



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Ana Margarida Almeida Marques

**INVESTIGAÇÃO DE COCRISTAIS
FARMACÊUTICOS E ESTUDOS DE
COMPATIBILIDADE COCRISTAL-EXCIPIENTE
DOIS CASOS DE ESTUDO: DIFLUNISAL-ISONIAZIDA
E LAMOTRIGINA-ETOSSUXIMIDA**

Dissertação no âmbito do Mestrado em Química, área de especialização em Química Avançada e Industrial, variante de Desenvolvimento e Estratégia, orientada pela Professora Doutora Maria Ermelinda da Silva Eusébio e pelo Professor Doutor João Carlos Canotilho Lage e apresentada ao Departamento de Química da Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra.

Outubro de 2021

Ana Margarida Almeida Marques

**INVESTIGAÇÃO DE COCRISTAIS FARMACÊUTICOS E
ESTUDOS DE COMPATIBILIDADE COCRISTAL-EXCIPIENTE
DOIS CASOS DE ESTUDO: DIFLUNISAL-ISONIAZIDA E
LAMOTRIGINA-ETOSSUXIMIDA**

Dissertação no âmbito do Mestrado em Química, área de especialização em Química Avançada e Industrial, variante de Desenvolvimento e Estratégia, orientada pela Professora Doutora Maria Ermelinda da Silva Eusébio e pelo Professor Doutor João Carlos Canotilho Lage e apresentada ao Departamento de Química da Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra.

Outubro de 2021

“What we know is a drop, what we don't know is an ocean.”

Isaac Newton

Agradecimentos

Foram muitas as pessoas com as quais me cruzei ao longo destes anos e com as quais muito aprendi. Assim, prestes a terminar uma das etapas mais importantes da minha vida, deixo aqui uma palavra de agradecimento a todos aqueles que me acompanharam.

À Professora Doutora Maria Ermelinda da Silva Eusébio, com a qual tive oportunidade de trabalhar já desde a licenciatura, agradeço o conhecimento transmitido, todo o apoio e toda a dedicação e disponibilidade que sempre demonstrou ao longo destes anos.

Ao Professor Doutor João Carlos Canotilho Lage, deixo o meu obrigada por todos os ensinamentos numa área que, até então, era desconhecida para mim e pela prontidão com que sempre esteve disposto a ajudar.

Ao Professor Doutor Ricardo António Esteves de Castro e à Unidade de Controlo de Qualidade de Produtos Farmacêuticos, UCQFarma, da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, pela colaboração na caracterização por difração de raios-X de pó e pela disponibilização das câmaras climáticas.

Aos meus colegas de grupo, por toda a simpatia, ajuda e boa disposição, em especial ao João Baptista e ao João Santos, pelo conhecimento partilhado e por toda a paciência que tiveram para as minhas mil questões.

Às minhas amigas de sempre, Alícia, Helena, Joana, Maria Rita e Mariana, um muito obrigada pelas palavras de encorajamento ao longo destes anos e pelos jantares que nos fizeram esquecer todo o trabalho por umas horas. Agradeço à Caria, a minha parceira ao longo deste último ano; e à Margarida, a melhor amiga que este curso me deu, por todo o apoio e por estarem sempre disponíveis para me ouvir e ajudar no que for necessário. Aos meus padrinhos de curso, Adelaide e Amílcar, obrigada por me orientarem (quase) desde o primeiro dia e por estarem sempre dispostos a ajudar; e à Inês por me ter escolhido para a acompanhar ao longo deste percurso. A estes e aos restantes amigos, muito obrigada.

À minha família, agradeço por me tornarem na pessoa que sou hoje. À minha mãe e ao meu pai, agradeço o apoio incondicional que sempre demonstraram, pelas palavras nos momentos de maior cansaço e por todo o esforço que fizeram ao longo destes anos. Aos meus padrinhos, por me acompanharem ao longo deste percurso e celebrarem as minhas vitórias como se da própria filha se tratasse. Às minhas primas, mas especialmente à mais velha, obrigada por me ouvires falar sobre os problemas deste trabalho, mesmo sem entenderes nada do que eu estava a dizer. Ao meu avô e aos meus tios, agradeço a alegria que demonstraram a cada vitória minha e as palavras de incentivo a cada derrota.

O meu eterno obrigada a todos, sem vocês nada disto seria possível!

Índice

Índice de Figuras	iii
Índice de Tabelas	xi
Abreviaturas	xiii
Resumo	xv
Abstract	xvii
Capítulo 1 – Introdução.....	3
1.1 Formas cristalinas multicomponente	3
1.2 Cocristais e a indústria farmacêutica.....	5
1.3 Excipientes e a indústria farmacêutica	8
1.4 Ativos farmacêuticos investigados neste trabalho	12
1.4.1 Diflunisal	12
1.4.2 Lamotrigina	14
1.4.3 Isoniazida	16
1.4.4 Etossuximida.....	18
1.5 Objetivo.....	19
Capítulo 2 – Materiais e Métodos	23
2.1 Materiais	23
2.2 Métodos	24
2.2.1 Preparação de cocristais	24
2.2.1.1 Mecanoquímica	24
2.2.1.2 Cristalização em solução	25
2.2.2 Caracterização de fases sólidas.....	27
2.2.2.1 Espectroscopia de infravermelho.....	27
2.2.2.2 Calorimetria diferencial de varrimento.....	28
2.2.2.3 Difração de raios-X.....	29
2.2.3 Estabilidade de cocristais.....	30

2.2.3.1 Câmaras de estabilidade.....	30
Capítulo 3 – Resultados e Discussão	35
3.1 Investigação da forma sólida dos compostos de partida.....	35
3.1.1 Diflunisal	35
3.1.2 Lamotrigina.....	38
3.1.3 Isoniazida	41
3.1.4 Etossuximida	43
3.2 Investigação dos sistemas de diflunisal-isoniazida e diflunisal-etossuximida.....	48
3.2.1 Diflunisal-Isoniazida	48
3.2.1.1 Síntese de cocrystal: via LAG, mecanoquímica assistida por etanol	48
3.2.1.2 Transposição de escala: via cristalização em solução.....	51
3.2.2 Diflunisal-Etossuximida.....	54
3.3 Investigação do sistema lamotrigina-etossuximida	57
3.3.1 Síntese de cocrystal: via LAG e NG.....	57
3.4 Estudos de compatibilidade cocrystal-excipientes	62
3.4.1 Seleção dos excipientes	63
3.4.2 Estudos de compatibilidade do cocrystal DIF-ISO 1:1 com excipientes	66
3.4.3 Estudos de compatibilidade do cocrystal LAM-ESM 1:1 com excipientes	73
3.5 Testes de estabilidade.....	80
3.5.1 Testes de estabilidade dos compostos de partida: diflunisal, lamotrigina, isoniazida e etossuximida.....	81
3.5.2 Testes de estabilidade do cocrystal DIF-ISO 1:1	83
3.5.3 Testes de estabilidade do cocrystal LAM-ESM 1:1	91
Capítulo 4 – Conclusão e Perspetivas futuras	101
Referências Bibliográficas	105
Anexos	117

Índice de Figuras

Figura 1. Diferentes formas sólidas de um API. Adaptado de [2].	3
Figura 2. Representação esquemática do Sistema de Classificação Biofarmacêutica.	6
Figura 3. Estrutura molecular do diflunisal.	13
Figura 4. Estrutura molecular da lamotrigina.	15
Figura 5. Estrutura molecular da isoniazida.	17
Figura 6. Estrutura molecular da etossuximida.	19
Figura 7. Representação esquemática de um diagrama ternário: (a) congruente; (b) incongruente [103].	26
Figura 8. Difratogramas de raios-X de pó do DIF comercial, submetido a LAG e das formas I, III e V obtidos por simulação a partir dos ficheiros CIF depositados na CCDC com os números 194453 [35], 194456 [35] e 1151637 [36], respetivamente.	36
Figura 9. Interações intermoleculares em polimorfos do diflunisal: (a) forma I; (b) forma III [35].	36
Figura 10. Curvas de DSC de aquecimento do DIF submetido a LAG e da amostra comercial ($\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C/min.}$).	37
Figura 11. Espetros de infravermelho do DIF submetido a LAG, aquecido até $200 \text{ }^\circ\text{C}$ e arrefecido, e comercial.	38
Figura 12. Difratogramas de raios-X de pó da LAM comercial, submetido a NG e LAG e da forma I obtido por simulação a partir do ficheiro CIF depositado na CCDC com o número 749719 [50].	39
Figura 13. Espetros de infravermelho da LAM comercial e submetida a NG e LAG.	40
Figura 14. Curvas de DSC de aquecimento da LAM comercial e submetida a NG e LAG ($\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C/min.}$).	40
Figura 15. Difratogramas de raios-X de pó da ISO comercial, submetida a LAG e das formas I e II obtidos por simulação a partir dos ficheiros CIF depositados na CCDC com os números 1180400 [64], 847197 [66] e 1984160 [67], respetivamente.	41
Figura 16. Espetros de infravermelho da ISO comercial e da amostra submetida a LAG.	42
Figura 17. Curvas de DSC de aquecimento da amostra comercial e da amostra submetida a LAG da ISO ($\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C/min.}$).	43
Figura 18. Difratogramas de raios-X de pó de amostras da ESM: (a) comercial; (b) submetida a NG e XRPD realizado de imediato; (c) submetida a NG e XRPD realizado após alguns dias; (d) submetida a LAG e XRPD realizado de imediato; (e) submetida a LAG e XRPD realizado após alguns dias (polimorfo II); (f) cristalizada do fundido (polimorfo I).	44

Figura 19. Curvas de DSC de aquecimento/arrefecimento de uma amostra de ESM submetida a NG.....	45
Figura 20. Curvas de DSC de aquecimento/arrefecimento de uma amostra de ESM submetida a LAG.....	45
Figura 21. Curvas de DSC de aquecimento de amostras da ESM: (a) submetida a LAG e DSC realizado de imediato; (a') submetida a LAG e DSC realizado após alguns dias; (b) outra amostra submetida a LAG e DSC realizado de imediato; (c) submetida a NG e DSC realizado de imediato; (c') submetida a NG e DSC realizado após alguns dias; (d) cristalizada do fundido.	46
Figura 22. Espetros de infravermelho da ESM comercial e de amostras submetidas a NG, LAG e cristalizada após ser submetida a um ciclo de aquecimento/arrefecimento no DSC.....	47
Figura 23. Espetros de infravermelho da mistura DIF-ISO 1:1 e dos compostos de partida, todos submetidos a LAG.....	49
Figura 24. Difratoograma de raios-X de pó da mistura de DIF-ISO 1:1 e dos compostos de partida, todos submetidos a LAG.	50
Figura 25. Curvas de DSC de aquecimento da mistura DIF-ISO 1:1 e dos compostos de partida, submetidos a LAG ($\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C}/\text{min.}$).	50
Figura 26. Diagrama ternário simulado, a $25 \text{ }^\circ\text{C}$, para o sistema etanol+diflunisal+isoniazida, com formação de um cocrystal 1:1.....	52
Figura 27. Espetros de infravermelho da mistura DIF-ISO 1:1 submetida a LAG e obtida por cristalização em solução.	52
Figura 28. Difratoograma de raios-X de pó da mistura de DIF-ISO 1:1 submetida a LAG e obtida por cristalização em solução.	53
Figura 29. Curva de DSC de aquecimento da mistura DIF-ISO 1:1 submetida a LAG e obtida por cristalização em solução ($\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C}/\text{min.}$).....	53
Figura 30. Difratoograma de raios-X de pó da mistura de DIF-ESM 1:1 submetida a NG, do DIF e dos polimorfos I e II da ESM.....	54
Figura 31. Curvas de DSC de aquecimento da mistura DIF-ESM em todas as proporções estudadas (1:1; 1:2 e 1:3), submetidas a NG, e dos compostos de partida ($\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C}/\text{min.}$).....	55
Figura 32. Espetros de infravermelho da mistura DIF-ESM em todas as proporções estudadas (1:1; 1:2 e 1:3) e da ESM, submetidas a NG, e do polimorfo I do DIF e da ESM.	56
Figura 33. Diagrama de fases binário sólido-líquido do sistema DIF-ESM, à pressão atmosférica.	57
Figura 34. Difratoograma de raios-X de pó do sistema LAM-ESM para as misturas estudadas (2:1; 1:1 e 1:2) e da LAM, submetidas a NG, e dos polimorfos I e II da ESM.....	58

Figura 35. Difratoograma de raios-X de pó do sistema LAM-ESM para as misturas estudadas (2:1; 1:1 e 1:2) e da LAM, submetidas a LAG, e dos polimorfos I e II da ESM.	58
Figura 36. Espectros de infravermelho das misturas LAM-ESM (2:1; 1:1 e 1:2) e dos compostos de partida, submetidos a NG, e do polimorfo I da ESM.....	59
Figura 37. Espectros de infravermelho das misturas LAM-ESM (2:1; 1:1 e 1:2) e dos compostos de partida, submetidos a LAG, e do polimorfo I da ESM.....	60
Figura 38. Curvas de DSC de aquecimento das misturas LAM-ESM em todas as proporções estudadas (2:1; 1:1 e 1:2) e dos compostos de partida, submetidos a NG ($\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C/min.}$)....	61
Figura 39. Curvas de DSC de aquecimento da mistura LAM-ESM em todas as proporções estudadas (2:1; 1:1 e 1:2) e dos compostos de partida, submetidos a LAG ($\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C/min.}$)...	61
Figura 40. Curvas de DSC de aquecimento do manitol, do MgSte, da lactose monohidrato, do ácido adípico e do ácido itacónico.	65
Figura 41. Curvas de DSC de aquecimento do DIF e das suas misturas com excipientes básicos, em proporções padrão ($\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C/min.}$).	66
Figura 42. Curvas de DSC de aquecimento do DIF e das suas misturas com excipientes ácidos, em proporções padrão ($\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C/min.}$).	67
Figura 43. Curvas de DSC de aquecimento do DIF e das suas misturas com excipientes neutros, em proporções padrão ($\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C/min.}$).	67
Figura 44. Curvas de DSC de aquecimento da ISO e das suas misturas com excipientes básicos, em proporções padrão ($\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C/min.}$).	68
Figura 45. Curvas de DSC de aquecimento da ISO e das suas misturas com excipientes ácidos, em proporções padrão ($\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C/min.}$).	69
Figura 46. Curvas de DSC de aquecimento da ISO e das suas misturas com excipientes neutros, em proporções padrão ($\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C/min.}$).	69
Figura 47. Curvas de DSC de aquecimento do cocrystal DIF-ISO 1:1 e das suas misturas com excipientes básicos, em proporções padrão ($\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C/min.}$).....	70
Figura 48. Curvas de DSC de aquecimento do cocrystal DIF-ISO 1:1 e das suas misturas com excipientes ácidos, em proporções padrão ($\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C/min.}$).	71
Figura 49. Curvas de DSC de aquecimento do cocrystal DIF-ISO 1:1 e das suas misturas com excipientes neutros, em proporções padrão ($\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C/min.}$).....	71
Figura 50. Curvas de DSC de aquecimento do cocrystal DIF-ISO 1:1 e das suas misturas com 50 % (m/m) de excipientes básicos ($\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C/min.}$).....	72
Figura 51. Curvas de DSC do cocrystal DIF-ISO 1:1 e da sua mistura com 50 % (m/m) de excipientes neutros ($\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C/min.}$).	73

Figura 52. Curvas de DSC de aquecimento da LAM e das suas misturas com excipientes básicos, em proporções padrão ($\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C/min.}$).....	74
Figura 53. Curvas de DSC de aquecimento da LAM e das suas misturas com excipientes ácidos, em proporções padrão ($\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C/min.}$).....	74
Figura 54. Curvas de DSC de aquecimento da LAM e das suas misturas com excipientes neutros, em proporções padrão ($\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C/min.}$).....	75
Figura 55. Curvas de DSC de aquecimento da ESM e das suas misturas com excipientes básicos, em proporções padrão ($\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C/min.}$).....	76
Figura 56. Curvas de DSC de aquecimento da ESM e das suas misturas com excipientes ácidos, em proporções padrão ($\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C/min.}$).....	76
Figura 57. Curvas de DSC de aquecimento da ESM e das suas misturas com excipientes neutros, em proporções padrão ($\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C/min.}$).....	77
Figura 58. Curvas de DSC de aquecimento do cocrystal LAM-ESM 1:1 e das suas misturas com excipientes básicos, em proporções padrão ($\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C/min.}$).....	78
Figura 59. Curvas de DSC de aquecimento do cocrystal LAM-ESM 1:1 e das suas misturas com excipientes ácidos, em proporções padrão ($\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C/min.}$).....	78
Figura 60. Curvas de DSC de aquecimento do cocrystal LAM-ESM 1:1 e das suas misturas com excipientes neutros, em proporções padrão ($\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C/min.}$).....	79
Figura 61. Curvas de DSC do cocrystal LAM-ESM 1:1 e da sua mistura com 50 % (m/m) de excipientes básicos ($\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C/min.}$).....	80
Figura 62. Curva de DSC de aquecimento da ESM cristalizada após fusão em câmara climática para estudos de estabilidade, 40 °C / 75 % HR ($\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C/min.}$).....	81
Figura 63. Difratogramas de raios-X de pó da ESM cristalizada após fusão em câmara climática, 40 °C / 75 % HR, e dos polimorfos I e II.	82
Figura 64. Difratograma de raios-X de pó do cocrystal DIF-ISO 1:1 após 45 e 90 dias em câmara de estabilidade a 40 °C / 75 % HR.....	83
Figura 65. Curvas de DSC de aquecimento do cocrystal DIF-ISO 1:1 após 45 e 90 dias em câmara de estabilidade a 40 °C / 75 % HR ($\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C/min.}$).....	84
Figura 66. Difratograma de raios-X de pó da mistura de DIF-ISO 1:1, DIF-ISO 1:1 com 50 % (m/m) de talco e do talco.	85
Figura 67. Difratograma de raios-X de pó do cocrystal DIF-ISO 1:1 com 50 % (m/m) de talco após 45 e 90 dias em câmara de estabilidade a 40 °C / 75 % HR.....	86
Figura 68. Curvas de DSC de aquecimento do cocrystal DIF-ISO 1:1 com 50 % (m/m) de talco após 45 e 90 dias em câmara de estabilidade a 40 °C / 75 % HR ($\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C/min.}$).....	86

Figura 69. Difratoograma de raios-X de pó da mistura de DIF-ISO 1:1, DIF-ISO 1:1 com 50 % (m/m) de DCP e do DCP.	87
Figura 70. Difratoograma de raios-X de pó do cocrystal DIF-ISO 1:1 com 50 % (m/m) de DCP após 45 e 90 dias em câmara de estabilidade a 40 °C / 75 % HR.	88
Figura 71. Curvas de DSC de aquecimento do cocrystal DIF-ISO 1:1 com 50 % (m/m) de DCP após 45 e 90 dias em câmara de estabilidade a 40 °C / 75 % HR ($\beta = 10$ °C/min.).....	88
Figura 72. Difratoograma de raios-X de pó da mistura de DIF-ISO 1:1, DIF-ISO 1:1 com 50 % (m/m) de manitol e do manitol.....	89
Figura 73. Difratoograma de raios-X de pó do cocrystal DIF-ISO 1:1 com 50 % (m/m) de manitol após 45 e 90 dias em câmara de estabilidade a 40 °C / 75 % HR.	90
Figura 74. Curvas de DSC do cocrystal DIF-ISO 1:1 com 50 % (m/m) de manitol após 45 e 90 dias em câmara de estabilidade a 40 °C / 75 % HR ($\beta = 10$ °C/min.).....	90
Figura 75. Difratoograma de raios-X de pó do cocrystal LAM-ESM 1:1 após 30 e 60 dias em câmara de estabilidade a 40 °C / 75 % HR.	92
Figura 76. Curvas de DSC de aquecimento do cocrystal LAM-ESM 1:1 após 30 e 60 dias em câmara de estabilidade a 40 °C / 75 % HR ($\beta = 10$ °C/min.).....	92
Figura 77. Difratoograma de raios-X de pó da mistura de LAM-ESM 1:1, LAM-ESM 1:1 com 50 % (m/m) de talco e do talco.	93
Figura 78. Difratoograma de raios-X de pó do cocrystal LAM-ESM 1:1 com 50 % (m/m) de talco após 30 e 60 dias em câmara de estabilidade a 40 °C / 75 % HR.	94
Figura 79. Curvas de DSC de aquecimento do cocrystal LAM-ESM 1:1 com 50 % (m/m) de talco após 30 e 60 dias em câmara de estabilidade a 40 °C / 75 % HR ($\beta = 10$ °C/min.).....	94
Figura 80. Difratoograma de raios-X de pó da mistura de LAM-ESM 1:1, LAM-ESM 1:1 com 50 % (m/m) de DCP e do talco.	95
Figura 81. Difratoograma de raios-X de pó do cocrystal LAM-ESM 1:1 com 50 % (m/m) de DCP após 30 e 60 dias em câmara de estabilidade a 40 °C / 75 % HR.	96
Figura 82. Curvas de DSC de aquecimento do cocrystal LAM-ESM 1:1 com 50 % (m/m) de DCP após 30 e 60 dias em câmara de estabilidade a 40 °C / 75 % HR ($\beta = 10$ °C/min.).....	96
Figura A1. Difratoograma de raios-X de pó do DIF comercial após 15, 30 e 45 dias em câmara de estabilidade a 40 °C / 75 % HR.....	117
Figura A2. Curvas de DSC de aquecimento do DIF após 15, 30 e 45 dias em câmara de estabilidade a 40 °C / 75 % HR ($\beta = 10$ °C/min.).....	117
Figura A3. Difratoograma de raios-X de pó da LAM comercial após 15, 30 e 45 dias em câmara de estabilidade a 40 °C / 75 % HR.....	118

Figura A4. Curvas de DSC de aquecimento do LAM comercial após 15, 30 e 45 dias em câmara de estabilidade a 40 °C / 75 % HR ($\beta = 10$ °C/min.).....	118
Figura A5. Difratoograma de raios-X de pó da ISO comercial após 15, 30 e 45 dias em câmara de estabilidade a 40 °C / 75 % HR.....	119
Figura A6. Curvas de DSC de aquecimento da ISO após 15, 30 e 45 dias em câmara de estabilidade a 40 °C / 75 % HR ($\beta = 10$ °C/min.).....	119
Figura A7. Difratoograma de raios-X de pó do cocrystal DIF-ISO 1:1 após 15, 30, 45, 60, 75 e 90 dias em câmara de estabilidade a 40 °C / 75 % HR.	120
Figura A8. Curvas de DSC de aquecimento do cocrystal DIF-ISO 1:1 após 15, 30, 45, 60, 75 e 90 dias em câmara de estabilidade a 40 °C / 75 % HR ($\beta = 10$ °C/min.).....	121
Figura A9. Difratoograma de raios-X de pó do cocrystal DIF-ISO 1:1 com 50 % (m/m) de talco após 15, 30, 45, 60, 75 e 90 dias em câmara de estabilidade a 40 °C / 75 % HR.....	121
Figura A10. Curvas de DSC de aquecimento do cocrystal DIF-ISO 1:1 com 50 % (m/m) de talco após 15, 30, 45, 60, 75 e 90 dias em câmara de estabilidade a 40 °C / 75 % HR ($\beta = 10$ °C/min.).....	122
Figura A11. Difratoograma de raios-X de pó do cocrystal DIF-ISO 1:1 com 50 % (m/m) de DCP após 15, 30, 45, 60, 75 e 90 dias em câmara de estabilidade a 40 °C / 75 % HR.....	122
Figura A12. Curvas de DSC de aquecimento do cocrystal DIF-ISO 1:1 com 50 % (m/m) de DCP após 15, 30, 45, 60, 75 e 90 dias em câmara de estabilidade a 40 °C / 75 % HR ($\beta = 10$ °C/min.).....	123
Figura A13. Difratoograma de raios-X de pó do cocrystal DIF-ISO 1:1 com 50 % (m/m) de manitol após 15, 30, 45, 60, 75 e 90 dias em câmara de estabilidade a 40 °C / 75 % HR.....	123
Figura A14. Curvas de DSC de aquecimento do cocrystal DIF-ISO 1:1 com 50 % (m/m) de manitol após 15, 30, 45, 60, 75 e 90 dias em câmara de estabilidade a 40 °C / 75 % HR ($\beta = 10$ °C/min.).....	124
Figura A15. Difratoograma de raios-X de pó do cocrystal LAM-ESM 1:1 após 15, 30, 45 e 60 dias em câmara de estabilidade a 40 °C / 75 % HR.....	124
Figura A16. Curvas de DSC de aquecimento do cocrystal LAM-ESM 1:1 após 15, 30, 45 e 60 dias em câmara de estabilidade a 40 °C / 75 % HR ($\beta = 10$ °C/min.).....	125
Figura A17. Difratoograma de raios-X de pó do cocrystal LAM-ESM 1:1 com 50 % (m/m) de talco após 15, 30, 45 e 60 dias em câmara de estabilidade a 40 °C / 75 % HR.	125
Figura A18. Curvas de DSC de aquecimento do cocrystal LAM-ESM 1:1 com 50 % (m/m) de talco após 15, 30, 45 e 60 dias em câmara de estabilidade a 40 °C / 75 % HR ($\beta = 10$ °C/min.).....	126
Figura A19. Difratoograma de raios-X de pó do cocrystal LAM-ESM 1:1 com 50 % (m/m) de DCP após 15, 30, 45 e 60 dias em câmara de estabilidade a 40 °C / 75 % HR.	126

Figura A20. Curvas de DSC de aquecimento do cocrystal LAM-ESM 1:1 com 50 % (m/m) de DCP após 15, 30, 45 e 60 dias em câmara de estabilidade a 40 °C / 75 % HR ($\beta = 10$ °C/min.)127

Índice de Tabelas

Tabela 1. Alguns exemplos de excipientes farmacêuticos e sua função. Adaptado de [23]......	9
Tabela 2. Compostos utilizados e propriedades físico-químicas dos mesmos.....	23
Tabela 3. Tempos e condições dos estudos de estabilidade. Adaptado de [111].	31
Tabela 4. Parâmetros termodinâmicos obtidos a partir dos termogramas de DSC para o diflunisal, a isoniazida e para o cocristal DIF-ISO 1:1.	51
Tabela 5. Estrutura molecular e caráter ácido/base dos excipientes selecionados.....	64
Tabela 6. Função farmacêutica e composição das misturas dos cocristais DIF-ISO 1:1 e LAM-ESM 1:1 com os excipientes estudados neste trabalho.	65
Tabela 7. Resumo dos resultados obtidos no estudo de compatibilidade e da estabilidade do cocristal DIF-ISO 1:1 com diferentes excipientes.....	91
Tabela 8. Resumo dos resultados obtidos no estudo da compatibilidade e estabilidade do cocristal LAM-ESM 1:1 com diferentes excipientes.....	97

Abreviaturas

API – do inglês *Active Pharmaceutical Ingredient*

ATR-FTIR – do inglês *Attenuated Total Reflectance – Fourier Transform Infrared Spectroscopy*

BCS – do inglês *Biopharmaceutical Classification System*

CCDC – do inglês *Cambridge Crystallographic Data Centre*

CCS – do inglês *Croscarmellose Sodium*

DCP – do inglês *Dibasic Calcium Phosphate*

DIF – Diflunisal

DSC – do inglês *Differential Scanning Calorimetry*

ESM – Etossuximida

HR – Humidade Relativa

ISO – Isoniazida

IV – Infravermelho

LAG – do inglês *Liquid-assisted Grinding*

LAM – Lamotrigina

MCC – do inglês *Microcrystalline Cellulose*

MgSte – do inglês *Magnesium Stearate*

NG – do inglês *Neat Grinding*

PVP – do inglês *Polyvinylpyrrolidone*

XRPD – do inglês *X-Ray Powder Diffraction*

1AQ – 1º Aquecimento

2AQ – 2º Aquecimento

3AQ – 3º Aquecimento

1AR – 1º Arrefecimento

2AR – 2º Arrefecimento

Resumo

Esta dissertação teve como objetivo o estudo de cocristais com potencial para utilização em terapia dual, tendo-se, para isso, investigado os sistemas binários constituídos por diflunisal, um anti-inflamatório não esteróide, e isoniazida, um tuberculostático; diflunisal e etossuximida, um anticonvulsivante; assim como o sistema que junta dois anticonvulsivantes com mecanismos de ação distintos, a lamotrigina e a etossuximida. O trabalho teve, ainda, como objetivo contribuir para o conhecimento da estabilidade de cocristais na presença de excipientes, um tema ainda pouco estudado. Assim, investigou-se a compatibilidade dos cocristais obtidos com excipientes cujas propriedades ácido-base são distintas além das funções farmacêuticas, em proporções padrão e em excesso, numa proporção de 50 %.

O estudo realizado sobre os ativos puros permitiu identificar dois polimorfos da etossuximida, um dos quais não se encontra ainda descrito na literatura.

Foi possível realizar a transposição de escala para um cocrystal já estudado anteriormente, DIF-ISO 1:1, através de cristalização a partir duma solução equimolar em etanol, com um rendimento de 66 %. Para o sistema diflunisal-etossuximida foi identificada uma mistura eutética, composta maioritariamente por etossuximida. A investigação do sistema lamotrigina-etossuximida conduziu à descoberta de um novo cocrystal, na proporção de 1:1, obtido tanto por NG como por LAG, assistida por etanol.

Os estudos de compatibilidade de ambos os cocristais com diferentes excipientes, realizados com recurso a calorimetria diferencial de varrimento, permitiram concluir que a incompatibilidade observada não se deve ao caráter ácido/base, mas sim à miscibilidade em fase líquida. Para que o cocrystal não interaja com um excipiente, ambos os seus componentes têm de ser compatíveis com esse mesmo excipiente. O talco e o DCP foram os únicos excipientes que demonstraram compatibilidade com os cocristais, a altas temperaturas.

Em condições aceleradas, 40 °C / 75 % HR, todos os APIs, exceto a etossuximida, demonstraram ser estáveis durante um período de 45 dias. Ao fim de 3 meses, o cocrystal DIF-ISO 1:1 manteve-se estável quando puro, e também na presença de talco, DCP e manitol. O cocrystal LAM-ESM 1:1 também demonstrou ser estável durante os 2 meses de estudos de estabilidade, mesmo na presença dos excipientes selecionados, o talco e o DCP.

Palavras-chave: cocristais farmacêuticos; terapia dual; excipientes; compatibilidade; estabilidade.

Abstract

This dissertation aimed to study cocrystals with potential for use in dual therapy, having investigated the binary systems consisting of diflunisal, a non-steroidal anti-inflammatory, and isoniazid, a tuberculostatic; difflunisal and ethosuximide, an anticonvulsant; as well as the system that combines two anticonvulsants with different mechanisms of action, lamotrigine and ethosuximide. The work also aimed to contribute to the understanding of the stability of cocrystals in the presence of excipients, a topic that is not yet widely studied. Thus, the compatibility of the obtained cocrystals with excipients whose acid-base properties and pharmaceutical functions are distinct, in standard proportions and in excess, in a proportion of 50 %, was investigated.

The study carried out on the pure actives allowed the identification of two polymorphs of ethosuximide, one of which is not yet described in the literature.

It was possible to scale-up a previously studied cocrystal, DIF-ISO 1:1, through crystallization from an equimolar solution in ethanol, with a yield of 66 %. For the diflunisal-ethosuximide system, a eutectic mixture was identified, mainly composed of ethosuximide. The investigation of the lamotrigine-ethosuximide system led to the discovery of a new cocrystal, in a 1:1 ratio, obtained by both NG and LAG, assisted by ethanol.

Compatibility studies of both cocrystals with different excipients, carried out using differential scanning calorimetry, allowed us to conclude that the observed incompatibility is not due to the acid/base character, but to miscibility in the liquid phase. In order for the cocrystal not to interact with an excipient, both its components must be compatible with that same excipient. Talc and DCP were the only excipients that demonstrated compatibility with cocrystals at high temperatures.

Under accelerated conditions, 40 °C / 75 % RH, all APIs, except ethosuximide, were shown to be stable over a period of 45 days. After 3 months, the DIF-ISO 1:1 cocrystal was stable when pure, and also in the presence of talc, DCP and mannitol. The LAM-ESM 1:1 cocrystal was also shown to be stable during the 2 months of stability studies, even in the presence of the selected excipients, talc and DCP.

Keywords: pharmaceutical cocrystals; dual therapy; excipients; compatibility; stability.

Capítulo 1

Introdução

Capítulo 1

Introdução

1.1 Formas cristalinas multicomponente

Um composto no estado sólido é, em geral, quimicamente mais estável do que em solução, pois a degradação deste é mais extensa e mais rápida [1]. Para além disso é relativamente fácil de preparar e é menos propício a conter impurezas [2]. Deste modo, apesar de se veicularem ativos em várias formas farmacêuticas, as formulações sólidas são as preferidas, pela grande adesão na prática clínica e pelas vantagens na indústria farmacêutica [1].

Os ativos farmacêuticos (API – *Active Pharmaceutical Ingredient*) podem existir sob várias formas cristalinas. Uma forma cristalina composta por apenas um componente pode apresentar polimorfismo, ou seja, a capacidade de cristalizar em diferentes sistemas cristalinos [3]. Como, frequentemente, as formas cristalinas do API apresentam baixa solubilidade aquosa, por vezes é necessário utilizar a sua fase amorfa, isto é, sem ordem de longo alcance, ou uma forma multicomponente, se esta for mais solúvel. As fases cristalinas multicomponente incluem os solvatos/hidratos, os sais e os cocrystalis, Figura 1, que podem ter, também, polimorfos [4].

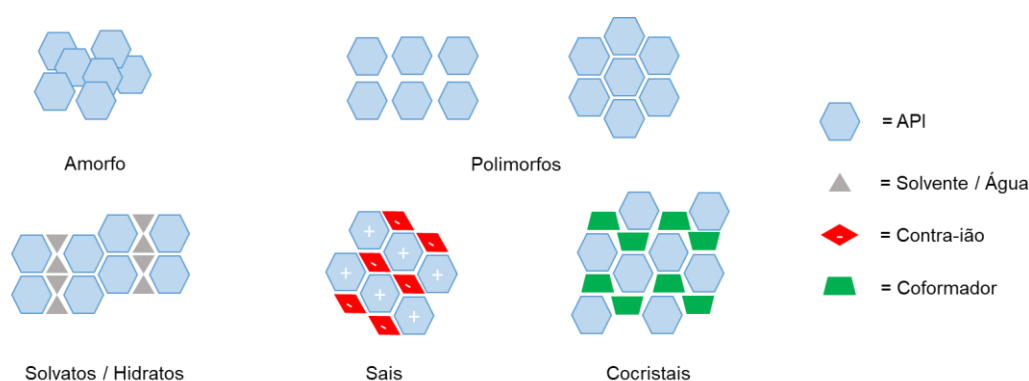


Figura 1. Diferentes formas sólidas de um API. Adaptado de [2].

Os solvatos são sólidos que possuem moléculas de solvente incorporadas na sua estrutura cristalina. No caso de o solvente ser a água, estes sólidos são denominados hidratos. Normalmente, estas moléculas de água formam ligações de hidrogénio e ligações de coordenação com o API. A presença de moléculas de água irá afetar a energia interna, a entalpia, a entropia e a energia de Gibbs e, conseqüentemente, as propriedades físico-químicas como a solubilidade, a velocidade de dissolução, a estabilidade e a biodisponibilidade do API [5].

Os sais farmacêuticos são constituídos por um API ionizável e um contra-íon molecular ou atômico, numa estequiometria bem definida. Estes têm sido muito utilizados para aumentar a solubilidade aquosa e, conseqüentemente, a biodisponibilidade oral do API, pelo que mais de 50 % dos fármacos disponíveis no mercado são comercializados nesta forma. Para além disto, os sais são fáceis de sintetizar e cristalizar [2].

Os cocrystalis podem ser classificados como moleculares ou iónicos se todos os seus constituintes forem neutros ou se pelo menos um dos seus constituintes for iónico, respetivamente [6]. Os cocrystalis moleculares são formados por dois ou mais compostos, cujas interações intermoleculares observadas são não-iónicas, obtendo-se uma estrutura cristalina e monofásica [4]. Os componentes do cocrystal existem numa proporção estequiométrica definida e são sólidos, quando puros, à temperatura ambiente. Para que os cocrystalis possam ser utilizados para fins farmacêuticos um dos seus constituintes deve mostrar atividade farmacológica [6].

Uma vez que cada forma sólida apresenta diferentes propriedades físico-químicas, é necessário encontrar a forma ideal de cada fármaco [4]. Apesar das suas vantagens, a estabilidade dos solvatos a temperatura ou humidade elevadas poderá ser um problema. A utilização dos sais na indústria farmacêutica também está comprometida, pois para que seja possível obtê-los é necessário que o API utilizado seja ionizável. Por outro lado, os cocrystalis não apresentam estas limitações e podem ser sintetizados utilizando coformadores selecionados pelas abordagens utilizadas na engenharia de cristal [7].

Embora os cocrystalis mostrem uma importância crescente na indústria farmacêutica, ainda há vários desafios a serem ultrapassados, como a estabilidade do próprio cocrystal na presença de excipientes, a formulação de fármacos para uso oral e a sua produção em larga escala [7].

1.2 Cocristais e a indústria farmacêutica

Ao longo dos últimos anos, o desenvolvimento de sistemas de vetorização de fármacos para os seus locais terapêuticos de forma mais eficaz tem consumido bastantes recursos. A indústria farmacêutica desenvolve medicamentos sob as formas sólidas, semi-sólidas e líquidas. A maioria dos fármacos são administrados por via oral e na forma sólida, pois são mais fáceis de preparar, mais estáveis e utilizam tecnologia mais económica [8]. No entanto, perto de 40 % apresentam baixa solubilidade aquosa, números estes que atingem os 70 a 90 % nos candidatos a medicamentos na fase de pesquisa e desenvolvimento, o que pode fazer com que estes não atinjam as etapas dos ensaios clínicos [9].

Os cocristais farmacêuticos combinam características do fármaco utilizado com o coformador, ligados, normalmente, por pontes de hidrogénio na rede cristalina obtendo-se, assim, um novo composto supramolecular com o objetivo principal de melhorar as propriedades do API. A escolha do coformador mais adequado não é fácil, no entanto, a descoberta e classificação de sintões supramoleculares relevantes é um desafio interessante nesta área. A descoberta de que quanto maior for o comprimento da cadeia carbonada do coformador, menor será a solubilidade do cocrystal também veio ajudar a reduzir a lista de coformadores possíveis. Para além disto, o coformador deverá ser farmacologicamente aceitável e deverá ter um baixo custo, baixo peso molecular e vários locais de ligação ao API com capacidade de formar fortes interações intermoleculares [10].

Deste modo, os cocristais são uma boa aposta no que toca à preparação de novos medicamentos, pois é possível modificar as propriedades físico-químicas e farmacocinéticas dos ativos como a solubilidade aquosa e a velocidade de dissolução, a permeabilidade, a biodisponibilidade, a morfologia e o tamanho das partículas, a compactação, o ponto de fusão e a higroscopicidade [11]. Para além do que já foi mencionado, os cocristais têm um baixo custo de produção, um baixo risco de toxicidade e alta eficácia. Estes, também, apresentam uma maior diversidade relativamente às formas cristalinas de um único componente no que toca à composição e às propriedades, sendo que os cocristais iónicos são os menos propensos a serem afetados pelo solvente e os que mais tendem a proporcionar grandes variações de propriedades físico-químicas [10, 12].

Para que um cocrystal dê origem a uma nova forma farmacêutica é necessário percorrer 8 estágios que vão desde o *design* e seleção do coformador, passando pela descoberta do

cocrystal, a caracterização, o estudo das suas propriedades físicas e químicas, o estudo da farmacocinética, a sua formulação, produção em larga escala, até à sua aprovação regulatória [7].

O Sistema de Classificação Biofarmacêutica (BCS) ordena os compostos em quatro classes distintas de acordo com a sua solubilidade aquosa e permeabilidade gastrointestinal, Figura 2. Este sistema relaciona a dissolução *in vitro* com a biodisponibilidade *in vivo*, o que leva a uma redução dos custos e do tempo gasto no desenvolvimento de novos medicamentos [13].

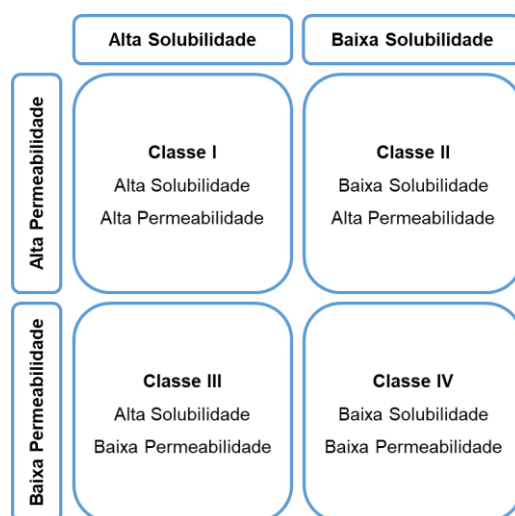


Figura 2. Representação esquemática do Sistema de Classificação Biofarmacêutica.

Os fármacos com alta solubilidade aquosa e permeabilidade membranar pertencem à classe I. Estes são os que possuem uma absorção ideal. Na classe II encontram-se os ativos com baixa solubilidade aquosa e alta permeabilidade, sendo esta a classificação de cerca de 90 % dos novos fármacos [10]. No caso dos fármacos da classe III a solubilidade é alta e a permeabilidade é baixa. Os fármacos da classe IV apresentam baixa solubilidade e baixa permeabilidade, pelo que a sua biodisponibilidade oral é bastante limitada.

Uma das características mais importantes de um fármaco é a sua biodisponibilidade, pois se esta for muito baixa o medicamento pode ser ineficaz, mas se for muito alta o medicamento pode tornar-se tóxico. Assim, a biodisponibilidade é um dos parâmetros farmacocinéticos mais estudados para os cocristais farmacêuticos.

O cloridrato de fluoxetina, *Prozac*[®], é um antidepressivo que pertence à classe I do Sistema de Classificação Biofarmacêutica, ou seja, apresenta alta solubilidade aquosa e alta

permeabilidade. Após investigação foi demonstrada a existência de cocrystal de cloridrato de fluoxetina com ácido benzóico, ácido fumárico e ácido succínico, cuja velocidade de dissolução diminuiu em cerca de 50 %, praticamente não sofreu alterações e foi cerca de três vezes maior que a do sal cloridrato do API, respectivamente [14].

A furosemida, um anti-hipertensor, pertence à classe IV do Sistema de Classificação Biofarmacêutica, isto é, a sua biodisponibilidade oral é limitada pela baixa solubilidade aquosa e baixa permeabilidade. Estudos vários relatam a existência de três cocrystal deste API com maior solubilidade (11, 7 e 6 vezes maior), taxa de dissolução (2 vezes maior) e estabilidade que a furosemida [15].

Se os dois componentes do cocrystal forem ativos farmacêuticos, há a possibilidade de utilização da forma sólida para terapia dual. A combinação de vários fármacos numa única forma farmacêutica sólida permite diminuir a quantidade de comprimidos que o paciente tem de tomar, o número de prescrições, os custos de fabrico e ajuda na gestão de fármacos já existentes. O efeito sinérgico e/ou aditivo, a melhoria da solubilidade e da dissolução, de pelo menos um dos compostos, a melhoria da biodisponibilidade e a estabilidade de compostos instáveis devido às interações intermoleculares realizadas são algumas das vantagens que um cocrystal formado por dois APIs, pode proporcionar. Apesar das suas vantagens, a investigação de cocrystal com dois APIs ainda é pouco extensa [16].

Cocrystal de sildenafil-aspirina apresentaram uma velocidade de dissolução intrínseca superior à do citrato de sildenafil, ingrediente ativo do *Viagra*[®]. Este cocrystal poderá permitir a realização de uma terapia dual no tratamento da disfunção erétil em pacientes com problemas cardiovasculares [17].

Indicado para o tratamento da insuficiência cardíaca crónica sintomática com fração de ejeção reduzida em adultos, o cocrystal composto por sacubitril, valsartan dissódico e água apresenta uma melhoria significativa na mortalidade e a tolerância do paciente a este cocrystal é semelhante à do enalapril. Atualmente é comercializado sob o nome de *ENTRESTO*[™] [7, 18].

O cocrystal de cloridrato de tramadol-celecoxib, na proporção de 1:1, foi desenvolvido para o tratamento da dor, encontrando-se na fase III dos ensaios clínicos. Através de estudos de dissolução foi possível perceber que este cocrystal melhora o perfil de libertação do tramadol e do celecoxib, apresentando, assim, potencial para melhorar a segurança e eficácia das terapias já existentes [19].

Dos exemplos anteriores é possível perceber como um cocrystal pode modificar as propriedades de um API de modo a que a sua biodisponibilidade oral seja incrementada.

1.3 Excipientes e a indústria farmacêutica

As formas farmacêuticas são, geralmente, compostas pelo API e por compostos adicionais, os excipientes, que irão auxiliar a preparação e a libertação do mesmo da forma pretendida [20]. Deste modo, um dos fatores mais importantes no desenvolvimento de novos medicamentos é a escolha dos excipientes. Os excipientes são substâncias materiais inativas, ou seja, componentes sem atividade terapêutica que são adicionados intencionalmente ao API de modo a obter a forma farmacêutica desejada [7]. No entanto, dependendo das suas propriedades físicas e químicas podem interagir com os fármacos afetando o modo como se desintegram, a sua dissolução, a vida útil e, conseqüentemente, a sua eficácia, pelo que a sua escolha é um passo bastante importante [21]. Os excipientes podem ser naturais, sintéticos ou semi-sintéticos e tanto podem ser moléculas orgânicas ou inorgânicas simples como complexas [22].

Com base no papel que o excipiente desempenha na formulação, nas interações que realiza e nas propriedades físico-químicas é feita a sua classificação. Estes podem melhorar a solubilidade, a biodisponibilidade oral e a estabilidade do API, manter o pH e a concentração osmótica das formulações líquidas e regular a resposta imunogénica. Para além disto, podem ainda atuar como diluentes, aglutinantes, desintegrantes, lubrificantes, espessantes e edulcorantes, entre outros, Tabela 1 [22].

Tabela 1. Alguns exemplos de excipientes farmacêuticos e sua função. Adaptado de [23].

Tipo de Excipiente	Função	Exemplo
Edulcorantes	Tornar o sabor do fármaco mais agradável	Manitol Sacarose
Antiaderentes Lubrificantes	Auxiliar na formação dos comprimidos lubrificando a mistura de pós	Talco MgSte
Antioxidantes	Prevenir a deterioração das preparações por oxidação	Ácido ascórbico
Corantes	Tornar o fármaco mais apelativo	FD&C Azul N.º 2 Eritrosina
Desintegrantes	Promover a quebra do comprimido após a toma	Alginato de sódio Croscarmelose de sódio
Diluentes	Aumentar o volume das formulações	Manitol MCC DCP
Ligantes	Conferir a adesão do fármaco em pó e das restantes substâncias	Ácido algínico Lactose monohidrato
Solventes	Dissolver, suspender ou emulsionar o fármaco na preparação de líquidos	Etanol Óleo de amendoim
Agente tampão	Conferir resistência à mudança de pH após a diluição ou adição de ácidos/bases	Ácido adípico Ácido itacónico

O excipiente selecionado deve ser adequado à forma farmacêutica pretendida, estar em conformidade com a regulamentação e ser fácil de obter e trabalhar. Assim, alguns dos fatores decisivos para a escolha de um excipiente são o uso pretendido, a quantidade necessária, as condições ambientais a que irão estar sujeitos, a toxicidade e a sua origem [24].

As formas sólidas são desenvolvidas sob a forma de cápsulas ou comprimidos, sendo que dentro dos comprimidos temos os de libertação rápida e os de libertação controlada. Nas formas farmacêuticas em cápsula, o API e os excipientes são colocados dentro de um invólucro de gelatina mole ou dura. Uma vez que não necessitam de compactação, estas formulações tendem a ser mais simples, podendo necessitar apenas de um excipiente que promova um melhor escoamento do API ou de um diluente para ocupar o volume livre da cápsula. Ao comprimir o API e os excipientes, de forma simples ou em camadas, obtêm-se os comprimidos que, por norma, necessitam de um maior número de excipientes [20].

Em formas farmacêuticas de libertação rápida, as interações físicas ou químicas entre o API e os excipientes são prejudiciais, pois a natureza dessas interações poderá afetar a estabilidade e a qualidade da forma farmacêutica. Por outro lado, nas formas sólidas de libertação controlada é necessário que haja interações entre o API e os excipientes, pois esta libertação apenas é alcançada usando as propriedades dos excipientes [20].

O interesse dos cocrystalis na área farmacêutica tem vindo a aumentar devido ao facto de estes poderem ser utilizados como ativos, pois as suas propriedades físico-químicas podem ser bastante interessantes. No entanto, para se obter uma nova forma farmacêutica é necessário percorrer vários estágios, geralmente de longa duração temporal.

Um dos estágios de desenvolvimento de cocrystalis farmacêuticos é a sua formulação, ou seja, a sua compatibilidade com os excipientes e a sua estabilidade ao longo de todo o processo de obtenção de um novo medicamento e também no armazenamento. Uma vez que os excipientes podem conter grupos capazes de formar ligações de hidrogénio e, uma vez que os cocrystalis são, normalmente, formados por estas mesmas ligações, a sua estabilidade na presença de excipientes poderá estar comprometida. Ainda existem poucos estudos sobre este tema, mas prevê-se que estes venham a aumentar dado ser uma parte essencial do processo de desenvolvimento de medicamentos [7].

O cocrystal de cafeína-ácido oxálico foi armazenado à temperatura ambiente / 98 % de humidade relativa (HR) durante 7 semanas, não se verificando a sua dissociação, tal como já havia sido relatado em estudos anteriores. Deste modo, juntou-se este cocrystal a diversos excipientes para avaliar a sua estabilidade, tendo-se verificado que este acaba por se dissociar. Pressupôs-se, então, que esta dissociação tenha ocorrido devido à adsorção de água que acaba por solubilizar o cocrystal e o excipiente, seguida de transferência de protões do ácido oxálico para o excipiente, terminando com a formação de sais metálicos e um hidrato de cafeína. Deste modo, é sugerido que se utilizem excipientes neutros aquando da formulação deste cocrystal [25].

Comprimidos contendo o cocrystal de teofilina-ácido glutárico mantiveram-se estáveis durante 2 semanas em condições de estabilidade acelerada, 40 °C / 75 % HR. No entanto, verificou-se a dissociação do cocrystal quando comprimidos contendo este cocrystal e excipientes foram armazenados, nas mesmas condições, obtendo-se a forma anidra da teofilina. Dos resultados, concluiu-se que a dissociação do cocrystal é mediada pela água e que as propriedades dos excipientes como, por exemplo, a higroscopicidade e a capacidade de se ionizar, influenciaram a estabilidade do cocrystal, pois excipientes sem tendência para captar água e neutros, como a lactose monohidrato, não provocam a dissociação do mesmo, tal como relatado no estudo descrito anteriormente [26].

Numa investigação realizada mais tarde, pelo mesmo grupo, foi novamente estudada a estabilidade de cocrystalis de teofilina com ácido glutárico, mas também com isonicotinamida e com benzamida, coformadores ácido, básico e neutro, respetivamente, na presença de vários

excipientes. Pretendia-se, assim, avaliar o papel das propriedades do coformador e do excipiente na sua estabilidade. Para isso utilizaram-se excipientes ácidos, básicos e neutros, pertencentes a várias categorias. Em condições aceleradas de estabilidade, 40 °C / 75 % HR, os comprimidos contendo os cocristais de teofilina com ácido glutárico e de teofilina com isonicotinamida, ambos na proporção de 1:1, permaneceram estáveis após uma semana de armazenamento, mas na presença de excipientes básicos e ácidos, respetivamente, sofreram dissociação mediada pela água, tendo-se identificado o produto da reação por difração de raios-X de pó. Por outro lado, nas mesmas condições de armazenamento, os comprimidos do cocrystal de teofilina com benzamida na presença e ausência de excipientes não houve dissociação, mas ocorreu uma transformação polimórfica. De acordo com os resultados, foi demonstrado que cocristais com um coformador básico sofrem dissociação mediada por água na presença de excipientes ácidos; cocristais com um coformador ácido sofrem dissociação mediada por água na presença de excipientes básicos; e cocristais com um coformador neutro são estáveis na presença de excipientes ácidos e básicos. Se o cocrystal se tornar altamente solúvel devido ao coformador, também irá haver uma tendência para a ocorrência de dissociação na presença de excipientes neutros [27].

Foi investigada a compatibilidade e a estabilidade do cocrystal brexpiprazol-catecol na presença de excipientes utilizados na formulação de brexpiprazol, *REXULTI*[®], na proporção de 1:1. Os estudos de estabilidade foram realizados durante 1 mês a 40 °C / 75 % HR e acompanhados por difração de raios-X de pó (XRPD) e calorimetria diferencial de varrimento (DSC). Por DSC concluiu-se que o cocrystal brexpiprazol-catecol mantém-se estável na presença de celulose microcristalina (MCC), dióxido de titânio, óxido de ferro e amido, pois as curvas apresentam apenas um pico endotérmico. Para além disto, este cocrystal também mostrou ser mais estável que o brexpiprazol com o PVP [28].

Outros estudos demonstraram, por exemplo, que o co-cristal de ertugliflozina com ácido L-piroglutâmico, na proporção de 1:1, em condições de temperatura e humidade relativa elevada, é estável, mas na presença de alguns excipientes sofre dissociação. Os excipientes utilizados encontram-se divididos em quatro categorias: ácidos e higroscopicidade baixa (categoria 1), ácidos e higroscopicidade alta (categoria 2), básicos e higroscopicidade baixa (categoria 3) e básicos e higroscopicidade alta (categoria 4). Os resultados revelaram que existe uma relação entre o carácter ácido/base e a higroscopicidade dos excipientes com a dissociação do cocrystal e o aparecimento da forma amorfa da ertugliflozina. Após a realização de estudos acelerados de

estabilidade, 40 °C / 75 % HR, durante 4 semanas com comprimidos revestidos do cocrystal com sílica hidrofóbica e ácido cítrico, um agente de caráter ácido, não se verificou dissociação. Assim, concluiu-se que excipientes básicos têm tendência a induzir a dissociação de cocrystal com coformadores ácidos. Para além disso, o revestimento de comprimidos de cocrystal com sílica hidrofóbica e um modificador de pH poderá ser a melhor forma de obter-se formulações sólidas mais robustas [29].

Num trabalho mais recente, sobre este tema, foi estudado o efeito da moagem de 11 cocrystal e um sal da clorotiazida na presença do excipiente polivinilpirrolidona (PVP) e da MCC. Verificou-se que todos os cocrystal, exceto o de clorotiazida-propionamida e clorotiazida-acetamida, são estáveis aquando da moagem com os excipientes na proporção de 1:1. Para além disso, ao moer o API com o coformador na presença de PVP e MCC foi possível formar 8 dos cocrystal e o sal em estudo. Foi ainda estudada a estabilidade e formação de clorotiazida-carbamazepina, clorotiazida-nicotinamida e hidroclorotiazida-nicotinamida na presença dos excipientes hidroxipropilcelulose, α -lactose, ácido deoxicólito e taurocolato de sódio. No total foram identificados 13 cocrystal que poderiam dar origem a formulações adequadas. Os estudos de estabilidade foram realizados a 20 °C / 56 % de humidade relativa (HR) e acompanhados por análises de difração de raios-X de pó após 7, 14 e 30 dias. Concluiu-se, assim, que a estabilidade de um cocrystal ou a sua dissociação, durante ou após a formulação, depende da cinética de conversão, contando, também, com a energia de interação dos sítios presentes nos cocrystal e a competição entre as interações API-coformador e coformador-excipientes, sendo estes dois aspetos importantes para a obtenção de cocrystal farmacêuticos [30].

1.4 Ativos farmacêuticos investigados neste trabalho

1.4.1 Diflunisal

O diflunisal (DIF), Figura 3, um anti-inflamatório não esteróide, é um derivado do ácido salicílico, com $pK_a = 3,3$ [31]. Tem propriedades anti-inflamatórias, antipiréticas e analgésicas. A sua ação está associada à inibição da síntese de prostaglandinas que são responsáveis pelo

processo inflamatório. Este fármaco é utilizado no tratamento da dor, de distensões, de entorses e da osteoartrite [32].

Até à data encontram-se descritas cinco formas polimórficas do diflunisal, I-V. Cotton e Hux descreveram a existência das formas polimórficas I, II e III [31], Martínez-Ohárriz *et al.* descreveram a forma IV [33] e Perlovich *et al.* descreveram a forma V [34]. No entanto, apenas se encontram resolvidas as estruturas das formas I e III por Cross *et al.* [35] e da forma V por Kim *et al.* [36].

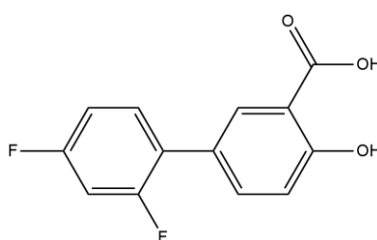


Figura 3. Estrutura molecular do diflunisal.

São vários os estudos que relatam a existência de cocrystalis com diflunisal. Évora *et al.* sintetizaram, pela primeira vez, o cocrystal diflunisal-pirazinamida 1:1, por três métodos diferentes: *annealing* de uma mistura física a 80 °C, *annealing* à temperatura ambiente de uma mistura de baixa cristalinidade obtida por moagem sem solvente e moagem assistida por líquido [37].

Cocrystalis de diflunisal com nicotinamida e isonicotidamida, ambos na proporção de 2:1, foram obtidos por Wang *et al.* através de cristalização em solução usando etanol como solvente. A velocidade de dissolução e a solubilidade aquosa de ambos os cocrystalis são superiores à do API puro [38]. Évora *et al.* também confirmou a existência do cocrystal diflunisal-nicotinamida 2:1 por moagem assistida por líquido, verificando que este cocrystal apresenta uma velocidade de dissolução intrínseca superior à do diflunisal puro em cerca de 20 % [39]. O mesmo grupo confirmou ainda a existência do cocrystal diflunisal-isonicotinamida 2:1 e obteve o cocrystal diflunisal-picolinamida, na proporção de 1:1, aquando do estudo do DIF com piridinacarboxamidas isoméricas. Através do diagrama sólido-líquido foram ainda identificadas duas misturas eutéticas com possíveis aplicações farmacêuticas [40].

Surov *et al.* obtiveram cocrystalis de diflunisal e diclofenac com teofilina, ambos na proporção de 1:1, tendo a sua estrutura sido resolvida. Os dois cocrystalis foram armazenados

em diferentes condições de humidade relativa, demonstrando serem estáveis. Para além disto, exibiram maior solubilidade quando comparados com o respetivo API puro e, apesar de a velocidade de dissolução intrínseca do cocrystal diflunisal-teofilina ser semelhante à do DIF, a do cocrystal diclofenac-teofilina é cerca de 1,3 vezes superior à do API correspondente [41].

Num estudo realizado por Veverka *et al.* obtiveram-se cocrystalis de quercetina com 22 coformadores, de entre os quais o diflunisal (1:1). No entanto, ao serem realizados testes de estabilidade este não demonstrou ser estável [42]. De modo a controlar o hábito cristalino do diflunisal, Pallipurath *et al.* identificaram 8 novos cocrystalis com este API e resolveram três estruturas cristalinas [43].

Relativamente à estabilidade do diflunisal na presença de excipientes, Martínez-Ohárriz *et al.* investigou dispersões sólidas de diflunisal-polietilenoglicol preparadas através de diferentes métodos. Assim, concluiu-se que se obtém a forma I quando a concentração de polietilenoglicol é baixa e a forma III quando a concentração deste excipiente é mais elevada [44]. Mandal *et al.* verificaram que não há interação física nem química significativa entre o API e o alginato de cálcio, pelo que este pode ser utilizado como vetor na libertação controlada [45]. Foi estudada por Kaur *et al.* a compatibilidade de excipientes lipídicos como o behenato de glicerilo, o palmitato de cetilo, o ácido esteárico, o monoestearato de glicerilo e o óleo de rícino hidrogenado com o diflunisal e todos foram considerados adequados para o desenvolvimento de nanopartículas lipídicas sólidas [46].

O diflunisal está inserido na classe II do BCS, uma vez que a sua biodisponibilidade oral é limitada pela baixa solubilidade aquosa [47].

1.4.2 Lamotrigina

A lamotrigina (LAM), Figura 4, um derivado da feniltiazina, é um agente anticonvulsivante, sendo também utilizado como estabilizador de humor em pacientes com transtorno bipolar. Este fármaco atua como anticonvulsivante através do bloqueio dos canais de sódio dependentes de voltagem, o que se traduz na não libertação de neurotransmissores excitatórios. Relativamente ao transtorno bipolar, o seu mecanismo de ação poderá ser a inibição

dos canais de sódio e cálcio dos neurónios pré-sinápticos e, posteriormente, a estabilização da membrana neuronal [48, 49].

Apenas é conhecida uma estrutura cristalina da lamotrigina, tendo esta sido resolvida por Sridhar e Ravikumar [50].

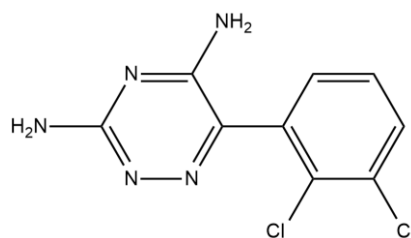


Figura 4. Estrutura molecular da lamotrigina.

Cheney *et al.* relataram 10 novas formas de cristais de lamotrigina entre as quais se encontram os cocristais lamotrigina-metilparabeno 1:1 na forma I e II e lamotrigina-nicotinamida 1:1 na forma anidra e monohidratada [51], tendo sido confirmada a existência destes dois últimos por Chadha *et al.* [52]. Mais tarde, foram descobertos por Leksic *et al.* os cocristais lamotrigina-ftalimida 1:1, lamotrigina-isoftaldeído 1:1, lamotrigina-diimida piromelítica 1:1 e lamotrigina-cafeína 2:1, estando os últimos dois solvatados por dimetilformamida e 3-pentanona, respetivamente [53].

Quatro novas formas de lamotrigina foram relatadas por Thipparaboina *et al.*, sendo uma delas o cocrystal lamotrigina com vanilina que possui uma maior velocidade de dissolução quando comparada com o API puro [54]. Ao juntarem dois anticonvulsivantes, a lamotrigina e o fenobarbital, Kaur *et al.* obtiveram um novo cocrystal com uma solubilidade e velocidade de dissolução intrínseca mais baixas que as dos APIs puros. Tal facto pode dever-se ao aumento das interações [55]. Estudos realizados por Du *et al.* deram origem a cocristais de lamotrigina com os isómeros 4,4'-bipiridina e 2,2'-bipiridina por moagem sem solvente e assistida por líquido [56].

Numa investigação realizada por Chappa *et al.* verificou-se que os cocristais de lamotrigina com ácido maleico e ácido malónico, quando comparados com o API puro, apresentam maior solubilidade e velocidade de dissolução intrínseca [57]. Através da moagem assistida por líquido e cristalização, Kuang *et al.* sintetizaram o cocrystal lamotrigina-ftalimida e o

cocrystal monohidratado lamotrigina-succinimida e resolveram as suas estruturas cristalinas. Ambos os cocristais são estáveis com 85 e 98 % de humidade relativa [58].

Évora *et al.* sintetizaram dois novos cocristais de lamotrigina com teofilina e isonicotinamida sendo que o primeiro se transforma num monohidrato aquando da realização de testes de estabilidade acelerados durante 2 meses, tendo sido possível resolver a sua estrutura cristalina. Foi também confirmada a existência do cocrystal lamotrigina-nicotinamida 1:1 e lamotrigina-cafeína 2:1 [59]. A existência do cocrystal monohidratado de lamotrigina com teofilina foi confirmada por Kuang *et al.* e um novo cocrystal do mesmo API com glutarimida foi sintetizado e caracterizado por difração de raios-X de monocristal. Este último cocrystal apresenta maior velocidade de dissolução que o cocrystal monohidratado, mas menor estabilidade. Ainda assim, a estabilidade dos cocristais é superior à do API puro a 25 °C e 98 % de humidade relativa [60].

Um estudo realizado por Parezanovic *et al.* a formulações de lamotrigina de libertação rápida, dentro do prazo de validade e expirados há 10 anos, demonstrou que o conteúdo do comprimido não sofreu alterações significativas, mas que a velocidade de dissolução dos comprimidos expirados diminuiu. Deste modo, concluiu-se que esta alteração se deva à interação do API com um ou vários excipientes presentes na formulação [61].

A lamotrigina pertencem à classe II do BCS, ou seja, a sua biodisponibilidade oral é limitada pela baixa solubilidade aquosa [47].

1.4.3 Isoniazida

A isoniazida (ISO), Figura 5, é um derivado sintético do ácido nicotínico (vitamina B). É agente antibacteriano muito utilizado no tratamento da tuberculose. Este fármaco inibe a síntese de ácidos micólicos e ácidos nucleicos nas bactérias [62].

Apesar dos vários estudos realizados, apenas era conhecida uma forma polimórfica da isoniazida, tendo-se concluído que esta deveria ser realmente monomórfica [63]. L. H. Jensen [64] e Bhat *et al.* [65] obtiveram a estrutura cristalina deste polimorfo à temperatura ambiente e A. Lemmerer obteve a -100,15 °C [66]. No entanto, em 2020, Keke Zhang *et al.* descobriram dois novos polimorfos metaestáveis deste composto através da cristalização a partir do fundido e de nanoconfinamento, tendo conseguido resolver a estrutura de um deles, polimorfo II [67].

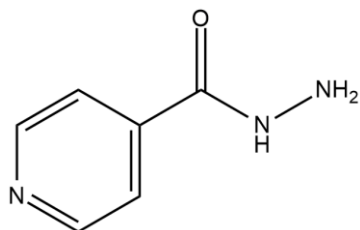


Figura 5. Estrutura molecular da isoniazida.

A isoniazida é um API bastante estudado no que toca à sua capacidade de formar cocristais. Lammerer *et al.* sintetizaram cocristais de isoniazida com o ácido malónico, sucínico, glutárico, adípico, pimélico, 4-hidroxibenzoico e 2,4-dihidroxibenzoico [68]. O mesmo grupo desenvolveu também cocristais do mesmo API com ácido 2-hidroxibenzoico [66] e com o ácido tereftálico através da cristalização em solução e moagem assistida por líquido, estando a sua estrutura resolvida [69]. Por outro lado, Aitipamula *et al.* obtiveram dois polimorfos de um cocrystal hidratado de isoniazida-ácido 4-hidroxibenzoico, um polimorfo do cocrystal isoniazida-ácido fumárico e cocristais ternários de isoniazida com nicotinamida e ácido fumárico ou ácido sucínico [70].

Grobelny *et al.* juntaram a isoniazida com o ácido 4-aminossalicílico, tendo sido possível resolver a sua estrutura [71]. Sarceviča *et al.* obtiveram 4 novos cocristais ao juntar a ISO com os ácidos benzoico, sebáico, subérico e cinâmico [72]. O mesmo grupo realizou ainda um estudo com ácidos dicarboxílicos alifáticos (C₃-C₁₀), alguns deles já referidos anteriormente, sendo que não obtiveram cocrystal apenas com o ácido azelaico (C₉) [73]. Anos mais tarde, Mashhadi *et al.* sintetizou novos cocristais de isoniazida com derivados do ácido cinâmico [74].

Quatro novos cocristais foram sintetizados por Swapna *et al.* com a ISO, mas com os ácidos vanílico, ferúlico, cafeico e com a resorcina, sendo que todos eles, exceto o último, são estáveis durante 6 meses a 40 °C / 75 % de humidade relativa [75]. Um cocrystal na forma anidra e hidratada de ácido gálico com isoniazida foi obtido por Kaur *et al.* [76]. A junção do API com os ácidos gálico, 2,3-dihidroxibenzoico, 3,5-dihidroxibenzoico e 3-dihidroxibenzoico por Mashhadi *et al.* resultou na formação de cocristais [77]. O cocrystal resveratrol-isoniazida sintetizado por Zhou *et al.* apresenta maior solubilidade aquosa, velocidade de dissolução intrínseca e compressibilidade que o resveratrol puro [78].

Estudos realizados por Gopi *et al.* demonstraram que o cocrystal de hidroclorotiazida-isoniazida apresenta uma solubilidade semelhante à da hidroclorotiazida pura [79]. Diniz *et al.*

descobriram 3 novos cocrystalis de isoniazida com os ácidos 4-nitrobenzóico, 4-cianobenzóico e 4-aminobenzóico [80]. O cocrystal 5-fluorocitosina e entacapone com isoniazida, ambos na proporção de 1:1, foram desenvolvidos por Souza *et al.* [81] e Bommaka *et al.* [82], respetivamente.

Apesar de tanto a baicaleína como a isoniazida apresentarem baixa capacidade de compressão, o cocrystal dos dois compostos obtido por Liu *et al.* apresenta boa compressibilidade [83]. A luteolina monohidratada com a isoniazida dá origem a um cocrystal estável, estudado por Lou *et al.*, e que apresenta solubilidade e disponibilidade oral mais elevada que a luteolina monohidratada.[84] Foram também obtidos cocrystalis de isoniazida com ácido siríntrico e com a quercetina por Yadav *et al.* [85].

O cocrystal isoniazida-curcumina 2:1, sintetizado por Xuan *et al.*, demonstra a utilidade dos cocrystalis na libertação prolongada de fármacos [86]. González-González *et al.* juntaram a isoniazida com o catecol, o orcinol, o 2-metilresorcinol, o pirogalol e o floroglucinol e obtiveram, assim, 5 novos cocrystalis deste API [87]. Um cocrystal de ISO com o ácido gentísico e glicólico foi reportado por Mashhadi *et al.* [88] e Álvarez-Vidaurre *et al.* [89], respetivamente.

A compatibilidade da isoniazida com dois excipientes, a celulose microcristalina e a lactose, foi investigada por Lavor *et al.* através de calorimetria diferencial de varrimento. Os resultados demonstraram que a isoniazida não interage com a celulose microcristalina, mas interage com a lactose, pois os eventos térmicos que ocorrem na mistura são diferentes daqueles que se verificam para o API puro [90].

A isoniazida pertence à classe III do BCS, pois possui alta solubilidade e baixa permeabilidade [47].

1.4.4 Etossuximida

A etossuximida (ESM), Figura 6, tal como a lamotrigina, é um anticonvulsivante, mas com um mecanismo de atuação diferente, sendo utilizado em crises de ausência. Atua reduzindo as correntes de cálcio de baixa voltagem do tipo T em neurónios talâmicos [91, 92].

Recentemente, Osiecka *et al.* relatam evidências de que a etossuximida apresenta dois polimorfos, obtidos por cristalização do fundido, com temperaturas de fusão muito próximas uma da outra, não sendo facilmente identificáveis [93].

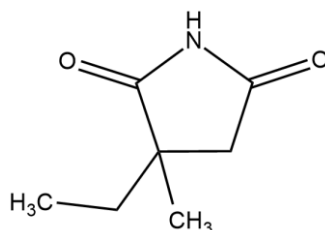


Figura 6. Estrutura molecular da etossuximida.

A etossuximida pertence à classe III do BCS, ou seja, possui alta solubilidade e baixa permeabilidade [47].

1.5 Objetivo

Um dos objetivos do trabalho apresentado nesta dissertação é investigar a formação de cocristais de diflunisal e de lamotrigina com potencial para utilização em terapia dual.

O diflunisal é um anti-inflamatório não esteróide utilizado no tratamento de dor, pelo que a sua associação com outros ativos numa nova estrutura supramolecular pode ser de interesse. Investigaram-se os sistemas diflunisal+isoniazida e diflunisal+etossuximida. A associação com a isoniazida reveste-se de particular interesse, uma vez que um dos possíveis efeitos secundários da isoniazida é a dor articular [94], pelo que a sua associação com o diflunisal poderá ser útil para minimizar esses mesmos efeitos. No caso do diflunisal com a etossuximida, um anticonvulsivante, a sua associação é, também, de interesse para pacientes que, para além das crises de ausência, apresentem dores como patologia.

A lamotrigina e a etossuximida são ambos anticonvulsivantes, no entanto, o seu mecanismo de ação é diferente. Deste modo, a associação destes compostos poderá ser potencialmente útil em terapia de dupla ação.

Pretendeu-se ainda avaliar a compatibilidade e estabilidade dos cocristais desenvolvidos de diflunisal, um ácido, e de lamotrigina, uma base, na presença de excipientes comuns nas formulações farmacêuticas, sendo este um estágio bastante importante e ainda pouco explorado no caminho para o desenvolvimento de cocristais farmacêuticos. Assim, a investigação da compatibilidade dos APIs com os excipientes selecionados é necessária de modo a compreender como estes interagem com o cocrystal.

Selecionados os excipientes mais promissores, é indispensável a realização de testes de estabilidade dos APIs e dos cocristais na presença de excipientes.

Capítulo 2

Materiais e Métodos

Capítulo 2

Materiais e Métodos

2.1 Materiais

Na Tabela 2 indicam-se os diferentes compostos utilizados no desenvolvimento deste trabalho, fornecedor, grau de pureza, massa molar e temperatura de fusão.

Tabela 2. Compostos utilizados e propriedades físico-químicas dos mesmos.

Composto	Fornecedor	Pureza %	M / g mol ⁻¹	T _{fus} / °C	Referências
DIF	Sigma-Aldrich	99,0	250,20	210,0-211,0	[95]
LAM	Jai Radhe	99,79	256,10	216,0-218,0	[95]
ISO	Sigma-Aldrich	≥ 99,0	137,14	171,4	[95]
ESM	Sigma-Aldrich	≥ 98,0	141,17	64,0-65,0	[95]
Manitol	Scharlau	97,0-102,0	182,17	166,0-168,0	[96]
MCC	Sigma-Aldrich	-	-	260,0-270,0	[96]
Talco	Sigma-Aldrich	-	379,27	800,0	[97]
Alginato de sódio	Sigma-Aldrich	-	-	-	-
MgSte	Scharlau	-	591,24	117,0-150,0	[96]
Lactose monohidrato	Scharlau	-	360,31	201,0-202,0	[96]
DCP	Sigma-Aldrich	98,0-105,0	136,06	-	-
CCS	Merck	-	-	-	-
Ácido adípico	TCI	> 99,0	146,14	152,1	[96]
Ácido itacónico	TCI	> 99,0	130,10	162,0-164,0	[95]

Para os ensaios de moagem dos compostos para a preparação dos cocristais foi utilizada a técnica de adição de líquido (solvente). Estes ensaios e a cristalização em solução envolveram a utilização de etanol puro a 99,8 %, do laboratório *Fluka*.

2.2 Métodos

2.2.1 Preparação de cocristais

2.2.1.1 Mecanoquímica

A mecanoquímica é o nome dado a reações induzidas por energia mecânica, podendo estas ocorrer de forma rápida através da moagem dos reagentes sólidos com ou sem adição de solvente [98].

A moagem, muito utilizada neste trabalho, tem tido uma importância crescente na síntese de cocristais [99]. Esta pode ser realizada manualmente ou com recurso a um moinho de bolas, pois em ambos os casos os compostos sofrem ação mecânica, havendo introdução de desordem (amorfização) e redução do tamanho das partículas [98].

O processo mais simples de cocrystalização por mecanoquímica é a moagem sem solvente (NG – *Neat Grinding*), no entanto, esta reação nem sempre é completa [100]. Deste modo, a moagem assistida por líquido (LAG – *Liquid Assisted Grinding*) tem demonstrado ser uma boa alternativa, pois a adição de quantidades catalíticas de solvente pode acelerar a reação e melhorar o seu rendimento, obtendo-se, também, um produto mais cristalino [98, 99]. A aplicação da moagem assistida por líquido pode, no entanto, levar à formação de solvatos, pois em alguns casos observou-se uma correlação entre a reatividade e a solubilidade do reagente [98, 100].

Procedimento experimental:

As amostras foram obtidas utilizando o moinho de bolas Retsch MM400 com vasos de moagem de 10 mL e duas esferas de 7 mm de diâmetro, ambos de aço inoxidável. Todas as amostras foram sujeitas a frequências de 15 Hz e tempos de moagem de 30 minutos.

Os compostos DIF e ISO foram investigados com recurso a LAG e, no caso dos compostos LAM e ESM, foi aplicada LAG e NG. As misturas DIF-ISO e DIF-ESM apenas foram obtidas por LAG e NG, respetivamente, e as misturas LAM-ESM foram obtidas por ambos os métodos, tendo-se utilizado uma massa total de, aproximadamente, 70 mg.

No caso da moagem dos compostos LAM e ESM e do cocrystal LAM-ESM 1:1 o procedimento foi ligeiramente diferente, uma vez que a etossuximida apresenta uma temperatura de fusão muito baixa e essa temperatura é facilmente atingida no interior dos vasos. Assim, antes de iniciar a moagem, foi necessário colocar os vasos no congelador, a $T \approx -20$ °C, durante 10 minutos e, durante a moagem, após cada 5 minutos, os vasos eram colocados novamente no congelador durante outros 5 minutos, até perfazer os 30 minutos de moagem. Deste modo foi possível baixar a temperatura o suficiente para que não ocorresse a fusão da etossuximida.

2.2.1.2 Cristalização em solução

A cristalização em solução é outro método utilizado para a obtenção de cocrystalis, quer em processos de *screening*, quer para transposição de escala. Para aplicar este método é necessário atingir a sobressaturação, podendo esta ser conseguida, por exemplo, através da evaporação do solvente ou do arrefecimento da solução [101].

No caso dos cocrystalis é necessário ter em consideração a concentração do API e do coformador. Devido às diferenças de solubilidade entre o API e o coformador, por vezes é necessário recorrer a diagramas de fases ternários, pois estes dão informação sobre a solubilidade de cada uma das fases sólidas no solvente ou mistura de solventes e sobre as regiões de estabilidade termodinâmica de cada forma sólida, para uma dada pressão e temperatura [101, 102].

Na Figura 7 encontram-se representados exemplos de diagramas de fase ternários solvente (S) + ativo (A) + coformador (B), com formação de um cocrystal de estequiometria equimolar e soluções saturadas do cocrystal congruente (Figura 7a) e incongruente (Figura 7b). No sistema congruente, o cocrystal pode ser preparado a partir de soluções de composição estequiométrica, 1:1, pois a sobressaturação é atingida através do aumento da concentração dos reagentes ao longo da linha estequiométrica (pontos S-c-AB). Neste caso o API e o coformador apresentam solubilidades próximas e são mais solúveis no solvente do que o cocrystal (ponto c). Por outro lado, no sistema incongruente o API e o coformador têm diferentes solubilidades, sendo a solubilidade do cocrystal no solvente maior que a do componente A. Neste caso, a utilização de soluções de composição estequiométrica pode não levar à cristalização do

cocrystal, mas sim de um dos componentes ou de uma mistura deste com o cocrystal, pois a sobressaturação é gerada em relação ao componente A ou ao componente A e ao cocrystal. Assim, é necessário utilizar soluções de composição não estequiométrica [103].

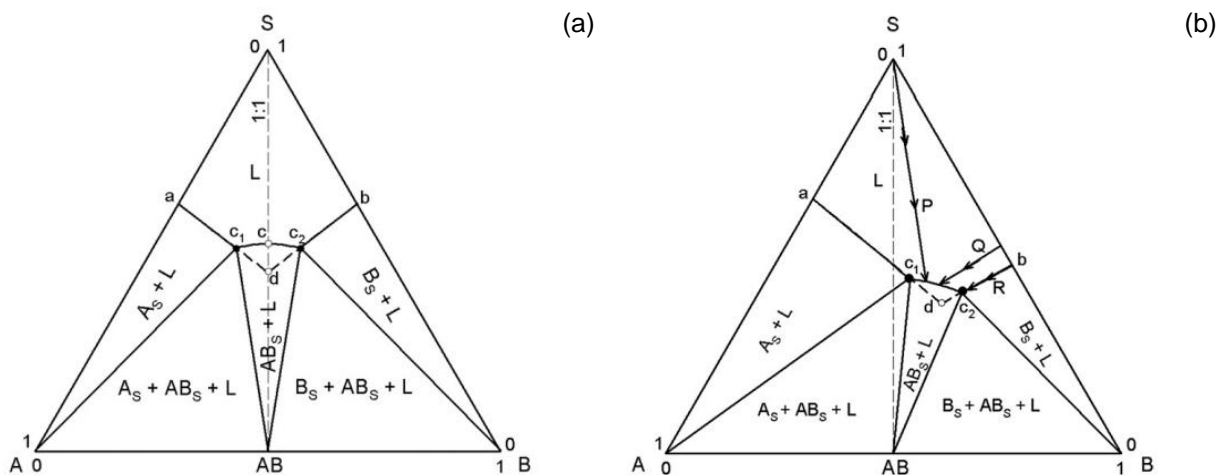


Figura 7. Representação esquemática de um diagrama ternário: (a) congruente; (b) incongruente [103].

Procedimento experimental:

O cocrystal diflunisal-isoniazida foi, inicialmente, obtido por mecanoquímica, que originava, aproximadamente 50 mg por ensaio. De modo a obter-se quantidades mais elevadas de cocrystal para a preparação das cápsulas gelatinosas foi utilizada cristalização em solução, após escolha de um solvente apropriado, como é descrito na secção 3.2.1.2: num balão de fundo redondo dissolveram-se 800 mg de diflunisal e isoniazida, na proporção de 1:1 ($m_{\text{DIF}} = 0,5169$ g e $m_{\text{ISO}} = 0,2833$ g) em 10 mL de etanol. Esta mistura foi colocada em refluxo e sob agitação até que os compostos estivessem totalmente dissolvidos. Após arrefecimento, até à temperatura ambiente, a solução foi colocada numa câmara frigorífica, a $T \approx 7$ °C, até ocorrer precipitação, tendo-se obtido cerca de 530 mg de material sólido.

De seguida procedeu-se à filtração do precipitado e, posteriormente, à sua secagem numa estufa a 100 °C. De modo a uniformizar o tamanho das partículas de cocrystal obtidas pela cristalização em solução, colocou-se a amostra no moinho de bolas com uma frequência de 15

Hz, durante 10 minutos. O sólido obtido é o cocrystal desejado, como confirmado por FTIR, DSC e XRPD.

2.2.2 Caracterização de fases sólidas

2.2.2.1 Espectroscopia de infravermelho

Para caracterizar as formas sólidas obtidas recorreu-se à espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier no modo reflexão total atenuada (ATR-FTIR). Na espectroscopia de infravermelho a radiação eletromagnética que incide na molécula em estudo encontra-se na região do infravermelho. A absorção deste tipo de radiação resulta na excitação de modos vibracionais, se a energia da radiação for igual à diferença de energia entre os níveis vibracionais. Para que um modo seja ativo em infravermelho é necessário que a vibração esteja associada a uma alteração do momento dipolar da molécula [104].

O principal componente do FTIR é o interferómetro que funciona como um divisor de feixe. Deste modo, metade do feixe proveniente da fonte incide num espelho fixo e a outra metade num espelho móvel e é refletida, criando-se interferências construtivas e destrutivas. A radiação já modulada passa pela amostra que a absorve seletivamente. Posteriormente, o detetor regista a radiação como um interferograma e as informações aí contidas são traduzidas num espetro, através da transformada de Fourier [104].

Os espetros foram obtidos em modo ATR, pois esta é uma técnica que permite analisar diretamente as amostras, ao contrário do que pode acontecer no modo de transmissão utilizando pastilhas de KBr.

Procedimento experimental:

Os espetros das amostras foram obtidos com recurso ao equipamento Thermo Scientific Nicolet 380 (Thermo Scientific, Waltham, MA, EUA), equipado com o acessório Smart Orbit Diamond ATR (Thermo Scientific). O registo foi feito em gamas de números de onda

compreendidas entre 4000 cm^{-1} e 400 cm^{-1} , com 64 acumulações por espectro e resolução de 2 cm^{-1} .

2.2.2.2 Calorimetria diferencial de varrimento

A calorimetria diferencial de varrimento (DSC) é uma técnica bastante importante na caracterização de compostos. Esta técnica permite identificar vários eventos como a fusão, recristalização, transições polimórficas, transições vítreas e reações químicas, que envolvam trocas de calor ou variação de capacidade calorífica.

Existem dois tipos de DSC, o de fluxo de calor e o de potência compensada, tendo sido este último o utilizado para analisar todas as amostras. Neste tipo de DSC a amostra e a referência são colocadas em dois fornos diferentes, termicamente isolados, com temperatura controlada. Este calorímetro mede a diferença de energia fornecida (dQ/dt) entre a amostra e a referência em função da temperatura. Ambas as cápsulas são submetidas a um programa controlado de variação de temperatura e, caso seja detetadas diferenças de temperatura entre a amostra e a referência, a energia fornecida é ajustada de modo a que estas voltem a estar em equilíbrio térmico [105].

A absorção de energia é registada sob a forma de picos endotérmicos (sinal positivo) e a libertação sob a forma de picos exotérmicos (sinal negativo). Assim, durante um evento endotérmico o DSC fornece energia à amostra [105].

Procedimento experimental:

Os termogramas foram obtidos com recurso a um calorímetro de potência compensada da Perkin Elmer, modelo DSC7, equipado com um intracooler a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, usando como líquido de refrigeração uma mistura de água com etilenoglicol, numa proporção de 1:1 (V/V). Como gás de purga foi utilizado o azoto, com um fluxo de 20 mL/min .

Todas as amostras foram analisadas utilizando cápsulas de alumínio hermeticamente fechadas de 30 µL, tendo sido pesadas entre 1 a 2,5 mg do sólido em análise. Como referência foram utilizadas cápsulas vazias iguais à da amostra.

A calibração da temperatura e da entalpia foi realizada com recurso a materiais de referência certificados, tendo-se utilizado o bifenilo ($T_{\text{fus}} = 68,93 \text{ °C}$) e a cafeína ($T_{\text{fus}} = (235,9 \pm 0,2) \text{ °C}$) na calibração da temperatura e o índio ($\Delta_{\text{fus}}H = (3286 \pm 13) \text{ J mol}^{-1}$) na calibração da entalpia [106, 107].

2.2.2.3 Difração de raios-X

Na caracterização dos compostos obtidos foi ainda utilizada difração de raios-X, uma técnica muito utilizada no estudo de estruturas cristalinas e de distâncias atômicas. Através desta técnica é possível determinação as fases cristalinas presentes nas amostras, os defeitos existentes na mesma e a ausência de cristalinidade [108, 109].

Os feixes de raios-X, gerados por um tubo de raios catódicos, são filtrados, de modo a se produzir uma radiação monocromática, e colimados. Ao incidirem na amostra, estes podem ser refletidos ou podem sofrer difração. Os feixes difratados geram interferências construtivas, criando um padrão único para cada amostra que depende da densidade dos átomos e da sua organização [108].

A difração de raios-X obedece à *Lei de Bragg*, Equação 1,

$$n\lambda = 2d \sin \theta \quad (1)$$

onde λ é o comprimento de onda da radiação, d é a distância interplanar que gera o padrão de difração e θ é o ângulo de difração [108].

Esta técnica apresenta duas aplicações, a difração de raios-X de pó (XRPD) e a difração de raios-X de monocristal (SCXRD). A primeira é a alternativa mais fácil e rápida, pois a obtenção de um monocristal adequado é uma tarefa difícil. A difração de raios-X de monocristal permite obter informações sobre toda a estrutura da amostra, enquanto a difração de raios-X de pó os dados são apresentados a uma dimensão, o que leva a uma sobreposição de picos [110].

Procedimento experimental:

A difração de raios-X de pó foi realizada na Unidade de Controlo de Qualidade de Produtos Farmacêuticos (UCQFarma) da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, com recurso ao aparelho MiniFlex 600 (Rigaku, Japão), utilizando radiação K_{α} ($\lambda = 1,541862 \text{ \AA}$) com um filtro K_{β} . Os difratogramas foram adquiridos entre 3 – 40 °C e a uma velocidade de aquecimento de 5 °C/min., em porta amostras com superfícies de silício especialmente preparadas para evitar difração provocada pelo mesmo.

2.2.3 Estabilidade de cocristais

2.2.3.1 Câmaras de estabilidade

De modo a avaliar qualidade, segurança e eficácia de uma nova formulação farmacêutica é necessário proceder à realização de testes de estabilidade. Estes vão permitir perceber qual a influência que fatores como a temperatura, a humidade e a luz têm no composto em estudo, podendo, assim, estabelecer-se o prazo de validade e as condições de armazenamento ideais [111].

As condições dos testes têm por base os efeitos das condições climáticas nas três principais regiões do mundo, Europa, Japão e Estados Unidos. O mundo encontra-se dividido em quatro zonas climáticas, I-IV [111]. A zona I define-se como zona temperada, a II é a subtropical e mediterrânea, a III é a zona quente e seca e a IV corresponde à zona quente e húmida.

Os estudos podem ser executados em tempo real, em condições intermédias ou em condições aceleradas, Tabela 3. No primeiro caso o estudo é efetuado durante um longo período de tempo, sendo que os testes são realizados, normalmente, a cada 3 meses durante o primeiro ano, a cada 6 meses durante o segundo ano e anualmente a partir deste tempo. Nos estudos intermédios é necessário fazer testes em, no mínimo, quatro tempos diferentes, sendo que dois destes testes são realizados no tempo inicial e final. Os estudos em condições aceleradas necessitam de testes no tempo inicial e final e num tempo intermédio [111].

Tabela 3. Tempos e condições dos estudos de estabilidade. Adaptado de [111].

Tipo de estudo	Condições de armazenamento	Período mínimo coberto pelos dados de submissão (meses)
Tempo real	25 ± 2 °C / 60 ± 5 % HR	12
	30 ± 2 °C / 65 ± 5 % HR	
Intermédio	30 ± 2 °C / 60 ± 5 % HR	6
Acelerado	40 ± 2 °C / 75 ± 5 % HR	6

Procedimento experimental:

Antes de se proceder aos testes de estabilidade em câmaras com temperatura e humidade relativa controladas, estudou-se a compatibilidade/incompatibilidade dos cocristais e dos compostos puros com alguns excipientes de uso comum em formulações farmacêuticas. Para realizar este estudo procedeu-se à preparação de misturas de cocrystal com os excipientes selecionados, em diferentes proporções, por moagem num almofariz e posterior análise por DSC.

Para realizar os testes de estabilidade selecionaram-se os excipientes mais promissores e prepararam-se misturas destes com o cocrystal na proporção de 50 %. Posteriormente, aproximadamente 20 mg de cada mistura e apenas do cocrystal foram transferidas para cápsulas gelatinosas número 5. Foram também preparadas cápsulas com cada um dos compostos puros.

Todas as cápsulas foram colocadas numa câmara de estabilidade a 40 °C / 75 % HR durante 1,5 (compostos puros), 2 (sistema LAM-ESM 1:1) e 3 meses (sistema DIF-ISO 1:1). De modo a seguir a evolução de cada sistema realizaram-se análises de XRPD e de DSC a cada 15 dias.

Capítulo 3

Resultados e Discussão

Capítulo 3

Resultados e Discussão

3.1 Investigação da forma sólida dos compostos de partida

O diflunisal, a lamotrigina, a isoniazida e a etossuximida foram investigados individualmente nas condições experimentais utilizadas para o *screening* de cocristais. Todos os compostos foram submetidos a moagem assistida por líquido, LAG, com 10 µL de etanol e com uma frequência de 15 Hz durante um período de 30 minutos. A lamotrigina e a etossuximida foram ainda estudadas após moagem a seco, NG, 15 Hz, 30 minutos. Estes dados são essenciais para a interpretação dos resultados do *screening* de cocristais.

3.1.1 Diflunisal

Da análise dos difratogramas apresentados na Figura 8, é possível verificar que há alteração na estrutura do diflunisal aquando da moagem assistida por etanol. Comparando os difratogramas obtidos com os simulados a partir dos ficheiros CIF depositados na CCDC conclui-se que a forma comercial do DIF corresponde à forma polimórfica I e que, após a moagem assistida por etanol a forma I transforma-se na forma III.

A Figura 9 mostra a associação do diflunisal em cada uma destas duas formas polimórficas, forma I e forma III.

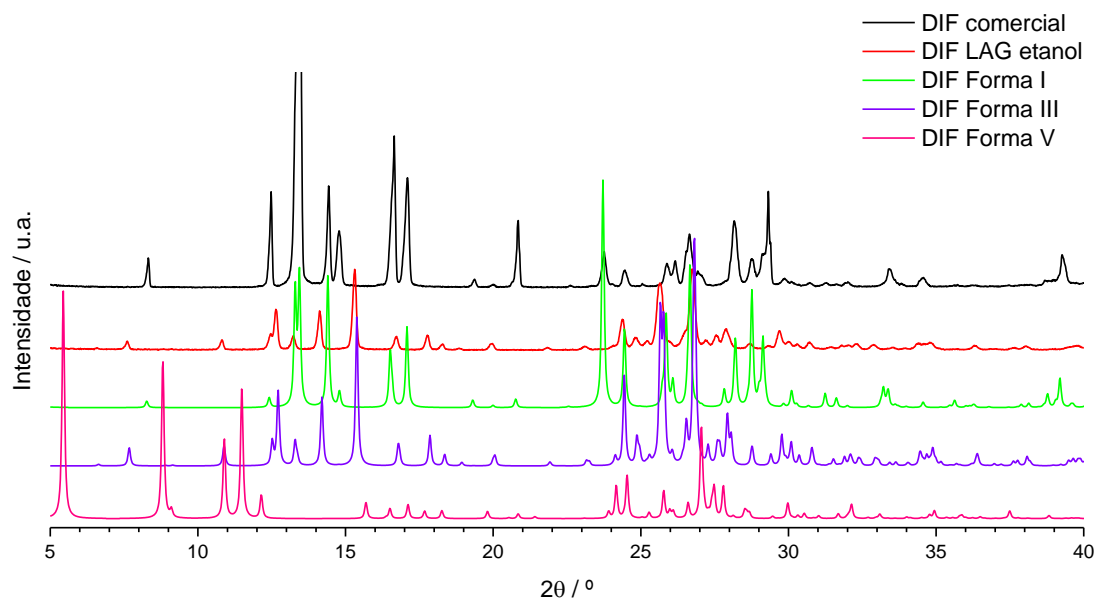


Figura 8. Difratogramas de raios-X de pó do DIF comercial, submetido a LAG e das formas I, III e V obtidos por simulação a partir dos ficheiros CIF depositados na CCDC com os números 194453 [35], 194456 [35] e 1151637 [36], respetivamente.

Forma I

Triclínico

$a = 3,800(5) \text{ \AA}$

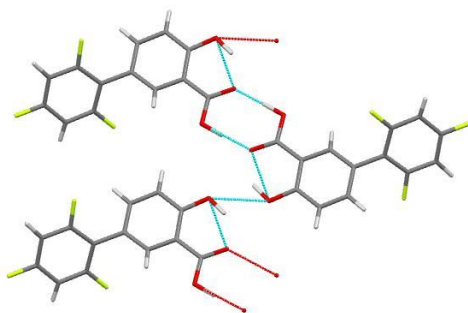
$b = 6,770(4) \text{ \AA}$

$c = 21,650(3) \text{ \AA}$

$\alpha = 82,30(2)^\circ$

$\beta = 83,990(14)^\circ$

$\gamma = 81,980(17)^\circ$



(a)

Forma III

Ortorrômbico

$a = 39,7001 \text{ \AA}$

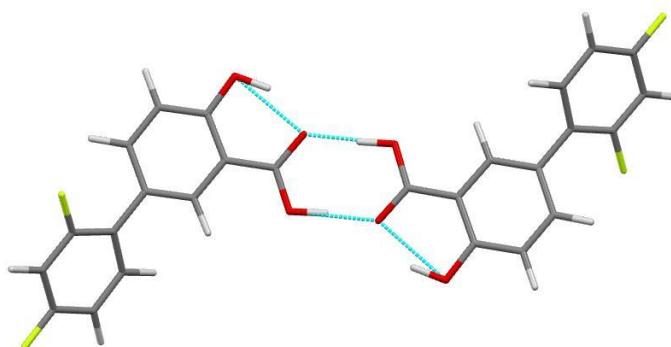
$b = 14,1292 \text{ \AA}$

$c = 3,8356 \text{ \AA}$

$\alpha = 90,0^\circ$

$\beta = 90,0^\circ$

$\gamma = 90,0^\circ$



(b)

Figura 9. Interações intermoleculares em polimorfos do diflunisal: (a) forma I; (b) forma III [35].

Na Figura 10 apresentam-se exemplos de curvas de DSC de aquecimento das duas amostras. O DIF sujeito a moagem assistida por etanol, polimorfo III, e a amostra comercial, polimorfo I, fundem a $T_{fus} = (210,9 \pm 0,2) \text{ } ^\circ\text{C}$ e $T_{fus} = (211,3 \pm 0,4) \text{ } ^\circ\text{C}$ e apresentam entalpias de fusão de $\Delta_{fus}H = (35,8 \pm 0,2) \text{ kJ mol}^{-1}$ e $\Delta_{fus}H = (36,1 \pm 0,7) \text{ kJ mol}^{-1}$, respetivamente, valores que são indistinguíveis. Não sendo expectável esta identidade de propriedades termodinâmicas de fusão para duas formas polimórficas distintas, foi analisada a amostra obtida por LAG, após ser submetida ao ciclo de aquecimento/arrefecimento entre $25 \text{ } ^\circ\text{C} - 200 \text{ } ^\circ\text{C} - 25 \text{ } ^\circ\text{C}$.

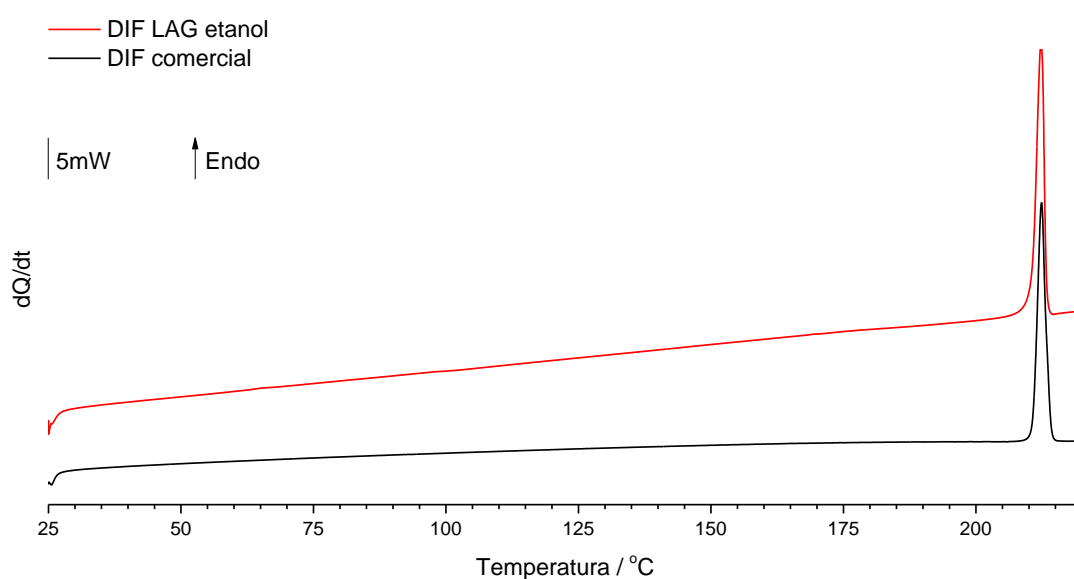


Figura 10. Curvas de DSC de aquecimento do DIF submetido a LAG e da amostra comercial ($\beta = 10 \text{ } ^\circ\text{C/min.}$).

Os espectros de infravermelho do polimorfo I, do polimorfo III e da amostra obtida por aquecimento da forma III até $200 \text{ } ^\circ\text{C}$, portanto antes da fusão, seguida de arrefecimento, são mostrados na Figura 11.

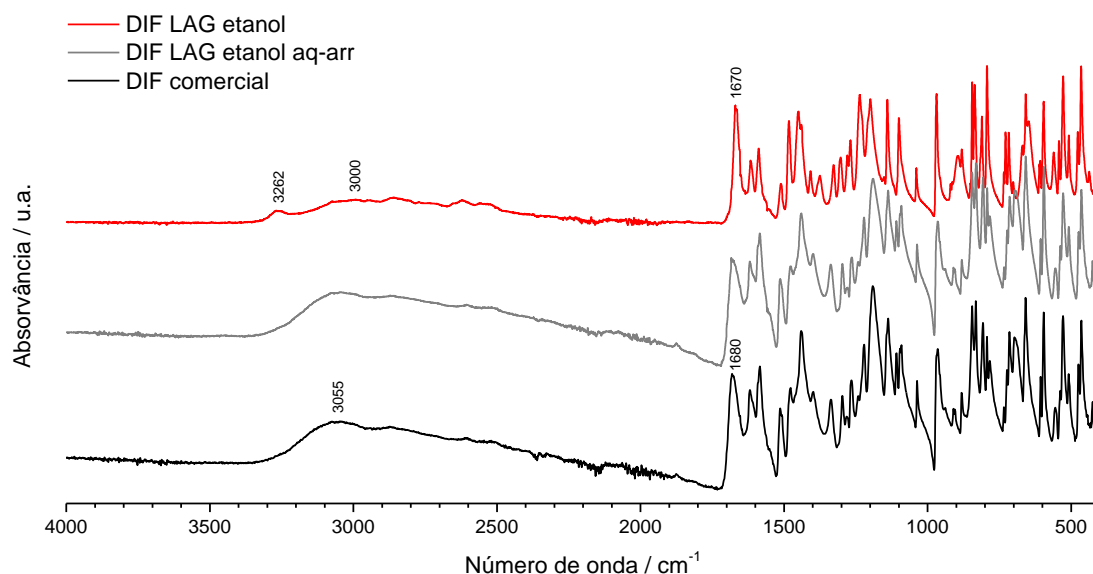


Figura 11. Espectros de infravermelho do DIF submetido a LAG, aquecido até 200 °C e arrefecido, e comercial.

Da comparação dos espectros de IV, é possível observar a alteração de estrutura cristalina do DIF quando sujeito a moagem assistida por etanol, resultando, por exemplo, no deslocamento da banda a 1680 cm^{-1} no polimorfo I, correspondente à elongação do grupo carbonilo, para 1670 cm^{-1} , observável na forma III de DIF. A elongação da ligação OH desloca-se de 3055 cm^{-1} (forma I) para 3000 cm^{-1} (forma III). O espectro de infravermelho da amostra obtida por LAG após o ciclo de aquecimento/arrefecimento é idêntico ao do polimorfo I, o que indica que no processo o polimorfo III se transforma naquela forma.

Conjugando os resultados retirados a partir dos espectros de IV e das curvas de DSC, pode concluir-se que a fusão que se observa no estudo por DSC é a fusão do polimorfo I, em ambos os casos.

3.1.2 Lamotrigina

Comparando os difratogramas, Figura 12, da LAM comercial com os obtidos após a aplicação de mecanoquímica, quer na ausência de solvente, quer por LAG, é possível concluir

que não há alteração da forma polimórfica, correspondendo esta à forma I descrita por Sridhar e Ravikumar [50].

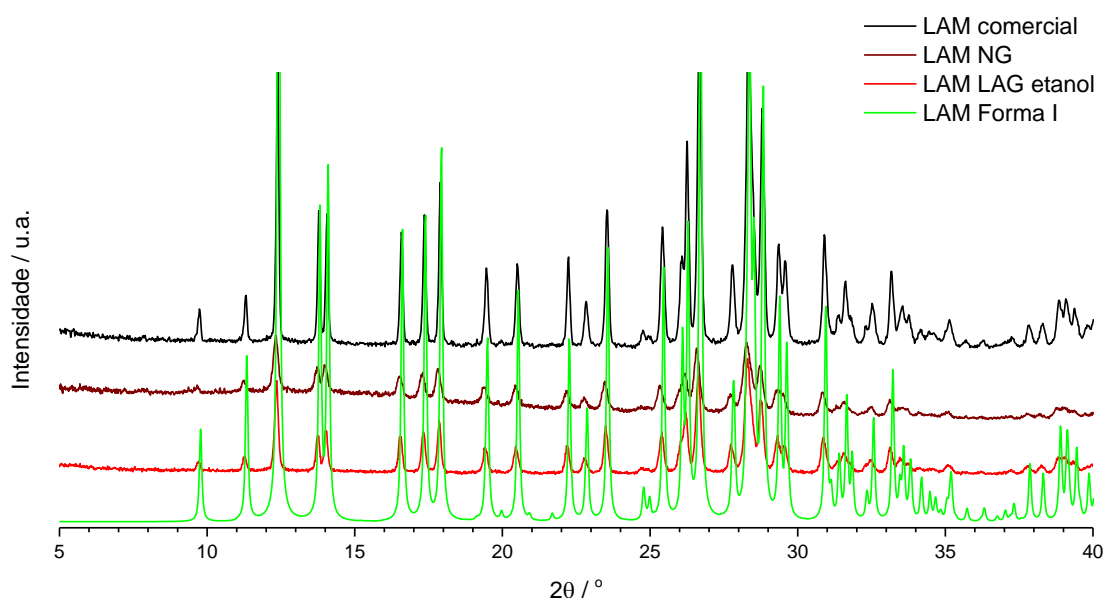


Figura 12. Difrátogramas de raios-X de pó da LAM comercial, submetido a NG e LAG e da forma I obtido por simulação a partir do ficheiro CIF depositado na CCDC com o número 749719 [50].

A mesma conclusão é obtida pela comparação dos respetivos espectros de infravermelho, Figura 13. As bandas mais características são a deformação do grupo NH_2 a 1620 cm^{-1} e a 1640 cm^{-1} , sendo a primeira também atribuída à elongação da ligação C-N. O grupo NH_2 apresenta duas elongações simétricas com máximo a 3208 cm^{-1} e a 3260 cm^{-1} e duas elongações assimétricas a 3312 cm^{-1} e a 3448 cm^{-1} . Estes valores são semelhantes e estão de acordo com o descrito na literatura [112].

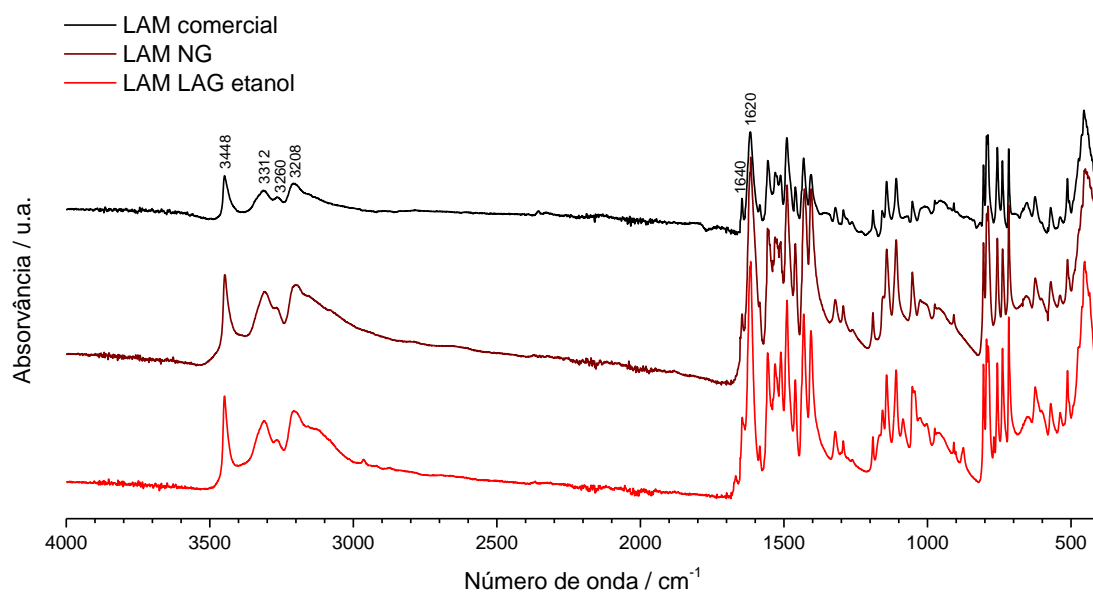


Figura 13. Espectros de infravermelho da LAM comercial e submetida a NG e LAG.

Como se esperaria, tanto as temperaturas como as entalpias de fusão da amostra da LAM comercial e das amostras submetidas a moagem, NG e LAG, são indistinguíveis, Figura 14. Os valores médios obtidos para a temperatura e a entalpia de fusão são $T_{\text{fus}} = (215,5 \pm 0,4)$ °C e $\Delta_{\text{fus}}H = (34,0 \pm 0,9)$ kJ mol⁻¹.

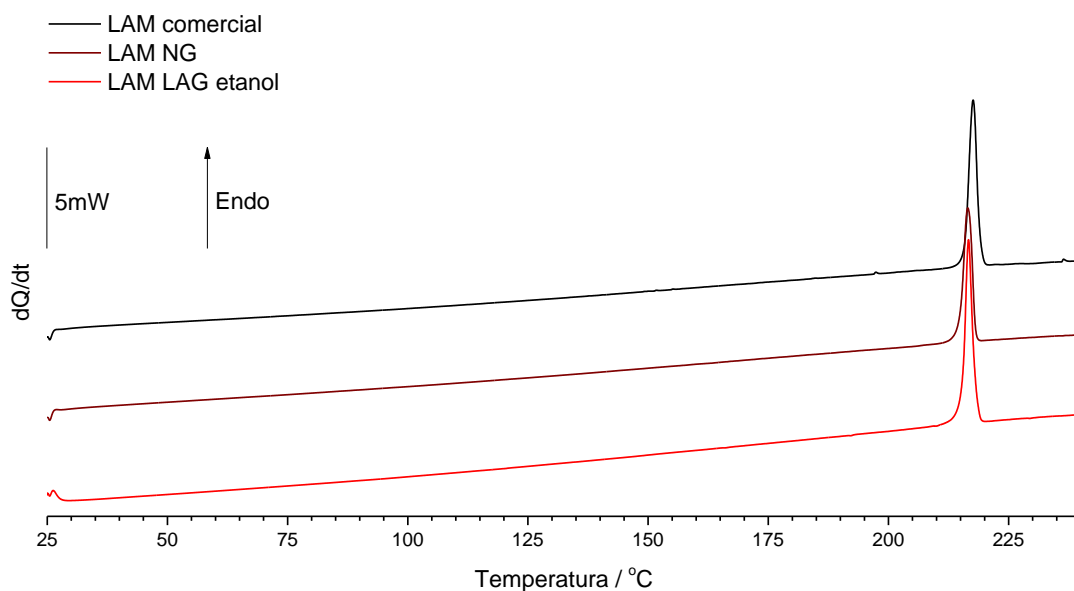


Figura 14. Curvas de DSC de aquecimento da LAM comercial e submetida a NG e LAG ($\beta = 10$ °C/min.).

Numa investigação anterior, António Évora e colaboradores concluíram que a utilização de NG não alterava a forma polimórfica da lamotrigina e obtiveram um solvato quando utilizaram LAG, assistida por etanol [59]. No entanto, os resultados obtidos neste estudo mostram que é possível obter a mesma forma cristalina, com ambas as condições de moagem.

3.1.3 Isoniazida

Na Figura 15 representam-se os difratogramas experimentais da isoniazida comercial e da amostra submetida a LAG (assistida por etanol) e os difratogramas simulados para os polimorfos da isoniazida cuja estrutura cristalina foi resolvida.

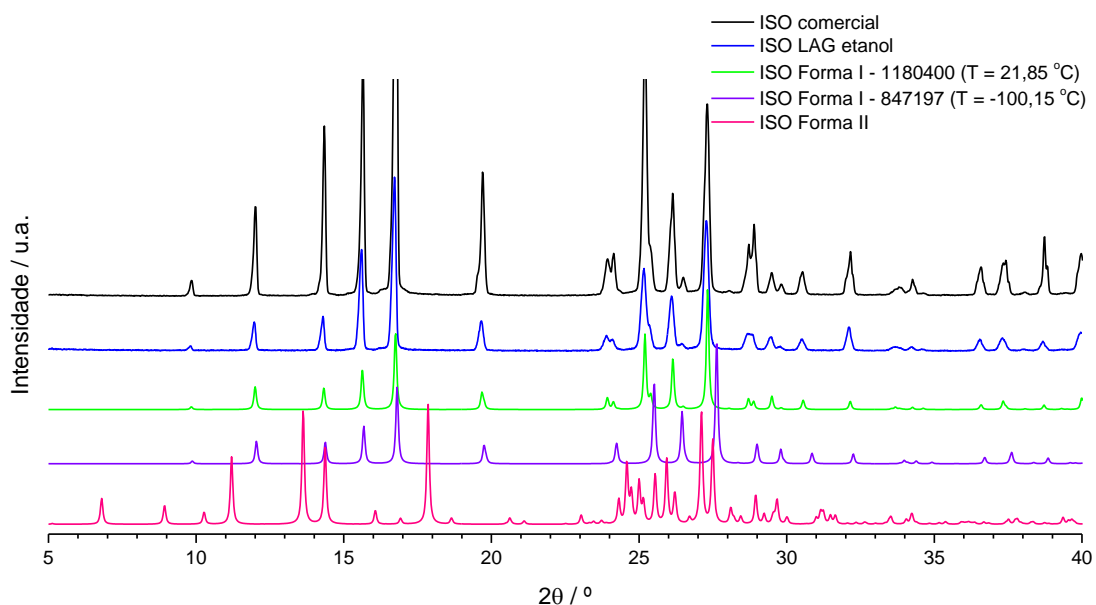


Figura 15. Difratogramas de raios-X de pó da ISO comercial, submetida a LAG e das formas I e II obtidos por simulação a partir dos ficheiros CIF depositados na CCDC com os números 1180400 [64], 847197 [66] e 1984160 [67], respetivamente.

Da análise dos difratogramas de XRPD, pode concluir-se que a estrutura da ISO comercial e submetida a LAG correspondem à forma I. As diferenças verificadas nos difratogramas da forma I devem-se à temperatura a que foi realizada a colheita de dados.

A Figura 16 reúne os espectros de IV da amostra comercial e da amostra submetida a LAG que são, como se esperava, idênticas, uma vez que nas condições desta investigação, a moagem não produz alterações na estrutura da ISO.

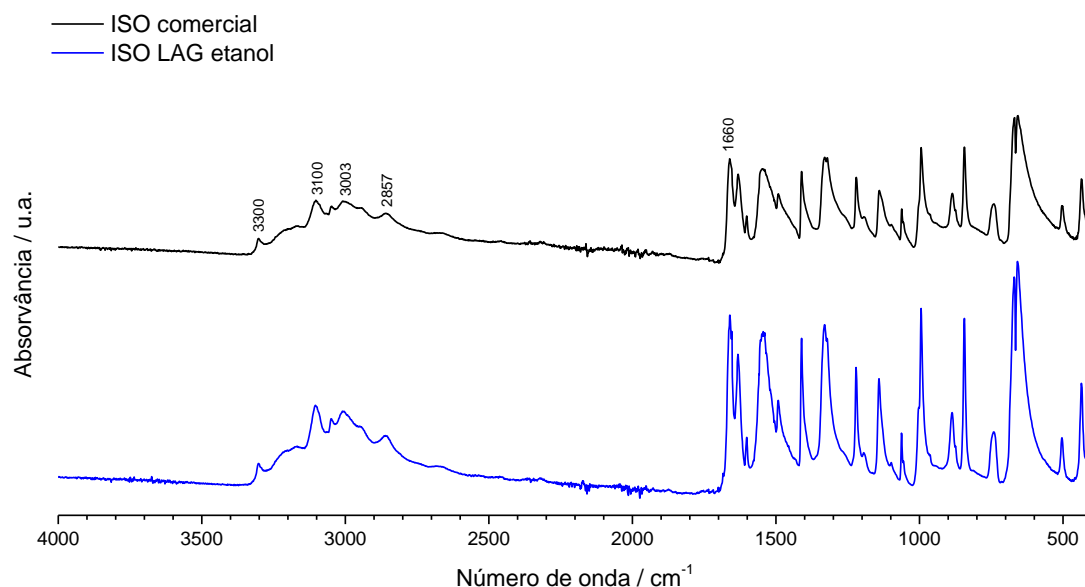


Figura 16. Espectros de infravermelho da ISO comercial e da amostra submetida a LAG.

Assim, mostra um máximo a 1660 cm^{-1} que corresponde à elongação do grupo carbonilo. A 2857 cm^{-1} , 3003 cm^{-1} e 3100 cm^{-1} surgem as bandas da elongação simétrica da ligação NH_2 e da ligação H-N-N. A elongação antissimétrica da ligação NH_2 tem o seu máximo a 3300 cm^{-1} . Estes valores são semelhantes ao descrito na literatura [113].

A partir do estudo por DSC, exemplificado na Figura 17, foi obtido para a temperatura de fusão da ISO, polimorfo I, o valor de $T_{\text{fus}} = (170,4 \pm 0,3)\text{ }^\circ\text{C}$ e a entalpia de fusão de $\Delta_{\text{fus}}H = (31,8 \pm 0,3)\text{ kJ mol}^{-1}$.

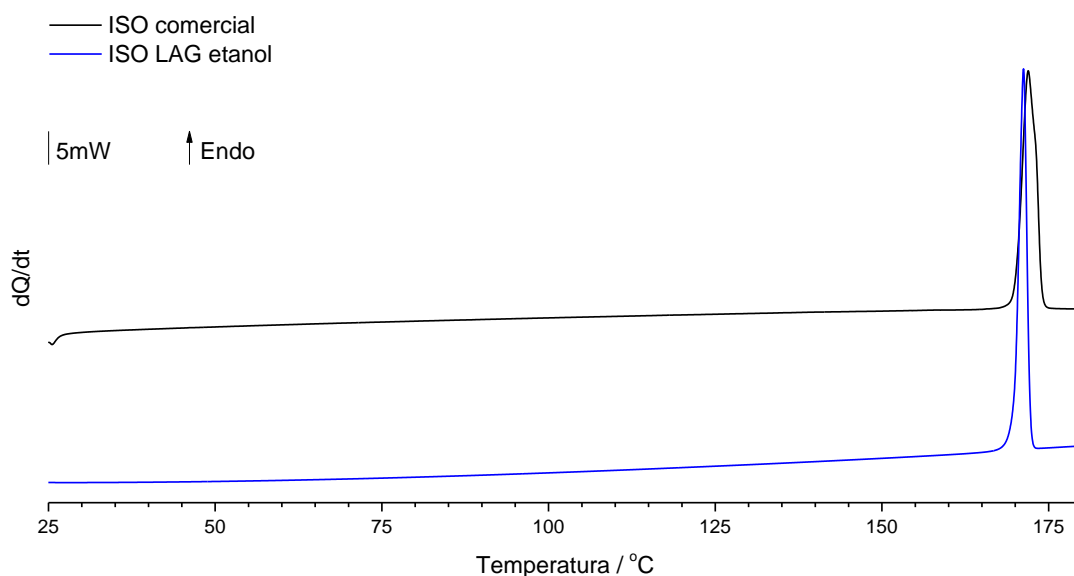


Figura 17. Curvas de DSC de aquecimento da amostra comercial e da amostra submetida a LAG da ISO ($\beta = 10$ °C/min.).

3.1.4 Etossuximida

Ao proceder-se à moagem da etossuximida comercial, nas mesmas condições dos compostos anteriores, 15 Hz e 30 min., é possível observar que esta funde dentro do vaso de moagem. Este acontecimento deve-se ao facto de a temperatura de fusão, entre 42 e 44 °C, ser facilmente alcançada durante o processo de moagem. Deste modo, para que fosse possível a investigação e o efeito da moagem, com e sem solvente, na estrutura da ESM, foi necessário colocar os vasos de moagem no congelador, a $T \approx -20$ °C, como referido no procedimento experimental do ponto 2.2.1.1 deste trabalho.

Ao contrário do que se verifica para os restantes compostos em estudo, a ESM não possui nenhuma estrutura cristalina depositada na CCDC. No entanto, no decorrer desta investigação foi possível obter dois polimorfos deste composto.

Na Figura 18 apresentam-se difratogramas de raios-X de pó de amostras da etossuximida obtidas em diferentes condições experimentais.

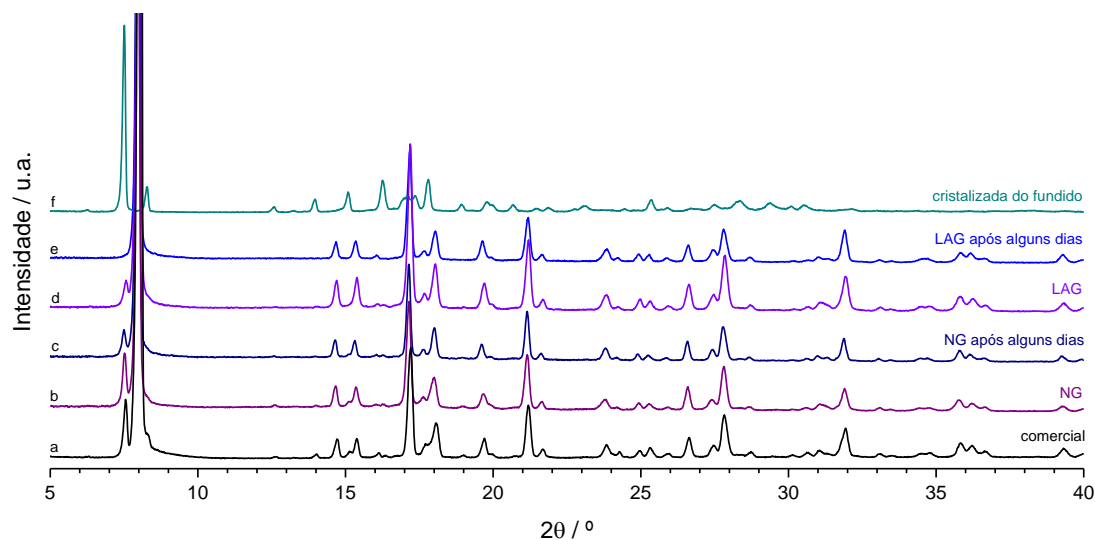


Figura 18. Difratogramas de raios-X de pó de amostras da ESM: (a) comercial; (b) submetida a NG e XRPD realizado de imediato; (c) submetida a NG e XRPD realizado após alguns dias; (d) submetida a LAG e XRPD realizado de imediato; (e) submetida a LAG e XRPD realizado após alguns dias (polimorfo II); (f) cristalizada do fundido (polimorfo I).

É de realçar que dois desses difratogramas são claramente distintos entre si: o obtido para a amostra cristalizada do fundido, que designaremos por polimorfo I, e o que obtivemos para uma amostra submetida a LAG, com etanol, a qual foi analisada 12 dias após preparação, polimorfo II.

O difratograma do polimorfo I está em concordância, na gama de valores de 2θ para a qual é possível fazer a comparação, com o da fase Cr_1 reportada por Osiecka *et al.* [93].

As reflexões mais intensas do polimorfo I surgem a $2\theta = 7,5^\circ; 8,3^\circ; 14,0^\circ; 15,1^\circ; 16,2^\circ; 17,8^\circ$ e $25,4^\circ$. Por outro lado, no polimorfo II estas surgem a $8,0^\circ; 17,2^\circ; 21,2^\circ; 27,8^\circ$ e $31,9^\circ$. É ainda possível concluir que tanto a forma comercial da ESM, como a generalidade das amostras submetidas a moagem são uma mistura de ambas as formas polimórficas, com predominância da forma II. As reflexões do polimorfo I a $2\theta = 7,5^\circ; 8,3^\circ; 15,1^\circ$ e $17,8^\circ$ são claramente visíveis na forma comercial e são menos intensos após moagem sem solvente.

Curvas de DSC ilustrativas do comportamento em ciclos de aquecimento/arrefecimento, obtidas para duas amostras distintas são apresentadas nas Figura 19 e Figura 20.

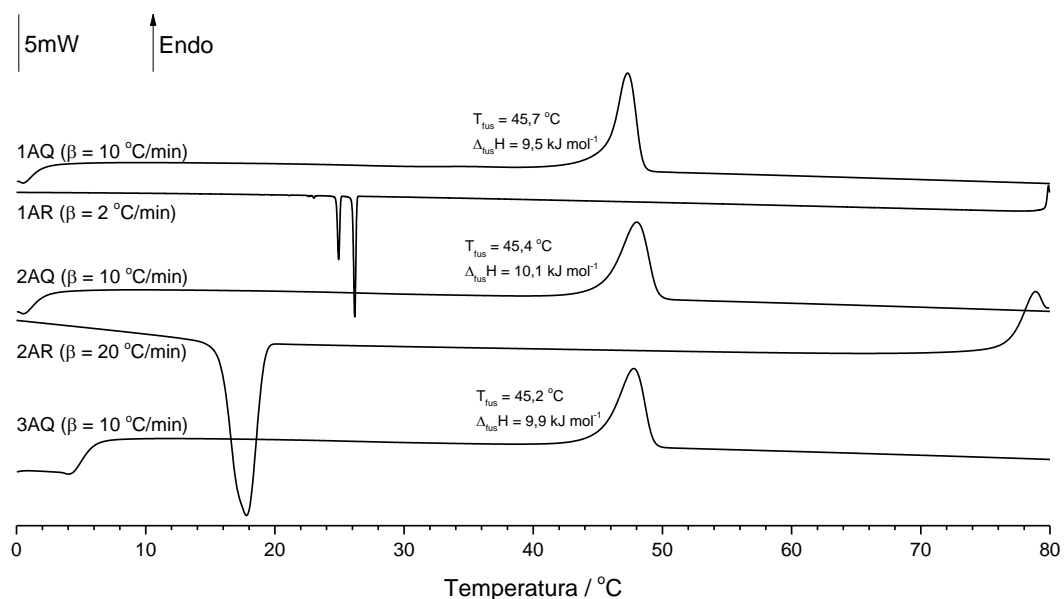


Figura 19. Curvas de DSC de aquecimento/arrefecimento de uma amostra de ESM submetida a NG.

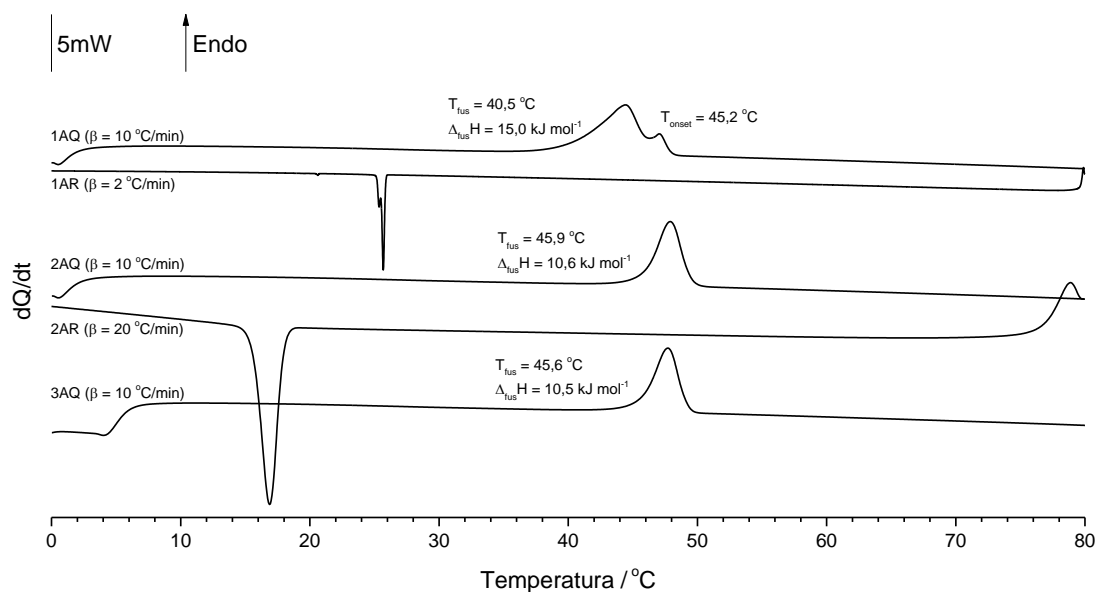


Figura 20. Curvas de DSC de aquecimento/arrefecimento de uma amostra de ESM submetida a LAG.

A amostra da Figura 19, uma das amostras preparadas por NG, no 1º aquecimento apresenta apenas a fusão do polimorfo I. No caso da Figura 20, são claramente visíveis 2 picos endotérmicos, atribuíveis à fusão de cada uma das formas polimórficas. Por cristalização do

fundido, por arrefecimento até 0 °C, independentemente da velocidade de arrefecimento, obteve-se sempre o polimorfo I, $T_{fus} = (45,5 \pm 0,3) \text{ } ^\circ\text{C}$ e $\Delta_{fus}H = (10,3 \pm 0,4) \text{ kJ mol}^{-1}$.

A amostra obtida por LAG, apresentada na Figura 20, é a mesma que, após 12 dias à temperatura ambiente, deu origem ao difratograma e mostrado na Figura 18, polimorfo II.

Na Figura 21, mostra-se a curva de DSC de aquecimento dessa amostra, imediatamente após preparação, curva a, e recolhida alguns dias depois, curva a'. Obtém-se, nesta última curva, um pico único com entalpia 16,6 kJ mol⁻¹ que é atribuível à fusão do polimorfo II. Uma outra amostra preparada por LAG deu lugar à curva b, onde é visível alguma contaminação com o polimorfo I. O valor de entalpia de fusão registado é também superior ao da forma I.

Por sua vez, as curvas c e c', correspondem a uma amostra obtida por NG analisada de imediato e após alguns dias à temperatura ambiente (XRPD na Figura 18). É evidente a evolução do polimorfo I para o polimorfo II. Podemos concluir que a forma II é termodinamicamente mais estável que a I, à temperatura ambiente, e, atendendo à relação de temperatura e entalpia de fusão, de acordo com as regras de Burger-Ramberger [114], o sistema será enantiotrópico.

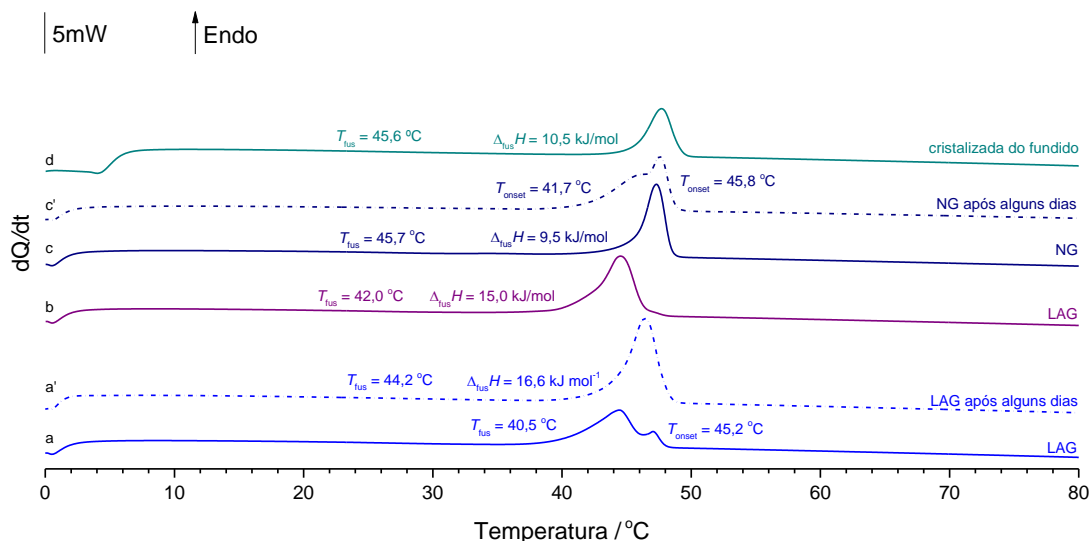


Figura 21. Curvas de DSC de aquecimento de amostras da ESM: (a) submetida a LAG e DSC realizado de imediato; (a') submetida a LAG e DSC realizado após alguns dias; (b) outra amostra submetida a LAG e DSC realizado de imediato; (c) submetida a NG e DSC realizado de imediato; (c') submetida a NG e DSC realizado após alguns dias; (d) cristalizada do fundido.

Os espectros de infravermelho recolhidos para as amostras de etossuximida encontram-se representados na Figura 22. Apesar de a análise dos difratogramas de raios-X de pó confirmar, na amostra comercial e na generalidade das obtidas por NG ou LAG, a existência de dois polimorfos da ESM, com predominância para a forma II, esta diferença não é observável no espectro de IV. No entanto, a amostra cristalizada do fundido apresenta diferenças no número de onda de algumas das bandas mais características, como se esperava.

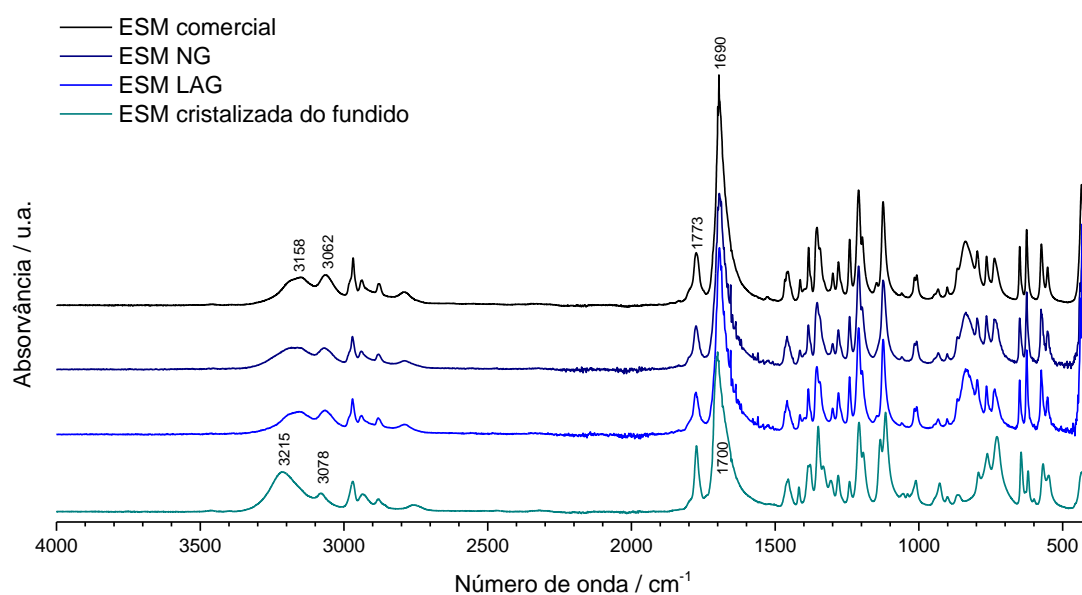


Figura 22. Espectros de infravermelho da ESM comercial e de amostras submetidas a NG, LAG e cristalizada após ser submetida a um ciclo de aquecimento/arrefecimento no DSC.

As bandas observadas a 1700 cm^{-1} e a 1773 cm^{-1} correspondem à elongação das ligações C=O, sendo que a primeira aparece desviada para 1690 cm^{-1} nos espectros das amostras de ESM comercial e submetida a NG e LAG. É também possível observar as bandas da elongação da ligação NH com máximo a 3078 e 3215 cm^{-1} no espectro da ESM cristalizada do fundido e a 3062 e 3158 cm^{-1} nos restantes, respetivamente. Os valores obtidos para as bandas da ESM cristalizada do fundido são semelhantes ao descrito na literatura [115].

3.2 Investigação dos sistemas de diflunisal-isoniazida e diflunisal-etossuximida

Como referido no capítulo 1 deste trabalho, o diflunisal é um anti-inflamatório não esteróide com larga aplicação no tratamento da dor. A sua associação com a isoniazida reveste-se de particular interesse, numa perspetiva de terapia dual, devido aos efeitos secundários do tratamento com o tuberculostático. A sua associação com a etossuximida, um anticonvulsivante, é também de interesse dada a prevalência de dor como patologia.

Assim, foi realizada a investigação da associação deste ativo com a isoniazida e com a etossuximida em estruturas supramoleculares do tipo cocrystal.

3.2.1 Diflunisal-Isoniazida

3.2.1.1 Síntese de cocrystal: via LAG, mecanoquímica assistida por etanol

O estudo da interação do diflunisal com a isoniazida em diversas proporções, nomeadamente, 2:1, 1:1 e 1:2, através da aplicação de LAG já tinha sido realizado. Esta investigação revelou a existência de um cocrystal na proporção de 1:1, observando-se um excesso de diflunisal e de isoniazida nas proporções de 2:1 e 1:2, respetivamente. Estes resultados foram confirmados com recurso a ATR-FTIR, a XRPD e a DSC [116].

A síntese do cocrystal DIF-ISO 1:1 foi realizada no trabalho que agora se apresenta por mecanoquímica, LAG, com assistência de etanol, a 15 Hz e por um período de 30 minutos.

Os espetros de IV obtidos para a mistura de DIF-ISO 1:1 e para os componentes puros estão representados na Figura 23.

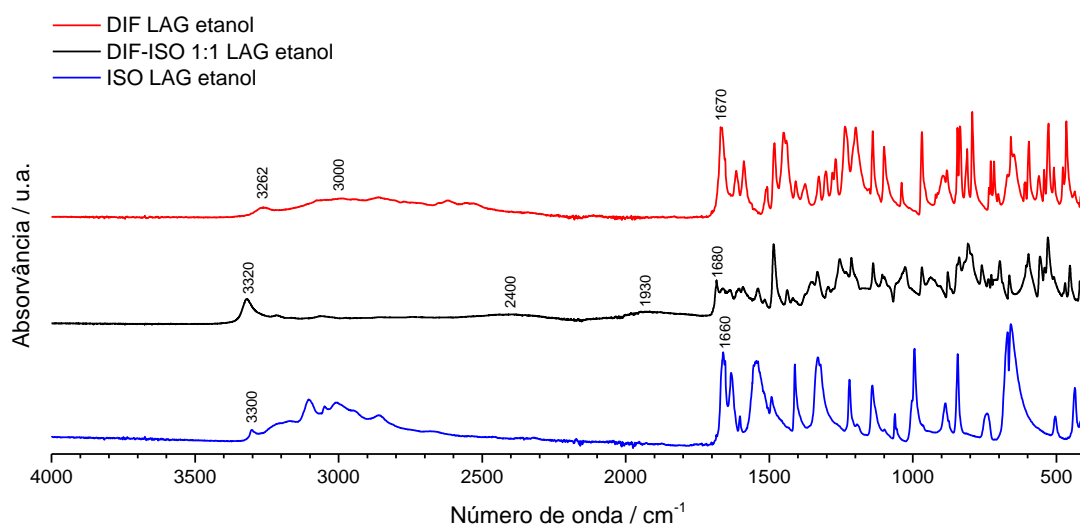


Figura 23. Espectros de infravermelho da mistura DIF-ISO 1:1 e dos compostos de partida, todos submetidos a LAG.

O espectro de IV obtido para a mistura de diflunisal com isoniazida na proporção de 1:1 está em concordância com o obtido na investigação anterior, concluindo-se, assim, a reprodutibilidade deste método na obtenção de cocrystal. O espectro desta mistura mostra o aparecimento de duas bandas por volta dos 1930 e dos 2400 cm^{-1} , atribuíveis à formação de pontes de hidrogénio ácido carboxílico-azoto aromático [117]. Para além disto, observam-se desvios nos sinais da elongação do grupo carbonilo, cujo máximo surge a 1670 cm^{-1} e a 1660 cm^{-1} para o DIF e para a ISO, respetivamente, e passa para 1680 cm^{-1} e da elongação da ligação N-H, de 3300 para 3320 cm^{-1} [116].

De modo a proceder-se a uma caracterização mais completa das misturas, estas foram analisadas por XRPD. Os difratogramas obtidos para o DIF, para a ISO e para as misturas, Figura 24, corroboram que na proporção de 1:1 se obtém um novo arranjo cristalino, dada a presença de reflexões que não existem nos difratogramas dos compostos puros [116].

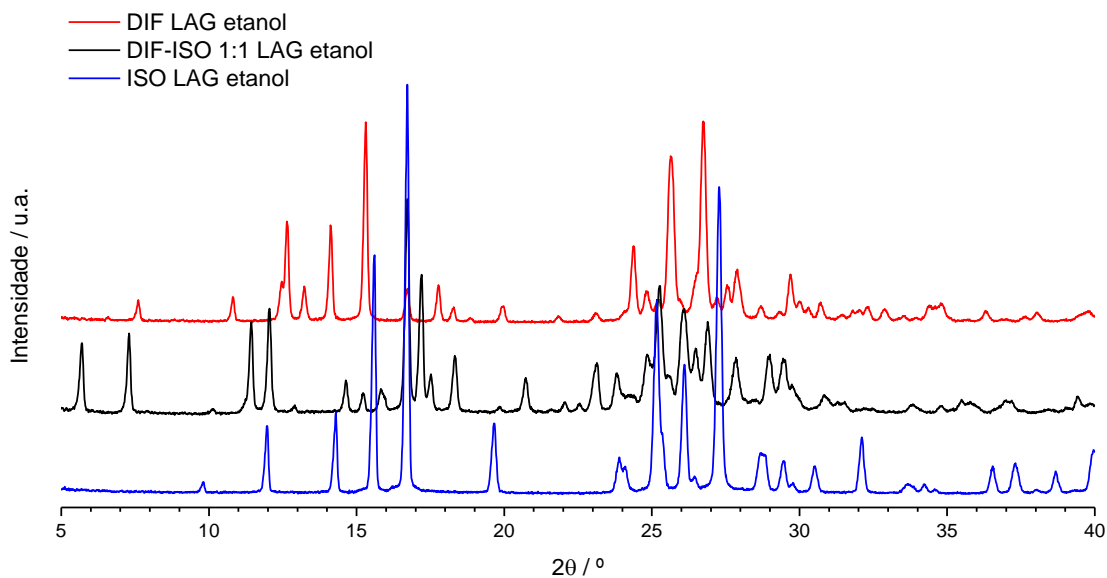


Figura 24. Difratoograma de raios-X de pó da mistura de DIF-ISO 1:1 e dos compostos de partida, todos submetidos a LAG.

Foi também realizado o estudo dos vários sólidos por DSC, Figura 25. Os parâmetros termodinâmicos obtidos para cada um dos sólidos encontram-se resumidos na Tabela 4 e concordam com os resultados obtidos anteriormente.

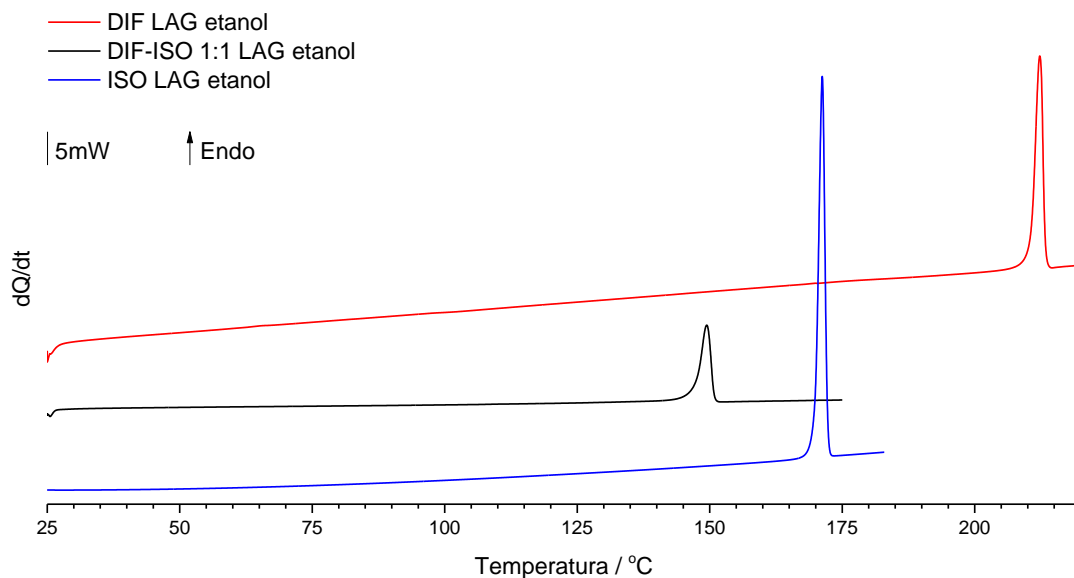


Figura 25. Curvas de DSC de aquecimento da mistura DIF-ISO 1:1 e dos compostos de partida, submetidos a LAG ($\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C/min.}$).

Tabela 4. Parâmetros termodinâmicos obtidos a partir dos termogramas de DSC para o diflunisal, a isoniazida e para o cocrystal DIF-ISO 1:1.

	$T_{fus} / ^\circ\text{C}$	$\Delta_{fus}H / \text{kJ mol}^{-1}$
DIF LAG etanol	210,9 ± 0,2	35,8 ± 0,2
DIF-ISO 1:1 LAG etanol	146,7 ± 0,8	46,9 ± 1,8
ISO LAG etanol	170,4 ± 0,3	31,8 ± 0,3

Analisando os termogramas de DSC dos sólidos é possível verificar que a mistura DIF-ISO 1:1 possui um único pico endotérmico de fusão a uma temperatura mais baixa que a dos compostos individuais, mas mais alta que a do início da fusão das restantes misturas estudadas [116].

3.2.1.2 Transposição de escala: via cristalização em solução

Da necessidade de obter maiores quantidades de cocrystal para a realização dos testes de estabilidade recorreu-se à cristalização em solução. O primeiro passo para a realização da cristalização em solução é a escolha do solvente. Será de todo o interesse utilizar um solvente no qual o sistema tenha comportamento congruente. Deste modo, com recurso ao programa *COSMOquick* [118] simulou-se o diagrama ternário, a $T \approx 25^\circ\text{C}$, para o sistema constituído pelos componentes do cocrystal e o solvente que, neste caso, foi o etanol, Figura 26. Para simular este diagrama utilizaram-se as temperaturas e entalpias de fusão do DIF e da ISO, retirados das curvas de DSC, e as suas solubilidades em etanol, $x_{DIF} = 0,0191$ [119] e $x_{ISO} = 0,004647$ [120].

O diagrama ternário simulado mostrou que a dissolução é congruente a esta temperatura. Preparou-se uma solução equimolar em etanol, como indicado na secção 2.2.1.2, e a sobressaturação foi conseguida por abaixamento de temperatura até $T \approx 7^\circ\text{C}$. Naturalmente que a natureza do diagrama pode alterar-se com a mudança de temperatura, se a solubilidade de cada um dos componentes for alterada de modo diferente pelo abaixamento de temperatura. Tal não se verificou, uma vez que foi possível obter o cocrystal puro, como se comprova pelos resultados apresentados nas Figuras 27 a 29. Foi possível obter 530 mg de cocrystal, num rendimento de 66,3 %.

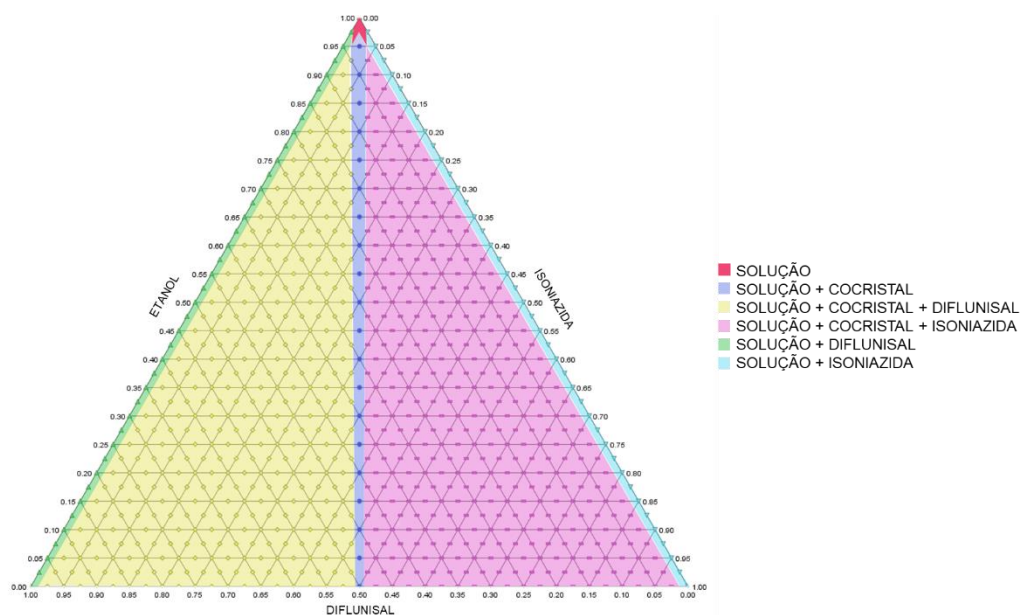


Figura 26. Diagrama ternário simulado, a 25 °C, para o sistema etanol+diflunisal+isoniazida, com formação de um cocristal 1:1.

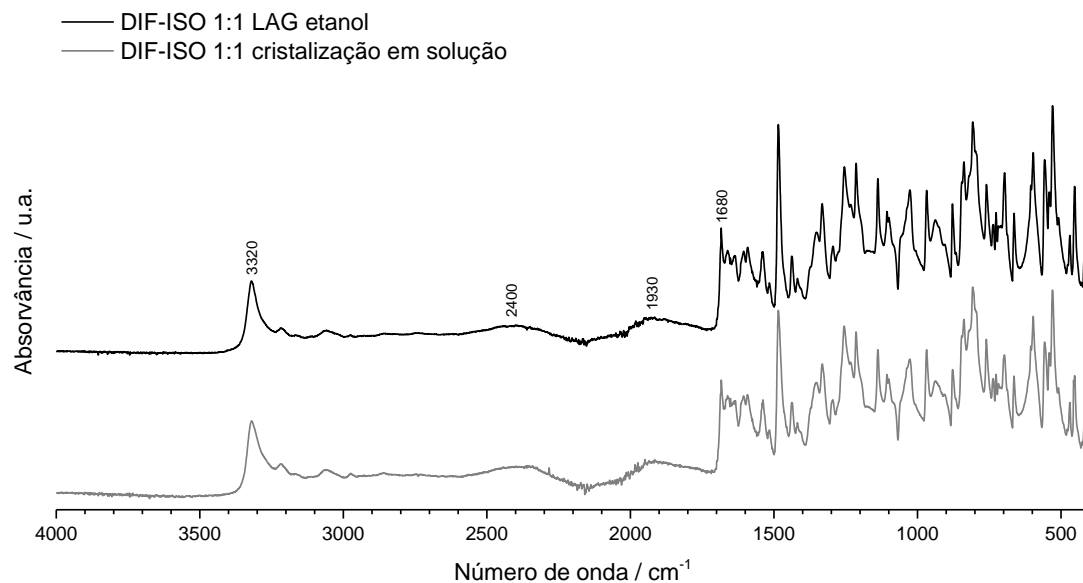


Figura 27. Espectros de infravermelho da mistura DIF-ISO 1:1 submetida a LAG e obtida por cristalização em solução.

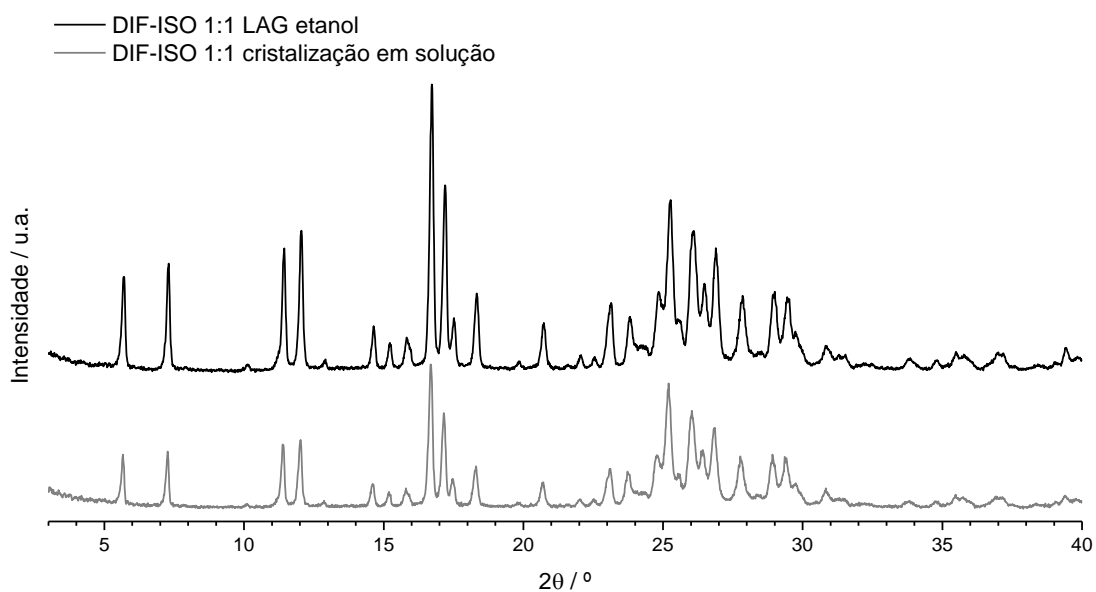


Figura 28. Difratoograma de raios-X de pó da mistura de DIF-ISO 1:1 submetida a LAG e obtida por cristalização em solução.

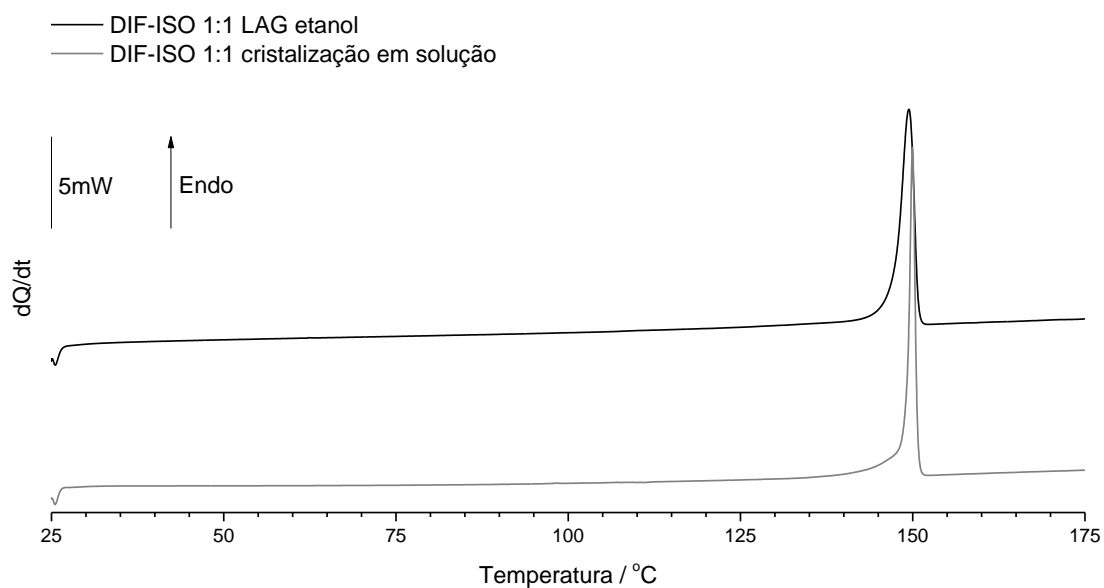


Figura 29. Curva de DSC de aquecimento da mistura DIF-ISO 1:1 submetida a LAG e obtida por cristalização em solução ($\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C}/\text{min.}$).

Da análise dos resultados obtidos é possível concluir que a amostra obtida por cristalização em solução dá origem a resultados semelhantes à amostra obtida por moagem em etanol. Esta apresenta uma $T_{fus} = (147,1 \pm 0,5) \text{ }^\circ\text{C}$ e uma $\Delta_{fus}H = (47,0 \pm 2,4) \text{ kJ mol}^{-1}$.

3.2.2 Diflunisal-Etosuximida

Iniciou-se a investigação do sistema diflunisal-etossuximida pela preparação de uma mistura equimolar por NG a 15 Hz, durante 30 minutos. Foram tomadas as precauções referidas na secção 2.2.1.1 para evitar a fusão da ESM no processo de moagem.

O difratograma da mistura obtida está representado na Figura 30, sendo claro que este é uma mistura de diflunisal, forma I, com os polimorfos I (maioritariamente) e II de etossuximida.

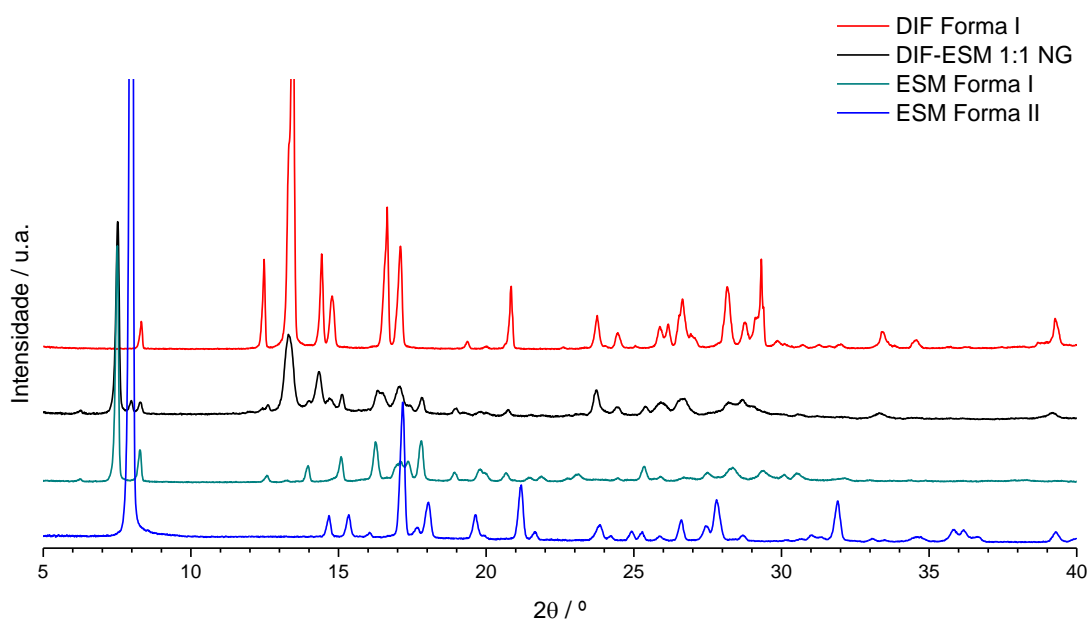


Figura 30. Difratograma de raios-X de pó da mistura de DIF-ESM 1:1 submetida a NG, do DIF e dos polimorfos I e II da ESM.

Dado que não foi possível a associação numa nova estrutura supramolecular, investigou-se a natureza do diagrama de fases binário sólido-líquido com o objetivo de identificar a

composição do eutético, no caso do diagrama ser desta natureza. Estas misturas são também de interesse em aplicação farmacêutica [121, 122].

As curvas de DSC obtidas para as misturas investigadas, 1:1; 1:2 e 1:3 (DIF:ESM), são apresentadas na Figura 31 e são compatíveis com o esperado para um diagrama com eutético simples. Os espectros de infravermelho confirmam-nas como misturas de DIF, forma I, e ESM, forma II, Figura 32.

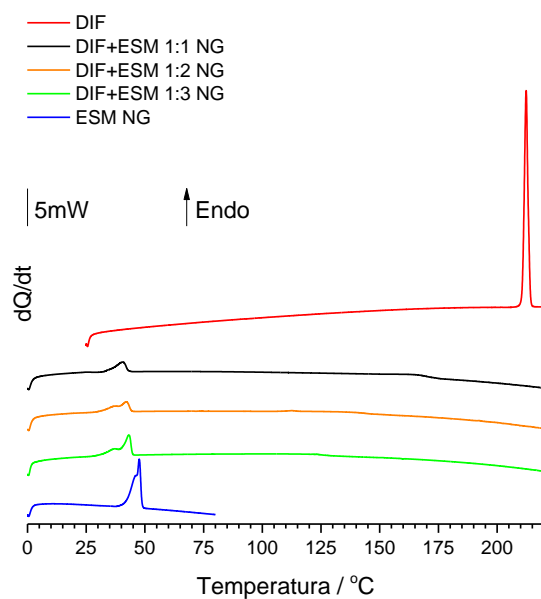


Figura 31. Curvas de DSC de aquecimento da mistura DIF-ESM em todas as proporções estudadas (1:1; 1:2 e 1:3), submetidas a NG, e dos compostos de partida ($\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C}/\text{min.}$).

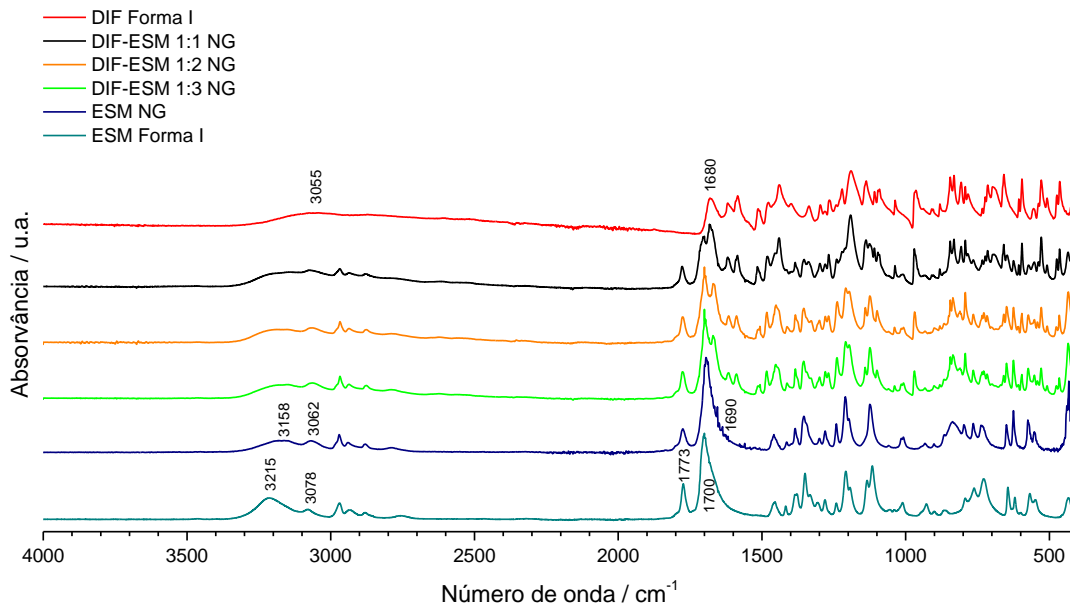


Figura 32. Espectros de infravermelho da mistura DIF-ESM em todas as proporções estudadas (1:1; 1:2 e 1:3) e da ESM, submetidas a NG, e do polímorfo I do DIF e da ESM.

Admitindo mistura ideal em fase líquida e imiscibilidade total na fase sólida, o *liquidus* pode ser estimado pela Equação 2,

$$\frac{1}{T_{fus}} = \frac{1}{T_{fus}^*} - \frac{R \ln x_N}{\Delta_{fus} H_m^*} \quad (2)$$

onde T_{fus} (K) representa a temperatura de fusão, T_{fus}^* (K) a temperatura de fusão obtida experimentalmente para o composto puro, R ($J K^{-1} mol^{-1}$) a constante dos gases ideais, x_N a fração molar do componente puro e $\Delta_{fus} H_m^*$ ($J mol^{-1}$) a entalpia de fusão obtida experimentalmente para o composto puro.

A estimativa do *liquidus* e os valores experimentais obtidos para o *liquidus* e o *solidus* são apresentados na Figura 33. A composição da mistura eutética prevista e a que é obtida experimentalmente não se afastam muito. Uma vez que a mistura eutética seria, maioritariamente, composta por etossuximida ela não é útil, pelo que não foram realizados estudos adicionais sobre este sistema.

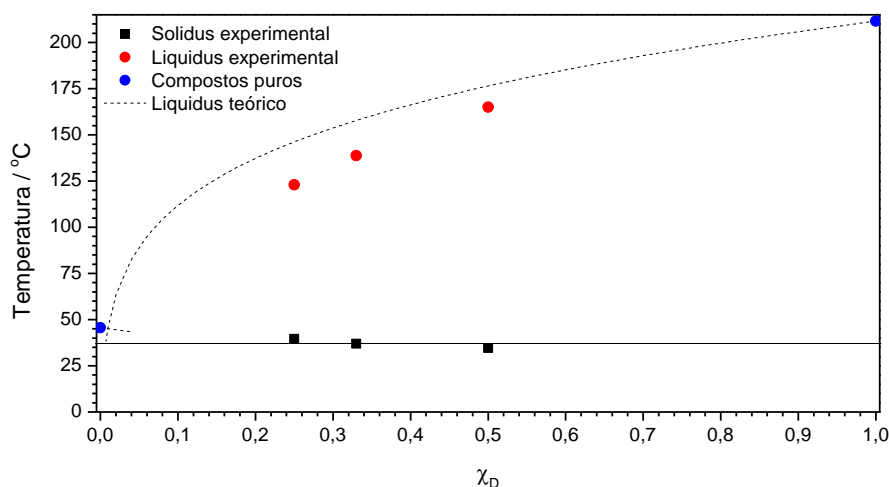


Figura 33. Diagrama de fases binário sólido-líquido do sistema DIF-ESM, à pressão atmosférica.

3.3 Investigação do sistema lamotrigina-etossuximida

3.3.1 Síntese de cocrystal: via LAG e NG

A interação da lamotrigina com a etossuximida foi estudada nas proporções 1:1; 1:2 e 2:1 (LAM:ESM), recorrendo à preparação da amostra por LAG e NG. Para caracterizar os sólidos obtidos utilizou-se XRPD, ATR-FTIR e DSC.

A análise dos difratogramas de raios-X de pó permitiram a caracterização das misturas. Recorrendo aos difratogramas da LAM, da ESM e das misturas com a aplicação de NG e LAG, Figura 34 e Figura 35, respetivamente, é fácil observar que na proporção de 1:1 se obtém um cocrystal.

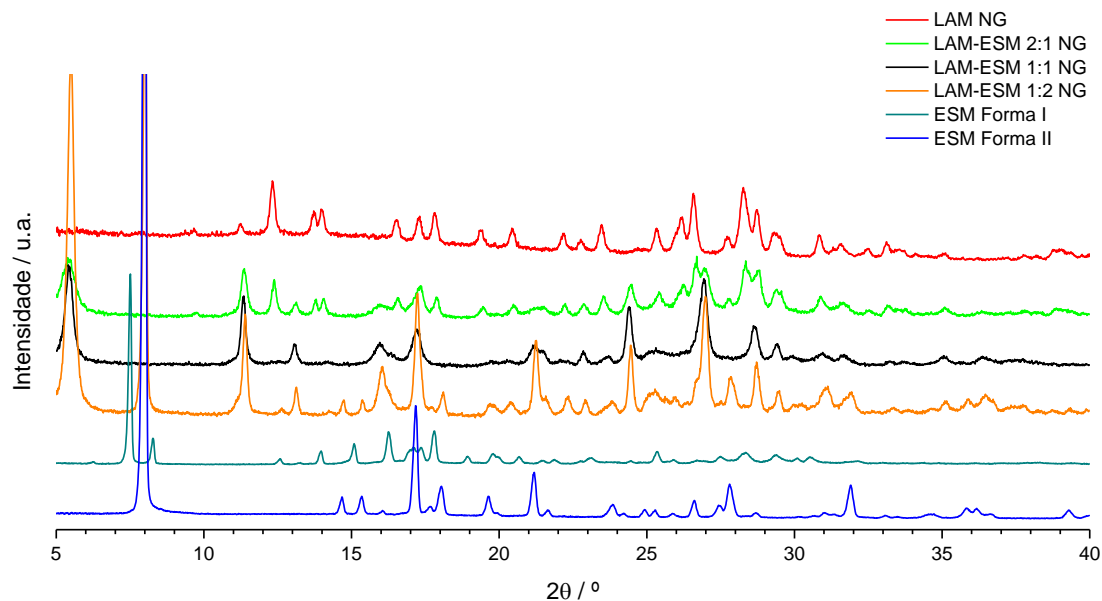


Figura 34. Difratoograma de raios-X de pó do sistema LAM-ESM para as misturas estudadas (2:1; 1:1 e 1:2) e da LAM, submetidas a NG, e dos polimorfos I e II da ESM.

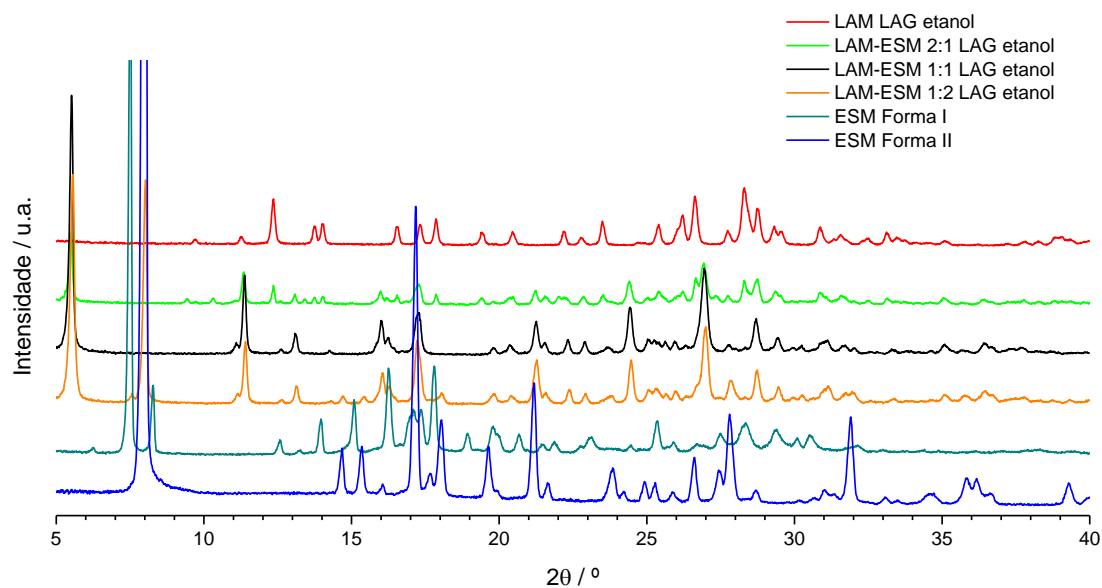


Figura 35. Difratoograma de raios-X de pó do sistema LAM-ESM para as misturas estudadas (2:1; 1:1 e 1:2) e da LAM, submetidas a LAG, e dos polimorfos I e II da ESM.

Da análise do difratograma para a mistura de 1:1 verifica-se a presença de reflexões que não existem nos difratogramas dos compostos puros, nomeadamente a $2\theta = 5,5^\circ$; $11,4^\circ$; $13,0^\circ$;

24,4° e 26,9°. É obtido o mesmo cocrystal pelos dois métodos de preparação. As misturas de LAM-ESM nas proporções de 1:2 e 2:1 contêm todas as reflexões do cocrystal e ainda as da ESM e da LAM, respetivamente. Por exemplo, na mistura 1:2 (LAM:ESM), são visíveis reflexões do polimorfo II da ESM a $2\theta = 8,0^\circ$; $17,2^\circ$; $21,2^\circ$ e $27,8^\circ$, e vestígios do polimorfo I a $2\theta = 16,2^\circ$; $19,8^\circ$ e $25,4^\circ$. Na amostra 2:1 (LAM:ESM) são visíveis as reflexões da LAM a $2\theta = 12,3^\circ$; $17,8^\circ$; $23,5^\circ$; $26,6^\circ$; $28,3^\circ$; $28,7^\circ$ e $30,8^\circ$.

Na Figura 36 e na Figura 37 encontram-se os espetros de IV obtidos para as três proporções estudadas e para os compostos iniciais com a aplicação de NG e LAG, respetivamente.

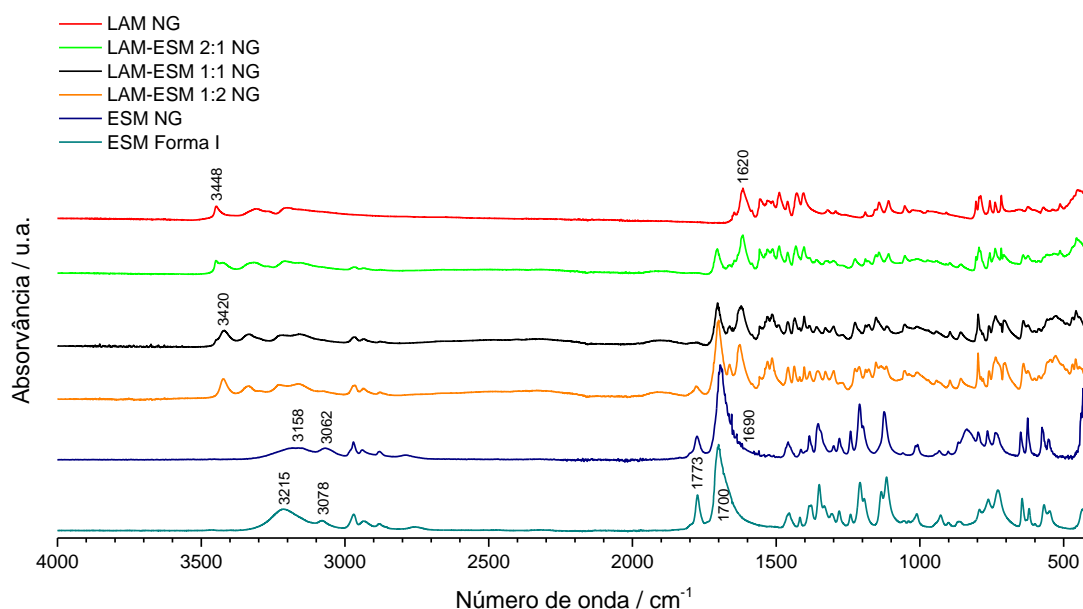


Figura 36. Espetros de infravermelho das misturas LAM-ESM (2:1; 1:1 e 1:2) e dos compostos de partida, submetidos a NG, e do polimorfo I da ESM.

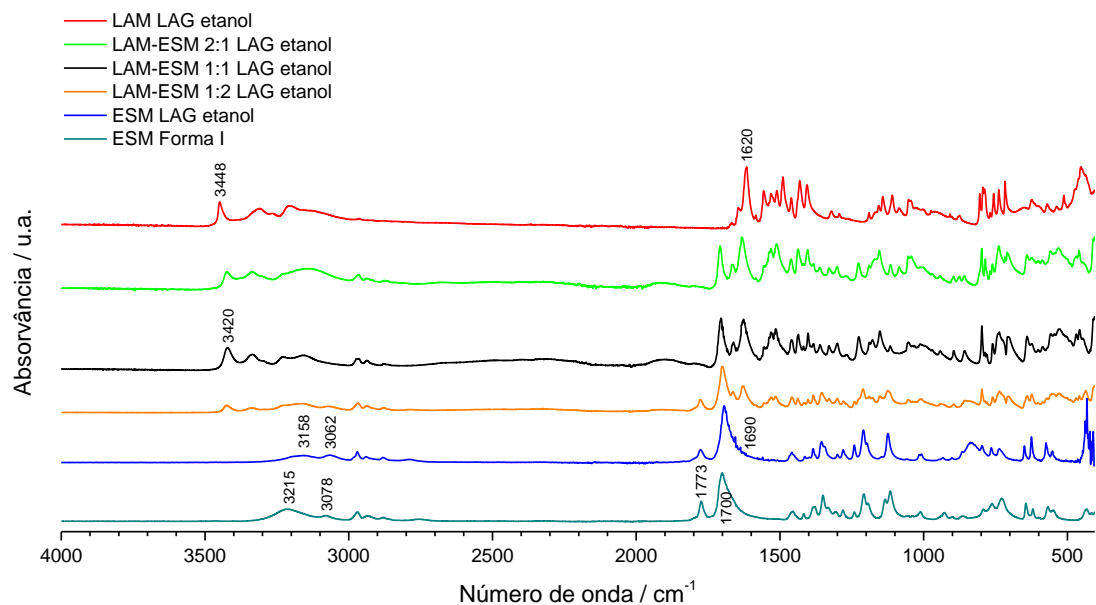


Figura 37. Espectros de infravermelho das misturas LAM-ESM (2:1; 1:1 e 1:2) e dos compostos de partida, submetidos a LAG, e do polimorfo I da ESM.

Da análise dos resultados confirma-se a existência de um cocrystal de lamotrigina com etossuximida na proporção de 1:1, pois o seu espectro não corresponde à soma dos espectros dos compostos iniciais. O sinal da elongação do grupo carbonilo da etossuximida a 1773 cm^{-1} está muito atenuado e o da elongação do grupo NH_2 da lamotrigina passa de 3448 para 3420 cm^{-1} .

As curvas de DSC de aquecimento das amostras sólidas obtidas por LAG e NG para cada mistura encontram-se nas Figuras 38 e 39, respetivamente.

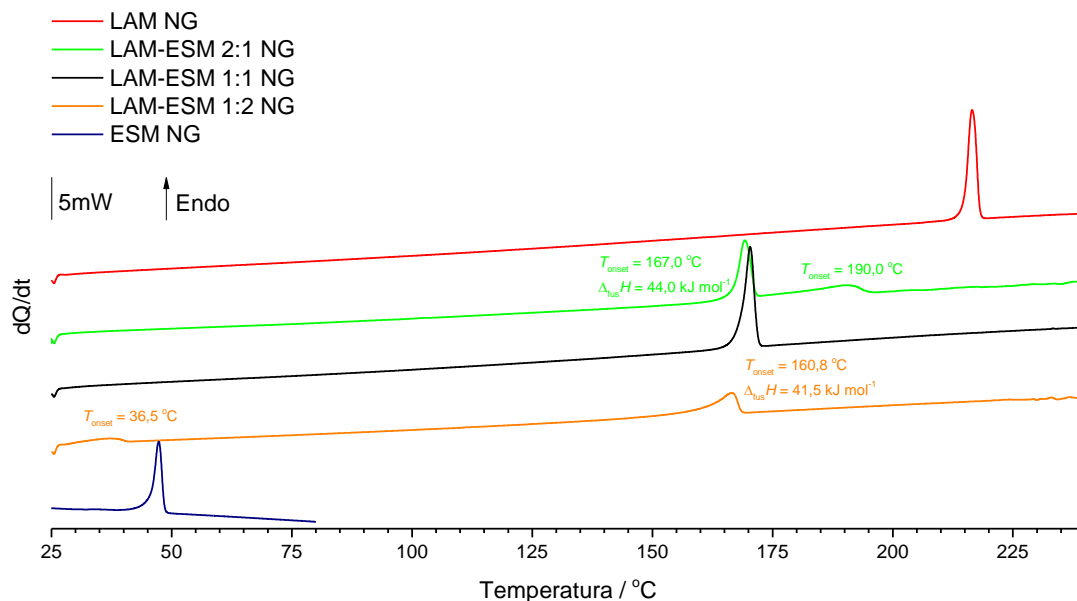


Figura 38. Curvas de DSC de aquecimento das misturas LAM-ESM em todas as proporções estudadas (2:1; 1:1 e 1:2) e dos compostos de partida, submetidos a NG ($\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C/min.}$).

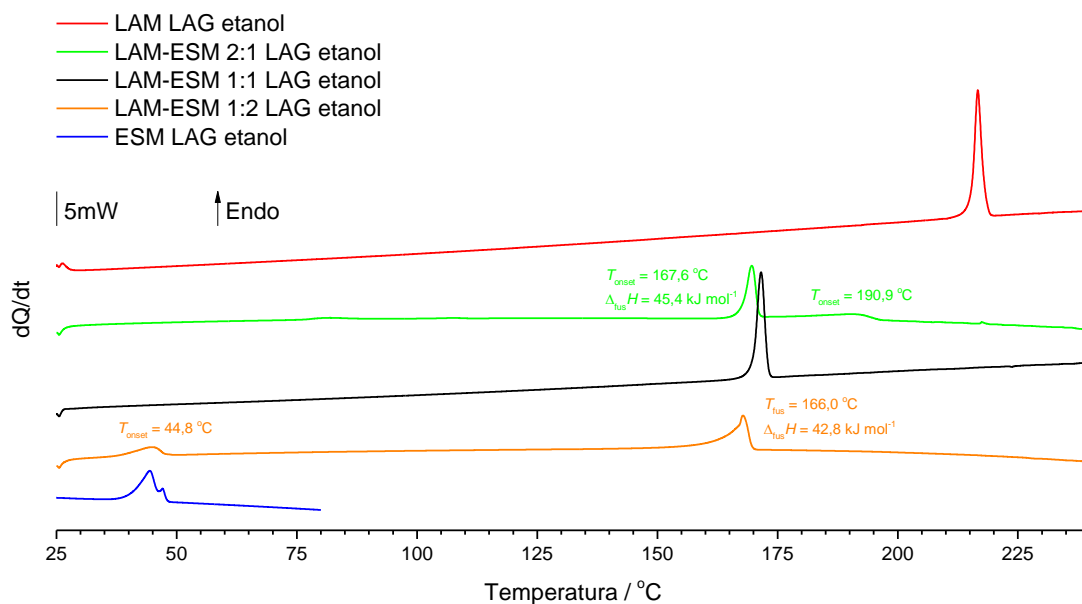


Figura 39. Curvas de DSC de aquecimento da mistura LAM-ESM em todas as proporções estudadas (2:1; 1:1 e 1:2) e dos compostos de partida, submetidos a LAG ($\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C/min.}$).

O comportamento térmico das misturas é idêntico, como se esperava, independentemente do método de preparação.

O pico endotérmico único, estreito, presente na curva de DSC da mistura LAM-ESM 1:1, indicando temperatura de fusão entre os valores dos componentes puros, confirma que estamos na presença de um cocrystal, onde $T_{fus} = (169,4 \pm 0,5) \text{ }^\circ\text{C}$ e $\Delta_{fus}H = (54,6 \pm 1,7) \text{ kJ mol}^{-1}$. A mistura LAM-ESM 1:2 inicia a fusão a $T \approx 40,0 \text{ }^\circ\text{C}$, compatível com a fusão de uma mistura eutética que consumirá toda a etossuximida que não está ligada no cocrystal, registando-se, em seguida, a fusão do cocrystal. No que diz respeito à mistura LAM-ESM 2:1 é registado um pico fino e estreito com $T_{onset} \approx 167,0 \text{ }^\circ\text{C}$, a que se segue a fusão do excesso de lamotrigina.

3.4 Estudos de compatibilidade cocrystal-excipiente

De modo a verificar as interações entre os cocrystal e os excipientes seleccionados foram realizados estudos de compatibilidade por DSC. Estas interações podem ser físicas, caso ocorram transições polimórficas, solubilização dos cocrystal pelos excipientes utilizados ou interações entre os grupos funcionais, ou podem ser químicas, caso se verifique a degradação dos cocrystal ou a formação de novos produtos/impurezas.

É de realçar que o estudo por DSC não permite excluir por completo a utilização de um determinado excipiente, uma vez que as incompatibilidades a altas temperaturas podem não ser observáveis à temperatura ambiente. No entanto, este permite fazer uma melhor seleção dos excipientes, pois se há compatibilidade cocrystal-excipiente a temperaturas elevadas então também haverá à temperatura ambiente.

Efetou-se a investigação para o cocrystal DIF-ISO 1:1, formado por um ativo de carácter ácido, o diflunisal, e outro de carácter básico, a isoniazida, e para o cocrystal LAM-ESM 1:1, constituído por dois ativos básicos.

3.4.1 Seleção dos excipientes

Com o objetivo de selecionar os excipientes mais adequados à preparação de formas sólidas – cápsulas gelatinosas ou comprimidos convencionais – procedeu-se ao estudo de compatibilidade cocrystal-excipiente recorrendo à análise por DSC. Para realizar os estudos de compatibilidade foram, então, selecionados excipientes básicos, ácidos e neutros de modo a avaliar como estes interagem com os APIs utilizados e com os cocrystal sintetizados. Para além disto, a função farmacêutica que cada um desempenha nas formulações foi, também, tida em conta de modo a que o estudo fosse o mais abrangente possível.

Na Tabela 5 encontram-se as estruturas moleculares e o caráter ácido/base dos excipientes selecionados para os estudos de compatibilidade. Na Tabela 6 estão resumidas a função farmacêutica e as composições das misturas dos cocrystal DIF-ISO 1:1 e LAM-ESM 1:1 com os excipientes investigadas neste trabalho. Foram selecionadas percentagens mássicas dos excipientes normalmente utilizadas, como reportado na literatura [96], e excipiente em excesso, 50 % (m/m).

Tabela 5. Estrutura molecular e caráter ácido/base dos excipientes selecionados.

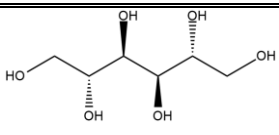
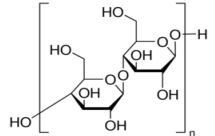
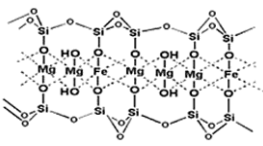
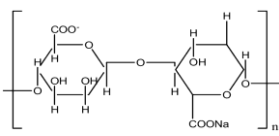
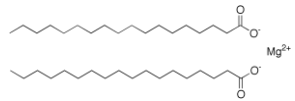
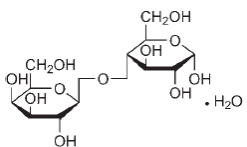
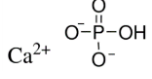
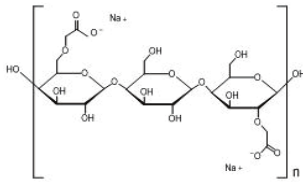
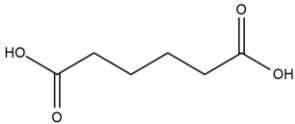
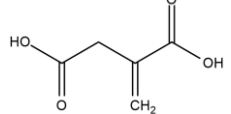
Excipiente	Estrutura	Caráter ácido/base [27, 96]
Manitol		Neutro
MCC		Neutro
Talco		Básico
Alginato de sódio		Básico
MgSte		Básico
Lactose monohidrato		Neutro
DCP		Básico
CCS		Básico
Ácido adípico		Ácido
Ácido itacónico		Ácido

Tabela 6. Função farmacêutica e composição das misturas dos cocristais DIF-ISO 1:1 e LAM-ESM 1:1 com os excipientes estudados neste trabalho.

Excipiente	Função farmacêutica [96]	% m/m na mistura
Manitol	Diluyente (10-90 % m/m)	10 e 50
MCC	Desintegrante (5-20 % m/m)	20 e 50
	Ligante/Diluyente (20-90 % m/m)	
Talco	Lubrificante (1-10 % m/m)	10 e 50
	Diluyente (5-30 % m/m)	
Alginato de sódio	Ligante (1-3 % m/m)	10 e 50
	Desintegrante (2,5-10 % m/m)	
MgSte	Lubrificante (0,25-5 % m/m)	5 e 50
Lactose monohidrato	Ligante/Diluyente	30 e 50
DCP	Diluyente	10 e 50
CCS	Desintegrante (0,5-5 % m/m)	5 e 50
Ácido adípico	Agente tampão	10
Ácido itacónico	Agente tampão	10

As curvas de DSC obtidas para alguns dos excipientes selecionados, nomeadamente, o manitol, o MgSte, a lactose monohidrato e os ácidos adípico e itacónico estão representadas na Figura 40.

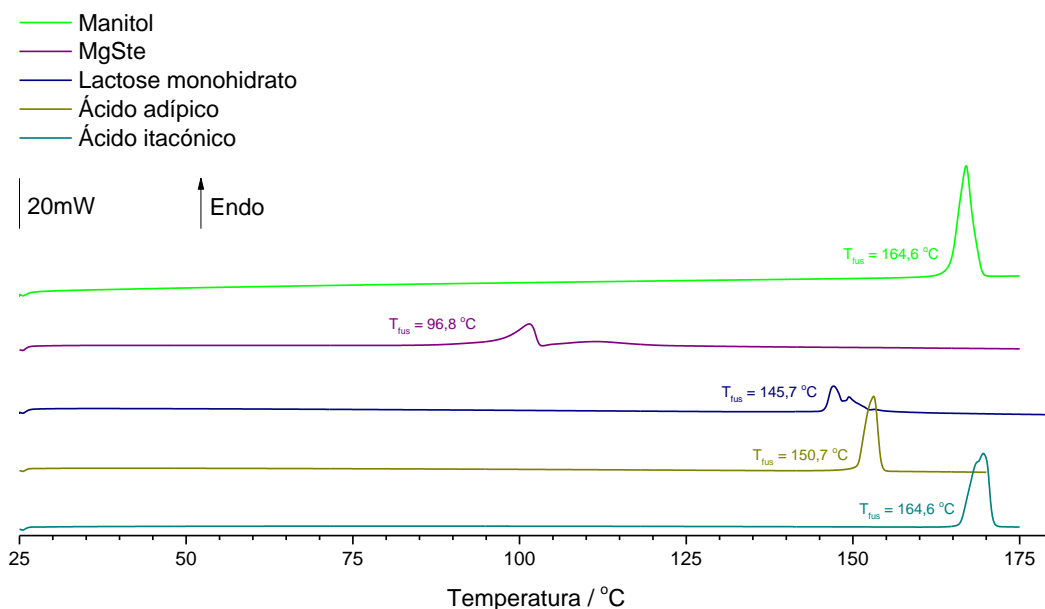


Figura 40. Curvas de DSC de aquecimento do manitol, do MgSte, da lactose monohidrato, do ácido adípico e do ácido itacónico.

3.4.2 Estudos de compatibilidade do cocrystal DIF-ISO 1:1 com excipientes

Procurou-se investigar se os excipientes selecionados para a investigação interagiam com algum dos componentes do cocrystal. Assim, começou-se por fazer o estudo de compatibilidade do diflunisal e da isoniazida puros com os excipientes em proporções padrão, por DSC.

As Figuras 41 a 43 mostram o referido estudo com excipientes básicos, ácidos e neutros, respetivamente, para o diflunisal.

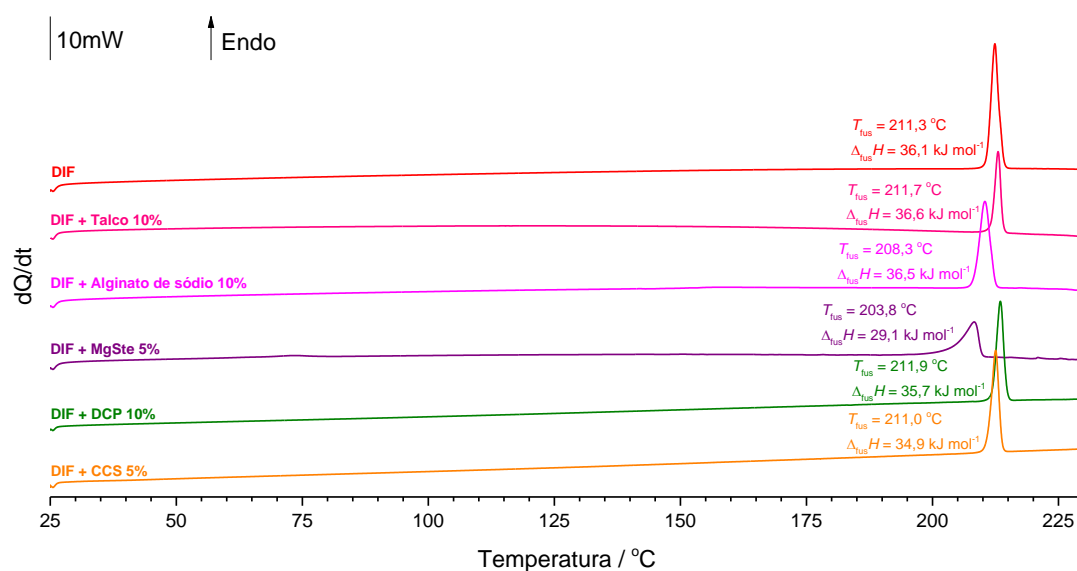


Figura 41. Curvas de DSC de aquecimento do DIF e das suas misturas com excipientes básicos, em proporções padrão ($\beta = 10$ °C/min.).

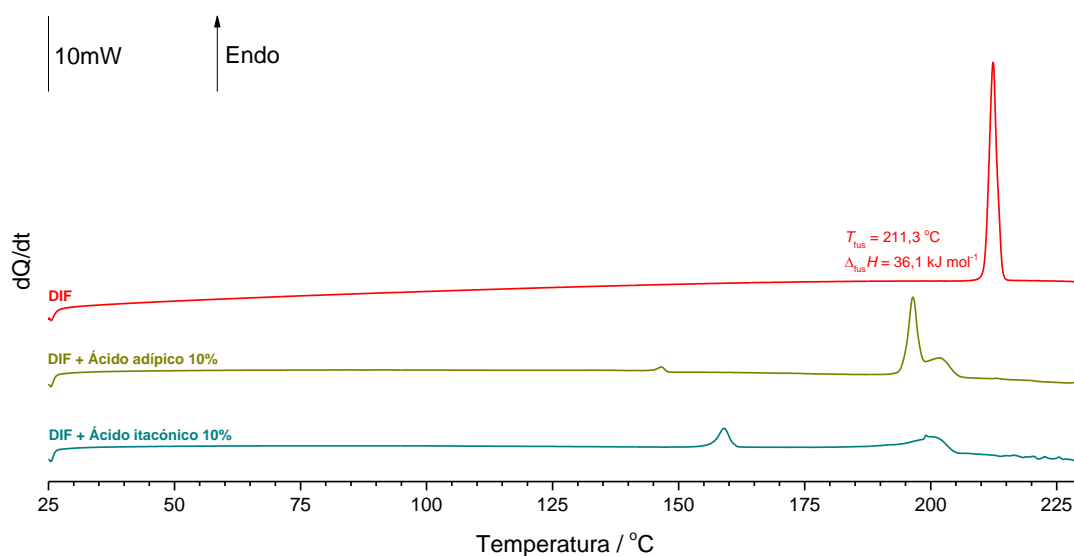


Figura 42. Curvas de DSC de aquecimento do DIF e das suas misturas com excipientes ácidos, em proporções padrão ($\beta = 10\text{ }^{\circ}\text{C/min.}$).

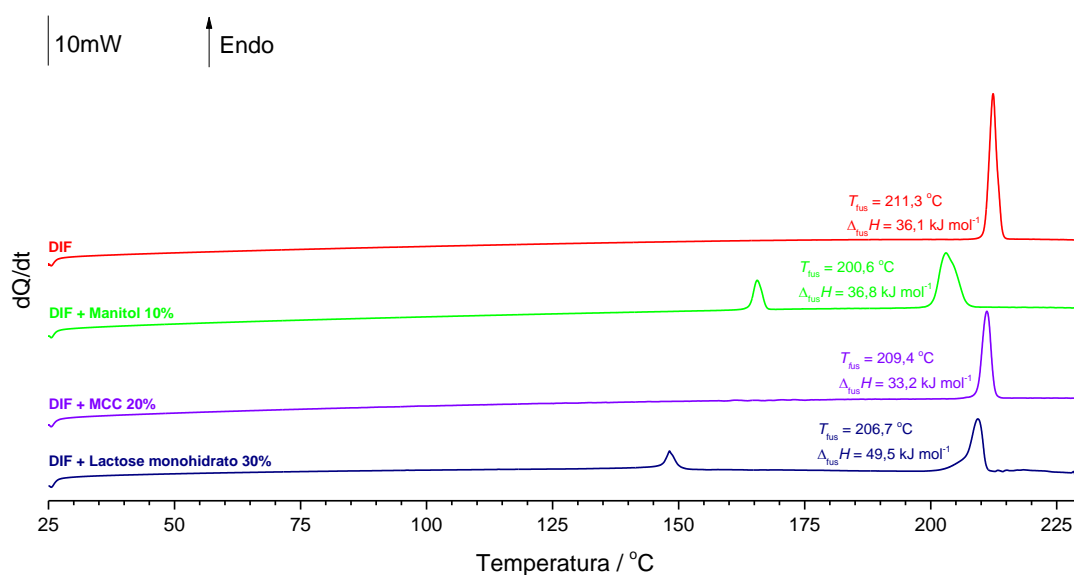


Figura 43. Curvas de DSC de aquecimento do DIF e das suas misturas com excipientes neutros, em proporções padrão ($\beta = 10\text{ }^{\circ}\text{C/min.}$).

As curvas de DSC de aquecimento do diflunisal mostram que este é compatível com três dos excipientes básicos, o talco, o DCP e a CCS, pois é com estes excipientes que não ocorrem

alterações no pico endotérmico, nem grandes variações nos valores de temperatura e entalpia das misturas, quando comparadas com as curvas do API puro. No caso da mistura com alginato de sódio os valores são aceitáveis.

As misturas de isoniazida com excipientes básicos, ácidos e neutros também foram estudadas e as curvas de DSC obtidas encontram-se nas Figuras 44, 45 e 46, respetivamente.

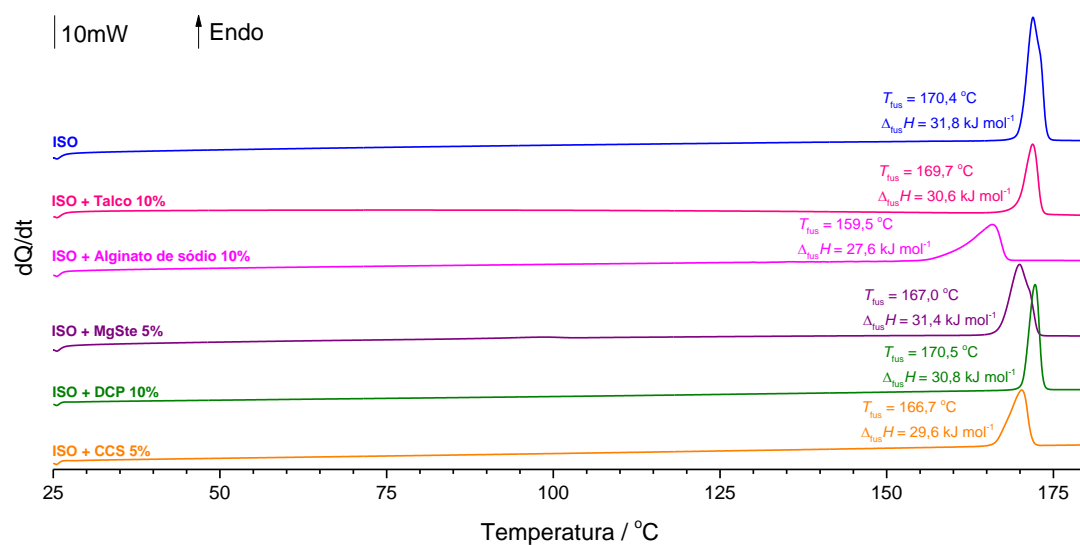


Figura 44. Curvas de DSC de aquecimento da ISO e das suas misturas com excipientes básicos, em proporções padrão ($\beta = 10$ °C/min.).

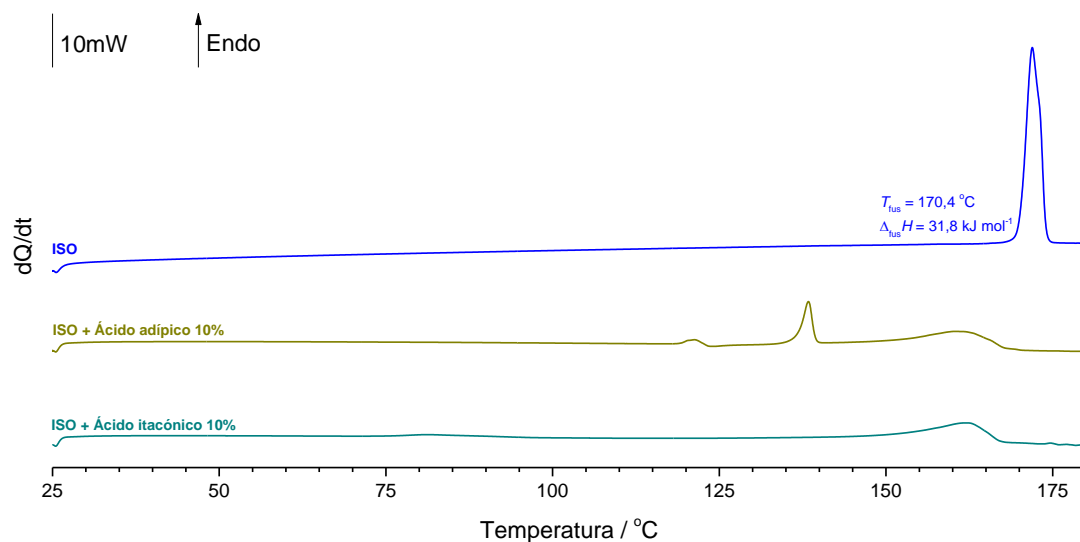


Figura 45. Curvas de DSC de aquecimento da ISO e das suas misturas com excipientes ácidos, em proporções padrão ($\beta = 10\text{ °C/min.}$).

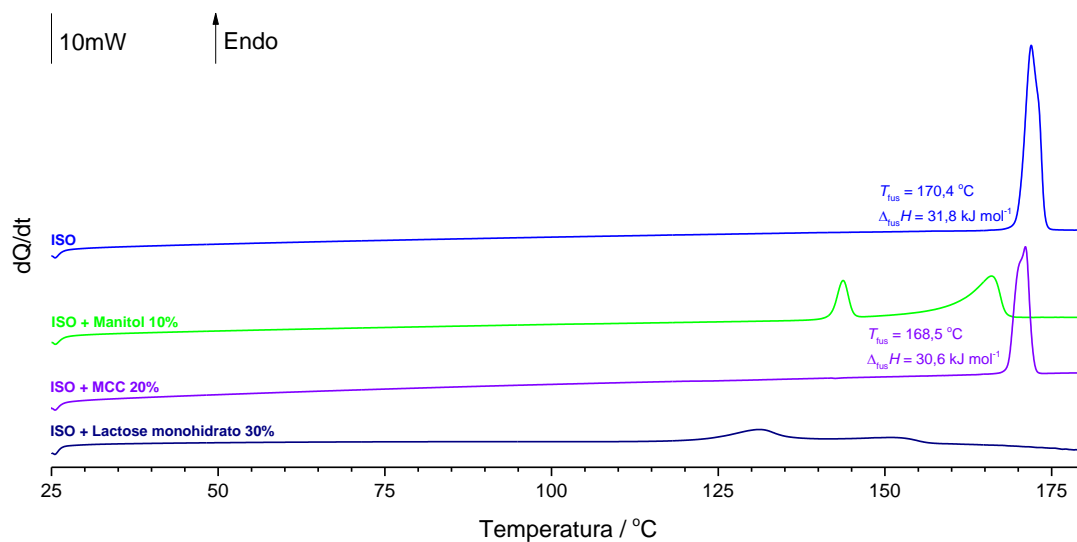


Figura 46. Curvas de DSC de aquecimento da ISO e das suas misturas com excipientes neutros, em proporções padrão ($\beta = 10\text{ °C/min.}$).

Os resultados apresentam incompatibilidade, nas condições avaliadas por DSC, quer do diflunisal, quer da isoniazida com os excipientes ácidos, apesar do diferente caráter ácido/base

dos dois ativos. A isoniazida apresenta, tal como o diflunisal, compatibilidade com o talco e o DCP, excipientes básicos.

Pela análise dos resultados obtidos para ambos os compostos é possível observar que a interação registada não está relacionada com o carácter ácido/base dos excipientes. Isto pode dever-se ao facto de não haver água no ambiente para mediar a troca de protões. Deste modo, pode concluir-se que a interação deve-se à miscibilidade em fase líquida.

Depois de estudada a compatibilidade dos compostos puros com os excipientes, estudou-se a compatibilidade do cocrystal com os mesmos excipientes. As misturas dos excipientes com o cocrystal DIF-ISO 1:1 foram realizadas atendendo às percentagens comuns dos excipientes presentes nas formulações farmacêuticas, cápsulas gelatinosas, e, também, com excesso de excipiente em cerca de 50 %.

As curvas de DSC de aquecimento das misturas do cocrystal com excipientes básicos, ácidos e neutros, em percentagens habituais, estão representados nas Figuras 47 a 49, respetivamente.

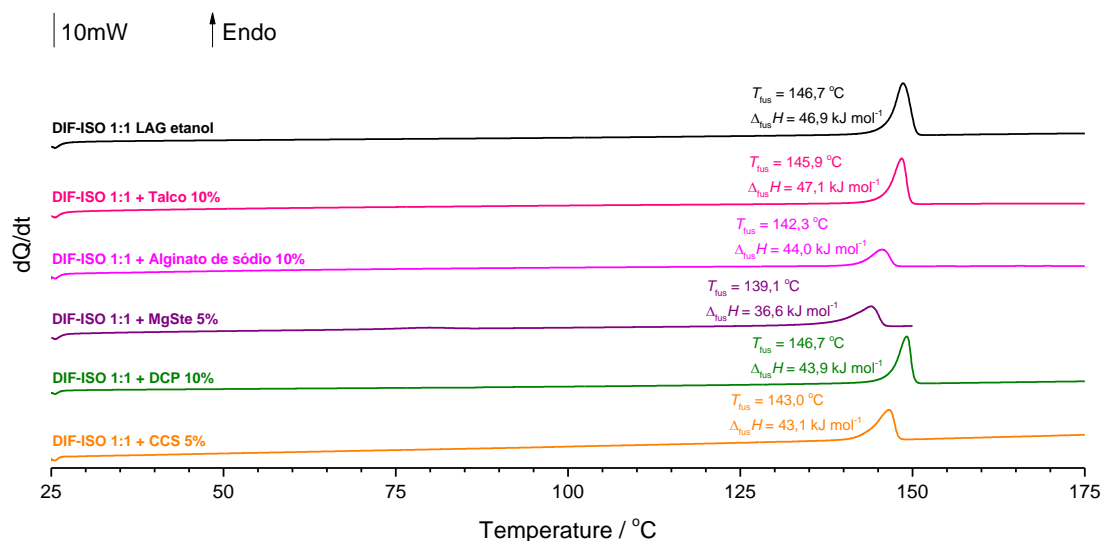


Figura 47. Curvas de DSC de aquecimento do cocrystal DIF-ISO 1:1 e das suas misturas com excipientes básicos, em proporções padrão ($\beta = 10$ °C/min.).

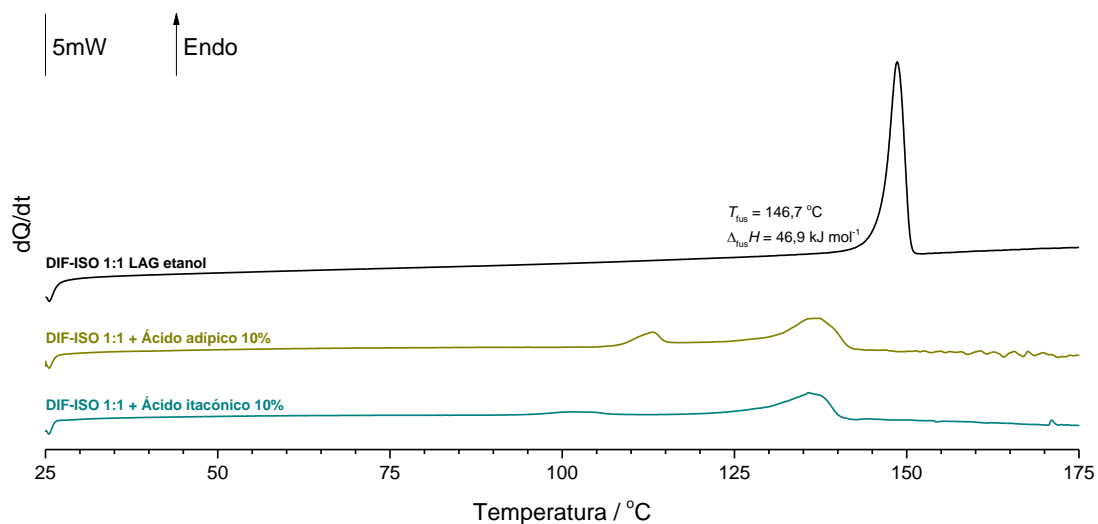


Figura 48. Curvas de DSC de aquecimento do cocrystal DIF-ISO 1:1 e das suas misturas com excipientes ácidos, em proporções padrão ($\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C/min.}$).

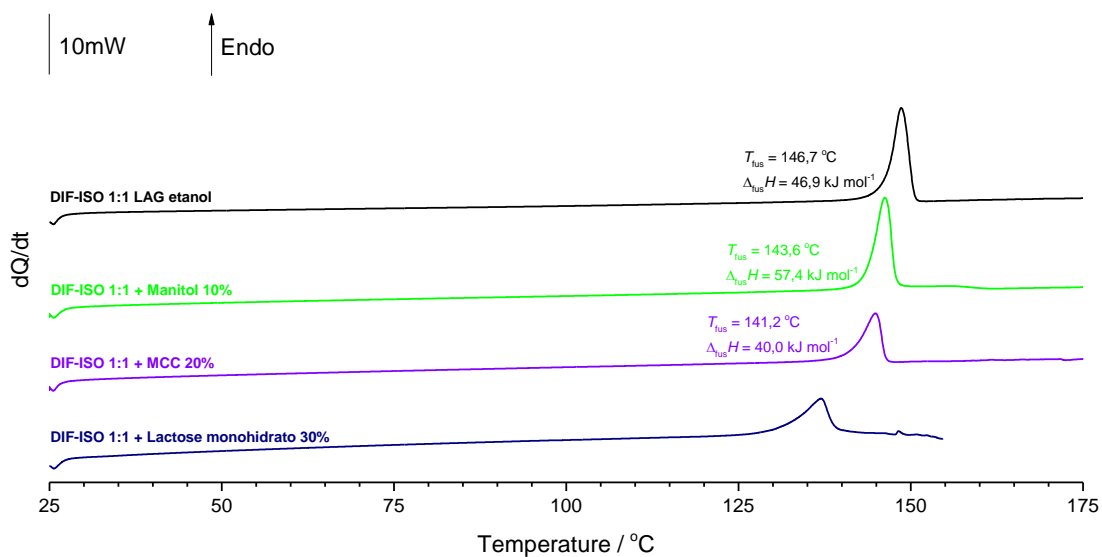


Figura 49. Curvas de DSC de aquecimento do cocrystal DIF-ISO 1:1 e das suas misturas com excipientes neutros, em proporções padrão ($\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C/min.}$).

Da análise dos resultados obtidos, pode concluir-se que a maior parte dos excipientes testados induzem uma ligeira descida na temperatura de fusão do cocrystal, o que indica que há

uma interação entre eles. No entanto, para talco e o DCP a alteração da T_{fus} é mínima, podendo considerar-se que não há interação significativa. Uma possível explicação para os resultados obtidos resulta do facto de estarmos perante compostos inorgânicos e, por isso, a probabilidade de interação com o cocrystal é menor.

Deste modo, parece que a compatibilidade cocrystal-excipiente só se verifica se ambos os compostos puros forem compatíveis com os excipientes. Ao haver interação entre os excipientes e apenas um dos compostos puros verifica-se uma diminuição da temperatura de fusão do cocrystal.

Com o objetivo de comprovar estas conclusões foi, também, realizado um estudo por DSC do cocrystal com excesso de excipiente. As curvas de DSC destas misturas com excipientes básicos e neutros encontram-se representadas nas Figuras 50 e 51.

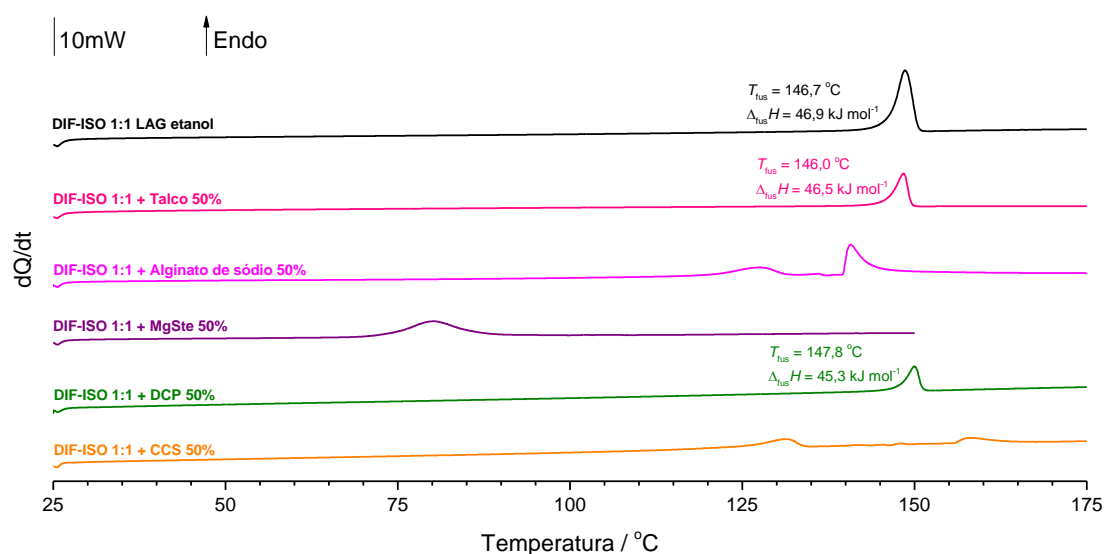


Figura 50. Curvas de DSC de aquecimento do cocrystal DIF-ISO 1:1 e das suas misturas com 50 % (m/m) de excipientes básicos ($\beta = 10$ °C/min.).

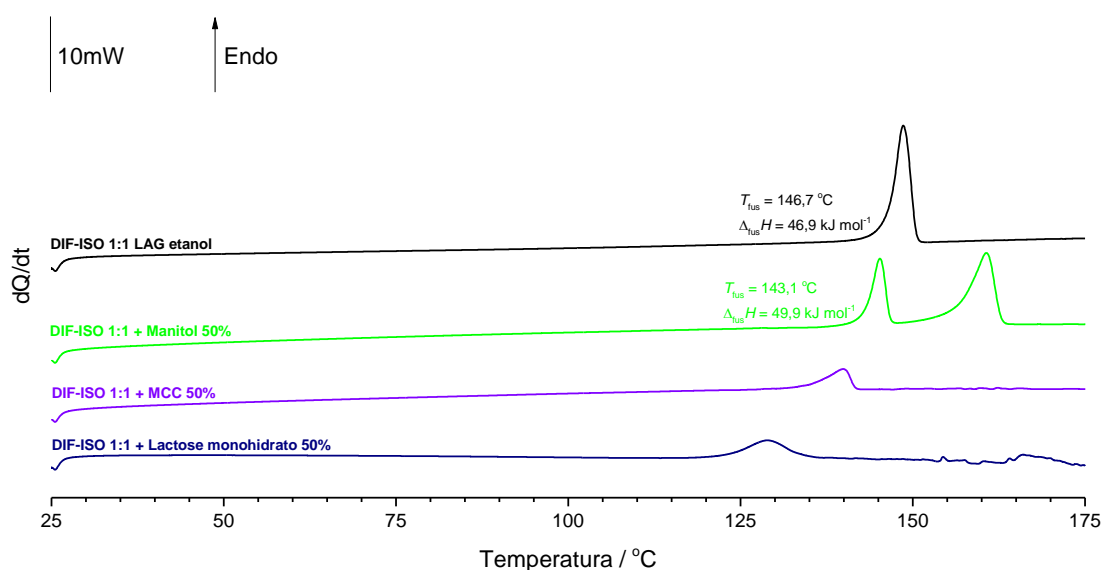


Figura 51. Curvas de DSC do cocrystal DIF-ISO 1:1 e da sua mistura com 50 % (m/m) de excipientes neutros ($\beta = 10\text{ }^{\circ}\text{C/min.}$).

O talco e o DCP são, por isso, os excipientes que não revelam incompatibilidade quando misturados com o cocrystal, mesmo na proporção 50 % (m/m), pelo que é segura a sua utilização para formulações sólidas.

3.4.3 Estudos de compatibilidade do cocrystal LAM-ESM 1:1 com excipientes

Da mesma maneira que para o sistema DIF-ISO 1:1, procedeu-se ao estudo da compatibilidade dos componentes do cocrystal LAM-ESM 1:1 quando puros, com todos os excipientes testados de modo a perceber como estes interagem.

Nas Figuras 52 a 54 encontram-se representadas as curvas de DSC obtidas para a LAM com excipientes básicos, ácidos e neutros, respetivamente.

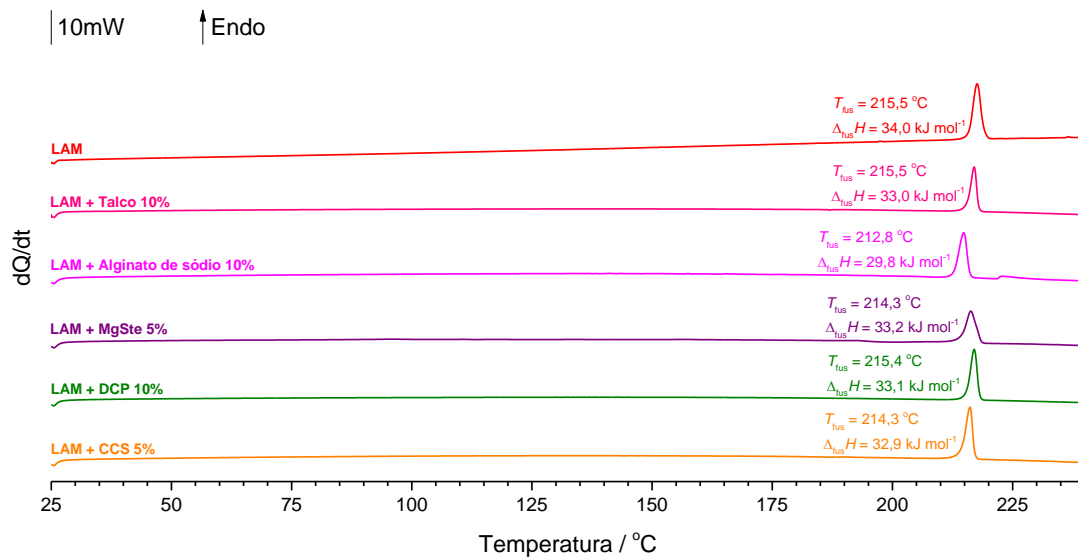


Figura 52. Curvas de DSC de aquecimento da LAM e das suas misturas com excipientes básicos, em proporções padrão ($\beta = 10$ °C/min.).

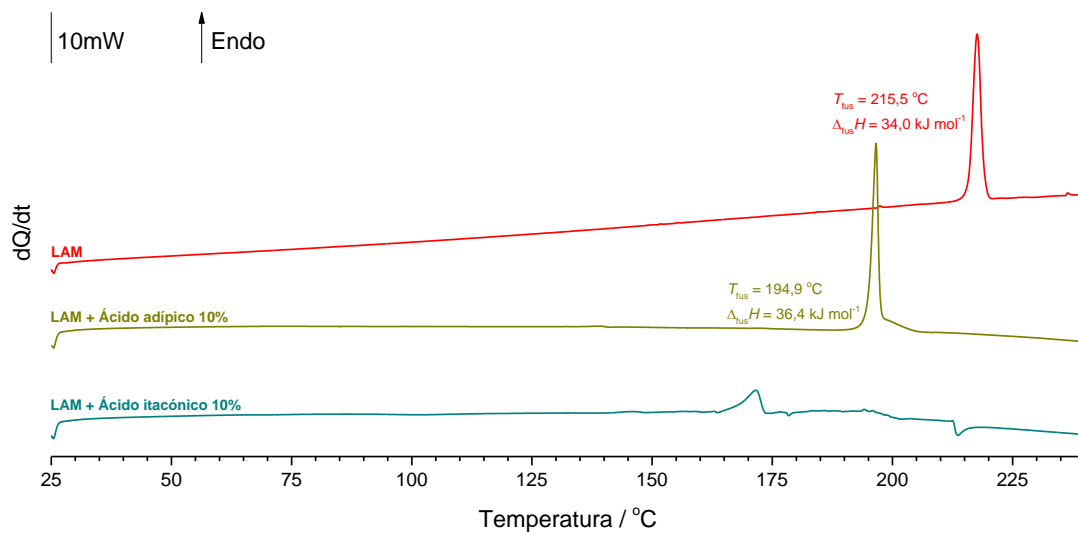


Figura 53. Curvas de DSC de aquecimento da LAM e das suas misturas com excipientes ácidos, em proporções padrão ($\beta = 10$ °C/min.).

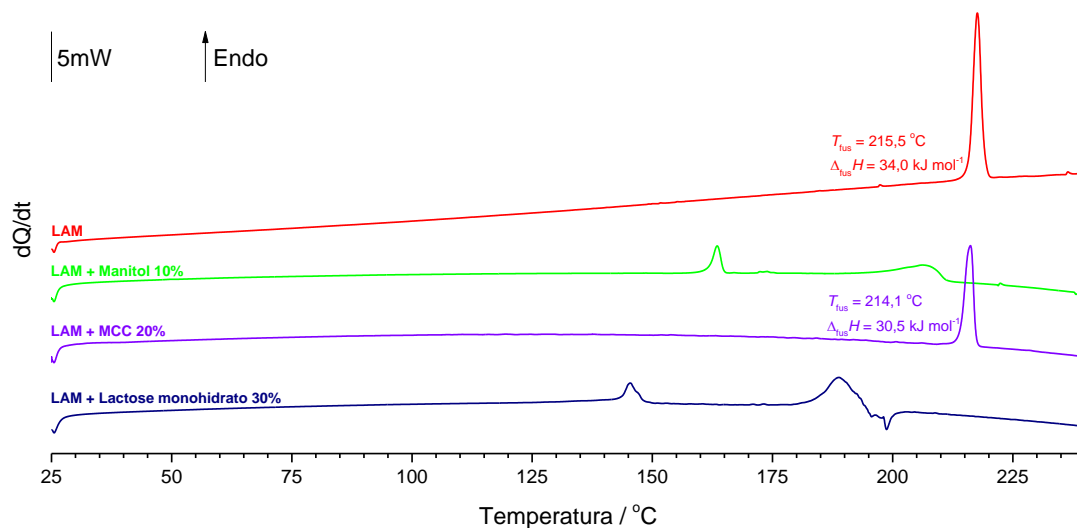


Figura 54. Curvas de DSC de aquecimento da LAM e das suas misturas com excipientes neutros, em proporções padrão ($\beta = 10\text{ }^{\circ}\text{C/min.}$).

Pela análise das curvas de DSC obtidas para a lamotrigina verifica-se que as misturas com excipientes básicos são as que apresentam temperatura de fusão mais próxima da do API puro. No entanto, o talco e o DCP são, novamente, os únicos excipientes que não provocam alterações na temperatura e entalpia de fusão.

O mesmo estudo foi realizado com a ESM comercial, estando os termogramas com os excipientes básicos, ácidos e neutros representados nas Figuras 55 a 57, respetivamente.

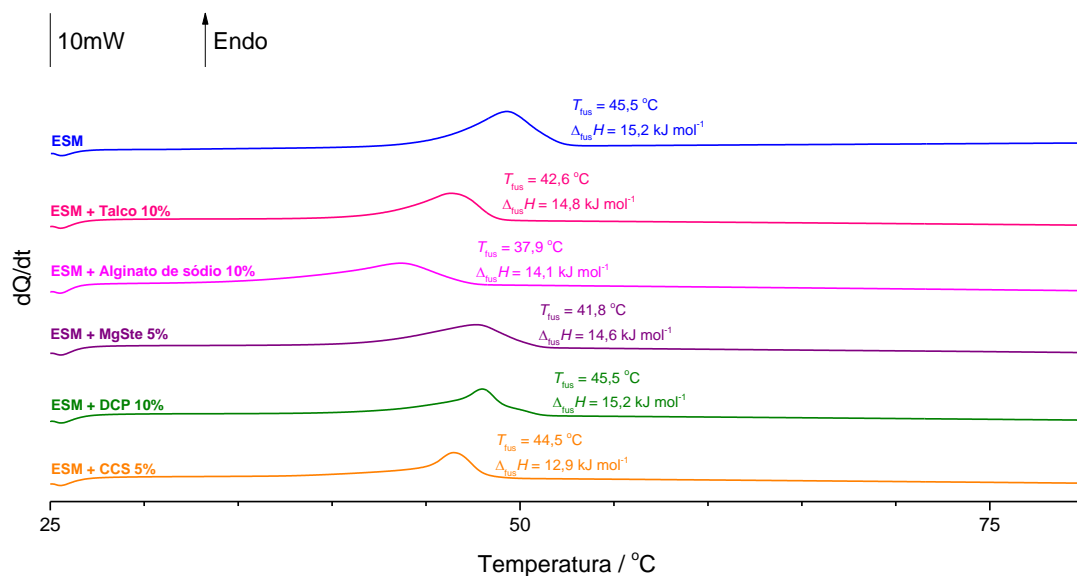


Figura 55. Curvas de DSC de aquecimento da ESM e das suas misturas com excipientes básicos, em proporções padrão ($\beta = 10$ °C/min.).

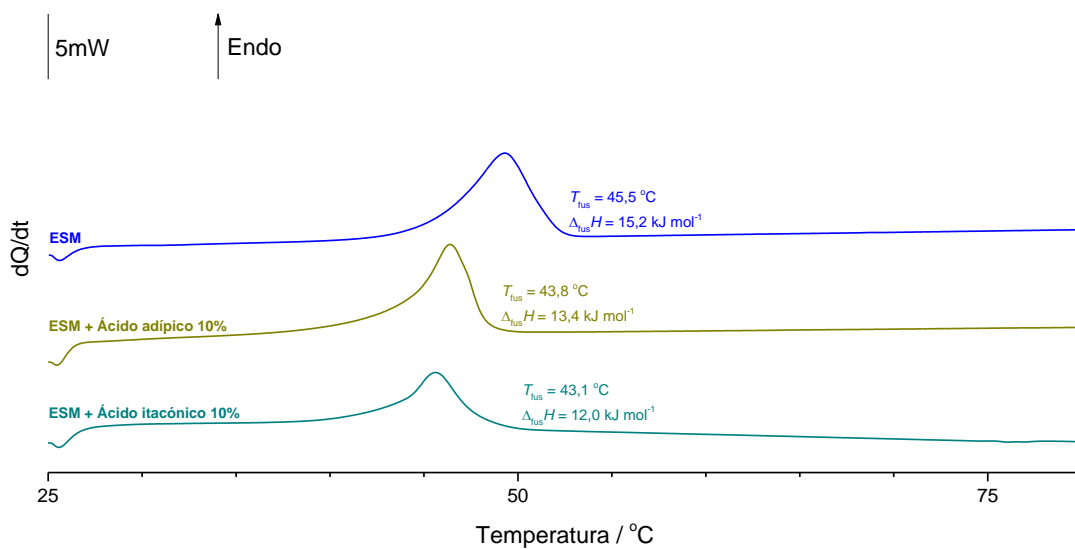


Figura 56. Curvas de DSC de aquecimento da ESM e das suas misturas com excipientes ácidos, em proporções padrão ($\beta = 10$ °C/min.).

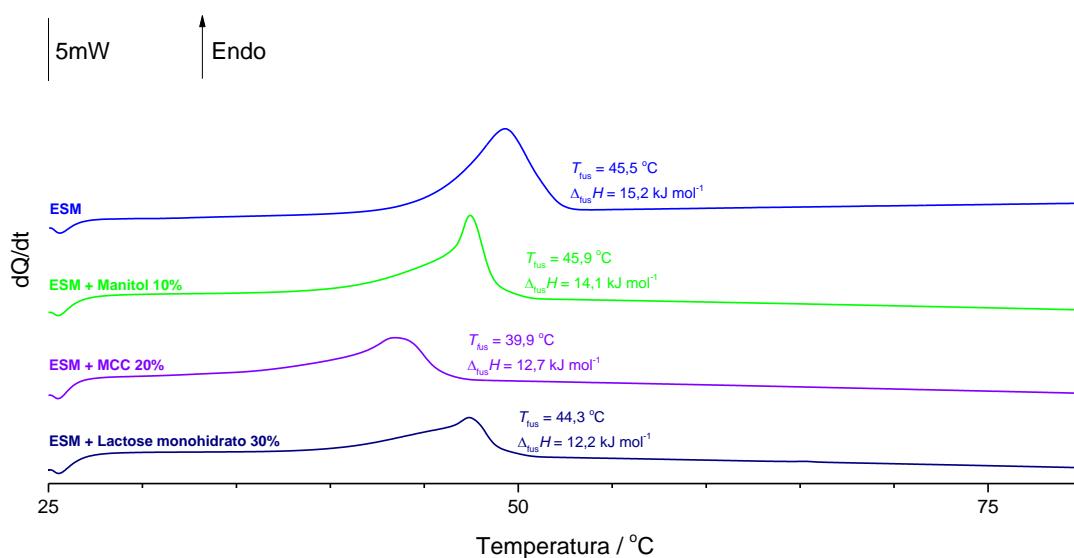


Figura 57. Curvas de DSC de aquecimento da ESM e das suas misturas com excipientes neutros, em proporções padrão ($\beta = 10$ °C/min.).

Os resultados obtidos para a etossuximida são um pouco mais complexos de analisar devido aos seus polimorfos, secção 3.1.4 deste trabalho. Deste modo, não é possível afirmar se os abaixamentos da temperatura de fusão registados se devem à incompatibilidade com os excipientes selecionados ou a uma mudança no polimorfo da ESM, exceto para o caso do alginato de sódio e da MCC.

No entanto, no caso da lamotrigina, a incompatibilidade desta com os excipientes parece, mais uma vez, dever-se à miscibilidade em fase líquida.

Foi, também, estudado o cocrystal LAM-ESM 1:1 no que diz respeito à pesquisa de eventuais incompatibilidades com excipientes, utilizando a metodologia utilizada para o cocrystal de DIF-ISO 1:1, secção 3.4.2.

As curvas de DSC das misturas do cocrystal com os excipientes básicos, ácidos e neutros estão representados nas Figuras 58, 59 e 60, respetivamente.

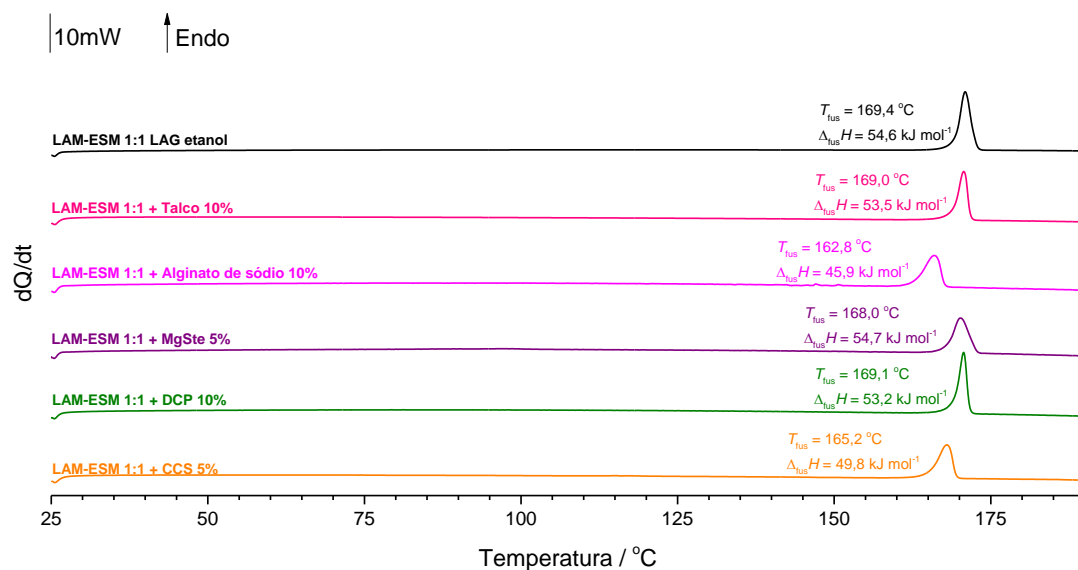


Figura 58. Curvas de DSC de aquecimento do cocrystal LAM-ESM 1:1 e das suas misturas com excipientes básicos, em proporções padrão ($\beta = 10$ °C/min.).

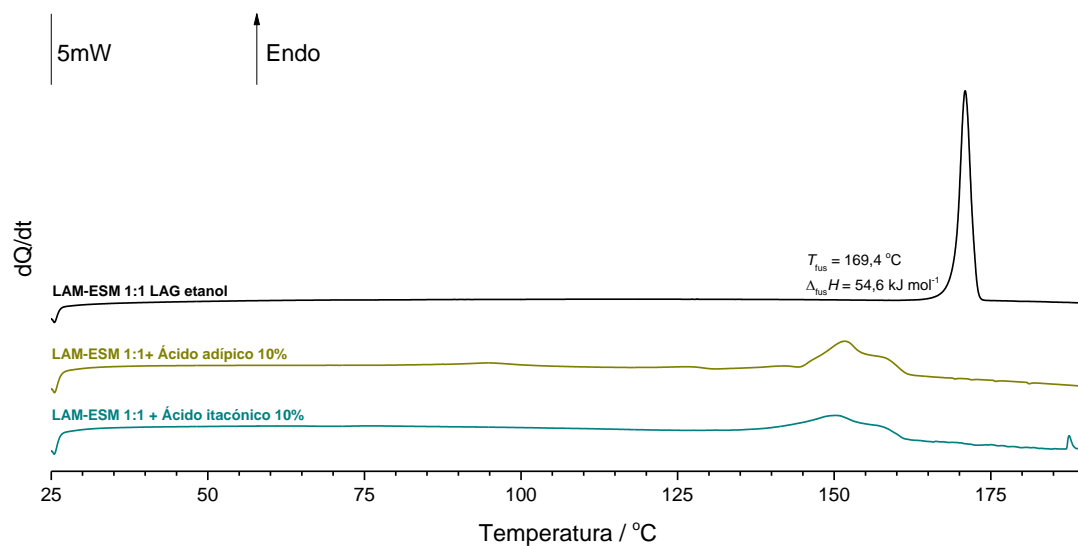


Figura 59. Curvas de DSC de aquecimento do cocrystal LAM-ESM 1:1 e das suas misturas com excipientes ácidos, em proporções padrão ($\beta = 10$ °C/min.).

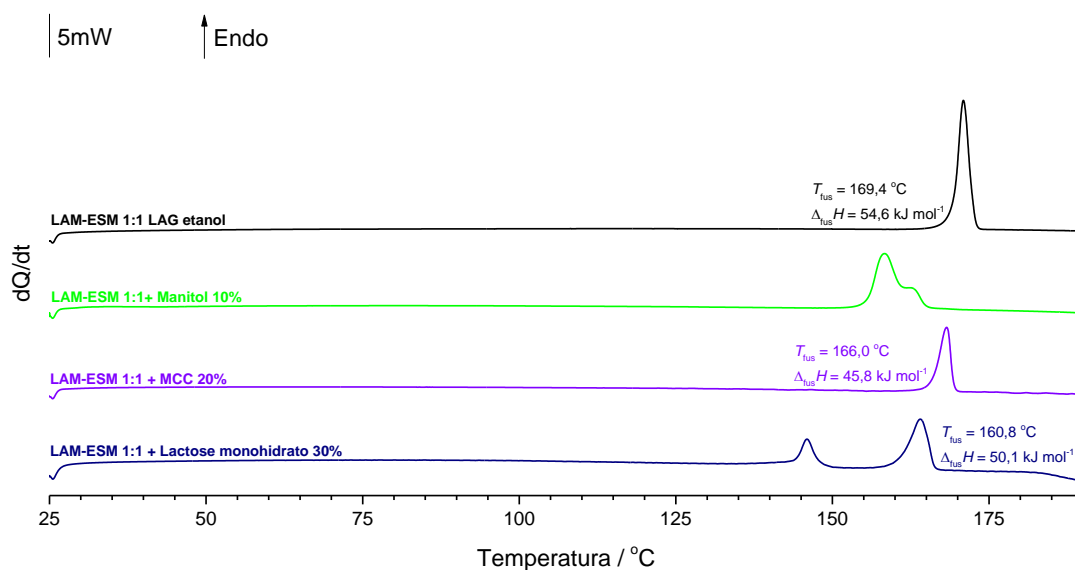


Figura 60. Curvas de DSC de aquecimento do cocrystal LAM-ESM 1:1 e das suas misturas com excipientes neutros, em proporções padrão ($\beta = 10\text{ °C/min.}$).

Como observado para o cocrystal DIF-ISO 1:1, os únicos excipientes que não causaram um abaixamento da temperatura de fusão do cocrystal LAM-ESM 1:1 foram o talco e o DCP, sendo que ambos são compatíveis com a lamotrigina.

Foi, também, realizado o estudo de misturas do cocrystal LAM-ESM 1:1 com 50 % de excipientes, mas desta vez só se realizou esse estudo com os excipientes que pareceram mais promissores, ou seja, com o talco e o DCP, estando as curvas de DSC representadas na Figura 61.

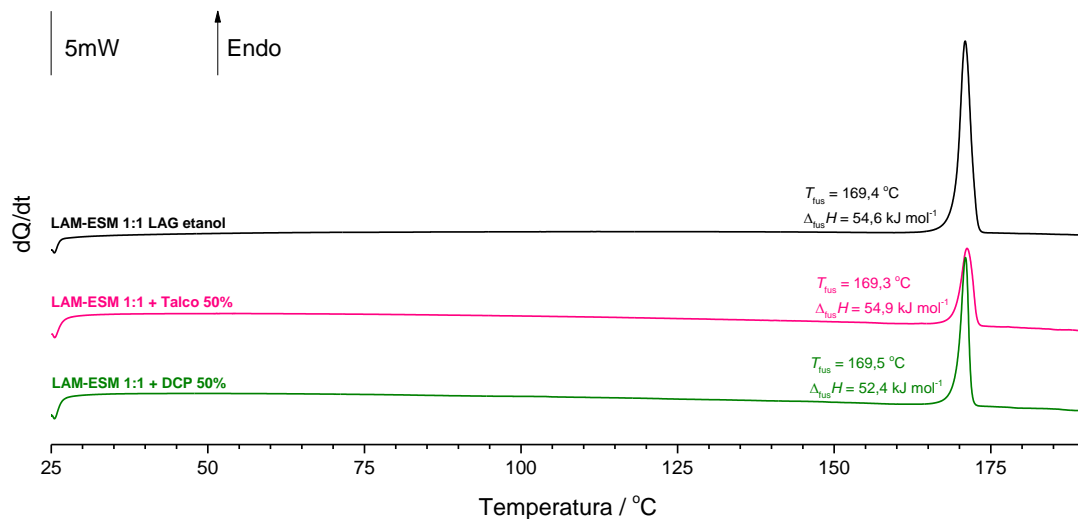


Figura 61. Curvas de DSC do cocrystal LAM-ESM 1:1 e da sua mistura com 50 % (m/m) de excipientes básicos ($\beta = 10$ °C/min.).

Podemos concluir que os resultados do sistema DIF-ISO 1:1 adequam-se ao sistema LAM-ESM.

3.5 Testes de estabilidade

Realizaram-se estudos de estabilidade acelerados, nas condições de 40 °C / 75 % HR, dos compostos de partida, dos cocristais e das misturas dos cocristais com 50 % de excipientes selecionados, após análise dos termogramas realizados.

Devido à escassez de tempo as cápsulas dos compostos puros apenas foram deixadas em câmaras de estabilidade durante um mês e meio. As cápsulas do sistema LAM-ESM e do sistema DIF-ISO permaneceram durante 2 e 3 meses, respetivamente. Todas as amostras foram caracterizadas, a cada 15 dias, por XRPD e por DSC, pois este é mais sensível à presença de água nas amostras.

3.5.1 Testes de estabilidade dos compostos de partida: diflunisal, lamotrigina, isoniazida e etossuximida

Após um período de mês e meio em câmara climática a 40 °C / 75 % HR, o diflunisal, a lamotrigina e a isoniazida não apresentaram quaisquer alterações na sua estrutura. Os difratogramas de raios-X de pó e as curvas de DSC de aquecimento encontram-se expostas em anexo nas Figuras A1 e A2 para o diflunisal, nas Figuras A3 e A4 para a lamotrigina e nas Figuras A5 e A6 para a isoniazida (Anexo I).

Por outro lado, verificou-se que, ao fim de 15 dias em condições aceleradas (40 °C / 75 % HR) a etossuximida liquefez, apesar de a sua temperatura de fusão ser entre 42 e 44 °C. Na Figura 62 encontra-se representada a curva de DSC da ESM cristalizada em câmara frigorífica, $T \approx 7$ °C, após a fusão.

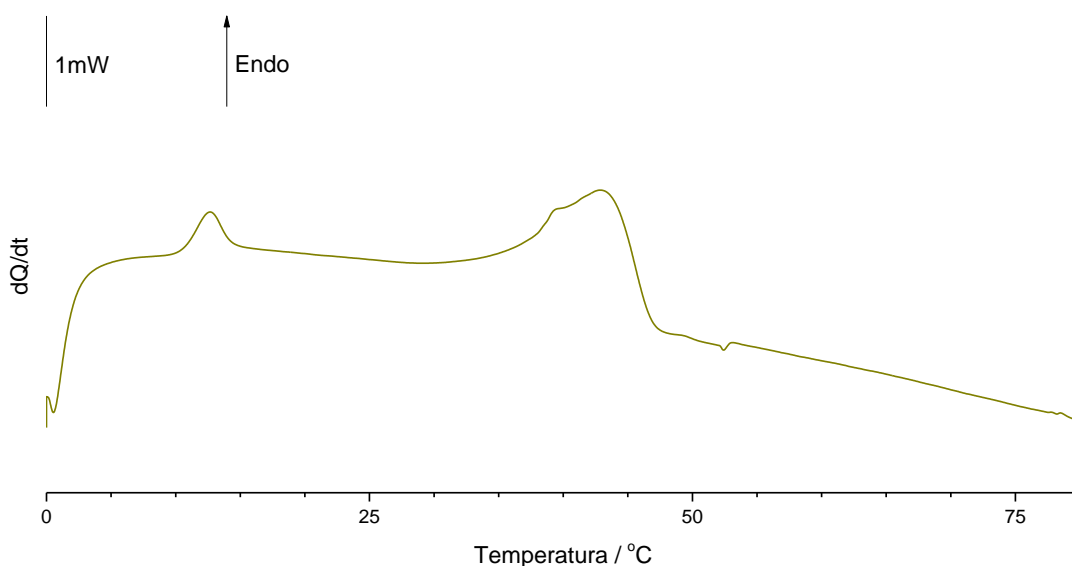


Figura 62. Curva de DSC de aquecimento da ESM cristalizada após fusão em câmara climática para estudos de estabilidade, 40 °C / 75 % HR ($\beta = 10$ °C/min.).

Pela análise do termograma podemos concluir que as amostras de etossuximida absorveram água durante os 15 dias dentro da câmara climática. Assim, o abaixamento da temperatura de fusão da etossuximida pode dever-se ao facto de a humidade relativa dentro da câmara climática ser muito elevada e de esta estar armazenada numa cápsula gelatinosa.

Foi ainda possível realizar a análise da ESM cristalizada em câmara frigorífica, $T \approx (5 \pm 3) ^\circ\text{C}$, após a fusão em câmara climática por difração de raios-X de pó, Figura 63. Ao comparar o difratograma de raios-X de pó da ESM que fundiu na câmara climática, com os dois polimorfos reportados neste trabalho é fácil de verificar que este é semelhante ao do polimorfo I. No entanto, algumas das reflexões mais intensas deste polimorfo não estão presentes na amostra cristalizada da câmara climática.

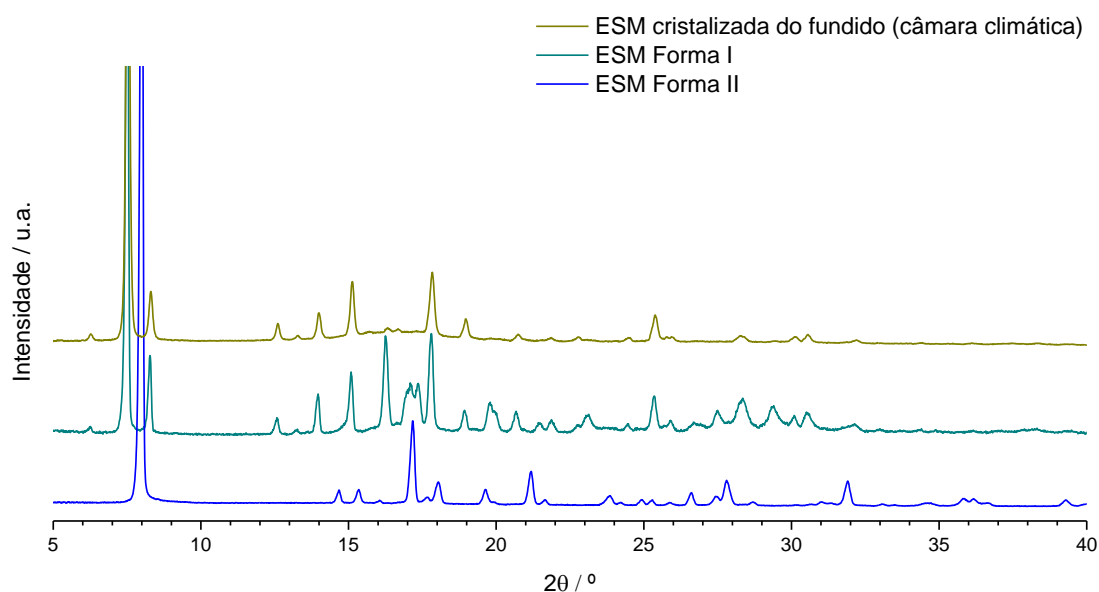


Figura 63. Difratogramas de raios-X de pó da ESM cristalizada após fusão em câmara climática, $40 ^\circ\text{C} / 75 \% \text{HR}$, e dos polimorfos I e II.

Como referido anteriormente, Osiecka *et al.* reportaram a existência de dois polimorfos da ESM obtidos por cristalização do fundido [93]. No entanto, apesar de o Cr_I corresponder ao polimorfo I obtido durante esta investigação, o Cr_{II} , referido por Osiecka *et al.*, cujo difratograma é também muito próximo do polimorfo I, não corresponde ao obtido através da cristalização após fusão em câmara climática, pelo que poderão existir mais polimorfos da ESM.

3.5.2 Testes de estabilidade do cocrystal DIF-ISO 1:1

Dos resultados obtidos no estudo das misturas de DIF-ISO 1:1 com os excipientes, por DSC, selecionou-se o talco e o DCP para avançar para os testes de estabilidade em câmaras climáticas, uma vez que foram aqueles que não causaram alterações na temperatura e entalpia de fusão. Apesar de o manitol apresentar incompatibilidade com o cocrystal a altas temperaturas, este foi, também, selecionado para os testes de estabilidade, de modo a comprovar se o mesmo acontecia a temperaturas mais baixas.

Foi, em primeiro lugar, estudada a estabilidade do cocrystal na ausência de excipientes. Da análise dos resultados presentes na Figura 64 pode afirmar-se que a estrutura do cocrystal permanece inalterada após 45 e 90 dias em câmara climáticas nas condições de 40 °C / 75 % HR.

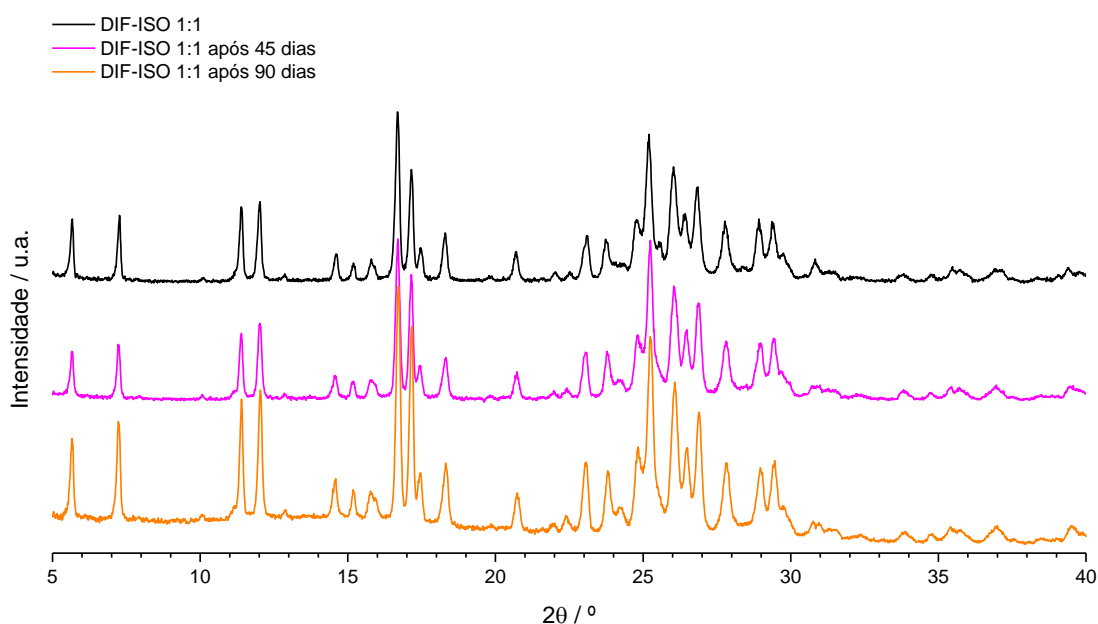


Figura 64. Difratograma de raios-X de pó do cocrystal DIF-ISO 1:1 após 45 e 90 dias em câmara de estabilidade a 40 °C / 75 % HR.

As curvas de DSC, Figura 65, mostram que a fusão do cocrystal ocorre à mesma temperatura quando o mesmo é sujeito a testes de estabilidade após 45 e 90 dias, nas condições de temperatura e humidade descritas. Os valores médios, obtidos ao longo dos 3 meses, para a temperatura e entalpia de fusão são $T_{fus} = (146,8 \pm 1,4) \text{ °C}$ e $\Delta_{fus}H = (46,2 \pm 1,7) \text{ kJ mol}^{-1}$.

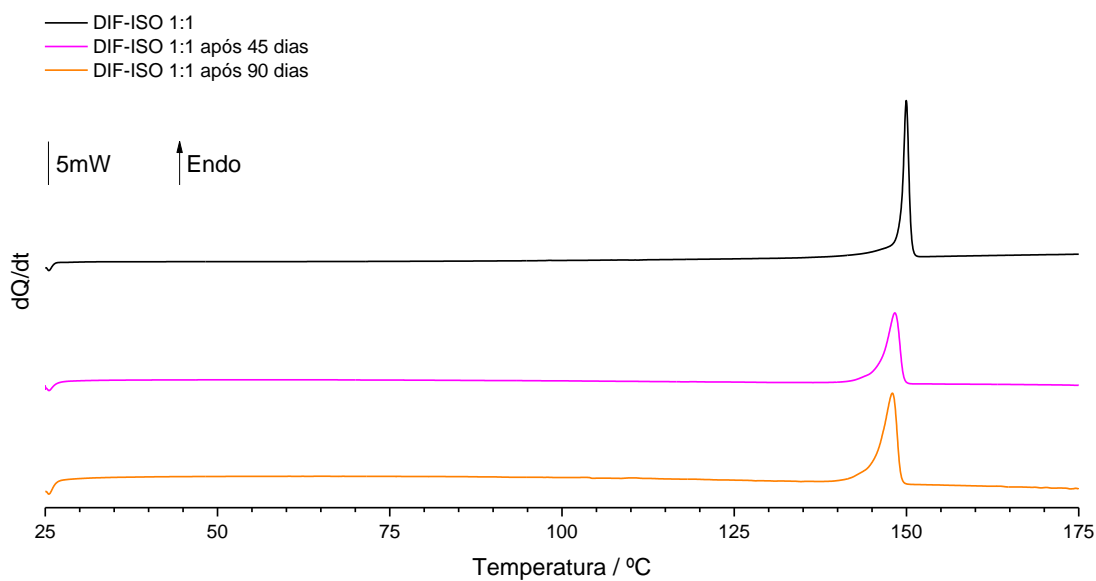


Figura 65. Curvas de DSC de aquecimento do cocrystal DIF-ISO 1:1 após 45 e 90 dias em câmara de estabilidade a 40 °C / 75 % HR ($\beta = 10$ °C/min.).

Todos os estudos realizados por XRPD e DSC para o cocrystal ao longo dos 3 meses em câmara climática encontram-se em anexo nas Figuras A7 e A8, respetivamente (Anexo II).

O cocrystal testado foi misturado com 50 % (m/m) de talco e a mistura sujeita a estudos de estabilidade nas condições descritas. Na Figura 66 encontra-se o XRPD da mistura que prova que não há interação entre o cocrystal e o excipiente.

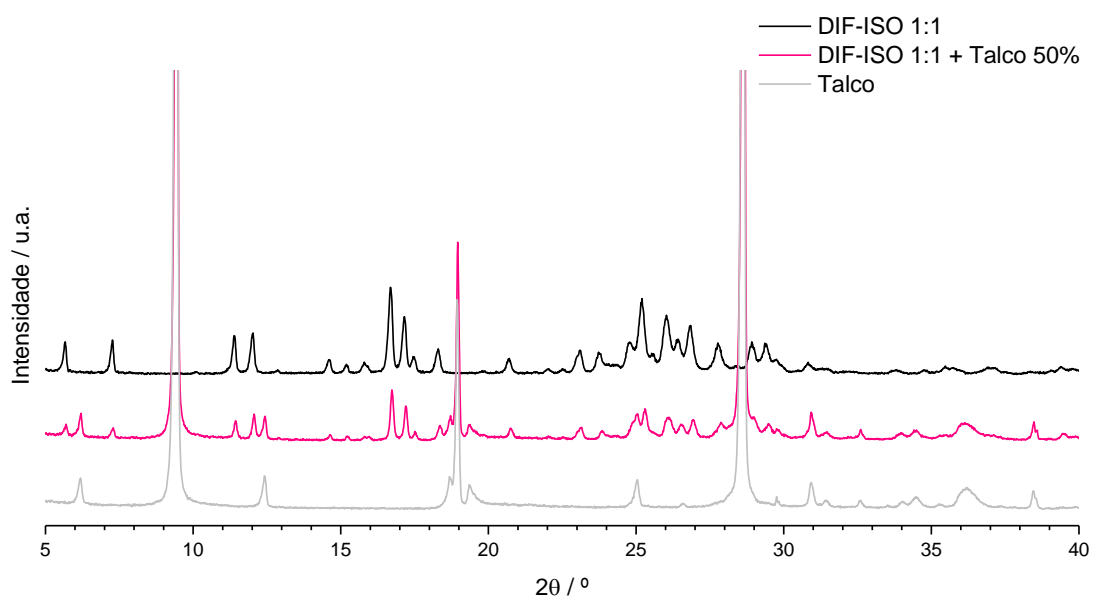


Figura 66. Difratograma de raios-X de pó da mistura de DIF-ISO 1:1, DIF-ISO 1:1 com 50 % (m/m) de talco e do talco.

A Figura 67 mostra que o difratograma de raios-X de pó não sofre qualquer alteração após 45 e 90 dias de tempo de estudo.

Na Figura 68 estão representadas as curvas de DSC que mostram a tendência de não alteração do comportamento do cocrystal na presença de 50 % de talco, após os testes de estabilidade já referidos, pois o pico de fusão é semelhante após 45 e 90 dias de estudo, sendo $T_{fus} = (146,0 \pm 0,5) \text{ } ^\circ\text{C}$ e $\Delta_{fus}H = (44,0 \pm 2,6) \text{ kJ mol}^{-1}$.

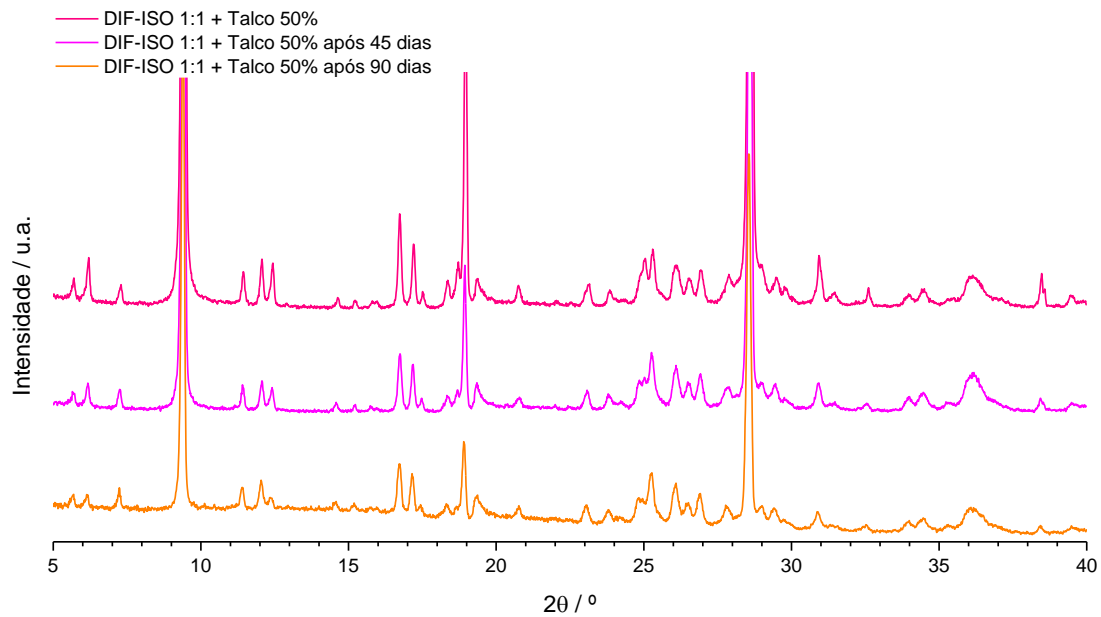


Figura 67. Difratoograma de raios-X de pó do cocrystal DIF-ISO 1:1 com 50 % (m/m) de talco após 45 e 90 dias em câmara de estabilidade a 40 °C / 75 % HR.

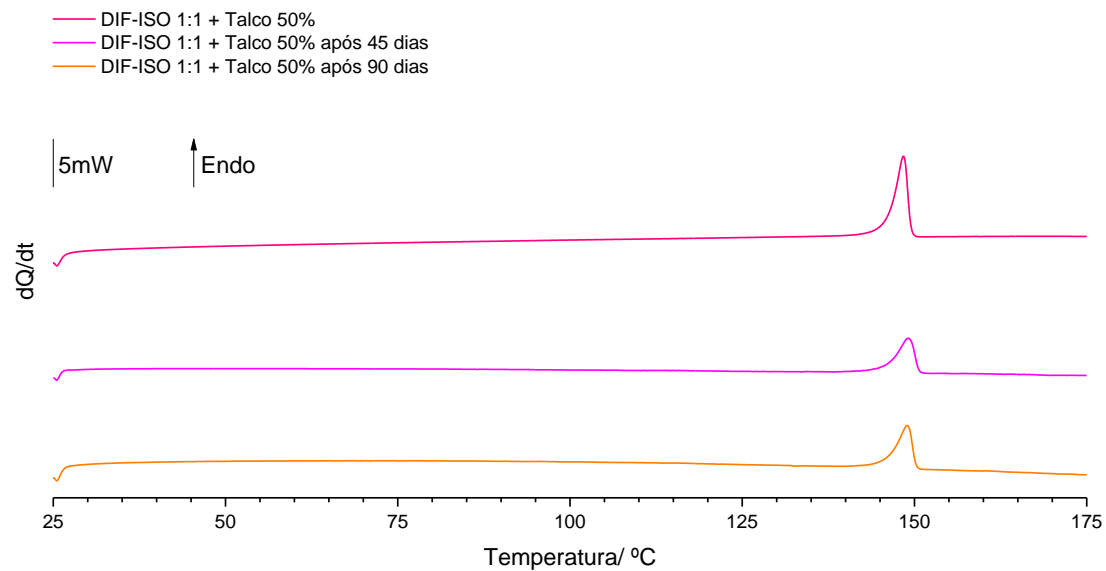


Figura 68. Curvas de DSC de aquecimento do cocrystal DIF-ISO 1:1 com 50 % (m/m) de talco após 45 e 90 dias em câmara de estabilidade a 40 °C / 75 % HR ($\beta = 10$ °C/min.).

A Figura A9 e a Figura A10 em anexo (Anexo II) representa os difratogramas de raios-X de pó e as curvas de DSC da mistura DIF-ISO 1:1 + talco 50 % ao longo do 3 meses.

Quando se mistura o cocrystal com 50 % de DCP, e após o estudo de estabilidade, os resultados obtidos por XRPD mostram que não há qualquer interação, Figura 69.

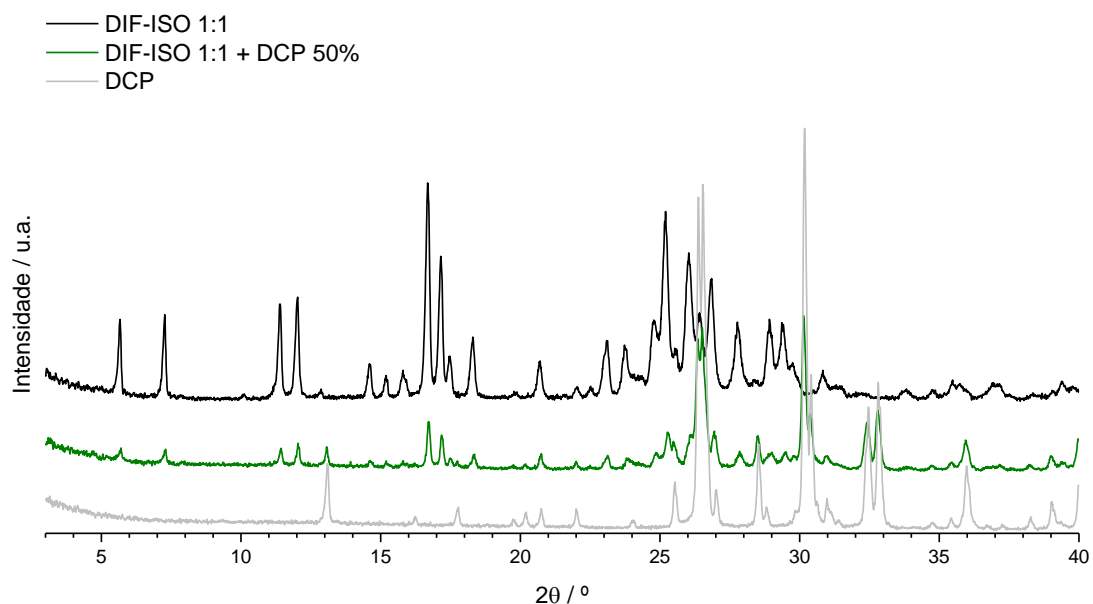


Figura 69. Difratograma de raios-X de pó da mistura de DIF-ISO 1:1, DIF-ISO 1:1 com 50 % (m/m) de DCP e do DCP.

Os difratogramas de raios-X de pó e as curvas DSC, Figura 70 e 71, respetivamente, são semelhantes aos observados para a mistura de DIF-ISO 1:1 + Talco 50 %. Os resultados recolhidos ao longo dos 3 meses encontram-se em anexo, Figura A11 e Figura A12 (Anexo II).

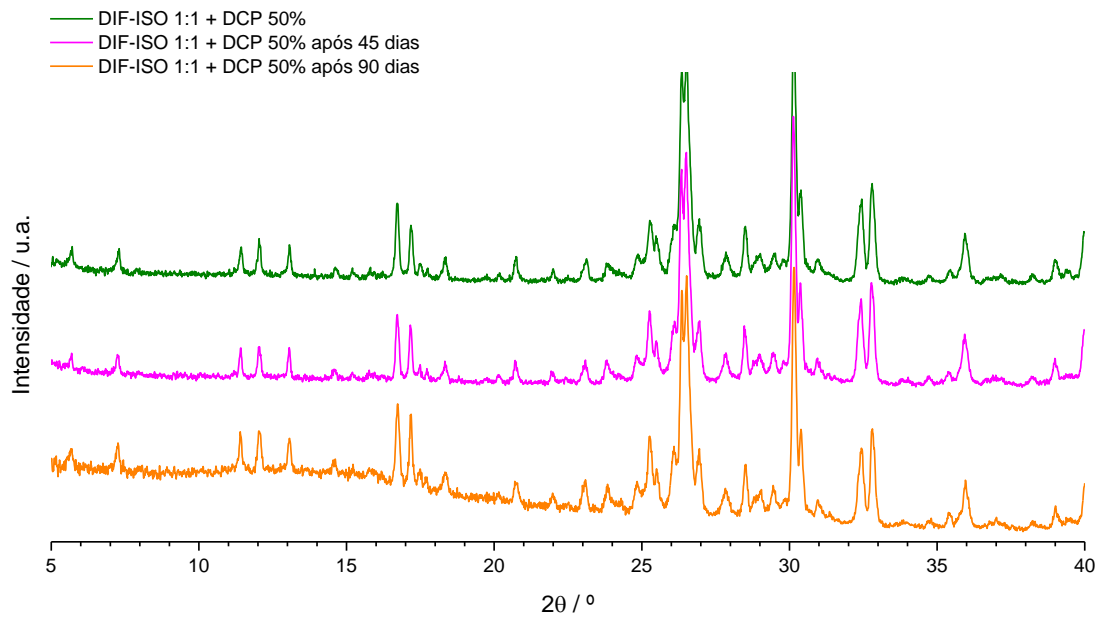


Figura 70. Difratoograma de raios-X de pó do cocrystal DIF-ISO 1:1 com 50 % (m/m) de DCP após 45 e 90 dias em câmara de estabilidade a 40 °C / 75 % HR.

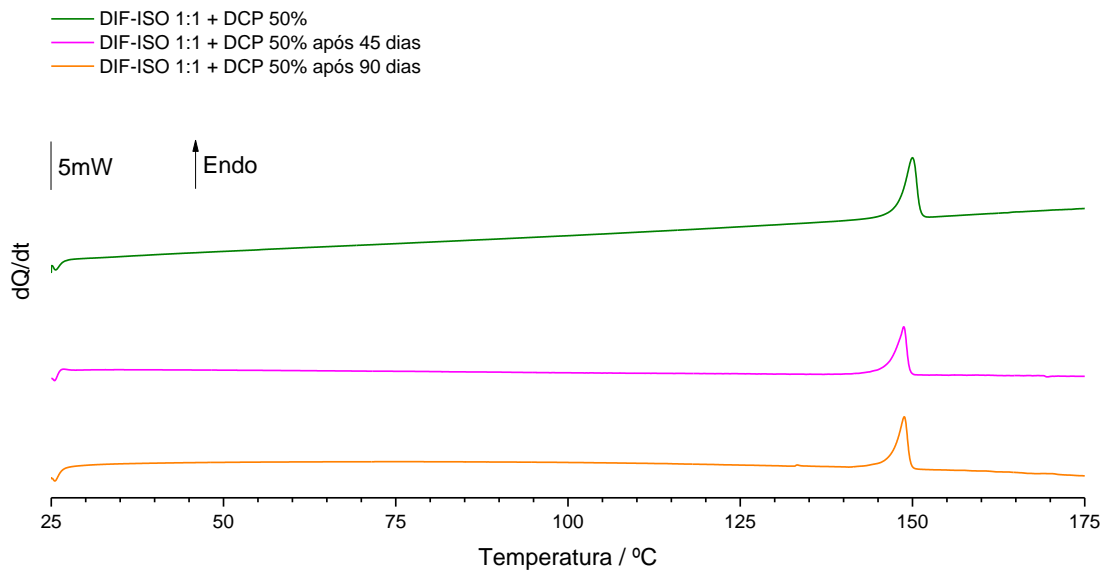


Figura 71. Curvas de DSC de aquecimento do cocrystal DIF-ISO 1:1 com 50 % (m/m) de DCP após 45 e 90 dias em câmara de estabilidade a 40 °C / 75 % HR ($\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C/min.}$).

O cocrystal mantém a sua estrutura inalterada, pois os difratogramas de raios-X de pó e as curvas de DSC, com $T_{fus} = (146,9 \pm 0,5) \text{ } ^\circ\text{C}$ e $\Delta_{fus}H = (44,7 \pm 3,3) \text{ kJ mol}^{-1}$, são semelhantes ao observado para o tempo 0 do teste de estabilidade. Não há incompatibilidade com 50 % de DCP como excipiente.

De modo a comprovar se a incompatibilidade do cocrystal com o manitol se verificava à temperatura ambiente procedeu-se ao estudo da mistura com 50 % de excipiente por XRPD, Figura 72.

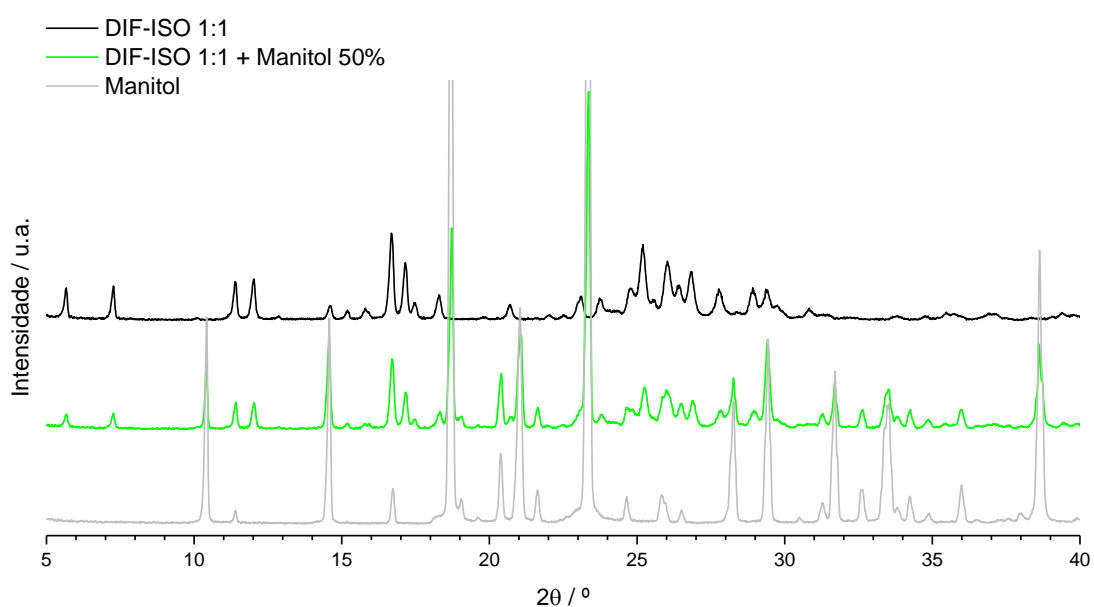


Figura 72. Difratograma de raios-X de pó da mistura de DIF-ISO 1:1, DIF-ISO 1:1 com 50 % (m/m) de manitol e do manitol.

A análise do difratograma de raios-X de pó mostra que não ocorre qualquer tipo de interação entre o cocrystal e o manitol, uma vez que todas as reflexões que se observam no difratograma da mistura são a soma das reflexões do cocrystal com as do manitol.

Assim, a mistura foi colocada em câmara climática e analisada por XRPD e DSC, Figura 73 e Figura 74, respetivamente. Os difratogramas de raios-X de pó e as curvas de DSC ao longo de todo o tempo de estudo encontram-se expostos em anexo nas Figuras A13 e A14, respetivamente (Anexo II).

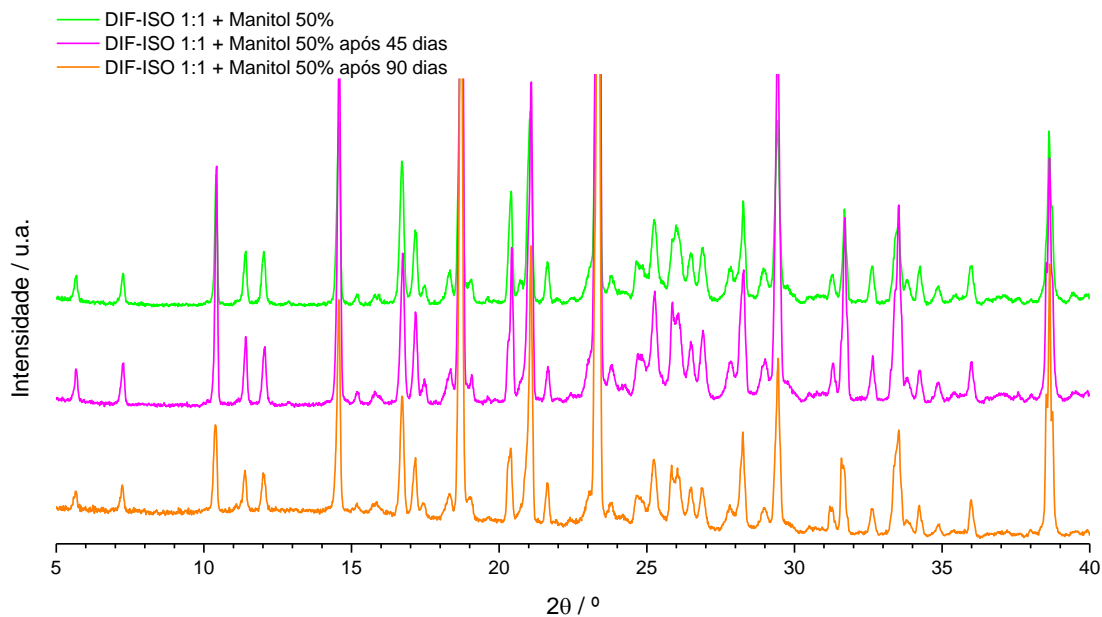


Figura 73. Difratograma de raios-X de pó do cocrystal DIF-ISO 1:1 com 50 % (m/m) de manitol após 45 e 90 dias em câmara de estabilidade a 40 °C / 75 % HR.

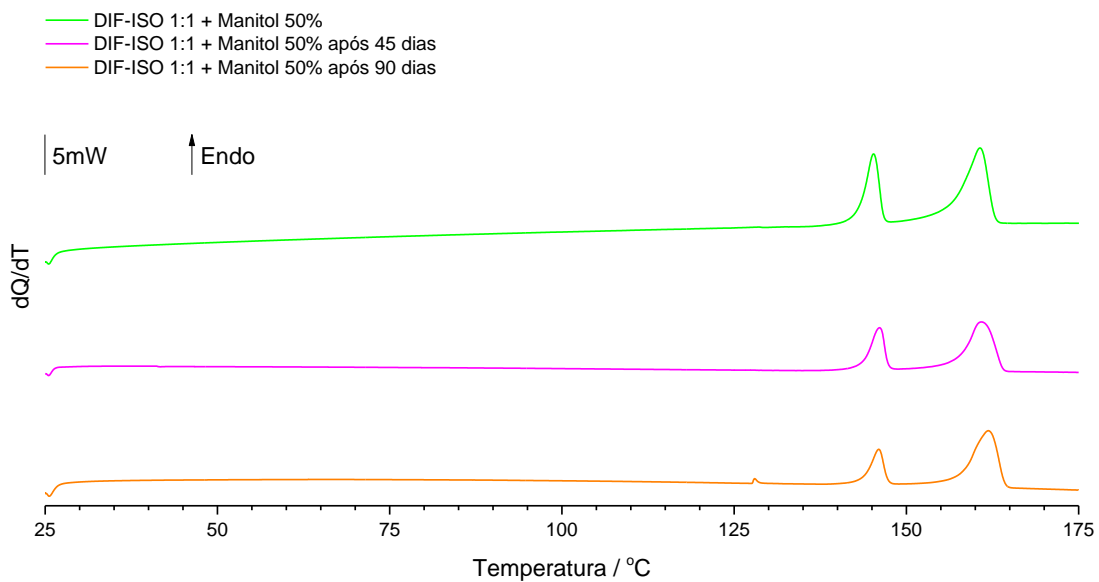


Figura 74. Curvas de DSC do cocrystal DIF-ISO 1:1 com 50 % (m/m) de manitol após 45 e 90 dias em câmara de estabilidade a 40 °C / 75 % HR ($\beta = 10$ °C/min.).

Após 3 meses de estudos acelerados de estabilidade verificou-se que não ocorreu qualquer alteração na mistura, concluindo-se, assim, que a incompatibilidade com este excipiente apenas se observa a altas temperaturas e a sua utilização é segura a temperaturas mais baixas.

Na Tabela 7 encontram-se resumidos os resultados obtidos após o estudo de estabilidade do sistema DIF-ISO 1:1 com os excipientes selecionados.

Tabela 7. Resumo dos resultados obtidos no estudo de compatibilidade e da estabilidade do cocrystal DIF-ISO 1:1 com diferentes excipientes.

	Compatibilidade		Estabilidade (40 °C / 75 % HR, 3 meses)
	DSC	XRPD	
DIF-ISO 1:1 + Manitol	Não	Sim	Sim
DIF-ISO 1:1 + MCC	Não	-	-
DIF-ISO 1:1 + Talco	Sim	Sim	Sim
DIF-ISO 1:1 + Alginato de sódio	Não	-	-
DIF-ISO 1:1 + MgSte	Não	-	-
DIF-ISO 1:1 + Lactose monohidrato	Não	-	-
DIF-ISO 1:1 + DCP	Sim	Sim	Sim
DIF-ISO 1:1 + CCS	Não	-	-
DIF-ISO 1:1 + Ácido adípico	Não	-	-
DIF-ISO 1:1 + Ácido itacónico	Não	-	-

Concluiu-se, assim, que o cocrystal é estável até mesmo na presença destes três excipientes e em quantidades mássicas significativas.

3.5.3 Testes de estabilidade do cocrystal LAM-ESM 1:1

Dado que apenas o talco e o DCP não causaram alterações na temperatura de fusão do cocrystal, as misturas que contêm esses excipientes foram as selecionadas para os testes de estabilidade em câmaras climáticas.

Da leitura dos difratogramas de raios-X de pó, Figura 75, conclui-se que o cocrystal, após 30 e 60 dias de estudos de estabilidade, não revelou alteração de estrutura.

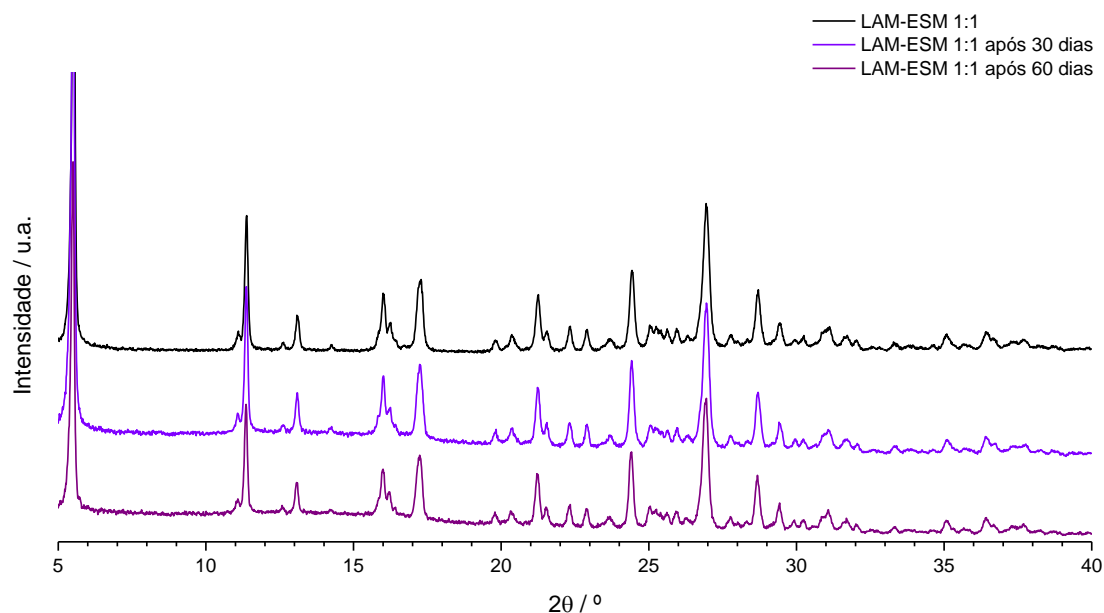


Figura 75. Difratoograma de raios-X de pó do cocrystal LAM-ESM 1:1 após 30 e 60 dias em câmara de estabilidade a 40 °C / 75 % HR.

As curvas de DSC representadas na Figura 76 mostram que a temperatura de fusão do cocrystal se mantém invariável ao longo de 2 meses, $T_{fus} = (169,6 \pm 0,2)$ °C e $\Delta_{fus}H = (56,0 \pm 1,4)$ kJ mol⁻¹.

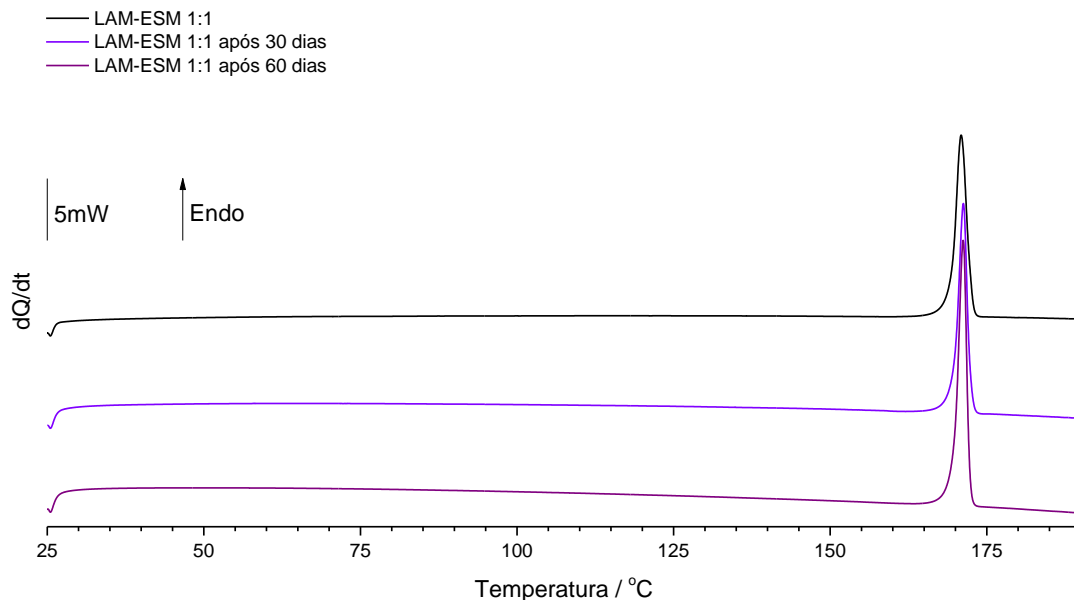


Figura 76. Curvas de DSC de aquecimento do cocrystal LAM-ESM 1:1 após 30 e 60 dias em câmara de estabilidade a 40 °C / 75 % HR ($\beta = 10$ °C/min.).

A análise destes resultados permite concluir que as ligações de hidrogénio formadas entre a lamotrigina e a etossuximida conferem estabilidade à ESM, pois aquando dos estudos de estabilidade ao composto puro durante 15 dias esta fundiu. Os estudos completos estão expostos em anexo, Figura A15 e Figura A16 (Anexo III).

Após mistura de LAM-ESM 1:1 com 50 % de talco não foi observada qualquer alteração no espetro de raios-X de pó, Figura 77.

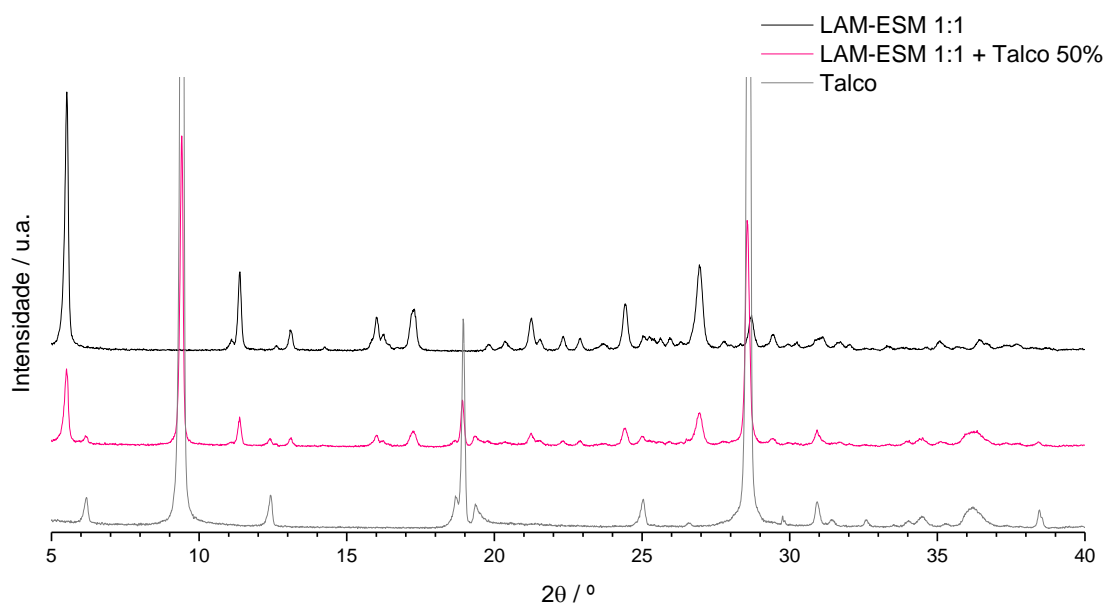


Figura 77. Difratoograma de raios-X de pó da mistura de LAM-ESM 1:1, LAM-ESM 1:1 com 50 % (m/m) de talco e do talco.

Assim, prosseguiu-se com os estudos de estabilidade em câmara climática. Os XRPD e os termogramas de DSC após 30 e 60 dias encontram-se nas Figuras 78 e 79 e o seu estudo completo apresentado em anexo, Figura A17 e Figura A18 (Anexo III).

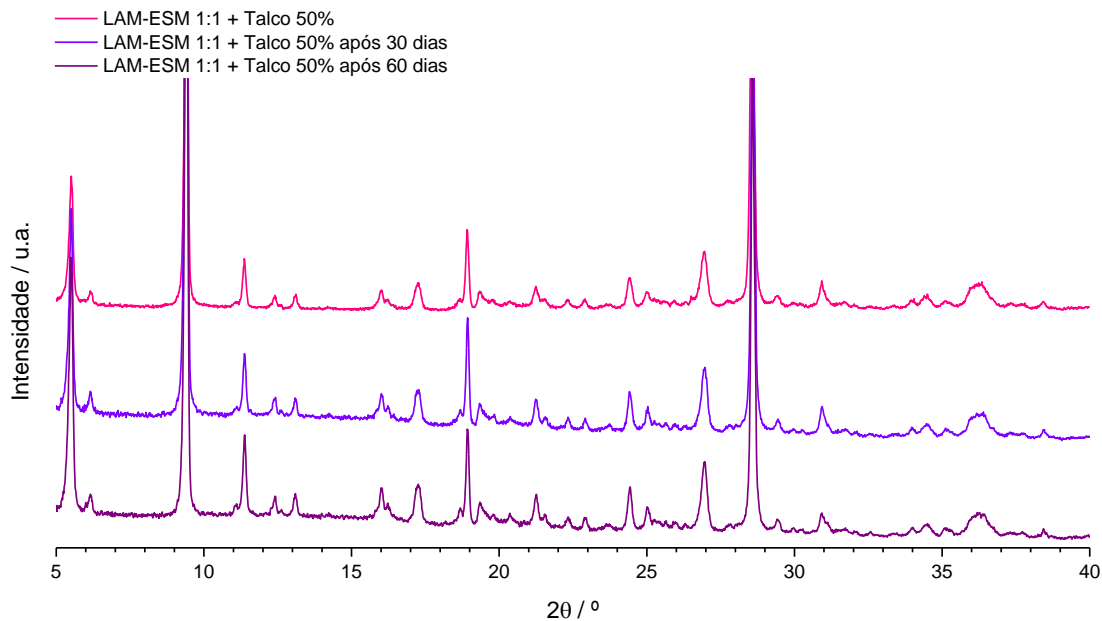


Figura 78. Difratoograma de raios-X de pó do cocristal LAM-ESM 1:1 com 50 % (m/m) de talco após 30 e 60 dias em câmara de estabilidade a 40 °C / 75 % HR.

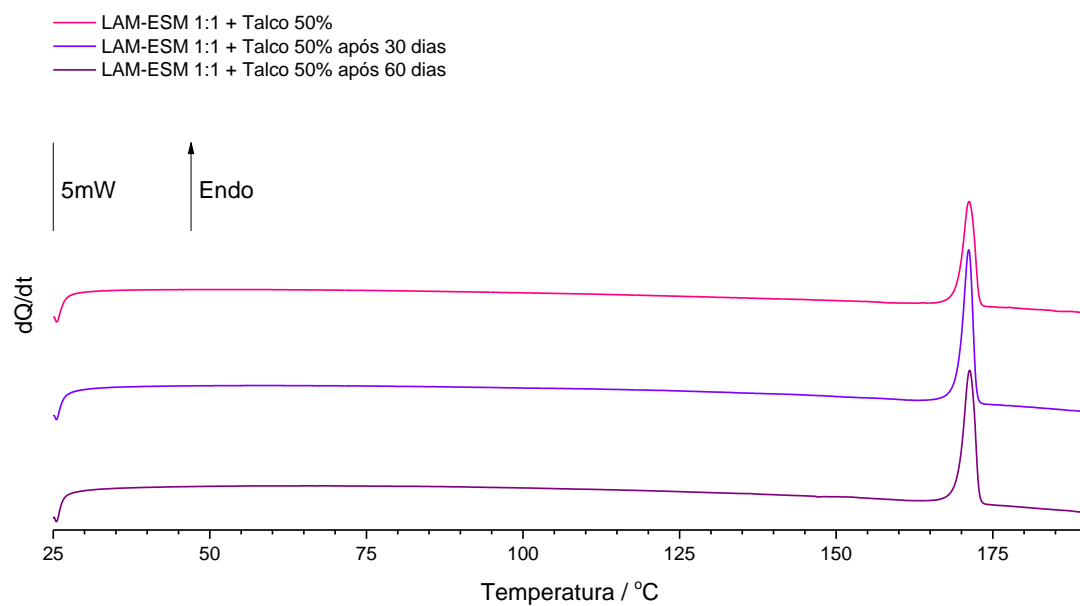


Figura 79. Curvas de DSC de aquecimento do cocristal LAM-ESM 1:1 com 50 % (m/m) de talco após 30 e 60 dias em câmara de estabilidade a 40 °C / 75 % HR ($\beta = 10$ °C/min.).

Após 2 meses em câmara climática obtiveram-se os seguintes valores médios para a temperatura e entalpia de fusão, $T_{fus} = (169,3 \pm 0,1) \text{ }^\circ\text{C}$ e $\Delta_{fus}H = (56,2 \pm 1,8) \text{ kJ mol}^{-1}$, respetivamente. Os resultados permitem concluir que, realmente, não houve alteração da mistura em estudo.

O difratograma de raios-X de pó, Figura 80 permite concluir que a mistura do cocristal LAM-ESM 1:1 com 50 % de DCP não apresenta incompatibilidade.

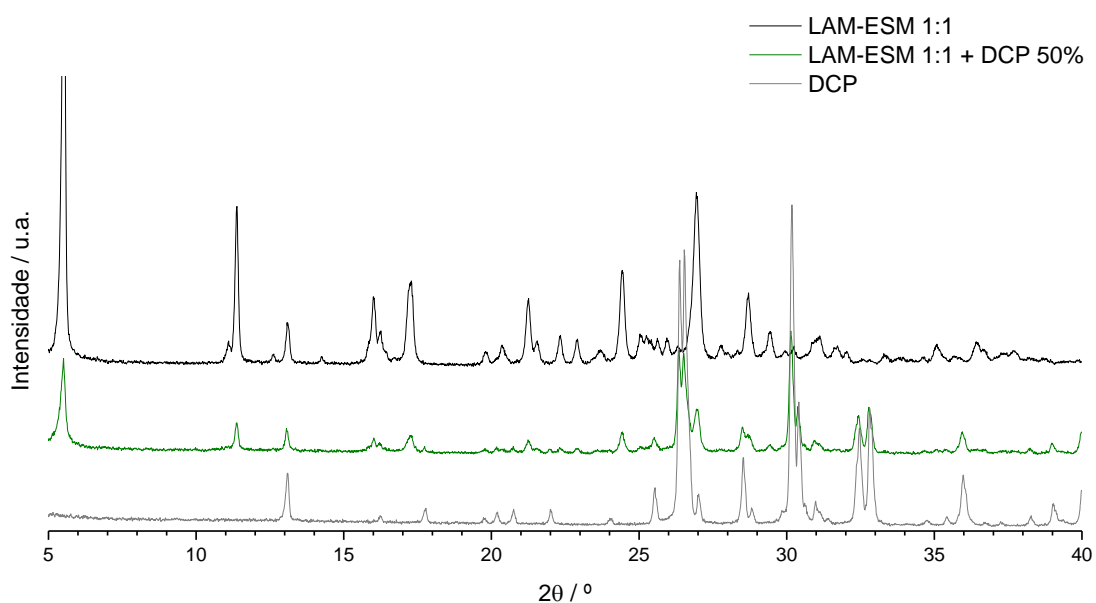


Figura 80. Difratograma de raios-X de pó da mistura de LAM-ESM 1:1, LAM-ESM 1:1 com 50 % (m/m) de DCP e do talco.

Quando sujeito a estudos de estabilidade, através da análise por XRPD, Figura 81, pode retirar-se como conclusão a não interferência do excipiente.

Ao longo do período em que o cocristal LAM-ESM 1:1 + DCP 50 % foi submetido a testes de estabilidade foram, também, realizados estudos por DSC, Figura 82. Esta análise, mais sensível que a análise realizada por XRPD, corrobora a conclusão retirada anteriormente. Os valores médios obtidos são $T_{fus} = (169,4 \pm 0,1) \text{ }^\circ\text{C}$ e $\Delta_{fus}H = (54,1 \pm 0,9) \text{ kJ mol}^{-1}$.

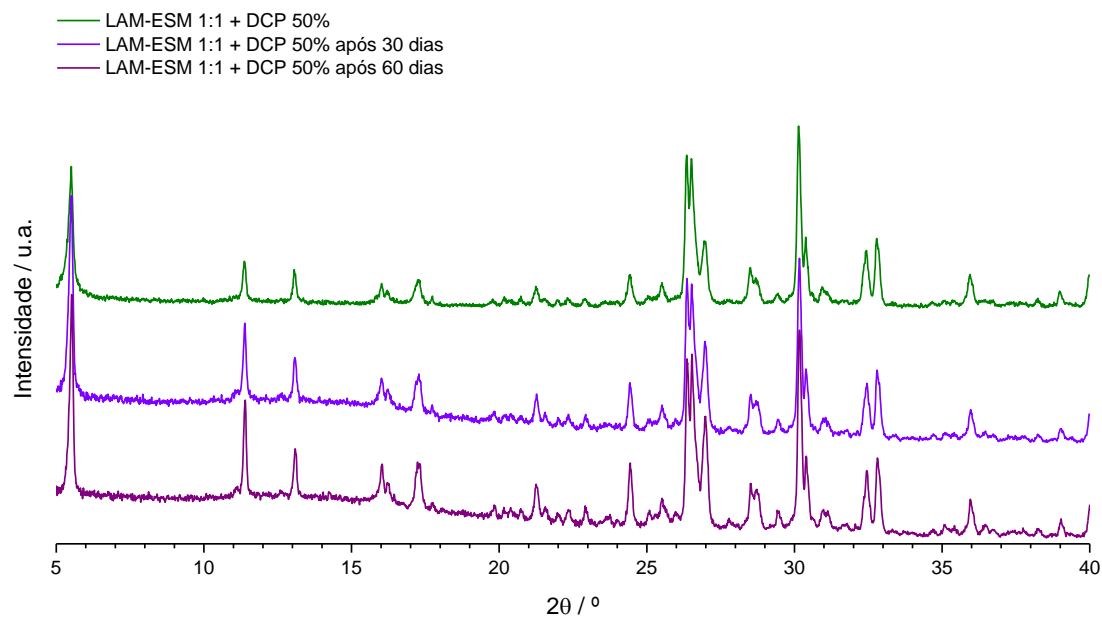


Figura 81. Difratoograma de raios-X de pó do cocristal LAM-ESM 1:1 com 50 % (m/m) de DCP após 30 e 60 dias em câmara de estabilidade a 40 °C / 75 % HR.

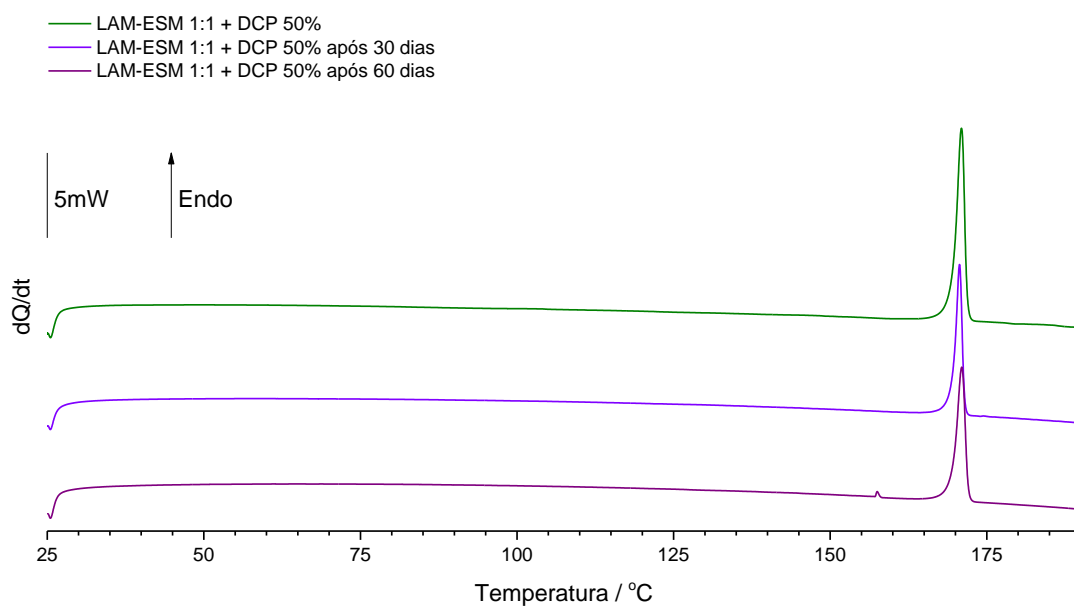


Figura 82. Curvas de DSC de aquecimento do cocristal LAM-ESM 1:1 com 50 % (m/m) de DCP após 30 e 60 dias em câmara de estabilidade a 40 °C / 75 % HR ($\beta = 10$ °C/min.).

Os estudos levados a cabo durante um período de 2 meses por XRPD e DSC encontram-se apresentados em anexo, Figura A19 e Figura A20, respetivamente (Anexo III).

Nas condições deste estudo, tanto o cocrystal LAM-ESM puro como o cocrystal com 50 % de talco e DCP se mantêm estáveis ao longo de, pelo menos, 2 meses, tal como resumido na Tabela 8. Em caso de instabilidade poderia haver algumas reflexões dos compostos puros, o que não se verifica.

Tabela 8. Resumo dos resultados obtidos no estudo da compatibilidade e estabilidade do cocrystal LAM-ESM 1:1 com diferentes excipientes.

	Compatibilidade		Estabilidade (40 °C / 75 % HR, 2 meses)
	DSC	XRPD	
LAM-ESM 1:1 + Manitol	Não	-	-
LAM-ESM 1:1 + MCC	Não	-	-
LAM-ESM 1:1 + Talco	Sim	Sim	Sim
LAM-ESM 1:1 + Alginato de sódio	Não	-	-
LAM-ESM 1:1 + MgSte	Não	-	-
LAM-ESM 1:1 + Lactose monohidrato	Não	-	-
LAM-ESM 1:1 + DCP	Sim	Sim	Sim
LAM-ESM 1:1 + CCS	Não	-	-
LAM-ESM 1:1 + Ácido adípico	Não	-	-
LAM-ESM 1:1 + Ácido itacónico	Não	-	-

Dos resultados obtidos conclui-se que os dois excipientes testados são seguros para utilização em formulações farmacêuticas com o cocrystal LAM-ESM 1:1.

Capítulo 4

Conclusões e

Perspetivas futuras

Capítulo 4

Conclusões e Perspetivas Futuras

A estabilidade de cocrystal farmacêuticos na presença de excipientes encontra-se ainda pouco estudada, sendo essencial no desenvolvimento de formulações envolvendo estas formas sólidas. Através desta investigação estudou-se a compatibilidade e a estabilidade de cocrystal farmacêuticos formados por dois APIs, um de carácter ácido, diflunisal, outro básico, lamotrigina, e coformadores básicos, com diversos excipientes. Os sistemas API+coformador foram escolhidos por forma a obter cocrystal com potencial para a terapia dual.

A caracterização dos APIs utilizados neste trabalho permitiu a identificação de dois polimorfos da etossuximida, sendo que o obtido por moagem assistida por etanol, polimorfo II, não se encontra ainda descrito na literatura. O polimorfo obtido por cristalização do fundido, o polimorfo I, parece corresponder à forma Cr₁ descrita por Osiecka *et al.* [93].

Começou-se por estudar um cocrystal já investigado anteriormente, o cocrystal DIF-ISO 1:1. Dada a necessidade de obtenção de grandes quantidades de cocrystal para estudos de estabilidade em câmaras climáticas, foi possível realizar a transposição de escala através da cristalização em etanol, dada a natureza congruente do diagrama de fases ternário, tendo-se obtido um rendimento de 66 %.

Foi ainda estudada a possibilidade de obtenção de um cocrystal de diflunisal com etossuximida. No entanto, apenas se obteve uma mistura eutética, composta maioritariamente por etossuximida, pelo que a sua utilização não seria útil.

Um novo cocrystal na proporção de 1:1, formado por dois anticonvulsivantes, a lamotrigina e a etossuximida, foi investigado. É possível obter este cocrystal quer por NG, quer por LAG, assistida por etanol.

De seguida, procedeu-se aos estudos de compatibilidade dos cocrystal obtidos com excipientes básicos, ácidos e neutros e com diferentes funções farmacêuticas, por DSC, em proporções padrão e em excesso, 50 %. Concluiu-se, assim, que a incompatibilidade registada não se deve ao carácter ácido/base das espécies em estudo, uma vez que não existe água no meio para mediar a troca de prótons, mas sim à miscibilidade em fase líquida. Para além disto, foi possível perceber que para que o cocrystal seja compatível com um excipiente é necessário

que ambos os seus componentes também o sejam. Assim, a altas temperaturas, ambos os cocrystal foram apenas compatíveis com o talco e o DCP, excipientes básicos e inorgânicos.

Os estudos de estabilidade foram realizados em condições aceleradas, 40 °C / 75 % HR, e foram acompanhados por análises de XRPD e DSC a cada 15 dias, para os APIs e os cocrystal, com e sem excipientes. O diflunisal, a lamotrigina e a isoniazida mantiveram-se estáveis após um período de um mês e meio em câmara climática. Por outro lado, a etossuximida fundiu ao fim de 15 dias nas mesmas condições, tendo-se obtido um novo polimorfo, com difratograma de raios-X de pó semelhante ao do polimorfo I, após cristalização do fundido.

O cocrystal DIF-ISO 1:1 manteve-se estável ao fim de 3 meses de testes. As misturas deste cocrystal com o talco e o DCP, excipientes selecionados devido aos estudos de compatibilidade a alta temperatura, também são estáveis durante o mesmo período de tempo e sob as mesmas condições. De modo a perceber se a incompatibilidade registada a altas temperaturas também se verificava a temperaturas mais baixas, foi também selecionado o manitol. Concluiu-se, assim, que o cocrystal é estável na presença deste excipiente.

Apesar da etossuximida pura não ser estável nas condições de ensaio, o cocrystal LAM-ESM 1:1 é estável durante, pelo menos, 2 meses. Assim, podemos concluir que as ligações de hidrogénio entre estes dois APIs conferem estabilidade à etossuximida. Como observado para o cocrystal DIF-ISO 1:1, apenas o talco e o DCP mostraram compatibilidade a altas temperaturas. Os estudos de estabilidade comprovam que não há qualquer interação entre o cocrystal e os excipientes ao fim de 2 meses.

Num estudo futuro, seria de todo o interesse realizar testes de estabilidade com alguns dos excipientes ácidos e neutros que não se mostraram compatíveis com os cocrystal, a altas temperaturas. Será, também, importante avaliar propriedades como a velocidade de dissolução intrínseca dos cocrystal, na ausência e na presença dos excipientes, comparando-a com a dos ativos. Por fim, seria importante avaliar o efeito farmacológico, em modelo animal, dos dois cocrystal investigados numa perspetiva de terapia dual.

Referências Bibliográficas

Referências Bibliográficas

- [1] Lee, A.Y., D. Erdemir, and A.S. Myerson, *Crystal Polymorphism in Chemical Process Development*. Annual Review of Chemical and Biomolecular Engineering, 2011. **2**(1): p. 259-280.
- [2] Cerreia Vioglio, P., M.R. Chierotti, and R. Gobetto, *Pharmaceutical aspects of salt and cocrystal forms of APIs and characterization challenges*. Advanced Drug Delivery Reviews, 2017. **117**: p. 86-110.
- [3] Halebian, J. and W. McCrone, *Pharmaceutical Applications of Polymorphism*. Journal of Pharmaceutical Sciences, 1969. **58**(8): p. 911-929.
- [4] Aitipamula, S., et al., *Polymorphs, Salts, and Cocrystals: What's in a Name?* Crystal Growth & Design, 2012. **12**(5): p. 2147-2152.
- [5] Healy, A.M., et al., *Pharmaceutical solvates, hydrates and amorphous forms: A special emphasis on cocrystals*. Advanced Drug Delivery Reviews, 2017. **117**: p. 25-46.
- [6] Almarsson, Ö. and M.J. Zaworotko, *Crystal engineering of the composition of pharmaceutical phases. Do pharmaceutical co-crystals represent a new path to improved medicines?* Chemical Communications, 2004. **2004**(17): p. 1889-1896.
- [7] Duggirala, N., et al., *Pharmaceutical Cocrystals: Along the Path to Improved Medicines*. Chemical Communications (Cambridge, England), 2016. **52**(4): p. 640-655.
- [8] Gibson, M. *Pharmaceutical Preformulation and Formulation: A Practical Guide from Candidate Drug Selection to Commercial Dosage Form*. 2001.
- [9] Thayer, A.M., *FINDING SOLUTIONS*. Chemical & Engineering News Archive, 2010. **88**(22): p. 13-18.
- [10] Kavanagh, O.N., et al., *Pharmaceutical cocrystals: from serendipity to design to application*. Drug Discovery Today, 2019. **24**(3): p. 796-804.
- [11] Bolla, G. and A. Nangia, *Pharmaceutical cocrystals: walking the talk*. Chemical Communications, 2016. **52**(54): p. 8342-8360.
- [12] Bhattacharya, S., K.S. Peraka, and M.J. Zaworotko, *Chapter 2 - The Role of Hydrogen Bonding in Co-crystals*, in *Co-crystals: Preparation, Characterization and Applications*. 2018, The Royal Society of Chemistry. p. 33-79.

- [13] Amidon, G.L., et al., *A Theoretical Basis for a Biopharmaceutic Drug Classification: The Correlation of in Vitro Drug Product Dissolution and in Vivo Bioavailability*. *Pharmaceutical Research*, 1995. **12**(3): p. 413-420.
- [14] Childs, S.L., et al., *Crystal Engineering Approach To Forming Cocrystals of Amine Hydrochlorides with Organic Acids. Molecular Complexes of Fluoxetine Hydrochloride with Benzoic, Succinic, and Fumaric Acids*. *Journal of the American Chemical Society*, 2004. **126**(41): p. 13335-13342.
- [15] Goud, N.R., et al., *Novel Furosemide Cocrystals and Selection of High Solubility Drug Forms*. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2012. **101**(2): p. 664-680.
- [16] Thipparaboina, R., et al., *Multidrug co-crystals: towards the development of effective therapeutic hybrids*. *Drug Discovery Today*, 2016. **21**(3): p. 481-490.
- [17] Žegarac, M., et al., *A sildenafil cocrystal based on acetylsalicylic acid exhibits an enhanced intrinsic dissolution rate*. *CrystEngComm*, 2014. **16**(1): p. 32-35.
- [18] Kale, D.P., S.S. Zode, and A.K. Bansal, *Challenges in Translational Development of Pharmaceutical Cocrystals*. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2017. **106**(2): p. 457-470.
- [19] Almansa, C., et al., *Co-crystal of Tramadol Hydrochloride–Celecoxib (ctc): A Novel API–API Co-crystal for the Treatment of Pain*. *Crystal Growth & Design*, 2017. **17**(4): p. 1884-1892.
- [20] Adeyeye, M. and H. Brittain. *Preformulation in Solid Dosage Form Development*. 2008.
- [21] Darji, M.A., et al., *Excipient Stability in Oral Solid Dosage Forms: A Review*. *AAPS PharmSciTech*, 2018. **19**(1): p. 12-26.
- [22] T P, A., S. Sekhar, and J. K, *Emerging Role of Excipients in the Pharmaceutical Industry*. *Pharma Bio World*, 2008: p. 63-66.
- [23] Jr, A. and H.C. Ansel, *Ansel's pharmaceutical dosage forms and drug delivery systems, 10th edition*, W.K. Health, Editor. 2014: Baltimore, MD. Chapter 4. p. 150-155.
- [24] *Pharmaceutical Excipients*. [10/07/2020]; Available from: <https://www.americanpharmaceuticalreview.com/25335-Pharmaceutical-Raw-Materials-and-APIs/25283-Pharmaceutical-Excipients/>.
- [25] Duggirala, N.K., et al., *Mechanistic Insight into Caffeine–Oxalic Cocrystal Dissociation in Formulations: Role of Excipients*. *Molecular Pharmaceutics*, 2017. **14**(11): p. 3879-3887.

- [26] Koranne, S., et al., *Challenges in Transitioning Cocrystals from Bench to Bedside: Dissociation in Prototype Drug Product Environment*. *Molecular Pharmaceutics*, 2018. **15**(8): p. 3297-3307.
- [27] Koranne, S., et al., *Role of Coformer and Excipient Properties on the Solid-State Stability of Theophylline Cocrystals*. *Crystal Growth & Design*, 2019. **19**(2): p. 868-875.
- [28] Arabiani, M.R., et al., *Brexipiprazole–catechol cocrystal: structure elucidation, excipient compatibility and stability*. *CrystEngComm*, 2019. **21**(44): p. 6703-6708.
- [29] Duggirala, N.K., et al., *Pharmaceutical Cocrystals: Formulation Approaches to Develop Robust Drug Products*. *Crystal Growth & Design*, 2020. **20**(2): p. 617-626.
- [30] Aljohani, M., P. McArdle, and A. Erxleben, *Influence of Excipients on Cocrystal Stability and Formation*. *Crystal Growth & Design*, 2020. **20**(7): p. 4523-4532.
- [31] Cotton, L.M. and R.A. Hux, *Diflunisal*. *Anal. Prof. Drug Subs.*, 1985. **14**: p. 491-526.
- [32] Brogden, R.N., et al., *Diflunisal: A Review of its Pharmacological Properties and Therapeutic Use in Pain and Musculoskeletal Strains and Sprains and Pain in Osteoarthritis*. *Drugs*, 1980. **19**(2): p. 84-106.
- [33] Martínez-Ohárriz, M.C., et al., *Polymorphism of Diflunisal: Isolation and Solid-State Characteristics of a New Crystal Form*. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 1994. **83**(2): p. 174-177.
- [34] Perlovich, G.L., L.K. Hansen, and A. Bauer-Brandl, *Interrelation between Thermochemical and Structural Data of Polymorphs Exemplified by Diflunisal*. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2002. **91**(4): p. 1036-1045.
- [35] Cross, W.I., et al., *A Whole Output Strategy for Polymorph Screening: Combining Crystal Structure Prediction, Graph Set Analysis, and Targeted Crystallization Experiments in the Case of Diflunisal*. *Crystal Growth & Design*, 2003. **3**(2): p. 151-158.
- [36] Kim, Y.B. and I.Y. Park, *Disordered Crystal Structure of Diflunisal* *J. Kor. Pharm. Sci.*, 1996. **26**(1): p. 55-59.
- [37] Évora, A.O.L., et al., *Pyrazinamide-Diflunisal: A New Dual-Drug Co-Crystal*. *Crystal Growth & Design*, 2011. **11**(11): p. 4780-4788.
- [38] Wang, L.Y., et al., *Pharmaceutical Cocrystals of Diflunisal with Nicotinamide or Isonicotinamide*. *Organic Process Research & Development*, 2013. **17**(11): p. 1413-1418.

- [39] Evora, A.O.L., et al., *A thermodynamic based approach on the investigation of a diflunisal pharmaceutical co-crystal with improved intrinsic dissolution rate*. International Journal of Pharmaceutics, 2014. **466**(1-2): p. 68-75.
- [40] Evora, A.O.L., et al., *Co-crystals of diflunisal and isomeric pyridinecarboxamides - a thermodynamics and crystal engineering contribution*. CrystEngComm, 2016. **18**(25): p. 4749-4759.
- [41] Surov, A.O., et al., *Pharmaceutical Cocrystals of Diflunisal and Diclofenac with Theophylline*. Molecular Pharmaceutics, 2014. **11**(10): p. 3707-3715.
- [42] Veverka, M., et al., *Cocrystals of quercetin: synthesis, characterization, and screening of biological activity*. Monatshefte fur Chemie, 2015. **146**(1): p. 99-109.
- [43] Pallipurath, A.R., et al., *Tailoring Cocrystal and Salt Formation and Controlling the Crystal Habit of Diflunisal*. Crystal Growth & Design, 2016. **16**(11): p. 6468-6478.
- [44] Martínez-Ohárriz, M.C., et al., *Influence of polyethylene glycol 4000 on the polymorphic forms of diflunisal*. European Journal of Pharmaceutical Sciences, 1999. **8**(2): p. 127-32.
- [45] Mandal, B., K.S. Alexander, and A.T. Riga, *Evaluation of the drug-polymer interaction in calcium alginate beads containing diflunisal*. Pharmazie, 2010. **65**(2): p. 106-109.
- [46] Kaur, A., S. Goindi, and O.P. Katare, *Thermal analysis and quantitative characterization of compatibility between diflunisal and lipid excipients as raw materials for development of solid lipid nanoparticles*. Thermochemica Acta, 2016. **643**: p. 23-32.
- [47] Takagi, T., et al., *A Provisional Biopharmaceutical Classification of the Top 200 Oral Drug Products in the United States, Great Britain, Spain, and Japan*. Molecular Pharmaceutics, 2006. **3**(6): p. 631-643.
- [48] Fitton, A. and K.L. Goa, *Lamotrigine*. Drugs, 1995. **50**(4): p. 691-713.
- [49] Goldsmith, D.R., et al., *Lamotrigine*. Drugs, 2003. **63**(19): p. 2029-2050.
- [50] Sridhar, B. and K. Ravikumar, *Lamotrigine, an antiepileptic drug, and its chloride and nitrate salts*. Acta Crystallographica Section C, 2009. **65**(9): p. o460-o464.
- [51] Cheney, M.L., et al., *Effects of Crystal Form on Solubility and Pharmacokinetics: A Crystal Engineering Case Study of Lamotrigine*. Crystal Growth & Design, 2010. **10**(1): p. 394-405.
- [52] Chadha, R., et al., *Multicomponent solids of lamotrigine with some selected coformers and their characterization by thermoanalytical, spectroscopic and X-ray diffraction methods*. CrystEngComm, 2011. **13**(20): p. 6271-6284.

- [53] Leksic, E., G. Pavlovic, and E. Mestrovic, *Cocrystals of Lamotrigine Based on Cofomers Involving Carbonyl Group Discovered by Hot-Stage Microscopy and DSC Screening*. *Crystal Growth & Design*, 2012. **12**(4): p. 1847-1858.
- [54] Thipparaboina, R., et al., *Ionic, Neutral, and Hybrid Acid-Base Crystalline Adducts of Lamotrigine with Improved Pharmaceutical Performance*. *Crystal Growth & Design*, 2015. **15**(12): p. 5816-5826.
- [55] Kaur, R., et al., *Multidrug Cocrystal of Anticonvulsants: Influence of Strong Intermolecular Interactions on Physicochemical Properties*. *Crystal Growth & Design*, 2017. **17**(10): p. 5012-5016.
- [56] Du, S.C., et al., *Two novel cocrystals of lamotrigine with isomeric bipyridines and in situ monitoring of the cocrystallization*. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2017. **110**: p. 19-25.
- [57] Chappa, P., et al., *Co-crystallisation of Lamotrigine with diprotic acids: synthesis, single crystal analysis, and in-vitro evaluation*. *Materials Today-Proceedings*, 2019. **14**: p. 504-513.
- [58] Kuang, W.J., et al., *Thermodynamic and Crystallization of Lamotrigine Cocrystal*. *Crystal Growth & Design*, 2019. **19**(11): p. 6603-6610.
- [59] Évora, A.O.L., et al., *Lamotrigine: Design and synthesis of new multicomponent solid forms*. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2019. **129**: p. 148-162.
- [60] Kuang, W.J., et al., *Relationship between crystal structures and physicochemical properties of lamotrigine cocrystal*. *Powder Technology*, 2021. **380**: p. 18-25.
- [61] Parezanovic, G.S., et al., *In Vitro Comparative Quality Evaluation of Non-Expired and 10 Years-Expired Lamotrigine Immediate-Release Tablet Formulations - Pilot Study*. *Dissolution Technologies*, 2020. **27**(1).
- [62] Timmins, G.S. and V. Deretic, *Mechanisms of action of isoniazid*. *Molecular Microbiology*, 2006. **62**(5): p. 1220-1227.
- [63] Kennedy, S.R., et al., *Tailored supramolecular gel and microemulsion crystallization strategies – is isoniazid really monomorphic?* *CrystEngComm*, 2018. **20**(10): p. 1390-1398.
- [64] Jensen, L.H., *The Crystal Structure of Isonicotinic Acid Hydrazide¹*. *Journal of the American Chemical Society*, 1954. **76**(18): p. 4663-4667.

- [65] Bhat, T.N., T.P. Singh, and M. Vijayan, *Isonicotinic acid hydrazide - a reinvestigation*. Acta Crystallographica Section B, 1974. **30**(12): p. 2921-2922.
- [66] Lemmerer, A., J. Bernstein, and V. Kahlenberg, *Covalent assistance in supramolecular synthesis: in situ modification and masking of the hydrogen bonding functionality of the supramolecular reagent isoniazid in co-crystals*. CrystEngComm, 2011. **13**(19): p. 5692-5708.
- [67] Zhang, K., et al., *Discovery of new polymorphs of the tuberculosis drug isoniazid*. CrystEngComm, 2020. **22**(16): p. 2705-2708.
- [68] Lemmerer, A., J. Bernstein, and V. Kahlenberg, *One-pot covalent and supramolecular synthesis of pharmaceutical co-crystals using the API isoniazid: a potential supramolecular reagent*. CrystEngComm, 2010. **12**(10): p. 2856-2864.
- [69] Lemmerer, A., J. Bernstein, and V. Kahlenberg, *Hydrogen Bonding Patterns of the Co-Crystal Containing the Pharmaceutically Active Ingredient Isoniazid and Terephthalic Acid*. Journal of Chemical Crystallography, 2011. **41**(7): p. 991-997.
- [70] Aitipamula, S., et al., *Novel solid forms of the anti-tuberculosis drug, Isoniazid: ternary and polymorphic cocrystals*. CrystEngComm, 2013. **15**(29): p. 5877-5887.
- [71] Grobelny, P., A. Mukherjee, and G.R. Desiraju, *Drug-drug co-crystals: Temperature-dependent proton mobility in the molecular complex of isoniazid with 4-aminosalicylic acid*. CrystEngComm, 2011. **13**(13): p. 4358-4364.
- [72] Sarcevic, I., et al., *Crystal and Molecular Structure and Stability of Isoniazid Cocrystals with Selected Carboxylic Acids*. Crystal Growth & Design, 2013. **13**(3): p. 1082-1090.
- [73] Sarcevic, I., A. Kons, and L. Orola, *Isoniazid cocrystallisation with dicarboxylic acids: vapochemical, mechanochemical and thermal methods*. CrystEngComm, 2016. **18**(9): p. 1625-1635.
- [74] Mashhadi, S.M.A., et al., *Synthesis and structural characterization of cocrystals of isoniazid and cinnamic acid derivatives*. Journal of Molecular Structure, 2020. **1219**.
- [75] Swapna, B., D. Maddileti, and A. Nangia, *Cocrystals of the Tuberculosis Drug Isoniazid: Polymorphism, Isostructurality, and Stability*. Crystal Growth & Design, 2014. **14**(11): p. 5991-6005.
- [76] Kaur, R., et al., *Structural Insights into Proton Conduction in Gallic Acid-Isoniazid Cocrystals*. Crystal Growth & Design, 2014. **14**(2): p. 423-426.

- [77] Mashhadi, S.M.A., et al., *Isoniazid cocrystals with anti-oxidant hydroxy benzoic acids*. Journal of Molecular Structure, 2014. **1076**: p. 446-452.
- [78] Zhou, Z.Z., et al., *Resveratrol cocrystals with enhanced solubility and tableability*. International Journal of Pharmaceutics, 2016. **509**(1-2): p. 391-399.
- [79] Gopi, S.P., M. Banik, and G.R. Desiraju, *New Cocrystals of Hydrochlorothiazide: Optimizing Solubility and Membrane Diffusivity*. Crystal Growth & Design, 2017. **17**(1): p. 308-316.
- [80] Diniz, L.F., et al., *Novel Isoniazid cocrystals with aromatic carboxylic acids: Crystal engineering, spectroscopy and thermochemical investigations*. Journal of Molecular Structure, 2018. **1153**: p. 58-68.
- [81] Souza, M.S., et al., *Mechanochemical Synthesis of a Multicomponent Solid Form: The Case of 5-Fluorocytosine Isoniazid Codrug*. Crystal Growth & Design, 2018. **18**(9): p. 5202-5209.
- [82] Bommaka, M.K., et al., *Entacapone: Improving Aqueous Solubility, Diffusion Permeability, and Cocrystal Stability with Theophylline*. Crystal Growth & Design, 2018. **18**(10): p. 6061-6069.
- [83] Liu, L.L., et al., *Lack of dependence of mechanical properties of baicalein cocrystals on those of the constituent components*. CrystEngComm, 2018. **20**(37): p. 5486-5489.
- [84] Luo, Y.M., et al., *Luteolin cocrystals: Characterization, evaluation of solubility, oral bioavailability and theoretical calculation*. Journal of Drug Delivery Science and Technology, 2019. **50**: p. 248-254.
- [85] Yadav, B., et al., *Hepatoprotective Cocrystals of Isoniazid: Synthesis, Solid State Characterization, and Hepatotoxicity Studies*. Crystal Growth & Design, 2019. **19**(9): p. 5161-5172.
- [86] Xuan, B.F., et al., *Extended Release of Highly Water Soluble Isoniazid Attained through Cocrystallization with Curcumin*. Crystal Growth & Design, 2020. **20**(3): p. 1951-1960.
- [87] Gonzalez-Gonzalez, J.S., et al., *Cocrystals of Isoniazid with Polyphenols: Mechanochemical Synthesis and Molecular Structure*. Crystals, 2020. **10**(7).
- [88] Mashhadi, S.M.A., et al., *Isoniazid-Gentisic acid cocrystallization: Solubility, Stability, Dissolution rate, Antioxidant and Flowability Properties Studies*. Journal of Molecular Structure, 2021. **1226**.

- [89] Alvarez-Vidaurre, R., et al., *Weak Interactions in Cocrystals of Isoniazid with Glycolic and Mandelic Acids*. Crystals, 2021. **11**(4).
- [90] Lavor, E.P., et al., *Application of thermal analysis to the study of antituberculosis drugs-excipient compatibility*. Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 2014. **115**(3): p. 2303-2309.
- [91] Coulter, D.A., J.R. Huguenard, and D.A. Prince, *Specific petit mal anticonvulsants reduce calcium currents in thalamic neurons*. Neuroscience Letters, 1989. **98**(1): p. 74-78.
- [92] Coulter, D.A., J.R. Huguenard, and D.A. Prince, *Characterization of ethosuximide reduction of low-threshold calcium current in thalamic neurons*. Annals of Neurology, 1989. **25**(6): p. 582-593.
- [93] Osiecka, N., et al., *Insight into polymorphism of the ethosuximide (ETX)*. Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 2018. **133**(2): p. 961-967.
- [94] World Health, O. and O. World Health, *Treatment of tuberculosis: guidelines*. 2010, World Health Organization: Geneva.
- [95] O'Neil, M.J., *The Merck index : an encyclopedia of chemicals, drugs, and biologicals*. 2001, Whitehouse Station, N.J.: Merck.
- [96] Rowe, R.C., P.J. Sheskey, and S.C. Owen, *Handbook of Pharmaceutical Excipients, 6th ed.*, P. Press and A.P. Association, Editors. 2009: London.
- [97] Wypych, A., 3.1.4 - Talc, in *Databook of Antiblocking, Release, and Slip Additives*, A. Wypych, Editor. 2014, ChemTec Publishing: Oxford. p. 37-54.
- [98] James, S.L., et al., *Mechanochemistry: opportunities for new and cleaner synthesis*. Chemical Society Reviews, 2012. **41**(1): p. 413-447.
- [99] Friščić, T., *Supramolecular concepts and new techniques in mechanochemistry: cocrystals, cages, rotaxanes, open metal-organic frameworks*. Chemical Society Reviews, 2012. **41**(9): p. 3493-3510.
- [100] Hasa, D., et al., *Cocrystal Formation through Mechanochemistry: from Neat and Liquid-Assisted Grinding to Polymer-Assisted Grinding*. Angewandte Chemie International Edition, 2015. **54**(25): p. 7371-7375.
- [101] Karimi-Jafari, M., et al., *Creating Cocrystals: A Review of Pharmaceutical Cocrystal Preparation Routes and Applications*. Crystal Growth & Design, 2018. **18**(10): p. 6370-6387.

- [102] Rodrigues, M., et al., *Pharmaceutical cocrystallization techniques. Advances and challenges*. International Journal of Pharmaceutics, 2018. **547**(1): p. 404-420.
- [103] Childs, S.L., et al., *Screening strategies based on solubility and solution composition generate pharmaceutically acceptable cocrystals of carbamazepine*. CrystEngComm, 2008. **10**(7): p. 856-864.
- [104] Dunmur, R. and M. Murray, *Spectroscopic Methods in Organic Chemistry*, M. Hesse, H. Meier, and B. Zeeh, Editors. 2008, Georg Thieme Verlag: Stuttgart.
- [105] Coleman, N.J. and D.Q.M. Craig, *Modulated temperature differential scanning calorimetry: A novel approach to pharmaceutical thermal analysis*. International Journal of Pharmaceutics, 1996. **135**(1): p. 13-29.
- [106] Sabbah, R., et al., *Reference materials for calorimetry and differential thermal analysis*. Thermochemica Acta, 1999. **331**(2): p. 93-204.
- [107] Mathkar, S., et al., *The use of differential scanning calorimetry for the purity verification of pharmaceutical reference standards*. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2009. **49**(3): p. 627-631.
- [108] Bunaciu, A.A., E.g. Udriștioiu, and H.Y. Aboul-Enein, *X-Ray Diffraction: Instrumentation and Applications*. Critical Reviews in Analytical Chemistry, 2015. **45**(4): p. 289-299.
- [109] Fultz, B.T. and J.M. Howe. *Transmission electron microscopy and diffractometry of materials*. 2001.
- [110] Harris, K.D.M., *Powder Diffraction Crystallography of Molecular Solids*, in *Advanced X-Ray Crystallography*, K. Rissanen, Editor. 2012, Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg. p. 133-177.
- [111] *ICH Q1A (R2): Stability Testing of New Drug Substances and Products*. EMEA (CPMP/ICH/2736/99), August 2003.
- [112] Ramya, T., S. Gunasekaran, and G.R. Ramkumaar, *Density functional theory, restricted Hartree – Fock simulations and FTIR, FT-Raman and UV–Vis spectroscopic studies on lamotrigine*. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2013. **114**: p. 277-283.
- [113] Borba, A., A. Gómez-Zavaglia, and R. Fausto, *Molecular Structure, Infrared Spectra, and Photochemistry of Isoniazid under Cryogenic Conditions*. The Journal of Physical Chemistry A, 2009. **113**(32): p. 9220-9230.

- [114] Burger, A. and R. Ramberger, *On the polymorphism of pharmaceuticals and other molecular crystals. I.* Microchimica Acta, 1979. **72**(3): p. 259-271.
- [115] Vijaya Chamundeeswari, S.P., E. James Jebaseelan Samuel, and N. Sundaraganesan, *Quantum mechanical and spectroscopic (FT-IR, FT-Raman, ¹³C, ¹H and UV) investigations of antiepileptic drug Ethosuximide.* Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2011. **83**(1): p. 478-489.
- [116] Marques, A., *Investigação de Sólidos Multicomponentes de Diflunisal e de Naproxeno com Isoniazida. Relatório de Estágio, Licenciatura em Química.* Universidade de Coimbra, 2019.
- [117] Mukherjee, A., et al., *Synthon identification in co-crystals and polymorphs with IR spectroscopy. Primary amides as a case study.* CrystEngComm, 2013. **15**(23): p. 4640-4654.
- [118] Loschen, C. and A. Klamt, *Cocrystal Ternary Phase Diagrams from Density Functional Theory and Solvation Thermodynamics.* Crystal Growth & Design, 2018. **18**(9): p. 5600-5608.
- [119] Perlovich, G.L., S.V. Kurkov, and A. Bauer-Brandl, *Thermodynamics of solutions: II. Flurbiprofen and diflunisal as models for studying solvation of drug substances.* European Journal of Pharmaceutical Sciences, 2003. **19**(5): p. 423-432.
- [120] Gong, T., et al., *Solubility and Data Correlation of Isoniazid in Different Pure and Binary Mixed Solvent Systems from 283.15 K to 323.15 K.* Journal of Chemical & Engineering Data, 2018. **63**(12): p. 4767-4778.
- [121] Cherukuvada, S. and A. Nangia, *Eutectics as improved pharmaceutical materials: design, properties and characterization.* Chemical Communications, 2014. **50**(8): p. 906-923.
- [122] Goldberg, A.H., M. Gibaldi, and J.L. Kanig, *Increasing Dissolution Rates and Gastrointestinal Absorption of Drugs Via Solid Solutions and Eutectic Mixtures I: Theoretical Considerations and Discussion of the Literature.* Journal of Pharmaceutical Sciences, 1965. **54**(8): p. 1145-1148.

Anexos

Anexos

Anexo I – Secção 3.5.1

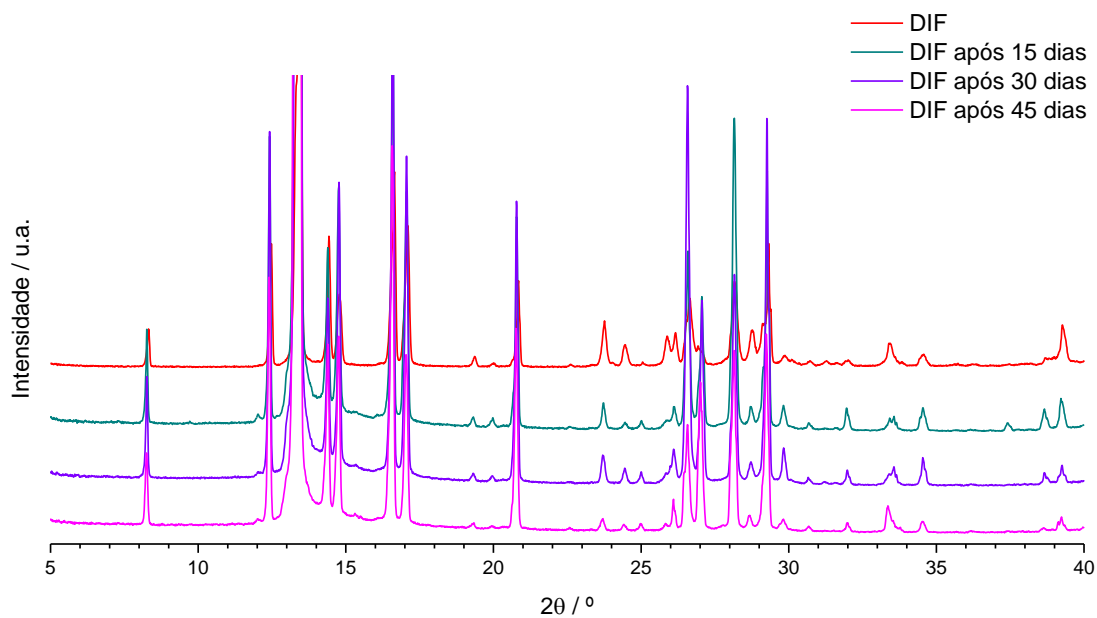


Figura A1. Difratograma de raios-X de pó do DIF comercial após 15, 30 e 45 dias em câmara de estabilidade a 40 °C / 75 % HR.

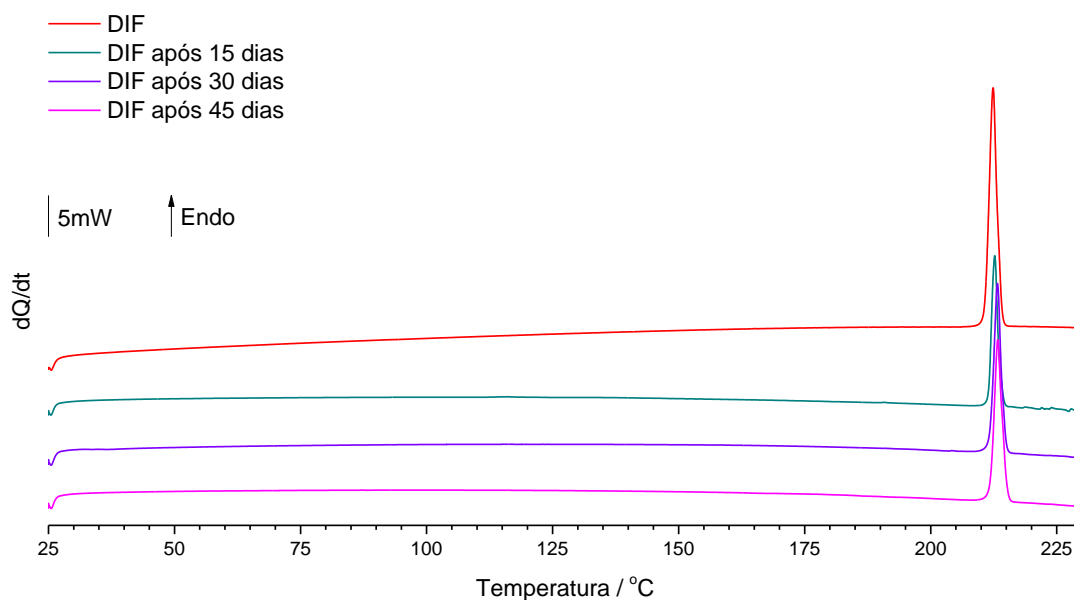


Figura A2. Curvas de DSC de aquecimento do DIF após 15, 30 e 45 dias em câmara de estabilidade a 40 °C / 75 % HR ($\beta = 10$ °C/min.).

Os valores médios de temperatura e entalpia de fusão obtidos para o diflunisal são $T_{fus} = (211,7 \pm 0,2) \text{ } ^\circ\text{C}$ e $\Delta_{fus}H = (35,9 \pm 0,6) \text{ kJ mol}^{-1}$.

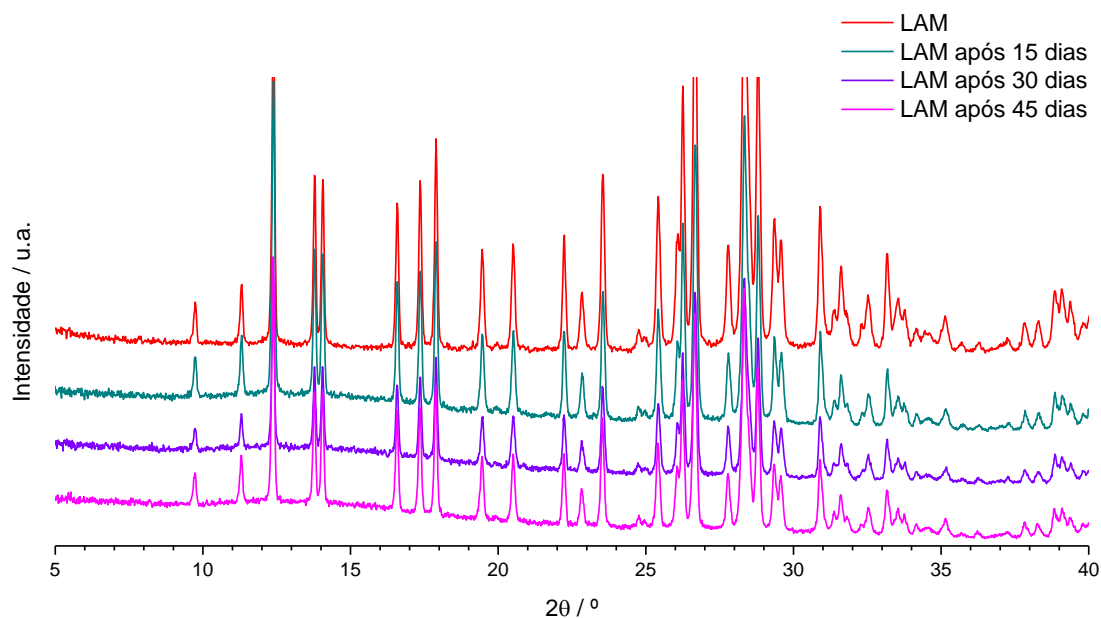


Figura A3. Difratograma de raios-X de pó da LAM comercial após 15, 30 e 45 dias em câmara de estabilidade a 40 °C / 75 % HR.

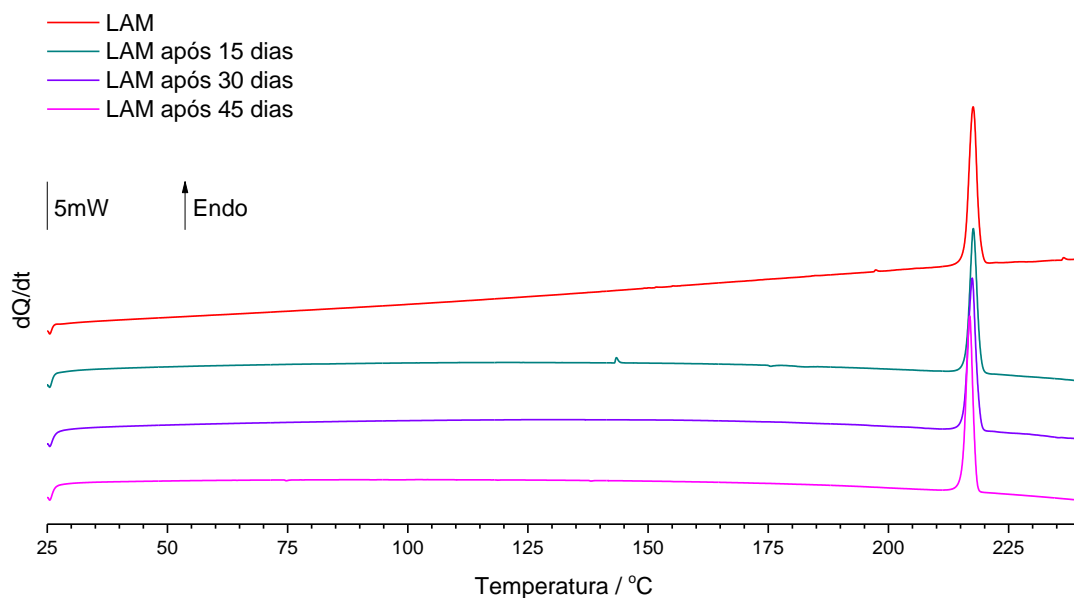


Figura A4. Curvas de DSC de aquecimento do LAM comercial após 15, 30 e 45 dias em câmara de estabilidade a 40 °C / 75 % HR ($\beta = 10 \text{ } ^\circ\text{C/min.}$).

Os valores médios de temperatura e entalpia de fusão obtidos para a lamotrigina são $T_{fus} = (215,7 \pm 0,3) \text{ } ^\circ\text{C}$ e $\Delta_{fus}H = (34,7 \pm 0,2) \text{ kJ mol}^{-1}$.

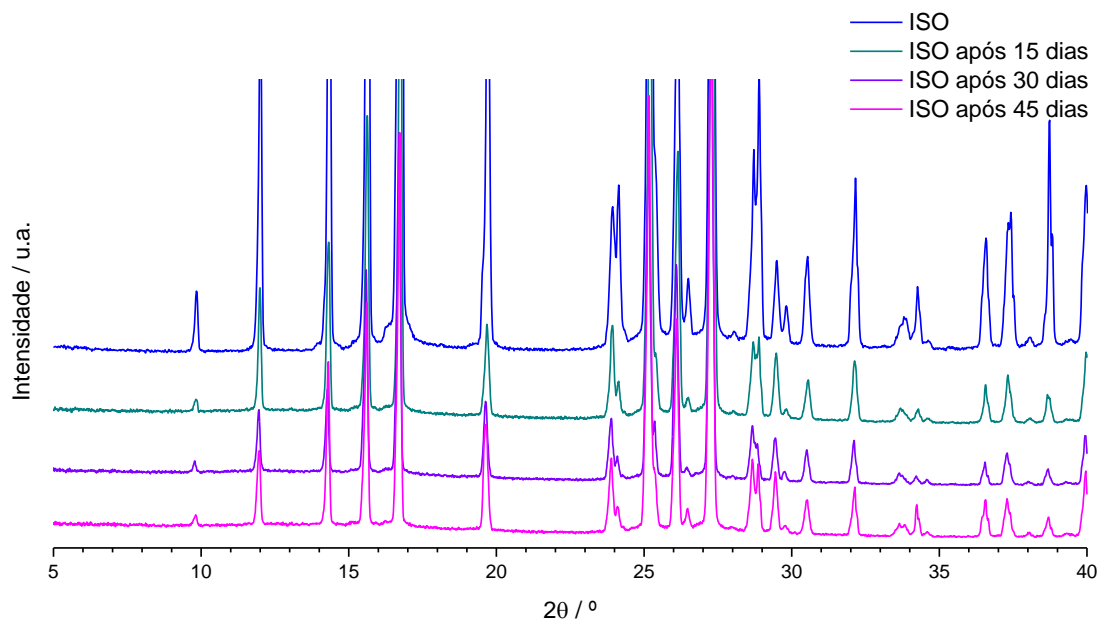


Figura A5. Difrátograma de raios-X de pó da ISO comercial após 15, 30 e 45 dias em câmara de estabilidade a $40 \text{ } ^\circ\text{C}$ / 75 % HR.

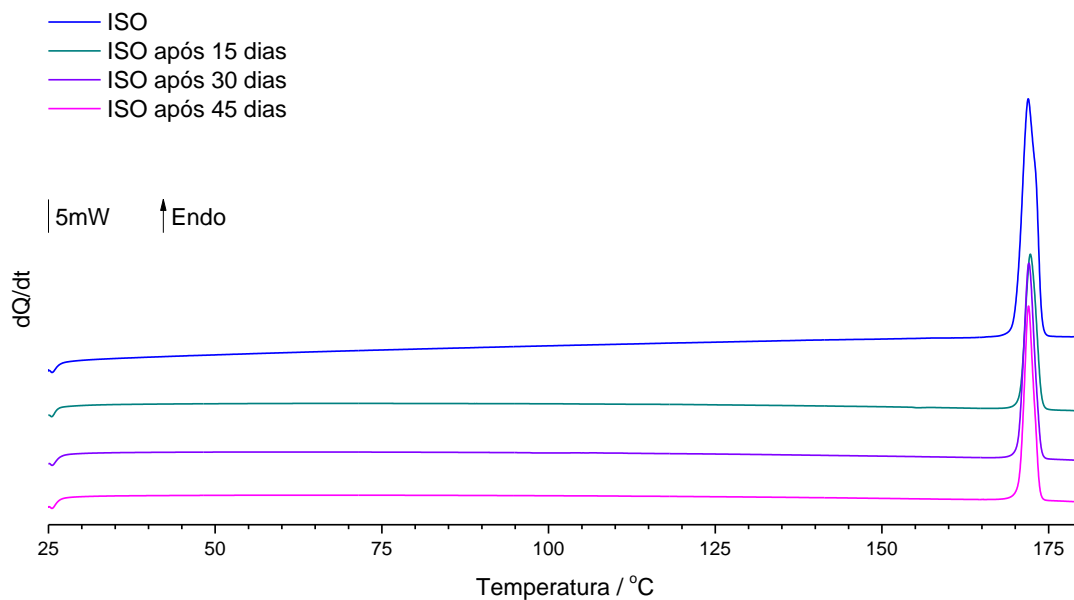


Figura A6. Curvas de DSC de aquecimento da ISO após 15, 30 e 45 dias em câmara de estabilidade a $40 \text{ } ^\circ\text{C}$ / 75 % HR ($\beta = 10 \text{ } ^\circ\text{C}/\text{min.}$).

Os valores médios de temperatura e entalpia de fusão obtidos para a isoniazida são $T_{fus} = (170,7 \pm 0,1) \text{ } ^\circ\text{C}$ e $\Delta_{fus}H = (31,6 \pm 0,3) \text{ kJ mol}^{-1}$, respectivamente.

Anexo II – Secção 3.5.2

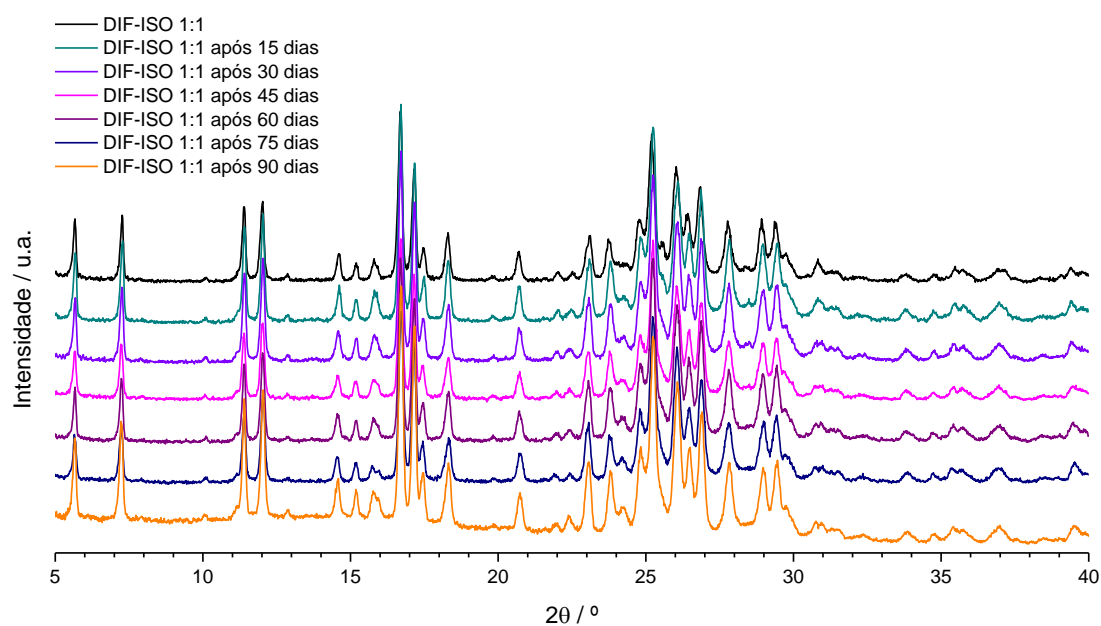


Figura A7. Difratoograma de raios-X de pó do cocristal DIF-ISO 1:1 após 15, 30, 45, 60, 75 e 90 dias em câmara de estabilidade a $40 \text{ } ^\circ\text{C} / 75 \text{ \% HR}$.

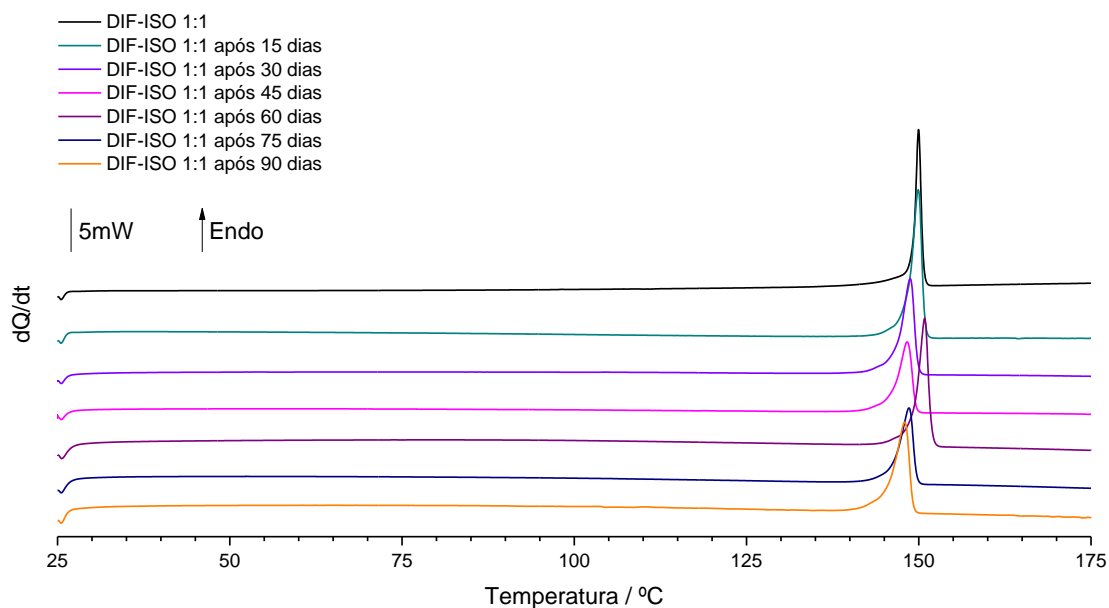


Figura A8. Curvas de DSC de aquecimento do cocrystal DIF-ISO 1:1 após 15, 30, 45, 60, 75 e 90 dias em câmara de estabilidade a 40 °C / 75 % HR ($\beta = 10$ °C/min.).

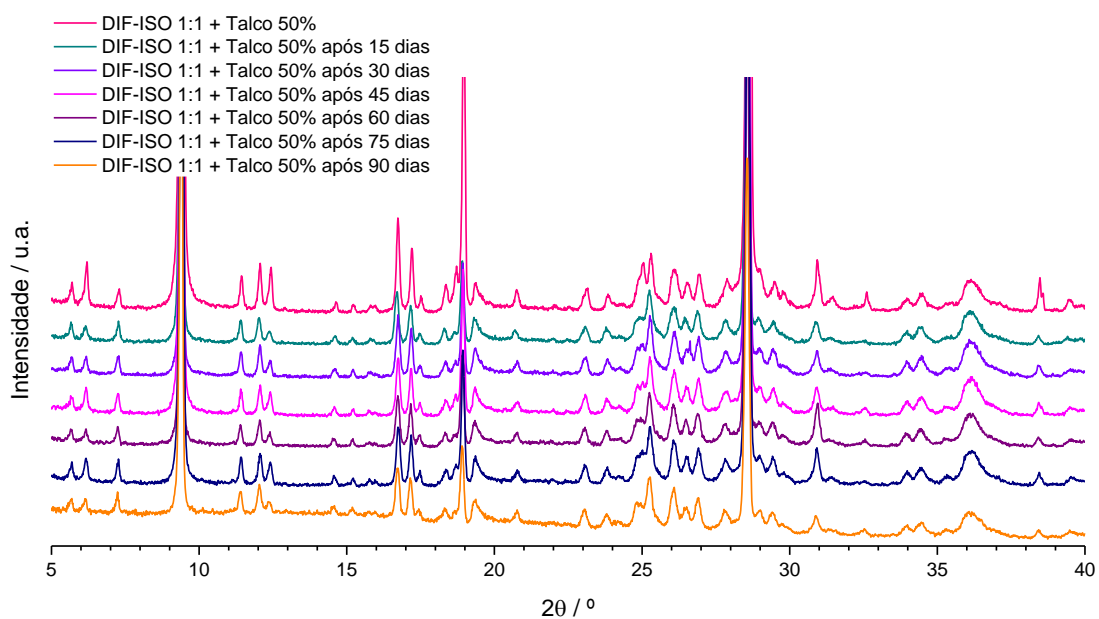


Figura A9. Difratograma de raios-X de pó do cocrystal DIF-ISO 1:1 com 50 % (m/m) de talco após 15, 30, 45, 60, 75 e 90 dias em câmara de estabilidade a 40 °C / 75 % HR.

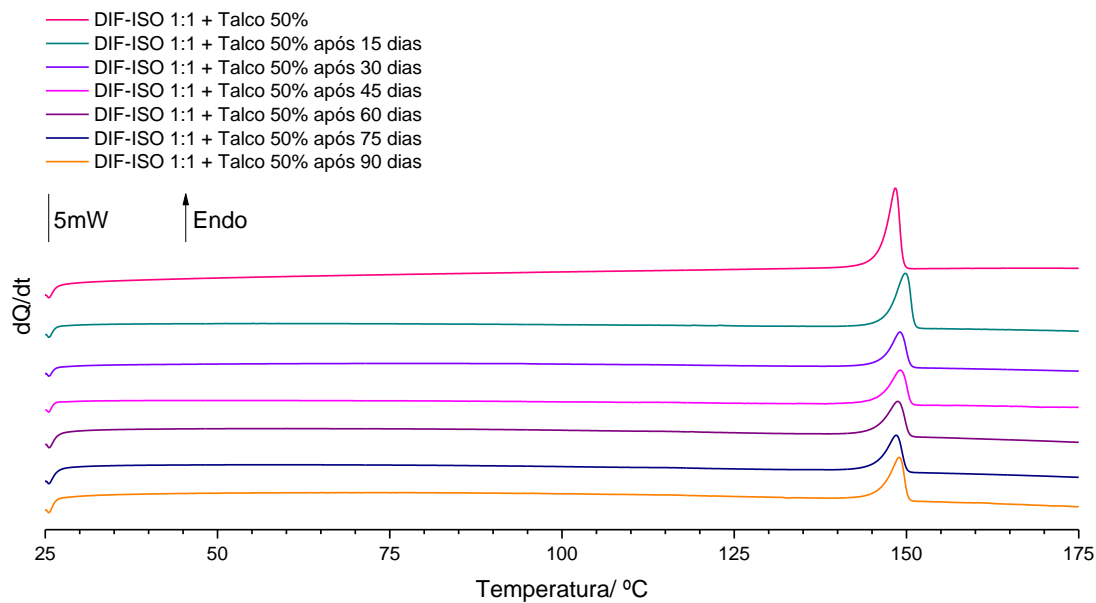


Figura A10. Curvas de DSC de aquecimento do cocristal DIF-ISO 1:1 com 50 % (m/m) de talco após 15, 30, 45, 60, 75 e 90 dias em câmara de estabilidade a 40 °C / 75 % HR ($\beta = 10$ °C/min.).

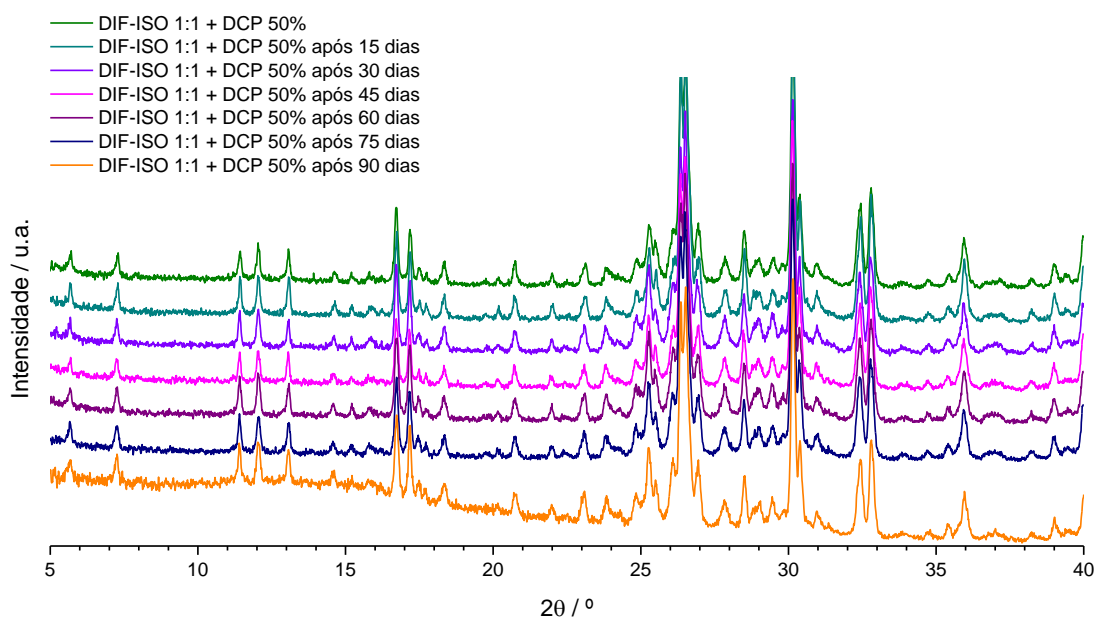


Figura A11. Difratograma de raios-X de pó do cocristal DIF-ISO 1:1 com 50 % (m/m) de DCP após 15, 30, 45, 60, 75 e 90 dias em câmara de estabilidade a 40 °C / 75 % HR.

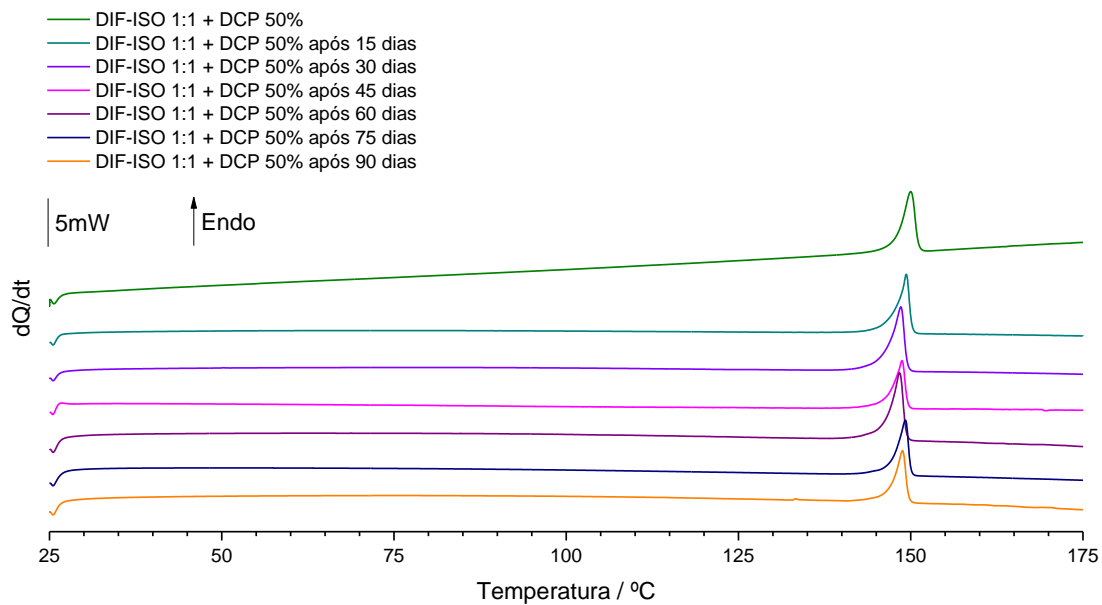


Figura A12. Curvas de DSC de aquecimento do cocrystal DIF-ISO 1:1 com 50 % (m/m) de DCP após 15, 30, 45, 60, 75 e 90 dias em câmara de estabilidade a 40 °C / 75 % HR ($\beta = 10$ °C/min.).

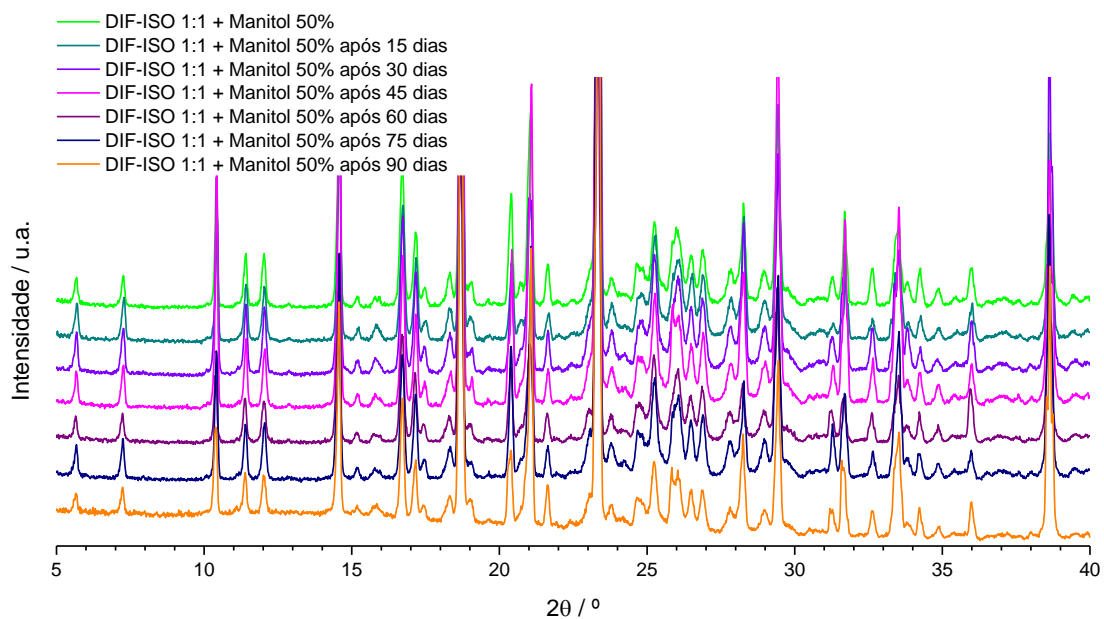


Figura A13. Difratoograma de raios-X de pó do cocrystal DIF-ISO 1:1 com 50 % (m/m) de manitol após 15, 30, 45, 60, 75 e 90 dias em câmara de estabilidade a 40 °C / 75 % HR.

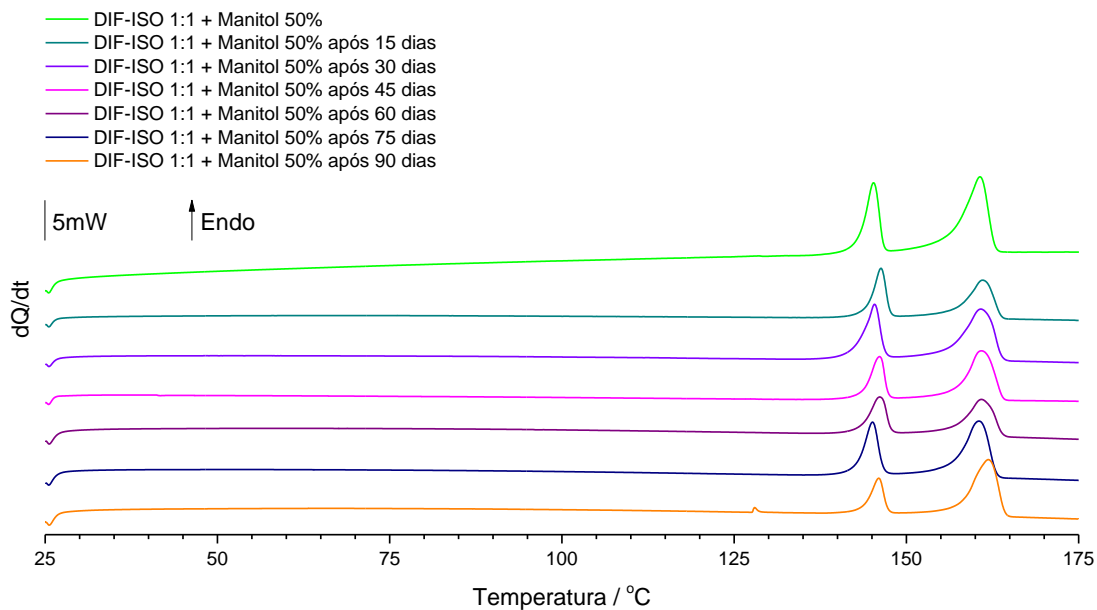


Figura A14. Curvas de DSC de aquecimento do cocrystal DIF-ISO 1:1 com 50 % (m/m) de manitol após 15, 30, 45, 60, 75 e 90 dias em câmara de estabilidade a 40 °C / 75 % HR ($\beta = 10$ °C/min.).

Anexos III – Secção 3.5.3

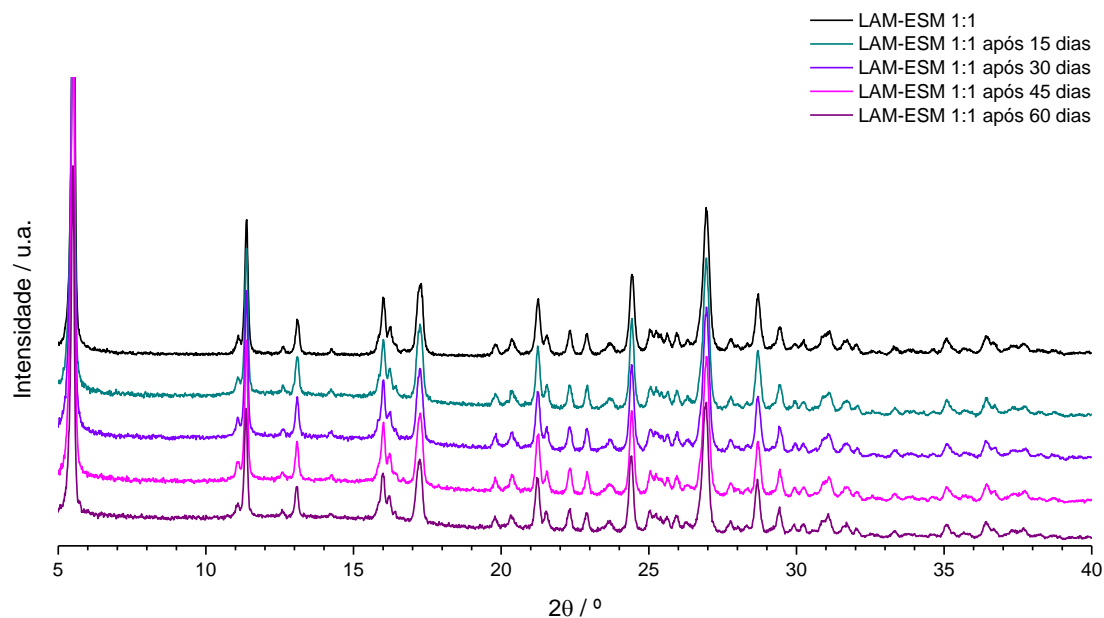


Figura A15. Difratoograma de raios-X de pó do cocrystal LAM-ESM 1:1 após 15, 30, 45 e 60 dias em câmara de estabilidade a 40 °C / 75 % HR.

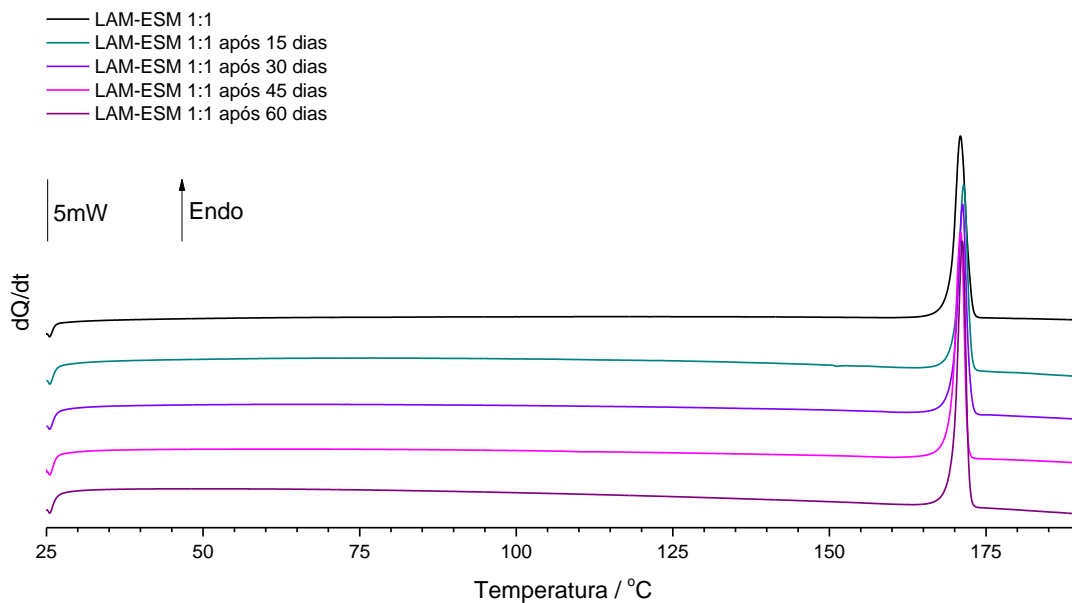


Figura A16. Curvas de DSC de aquecimento do cocristal LAM-ESM 1:1 após 15, 30, 45 e 60 dias em câmara de estabilidade a 40 °C / 75 % HR ($\beta = 10$ °C/min.).

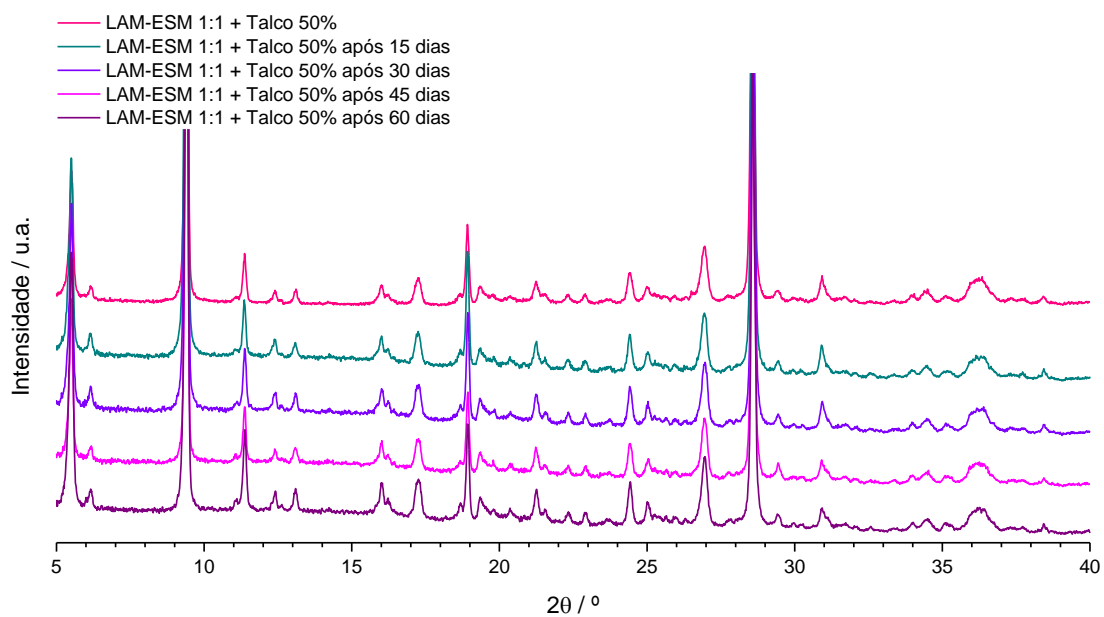


Figura A17. Difratograma de raios-X de pó do cocristal LAM-ESM 1:1 com 50 % (m/m) de talco após 15, 30, 45 e 60 dias em câmara de estabilidade a 40 °C / 75 % HR.

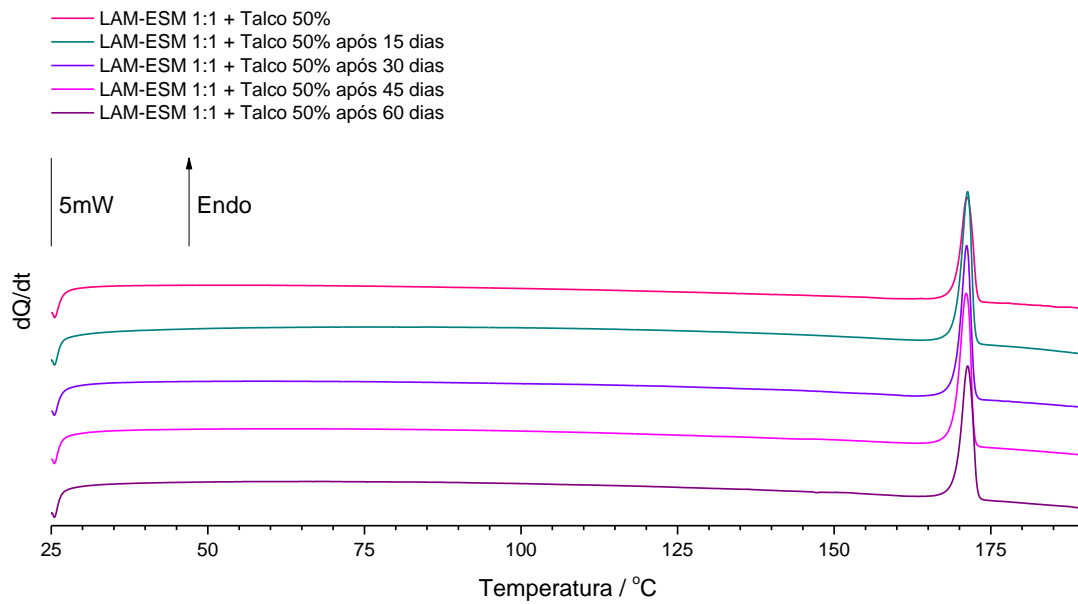


Figura A18. Curvas de DSC de aquecimento do cocristal LAM-ESM 1:1 com 50 % (m/m) de talco após 15, 30, 45 e 60 dias em câmara de estabilidade a 40 °C / 75 % HR ($\beta = 10$ °C/min.).

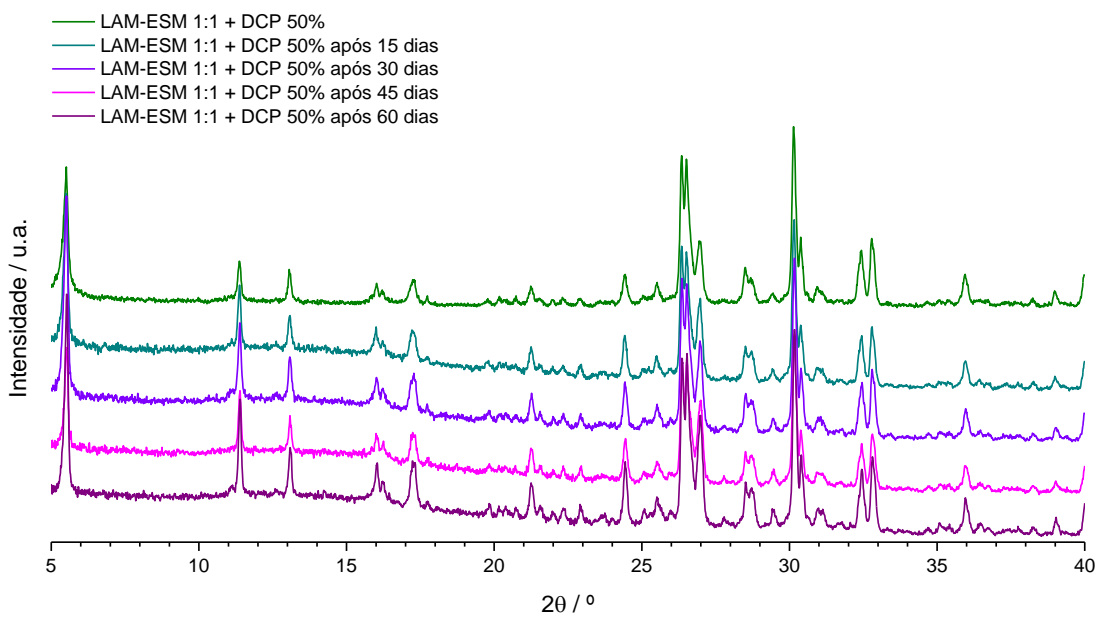


Figura A19. Difratoograma de raios-X de pó do cocristal LAM-ESM 1:1 com 50 % (m/m) de DCP após 15, 30, 45 e 60 dias em câmara de estabilidade a 40 °C / 75 % HR.

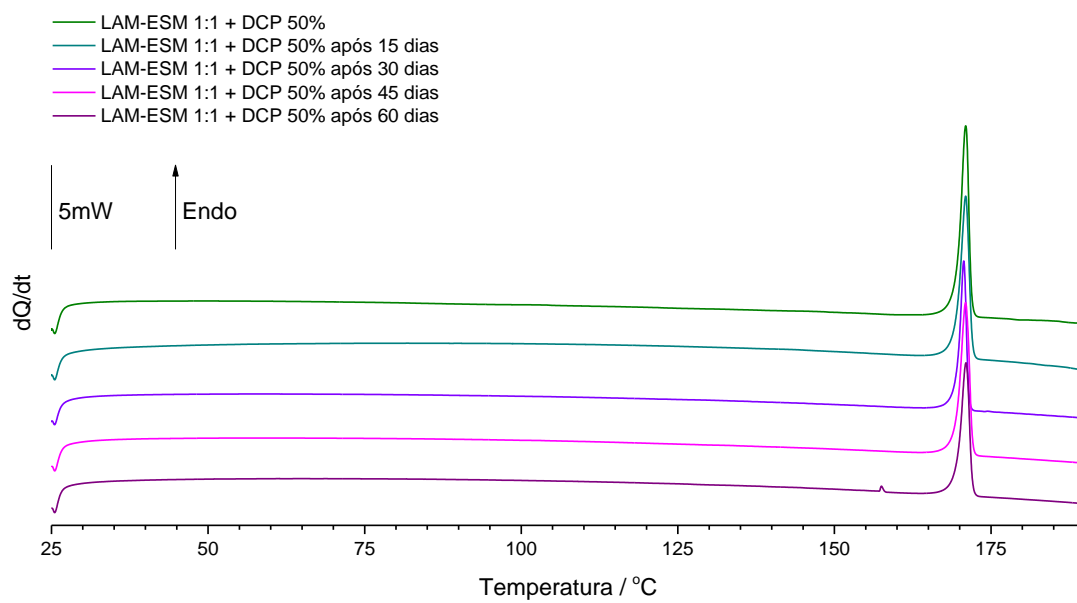


Figura A20. Curvas de DSC de aquecimento do cocristal LAM-ESM 1:1 com 50 % (m/m) de DCP após 15, 30, 45 e 60 dias em câmara de estabilidade a 40 °C / 75 % HR ($\beta = 10$ °C/min.).