados obtidos no *screening* de cocrystal de bexaroteno por mecanoquímica, em que são apresentados os parâmetros termodinâmicos de transição de fase observados por DSC para o bexaroteno, coformadores e cocrystal sintetizados. Pela análise da tabela 3.4 pode-se constatar que todas as pridinacarboxamidas deram origem a cocrystal com o bexaroteno, assim como o ácido tartárico. Para os restantes coformadores: ácido benzoico, cafeína e pirazinamida, conclui-se que não é possível, através de métodos

mecanoquímicos, a obtenção de cocrystal nas condições experimentais utilizadas neste trabalho.

Tabela 3.4 – Parâmetros termodinâmicos de transição de fase observados por DSC para o BEX, coformadores e cocrystal.

	BEX		Coformador		Cocrystal	
	$T_{\text{onset}} / ^\circ\text{C}$	$\Delta_{\text{fus}}H / \text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$	$T_{\text{onset}} / ^\circ\text{C}$	$\Delta_{\text{fus}}H / \text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$	$T_{\text{onset}} / ^\circ\text{C}$	$\Delta_{\text{fus}}H / \text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$
BEX:NA			$128,2 \pm 0,2$	$23,2 \pm 0,4$	–	–
BEX:INA	$223,3 \pm 0,8$	$40,3 \pm 1,1$	$155,4 \pm 0,6$	$24,5 \pm 0,8$	223,7	73,0
BEX:PA			$106,1 \pm 0,3$	$19,7 \pm 0,5$	–	–
BEX:TA			171,8	36,3	–	–

3.3 Coformador + coformador

Com o intuito de verificar se ocorreria associação entre os coformadores (nicotinamida, picolinamida e isonicotinamida) foi feita a moagem de cada mistura binária, na proporção 1:1, a uma frequência de 15 Hz durante 90 min com assistência de 10 μL de etanol, no vaso de 10 mL com duas bolas de aço inoxidável de 7 mm de diâmetro. Após cada moagem obteve-se o espectro de infravermelho.

Em todos os sistemas, a velocidade de varrimento utilizada nos ensaios de DSC foi de 10 $^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$, sendo realizado apenas um aquecimento de 25 $^\circ\text{C}$ até a uma temperatura ligeiramente superior à temperatura de fusão do coformador com maior ponto de fusão.

Também foi determinado o diagrama de fases sólido-líquido previsto teoricamente para cada sistema a partir dos valores de temperatura e entalpia de fusão dos compostos puros utilizando a equação de Schröder-van Laar.

3.3.1 Sistema Nicotinamida + Picolinamida

Após a moagem desta mistura binária obteve-se o espectro de infravermelho que está representado na figura 3.47, a curva de DSC, figura 3.48, e o diagrama de fases sólido-líquido simulado, figura 3.49.

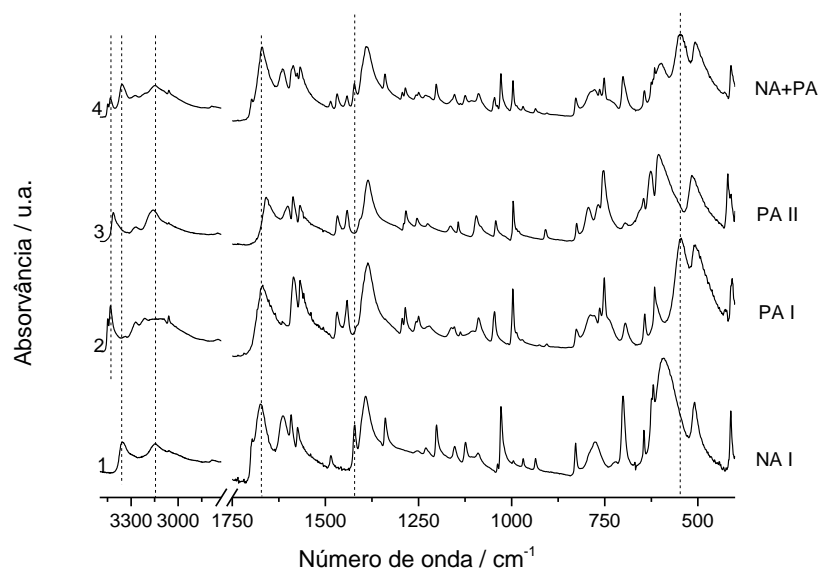


Figura 3.47 – Espetros FTIR-ATR de: 1. nicotinamida, forma I; 2. picolinamida, forma I; 3. picolinamida, forma II; 4. mistura de nicotinamida e picolinamida na proporção 1:1 obtida por moagem (90 min, 5 μ L de etanol, 15 Hz).

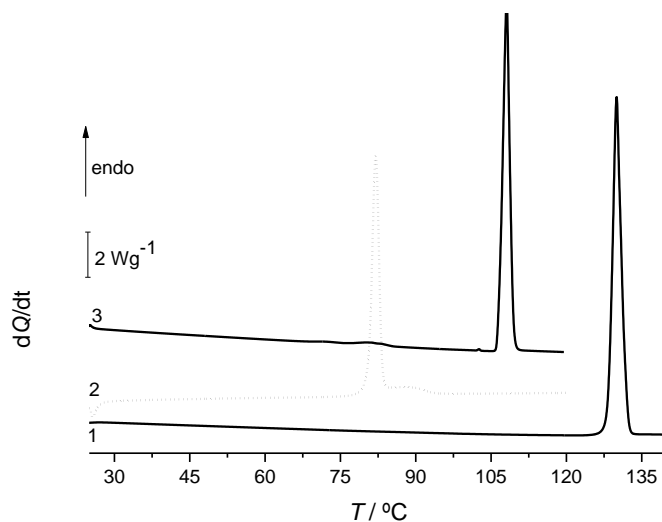


Figura 3.48 – Curvas de DSC de aquecimento para: 1. nicotinamida, forma I; 2. mistura de nicotinamida e picolinamida na proporção 1:1 (90 min, 5 μ L de etanol, 15 Hz); 3. picolinamida, forma II. $\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$.

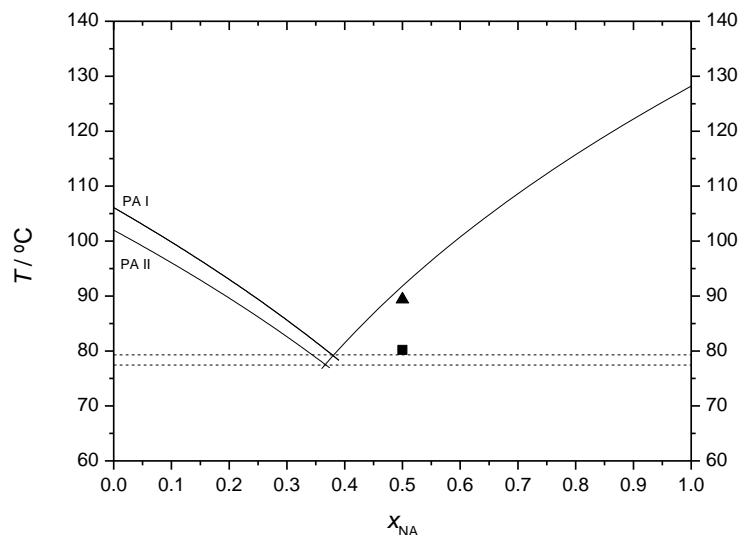


Figura 3.49 – Diagrama de fases sólido-líquido simulado para o sistema binário nicotinamida e picolinamida utilizando a equação de Schröder-van Laar: --- *solidus*; — *liquidus*; ■ T_{fus} , mistura eutética; ▲ $T_{liquidus}$

Na curva 2 da figura 3.48 são registados dois picos endotérmicos a 80,2 °C e a 89,9 °C, os quais correspondem à fusão de uma mistura eutética de nicotinamida com picolinamida na forma I e à fusão da nicotinamida em excesso, respetivamente, o que é comprovado pela análise do diagrama de fases simulado, figura 3.49, no qual foram incluídas as temperaturas do *liquidus* dos dois polimorfos da picolinamida, I e II, para perceber qual dos dois constituía a mistura eutética. Verifica-se, assim, que as temperaturas obtidas experimentalmente estão de acordo com o previsto pela equação I.1.

Os resultados obtidos por espectroscopia de infravermelho também vão ao encontro do referido anteriormente, pois o espectro da mistura, espectro 4 da figura 3.47, corresponde à soma dos espectros da nicotinamida forma I e picolinamida forma I.

Para estudar o comportamento térmico desta mistura, foram feitos dois ciclos de aquecimento/arrefecimento entre 25 °C e 120 °C a uma velocidade de varrimento de $\beta = 10 \text{ °C}\cdot\text{min}^{-1}$, no DSC. Constatou-se que durante o arrefecimento do fundido não ocorreu cristalização, na região de temperatura em análise. Assim sendo, a cápsula de alumínio foi mantida a 2 °C durante dois dias, para que ocorresse a cristalização, o que foi confirmado após a abertura da mesma, em que se verificou a existência de sólido, o qual foi analisado por infravermelho. No entanto, o espectro de infravermelho obtido corresponde à soma dos espectros dos compostos puros. Logo, nestas condições não se obtém cocrystal a partir do fundido.

Com o exposto anteriormente, conclui-se que não ocorre a formação de cocrystal entre estas duas substâncias nas condições indicadas.

3.3.2 Sistema Picolinamida + Isonicotinamida

Na figura 3.50 são apresentados o espectro da mistura de picolinamida e isonicotinamida após a moagem e os espectros dos compostos puros. O termograma obtido por DSC desta mistura está ilustrado na figura 3.51 e a previsão das temperaturas do *liquidus*, utilizando a equação de Schröder-van Laar, está representada no diagrama de fase sólido-líquido simulado, figura 3.52. Para a construção do diagrama de fases foram utilizados a temperatura e entalpia de fusão da isonicotinamida forma I, uma vez que não há dados para a forma II.

A análise da figura 3.50 permite observar que o espectro obtido para a mistura de picolinamida com nicotinamida, espectro 3, é a soma dos espectros dos compostos puros.

Como a picolinamida e a isonicotinamida apresentam diferentes formas polimórficas, após uma semana voltou-se a repetir o espectro de infravermelho da mistura PA+INA na proporção 1:1 constatando-se que não ocorreram alterações em nenhuma das bandas que o constituem, comparativamente com o espectro obtido imediatamente após a moagem da mistura.

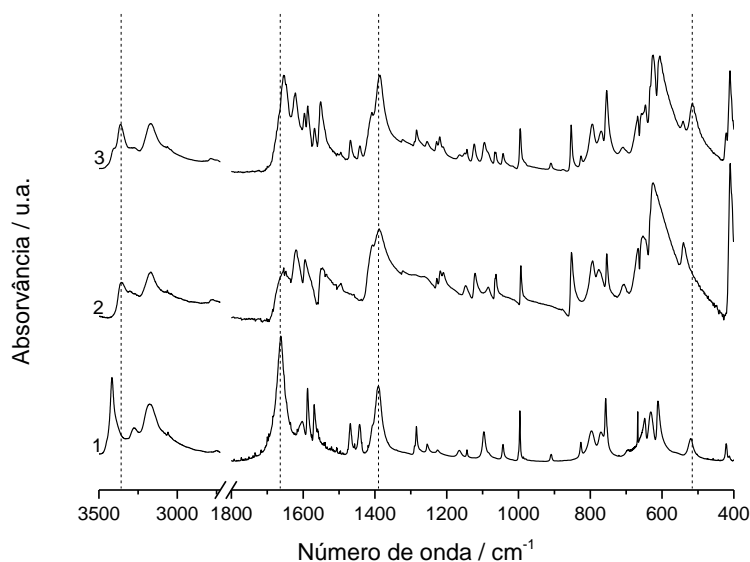


Figura 3.50 – Espectros FTIR-ATR de: 1. picolinamida, forma II; 2. isonicotinamida, forma II; 3. mistura de isonicotinamida e picolinamida na proporção 1:1 obtida por moagem (90 min, 5 μ L de etanol, 15 Hz).

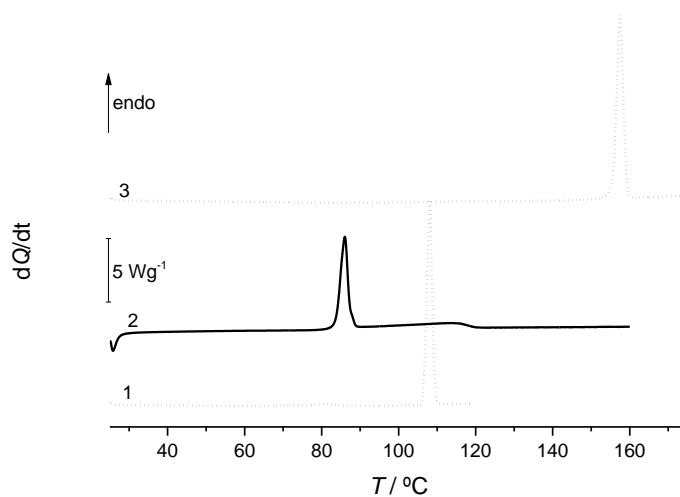


Figura 3.51 – Curvas de DSC de aquecimento para: 1. picolinamida, forma II; 2. mistura de picolinamida e isonicotinamida na proporção 1:1 moagem (90 min, 5 μ L de etanol, 15 Hz); 3. isonicotinamida, forma I. $\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$.

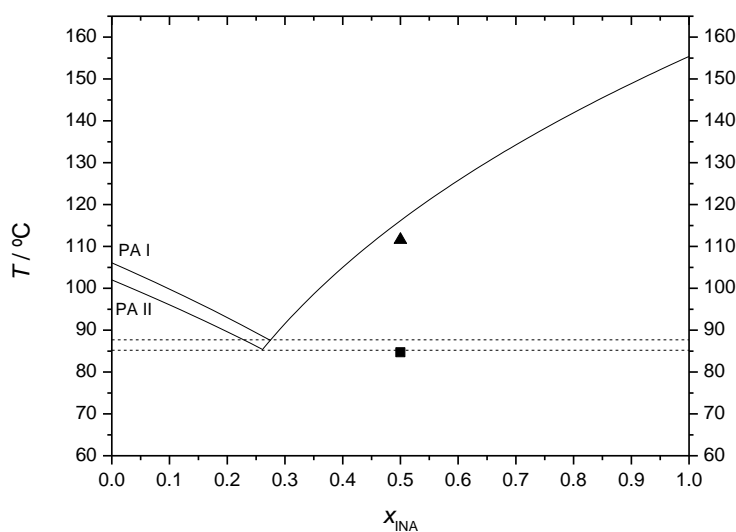


Figura 3.52 – Diagrama de fases sólido-líquido simulado para o sistema binário picolinamida e isonicotinamida utilizando a equação de Schröder-van Laar: --- solidus; — liquidus; ■ T_{fus} , mistura eutética; ▲ T_{liquidus} .

Na figura 3.51, a curva 2 apresenta um pico de fusão a 83,8 °C seguido de outro pico endotérmico mais alargado a 115,2 °C e pela análise do diagrama de fases simulado, figura 3.52, verifica-se que estes pontos experimentais estão de acordo com o previsto pela equação de Schröder-van Laar.

Conclui-se, assim, a partir dos resultados obtidos experimentalmente por infravermelho e DSC que para este sistema a mecanoquímica com assistência de solvente,

nas condições utilizadas, não resulta em associação entre os dois compostos, obtendo-se apenas uma mistura de eutético simples.

3.3.3 Sistema Nicotinamida + Isonicotinamida

Os espectros de FTIR-ATR e as curvas de DSC obtidas no aquecimento para a nicotinamida, isonicotinamida e a mistura destes dois compostos obtida por mecanoquímica estão ilustrados na figura 3.53 e 3.54, respetivamente.

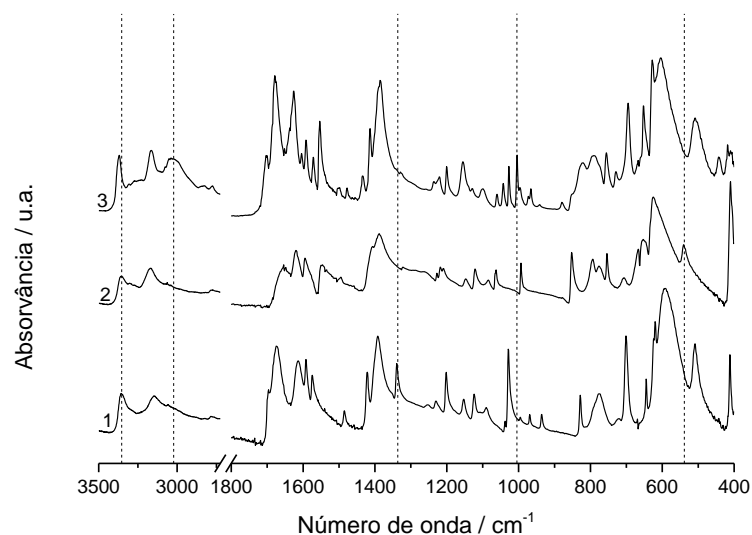


Figura 3.53 – Espectros FTIR-ATR de: 1. nicotinamida, forma I; 2. isonicotinamida, forma II; 3. mistura de nicotinamida e isonicotinamida na proporção 1:1 obtida por moagem (90 min, 5 μ L de etanol, 15 Hz).

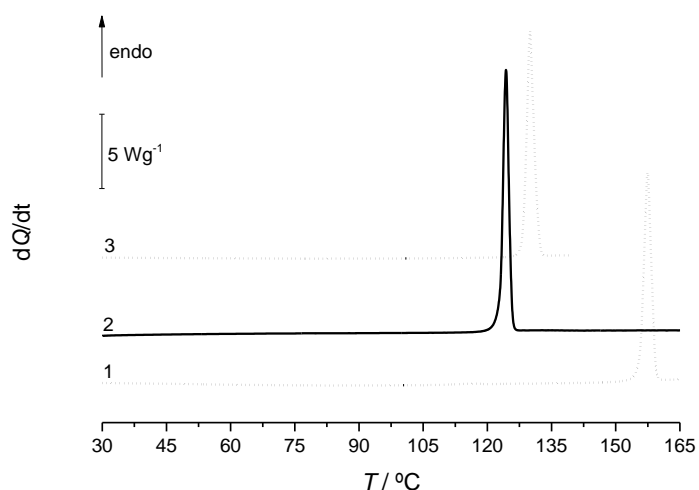


Figura 3.54 – Curvas de DSC de aquecimento para: 1. isonicotinamida, forma I; 2. mistura de nicotinamida e isonicotinamida na proporção 1:1 obtida por moagem (90 min, 5 μ L de etanol, 15 Hz); 3. nicotinamida, forma I. $\beta = 10$ °C \cdot min⁻¹.

A comparação visual dos espectros, figura 3.53, permite desde logo reconhecer o estabelecimento de uma nova rede de ligações de hidrogénio. As alterações mais significativas são observadas a nível da vibração da elongação assimétrica do NH_2 a 3357 cm^{-1} para a nicotinamida, a 3358 cm^{-1} para a isonicotinamida e a 3369 cm^{-1} para a mistura. A vibração da elongação simétrica do NH_2 surge a 3146 cm^{-1} para a nicotinamida, a 3167 cm^{-1} para a isonicotinamida e a 3165 cm^{-1} para a mistura. A banda atribuída à elongação do grupo carbonilo ocorre a 1674 cm^{-1} para a nicotinamida, a 1654 cm^{-1} para a isonicotinamida e a 1679 cm^{-1} para a mistura.

A curva 2 na figura 3.54 apresenta um pico de fusão estreito a $123,0\text{ °C}$, com temperatura mais baixa que as temperaturas de fusão da nicotinamida e da isonicotinamida, sugerindo a ocorrência de formação de um cocrystal ou de um composto eutéctico. Mas tendo em consideração os resultados obtidos por FTIR-ATR conclui-se que, provavelmente terá ocorrido a formação do cocrystal.

Para prosseguir o estudo deste sistema prepararam-se misturas binárias de nicotinamida e isonicotinamida em diferentes proporções, por mecanoquímica, nas mesmas condições que a anterior. Inicialmente caracterizaram-se as amostras obtidas por infravermelho, figura 3.55, e por DSC, sendo os termogramas obtidos os que se apresentam na figura 3.56. O diagrama de fases sólido-líquido para este sistema, simulado a partir das temperaturas e entalpias de fusão dos compostos puros usando as equações 1.1 e 1.2 é apresentado na figura 3.57.

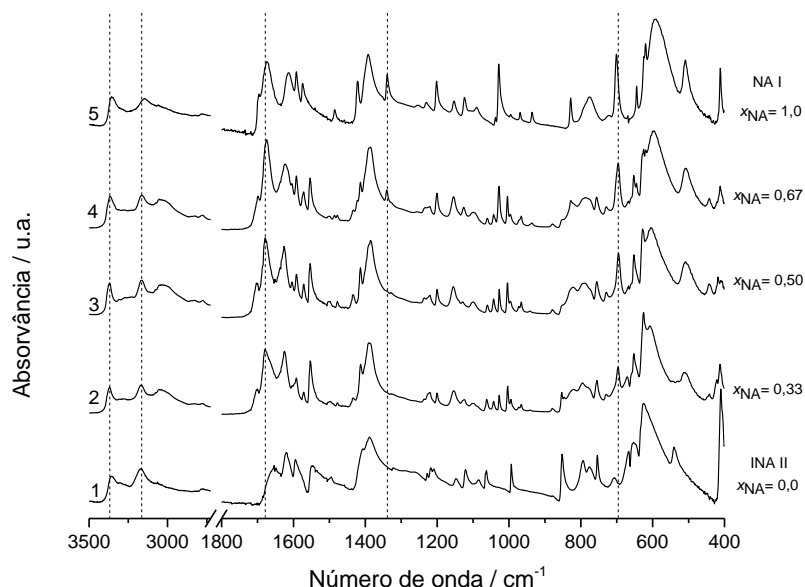


Figura 3.55 – Espectros FTIR-ATR de: 1. isonicotinamida, forma II; 2. $x_{\text{NA}} = 0,33$; 3. cocrystal NA:INA (1:1) $x_{\text{NA}} = 0,50$; 4. $x_{\text{NA}} = 0,67$. 5. nicotinamida, forma I.

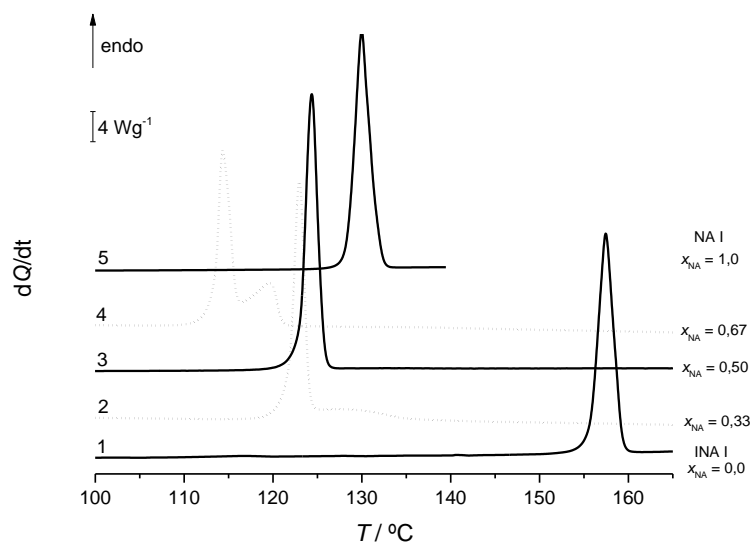


Figura 3.56 – Curvas de DSC de aquecimento para o sistema NA+INA: 1. Isonicotinamida, forma I, $x_{NA} = 0$; 2. $x_{NA} = 0,33$; 3. cocrystal NA:INA (1:1), $x_{NA} = 0,50$; 4. $x_{NA} = 0,67$; 5. nicotinamida, forma I, $x_{NA} = 1,0$. $\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$.

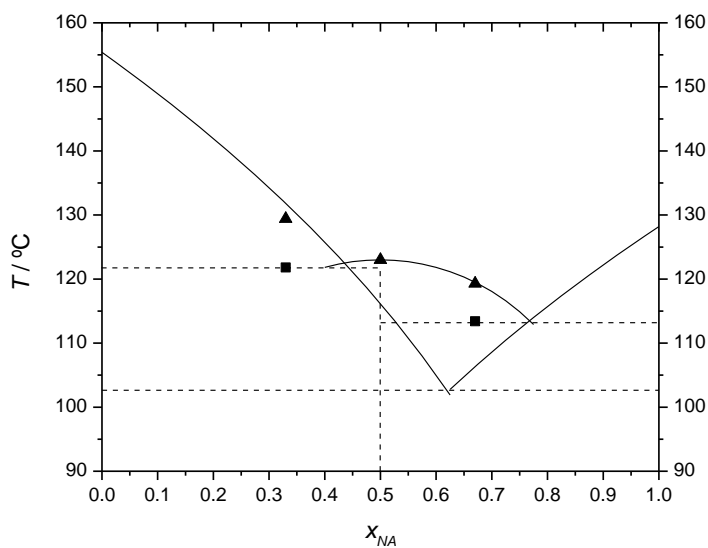


Figura 3.57 – Diagrama de fases sólido-líquido simulado para o sistema binário nicotinamida e isonicotinamida: --- solidus; — liquidus; ■ T_{fus} mistura eutética; ▲ $T_{liquidus}$.

Comparando o espectro obtido para o cocrystal, espectro 3 da figura 3.55, com os espectros obtidos para as misturas com excesso de isonicotinamida ou de nicotinamida, espectros 2 e 4, respetivamente, são visíveis as bandas caraterísticas dos compostos puros, assim como as bandas caraterísticas do cocrystal assinaladas com linhas a tracejado na figura.

Os resultados obtidos experimentalmente estão de acordo com os valores previstos para o liquidus, quer na região entre os dois pontos eutéticos, equação 1.2, quer nas regiões

com excesso de nicotinamida ou isonicotinamida, equação 1.1, o que confirma a formação de cocrystal.

Com o intuito de verificar o que aconteceria no segundo aquecimento foi feito um novo ensaio de DSC, nas mesmas condições que os anteriores, figura 3.58, em que na tabela 3.5 são apresentados os parâmetros termodinâmicos referentes às curvas dos dois aquecimentos.

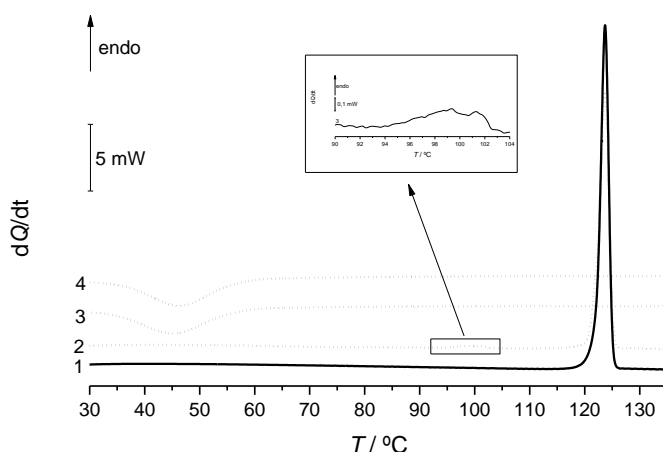


Figura 3.58 – Curvas de DSC da mistura de nicotinamida e isonicotinamida na proporção de 1:1 obtida por moagem: 1. primeiro aquecimento; 2. segundo aquecimento; 3. primeiro arrefecimento; 4. segundo arrefecimento. $m = 1,55 \text{ mg}$; $\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$.

Tabela 3.5 – Parâmetros termodinâmicos das curvas de DSC do primeiro e segundo aquecimento de NA:INA (1:1).

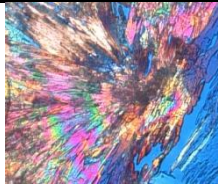
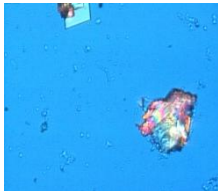
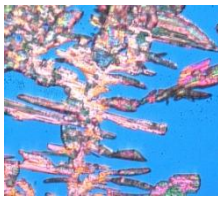
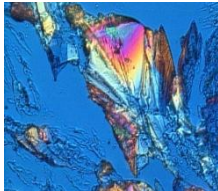
	$T_{onset} / ^\circ\text{C}$	$T_{peak} / ^\circ\text{C}$	$\Delta_{fus}H / \text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$
1° Aq	122,1	123,7	45,2
2° Aq	96,1	99,4	0,8
	121,8	123,7	39,0

Analisando a figura 3.58 observa-se na curva 2, referente ao segundo aquecimento, um pequeno pico endotérmico a $96,1 \text{ }^\circ\text{C}$, provavelmente correspondente a uma transição sólido-sólido. No entanto, a fusão ocorre à mesma temperatura do primeiro aquecimento, o que indica que no processo de arrefecimento do fundido se obteve uma forma sólida

diferente da forma que inicialmente foi aquecida. Esta nova forma, quando aquecida, transforma-se a 96,1 °C na forma inicial, cuja fusão ocorre a 121,8 °C.

Com o objetivo de estudar o cocrystal por PTLM foi feita a cristalização por evaporação lenta em vários solventes, à temperatura ambiente. Todas as misturas foram preparadas na proporção 1:1 em que se pesaram os dois compostos em separado (NA+INA) ou em que se utilizou a mistura obtida por mecanoquímica (NA:INA), de acordo com as condições apresentadas na tabela 2.3. Após a evaporação lenta dos solventes, os sólidos resultantes foram observados por PLTM, sendo apresentadas as imagens e o hábito cristalino na tabela 3.6. No anexo 2 são apresentados os espectros de infravermelho dos sólidos obtidos nas diferentes cristalizações.

Tabela 3.6 – Imagens e hábito cristalino dos cristais de nicotinamida e isonicotinamida obtidos em diferentes solventes (luz polarizada, ampliação 200x).

Mistura	Solvente	Hábito cristalino	Imagem
NA+INA	Acetato de etilo	Placas	
NA:INA	Acetato de etilo	Placas	
NA:INA	Tetra-hidrofurano	Dendrítico	
NA+INA	Etanol	Placas	

Alguns dos sólidos obtidos foram analisados por PLTM em que se procedeu ao seu aquecimento de 25 °C até 160 °C, a uma velocidade de varrimento de 10 °C·min⁻¹. As imagens obtidas no processo de aquecimento da mistura de nicotinamida e isonicotinamida

(NA+INA) na proporção 1:1 obtida por cristalização em acetato de etilo estão ilustradas nas figuras 3.59. As imagens dos restantes aquecimentos encontram-se no anexo 2.

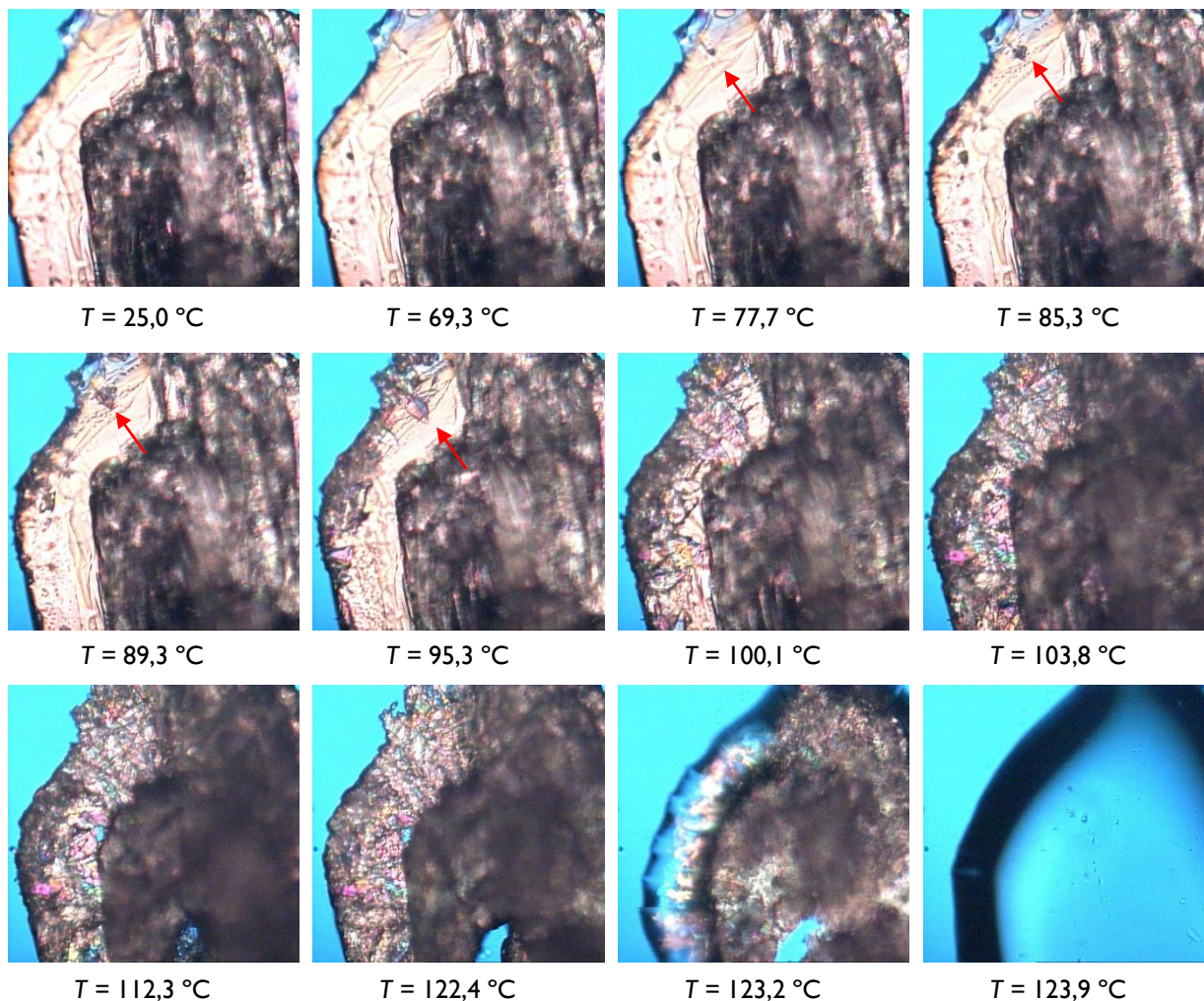


Figura 3.59 – Imagens de PLTM recolhidas no aquecimento da mistura de nicotinamida e isonicotinamida (NA+INA) na proporção 1:1 obtida por cristalização em acetato de etilo; $\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$; ampliação 200x.

No processo de aquecimento dos cristais verifica-se o crescimento de núcleos de cristalização, indicados na figura com setas vermelhas, sendo que o crescimento deles é em forma de agulha, como se pode verificar pela imagem correspondente à temperatura de 95,3 °C. É possível a observação de uma transição sólido-sólido lenta, 90 °C a 115 °C, seguida de fusão entre 123,2 °C e 123,9 °C.

Em todas as amostras analisadas por PLTM ocorre uma transição sólido-sólido a ~ 90 °C, relativamente lenta. Depois desta transição as amostras fundem todas ~ 123 °C.

Na figura 3.60 foram incluídos os espectros de infravermelho da mistura após a moagem, espectro 1, do sólido obtido por cristalização em acetato de etilo (NA+INA), espectro 2, e do sólido obtido por cristalização do fundido da mistura após a moagem,

espectro 3. A análise destes espectros revela que o espectro 2 e 3 são semelhantes e apresentam poucas diferenças relativamente ao espectro 1. Entre estas diferenças são de assinalar as bandas $\nu_{as}(\text{NH}_2) = 3369 \text{ cm}^{-1}$, $\nu_s(\text{NH}_2) = 3165 \text{ cm}^{-1}$ e $\nu(\text{C}=\text{O}) = 1679 \text{ cm}^{-1}$ no espectro 1, e $\nu_{as}(\text{NH}_2) = 3384 \text{ cm}^{-1}$, $\nu_s(\text{NH}_2) = 3174 \text{ cm}^{-1}$ e $\nu(\text{C}=\text{O}) = 1683 \text{ cm}^{-1}$ no espectro 3.

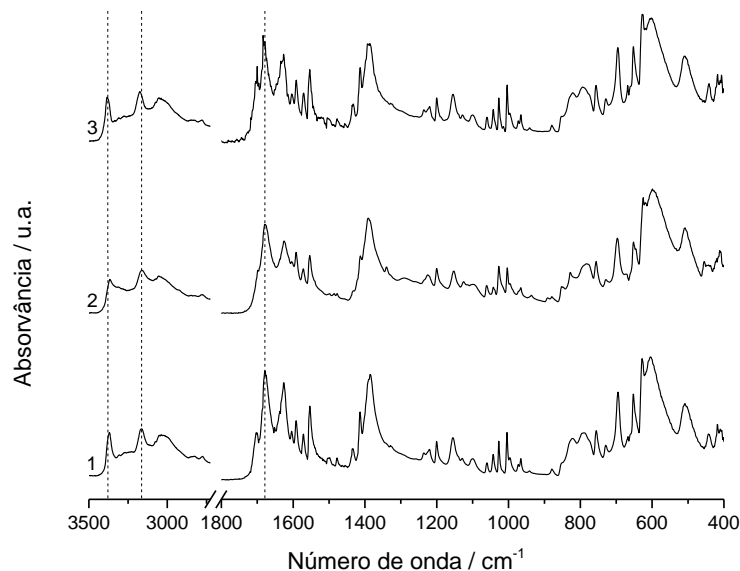


Figura 3.60 – Espectros FTIR-ATR da mistura de nicotinamida e isonicotinamida na proporção 1:1 obtida após: 1. moagem (90 min, 5 μL de etanol, 15 Hz); 2. cristalização em acetato de etilo (NA+INA); 3. arrefecimento do fundido (moagem).

Da conjugação dos resultados obtidos por PLTM, DSC e FTIR-ATR para o sólido obtido por arrefecimento do fundido do cocrystal NA:INA pode-se concluir que se obtém uma outra forma polimórfica para o cocrystal. Como tal, este sistema requer mais estudos para a investigação do seu polimorfismo.

3.3.4 Considerações finais

Para os sistemas nicotinamida + picolinamida e picolinamida + isonicotinamida, a mecanoquímica com assistência de solvente, nas condições utilizadas não resulta em associação entre os dois compostos, obtendo-se apenas uma mistura de eutético simples.

Para o sistema nicotinamida + isonicotinamida ocorreu a formação de cocrystal por mecanoquímica, com a estequiometria (1:1), em que na tabela 3.7 são sumarizados os parâmetros termodinâmicos obtidos para o cocrystal sintetizado e para os compostos puros.

Tabela 3.7 – Parâmetros termodinâmicos de transição de fase observados por DSC para a nicotinamida e isonicotinamida e cocrystal (NA:INA).

NA		INA		Cocrystal	
$T_{\text{onset}} / ^\circ\text{C}$	$\Delta_{\text{fus}}H / \text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$	$T_{\text{onset}} / ^\circ\text{C}$	$\Delta_{\text{fus}}H / \text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$	$T_{\text{onset}} / ^\circ\text{C}$	$\Delta_{\text{fus}}H / \text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$
128,2 ± 0,2	23,2 ± 0,4	155,4 ± 0,6	24,5 ± 0,8	123,0	45,4

3.4 Cocrystal + coformador

Uma vez que foram obtidos cocrystal de bexaroteno com as três piridinacarboxamidas, pretendeu-se investigar qual destes coformadores terá maior afinidade com este API. Tendo em vista este objetivo foram preparados por mecanoquímica sistemas binários de cocrystal BEX:INA, BEX:NA e BEX:PA com os coformadores nicotinamida, picolinamida e isonicotinamida. Este estudo também foi feito para os sistemas ternários BEX+PA+INA e BEX+NA+INA.

Para todos estes sistemas foram preparadas misturas na proporção 1:1 nos sistemas binários ou 1:1:1 nos sistemas ternários, nas condições indicadas na tabela 2.4. Todas as amostras obtidas por moagem foram estudadas por infravermelho e por DSC ($\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$; aquecimentos entre 25 $^\circ\text{C}$ e 230 $^\circ\text{C}$). Posteriormente foi determinado o diagrama de fases binário sólido-líquido previsto teoricamente para cada sistema a partir dos valores de temperatura e entalpia de fusão dos compostos puros utilizando a equação de Schröder-van Laar.

3.4.1 Sistema BEX:INA + PA

Na figura 3.61 são apresentados os espectros de infravermelho da picolinamida forma II, do cocrystal BEX:INA (1:1) e da mistura dos dois após a moagem. Na figura 3.62 estão representados os difratogramas de raios-X de pó simulados para o bexaroteno e para a picolinamida na forma II e os difratogramas experimentais obtidos da mistura de BEX:INA e da mistura de BEX:INA+PA.

Por DSC foi estudado o comportamento térmico deste sistema, figura 3.63. Também foram incluídas na figura as curvas referentes ao primeiro aquecimento de cocrystal BEX:PA, do cocrystal BEX:INA (1:1) e dos compostos puros. O diagrama de fases binário sólido-líquido simulado do cocrystal BEX:INA com a picolinamida forma II, a partir da equação de Schröder-van Laar, é mostrado na figura 3.64.

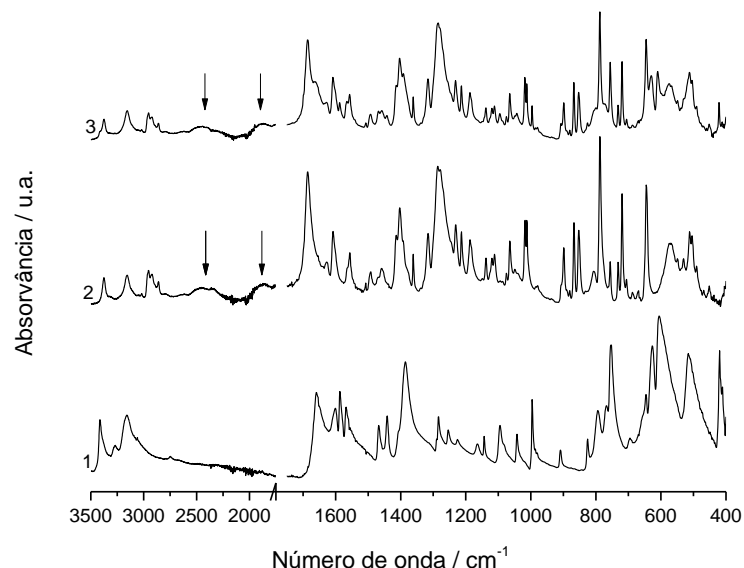


Figura 3.61 – Espectros FTIR-ATR de: 1. picolinamida, II; 2. cocrystal de BEX:INA; 3. mistura de BEX:INA + PA (1:1) obtida por moagem.

Através da análise do espectro 3 (BEX:INA+PA) da figura 3.61, e fazendo todas as comparações possíveis, verifica-se que este é a soma do espectro do cocrystal de bexaroteno com isonicotinamida e do espectro da picolinamida, forma II. As setas apresentadas na figura evidenciam a formação do heterossintão formado pelos grupos ácido carboxílico-átomo de azoto do anel piridina.

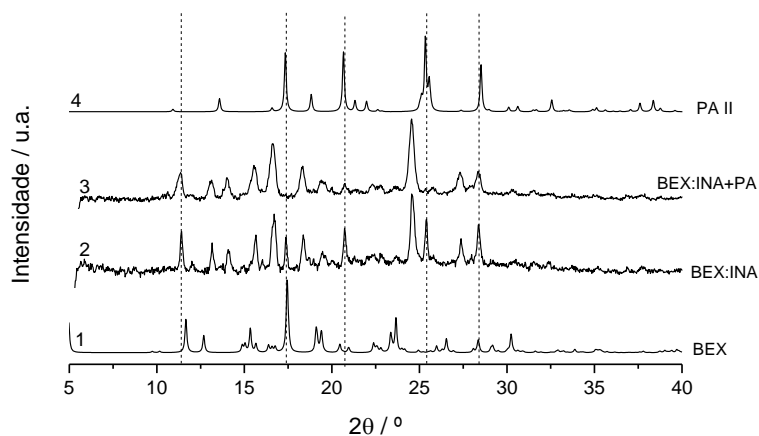


Figura 3.62 – Difratogramas de raios-X de pó: 1. simulado para o bexaroteno; 2. experimental obtido da mistura de BEX:INA; 3. experimental obtido da mistura de BEX:INA+PA; 4. simulado para a picolinamida, II.

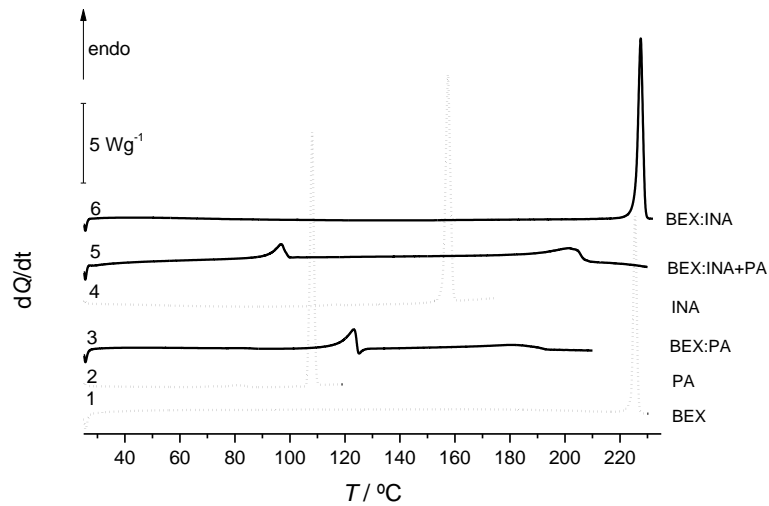


Figura 3.63 – Curvas de DSC de aquecimento para: 1. bexaroteno; 2. picolinamida, II; 3. cocrystal BEX:PA; 4. isonicotinamida, forma I; 5. mistura de BEX:INA+PA após moagem; 6. cocrystal BEX:INA na proporção 1:1. $\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$.

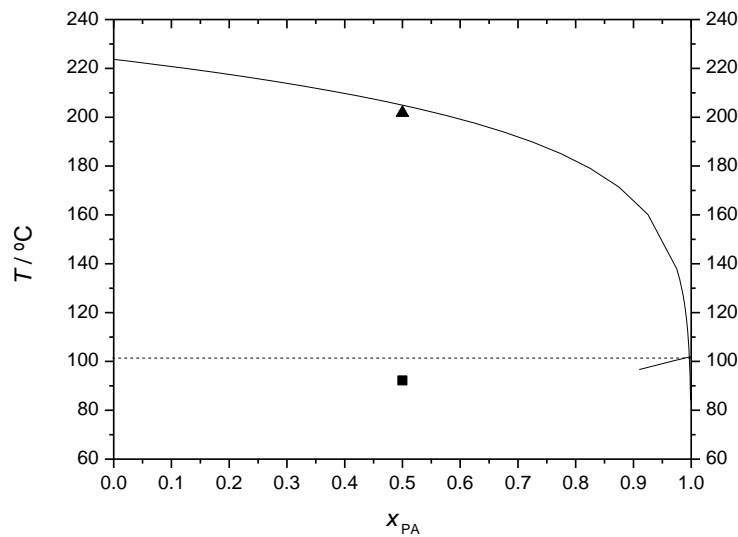


Figura 3.64 – Diagrama de fases sólido-líquido simulado para o sistema binário BEX:INA e picolinamida forma II utilizando a equação de Schröder-van Laar: --- solidus; — liquidus; ■ T_{fus} , mistura eutética; ▲ $T_{liquidus}$.

Os dados de difração de raios-X de pó obtidos experimentalmente para o sistema BEX:INA+PA, representados na figura 3.62, estão de acordo com a informação obtida através da análise dos espectros de infravermelho, uma vez que o difratograma obtido para este sistema corresponde à soma dos difratogramas da picolinamida, forma II e do cocrystal BEX:INA.

Na curva 5, da figura 3.63, é registado um pico endotérmico correspondente à fusão da mistura eutética a 92,2 °C com entalpia de fusão $\Delta_{\text{fus}}H = 14,4 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ seguida de um pico arrastado, também endotérmico a 201,8 °C, correspondente à fusão do excesso do cocrystal BEX:INA. As temperaturas das transições registadas experimentalmente não se afastam do previsto para um diagrama de fases para um sistema com um eutético simples, calculado usando a equação 1.1, como se pode observar pela figura 3.64.

3.4.2 Sistema BEX:INA + NA

Após a moagem foi obtido o espectro de infravermelho, figura 3.65, onde foram incluídos os espectros do cocrystal BEX:INA (1:1) e da nicotinamida, forma I. Na figura 3.66 estão representados os difratogramas experimentais deste sistema, do cocrystal BEX:INA e dos difratogramas obtidos por simulação para o bexaroteno e nicotinamida, forma I.

O estudo térmico deste sistema foi feito por DSC em que foi obtida a curva 5 que está representada na figura 3.67. Nesta figura também foram incluídos os termogramas referentes ao primeiro aquecimento de cocrystal BEX:INA, do cocrystal BEX:INA e dos compostos puros. O diagrama de fases sólido-líquido simulado do cocrystal BEX:INA com a nicotinamida, forma I, encontra-se na figura 3.68.

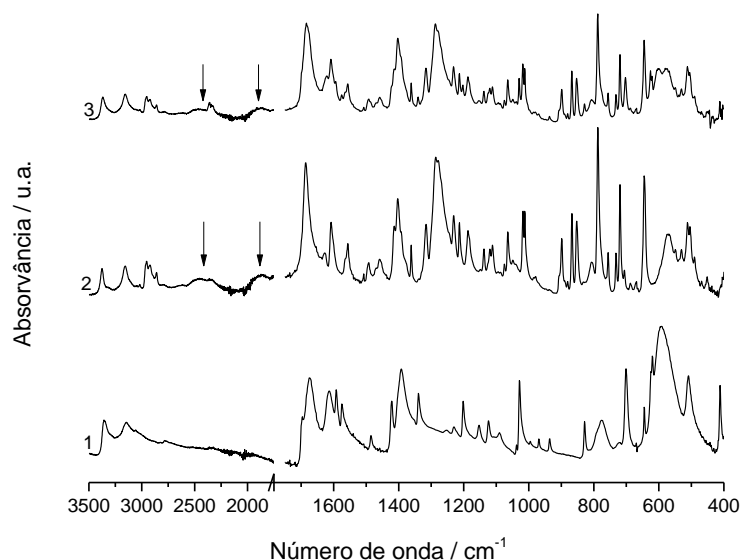


Figura 3.65 – Espectros FTIR-ATR de: 1. nicotinamida, I; 2. cocrystal de BEX:INA (1:1); 3. mistura de BEX:INA+NA (1:1) após a moagem.

Através da análise do espectro 2 (BEX:INA+NA) da figura 3.65, e fazendo todas as comparações possíveis, verifica-se que corresponde à soma do espectro do cocrystal de bexaroteno com isonicotinamida e do espectro da nicotinamida forma I.

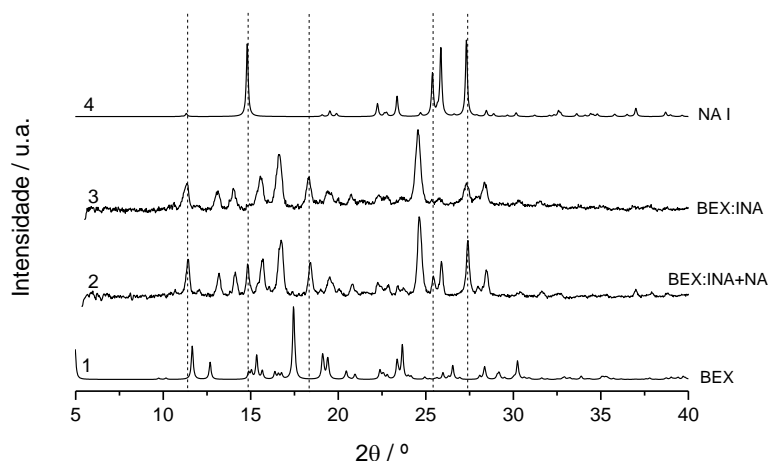


Figura 3.66 – Difratomogramas de raios-X de pó: 1. simulado para o bexaroteno; 2. experimental obtido da mistura de BEX:INA+ NA; 3. experimental obtido da mistura de BEX:INA; 4. simulado para a nicotinamida, I.

Os resultados obtidos por difração de raios-X de pó vão ao encontro dos resultados registados através da espectroscopia de infravermelho, pois constata-se que o difratograma obtido experimentalmente para este sistema é a soma dos difratogramas de BEX:INA e nicotinamida forma I.

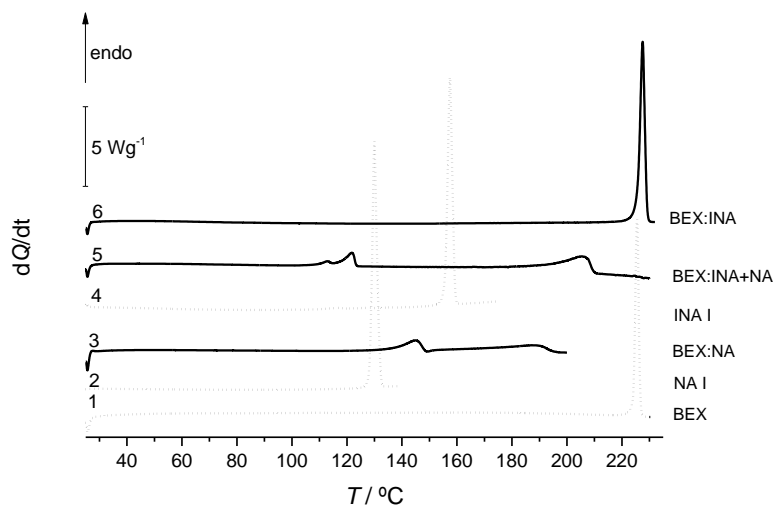


Figura 3.67 – Curvas de DSC de aquecimento para: 1. bexaroteno; 2. nicotinamida, I; 3. cocristal BEX:NA; 4. isonicotinamida, I; 5. mistura de BEX:INA+NA após moagem; 6. cocristal BEX:INA na proporção 1:1. $\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$.

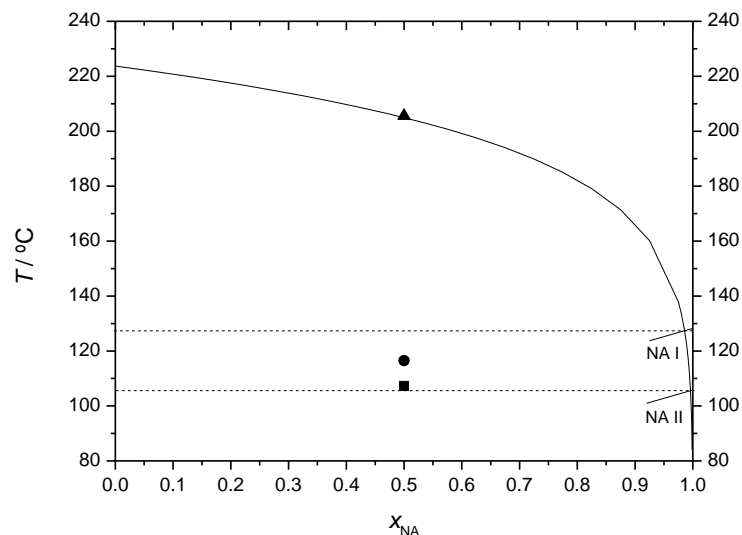


Figura 3.68 – Diagrama de fases sólido-líquido simulado para o sistema binário BEX:INA e nicotinamida utilizando a equação de Schröder-van Laar: --- *solidus*; — *liquidus*; ■ T_{fus} , mistura eutética; ▲ $T_{liquidus}$.

A curva 5 da figura 3.68 obtida para esta mistura, apresenta três eventos endotérmicos a 112,3 °C, 122,0 °C e 205,6 °C. Pela análise do diagrama de fases, figura 3.68, conclui-se que as transições registradas experimentalmente não se afastam do previsto para um diagrama de fases com eutético simples, neste caso de BEX:INA com os polimorfos I e II da nicotinamida.

3.4.3 Sistema BEX:PA + INA

A figura 3.69 mostra os espectros de FTIR-ATR do bexaroteno, da isonicotinamida, da picolinamida, de cocristal BEX:PA e BEX:INA e da mistura de BEX:PA+ INA após a moagem. Os difratogramas experimentais de raios-X de pó da mistura BEX:INA, da mistura BEX:PA e da mistura BEX:PA+INA (1:1) e os difratogramas simulados a partir de dados cristalográficos de raios-X de monocristal depositados na CCDC, do bexaroteno e da picolinamida II são mostrados na figura 3.70. Também foi feito o estudo térmico deste sistema, sendo os resultados obtidos por DSC para o primeiro aquecimento ilustrados na figura 3.71. O diagrama de fases sólido-líquido simulado para o cocristal BEX:INA com a picolinamida encontra-se na figura 3.72.

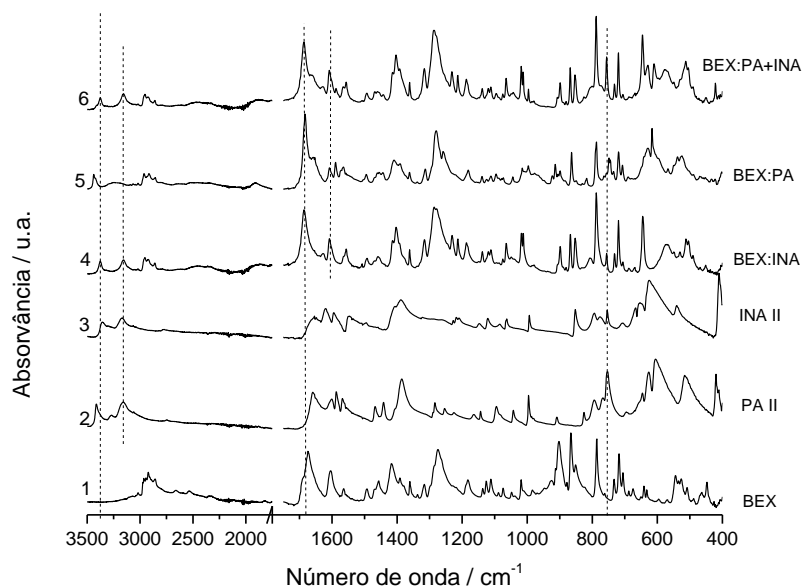


Figura 3.69 – Espectros FTIR-ATR de: 1. bexaroteno; 2. picolinamida forma II; 3. isonicotinamida, II; 4. cocristal de BEX:INA na proporção 1:1; 5. cocristal BEX:PA; 6. mistura de BEX:PA+INA (1:1) após a moagem.

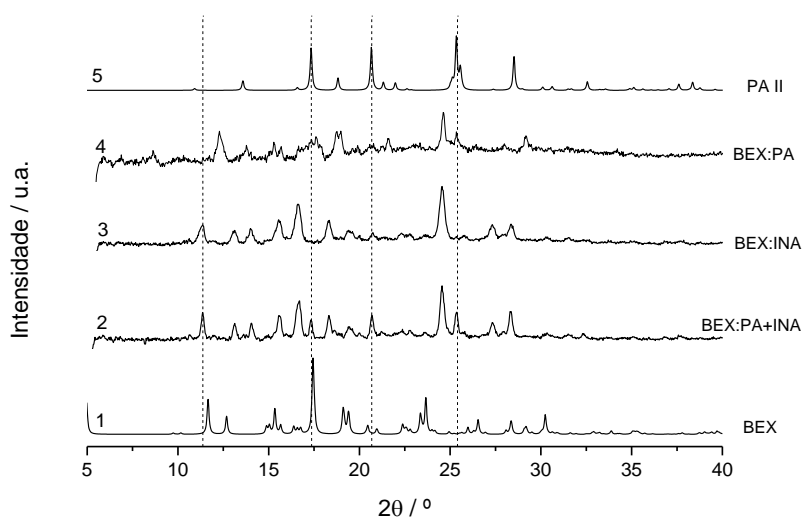


Figura 3.70 – Difrátogramas de raios-X de pó: 1. simulado para o bexaroteno; 2. experimental obtido da mistura de BEX:PA+INA após moagem; 3. experimental obtido da mistura de BEX:INA após moagem; 4. experimental obtido da mistura BEX:PA após moagem; 5. simulado para a picolinamida II.

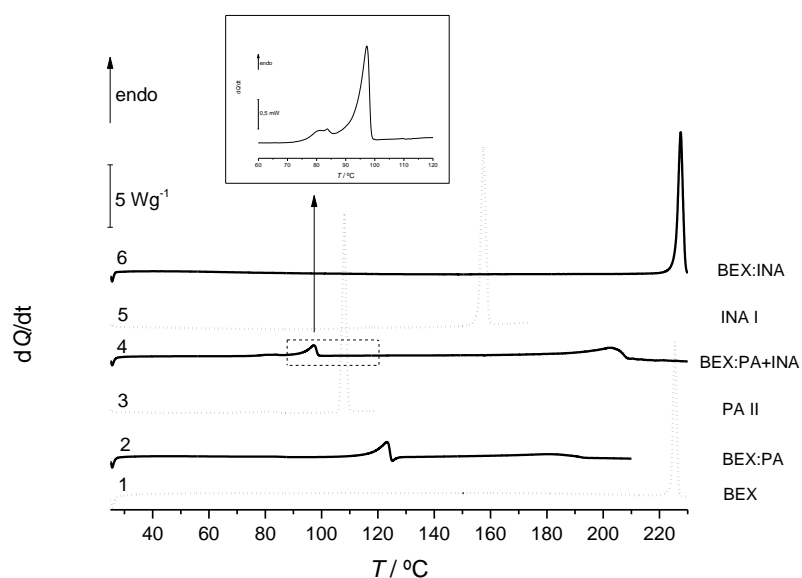


Figura 3.71 – Curvas de DSC de aquecimento para: 1. bexaroteno; 2. mistura de BEX:PA na proporção 1:1 após moagem; 3. picolinamida, forma II; 4. mistura de BEX:PA+INA após moagem; 5. isonicotinamida, I; 6. cocrystal BEX:INA na proporção 1:1. $\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$.

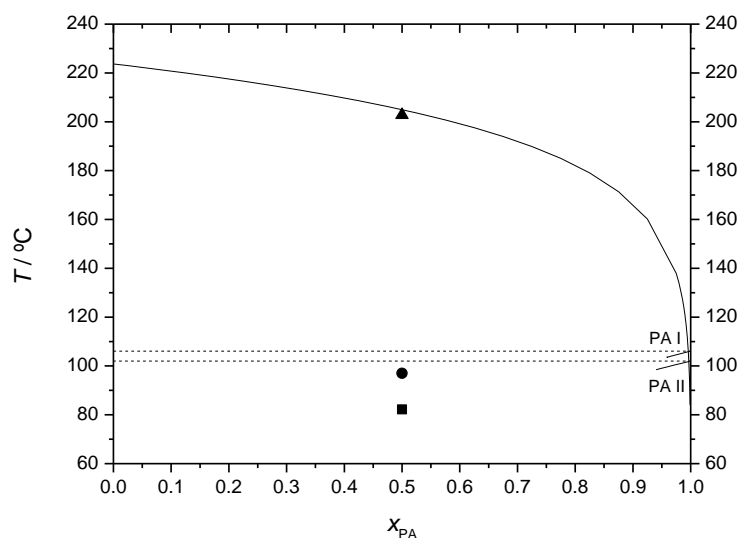


Figura 3.72 – Diagrama de fases sólido-líquido simulado para o sistema binário BEX:INA e picolinamida utilizando a equação de Schröder-van Laar: --- solidus; — liquidus; ■ T_{fus} , mistura eutética; ▲ T_{liquidus} .

A análise da figura 3.69 permite verificar que o espectro obtido para esta mistura, espectro 6, é a soma dos espectros do cocrystal BEX:INA com o espectro da picolinamida. As linhas a tracejado representadas na figura pretendem evidenciar a presença de picolinamida na mistura de BEX:PA+INA.

Comparando o difratograma da mistura BEX:PA+INA com os difratogramas dos cocristais BEX:INA e BEX:PA, e dos compostos puros, figura 3.70, verifica-se que é a soma dos difratogramas de BEX:INA e picolinamida, o que se esperaria tendo em conta os resultados obtidos por espectroscopia de infravermelho.

Na curva 4, da figura 3.71 referente a este sistema, são registados três eventos endotérmicos a 82,2 °C; 97,0 °C e 202,8 °C. Estes valores de temperaturas foram assinalados no diagrama de fases sólido-líquido, figura 3.72. O diagrama de fases é típico da formação de um composto eutético, com composição próxima daquela prevista pela equação I.1, em que ocorre a fusão das misturas eutéticas com a picolinamida I e II e posteriormente a fusão do excesso de BEX:INA.

Da análise dos resultados obtidos para o sistema (BEX:PA+INA) conclui-se que ocorre a formação de cocrystal BEX:INA sendo evidente a presença de picolinamida e a ausência de cocrystal de BEX:PA.

3.4.4 Sistema BEX:PA +NA

Após a moagem obteve-se o espectro de FTIR-ATR que se encontra na figura 3.73. Foram incluídos na figura os espectros de todas as combinações possíveis para este sistema.

Na figura 3.74 estão registadas as curvas de DSC para o primeiro aquecimento de cocrystal BEX:PA, de cocrystal BEX:NA, da mistura de BEX:PA+NA obtida por mecanoquímica e dos compostos puros.

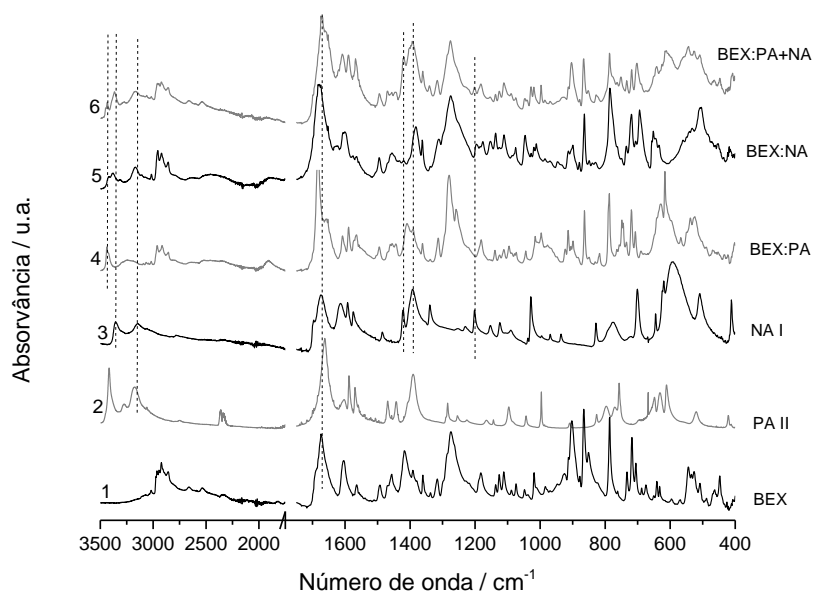


Figura 3.73 – Espectros FTIR-ATR de: 1. bexaroteno; 2. picolinamida forma II; 3. nicotinamida forma I; 4. cocrystal de BEX:PA; 5. cocrystal de BEX:NA; 6. mistura de BEX:PA+NA (1:1) após a moagem.

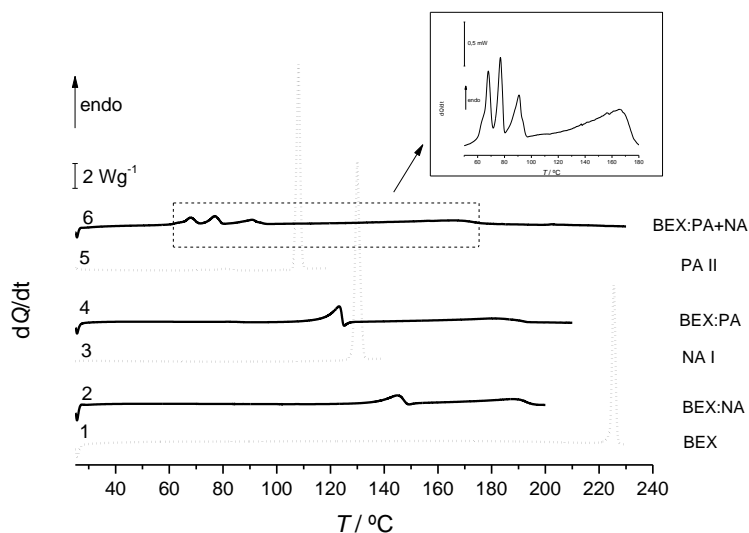


Figura 3.74 – Curvas de DSC de aquecimento para: 1. bexaroteno; 2. cocrystal BEX:NA; 3. nicotinamida, forma I; 4. cocrystal BEX:PA; 5. picolinamida, forma II; 6. mistura de BEX: PA+NA na proporção 1:1. $\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$.

Pela análise dos espectros da figura 3.73 constata-se que o espectro obtido para este sistema é a soma do espectro de cocrystal BEX:PA com o espectro da nicotinamida. As linhas a tracejado representadas evidenciam a presença da nicotinamida.

A análise da curva 6 da figura 3.74 permite identificar quatro eventos endotérmicos a $66,2 \text{ }^\circ\text{C}$; $75,0 \text{ }^\circ\text{C}$; $87,1 \text{ }^\circ\text{C}$ e $166,1 \text{ }^\circ\text{C}$ de difícil atribuição. Neste caso, não foi construído o diagrama de fases binário sólido-líquido por falta do valor da entalpia de fusão de cocrystal BEX:PA pois a fusão deste é concomitante com a cristalização do bexaroteno.

3.4.5 Sistema BEX:NA +PA

Como o cocrystal BEX:NA só se forma por cristalização do fundido, para o preparar foi utilizado um recipiente em aço inoxidável de 2 mL onde se colocou a mistura de bexaroteno com nicotinamida após moagem, tendo este sido hermeticamente fechado em ambiente de azoto e colocado na estufa à temperatura de $215 \text{ }^\circ\text{C}$, durante oito minutos. Após arrefecimento até à temperatura ambiente, foi novamente colocado na estufa durante dez minutos à temperatura de $70 \text{ }^\circ\text{C}$, para garantir a completa cristalização. A presença de cocrystal foi comprovada por espectroscopia de infravermelho. A mistura de cocrystal de BEX:NA com picolinamida na proporção 1:1 foi efetuada nas condições indicadas na tabela 2.4.

Na figura 3.75 está o registo do espectro obtido para esta mistura após a moagem, bem como os espectros de cocristais BEX:NA e BEX:PA e os espectros dos compostos puros para efeito de comparação.

Na figura 3.76 estão representados os termogramas de cocristais BEX:NA e BEX:PA, desta mistura e dos compostos puros, para o primeiro aquecimento em DSC.

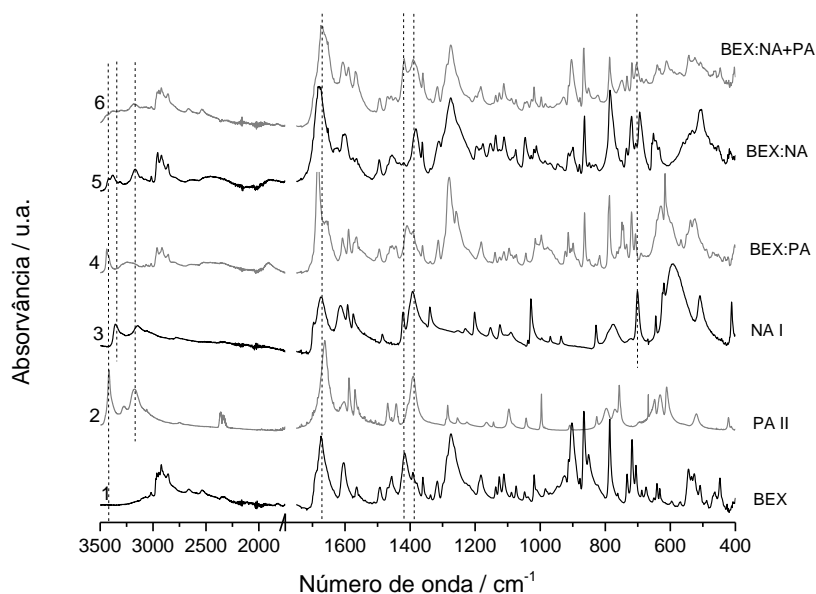


Figura 3.75 – Espectros FTIR-ATR de: 1. bexaroteno; 2. picolinamida, forma II; 3. nicotinamida, forma I; 4. cocrystal de Bex:PA; 5. cocrystal de BEX:NA; 6. mistura de BEX:NA+PA (1:1) após a moagem.

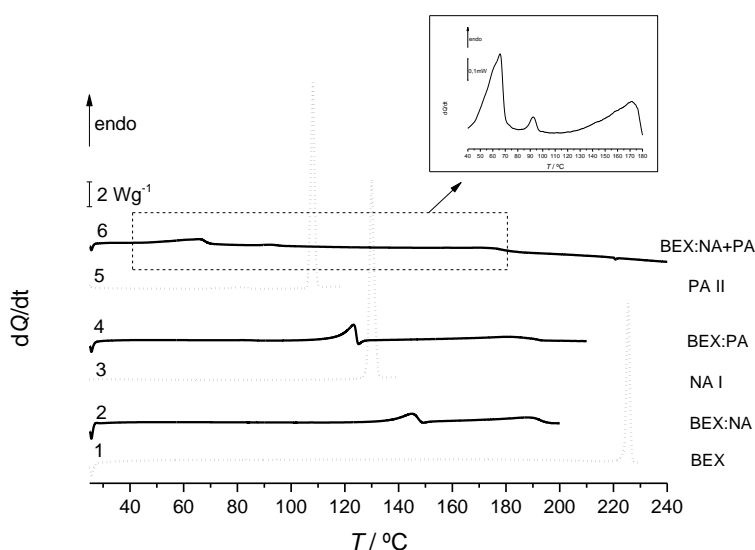


Figura 3.76 – Curvas de DSC de aquecimento para: 1. bexaroteno; 2. cocrystal de BEX:NA; 3. nicotinamida, forma I; 4. cocrystal de BEX:PA; 5. picolinamida, forma II; 6. mistura de BEX:NA+PA na proporção 1:1. $\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$.

Pela análise dos espectros da figura 3.75 constata-se que o espectro obtido para este sistema é a soma do espectro de cocrystal BEX:PA com o espectro da nicotinamida. As linhas a tracejado representadas na figura evidenciam a presença da nicotinamida.

Como se pode verificar, a curva 6 da figura 3.76 apresenta três eventos endotérmicos a 48,6 °C; 87,5 °C e 173,1 °C, mas de difícil interpretação.

Para este sistema não foi possível a construção do diagrama de fases binário sólido-líquido por falta dos valores das entalpias de fusão dos cocrystal de BEX:PA e de BEX:NA, uma vez que ambos os cocrystal apresentam fusão concomitante com cristalização.

Deste modo, os resultados obtidos experimentalmente não são suficientes para uma correta interpretação, pelo que serão necessários mais estudos.

3.4.6 Sistema BEX:NA + INA

Procedeu-se à moagem de cocrystal BEX:NA (preparado como indicado no sistema anterior) com isonicotinamida, na proporção 1:1, nas condições indicadas na tabela 2.4. O espectro de FTIR-ATR obtido para esta mistura após a moagem encontra-se na figura 3.77, assim como os espectros dos cocrystal de BEX:INA e BEX:NA e os espectros dos compostos puros.

Na figura 3.78 apresentam-se os difratogramas experimentais de raios-X de pó para a mistura BEX:NA+INA (1:1), para a mistura BEX:INA (1:1), para a mistura BEX:NA e os difratogramas simulados a partir de dados cristalográficos de raios-X de monocristal depositados na CCDC, para o bexaroteno e nicotinamida, forma I.

Na figura 3.79 são apresentadas as curvas de DSC do primeiro aquecimento obtidas para esta mistura, para os cocrystal de BEX:NA e BEX:INA (1:1) e para os compostos puros. O diagrama de fases sólido-líquido simulado do cocrystal BEX:INA com a nicotinamida mostra-se na figura 3.80.

A análise da figura 3.77 permite concluir que o espectro obtido para esta mistura (BEX:NA+INA) é muito semelhante ao espectro do cocrystal de bexaroteno e isonicotinamida, não sendo evidente a presença de nicotinamida. Também se chegou à mesma conclusão pela análise dos difratogramas presentes na figura 3.78.

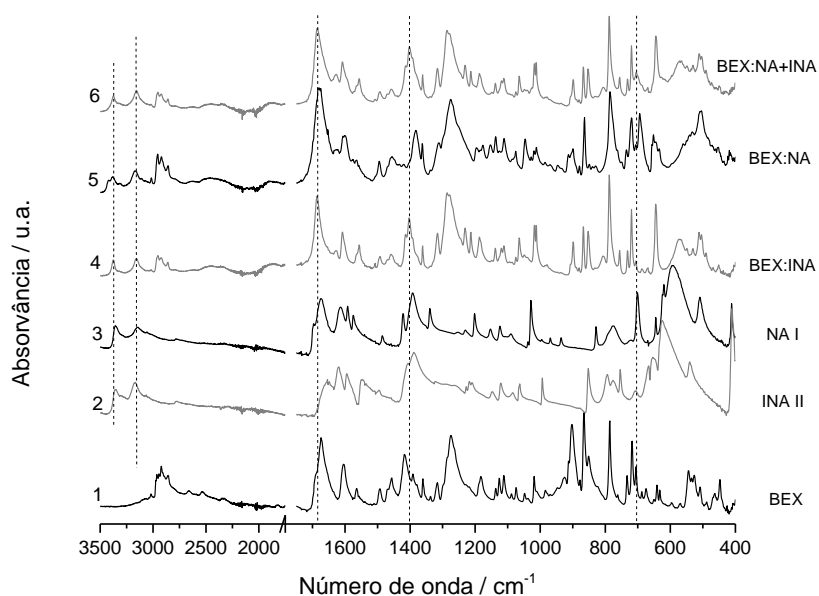


Figura 3.77 – Espectros FTIR-ATR de: 1. bexaroteno; 2. isonicotinamida, forma II; 3. nicotinamida, forma I; 4. cocrystal de BEX:INA na proporção 1:1; 5. cocrystal de BEX:NA; 6. mistura de BEX:NA+INA (1:1) após a moagem.

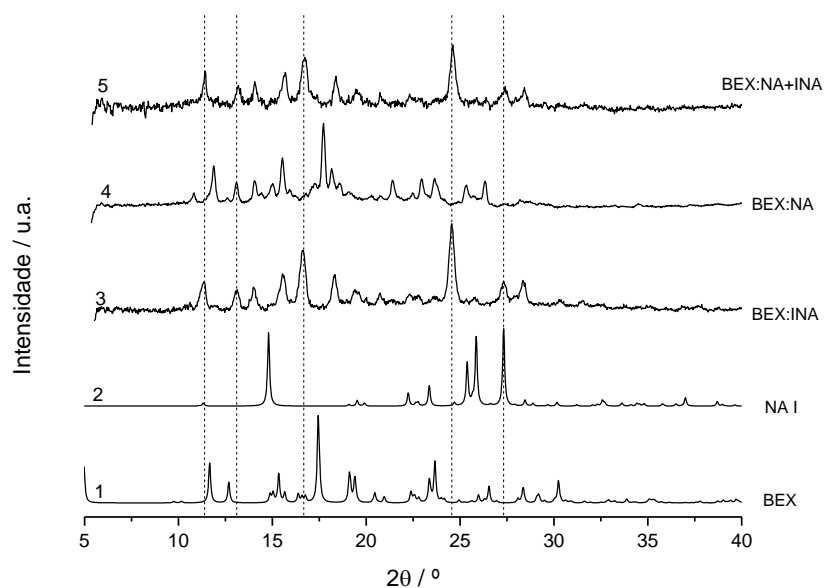


Figura 3.78 – Difratoogramas de raios-X de pó: 1. simulado para o bexaroteno; 2. simulado para a nicotinamida I; 3. experimental obtido da mistura de BEX:INA; 4. experimental obtido da mistura de BEX:NA; 5. experimental obtido da mistura de BEX:NA+INA.

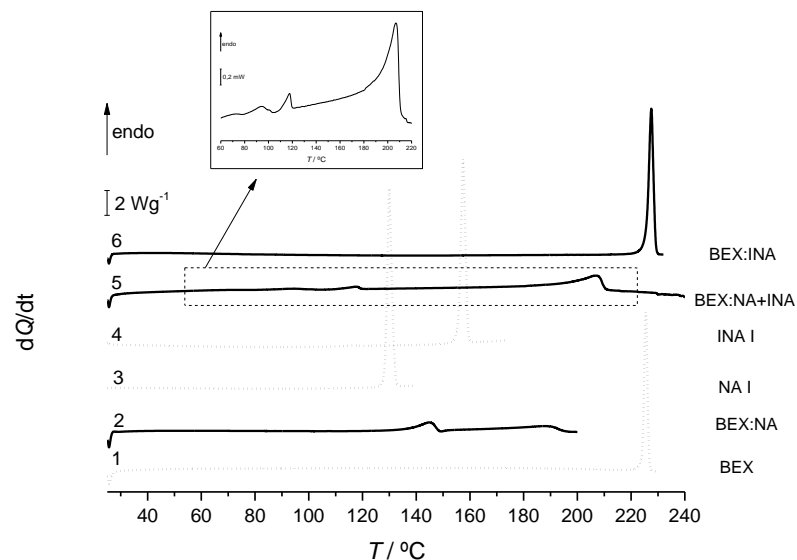


Figura 3.79 – Curvas de DSC de aquecimento para: 1. bexaroteno; 2. cocrystal de BEX:NA; 3. nicotinamida, forma I; 4. isonicotinamida, forma I; 5. mistura de BEX:NA+INA após moagem; 6. cocrystal BEX:INA na proporção 1:1. $\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$.

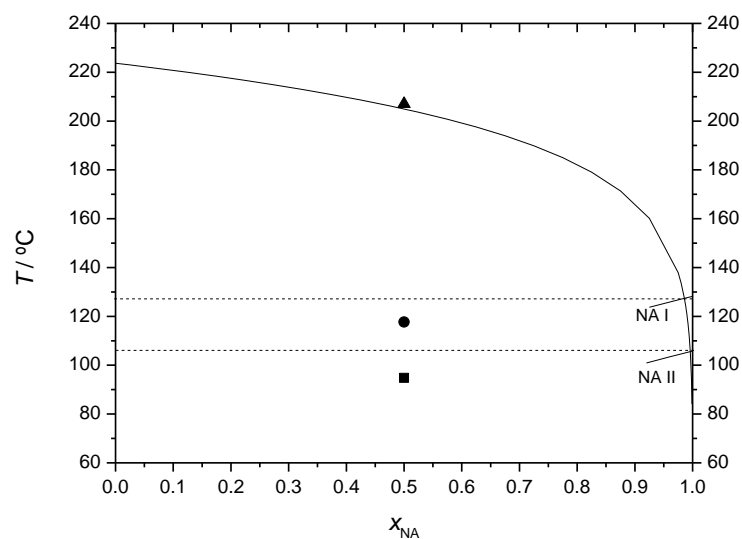


Figura 3.80 – Diagrama de fases sólido-líquido simulado para o sistema binário BEX:INA e nicotinamida utilizando a equação de Schröder-van Laar: --- solidus; — liquidus; ■ T_{fus} , mistura eutética; ▲ $T_{liquidus}$.

Na curva 5 da figura 3.79 foram registados três picos endotérmicos a 89,4 °C; 111,8 °C e 207,0 °C. Estes pontos obtidos experimentalmente foram registados no diagrama de fases, figura 3.80 verificando-se que estão de acordo com a equação 1.1, em que se inferem a seguinte sequência de eventos térmicos: fusão da mistura eutética com nicotinamida na forma II, fusão da mistura eutética com nicotinamida na forma I e fusão do excesso de BEX:INA.

Da análise dos resultados obtidos para o sistema (BEX:NA+INA) conclui-se que ocorre a formação de cocrystal BEX:INA não havendo a evidência da presença de cocrystal BEX:NA.

3.4.7 Sistema BEX+PA+INA

Na figura 3.81 é apresentado o espectro de infravermelho da mistura obtida após a moagem, bem como os espectros de infravermelho dos cocrystal BEX:INA e BEX:PA e os espectros dos compostos puros para possíveis comparações.

Os difratogramas experimentais de raios-X de pó para esta mistura, para o cocrystal de BEX:INA e para o cocrystal de BEX:PA, e os difratogramas simulados a partir de dados cristalográficos de raios-X de monocristal depositados na CCDC, do bexaroteno e da picolinamida forma II, são mostrados na figura 3.82.

Na figura 3.83 são apresentadas as curvas de DSC obtidas para esta mistura, para os cocrystal BEX:INA e BEX:PA e para os compostos puros. O diagrama de fases binário sólido-líquido simulado para o sistema BEX:INA com PA apresenta-se na figura 3.84.

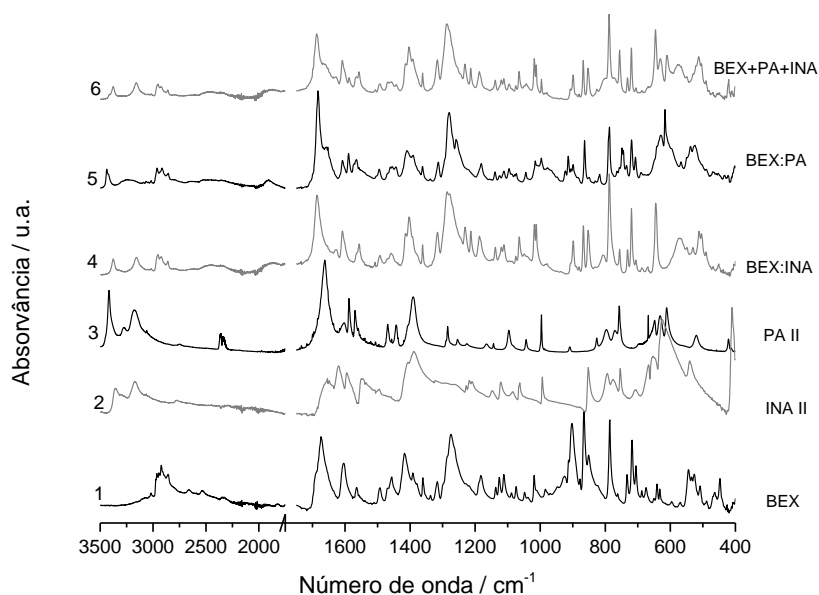


Figura 3.81 – Espectros FTIR-ATR de: 1. bexaroteno; 2. isonicotinamida, forma II; 3. picolinamida, forma II; 4. cocrystal de BEX:INA na proporção 1:1; 5. cocrystal de BEX:PA; 6. mistura de BEX+PA+INA (1:1:1) após a moagem.

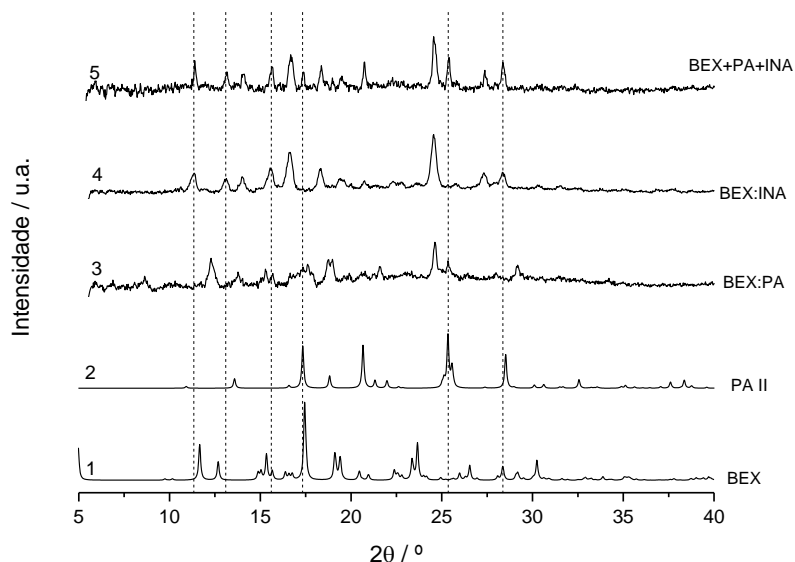


Figura 3.82 – Difratomogramas de raios-X de pó: 1. simulado para o bexaroteno; 2. simulado para a picolinamida II; 3. experimental obtido da mistura de BEX:PA; 4. experimental obtido da mistura de BEX:INA; 5. experimental obtido da mistura de BEX+PA+INA.

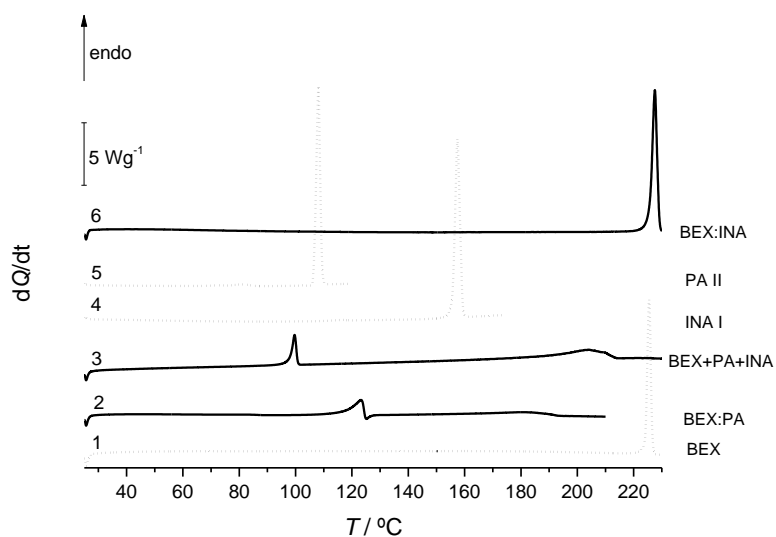


Figura 3.83 – Curvas de DSC de aquecimento para: 1. bexaroteno; 2. mistura de Bex:PA; 3. mistura de Bex+PA+INA após moagem; 4. isonicotinamida, forma I; 5. picolinamida, forma II; 6. cocrystal Bex:INA na proporção 1:1. $\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$.

Através da análise do espectro 6 da figura 3.81, e fazendo todas as comparações possíveis, verifica-se que o espectro obtido é a soma do espectro do cocrystal de bexaroteno com isonicotinamida e do espectro da picolinamida, forma II.

A comparação do difratograma desta mistura com os restantes difratogramas apresentados na figura 3.82 confirmam a interpretação feita pela análise dos espectros de

infravermelho, em que a mistura de BEX+PA+INA, após moagem, origina a formação do cocrystal de BEX:INA e a não associação da picolinamida com os restantes compostos.

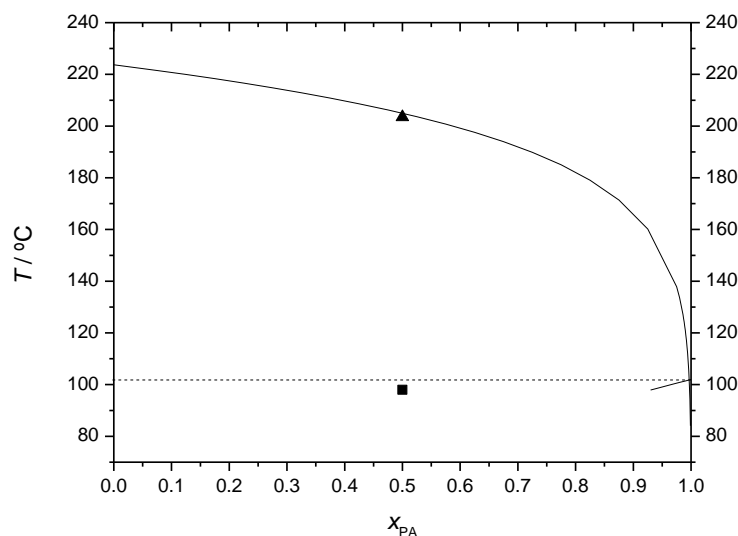


Figura 3.84 – Diagrama de fases sólido-líquido simulado para o sistema binário BEX:INA e picolinamida II utilizando a equação de Schröder-van Laar: --- solidus; — liquidus; ■ T_{fus} , mistura eutética; ▲ $T_{liquidus}$.

Para esta mistura, curva 3 da figura 3.83, observa-se um pico endotérmico a 98,0 °C e outro pico também endotérmico, mas mais arrastado a 203,5 °C. Analisando o diagrama de fases sólido-líquido constata-se que as temperaturas das transições registadas experimentalmente são muito próximas do previsto para um diagrama de fases com um eutético simples, calculado usando a equação 1.1, em que há a fusão da mistura eutética e posterior fusão do excesso de BEX:INA.

3.4.8 Sistema BEX+NA+INA

O espectro de infravermelho após a moagem é mostrado na figura 3.85, em que também se inclui os espectros dos cocrystal de BEX:INA, de BEX:NA e de NA:INA e dos compostos puros. A figura 3.86 representa o conjunto de termogramas do aquecimento do sistema ternário (BEX+NA+INA), dos cocrystal de BEX:NA e de BEX:INA, bem como dos compostos puros.

O diagrama de fases sólido-líquido simulado do cocrystal BEX:INA com a nicotinamida mostra-se na figura 3.87.

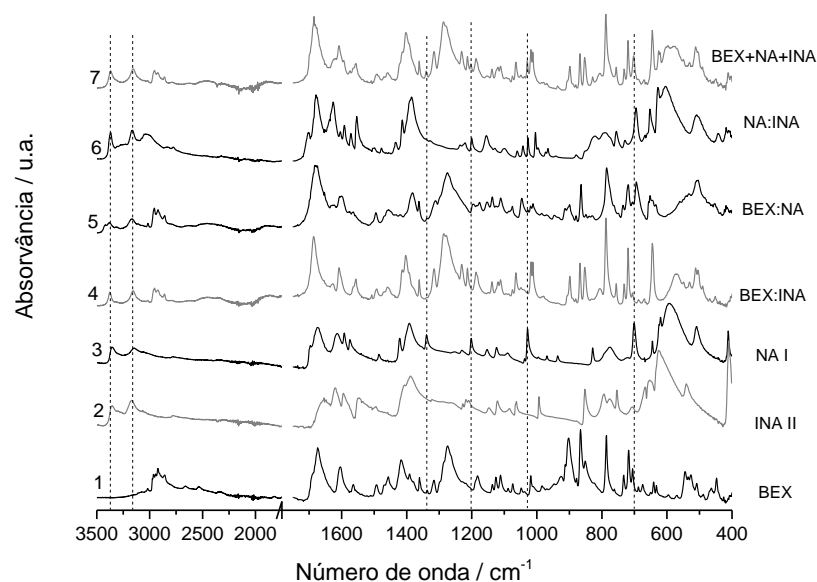


Figura 3.85 – Espectros FTIR-ATR de: 1. bexaroteno; 2. isonicotinamida, forma II; 3. nicotinamida, forma I; 4. cocristal de BEX:INA na proporção 1:1; 5. cocristal de BEX:NA; 6. cocristal de NA:INA na proporção 1:1; 7. mistura de BEX+NA+INA (1:1:1) após a moagem.

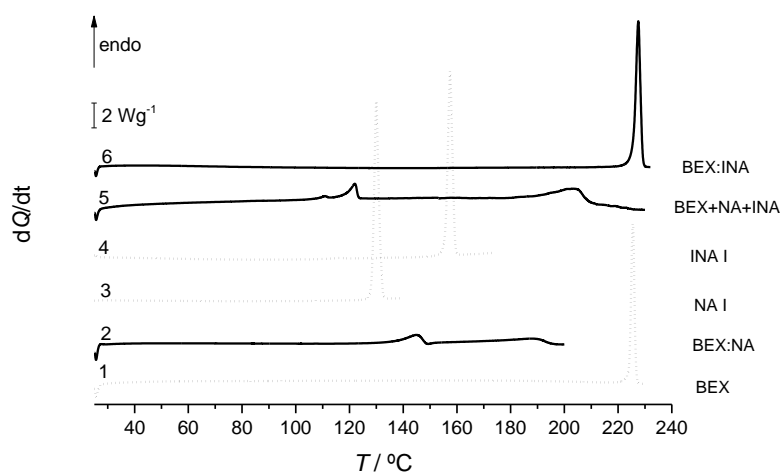


Figura 3.86 – Curvas de DSC de aquecimento para: 1. bexaroteno; 2. cocristal de BEX:NA; 3. nicotinamida, forma I; 4. isonicotinamida, forma I; 5. mistura de BEX+NA+INA após moagem; 6. cocristal BEX:INA na proporção 1:1. $\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$.

Pela análise da figura 3.85 verifica-se que o espectro de infravermelho obtido para a mistura de BEX+NA+INA, espectro 7, é a soma do espectro do cocristal BEX:INA e do espectro de nicotinamida forma I, pelo que se constata que a isonicotinamida associou-se ao bexaroteno em vez de se associar à nicotinamida.

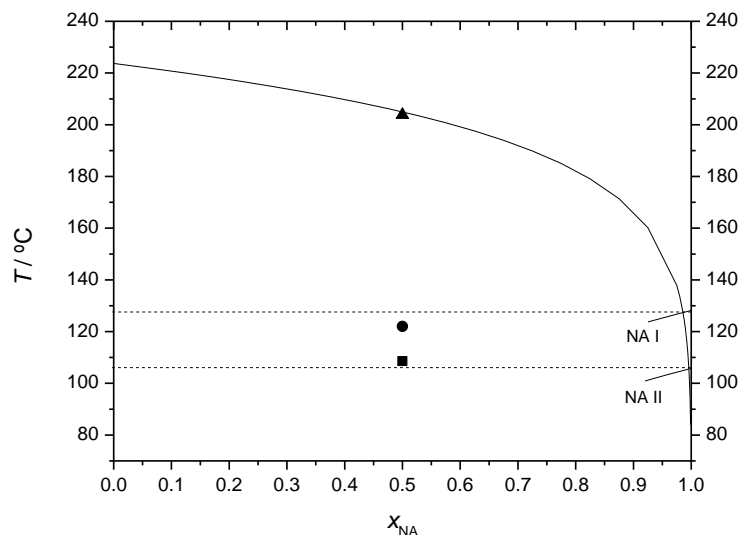


Figura 3.87 – Diagrama de fases sólido-líquido simulado para o sistema binário BEX:INA e nicotinamida utilizando a equação de Schröder-van Laar: --- *solidus*; — *liquidus*; ■ T_{fus} , mistura eutética; ▲ $T_{liquidus}$.

No diagrama de fases binário sólido-líquido simulado para este sistema, figura 3.87, é possível identificar dois pontos correspondentes à fusão da mistura eutética com a nicotinamida II, 108,6 °C, e com a nicotinamida I, 122,0 °C e o terceiro ponto correspondente à fusão do excesso do cocrystal BEX:INA, 203,8 °C.

Como o cocrystal de BEX:NA só se forma na cristalização do fundido procedeu-se a dois ciclos de aquecimento/arrefecimento com o objetivo de verificar se para este sistema ternário, também haveria a formação deste cocrystal. As curvas registadas no primeiro e segundo aquecimento, em DSC, são mostradas na figura 3.88. O sólido obtido após este ensaio em DSC foi analisado por infravermelho, sendo o espectro obtido o que se apresenta na figura 3.89, espectro 2. Para verificar se teria ocorrido alguma alteração em relação à mistura obtida após a moagem, este espectro também foi incluído na figura 3.89, espectro 1.

Pela análise do termograma referente ao segundo aquecimento desta mistura, curva 2 da figura 3.88, constata-se que não ocorreu a associação entre o bexaroteno e a nicotinamida. Comparando os dois espectros da figura 3.89 verifica-se que não ocorreram alterações significativas, isto é, no arrefecimento do fundido obtém-se também cocrystal de BEX:INA.

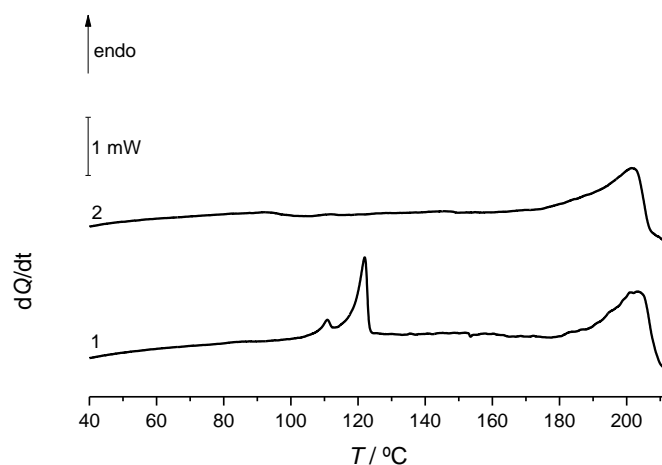


Figura 3.88 – Curvas de DSC da mistura de bexaroteno, nicotinamida e isonicotinamida na proporção de 1:1:1 para: 1. primeiro aquecimento; 2. segundo aquecimento. $m = 1,14 \text{ mg}$, $\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$.

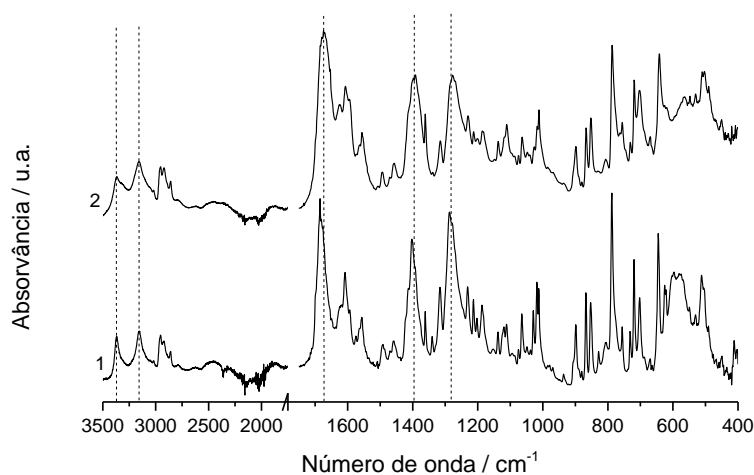


Figura 3.89 – Espetros FTIR-ATR da mistura de bexaroteno, nicotinamida I e isonicotinamida II na proporção 1:1:1. 1. após moagem; 2. após cristalização do fundido.

3.4.9 Considerações finais

A tabela 3.8 sumariza os resultados para os sistemas cocrystal+coformador obtidos por mecanoquímica. Pode-se constatar, pela análise da tabela 3.8, que de entre as pridinacarboxamidas, a isonicotinamida é o coformador que dá origem ao cocrystal mais estável com o bexaroteno. Pode-se também concluir que de entre os coformadores picolinamida e nicotinamida, o cocrystal do bexaroteno com a picolinamida é o mais estável, nas condições utilizadas.

Tabela 3.8 – Resumo dos resultados obtidos por mecanoquímica.

Sistema de partida		Sistema obtido
BEX:INA+PA	→	BEX:INA+PA
BEX:INA+NA	→	BEX:INA+NA
BEX:PA+INA	→	BEX:INA+PA
BEX:PA+NA	→	BEX:PA+NA (por FTIR-ATR)
BEX:NA+PA	→	BEX:PA+NA (por FTIR-ATR)
BEX:NA+INA	→	BEX:INA+NA
BEX+PA+INA	→	BEX:INA+PA
BEX+NA+INA	→	BEX:INA+NA

4 Conclusão

O desenvolvimento de novas formas sólidas de APIs é um tema que tem recebido grande destaque nos últimos anos, com importante impacto nas características físico-químicas, desempenho e proteção dos direitos de propriedade intelectual de materiais moleculares. Assim, um estudo rigoroso e eficiente de fármacos atualmente comercializados permite otimizar as suas propriedades, como sejam a estabilidade, solubilidade e biodisponibilidade.

Nesse sentido, foi feito o estudo para obter novas formas sólidas do bexaroteno com base nos princípios de engenharia de cristais e química supramolecular que racionalizam a sua formação e o seu modo de agregação, mantendo as propriedades farmacológicas originais do API, uma vez que a sua identidade não é alterada.

Neste trabalho foram realizados vários ensaios de cocristalização dos quais se obtiveram quatro cocristais de bexaroteno com os coformadores isonicotinamida, picolinamida, nicotinamida e ácido tartárico e um cocristal de nicotinamida:isonicotinamida.

Os cocristais foram obtidos por mecanoquímica, em que se utilizou a moagem assistida por solvente, que mostrou ser um método de síntese eficiente, que requer menos energia e solvente e sem a formação de produtos secundários indesejados, sendo portanto, esta uma técnica para a “síntese verde” de produtos farmacêuticos.

O cocristal BEX:INA (1:1) foi obtido diretamente por moagem, o qual também se forma no arrefecimento do fundido. Estes cocristais foram obtidos por cristalização incongruente, sendo possível a recolha de um monocristal com as características necessárias para a difração de raios-X de monocristal. Deste modo, foi resolvida pela primeira vez a estrutura cristalina deste cocristal, constatando-se a presença do heterossintão ácido—N_{aromático} e de dímeros de isonicotinamida.

O cocristal BEX:PA também foi obtido diretamente por moagem, não sendo possível estabelecer a sua estequiometria com os resultados experimentais obtidos. Por arrefecimento do fundido, este sistema não dá origem a cocristal.

Para o sistema bexaroteno com nicotinamida obteve-se por mecanoquímica uma mistura eutética. O eutético terá uma composição $x_{\text{BEX}} < 0,05$. O cocristal de BEX:NA é gerado por meio de cristalização do fundido, para o qual é observado um comportamento térmico complexo, não tendo sido possível determinar a sua estequiometria.

Na investigação por espectroscopia de infravermelho é identificado claramente o heterossintão ácido—N-piridínico nos três cocristais formados com as piridinacarboxamidas.

Na síntese por mecanoquímica foi possível estabelecer uma hierarquia na cocristalização entre o bexaroteno e as piridinacarboxamidas, sendo que o sistema BEX:INA é o que predomina relativamente aos restantes cocristais.

O cocristal BEX:TA foi sintetizado por moagem não tendo sido possível estabelecer a sua estequiometria.

Nos estudos de associação entre os coformadores constatou-se que o sistema nicotinamida + isonicotinamida origina um cocristal com estequiometria (1:1) sintetizado por moagem. No arrefecimento do fundido do cocristal obtém-se uma forma polimórfica que no aquecimento transita para a forma inicial a ~ 96 °C. Para os sistemas NA+PA e PA+INA obtiveram-se misturas eutéticas.

Os diagramas de fases binários sólido-líquido mostraram-se uma ferramenta muito útil para a análise dos resultados obtidos nas experiências de DSC, na medida em que facilmente se identificava se se estava perante uma mistura eutética ou um cocristal, conjuntamente com os resultados de FTIR-ATR e difração de raios-X.

Portanto, o principal objetivo deste estudo foi alcançado com sucesso. Vale a pena destacar a relevância e a importância destes resultados levando em consideração a utilização terapêutica deste fármaco como agente antineoplásico e como potencial agente terapêutico na doença de Alzheimer.

5 Perspetivas futuras

Os inúmeros resultados obtidos neste projeto de investigação possibilitam o levantamento de uma série de questões que perspetivam futuras investigações, sendo de destacar:

- O estudo do segundo aquecimento dos sistemas em que não ocorreu a formação de cocrystal por mecanoquímica, ou mesmo a alteração das condições experimentais na sua possível síntese.
- A resolução das estruturas cristalinas para os restantes cocristsais sintetizados através de difração de raios-X de monocristal seria muito importante, pois poder-se-ia obter uma descrição completa e detalhada da estrutura em termos de geometria e ligações intermoleculares, nomeadamente os sintões supramoleculares estabelecidos.
- A realização de estudos complementares para o sistema bexaroteno + nicotinamida, pois a nova forma encontrada suscitou diversas incertezas.
- A determinação da estequiometria dos cocristsais BEX:PA, BEX:NA e BEX:TA.
- A realização de estudos de solubilidade para os cocristsais obtidos, especialmente os mais promissores BEX:NA e BEX:TA, uma vez que a nicotinamida e o ácido tartárico pertencem à lista GRAS da FDA como substâncias geralmente reconhecidas como seguras.
- A investigação do polimorfismo do cocrystal de NA:INA sintetizado.

6 Referências bibliográficas

1. STAHLY, G. P. - **Diversity in single- and multiple-component crystals. The search for and prevalence of polymorphs and cocrystals.** Cryst. Growth Des., 7 (2007) 1007-1026.
2. HILFIKER, R. - **Polymorphism in the pharmaceutical industry.** Weinheim: Wiley-VCH, 2006. 9783527311460.
3. VIPPAGUNTA, S. R.; BRITAIN, H. G.; GRANT, D. J. W. - **Crystalline solids.** Adv. Drug Deliv. Rev., 48 (2001) 3-26.
4. DATTA, S.; GRANT, D. J. W. - **Crystal structures of drugs: Advances in determination, prediction and engineering.** Nat. Rev. Drug Discov., 3 (2004) 42-57.
5. SHAN, N.; ZAWOROTKO, M. J. - **The role of cocrystals in pharmaceutical science.** Drug Des. Discovery, 13 (2008) 440-446.
6. TIWARY, A. K. - **Modification of crystal habit and its role in dosage form performance.** Drug Dev. Ind. Pharm., 27 (2001) 699-709.
7. SUN, Y., *et al.* - **Stability of Amorphous Pharmaceutical Solids: Crystal Growth Mechanisms and Effect of Polymer Additives.** AAPS J., 14 (2012) 380-388.
8. RODRIGUEZ-SPONG, B., *et al.* - **General principles of pharmaceutical solid polymorphism: a supramolecular perspective.** Adv. Drug Deliv. Rev., 56 (2004) 241-274.
9. ALMARSSON, O.; ZAWOROTKO, M. J. - **Crystal engineering of the composition of pharmaceutical phases. Do pharmaceutical co-crystals represent a new path to improved medicines?** Chem. Commun., (2004) 1889-1896.
10. - **PROPOSAL FOR REDEFINING GDUFA'S API & FDF DEFINITIONS.** 2015,[Acedido a 29-08-2016]. Disponível na Internet: <http://www.fda.gov/downloads/forindustry/userfees/genericdruguserfees/ucm452616.pdf>
11. DUGGIRALA, N. K., *et al.* - **Pharmaceutical cocrystals: along the path to improved medicines.** Chem. Commun., 52 (2016) 640-655.
12. BERNSTEIN, J. - **Polymorphism in Molecular Crystals.** Oxford University Press, 2002. 9780198506058.
13. THRELFALL, T. L. - **ANALYSIS OF ORGANIC POLYMORPHS - A REVIEW.** Analyst, 120 (1995) 2435-2460.
14. BUERGER, M. J.; BLOOM, M. C. - **Crystal polymorphism.** Z. Kristallogr., 96 (1937) 182-200.
15. NANGIA, A. - **Conformational polymorphism in organic crystals.** Acc. Chem. Res., 41 (2008) 595-604.
16. CRUZ-CABEZA, A. J.; REUTZEL-EDENS, S. M.; BERNSTEIN, J. - **Facts and fictions about polymorphism.** Chem. Soc. Rev., 44 (2015) 8619-8635.
17. GIRON, D. - **Investigations of polymorphism and pseudo-polymorphism in pharmaceuticals by combined thermoanalytical techniques.** J. Therm. Anal. Calorim., 64 (2001) 37-60.
18. RAW, A. S., *et al.* - **Regulatory considerations of pharmaceutical solid polymorphism in abbreviated new drug applications (ANDAs).** Adv. Drug Deliv. Rev., 56 (2004) 397-414.
19. LU, J.; ROHANI, S. - **Polymorphism and crystallization of active pharmaceutical ingredients (APIs).** Curr Med Chem, 16 (2009) 884-905.
20. LLINAS, A.; GOODMAN, J. M. - **Polymorph control: past, present and future.** Drug Des. Discovery, 13 (2008) 198-210.
21. FABBIANI, F. P. A., *et al.* - **High-pressure recrystallisation - a route to new polymorphs and solvates.** CrystEngComm, 6 (2004) 504-511.
22. SINGHAL, D.; CURATOLO, W. - **Drug polymorphism and dosage form design: a practical perspective.** Adv. Drug Deliv. Rev., 56 (2004) 335-347.
23. KAWABATA, Y., *et al.* - **Formulation design for poorly water-soluble drugs based on biopharmaceutics classification system: basic approaches and practical applications.** Int. J. Pharm., 420 (2011) 1-10.

24. GIRON, D.; MUTZ, M.; GARNIER, S. - **Solid-state of pharmaceutical compounds - Impact of the ICH Q6 guideline on industrial development.** J. Therm. Anal. Calorim., 77 (2004) 709-747.
25. CENSI, R.; DI MARTINO, P. - **Polymorph Impact on the Bioavailability and Stability of Poorly Soluble Drugs.** Molecules, 20 (2015) 18759-76.
26. - **ANDAs: Pharmaceutical Solid Polymorphism 2007**, [Acedido a 2016-08-11]. Disponível na Internet:
<<http://www.fda.gov/downloads/drugs/guidancecomplianceregulatoryinformation/guidances/ucm072866.pdf>>.
27. AAKERROY, C. B.; SALMON, D. J. - **Building co-crystals with molecular sense and supramolecular sensibility.** CrystEngComm, 7 (2005) 439-448.
28. JONES, W.; MOTHERWELL, S.; TRASK, A. V. - **Pharmaceutical cocrystals: An emerging approach to physical property enhancement.** MRS Bull., 31 (2006) 875-879.
29. QIAO, N., *et al.* - **Pharmaceutical cocrystals: an overview.** Int. J. Pharm., 419 (2011) 1-11.
30. SHAN, N., *et al.* - **Impact of pharmaceutical cocrystals: the effects on drug pharmacokinetics.** Expert Opin Drug Metab Toxicol, 10 (2014) 1255-1271.
31. PERLOVICH, G. L.; MANIN, A. N. - **Design of pharmaceutical cocrystals for drug solubility improvement.** Russ. J. Gen. Chem., 84 (2014) 407-414.
32. - **Regulatory Classification of Pharmaceutical Co-Crystals.** 2013, [Acedido a 2016-11-08]. Disponível na Internet:
<<http://www.fda.gov/downloads/drugs/guidancecomplianceregulatoryinformation/guidances/ucm281764.pdf>>.
33. AITIPAMULA, S., *et al.* - **Polymorphs, Salts, and Cocrystals: What's in a Name?** Cryst. Growth Des., 12 (2012) 2147-2152.
34. GROTHE, E., *et al.* - **Solvates, Salts, and Cocrystals: A Proposal for a Feasible Classification System.** Cryst. Growth Des., 16 (2016) 3237-3243.
35. - **Reflection paper on the use of cocrystals of active substances in medicinal products.** 2015, [Acedido a 2016-08-12]. Disponível na Internet:
<http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2015/07/WC500189927.pdf>.
36. HASA, D., *et al.* - **Cocrystal Formation through Mechanochemistry: from Neat and Liquid-Assisted Grinding to Polymer-Assisted Grinding.** Angew. Chem., Int. Ed., 54 (2015) 7371-5.
37. AAKERROY, C. B., *et al.* - **Structural competition between hydrogen bonds and halogen bonds.** J. Am. Chem. Soc., 129 (2007) 13772-13773.
38. NANGIA, A. - **Supramolecular chemistry and crystal engineering.** J. Chem. Sci, 122 (2010) 295-310.
39. DESIRAJU, G. R. - **Hydrogen bridges in crystal engineering: Interactions without borders.** Acc. Chem. Res., 35 (2002) 565-573.
40. DESIRAJU, G. R. - **Reflections on the Hydrogen Bond in Crystal Engineering.** Cryst. Growth Des., 11 (2011) 896-898.
41. EVORA, A. O. L., *et al.* - **Co-crystals of diflunisal and isomeric pyridinecarboxamides - a thermodynamics and crystal engineering contribution.** CrystEngComm, 18 (2016) 4749-4759.
42. PRIGOGINE, I. D., R. - **Chemical Thermodynamics.** Glasgow: Longmans, 1954.
43. LI, Z.; MATZGER, A. J. - **Influence of Coformer Stoichiometric Ratio on Pharmaceutical Cocrystal Dissolution: Three Cocrystals of Carbamazepine/4-Aminobenzoic Acid.** Mol. Pharm., 13 (2016) 990-995.
44. HE, G. W., *et al.* - **Screening for cocrystallization tendency: The role of intermolecular interactions.** Phys. Chem. B, 112 (2008) 9890-9895.
45. SHAN, N.; TODA, F.; JONES, W. - **Mechanochemistry and co-crystal formation: effect of solvent on reaction kinetics.** Chem. Commun., (2002) 2372-2373.
46. BRAGA, D.; MAINI, L.; GREPIONI, F. - **Mechanochemical preparation of co-crystals.** Chem. Soc. Rev., 42 (2013) 7638-7648.

47. FUCKE, K., *et al.* - **How good are the crystallisation methods for co-crystals? A comparative study of piroxicam.** *New J. Chem.*, 36 (2012) 1969-1977.
48. CHILDS, S. L.; 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) 4208-4211.
49. LU, E.; RODRIGUEZ-HORNEDO, N.; SURYANARAYANAN, R. - **A rapid thermal method for cocrystal screening.** *CrystEngComm*, 10 (2008) 665-668.
50. HASA, D., *et al.* - **Cocrystal Formation through Mechanochemistry: from Neat and Liquid-Assisted Grinding to Polymer-Assisted Grinding.** *Angew Chem Int Edit*, 54 (2015) 7371-7375.
51. HASA, D.; CARLINO, E.; JONES, W. - **Polymer-Assisted Grinding, a Versatile Method for Polymorph Control of Cocrystallization.** *Cryst. Growth Des.*, 16 (2016) 1772-1779.
52. WEYNA, D. R., *et al.* - **Synthesis and Structural Characterization of Cocrystals and Pharmaceutical Cocrystals: Mechanochemistry vs Slow Evaporation from Solution.** *Cryst. Growth Des.*, 9 (2009) 1106-1123.
53. FRISCIC, T. E. A. - **The role of solvent in mechanochemical and sonochemical cocrystal formation: a solubility-based approach for predicting cocrystallisation outcome.** *Cryst Eng Comm.*, 11 (2009) 418-426.
54. FRISCIC, T.; JONES, W. - **Cap. 8 - Application of Mechanochemistry in the Synthesis and Discovery of New Pharmaceutical Forms: Co-crystals, Salts and Coordination Compounds.** In: *Pharmaceutical Salts and Co-Crystals*. 2012. 978-1-84973-158-4.
55. TRASK, A. V.; MOTHERWELL, W. D. S.; JONES, W. - **Solvent-drop grinding: green polymorph control of cocrystallisation.** *Chem. Commun.*, (2004) 890-891.
56. FISCHER, F., *et al.* - **Polymorphism of Mechanochemically Synthesized Cocrystals: A Case Study.** *Cryst. Growth Des.*, 16 (2016) 1701-1707.
57. MCNAMARA, D. P., *et al.* - **Use of a glutaric acid cocrystal to improve oral bioavailability of a low solubility API.** *Pharm. Res.*, 23 (2006) 1888-1897.
58. TRASK, A. V. - **An overview of pharmaceutical cocrystals as intellectual property.** *Mol. Pharm.*, 4 (2007) 301-309.
59. DESIRAJU, G. R. - **SUPRAMOLECULAR SYNTHONS IN CRYSTAL ENGINEERING - A NEW ORGANIC-SYNTHESIS.** *Angew. Chem., Int. Ed.*, 34 (1995) 2311-2327.
60. THAKURIA, R., *et al.* - **Pharmaceutical cocrystals and poorly soluble drugs.** *Int. J. Pharm.*, 453 (2013) 101-25.
61. TOMASZEWSKA, I., *et al.* - **Pharmaceutical characterisation and evaluation of cocrystals: Importance of in vitro dissolution conditions and type of cofomer.** *Int. J. Pharm.*, 453 (2013) 380-388.
62. BERRY, D. J., *et al.* - **Applying hot-stage microscopy to co-crystal screening: A study of nicotinamide with seven active pharmaceutical ingredients.** *Cryst. Growth Des.*, 8 (2008) 1697-1712.
63. - **List of GRAS chemical.** [Acedido a 2016-08-26]. Disponível na Internet: <http://www.fda.gov/food/ingredientspackaginglabeling/foodadditivesingredients/ucm091048.htm#ftnN>.
64. HINO, T.; FORD, J. L.; POWELL, M. W. - **Assessment of nicotinamide polymorphs by differential scanning calorimetry.** *Thermochim. Acta*, 374 (2001) 85-92.
65. MIWA, Y., *et al.* - **Experimental charge density and electrostatic potential in nicotinamide.** *Acta Crystallogr., Sect. B*, 55 (1999) 78-84.
66. CASTRO, R. A. E., *et al.* - **Naproxen Cocrystals with Pyridinecarboxamide Isomers.** *Cryst. Growth Des.*, 11 (2011) 5396-5404.
67. LI, J.; BOURNE, S. A.; CAIRA, M. R. - **New polymorphs of isonicotinamide and nicotinamide.** *Chem. Commun.*, 47 (2011) 1530-1532.
68. ANDO, S., *et al.* - **Physicochemical characterization and structural evaluation of a specific 2:1 cocrystal of naproxen-nicotinamide.** *J. Pharm. Sci.*, 101 (2012) 3214-3221.
69. AITIPAMULA, S., *et al.* - **Polymorphism and phase transformations of a cocrystal of nicotinamide and pimelic acid.** *Crystengcomm*, 14 (2012) 8193-8198.

70. LU, J.; ROHANI, S. - **Preparation and Characterization of Theophylline-Nicotinamide Cocrystal.** *Org. Process Res. Dev.*, 13 (2009) 1269-1275.
71. KAWABATA, T., *et al.* - **EFFECTS OF NICOTINAMIDE AND ITS ISOMERS ON IRON-INDUCED RENAL DAMAGE.** *Acta Pathol. Jpn.*, 42 (1992) 469-475.
72. YAMAMOTO, H.; 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) 474-481.
73. HABGOOD, M., *et al.* - **Carbamazepine Co-crystallization with Pyridine Carboxamides: Rationalization by Complementary Phase Diagrams and Crystal Energy Landscapes.** *Cryst. Growth Des.*, 10 (2010) 903-912.
74. CHAN, H. C. S., *et al.* - **Can picolinamide be a promising cocrystal former?** *CrystEngComm*, 16 (2014) 4365-4368.
75. ÉVORA, A. O. L., *et al.* - **Resolved structures of two picolinamide polymorphs. Investigation of the dimorphic system behaviour under conditions relevant to co-crystal synthesis.** *CrystEngComm*, 14 (2012) 8649-8657.
76. TAKANO, T.; SASADA, Y.; KAKUDO, M. - **CRYSTAL AND MOLECULAR STRUCTURE OF PICOLINAMIDE.** *Acta Crystallogr.*, 21 (1966) 514-522.
77. SAUVE, A. A. - **Pharmaceutical Strategies for Activating Sirtuins.** *Curr. Pharm. Des.*, 15 (2009) 45-56.
78. ECCLES, K. S., *et al.* - **Expanding the crystal landscape of isonicotinamide: concomitant polymorphism and co-crystallisation.** *CrystEngComm*, 13 (2011) 6923-6925.
79. AAKERROY, C. B., *et al.* - **Do polymorphic compounds make good cocrystallizing agents? A structural case study that demonstrates the importance of synthon flexibility.** *Cryst. Growth Des.*, 3 (2003) 159-165.
80. DUBEY, R.; DESIRAJU, G. R. - **Structural landscape of the 1: 1 benzoic acid : isonicotinamide cocrystal.** *Chem. Commun.*, 50 (2014) 1181-1184.
81. WANG, L., *et al.* - **Pharmaceutical Cocrystals of Diflunisal with Nicotinamide or Isonicotinamide.** *Org. Process Res. Dev.*, 17 (2013) 1413-1418.
82. SANPHUI, P.; KUMAR, S. S.; NANGIA, A. - **Pharmaceutical Cocrystals of Niclosamide.** *Cryst. Growth Des.*, 12 (2012) 4588-4599.
83. ZIMIC, M., *et al.* - **Pyrazinoic acid efflux rate in Mycobacterium tuberculosis is a better proxy of pyrazinamide resistance.** *Int J Tuberc Lung Dis*, 92 (2012) 84-91.
84. CASTRO, R. A. E., *et al.* - **A New Insight into Pyrazinamide Polymorphic Forms and their Thermodynamic Relationships.** *Cryst. Growth Des.*, 10 (2010) 274-282.
85. CASTRO, R. A. E., *et al.* - **Estudo de dois polimorfos da pirazinamida por calorimetria diferencial de varrimento e espetroscopia de infravermelho.** *Bol. Soc. Port. Quim.*, 130 (2013) 53-58.
86. CASTRO, R. A. E. M., T. M. R.; ÉVORA, A. O. L.; FEITEIRA, J. C.; SILVA, M. R.; BEJA, A. M.; CANOTILHO, J.; - **A new insight into pyrazinamide polymorphic forms and their thermodynamic relationships.** *Cryst. Growth Des.*, 10 (2010) 274-282.
87. LUO, Y. H.; SUN, B. W. - **Pharmaceutical Co-Crystals of Pyrazinecarboxamide (PZA) with Various Carboxylic Acids: Crystallography, Hirshfeld Surfaces, and Dissolution Study.** *Cryst. Growth Des.*, 13 (2013) 2098-2106.
88. WANG, J. R., *et al.* - **Pharmaceutical cocrystals of the anti-tuberculosis drug pyrazinamide with dicarboxylic and tricarboxylic acids.** *CrystEngComm*, 17 (2015) 747-752.
89. EVORA, A. O. L., *et al.* - **Pyrazinamide-Diflunisal: A New Dual-Drug Co-Crystal.** *Cryst. Growth Des.*, 11 (2011) 4780-4788.
90. MADUSANKA, N., *et al.* - **Polymorphs, hydrates and solvates of a co-crystal of caffeine with anthranilic acid.** *Acta Crystallogr., Sect. B*, 70 (2014) 72-80.
91. PINTO, S. S.; DIOGO, H. P. - **Thermochemical study of two anhydrous polymorphs of caffeine.** *J. Chem. Thermodyn.*, 38 (2006) 1515-1522.

92. ENRIGHT, G. D., *et al.* - **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) 1406-1410.
93. GORELIK, T. E., *et al.* - **Detecting Crystalline Nonequilibrium Phases on the Nanometer Scale.** *Cryst. Growth Des.*, 12 (2012) 3239-3242.
94. DONG, J.-X., *et al.* - **The standard molar enthalpy of formation, molar heat capacities, and thermal stability of anhydrous caffeine.** *J. Chem. Thermodyn.*, 39 (2007) 108-114.
95. AITIPAMULA, S.; CHOW, P. S.; TAN, R. B. H. - **Co-crystals of caffeine and piracetam with 4-hydroxybenzoic acid: Unravelling the hidden hydrates of 1: 1 co-crystals.** *CrystEngComm*, 14 (2012) 2381-2385.
96. JACOBS, A.; NOA, F. M. A. - **Co-crystals and co-crystal hydrates of vanillic acid.** *CrystEngComm*, 17 (2015) 98-106.
97. BUCAR, D. K., *et al.* - **A "hidden" co-crystal of caffeine and adipic acid.** *Chem. Commun.*, (2007) 525-527.
98. BUCAR, D. K., *et al.* - **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) 1932-1943.
99. INDRAYANTO, G., *et al.* - - **Benzoic acid.** In: *Analytical Profiles of Drug Substances and Excipients, Vol 26.* San Diego: Elsevier Academic Press Inc, 1999. 978-0-12-260826-1
100. SABBAH, R., *et al.* - **Reference materials for calorimetry and differential thermal analysis.** *Thermochim. Acta*, 331 (1999) 93-204.
101. SEATON, C. C., *et al.* - **Controlling the Formation of Benzoic Acid: Isonicotinamide Molecular Complexes.** *Cryst. Growth Des.*, 9 (2009) 47-56.
102. SARCEVICA, I., *et al.* - **Mechanistic and Kinetic Insight into Spontaneous Cocrystallization of Isoniazid and Benzoic Acid.** *Mol. Pharm.*, 12 (2015) 2981-2992.
103. DEREWENDA, Z. S. - **On wine, chirality and crystallography.** *Acta Crystallogr., Sect. A*, 64 (2008) 246-258.
104. NIE, J. J., *et al.* - **Redetermination of racemic tartaric acid monohydrate.** *Acta Crystallogr., Sect. E*, 57 (2001) 428-429.
105. BOOTSMA, G. A.; SCHOONE, J. C. - **CRYSTAL STRUCTURES OF MESOTARTARIC ACID.** *Acta Crystallogr.*, 22 (1967) 522-532.
106. FUKAMI, T. T., S.; YASUDA, C.; NAKASONE, K. - **Structural Refinements and Thermal Properties of L(+)-Tartaric, D(-)-Tartaric, and Monohydrate Racemic Tartaric Acid.** *Int. J. Chem.*, 8 (2016) 9-21.
107. MENG, F. Q., *et al.* - **Thermal behavior of urea-(D) tartaric acid and urea-(DL) tartaric acid crystals.** *J. Therm. Anal. Calorim.*, 52 (1998) 609-613.
108. BRAGA, D.; GREPIONI, F.; LAMPRENTI, G. I. - **Supramolecular metathesis: co-former exchange in co-crystals of pyrazine with (R,R)-, (S,S)-, (R,S)- and (S,S/R,R)-tartaric acid.** *CrystEngComm*, 13 (2011) 3122-3124.
109. GNIADDECKI, R., *et al.* - **The optimal use of bexarotene in cutaneous T-cell lymphoma.** *Br. J. Derm.*, 157 (2007) 433-440.
110. TOUSI, B. - **The emerging role of bexarotene in the treatment of Alzheimer's disease: current evidence.** *Neuropsychiatr Dis Treat.*, 11 (2015) 311-315.
111. VAKEVA, L.; RANKI, A.; HAHTOLA, S. - **Ten-year Experience of Bexarotene Therapy for Cutaneous T-cell Lymphoma in Finland.** *Acta Derm Venereol*, 92 (2012) 258-263.
112. CRAMER, P. E., *et al.* - **ApoE-Directed Therapeutics Rapidly Clear beta-Amyloid and Reverse Deficits in AD Mouse Models.** *Science*, 335 (2012) 1503-1506.
113. FITZ, N. F., *et al.* - **Comment on "ApoE-Directed Therapeutics Rapidly Clear beta-Amyloid and Reverse Deficits in AD Mouse Models".** *Science*, 340 (2013) 924-c.
114. PRICE, A. R., *et al.* - **Comment on "ApoE-Directed Therapeutics Rapidly Clear beta-Amyloid and Reverse Deficits in AD Mouse Models".** *Science*, 340 (2013) 924-d.
115. TESSEUR, I., *et al.* - **Comment on "ApoE-Directed Therapeutics Rapidly Clear beta-Amyloid and Reverse Deficits in AD Mouse Models".** *Science*, 340 (2013) 924-e.

116. VEERARAGHAVALU, K., *et al.* - **Comment on "ApoE-Directed Therapeutics Rapidly Clear beta-Amyloid and Reverse Deficits in AD Mouse Models"**. *Science*, 340 (2013) 924-f.
117. KLOPPER, J., *et al.* - **A Phase II Trial of Bexarotene for Advanced Differentiated Thyroid Cancer**. *Thyroid*, 25 (2015) 563-564.
118. BALDUCCI, C., *et al.* - **The Continuing Failure of Bexarotene in Alzheimer's Disease Mice**. *J Alzheimers Dis*, 46 (2015) 471-482.
119. TACHIBANA, M., *et al.* - **Rescuing effects of RXR agonist bexarotene on aging-related synapse loss depend on neuronal LRP1**. *Exp. Neurol.*, 277 (2016) 1-9.
120. MEHTA, N., *et al.* - **Bexarotene Is Active Against Subcutaneous Panniculitis-Like T-Cell Lymphoma in Adult and Pediatric Populations**. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*, 12 (2012) 20-25.
121. GAO, L., *et al.* - **Drug nanocrystals: In vivo performances**. *J. Controlled Release*, 160 (2012) 418-430.
122. BRANCHU, S., *et al.* - **At decision-support tool for the formulation of orally active, poorly soluble compounds**. *Eur. J. Pharm. Sci.*, 32 (2007) 128-139.
123. CHEN, L., *et al.* - **Bexarotene nanocrystal-Oral and parenteral formulation development, characterization and pharmacokinetic evaluation**. *Eur J Pharm Biopharm*, 87 (2014) 160-169.
124. DAISS, J. O., *et al.* - **Synthesis, crystal structure analysis, and pharmacological characterization of disila-bexarotene, a disila-analogue of the RXR-selective retinoid agonist bexarotene**. *Organometallics*, 24 (2005) 3192-3199.
125. LI, L., *et al.* - **Preparation, in vitro and in vivo evaluation of bexarotene nanocrystals with surface modification by folate-chitosan conjugates**. *Drug Deliv.*, 23 (2016) 79-87.
126. SASIKALA, V., *et al.* - **Growth, molecular structure, NBO analysis and vibrational spectral analysis of l-tartaric acid single crystal**. *Spectrochim. Acta Mol. Biomol. Spectrosc.*, 123 (2014) 127-141.
127. MUKHERJEE, A., *et al.* - **Synthon identification in co-crystals and polymorphs with IR spectroscopy. Primary amides as a case study**. *CrystEngComm*, 15 (2013) 4640.
128. TER HORST, J. H.; DEIJ, M. A.; CAINS, P. W. - **Discovering New Co-Crystals**. *Cryst. Growth Des.*, 9 (2009) 1531-1537.
129. REUS, M. A.; VAN DER HEIJDEN, A. E. D. M.; TER HORST, J. H. - **Solubility Determination from Clear Points upon Solvent Addition**. *Org. Process Res. Dev.*, 19 (2015) 1004-1011.
130. - **Product information - Bexarotene**. 2012,[Acedido a 2016-07-07]. Disponível na Internet: <<https://www.caymanchem.com/pdfs/11571.pdf>>.

7 Anexos

7.1 Anexo I

Na figura 7.1 encontram-se as curvas de DSC para o primeiro aquecimento do bexaroteno comercial e do bexaroteno após a moagem.

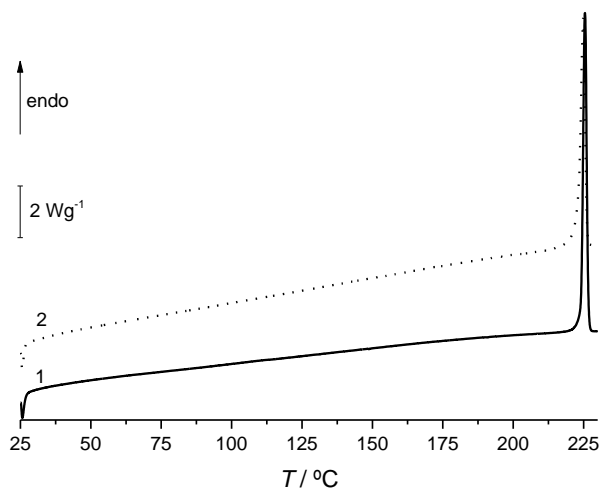


Figura 7.1 – Curvas de DSC para o aquecimento de bexaroteno: 1. sem moagem; 2. com moagem.

Foram também feitos três ciclos de aquecimento/arrefecimento do bexaroteno após a moagem, figura 7.2.

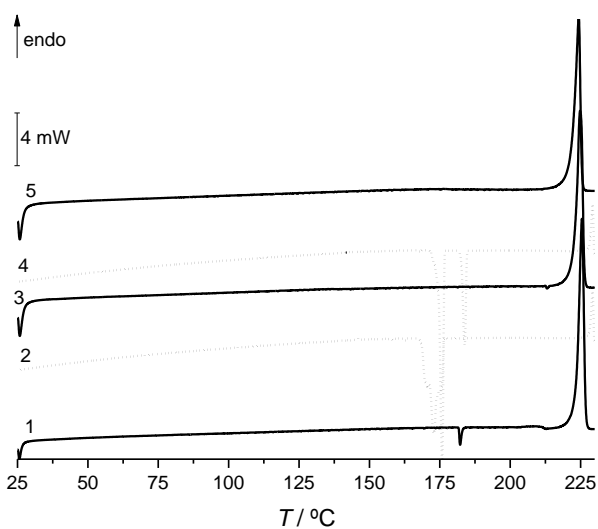


Figura 7.2 – Curvas de DSC para o bexaroteno após moagem para diferentes ciclos de aquecimento/arrefecimento: 1. primeiro aquecimento; 2. segundo arrefecimento; 3. segundo aquecimento; 4. primeiro arrefecimento; 5. terceiro aquecimento; $m = 1,97 \text{ mg}$, $\beta = 10 \text{ } ^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$.

Na cristalização por evaporação lenta de solvente, os sólidos obtidos foram analisados por infravermelho, sendo os seus espectros FTIR-ATR apresentados na figura 7.3.

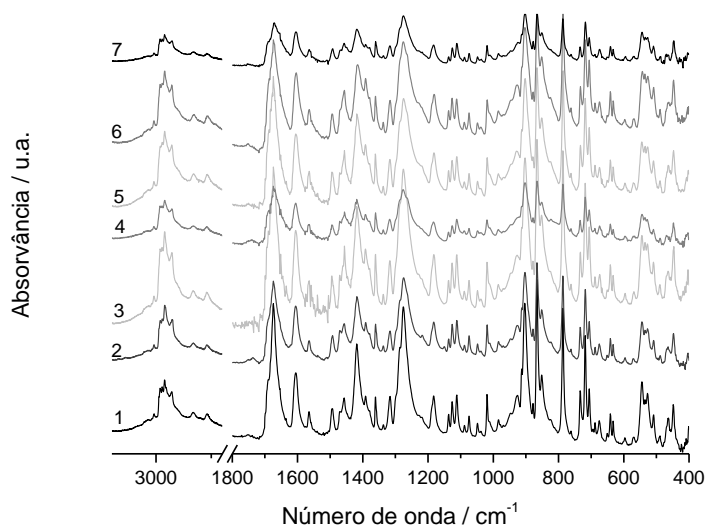


Figura 7.3 – Espectros de FTIR-ATR do bexaroteno obtido em diferentes solventes por cristalização: 1. bexaroteno comercial; 2. tetra-hidrofurano; 3. propanol-1; 4. acetato de etilo; 5. acetona; 6. etanol; 7. metanol.

7.2 Anexo 2

Na figura 7.4 são apresentadas algumas das imagens recolhidas durante o ensaio de PLTM no aquecimento da mistura de nicotinamida e isonicotinamida na proporção 1:1 obtida por cristalização em acetato de etilo.

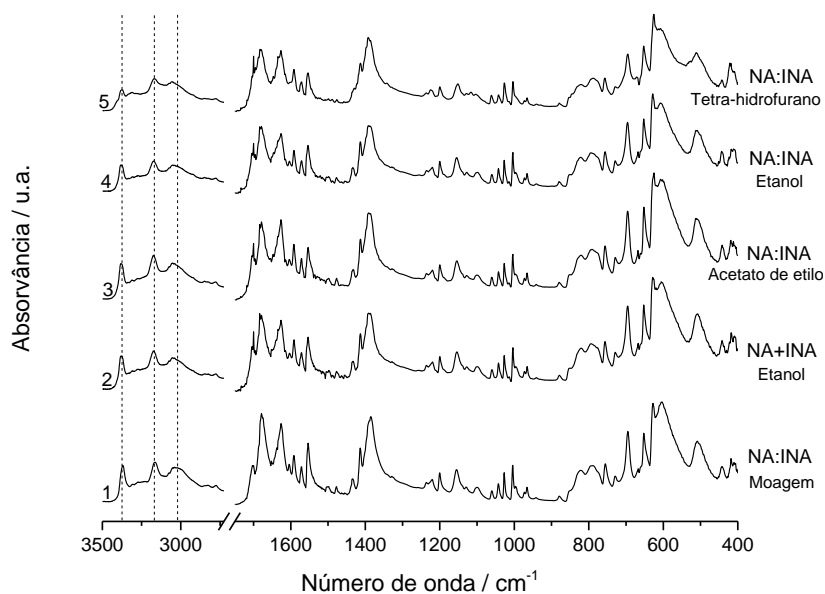


Figura 7.4 – Espectros de FTIR-ATR dos sólidos obtidos em diferentes solventes por cristalização (sistema nicotinamida + isonicotinamida na proporção 1:1): 1. após moagem; 2. etanol (NA+INA); 3. acetato de etilo; 4. Etanol (NA+INA) ; 5. tetra-hidrofurano.

Na figura 7.5 são apresentadas algumas das imagens recolhidas durante o ensaio de PLTM no aquecimento da mistura de nicotinamida e isonicotinamida na proporção 1:1 obtida por cristalização em acetato de etilo.

Durante o aquecimento dos cristais obtidos por evaporação lenta de acetato de etilo quando se dissolveu nicotinamida e isonicotinamida (NA+INA) na proporção 1:1, foi possível a observação de uma transição sólido-sólido lenta, 90 °C a 115 °C, seguida de fusão entre 123,4 °C e 124,9 °C.

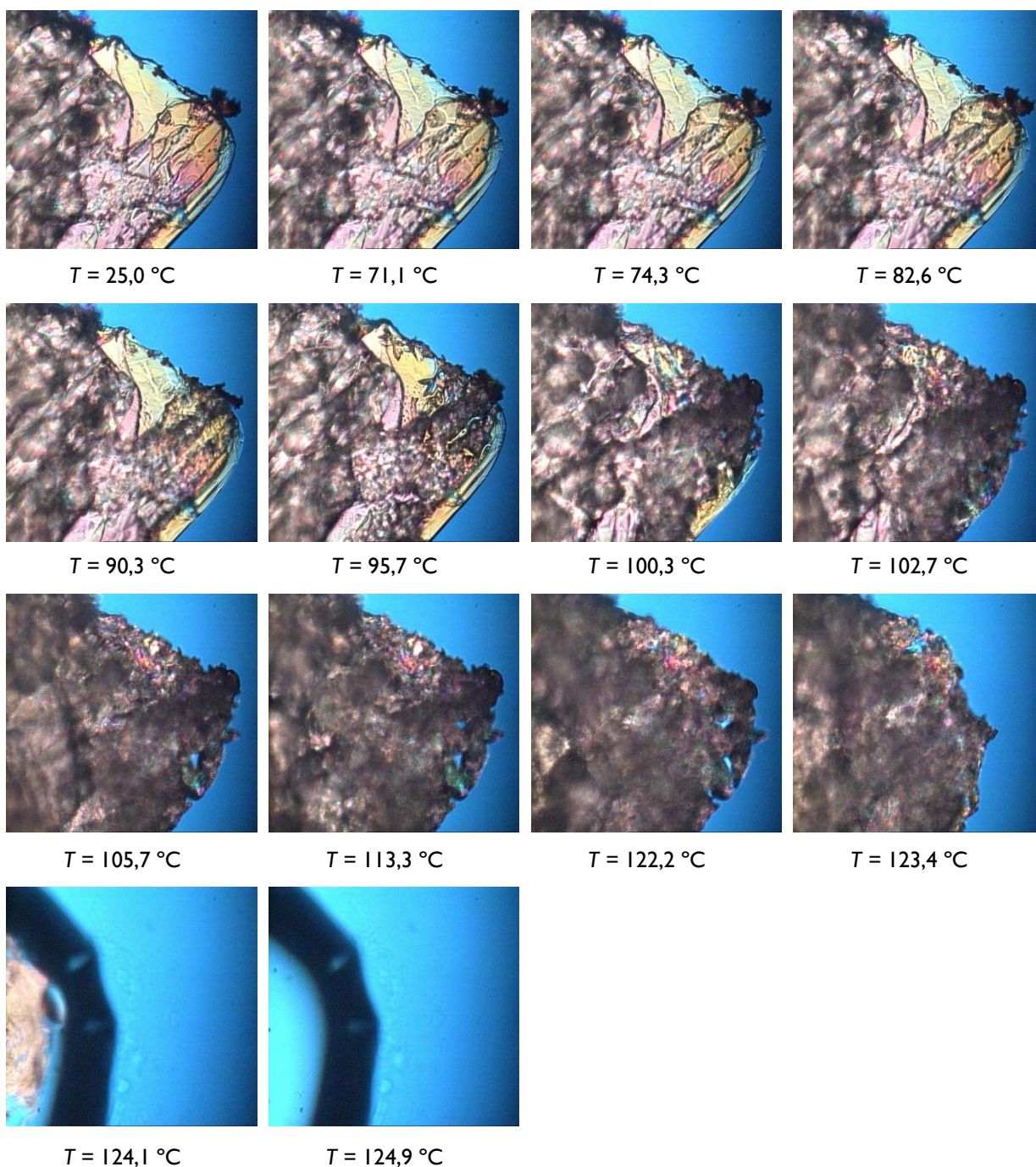


Figura 7.5 – Imagens de PLTM recolhidas no aquecimento da mistura de nicotinamida e isonicotinamida na proporção 1:1 obtida por cristalização em acetato de etilo; $\beta = 10\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$; ampliação 200x.

Na figura 7.6 e 7.7 encontram-se as imagens de PLTM recolhidas no aquecimento da mistura após moagem de nicotinamida e isonicotinamida na proporção 1:1 obtida por cristalização em acetato de etilo e em tetra-hidrofurano, respetivamente.

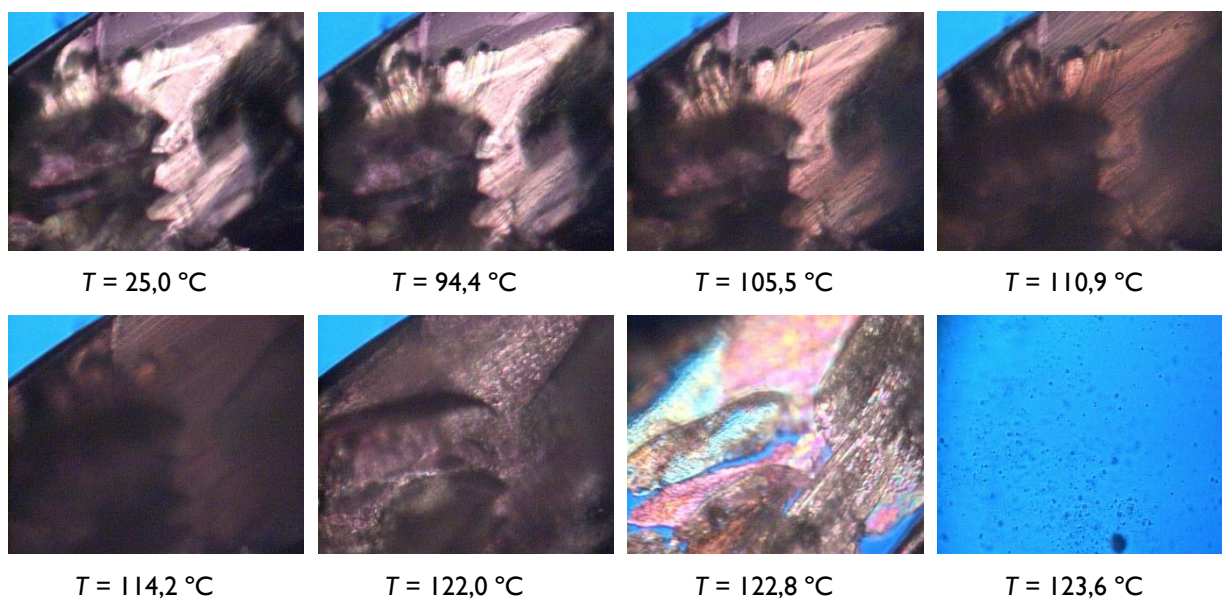


Figura 7.6 – Imagens de PLTM recolhidas no aquecimento da mistura após moagem de nicotinamida e isonicotinamida (NA:INA) na proporção 1:1 obtida por cristalização em acetato de etilo; $\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$; ampliação 200x.

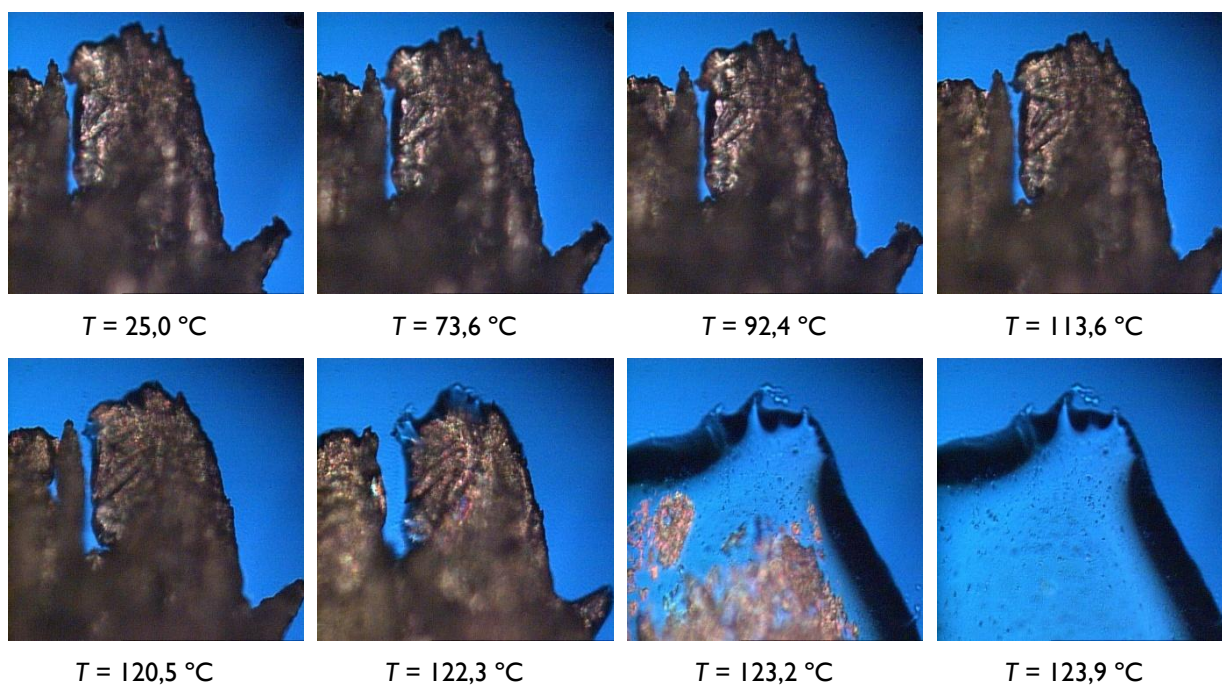


Figura 7.7 – Imagens de PLTM recolhidas no aquecimento da mistura após moagem de nicotinamida e isonicotinamida na proporção 1:1 obtida por cristalização em tetra-hidrofurano. $\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$; ampliação 200x.

Através da análise das imagens, figura 7.6, é visível a ocorrência de uma transição sólido-sólido com início a cerca de 94 °C seguida de fusão com início a ~ 121 °C terminando a 123,6 °C, no aquecimento dos sólidos obtidos por cristalização em acetato de etilo.

Também é visível nas imagens recolhidas durante o aquecimento, em PLTM, dos sólidos cristalizados em tetra-hidrofurano, figura 7.7, a ocorrência de uma transição sólido-sólido com início a 92,4 °C seguida da fusão a 120,5 °C, estando o processo terminado a 123,9 °C.