



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Diogo Martins Barradas

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO
EXPERIMENTAL E COMPUTACIONAL DE
FORMAS SÓLIDAS MULTICOMPONENTE DO
ANTIMALÁRICO ARTESUNATO**

Dissertação no âmbito do Mestrado em Química Avançada, área de especialização em Química Avançada e Industrial, variante em Desenvolvimento e Estratégia, orientada pela Professora Doutora Maria Ermelinda da Silva Eusébio e pelo Professor Doutor Mário Túlio dos Santos Rosado e apresentada ao Departamento de Química da Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra

Setembro de 2022

Diogo Martins Barradas

**Síntese e Caracterização
Experimental e Computacional De
Formas Sólidas Multicomponente Do
Antimalárico Artesunato**

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 Mário Túlio dos Santos Rosado e apresentada ao Departamento de Química da Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra.

Setembro de 2022



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

*“Be ready to revise any system, scrap any method,
abandon any theory, if the success of the job requires it”*

Henry Ford

Agradecimentos

Ao entregar e defender a minha tese de Mestrado não posso deixar de agradecer a certas pessoas que, direta ou indiretamente, me ajudaram em todo o meu processo académico, permitindo que eu evoluísse como profissional e como pessoa.

Em primeiro lugar começo por dedicar o meu grande obrigado aos meus Orientadores, a Professora Doutora Maria Ermelinda da Silva Eusébio e o Professor Doutor Mário Túlio dos Santos Rosado. Agradeço por toda a dedicação, por todos os ensinamentos, pela motivação e por toda a disponibilidade ao longo destes dois anos de trabalho, fulcrais para a elaboração e concretização da minha tese. Foi um privilégio ter convivido, aprendido e discutido química com dois professores extraordinários.

A todo grupo de investigação de Termodinâmica Molecular, à Professora Doutora Teresa Margarida Roseiro Estronca, ao Professor Doutor Ricardo António Esteves de Castro e ao Professor Doutor João Carlos Canotilho Lage, agradeço toda a disponibilidade, toda a ajuda prestada e toda a simpatia no dia a dia.

Agradeço ainda a todos os meus aos meus colegas de grupo, em particular à Joana Silva, ao João Baptista e ao João Santos por toda a ajuda dentro do laboratório, pelos conselhos e pelo conhecimento transmitido.

Um obrigado aos meus amigos de longa data do algarve, o Alexandre Feijó e ao Chico Jesus. Embora 418 Km de casa, sempre estiveram lá para mim, sempre com uma piada que tornava o dia muito mais divertido.

Aos meus da Universidade, Leonardo Santo, João Ferreira, Ana Duarte, Daniela Teixeira, PP, Vitaliy Masliy e à Patrícia Matos. A minha vida académica foi incrível e muito se deve a vocês. Passamos momentos incríveis que já mais vou esquecer. Todos os sorrisos, todas as gargalhadas e todas as lágrimas vão comigo para a minha vida inteira. Muito obrigado!

Por fim o meu enorme agradecimento à minha família de sangue, nomeadamente ao meu pai, à minha mãe, ao meu irmão, ao meu tio e primos e aos meus avós*. Um obrigado especial ao meu pai e à minha mãe por todo o incentivo, toda a motivação, todas as palestras, todas as palavras de carinho e amor, não tem como eu retribuir todo o que vocês fizeram, fazem e vão fazer por mim e para mim. O meu mais sincero e grandioso obrigado, não sou nada sem vocês.

Com este virar de página no que estou certo de que é uma das etapas mais importantes da minha vida, deixo uma vez mais aqui o meu mais sincero e honesto obrigado a todos.

Despeço-me com um grande FRA!

Índice

Índice de Figuras	iii
Índice de Esquemas	ix
Índice de Tabelas	xi
Abreviaturas.....	xiii
Resumo	xv
Abstract.....	xvii
Capítulo 1 Introdução	3
1.1 Objetivo.....	3
1.2 Formas sólidas multicomponente.....	4
1.3 Sistema de Classificação Biofarmacêutica	5
1.4 Co-cristais	6
1.5 Co-amorfos	8
1.6 Ativo farmacêutico e co-formadores investigados neste trabalho	10
1.6.1 Artesunato.....	10
1.6.2 Metoclopramida.....	12
1.6.3 Piridinacarboxamidas e benzamida.....	13
1.6.3.1 Isonicotinamida	14
1.6.3.2 Nicotinamida	14
1.6.3.3 Benzamida	15
1.6.4 1,2-Bis(4-piridil)etano	16
1.6.5 Pirazina	17
1.6.6 Cafeína	17
Capítulo 2 Materiais e Métodos.....	21
2.1 Materiais	21
2.2.1 Métodos de preparação	22
2.2.1.1 Mecanoquímica.....	22
2.2.1.2 Cristalização em solução	23
2.2.2 Métodos de caracterização das fases sólidas	23
2.2.2.1 Espetroscopia de infravermelho	23
2.2.2.2 Calorimetria Diferencial de Varrimento	24
2.2.2.3 Difração de raios-X	25
2.2.2.4 Termomicroscopia com luz polarizada	26
2.2.3 Estabilidade de co-amorfos.....	27
2.2.3.1 Câmaras de estabilidade.....	27
2.2.4 Métodos computacionais.....	27
2.2.4.1 Teoria do funcional de densidade.....	27
2.2.4.2 Superfícies de Hirshfeld	29
2.2.4.3 Análise de ligações não covalentes.....	31
2.2.4.4 Potencial eletrostático	31
Capítulo 3 Resultados e Discussão.....	35
3.1 Investigação da forma sólida do artesunato	35

3.2	Investigação da forma sólida da metoclopramida	37
3.3	Sistema artesunato + metoclopramida.....	40
3.3.1	Previsão computacional de interações intermoleculares entre o artesunato e a metoclopramida: Reações isodésmicas e ligações não-covalentes	40
3.3.2	Investigação da formação de sólidos multicomponente artesunato-metoclopramida por mecanoquímica	45
3.3.3	Síntese de co-amorfos artesunato-metoclopramida nas proporções 2:1 e 3:1 por mecanoquímica	47
3.3.3.1	Teste de estabilidade	49
3.4	Sistema artesunato + isonicotinamida	51
3.4.1	Previsão computacional de interações intermoleculares entre o artesunato e a isonicotinamida: Reações isodésmicas e ligações não-covalentes	51
3.4.2	Investigação da formação de sólidos multicomponente artesunato-isonicotinamida por mecanoquímica	57
3.4.2.1	Teste de estabilidade	62
3.5	Sistema artesunato + nicotinamida	62
3.5.1	Previsão computacional de interações intermoleculares entre o artesunato e a nicotinamida: Reações isodésmicas e ligações não-covalentes.....	62
3.5.2	Investigação da formação de sólidos multicomponente artesunato-nicotinamida por mecanoquímica	65
3.6	Sistema artesunato + benzamida	68
3.6.1	Investigação da formação de sólidos multicomponente artesunato-benzamida por mecanoquímica	68
3.7	Sistema artesunato e 1,2-bis(4-piridil)etano.....	70
3.7.1	Previsão computacional de interações intermoleculares entre o artesunato e o 1,2-bis(4-piridil)etano: Reações isodésmicas e ligações não-covalentes	70
3.7.2	Investigação da formação de sólidos multicomponente artesunato-1,2-bis(4-pitidil)etano por cristalização em solução.....	74
3.7.3	Investigação da formação do co-cristal artesunato-1,2 bis(4-pitidil)etano na proporção 2:1 por mecanoquímica.....	77
3.8	Sistema artesunato + pirazina	79
3.8.1	Previsão computacional de interações intermoleculares entre o artesunato e pirazina: Reações isodésmicas e ligações não-covalentes	79
3.8.2	Investigação da formação de sólidos multicomponente artesunato-pirazina por cristalização em solução	81
3.8.3	Investigação da formação de sólidos multicomponente artesunato-pirazina por mecanoquímica	84
3.9	Sistema artesunato + cafeína	87
3.9.1	Previsão computacional de interações intermoleculares entre o artesunato e a cafeína: Reações isodésmicas e ligações não-covalentes.....	87
3.9.2	Investigação da formação de sólidos multicomponente artesunato-cafeína por mecanoquímica	90
	Capítulo 4 Conclusões e Perspetivas Futuras	95
	Referências Bibliográficas.....	99
	Anexos	111

Índice de Figuras

Figura 1.1 Diferentes formas sólidas de ativos farmacêuticos. Adaptado de [9].	4
Figura 1.2. Representação esquemática do Sistema de Classificação Biofarmacêutica (BCS). Adaptada de [16]	6
Figura 1.3. Representação de homo e heterosintões supramoleculares: a) homosintão ácido...ácido; b) homosintão amida...amida; c) heterosintão ácido...amida; d) heterosintão ácido...nitrogênio aromático.	8
Figura 1.4. Representação esquemática da energia de Gibbs em função da temperatura, onde é evidenciado a vermelho a T_g de um sólido amorfo. Adaptada de [33]	9
Figura 1.5. Estrutura molecular do: a) artesunato e b) dihidroartemisina.	11
Figura 1.6. Estrutura molecular da metoclopramida	12
Figura 1.7. Interações intermoleculares (cor azul) e intramoleculares (cor vermelha) do polimorfo I da metoclopramida. Adaptada de [50].	13
Figura 1.8. Estrutura molecular da isonicotinamida	14
Figura 1.9. Estrutura molecular da nicotinamida	15
Figura 1.10. Estrutura molecular da benzamida	16
Figura 1.11. Estrutura molecular do 1,2-Bis(4-piridil)etano	16
Figura 1.12. Estrutura molecular da pirazina	17
Figura 1.13. Estrutura molecular da cafeína	18
Figura 2.1 Ilustração de um dímero da formamida, onde é representado os valores de d_e e d_f . Retirada de [118]	30
Figura 3.1. Difractogramas de raio-X de pó do AS comercial, do diastereoisómero α e β do AS obtidos por simulação a partir dos ficheiros CIF depositados na CCDC com os códigos (FAHFV01) ^[41] e (MEXKOP) ^[41] , respetivamente	35
Figura 3.2. Curvas de DSC de aquecimento da amostra comercial de AS e das amostras submetidas a NG e LAG (10 μ L de etanol) ($\beta = 10$ °C/min.)	36
Figura 3.3. Espetros de infravermelho da amostra comercial de AS e das amostras submetidas a NG e LAG (10 μ L de etanol)	36

Figura 3.4. Curvas de DSC de aquecimento/arrefecimento de uma amostra de MCP comercial ($\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C/min.}$).....	37
Figura 3.5. Imagens obtidas por PLTM num primeiro aquecimento da MCP comercial aquando da transição sólido-sólido. ($\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C/min.}$), ampliação 200 \times	37
Figura 3.6. Curvas de DSC de aquecimento/arrefecimento de uma amostra de MCP submetida a NG ($\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C/min.}$).....	38
Figura 3.7. Curvas de DSC de aquecimento/arrefecimento de uma amostra de MCP submetida a LAG (10 μL de etanol) ($\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C/min.}$)	38
Figura 3.8. Difractogramas de raio-X de pó da MCP simulada a partir do ficheiro CIF depositado na CCDC com o código (METPRA), da MCP comercial correspondente à forma polimórfica I, das amostras de MCP submetidas a NG e LAG, (10 μL de etanol) e da forma polimórfica II da MCP, obtida após a um ciclo de aquecimento/arrefecimento em DSC	39
Figura 3.9. Espetros de infravermelho da MCP comercial correspondente à forma polimórfica I, das amostras de MCP submetidas a NG e LAG (10 μL de etanol) e da forma polimórfica II da MCP, obtida após a um ciclo de aquecimento/arrefecimento em DSC	40
Figura 3.10. Superfície de Hirshfeld da molécula AS. As interações por pontes de hidrogénio estão assinaladas a tracejado na cor verde.....	41
Figura 3.11. Representação gráfica 2D do <i>fingerprint</i> da molécula AS: a) Todo o tipo de interações do AS; b) Interações do tipo O \cdots H; c) interações do tipo H \cdots H.....	42
Figura 3.12. Representação dos heterodímeros AS-MCP evidenciando as diferentes interações intermoleculares e os respetivos gráficos NCI: a) Heterodímero AS-MCP1; b) Heterodímero AS-MCP2.	44
Figura 3.13. Difractogramas de raio-X de pó da mistura AS-MCP (1:1) NG, do AS comercial e da MCP comercial	45
Figura 3.14. Curvas de DSC de aquecimento do AS comercial, m= 1,77 mg, da mistura AS-MCP (1:1) NG, m= 1,47 mg e da MCP comercial, m= 1,43 mg ($\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C/min.}$).....	46
Figura 3.15. Espetros de infravermelho da amostra comercial de AS, da mistura AS-MCP (1:1) NG e da amostra comercial de MCP	47
Figura 3.16. Difractogramas de raio-X de pó da mistura AS-MCP (3:1) NG, da mistura AS-MCP (2:1) NG, do AS comercial e da MCP comercial.	48
Figura 3.17. Curvas de DSC de aquecimento do AS comercial, m= 1,77 mg, da mistura AS-MCP (3:1) NG, m= 2,14 mg, da mistura AS-MCP (2:1) NG, m= 1,48 mg e da MCP comercial, m= 1,43 mg. ($\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C/min.}$)	48
Figura 3.18. Espetros de infravermelho da amostra comercial de AS, da mistura AS-MCP (3:1) NG, da mistura (2:1) NG e da amostra comercial de MCP	49

Figura 3.19. Diffractogramas de raios-X de pó do co-amorfo AS-MCP (3:1) após 15, 30 e 45 dias, em câmara de estabilidade a 25 °C / 60 % HR	50
Figura 3.20. Diffractogramas de raios-X de pó do co-amorfo AS-MCP (3:1) após 15, 30, 45, 60, 75 e 90 dias, armazenado num exsiccador com sílica.	50
Figura 3.21. Representação ilustrativa dos diferentes sintões previstos para a interação AS-ISONAM. R ₁ – Equivalente ao restante da molécula de ISONAM e R ₂ ; R ₂ – Restante estrutura química da molécula de AS	51
Figura 3.22. Representação esquemática dos sintões de interesse: a) sintão amida...amida associada a uma forte ligação de hidrogénio (LH) NH...O quando comparada com b) sintão ácido...amida. c) potencial eletrostático das moléculas de ISONAM e AS, calculados recorrendo ao método DFT-B3LYP, base de funções def2svp e mapeada sobre a superfície uma densidade eletrónica molecular de 0,002 eletrões/Å. Os valores de energia indicam os mínimos de potencial eletrostático nessa superfície.....	52
Figura 3.23. Representação dos heterotetrámeros AS-ISONAM evidenciando as diferentes interações intermoleculares e os respetivos gráficos NCI: a) Heterotetrámero AS-ISONAM com uma geometria compacto; b) Heterotetrámero AS-ISONAM com uma geometria linear	56
Figura 3.24. Espetros de IV do AS comercial, das misturas AS-ISONAM (1:1) obtidas por NG e LAG e da ISONAM comercial. A cor verde são evidências de bandas características da formação do sintão ácido...nitrogénio aromático	57
Figura 3.25. Diffractogramas de raio-X de pó das misturas AS-ISONAM (1:1) obtidas por NG e LAG, do AS comercial e da ISONAM comercial.....	58
Figura 3.26. Curvas de DSC de aquecimento do AS comercial, m= 1,77 mg, da mistura AS-ISONAM (1:1) obtida por NG, m= 1,78 mg e da ISONAM comercial, m= 2,10 mg. (β = 10 °C/min.)	59
Figura 3.27. Espetros de IV do AS comercial, das misturas AS-ISONAM obtidas por moagem criogênica e da ISONAM comercial	60
Figura 3.28. Curvas de DSC de aquecimento do AS comercial, m= 1,77 mg, da mistura AS-ISONAM (1:1) obtida por moagem criogênica, m= 1,68 mg, e da ISONAM comercial, m= 2,10 mg (β = 10 °C/min.)	61
Figura 3.29. Diffractogramas de raio-X pó das misturas AS-BIS (1:1) obtidas por moagem criogênica, do AS comercial e da ISONAM comercial.....	61
Figura 3.30. Diffractogramas de raios-X de pó do co-amorfo AS-ISONAM (1:1) após 40 dias à T= 2°C.	62
Figura 3.31. Diffractogramas de raio-X de pó das misturas AS-NAM (1:1) obtidas por NG e LAG, do AS comercial e da NAM comercial.....	66
Figura 3.32. Espetros de IV do AS comercial, das misturas AS-NAM (1:1) obtidas por NG e LAG e da NAM comercial.....	66

Figura 3.33. Curvas de DSC de aquecimento do AS comercial, m= 1,77 mg,, da mistura AS-NAM (1:1) obtida por NG, m= 1,53 mg, e LAG, m= 1,57 mg, e da NAM comercial, m= 2,24 mg ($\beta = 10\text{ }^{\circ}\text{C/min.}$)	67
Figura 3.34. Difractogramas de raio-X de pó das misturas AS-BEZ (1:1) obtidas por NG e LAG, do AS comercial e da BEZ comercial	68
Figura 3.35. Espectros de IV do AS comercial, das misturas AS-BEZ (1:1) obtidas por NG e LAG e da BEZ comercial	69
Figura 3.36. Curvas de DSC de aquecimento do AS comercial, m= 1,77 mg, da mistura AS-BEZ (1:1) obtida por NG, m= 1,96 mg, e LAG, m= 1,56 mg, e da BEZ comercial, m= 1,42 mg ($\beta = 10\text{ }^{\circ}\text{C/min.}$)	69
Figura 3.37. Representação dos heterotrímeros AS-BIS evidenciando as diferentes interações intermoleculares e os respectivos gráficos NCI: a) Heterotrímero AS-BIS linear; b) Heterotrímero AS-BIS compacto	74
Figura 3.38. Espectros de IV da mistura AS-BIS (2:1), do AS comercial e da BIS comercial. É evidenciado a tracejado o desvio visualizado da vibração por alongação do anel aromático da molécula de BIS.	75
Figura 3.39. Difractogramas de raio-X da mistura AS-BIS (2:1), do AS comercial e da BIS comercial.	76
Figura 3.40. Curvas de DSC de aquecimento do AS comercial, m= 1,77 mg, da mistura AS-BIS (2:1) obtida por cristalização em éter etílico, m= 1,10 mg, e do BIS comercial, m= 2,39 mg ($\beta = 10\text{ }^{\circ}\text{C/min.}$).	76
Figura 3.41. Espectros de IV da mistura AS-BIS (2:1) obtida por NG e por LAG e do co-cristal obtido por cristalização em éter etílico.....	77
Figura 3.42. Difractogramas de raios-X de pó da mistura AS-BIS (2:1) obtida por NG e por LAG e do co-cristal obtido por cristalização em éter etílico.....	78
Figura 3.43. Curvas de DSC de aquecimento do co-cristal AS-BIS (2:1) cristalizado em éter etílico, m= 1,10 mg, e dos co-cristais obtidos por NG, m= 1,30 mg, e LAG, m= 1,72mg ($\beta = 10\text{ }^{\circ}\text{C/min.}$).	78
Figura 3.44. Representação do heterotrímero AS-PYZ compacto evidenciando as diferentes interações intermoleculares moleculares e o respectivo gráfico NCI.	81
Figura 3.45. Espectros de IV do AS comercial, das misturas AS-PYZ (1:1) e (2:1) obtidas por cristalização em éter etílico e da PYZ comercial.....	82
Figura 3.46. Difractogramas de raios-X de pó das misturas AS-PYZ (1:1) e (2:1) obtidas por cristalização em éter etílico, do AS comercial e da PYZ comercial	83

Figura 3.47. Curvas de DSC de aquecimento do AS comercial, m= 1,77 mg, das misturas AS-PYZ (1:1) e (2:1) obtidas por cristalização em éter etílico, m= 1,25 mg e m= 1,57 mg respectivamente, e do PYZ comercial, m= 1,46 mg ($\beta = 10\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min.}$).....	83
Figura 3.48. Espectros de IV do AS comercial, das misturas AS-PYZ (1:1) e (2:1) obtidas por NG e da PYZ comercial	84
Figura 3.49. Espectros de IV do AS comercial, das misturas AS-PYZ (2:1) obtidas por moagem criogênica e da PYZ comercial	85
Figura 3.50. Curvas de DSC do AS comercial, m= 1,77 mg, das misturas AS-BIS (2:1) obtidas por moagem criogênica, m= 1,43 mg, e da PYZ comercial, m= 1,46 mg ($\beta = 10\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min.}$).....	86
Figura 3.51. Difractogramas de raio-X pó das misturas AS-BIS (2:1) obtidas por moagem criogênica, do AS comercial e da PYZ comercial.....	86
Figura 3.52. Representação dos heterodímeros AS-MCP evidenciando as diferentes interações intermoleculares e os respetivos gráficos NCI: a) Heterodímero AS-CAF1; b) Heterodímero AS-CAF2 e c) Heterodímero AS-CAF3.....	90
Figura 3.53. Difractogramas de raios-X de pó das misturas AS-CAF (1:1) obtidas por NG e por LAG, do AS comercial e da CAF comercial.....	91
Figura 3.54. Espectros de infravermelho da amostra comercial de AS, das misturas AS-CAF (1:1) obtidas por NG e LAG e da amostra comercial de CAF	91
Figura 3.55. Curvas de DSC de aquecimento do AS comercial, m= 1,77 mg, da mistura AS-CAF (1:1) obtida por NG e LAG, m= 1,57 e m= 1,28 respectivamente e da CAF comercial, m= 1,09 mg ($\beta = 10\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min.}$)	92
Figura A1. Superfície de Hirshfeld da molécula MCP. As interações por pontes de hidrogénio estão assinaladas a tracejado na cor verde	111
Figura A2. Superfície de Hirshfeld da molécula ISONAM. As interações por pontes de hidrogénio estão assinaladas a tracejado na cor verde	111
Figura A3. Superfície de Hirshfeld da molécula NAM. As interações por pontes de hidrogénio estão assinaladas a tracejado na cor verde	112
Figura A4. Superfície de Hirshfeld da molécula BIS.....	112
Figura A4. Superfície de Hirshfeld da molécula PYZ.....	113
Figura A6. Superfície de Hirshfeld da molécula CAF	113
Figura A7. Curvas de DSC de aquecimento do AS comercial, m= 1,77 mg, da mistura AS-ISONAM (1:1) obtida por LAG, m= 1,82 mg e da ISONAM comercial, m= 2,10 mg. ($\beta = 10\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min.}$)	114

Figura A8. Diagrama de fases binário sólido-líquido do sistema AS com NAM, à pressão atmosférica.....	114
Figura A9. Curvas de DSC de aquecimento do AS comercial, m= 1,77 mg, da mistura AS-BIS (1:1) obtida por cristalização em éter etílico, m= 1,32 mg, e do BIS comercial, m= 2,39 mg ($\beta = 10\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min.}$)	115
Figura A10. Espectros de IV do AS comercial, da mistura AS-PYZ (2:1) obtidas por cristalização em etanol-água (1:1) e da PYZ comercial	115
Figura A11. Difractogramas de raios-X de pó da mistura AS-PYZ (2:1) obtidas por cristalização em etanol-água (1:1), do AS comercial e da PYZ comercial.....	116
Figura A12. Difractogramas de raios-X de pó das misturas AS-PYZ (1:1) e (2:1) obtidas NG, do AS comercial e da PYZ comercial	116
Figura A13. Curvas de DSC de aquecimento do AS comercial, m= 1,77 mg, das misturas AS-PYZ (1:1) e (2:1) obtidas NG, m= 1,40 mg e m= 1,35 mg respectivamente, e do PYZ comercial, m= 1,46 mg ($\beta = 10\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min.}$)	117
Figura A14. Curvas de DSC de aquecimento do AS comercial, m= 1,77 mg, da mistura AS-CAF (1:1) obtida cristalização em etanol, m= 1,78, e da CAF comercial, m= 1,09 mg ($\beta = 10\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min.}$)	117
Figura A15. Espectros de infravermelho da amostra comercial de AS, da mistura AS-CAF (1:1) obtida por cristalização em etanol e da amostra comercial de CAF	118

Índice de Esquemas

Esquema 1. Reações isodésmicas para o cálculo da estabilidade relativa dos heterodímeros vs homodímeros: AS-MCP1 e AS-MCP2.....	43
Esquema 2. Reações isodésmicas para o cálculo da estabilidade relativa do heterotrímero vs heterotetrámeros: a) AS-ISONAM compacto e b) AS-ISONAM linear.	54
Esquema 3. Reações isodésmicas para o cálculo da estabilidade relativa do heterodímero vs heterotetrámeros: AS-ISONAM.	55
Esquema 4. Reações isodésmicas para o cálculo da estabilidade relativa do heterotetrámeros vs homodímeros: a) AS-NAM linear e b) AS-NAM compacto.	63
Esquema 5. Reações isodésmicas para o cálculo da estabilidade relativa do heterodímero AS-NAM vs homodímero de AS e NAM.	65
Esquema 6. Reações isodésmicas para o cálculo da estabilidade relativa dos heterotrímeros vs homodímeros: AS-BIS linear e AS-BIS compacto.	71
Esquema 7. Reações isodésmicas para o cálculo da estabilidade relativa do heterotrímero vs homodímeros: AS-4,4bipiridil.	73
Esquema 8. Reações isodésmicas para o cálculo da estabilidade relativa do heterotrímero vs homodímeros: AS-PYZ linear e AS-PYZ compacto.	80
Esquema 9. Reações isodésmicas para o cálculo da estabilidade relativa dos heterodímeros vs homodímeros: a) AS-CAF1, b) AS-CAF2 e c) AS-CAF3.	88

Índice de Tabelas

Tabela 2.1. Compostos utilizados na atividade laboratorial.....	21
Tabela 3.1. B3LYP/def2svp Energias dos homodímeros de AS e MCP e energias dos heterodímeros de AS-MCP1 e AS-MCP2 ^α	42
Tabela 3.2. B3LYP/def2svp Energias dos homodímeros de AS e ISONAM e energias dos heterotrímeros de AS-ISONAM linear e AS-ISONAM compacto ^α	53
Tabela 3.3. B3LYP/def2svp Energias dos homodímeros de AS e ISONAM e energias dos heterotrímeros de AS-ISONAM linear e AS-ISONAM compacto ^α	55
Tabela 3.4. B3LYP/def2svp Energias dos homodímeros de AS e NAM e energias dos heterotrímeros de AS-NAM linear e AS-NAM compacto ^α	63
Tabela 3.5. B3LYP/def2svp Energias dos homodímeros de AS e NAM e energias do heterodímero de AS-NAM ^α	64
Tabela 3.6. B3LYP/def2svp Energias dos homodímeros de AS e BIS e energias dos heterotrímeros de AS-BIS linear e AS-BIS compacto ^α	70
Tabela 3.7. B3LYP/def2svp Energias dos homodímeros de AS e 4,4bipiridil e energia do heterotrímero de AS-4,4bipiridil ^α	72
Tabela 3.8. Parâmetros termodinâmicos obtidos a partir dos termogramas do AS comercial, do co-cristal AS-BIS (2:1) e do BIS comercial.....	77
Tabela 3.9. B3LYP/def2svp Energias dos homodímeros de AS e PYZ e energias dos heterotrímeros de AS-PYZ linear e AS-PYZ compacto ^α	79
Tabela 3.10. B3LYP/def2svp Energias dos homodímeros de AS e CAF e energias dos heterodímeros de AS-CAF1, AS-CAF2 e AS-CAF3 ^α	87

Abreviaturas

WHO – do inglês *World Health Organization*

API – do inglês *Active Pharmaceutical Ingredient*

LRO – do inglês *long-range order*

SRO – do inglês *short-range order*

FDA – do inglês *Food and Drug Administration*

EMA – do inglês *European Medicines Agency*

BCS – do inglês *Biopharmaceutical Classification System*

GRAS – do inglês *Generally Recognized as Safe*

AS – artesunato

MCP – metoclopramida

ISONAM – isonicotinamida

NAM – nicotinamida

BEZ – benzamida

BIS – 1,2 bis(4piridil)etano

PYZ – pirazina

CAF – cafeína

CCDC – do inglês *The Cambridge Crystallographic Data Centre*

NG – do inglês *Neat Grinding*

LAG – do inglês *Liquid-assisted Grinding*

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

DSC – do inglês *Differential Scanning Calorimetry*

XRPD – do inglês *X-Ray Powder Diffraction*

DFT – do inglês *Density Functional Theory*

NCI – do inglês *the Non-Covalent Interactions*

IV – infravermelho

Resumo

Esta dissertação teve como principal objetivo a investigação da formação de sólidos multicomponente do ativo farmacêutico artesunato. Para alcançar este objetivo, foi aplicada uma combinação de metodologias experimentais e computacionais, uma abordagem rica e completa uma vez que os resultados obtidos computacionalmente permitem, muitas vezes, prever e justificar a formação ou não de novas formas sólidas multicomponente por metodologias experimentais. O artesunato é um composto de utilização generalizada no tratamento da malária, particularmente em casos menos graves e iniciais da doença. Este composto tem sido alvo de diversos estudos que visam uma melhoria das suas propriedades físico-químicas, nomeadamente uma melhoria da sua solubilidade aquosa.

Diversos co-formadores, cada um com um objetivo específico foram usados na síntese das novas formas sólidas multicomponente. Foi escolhido um co-formador numa perspetiva de terapia dual (metoclopramida) e vários co-formadores que possibilitassem a formação de diferentes heterosintões. Neste grupo encontram-se co-formadores clássicos na investigação de formas sólidas multicomponente, nomeadamente a isonicotinamida, a nicotinamida, a benzamida, o 1,2-bis(4-piridil)etano, a pirazina e a cafeína.

Neste trabalho foram sintetizadas três novas formas sólidas do composto artesunato com os co-formadores metoclopramida, isonicotinamida e 1,2-bis(4-piridil)etano. Para o sistema artesunato-metoclopramida conseguiu-se a síntese de co-amorfos nas proporções 1:1, 2:1 e 3:1, sendo esta última estequiometria a mais promissora devido a uma transição vítrea a temperatura mais elevada. A formação dos co-amorfos foi conduzida por mecanoquímica. Foi também obtido um co-amorfo para o sistema artesunato-isonicotinamida, numa proporção equimolar, igualmente sintetizado por mecanoquímica. Para o sistema artesunato-1,2-bis(4-piridil)etano confirma-se a formação de um co-cristal na proporção 2:1, quer por mecanoquímica quer por cristalização em éter etílico. Todos estes resultados experimentais estão em concordância com os resultados obtidos computacionalmente, tendo-se verificado para todos estes sistemas um valor de energia de ligação negativo entre os homoagregados dos compostos puros e os heteroagregados construídos. Este valor negativo obtido para todos estes sistemas permite concluir que a sua associação é termodinamicamente favorável.

Com os restantes co-formadores, nomeadamente a nicotinamida, a benzamida, a pirazina e a cafeína, obteve-se apenas uma mistura física dos compostos de partida. Esta ausência de associação dos compostos foi corretamente prevista pelos cálculos computacionais, tendo-se verificado para estes sistemas valores de energia de ligação pequenos, o que permitia prever que a sua associação seria difícil.

A otimização dos agregados moleculares por métodos DFT e a análise das suas interações não-covalentes possibilitou a racionalização das suas estruturas e dos fatores de estabilização intermolecular.

Todas as formas sólidas investigadas nesta dissertação foram caracterizadas por técnicas experimentais complementares, nomeadamente por espectroscopia de infravermelho por refletância total atenuada com transformada de Fourier (ATR-FTIR), calorimetria diferencial de varrimento (DSC) e difração de raios-X de pó (XRPD).

Abstract

This dissertation aims to investigate the formation of multicomponent solids of the pharmaceutical active artesunate. A combination of experimental and computational methodologies was used, a rich and comprehensive approach since the computational results frequently enable prediction and justification of the formation or non-formation of new multicomponent solid forms by experimental methodologies. Artesunate is a compound of widespread use in the treatment of malaria, particularly in less severe and early cases of the disease. This compound has been the target of several studies aiming at an improvement of its physicochemical properties, specifically an improvement of its aqueous solubility.

Several cofomers, each with a specific purpose, were used in the synthesis of the new multicomponent solid forms. One cofomer was chosen from a dual-therapy perspective (metoclopramide) and several other cofomers that would enable the formation of different heterosynthons. In this group are classical co-formers in the investigation of multicomponent solid forms, such as isonicotinamide, nicotinamide, benzamide, 1,2-bis(4-pyridyl)ethane, pyrazine, and caffeine.

In this work, three new solid forms of the artesunate compound were synthesized with the cofomers metoclopramide, isonicotinamide and 1,2-bis(4-pyridyl)ethane. For the artesunate-metoclopramide system, the synthesis of co-amorphs was achieved in the ratios 1:1, 2:1, and 3:1, the latter stoichiometry being the most promising due to a glass transition at a higher temperature. The formation of the co-amorphs was conducted by mechanochemistry. A co-amorph for the artesunate-isonicotinamide system was also obtained in an equimolar ratio, also synthesized by mechanochemistry. For the artesunate-1,2-bis(4-pyridyl)ethane system, the formation of a co-crystal in a 2:1 ratio is confirmed, both by mechanochemistry and crystallization in ethyl ether. All these experimental results are in agreement with the results obtained computationally, and a negative binding energy value between the homoaggregates of the pure compounds and the constructed heteroaggregates was found for all these systems. This negative value obtained for all these systems allows us to conclude that their association is thermodynamically favorable.

With the remaining co-formers, nicotinamide, benzamide, pyrazine, and caffeine, only a physical mixture of the starting compounds was obtained. This lack of association of the compounds was correctly predicted by the computational calculations, as small binding energy values were found for these systems, which predicted that their association would be difficult.

Optimization of the molecular aggregates by DFT methods and analysis of their non-covalent interactions (NCI) made it possible to rationalize their structures and intermolecular stabilization factors.

All solid forms investigated in this dissertation were characterized by complementary experimental techniques, specifically by attenuated total reflectance Fourier transform infrared spectroscopy (ATR-FTIR), differential scanning calorimetry (DSC), and powder X-ray diffraction (XRPD).

Capítulo 1

Introdução

Capítulo 1

Introdução

1.1 Objetivo

A malária é uma das doenças infecciosas com maior prevalência no mundo, particularmente no continente africano e na região sul da Ásia. É descrita como uma doença grave, potencialmente fatal, provocada pelo parasita *Plasmodium*, transmitido aos humanos pela picada de um mosquito fêmea do género *Anopheles*^[1, 2]. Até à data, mais de 200 espécies de *Plasmodium* foram identificadas, sendo que apenas 5 espécies do parasita afetam os humanos, nomeadamente o *P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae*, *P. knowlesi* e *P. falciparum*, denotando que o *P. falciparum* é reconhecido como sendo o mais fatal e o mais comumente transmitido aos humanos. Aquando da picada do mosquito, o parasita entra na corrente sanguínea, alojando-se posteriormente nos hepatócitos do fígado do hospedeiro, onde ocorre a sua replicação. Passados aproximadamente 5 a 10 dias e após a sua replicação, estes retornam à corrente sanguínea, afetando os eritrócitos, provocando todos os sintomas e problemas associados à doença, nomeadamente febres altas, dores musculares e vômitos^[2, 3, 4].

De acordo com a Organização Mundial de Saúde (WHO), foram registados no anos de 2020 cerca de 241 milhões de novos casos de malária em todo o mundo, um valor superior ao registado no ano de 2019, onde se confirmou 227 milhões de casos. O aumento do número de casos de malária teve igualmente um grande impacto no número de mortes, onde se estima que, no ano de 2020 morreram aproximadamente 627 mil pessoas. A maior contribuição para estes números provém do continente africano e do continente asiático, verificando-se que cerca de 95% dos novos casos e cerca de 96% das mortes ocorreram nestes dois continentes. Um dos fatores mais alarmantes está relacionado com a faixa etária das mortes por malária. Num estudo conduzido pela WHO, as principais vítimas são crianças com idades inferiores a 5 anos, representando 80% das mortes por malária^[5].

Tendo em conta estes números, o objetivo é bastante claro: encontrar formas eficazes de travar ou até mesmo prevenir a malária. Atendendo este objetivo, grandes progressos foram realizados nos últimos anos no combate da malária com a descoberta de novos compostos e formulações com propriedades antimaláricas. Contudo, o desenvolvimento de resistências a estes compostos por parte do *Plasmodium* obrigam a uma contínua investigação por novas soluções. São necessários novos fármacos aliados, se possível, a novos mecanismos de ação, evitando assim a resistência já adquirida pelo parasita^[1, 6].

Como consequência do continuo ganho de resistência do parasita, a história da descoberta de compostos antimaláricos é longa no tempo, começando com a descoberta da quinina no século 19. Desde então o número de compostos isolados e sintetizados têm aumentado, sendo que atualmente estão prescritos 16 tratamentos para o combate à malária. Como principais evidenciam-se a utilização de compostos derivados da artemisina, onde se encontra o composto investigado neste trabalho, o artesunato^[1].

Como já referido, a melhor maneira de combater a resistência já adquirida pelo parasita seria desenvolver novas classes de agentes antimaláricos aliadas a novos mecanismos de ação.

Contudo, a investigação e formulação de novos fármacos acarreta gastos bastante elevados e um tempo de pesquisa demorado. Posto isto é necessário encontrar alternativas viáveis e eficazes a curto prazo. Uma destas alternativas seria então a formulação de sólidos multicomponente, partindo de compostos antimaláricos já comercializados. A sua utilização permitiria atrasar o desenvolvimento de resistências do parasita uma vez que se estaria a diminuir a sua dosagem, mantendo sempre o efeito do composto. A síntese de novas formas sólidas iria promover uma série de melhorias, nomeadamente na sua estabilidade, solubilidade aquosa, velocidade de dissolução e biodisponibilidade oral^[1, 7, 8].

Tendo em conta todos estes fatores, o objetivo deste trabalho passou pela investigação de novas formas sólidas multicomponente do artesunato, numa perspetiva aplicada de terapia dual, para uma melhoria das suas propriedades físico-químicas e na avaliação da possibilidade de associação segundo diferentes sintões. De forma a cumprir esta premissa deste trabalho recorreu-se a uma combinação de metodologias experimentais e computacionais.

1.2 Formas sólidas multicomponente

Nas formulações sólidas, o ativo farmacêutico (API) pode existir em diferentes formas, podendo ser comumente classificados como cristalinos ou amorfos, dependendo do grau de ordem da sua estrutura. O estado cristalino é caracterizado por possuir ordem de longo alcance (LRO) e de curto alcance (SRO). Existem diferentes fases cristalinas que podem ser empregues no desenvolvimento de novos produtos farmacêuticos, nomeadamente os co-cristais, os sais e os solvatos/hidratos. Os compostos amorfos são diferentes das fases cristalinas já mencionadas, uma vez que estes não apresentam LRO, tal como nos líquidos. Todos estes exemplos de sólidos multicomponente são apresentados na Figura 1.1^[9].

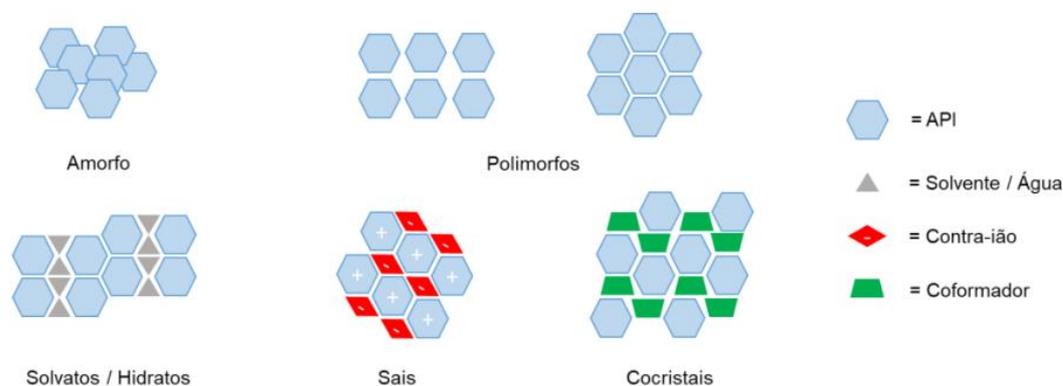


Figura 1.1 Diferentes formas sólidas de ativos farmacêuticos. Adaptado de [9].

Da figura evidenciam-se os solvatos, descritos como compostos sólidos que possuem moléculas de solvente incorporadas na sua estrutura cristalina. As moléculas de solvente têm um papel fulcral na estabilização e formação de uma nova forma sólida ao promover, por exemplo, ligações de hidrogénio com as moléculas do API. Evidencia-se uma das subclasses mais estudadas de solvatos, conhecida como hidratos, onde o solvente responsável pela estabilização da forma sólida é a água. Aquando da formação dos hidratos é importante ter em consideração uma série de fatores, uma vez que quando sujeitos a mudanças de temperatura, mudanças de pressão ou até mesmo de humidade, estes podem perder as moléculas de água

responsáveis pela nova forma sólida formada, promovendo a destruição do hidrato. A formulação de hidratos promove uma série de alterações nas propriedades físico-químicas dos compostos, nomeadamente na sua solubilidade, na sua estabilidade e na sua biodisponibilidade oral^[10, 11].

A formulação de sais é uma outra abordagem eficaz na resolução da baixa solubilidade aquosa e na baixa biodisponibilidade do API. A formação de um sal resulta de uma reação ácido-base entre o API ionizável e um contra-íão molecular, numa estequiometria bem definida. Uma das grandes vantagens da formulação de sais passa pela sua fácil síntese e cristalização, o que os torna numa das formas sólidas farmacêuticas mais comercializados do mercado^[9]. Em contra partida nem todos os compostos podem ser empregues na formulação de sais, uma vez que nem todos possuem grupos funcionais suficientemente ácidos ou básicos capazes de formar sais^[7, 9].

Os co-cristais tendem a ser uma das formas multicomponente mais estáveis, o que os torna numa das formas sólidas mais investigadas. É possível definir co-cristais como aductos moleculares cristalinos, homogêneos, obtidos a partir de componentes que são sólidos em condições ambientais^[8]. Estes componentes permanecem ligados por interações não covalentes, essencialmente por ligações de hidrogénio ou, por exemplo, por forças van der Waals. A formulações de co-cristais tem ganho cada vez mais interesse como um método para a obtenção de novas formas cristalinas de ativos farmacêuticos, sem alterar a estrutura química do composto ativo^[1, 7, 8]. É de realçar que a síntese de co-cristais é um dos principais objetivos deste trabalho de investigação.

No que toca aos compostos amorfos, estes têm sido alvo de cada vez mais estudos, em particular os sistemas de co-amorfos. Estes sistemas são caracterizados pela associação do API com o co-formador numa forma desordenada, não possuindo estrutura cristalina ^[10, 12]. O estado amorfo tem sido amplamente utilizado como estratégia para melhorar em grande medida a biodisponibilidade oral, comparativamente aos sólidos cristalinos, resultante de um processo de dissolução mais efetiva e um incremento da solubilidade do API. Contudo, estes sistemas são termodinamicamente metaestáveis, evoluindo ao longo do tempo para a sua estrutura cristalina, sendo esta a principal limitação para a sua utilização^[13, 14].

1.3 Sistema de Classificação Biofarmacêutica

A taxa e a extensão da absorção de um determinado fármaco é afetado por diversos fatores, designadamente fatores físico-químicos (pKa, solubilidade, estabilidade, tamanho das partículas, etc) fatores fisiológicos, sendo que estes fatores são diferentes de pessoa para pessoa (precisando por isso de ser analisados com cuidado) e por fim fatores associados à forma de dosagem do fármaco, já que o fármaco pode ser administrado sobre diferentes formas, nomeadamente em cápsulas, comprimidos, soluções, suspensões, emulsões ou gel. Contudo, com a plena noção de todos estas fatores, o trabalho de Amidon *et.al*^[15] revela que os principais eventos que controlam a absorção oral do ativo são a permeabilidade gastrointestinal e a sua solubilidade aquosa.

Estes dois eventos são caracterizados por um sistema simples e viável, conhecido por Sistema de Classificação Biofarmacêutica (BCS). Devido às vantagens da sua utilização, este sistema foi adotado pela *Food and Drug Administration* (FDA), pela *European Medicines Agency* (EMA) e pela WHO. O sistema BCS considera a permeabilidade gastrointestinal e a solubilidade

aquosa do composto que está a ser estudado e classifica-o numa das quatro classes possíveis, evidenciadas na Figura 1.2.

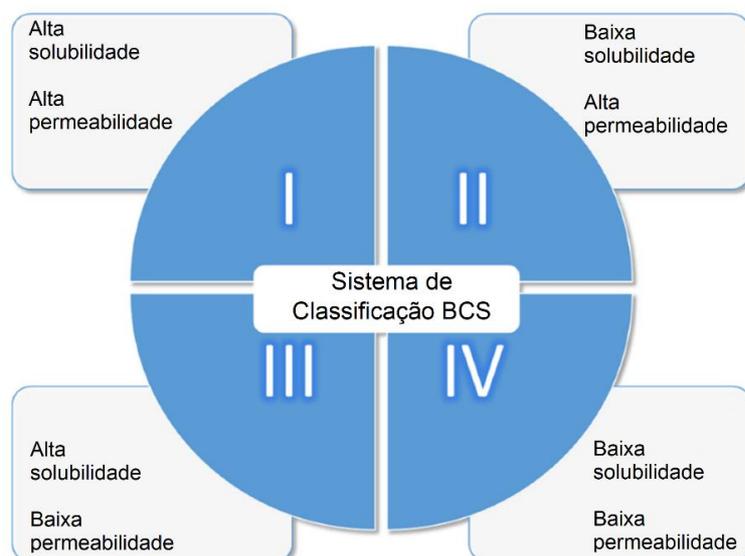


Figura 1.2. Representação esquemática do Sistema de Classificação Biofarmacêutica (BCS). Adaptada de [16].

Pormenorizando cada uma das quatro classes, a classe I faz referência a todos os API's que apresentem uma elevada solubilidade e uma alta permeabilidade. Estes fármacos são reconhecidos por um perfil de absorção ideal, não necessitando de qualquer intervenção que vise melhorar as suas propriedades. Na classe II fazem parte os fármacos que possuem uma alta permeabilidade e uma baixa solubilidade, apresentam por isso um perfil de absorção mais longo devido à sua baixa solubilidade aquosa. O tempo prolongado de absorção está também ligado aos fármacos da classe III, caracterizados por uma alta solubilidade e uma baixa permeabilidade. Por fim, a classe IV é composta por fármacos com baixa solubilidade e baixa permeabilidade, apresentando por isso vários desafios ao seu desenvolvimento^[15, 16, 17].

No presente estudo, o composto ativo investigado pertence à classe II do sistema de classificação BCS, onde o objetivo passou por melhorar a sua solubilidade através da investigação da possibilidade de síntese de novas formas sólidas multicomponente.

1.4 Co-cristais

Cerca de 70% dos APIs são comercializados sob forma sólida, sendo administrados por via oral. A formulação de fármacos no estado sólido acarreta várias vantagens, tais como a facilidade de síntese, uma menor prevalência de impurezas e uma maior estabilidade físico-química^[9, 18, 19]. Contudo, a maioria dos APIs apresenta uma baixa solubilidade aquosa. Num estudo conduzido em 2015, verificou-se que cerca de 40% dos compostos farmacêuticos comercializados e aproximadamente 90% dos novos APIs apresentam uma baixa solubilidade aquosa, pertencendo às classes II e IV do sistema de classificação BCS^[9].

Atendendo a estas percentagens, é necessário encontrar formas de contornar a baixa solubilidade dos compostos ativos. Uma das possibilidades existentes que visa uma melhoria das propriedades do API passa pelo *design* e síntese de cristais multicomponente, nomeadamente co-cristais. A definição de co-cristal têm gerado muita discussão ao longo dos anos por diversos investigadores e entidades, sendo que neste trabalho, a definição de co-cristal considerada foi a definida pela FDA. A FDA descreve um co-cristal como aductos moleculares cristalinos, compostos por duas ou mais moléculas distintas na mesma estrutura cristalina com uma estequiometria bem definida. Ambos os compostos são sólidos à temperatura ambiente e à pressão atmosférica, estando associados entre si por ligações não covalentes e não iónicas, sem qualquer transferência de protões^[20, 21].

Tendo em conta a definição apresentada de co-cristal, a sua síntese transparece numa abordagem promissora em diversas áreas da química, em particular na área aplicada neste trabalho, a área farmacêutica. O termo co-cristal farmacêutico incide num sistema onde uma das moléculas é um API, associando-se a um co-formador, geralmente presente na lista estipulada pela FDA com o nome GRAS, sendo por isso seguro para o consumo do paciente. Para além da possibilidade de associação de um API com um determinado co-formador pode ainda ser considerado, em certos sistemas, a formulação de uma associação com dois APIs, objetivando uma terapia dual.

O interesse na síntese de novos co-cristais farmacêuticos vai além do que seja somente uma melhoria na solubilidade aquosa dos compostos. A sua formulação está interligada com um melhoramento das propriedades físico-químicas e farmacocinéticas do API, nomeadamente higroscopicidade, velocidade de dissolução, permeabilidade, biodisponibilidade oral, morfologia e tamanho das partículas. A sua síntese poderá promover igualmente uma série de outras modificações e melhorias nas suas propriedades termodinâmicas, cinéticas e mecânicas^[1, 7, 8]. É importante reportar que todas estas modificações nas propriedades do API não interferem na sua atividade e no seu mecanismo de ação, permanecendo intrínsecos ao composto^[22, 23].

Considerando uma vez mais a associação API com o co-formador, a escolha deste é maioritariamente baseada na possibilidade a priori de potenciais sintões supramoleculares, avaliada pela análise das estruturas moleculares das espécies envolvidas. Esta análise e consideração inicial na tentativa e previsão da síntese de co-cristais é conhecida como engenharia de cristais^[24]. A formação dos sintões supramoleculares pode ser dividida em dois tipos, homo e heterosintões. Os homosintões estão associados à interação entre grupos funcionais idênticos e complementares. Um exemplo da formação de homosintões são os dímeros, amplamente estudados na vertente computacional deste trabalho. Os heterosintões envolvem a interação de grupos funcionais diferentes, contudo complementares. Na Figura 1.3 estão exemplos dos dois tipos de sintões supramoleculares, todos eles explorados e investigados neste trabalho de investigação. É necessário ter em consideração que, para uma determinada experiência de co-cristalização seja bem-sucedida, devem de ser considerados co-formadores que apresentem grupos funcionais complementares aos do API.

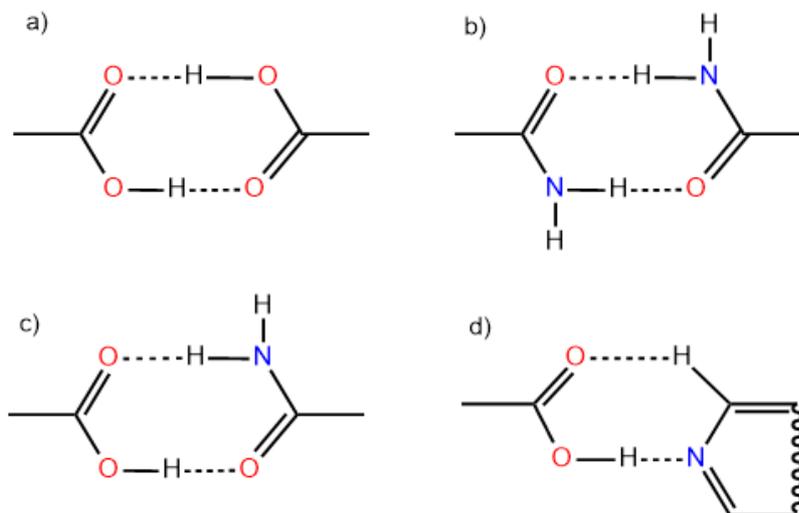


Figura 1.3. Representação de alguns homo e heterosintões supramoleculares: a) homosintão ácido...ácido; b) homosintão amida...amida; c) heterosintão ácido...amida; d) heterosintão ácido...nitrogênio aromático.

Após a escolha do co-formador, várias metodologias podem ser utilizadas na síntese de co-cristais. Dentro das metodologias mais utilizadas em investigação encontra-se a mecanoquímica e a cristalização em solução. A mecanoquímica tem emergido como uma excelente abordagem para uma rápida e eficiente síntese dos compostos farmacêuticos e de novas formas sólidas^[25, 26, 27]. A mecanoquímica por moagem em moinho de bolas recorre à energia mecânica proveniente dos movimentos das esferas no interior dos vasos de moagem (no caso do moinho de bolas), para induzir a formação de co-cristais. A mecanoquímica enquadra-se na química verde, surgindo como uma metodologia alternativa à utilização e dependência de solventes.

A cristalização em solução é um dos métodos de eleição para a obtenção de co-cristais. Esta metodologia é particularmente utilizada na síntese de cristais com dimensões adequadas à resolução da sua estrutura cristalina e quando se pretende promover uma transposição de escala. A formação do co-cristal é conseguida após o processo de sobressaturação, frequentemente conseguida por evaporação do solvente ou por arrefecimento da solução. Contudo, um dos grandes problemas da cristalização em solução passa por uma possível diferença de solubilidade do API e do co-formador no solvente escolhido para a co-cristalização. Por este motivo, os dois compostos podem cristalizar separadamente e obter-se uma mistura física dos dois compostos^[28].

1.5 Co-amorfos

Como já referido, a melhoria das propriedades físico-químicas dos APIs, particularmente a melhoria da sua solubilidade aquosa, pode ser alcançada pela formulação de co-cristais. Para além da síntese de co-cristais, os co-amorfos são outro tipo de forma sólida multicomponente que tem apresentado resultados na melhoria da solubilidade dos APIs. É um facto já bem estabelecido que a utilização de formas amorfas dos compostos ativos é uma abordagem a

considerar no incremento da solubilidade dos fármacos. O aumento do número de trabalhos investigados sobre sistemas amorfos têm sido exponencial ao longo dos anos, verificando-se que na década de 90 o número de publicações visando sistemas amorfos de compostos farmacêuticos era somente 80, ao passo que no ano de 2014 o número de publicações correspondia a mais de 800^[29].

Para se compreender e definir um sólido amorfo é necessário numa fase inicial comparar com os sólidos cristalinos. Os sólidos cristalinos caracterizam-se por ordem e simetria de longo alcance (LRO) e de curto alcance (SRO). O sólido cristalino possui um arranjo molecular bem definido, designando-se por rede cristalina, associada à elevada estabilidade do cristal^[30]. Já um sólido amorfo não apresenta LRO, apresenta somente SRO, onde as moléculas estão associadas de forma aleatória por interações não covalentes, como por exemplo ligações de hidrogénio ou interação van der Waals^[31, 32].

Os compostos no estado amorfo têm baixa estabilidade termodinâmica, contendo um excesso de energia de Gibbs comparativamente à sua fase cristalina^[29, 33]. Os sólidos amorfos são portanto metaestáveis ou instáveis. Esta instabilidade pode promover por completo um processo de cristalização, associado a $\Delta G < 0$, ou então pode promover processos de relaxação irreversíveis ao longo do tempo^[33]. Este processo de relaxação ao longo do tempo é uma das características fundamentais de um sistema amorfo. Uma outra característica fundamental dos sólidos amorfos, que permite identificar um sólido amorfo durante o processo de investigação, é a sua transição vítrea, à temperatura T_g . É uma transição de fase de segunda ordem entre uma fase descrita como “rubbery” e uma fase vítrea (no estado sólido)^[34].

Seguindo o esquema apresentado na Figura 1.4 é possível confirmar uma vez mais o estado de metaestabilidade do sólido amorfo em relação ao sólido cristalino, registando-se um maior valor de energia de Gibbs para o composto amorfo. Evidencia-se durante o processo de aquecimento um progressivo aumento da energia de Gibbs do amorfo até à sua T_g . Aquando da T_g , é possível aferir um aumento do declive da reta, agregado a um aumento considerável da energia de Gibbs devido ao aumento da entropia do sistema. Este aumento da energia do sólido amorfo é justificado pelo ganho de mobilidade das moléculas, nomeadamente mobilidade translacional e rotacional^[33].

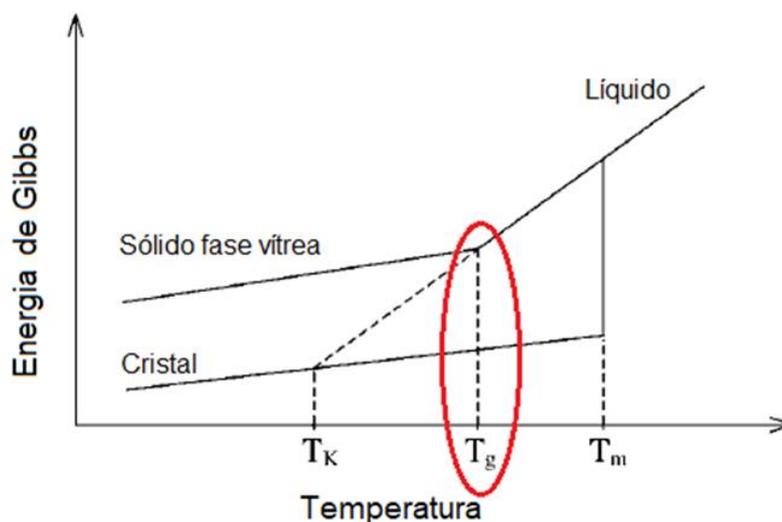


Figura 1.4. Representação esquemática da energia de Gibbs em função da temperatura, onde é evidenciado a vermelho a T_g de um sólido amorfo. Adaptada de [33].

Como referido acima, a melhoria da solubilidade dos APIs pode passar pela formulação de fármacos co-amorfos. Co-amorfos podem dividir-se em: uma categoria onde se visa uma combinação entre um ativo farmacêutico com outros fármacos, farmacologicamente complementares, sendo que ambos os fármacos interagem mutuamente na forma amorfa. A segunda categoria passa pela formulação de um sistema co-amorfo do API com um excipiente de baixo peso molecular^[35]. Ambas as categorias vão ser obtidas e estudadas neste trabalho de investigação. É importante ter em consideração que não existe um número de componentes limitantes na formulação de co-amorfos. Alguns estudos relatam que a estabilidade física de um API é melhorada consideravelmente aquando da formulação de um sistema co-amorfo em comparação com a forma amorfa dos compostos constituintes, devido a interações intermoleculares entre os componentes^[34].

As metodologias que podem ser empregues na síntese de sistemas co-amorfos são de todo equivalentes às metodologias aplicadas para a obtenção de co-cristais. No caso deste trabalho, os dois sistemas co-amorfos foram obtidos por mecanoquímica. Para além da técnica de mecanoquímica, estão descritos na literatura vários sistemas co-amorfos onde a amorfização foi conseguida por precipitação rápida em solução e por liofilização, entre outras^[33].

1.6 Ativo farmacêutico e co-formadores investigados neste trabalho

1.6.1 Artesunato

O artesunato (AS) é um derivado do composto artemisina, composto isolado pela primeira vez em 1971 da planta *artemisia annua*, uma erva comumente utilizada na medicina tradicional chinesa^[1]. Os derivados da artemisina são utilizados maioritariamente em casos menos graves de malária, numa fase inicial da doença. A grande maioria dos seus derivados, em particular o composto investigado neste trabalho, o AS, demonstraram e têm vindo a demonstrar um impacto positivo no tratamento da malária e uma grande eficácia no combate à resistência já adquirida pelo parasita *P. falciparum* aos diferentes fármacos atualmente comercializados^[1, 37]. Denotar que o composto AS foi recentemente aprovado pela FDA para tratamento intravenoso de malária severa^[38], contudo a sua formulação sólida para administração por via oral foi aprovada muito antes pela FDA.

O AS, cuja estrutura molecular está representada na Figura 1.5 a), é um composto pouco solúvel em água, pertencendo à classe II do sistema de classificação BCS, padronizando-se por uma alta permeabilidade e por uma baixa solubilidade aquosa^[39]. O AS é caracterizado por ser um pro-fármaco, transformando-se na sua forma ativa, dihidroartemisina (DHA), Figura 1.5 b), após ser metabolizado pelo fígado. O seu mecanismo de ação correlaciona-se com o seu grupo endoperóxido, onde este reage com um precursor da hemoglobina (Heme) promovendo a formação de radicais livres, conferindo grandes danos às proteínas essenciais à sobrevivência do parasita, nomeadamente à proteína adenosina-trifosfatase (EXP1), responsável pelo armazenamento de energia nas células do parasita^[1, 40].

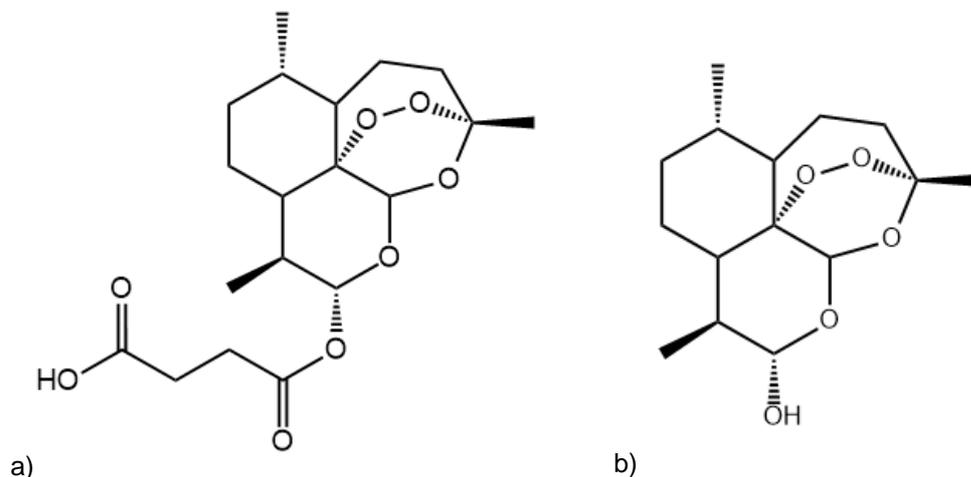


Figura 1.5. Estrutura molecular do: a) artesunato e b) dihidroartemisinina.

O AS é um composto ácido que apresenta dois diastereoisómeros, α e β . O diastereoisómero α é descrito como sendo o mais estável e o que apresenta uma maior eficácia contra a malária, o que justifica que apenas este seja comercializado^[41]. A investigação do composto AS apresenta alguns desafios relacionados com a sua estabilidade. Estes desafios englobam o facto do AS ser fotossensível e poder o AS sofrer degradação quando exposto a condições muito ácidas ou básicas. É importante ter ainda em consideração que o AS é facilmente hidrolisado em meio aquoso, transformando-se na sua forma ativa DHA^[39].

Atendendo à estrutura química do AS, representada da Figura 1.5 a), é possível aferir que esta possui vários grupos funcionais capazes de formar ligações de hidrogénio, nomeadamente um grupo dador presente no grupo -OH do ácido carboxílico e vários grupos aceitadores, nomeadamente os dois oxigénios carbonílicos. A presença de vários grupos funcionais e tendo em conta a grande flexibilidade da molécula de AS permite antever uma grande variedade de possíveis associações com os co-formadores. A presença de vários grupos funcionais capazes de participarem em ligações de hidrogénio irá introduzir ao sistema uma grande competição o que pode muitas das vezes promover a síntese de um sistema co-amorfo. Já a grande flexibilidade da molécula de AS terá um papel também importante para a co-amorfização uma vez que devido à flexibilidade a conformação adotada pela molécula de AS aquando da associação do co-formador por não ser sempre a mesma, o que poderia conduzir à síntese de um co-amorfo.

No que toca a investigação conduzida com o objetivo de obtenção de co-cristais com o composto AS, existe apenas um estudo levado a cabo por Fu-Ping *et al.*^[42] onde é confirmada a formação de um co-cristal de AS com o co-formador 4,4-bipiridil na proporção 2:1 por cristalização em solução. Este co-cristal apresentou uma melhoria na solubilidade aquosa relativamente ao composto ativo AS, mantendo a eficácia no tratamento da malária. Este co-cristal é o único relatado até à data deste trabalho. Contudo existe ainda a confirmação da formação de um sal híbrido, o qual apresenta na sua constituição o AS e um outro composto antimalárico, a mefloquina. Este estudo relata a formação de um sal híbrido na proporção 1:1, obtido com recurso à técnica de mecanoquímica^[43].

Apesar destes resultados recentes, o AS é tradicionalmente comercializado na sua forma pura ou recorrendo a uma terapia combinada, consistindo esta última num tratamento à base de

dois compostos antimaláricos. As terapias combinadas mais eficazes e por consequência mais comercializadas são a combinação do AS com a pironaridina (Piramax®) e a combinação AS com a amodiaquina (ASAQ Winthrop®)^[1, 44].

1.6.2 Metoclopramida

A metoclopramida (MCP), cuja estrutura está representada na Figura 1.6, é um composto antiemético e um antagonista D2 da dopamina, utilizado no tratamento do refluxo gastroesofágico e na prevenção de náuseas e vômitos, administrado por via oral^[45].

A escolha do composto MCP como co-formador do composto AS teve como objetivo a pesquisa e síntese de novas formas sólidas multicomponente que permitam uma terapia dual. Esta junção numa terapia dual seria bastante interessante, uma vez que se estaria a promover o combate à malária e ao mesmo tempo se estaria a minimizar um dos principais sintomas da malária, os vômitos. Esta junção poderá também acarretar ainda diversas outras vantagens, nomeadamente a melhoria da solubilidade do AS.

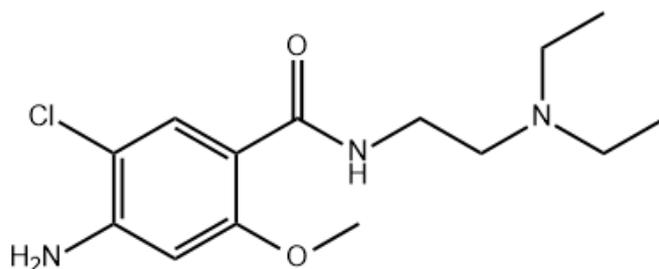


Figura 1.6. Estrutura molecular da metoclopramida

A MCP pertence à classe III do sistema de classificação BCS o que incide uma alta solubilidade aquosa e uma baixa permeabilidade^[46]. O mecanismo de ação da MCP passa numa fase inicial pela inibição dos recetores de dopamina D2. Como consequência ocorre a libertação de acetilcolina cuja função passa pelo aumento do esfíncter do tónus gástrico, o que promove um maior vazamento gástrico, impedindo o aumento do fluxo gástrico que resultaria em vômitos^[47, 48].

É descrito na literatura que o composto MCP apresenta 2 polimorfos^[49]. O polimorfo I da MCP caracteriza-se por ser o mais estável à temperatura ambiente e à pressão atmosférica, sendo este o polimorfo comercializado^[49]. A representação das interações intermoleculares presentes no polimorfo I da MCP está evidenciada na Figura 1.7. A estrutura cristalina do polimorfo I está bem estudada, apresentando 2 entradas depositadas na CCDC, enquanto que o polimorfo II não apresenta qualquer estrutura resolvida. A obtenção do difractograma de raios-X de pó do polimorfo II da MCP foi feito pela primeira vez neste trabalho.

Atendendo à estrutura química da MCP é possível verificar a presença de grupos funcionais que possibilitam a formação de ligações de hidrogénio, grupos dadores nomeadamente o grupo amina e amida e grupos aceitadores, nomeadamente o oxigénio carbonílico. É importante relatar, na estrutura cristalina no polimorfo I, a presença de uma

interação intramolecular entre o grupo amida e o oxigénio, o que poderá dificultar a participação do grupo amida na formação de uma nova ligação de hidrogénio. Esta ligação de hidrogénio intramolecular está igualmente representada na Figura 1.7.

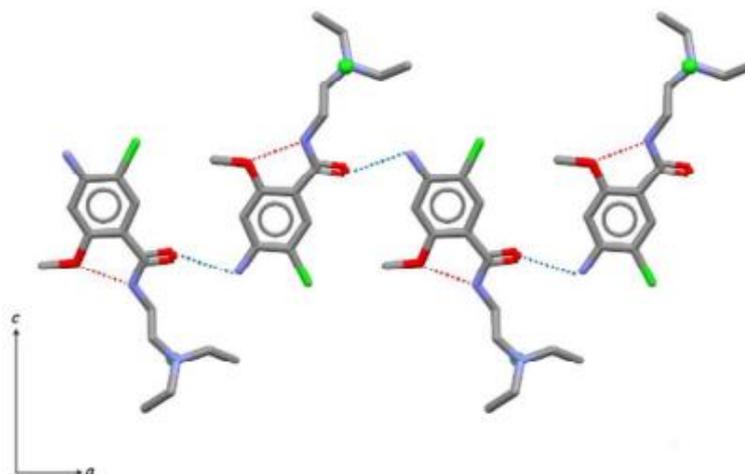


Figura 1.7. Interações intermoleculares (cor azul) e intramoleculares (cor vermelha) do polimorfo I da metoclopramida. Adaptada de [50].

A presença destes grupos funcionais, capazes de formar ligações de hidrogénio com o AS, e a flexibilidade da molécula tornam o composto MCP como promissor na síntese de sólidos multicomponente.

1.6.3 Piridinacarboxamidas e benzamida

De modo a investigar a possibilidade de formação de novos sólidos multicomponente com o composto AS, procedeu-se à escolha de um grupo de moléculas clássicas na formação sistemas supramoleculares, especialmente na síntese de co-cristais, nomeadamente as piridinacarboxamidas e a benzamida. As piridinacarboxamidas têm estruturas moleculares que apresentam variações sistemáticas entre si, podendo a associação com o ativo em estudo ocorrer segundo sintões supramoleculares envolvendo o nitrogénio aromático (Figura 1.3 d)), ou com o grupo amida. Neste trabalho foram utilizadas as piridinacarboxamidas isonicotinamida (ISONAM) e a nicotinamida (NAM). Foi também investigada a benzamida (BEZ), na qual a associação pelo grupo amida é a única possibilidade (por exemplo o sintão ácido...amida, presente na Figura 1.3 c)), de modo a eliminar a possível competição entre os sintões que podem ocorrer no caso das piridinacarboxamidas.

A investigação de associação entre as moléculas de AS e estes compostos é relevante no ponto de vista fundamental. Reveste-se igualmente de grande importância no caso de associação do AS com a NAM, uma vez que uma nova forma sólida poderá ser aliada a uma melhoria das propriedades físico-químicas do AS, dado que a NAM pertence ao complexo vitamínico B3.

1.6.3.1 Isonicotinamida

A ISONAM é um precursor da isoniazida, possuindo atividade anti-nociceptiva e anti-inflamatória^[51]. A ISONAM é frequentemente utilizada como co-formador na síntese de novas formas sólidas, nomeadamente na síntese de co-cristais. Denota-se a elevada solubilidade da ISONAM em meio aquoso como principal vantagem da sua utilização como co-formador^[52]. Os dois grupos funcionais, Figura 1.8, nomeadamente a amida e o nitrogénio aromático na posição *para*, capazes de formarem ligações de hidrogénio, possibilitam formar diferentes heterosintões, como por exemplo o sintão ácido...amida ou o sintão ácido...nitrogénio aromático, exemplificados na Figura 1.3.

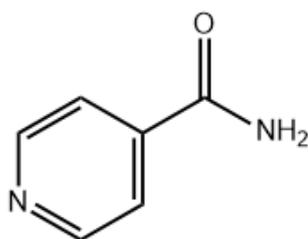


Figura 1.8. Estrutura molecular da isonicotinamida.

Considerando o polimorfismo da ISONAM, este tem sido alvo de investigação, tendo-se confirmado a existência de 6 polimorfos. Contudo, apesar de se terem descoberto 6 formas polimórficas da ISONAM, 3 delas foram detetadas de forma irreproduzível, nomeadamente as formas III, IV e a V^[53, 54, 55]. A forma I é a mais estável à temperatura ambiente e à pressão atmosférica. É importante ressaltar que na literatura ainda existe alguma confusão na respetiva identificação dos polimorfos I e II. Durante todo este trabalho manteve-se a designação adotada por Aakeroy *et al.*^[54]. Considerando a forma polimórfica I, as moléculas de ISONAM associam-se em dímeros amida...amida, dímeros esses que serão posteriormente utilizados nos cálculos computacionais, neste trabalho.

Tendo em conta os diferentes polimorfos da ISONAM, é necessário investigar se a metodologia experimental utilizada, neste caso a mecanoquímica, pode promover uma transição polimórfica durante o processo de moagem. Evidencia-se ainda o comportamento térmico da ISONAM, uma vez que composto de partida apresenta uma transição sólido-sólido durante o processo de aquecimento, transformando-se no polimorfo II^[53]. Este comportamento térmico é reportado na literatura e confirmado na secção 3.4.2 deste trabalho.

1.6.3.2 Nicotinamida

A NAM pertence ao complexo da vitamina B3, comumente utilizada no tratamento nutricional e da diabetes^[56]. É um composto altamente solúvel em meio aquoso, em etanol e em metanol, mas pouco solúvel em éter etílico e clorofórmio. A NAM pertence à lista GRAS definida pela FDA^[57, 58]. Tendo em conta a estrutura química da NAM representada na Figura 1.9, é possível aferir que existem, como no isómero ISONAM, dois grupos funcionais capazes de formarem ligações de hidrogénio com o API artesunato, sendo eles o grupo amida e o nitrogénio

aromático na posição *meta*. Numa perspectiva de síntese de co-cristais, os heterosintões: ácido...amida e ácido...nitrogénio aromático são expectáveis.

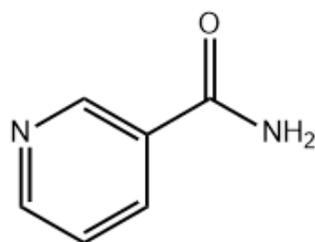


Figura 1.9. Estrutura molecular da nicotinamida

Relativamente ao polimorfismo da NAM, esta apresenta 4 formas polimórficas bem definidas, sendo a sua forma I a mais estável à temperatura ambiente e à pressão atmosférica. A forma polimórfica I utilizada neste trabalho foi resolvida por Miwa *et al.* em 1999^[59], e ao contrário do polimorfo I da ISONAM, o polimorfo I da NAM apresenta ligações de hidrogénio segundo o sintão amida...nitrogénio aromático, não existindo a formação do homodímero centrossimétrico amida...amida.

Denotando uma vez mais as diferentes possibilidades de associação da NAM, são descritos vários sistemas supramoleculares cuja interação ocorre pelos heterosintões apresentados na Figura 1.3 c) e d). Estão descritos na literatura diversos co-cristais cuja associação ocorre segundo esses mesmos heterosintões, nomeadamente o co-cristal naproxeno-NAM numa proporção 2:1, onde se verifica a formação ambos os sintões aquando da síntese do co-cristal, nomeadamente a formação do heterosintão ácido...amida e o heterosintão ácido...nitrogénio^[57, 60, 61].

1.6.3.3 Benzamida

A BEZ é um composto orgânico, comumente utilizado na síntese e fabrico de produtos farmacêuticos. A estrutura molecular da BEZ está representada na Figura 1.10, onde fica possível verificar que a única possibilidade de interação para a formação de um novo sistema supramolecular é por intermédio do grupo funcional amida, promovendo a formação de um heterosintão ácido...amida. Descreve-se assim a estrutura da BEZ como a mais simples dentre as carboxamidas estudadas neste trabalho.

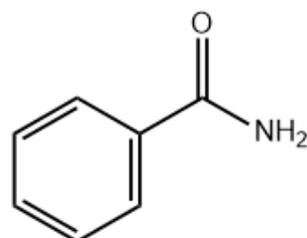


Figura 1.10. Estrutura molecular da benzamida

Introduzindo um pouco da história do polimorfismo, a BEZ foi o primeiro cristal molecular para o qual foi relatado polimorfismo, em 1832^[62]. Desde então foram determinadas outras 3 formas polimórficas da BEZ, em particular a forma polimórfica IV que foi obtida recentemente^[63]. Das 4 formas polimórficas da BEZ, evidencia-se a sua forma I como a mais estável, sendo essa a forma comercializada.

Relativamente à utilização da BEZ como co-formador na síntese de novos sistemas supramoleculares, existem diversos exemplos, muitos deles associados à formação e síntese de co-cristais, nomeadamente sistemas com a BEZ e ácido benzóico, ácido salicílico, ácido benzóico e teofilina^[64, 65, 66]. Recentemente foi reportado a formação de um novo co-cristal para o sistema probenecide-BEZ. A formulação deste co-cristal provou melhorias nos perfis de solubilidade e dissolução do composto ativo^[67].

1.6.4 1,2-Bis(4-piridil)etano

O 1,2-bis(4-piridil)etano (BIS), cuja estrutura molecular está representada na Figura 1.11, é um composto amplamente utilizado na investigação de co-cristais, embora não possua qualquer atividade farmacêutica. A presença dos dois nitrogénios aromáticos na posição -para possibilita a formação de duas ligações de hidrogénio segundo o sintão ácido...nitrogénio aromático.

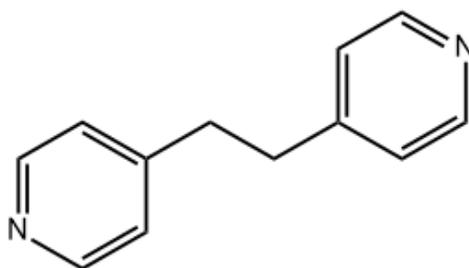


Figura 1.11. Estrutura molecular do 1,2-Bis(4-piridil)etano

Esta facilidade de associação do API com o BIS deve-se a uma combinação de fatores: um primeiro associado a uma baixa energia de interação entre as suas moléculas. O segundo fator onde é possível verificar que a interação por ligações de hidrogénio com o co-formador contribui para a estabilização dos agregados supramoleculares. Por fim um terceiro fator referente à permanência de dois tipos de interação. Embora a energia envolvida na interação π - π seja geralmente maior que a da ligação de hidrogénio^[68], estes dois tipos de interação podem manter-se em simultâneo na estrutura cristalina das formas sólidas multicomponente.

A escolha do co-formador BIS teve por base 2 grandes fatores. O primeiro aliado à premissa apresenta acima, onde se procurou um co-formador que permitisse a formação de um co-cristal com uma energia de interação mais fraca. O segundo grande fator que promoveu a investigação do BIS como co-formador foi o facto de que na literatura, a única evidência de formação de um co-cristal com o AS foi com o co-formador 4,4-bipiridil^[42]. Como o 4,4-bipiridil e o BIS apresentam uma estrutura molecular idêntica, previa-se que a sua associação poderia ocorrer, promovendo a formação de um novo co-cristal.

1.6.5 Pirazina

A pirazina (PYZ) é um composto orgânico aromático heterocíclico, amplamente utilizado na indústria dos perfumes, em produtos farmacêuticos e em químicos agrícolas^[69]. De acordo com a sua estrutura molecular, Figura 1.12, é possível confirmar de que se trata de uma molécula com uma geometria simétrica, apresentado dois átomos de nitrogénio. A possibilidade de associação do API com a molécula PYZ reside na interação pelo sintão ácido...nitrogénio aromático representado.

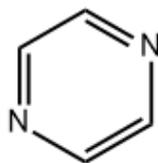


Figura 1.12. Estrutura molecular da pirazina

Uma das propriedades fundamentais da molécula de PYZ é a sua elevada pressão de vapor (10.81 mmHg, à $T= 25^{\circ}\text{C}$)^[70]. Devido a este elevado valor de pressão de vapor, a PYZ é facilmente sublimada à temperatura e pressão atmosféricas, o que pode influenciar os resultados obtidos durante a investigação.

Analogamente ao composto BIS, as moléculas de PYZ interagem entre si por interações fracas, prevendo-se, pelas razões anteriormente indicadas, que a sua associação com o API possa ser efetiva^[68]. Neste trabalho, a escolha da PYZ como co-formador teve por base o estudo do efeito do espaçamento presente na estrutura da molécula de BIS na formulação do co-cristal. A molécula de PYZ possibilita formar o mesmo sintão que as moléculas de BIS e de 4-4bipiridil, contudo a PYZ tem os dois átomos de nitrogénio no mesmo ciclo. A influência que o espaçamento terá na formação do co-cristal foi estudada neste trabalho, onde as condições de co-cristalização para os dois sistemas foram as mesmas

1.6.6 Cafeína

Investigou-se também a possibilidade de formação de novas formas sólidas multicomponente com a cafeína (CAF), sendo este composto um co-formador muito utilizado na pesquisa de co-cristais^[71]. A par dos co-formadores BIS e PYZ, a CAF é um composto que possui um grupo aceitador de ligação de hidrogénio no qual pode ocorrer a formação do heterosintão ácido...nitrogénio, contudo a estrutura molecular da CAF é mais complexa.

A CAF é um composto da família das xantinas extraído de diversas plantas. A CAF é utilizada como aditivo alimentar e também como estimulante do sistema nervoso central, consumido maioritariamente como constituinte de café^[72]. Do ponto visto estrutural da CAF, representada na Figura 1.13, a CAF tem 3 grupos funcionais capazes de formarem ligações de hidrogénio, nomeadamente dois grupos carbonilos e o nitrogénio. A formação de uma nova estrutura supramoleculares com a CAF pode ocorrer segundo qualquer um desses grupos funcionais, sendo que essa possibilidade é explorada na secção 3.9.1 numa vertente computacional.

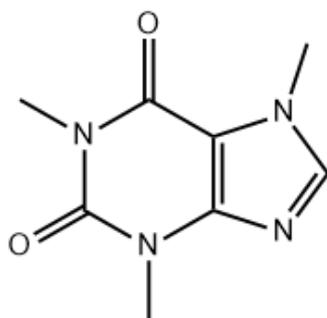


Figura 1.13. Estrutura molecular da cafeína

São conhecidas duas formas polimórficas da CAF, comumente identificadas pelos autores como forma α para o polimorfo I e forma β para o polimorfo II^[73]. É descrito que a forma polimórfica da CAF mais estável à temperatura ambiente e à pressão atmosférica é a forma II. Contudo, tendo em atenção ao comportamento térmico da CAF, verifica-se uma transição sólido-sólido a uma temperatura de 150 °C, transitando para a sua forma polimórfica I. Recentemente foi reportada a existência de uma eventual forma polimórfica III da CAF^[74].

Capítulo 2

Materiais e Métodos

Capítulo 2

Materiais e Métodos

2.1 Materiais

Os compostos utilizados durante toda a atividade laboratorial foram adquiridos com o maior grau de pureza possível. Na Tabela 1 são evidenciados esses mesmos compostos assim como a sua proveniência, propriedades relevantes indicadas pelo fornecedor e a sua forma polimórfica, identificada neste trabalho por XRPD.

Tabela 2.1. Compostos utilizados na atividade laboratorial

Composto	Laboratório	M / g mol ⁻¹	T _{fus} / °C	Pureza %
Artesunato	BLDpharm	384,4	140,1	98,0
Metoclopramida, I ^a [49]	BLDpharm	299,8	146,6	99,9
Isonicotinamida, II ^b [53]	Sigma-Aldrich	122,1	156,0	99,0
Nicotinamida, I ^a [53]	Sigma-Aldrich	122,1	128,0	≥99,5
Benzamida, I ^a [75]	Sigma-Aldrich	121,1	288,0	99,0
1,2-bis(4piridil)etano, I ^a [76]	Sigma-Aldrich	182,2	112,0	99,0
Pirazina	Sigma-Aldrich	80,1	55,0	99,0
Cafeína, II ^b [66]	Fluka	194,2	235,6	≥99,0

^a forma polimórfica I, ^b forma polimórfica II

Confirmou-se que a ISONAM, a NAM, a BEZ, o BIS, a PYZ e a CAF, tal como outros investigadores do grupo de investigação, que estes co-formadores não sofrem qualquer alteração na sua forma sólida aquando do processo de moagem, nas condições aplicadas neste trabalho. Os resultados para o AS e para a MCP são discutidos na capítulo 3.

2.2.1 Métodos de preparação

2.2.1.1 Mecanoquímica

O desenvolvimento de produtos químicos mais limpos, mais seguros e mais eficientes é um dos maiores desafios da investigação moderna e de toda a indústria, que se confrontam com a necessidade de produzir cada vez mais. Esta crescente necessidade foi priorizada principalmente pela indústria farmacêutica desde a última década, evidenciando cada vez mais o papel importante da Química Verde aquando de todo o processo de fabrico e desenvolvimento de novos produtos^[77].

Seguindo esta premissa de procura de métodos mais sustentáveis, evidencia-se a técnica de mecanoquímica, técnica que tem emergido com grande sucesso na condução de síntese química^[77]. Genericamente, a mecanoquímica é definida como reação química molecular ou supramolecular mecanicamente induzida^[78]. Esta técnica pode ser levada a cabo usando diferentes tipos de moinhos, como por exemplo um moinho de bolas ou pode ser realizada manualmente num almofariz^[79]. Em mecanoquímica, durante todo o processo de moagem, a ação das esferas no interior dos vasos no caso do moinho de bolas, ou se porventura a moagem for executada manualmente, a ação da moagem por parte do pilão, resulta em força mecânica, fornecendo a energia necessária para que ocorra a reação. Este método tem sido amplamente utilizado em síntese supramolecular na pesquisa de novas formas sólidas, como por exemplo co-cristais ou co-amorfos^[26, 80].

Durante o processo de moagem, a ação das bolas irá promover um aumento da temperatura dos vasos de moagem. Este aumento de temperatura pode ter uma grande influência em certos sistemas, nomeadamente em sistemas amorfos onde a T_g é facilmente atingida. Para estes sistemas é normalmente aplicado uma metodologia da mecanoquímica, a moagem criogênica. A moagem criogênica consiste na utilização de nitrogénio líquido como meio (para arrefecimento), impedindo que os vasos atinjam temperaturas mais elevadas durante o processo de moagem^[81].

Aquando do processo de moagem, este pode seguir duas vias, nomeadamente um processo de moagem sem a adição de solvente (NG) ou um processo de moagem assistida por solvente (LAG). Ressaltando a moagem LAG, a adição de solvente ocorre em quantidades catalíticas cuja principal função passa por acelerar as reações, habilitando transformações que não ocorrem por moagem simples^[82].

Condições experimentais

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. As amostras foram sujeitas a uma frequência de 25 Hz por um período de 30 minutos, NG e LAG (10 μ L de etanol). A pesagem dos compostos foi realizada recorrendo a uma balança Mettler AE 163 (precisão \pm 0,01 mg), com uma massa total de aproximadamente 50 mg. Após as moagens, as amostras foram guardadas em frascos rolhados, armazenados num exsiccador com sílica em gel a uma temperatura de 2 °C.

Para os sistemas AS-PYZ e AS-ISONAM foram realizadas adicionalmente moagens criogênicas nos mesmo vasos de aço inoxidáveis com duas esferas de 7 mm. As duas amostras

foram sujeitas a uma frequência de 30 Hz por um período de 30 minutos, NG. Após o processo de moagem, as amostras foram igualmente guardadas em frascos rolhados e posteriormente armazenados num exsiccador com sílica em gel a uma temperatura de 2 °C.

2.2.1.2 Cristalização em solução

O processo de cristalização em solução é descrito como outra alternativa na obtenção de co-cristais. Esta metodologia envolve a dissolução dos dois compostos num solvente adequado, embora por vezes, devido à diferença de solubilidade dos dois compostos seja necessário recorrer a diagramas de fases ternários, uma vez que estes providenciam informação sobre a solubilidade de cada uma das fases sólidas num determinado solvente e sobre as regiões de estabilidade termodinâmica de cada forma sólida^[83].

Após o processo de dissolução a sobressaturação pode ser atingida por evaporação do solvente. É importante evidenciar que a velocidade de evaporação empregue pode ter uma influência significativa na formação do cristal^[84].

À medida que o processo de evaporação prossegue, ocorre sobressaturação, promovendo a nucleação e progressivo crescimento do cristal. Este é um método de rastreio experimental, amplamente utilizado na síntese de co-cristais devido à sua simplicidade e eficiência, existindo diversos artigos que denotam e descrevem a cristalização em solução como o principal método de síntese de co-cristais, sendo de grande utilidade para a transposição de escala^[84].

Condições experimentais

A síntese do co-cristal AS-BIS, na proporção 2:1 ($m_{AS} = 41,11\text{mg}$ e $m_{BIS} = 9,87\text{mg}$), foi conseguida dissolvendo os dois compostos em éter etílico em frascos de 10ml. Após a dissolução, a solução foi colocada em agitação por um período de 24h à temperatura ambiente, tendo em seguida sido deixada a evaporar à temperatura ambiente.

2.2.2 Métodos de caracterização das fases sólidas

2.2.2.1 Espectroscopia de infravermelho

Após a preparação das amostras, recorreu-se à técnica analítica de espectroscopia de reflexão total atenuada no infravermelho com transformada de Fourier (ATR-FTIR). A escolha da técnica ATR justifica-se particularmente em estudos onde seja relevante a forma polimórfica da amostra. A preparação de pastilhas de KBr requer o uso de pressão considerável e a dispersão da amostra numa matriz iónica, fatores que podem induzir transformações de fase.

A espectroscopia de infravermelho estuda a interação da radiação eletromagnética de comprimentos de onda da região do infravermelho com a matéria, a qual envolve essencialmente transições vibracionais. A gama de números de onda comumente utilizado encontra-se entre os 4000 e os 400 cm^{-1} ^[85].

Quando a amostra é exposta a radiação na zona do infravermelho, as moléculas absorvem seletivamente a radiação incidente com um determinado comprimento de onda,

experimentando transições entre os níveis vibracionais. A intensidade da radiação absorvida é proporcional à variação de momento dipolar da molécula característica de cada modo vibracional. Deste modo, esta técnica possibilita a identificação dos grupos funcionais da amostra em estudo, evidenciando os seus modos vibracionais^[83]. Contudo, esta identificação só é possível se a energia da radiação for igual à diferença de energia entre os níveis vibracionais, sendo forçoso que a vibração esteja associada a uma alteração do momento dipolar da molécula^[15]. É possível então afirmar que a radiação absorvida pela amostra está diretamente ligada com a natureza das ligações químicas. Por conseguinte, o espectro de infravermelho pode ser descrito como uma espécie de “impressão digital”, já que cada composto possui características únicas, podendo ser facilmente distinguíveis de outros compostos^[86, 87].

Como referido acima, para a obtenção dos espectros neste tipo de equipamento a radiação é gerada pela fonte e após passar pelo interferómetro incide na face inferior dum cristal de diamante, sobre o qual a amostra é previamente colocada. De seguida a radiação chega ao detetor, passando pelo processador, onde é convertida num sinal em função do tempo (interferograma). Por fim, este sinal é tratado com a transformada de Fourier onde o sinal é convertido em função do número de onda^[88, 89].

Condições experimentais

Os espectros das amostras foram registados à temperatura laboratorial, num espectrómetro Thermo scientific, Nicolet 380 FT-IR, acoplado ao acessório ATR Smart Orbit Diamond de Thermo scientific com resolução de 1cm^{-1} e 32 acumulações, na zona do infravermelho médio, 4000 a 400cm^{-1} .

2.2.2.2 Calorimetria Diferencial de Varrimento

A calorimetria diferencial de varrimento (DSC) é uma técnica de análise térmica que denota o fluxo de energia calorífica ocorrente em transições de fase ou noutros eventos envolvendo trocas de energia, em função da temperatura. Esta técnica é frequentemente utilizada na análise térmica de ativos farmacêuticos devido à sua capacidade de providenciar informações detalhadas sobre as suas propriedades físico-químicas através da variação da entalpia ou da sua capacidade calorífica^[90].

Considerando o seu modo de ação, é possível distinguir dois tipos de DSC, nomeadamente o de fluxo de calor e o de potência compensada, sendo esta última a variante usada neste trabalho. Neste tipo de DSC a amostra em estudo é preparada em cápsulas apropriadas, (normalmente de alumínio, para amostras de compostos orgânicos) e juntamente com uma referência são colocadas em dois fornos diferentes, termicamente isolados, com temperatura controlada por termómetros de resistência de platina^[91, 92]. Em função de fenómenos de absorção/emissão de energia aquando do processo de aquecimento e arrefecimento da amostra, é registada uma diferença de energia fornecida a ambos os fornos, dQ/dt (fluxo de calor), energia esta necessária para manter os fornos à mesma temperatura. O fluxo de calor é então representado em função da temperatura ou do tempo de ensaio^[92, 93]. Tendo em conta este princípio, verifica-se que as principais aplicações do DSC passam pela identificação do ponto de fusão, transições entre fases sólidas e identificação de transições vítreas (T_g)^[94]. No caso específico deste trabalho, a obtenção de co-amorfos e co-cristais, os principais eventos analisados transparecem na

identificação da T_g , no caso de co-amorfos e nos eventos de fusão aquando da formação de co-cristais.

Condições experimentais

Os termogramas foram obtidos com recurso a um calorímetro de potência compensada da marca PerkinElmer, modelo DSC7, com refrigeração ajustada para -20°C por um intracooler com circulação de uma mistura de etilenoglicol ÷ água 1:1(V/V). Como gás de purga foi utilizado azoto, com um fluxo de 20 ml/min.

Todas as amostras foram preparadas em cápsulas de alumínio hermeticamente fechadas de 30 μL . Na cápsula da amostra foram pesados entre 1 e 2,5 mg de sólido em análise. Como referência foram utilizadas cápsulas vazias obrigatoriamente iguais às da amostra.

A calibração da temperatura e da entalpia foi realizada com recurso a materiais de referência certificados. Foram usados o fenil salicilato ($T_{\text{fus}} = (41,79 \pm 0,03)^{\circ}\text{C}$) e o índio ($T_{\text{fus}} = 156,6^{\circ}\text{C}$) na calibração da temperatura. Na calibração da entalpia recorreu-se novamente ao índio ($\Delta H_{\text{fus}} = (3286 \pm 13) \text{ J mol}^{-1}$)^[95].

2.2.2.3 Difração de raios-X

A difração de raios-X (XRD) é uma técnica analítica, bastante versátil e não destrutiva, comumente utilizada no estudo de estruturas cristalinas, fornecendo informação detalhada sobre a estrutura dos compostos em estudo^[96].

Esta técnica fundamenta-se na incidência de um feixe monocromático de raios-X diretamente na amostra. Os raios-X são gerados por um tubo de raios catódicos onde são posteriormente filtrados, promovendo o tal feixe monocromático. Ao incidirem na amostra, estes podem sofrer difração ou podem ser refletidos^[96]. Pormenorizando a difração ocorrente, os feixes difratados sofrem uma interferência construtiva, que ao serem detetadas, dão origem a padrões de difração, intrínseco para cada amostra. De notar que a intensidade dos raios-X é registada com interferência construtiva quando, após incidirem na amostra, é satisfeita pela lei de Bragg, Equação 1^[97]:

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

onde n corresponde à ordem de reflexão, 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^[97].

Relativamente à aplicação da técnica XRD, esta apresenta duas aplicações díspares com base no mesmo princípio, sendo elas a difração de raios-X de monocristal (SCXRD) e a difração de raios-X de pó (XRPD). A técnica SCXRD permite obter toda a informação da estrutura cristalina da amostra em estudo, retirando toda a informação em 3 dimensões. Contudo, a amostra a utilizar nesta técnica terá de ser um monocristal de tamanho e qualidade apropriados à sua análise, o que pode ser um grande desafio em certos sistemas. Relativamente à técnica XRPD, esta é utilizada para amostras em pó policristalinas, sendo obtidos os padrões de difração de raios-X característicos em uma dimensão (picos em certas posições e com intensidades

variáveis)^[98]. Esta apresenta algumas vantagens face à técnica de monocristal, nomeadamente a facilidade de preparação da amostra e a rapidez na obtenção dos difractogramas^[99].

Condições experimentais

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} .

As amostras foram acomodadas no centro do porta amostras, objetivando a obtenção de difractogramas na melhor qualidade possível. Os porta amostras têm superfícies de silício especialmente preparadas para evitar difração provocada pelos mesmos. Os difractogramas foram obtidos com recolha de dados durante aproximadamente 15 min.

2.2.2.4 Termomicroscopia com luz polarizada

A termomicroscopia com luz polarizada (PLTM) é um método termoanalítico que possibilita observar o comportamento da amostra através de um microscópio ótico com luz polarizada em função da temperatura. Partindo da observação da amostra torna-se possível visualizar diferentes eventos térmicos, como por exemplo transições de fase sólido-sólido, fusão e processos de cristalização. Para além da possibilidade de visualizar estes eventos térmicos, a PLTM permite obter informações ao nível de estrutura da amostra, sendo possível observar a sua cristalinidade e a sua morfologia.

Contudo esta técnica é comumente utilizada complementarmente com a técnica de DSC, uma vez que permite constatar através de imagens ou em vídeos os diferentes processos que ocorrem ao longo de um termograma durante um programa de temperatura bem definido, particularmente relevante quando as energias envolvidas são baixas. É de todo importante ressaltar que durante todo o processo de obtenção e análise das imagens obtidas, a informação quantitativa não é avaliada^[100].

Condições experimentais

O equipamento da PLTM é composto por uma placa de aquecimento DSC600 da Linkam, sendo que a temperatura é controlada por sensores de platina (Pt100). Como bloco central, o equipamento possui várias unidades que têm diferentes fusões: a unidade CI94 (*computer interface*), responsável pelo controlo do programa de temperatura, a unidade LNP94/2 (*Liquid Nitrogen Pump*), responsável pela refrigeração e por último um computador responsável pelo controlo de todo sistema. A amostra é observada por um microscópio de transmissão de luz polarizada, DMRB da empresa Leica. Durante toda a experiência, as imagens e vídeos foram obtidos através de uma câmara pixelinkPL-A662. O software utilizado é o Linksys32. Todas as imagens apresentadas durante este trabalho foram obtidas com uma ampliação de 200x.

2.2.3 Estabilidade de co-amorfos

2.2.3.1 Câmaras de estabilidade

A fim de avaliar a qualidade e a segurança de uma nova forma farmacêutica, nomeadamente no caso particular do sistema co-amorfo AS-MCP (sintetizado neste trabalho), é necessário proceder à realização de testes de estabilidade. Estes terão um papel importante na perceção da influência que certos fatores terão na armazenagem do composto, como a temperatura ambiente, a humidade e a luz. Ter uma ideia da influência destes fatores no sistema em estudo possibilita estabelecer o prazo de validade e as condições de armazenamento ideais^[101].

De acordo com a *European Medicines Agency* (EMA), as condições a aplicar nas câmaras de estabilidade têm por base os efeitos das condições climáticas nas três principais regiões do mundo, designadamente a Europa, Japão e os Estados Unidos da América^[101]. A EMA define assim o mundo em 4 grandes regiões climáticas, sendo elas a zona I, definida como temperada, uma zona II, descrita como subtropical e mediterrânea, uma zona III, com um clima quente e seco e por fim uma zona IV, região quente e húmida. É importante ter como referência o zona onde a nova forma farmacêutica será comercializada de modo a definir as melhores condições de estabilidade. É necessário também evidenciar que as propriedades da nova forma farmacêutica tomam um papel igualmente importante aquando da escolha das condições a implementar^[101].

Condições experimentais

Para realizar este estudo procedeu-se à preparação do sistema co-amorfo AS-MCP, na proporção 3:1, por mecanoquímica 25Hz, 30min, NG. Após a síntese do co-amorfo, aproximadamente 10mg do composto foram transferidos para 6 cápsulas gelatinosas. As cápsulas foram posteriormente colocadas numa câmara de estabilidade a 25°C/60% HR durante 3 meses. De modo a seguir a evolução de cada sistema realizaram-se análises de XRPD a cada 15 dias.

2.2.4 Métodos computacionais

2.2.4.1 Teoria do funcional de densidade

A teoria do funcional de densidade (DFT) tem emergido como uma das principais ferramentas no estudo e previsão do estado fundamental de sistemas reais aquando do cálculo das suas propriedades física e químicas. Os cálculos DFT permitem uma boa correlação entre o teórico e o experimental, conduzindo em grande medida a conclusões assertivas sobre as propriedades geométricas, eletrónicas e espectroscópicas dos diversos sistemas em estudo^[102].

Um dos princípios básicos do método DFT passa por instituir que a energia de um sistema pode ser descrita em termo de função densidade eletrónica, $\rho(r)$ ^[12, 102, 103]. A função de densidade é uma alternativa ao método de Hartree-Fock (HF) e ao cálculo da função de onda. A DFT segue dois teoremas fundamentais, sendo eles o teorema da existência de Hohenberg e Kohn e o teorema variacional. O teorema da existência denota que a energia duma molécula no estado

fundamental pode ser determinada univocamente pela sua densidade eletrónica, possibilitando afirmar que a uma certa densidade eletrónica corresponde a um potencial externo. O teorema variacional é idêntico ao estabelecido para a função de onda, sendo que neste caso estabelece-se que ao se possuir várias funções de densidade eletrónica, a melhor corresponderá aquela que descreve o sistema de mais baixa energia. O correspondente hamiltoniano, sendo este depois usado para calcular a energia de modo semelhante ao apresentado na equação de Schrödinger^[103].

Um dos princípios básicos do método DFT passa por instituir que a energia de um sistema pode ser descrita em termo de função densidade eletrónica, $\rho(r)$ ^[12, 102, 103]. A função de densidade é uma alternativa ao método de Hartree-Fock (HF) e ao cálculo da função de onda. A DFT segue dois teoremas fundamentais, sendo eles o teorema da existência de Hohenberg e Kohn e o teorema variacional. O teorema da existência denota que a energia duma molécula no estado fundamental pode ser determinada univocamente pela sua densidade eletrónica, possibilitando afirmar que a uma certa densidade eletrónica corresponde a um potencial externo. O teorema variacional é idêntico ao estabelecido para a função de onda, sendo que neste caso estabelece-se que ao se possuir várias funções de densidade eletrónica, a melhor corresponderá aquela que descreve o sistema de mais baixa energia. O correspondente hamiltoniano, sendo este depois usado para calcular a energia de modo semelhante ao apresentado na equação de Schrödinger^[103].

Para que a DFT seja considerada um método alternativo viável ao método clássico HF é necessário ainda usar o método do campo autocoerente de Kohn-Sham (KS-SCF)^[103, 104]. Este método recorre a equações equivalentes às de HF para determinar funções análogas às orbitais moleculares e recorre também a um operador monoelétrónico, sendo este um funcional da densidade eletrónica. Recorrendo à combinação do princípio variacional da DFT, descrito em cima, com a utilização de um operador monoelétrónico, é possível procurar orbitais moleculares (χ_i) com valores mínimos de energia (ε_i), desde que se satisfaça a seguinte equação dos valores próprios, Equação (2)^[103, 104]:

$$h_i^{KS} \chi_i = \varepsilon_i \chi_i \quad (2)$$

Onde h_i^{KS} é o operador monoelétrónico de Kohn-Sham (KS). Este operador é descrito como um funcional da densidade eletrónica, dado pela seguinte equação, Equação 3^[104]:

$$h_i^{KS} = \frac{1}{2} \nabla_i^2 - \sum_k^{\text{núcleos}} \frac{Z_K}{|r_i - r_k|} + \int \frac{\rho(r')}{|r_i - r'|} dr' + \frac{\partial E^{XC}}{\partial \rho} \quad (3)$$

É importante referir que no método de KS é necessário introduzir um termo E^{XC} (energia de troca e correlação), termo que deriva da antissimetria prescrita às funções de onda e da energia de correlação eletrónica. Uma vez que é completamente impossível determinar de forma analítica este termo, são aplicados em DFT certos funcionais de troca e correlação, escolhidos *a priori* do cálculo, sendo estes funcionais os representantes do termo E^{XC} ^[103, 104].

Existem diversos funcionais que podem ser escolhidos aquando do cálculo, como por exemplo o funcional mais simples, denominado de aproximação da densidade local (LDA) e o funcional utilizado neste trabalho, o funcional híbrido B3LYP.

Paralelamente à escolha do funcional está a escolha da base de funções^[102]. Existem diversas bases de funções que podem ser escolhidas. Neste trabalho recorreu-se à base de funções def2svp^[105]. No nível da DFT, a utilização desta base de funções permite a obtenção de resultados qualitativamente corretos. A utilização de bases de funções mais complexas, como por exemplo bases triple zeta ou até mesmo bases quadruple zeta, teria elevados custos computacionais não justificados para os objetivos deste trabalho, uma vez que se estaria a trabalhar no limite teórico da DFT^[105].

Neste trabalho, a DFT foi utilizada para a otimização dos agregados e cálculo das energias dos compostos puros e dos hipotéticos agregados mistos. Partindo destes valores, nomeadamente do valor da energia de Gibbs a 298 K, foi possível prever se a energia de interação nos agregados mistos seria favorável, termodinamicamente mais estável que as dos puros. Para tal subtraiu-se a energia dos agregados puros à dos agregados mistos tendo em conta a estequiometria em cada caso para cada reação isodésmica.

Condições experimentais

Todos os cálculos foram efetuados recorrendo ao programa Gaussian 16, onde os resultados obtidos foram visualizados pelo programa de visualização GaussView 6.0.16. Em todos os cálculos efetuados por DFT foi utilizado o funcional híbrido B3LYP com a base de funções def2svp. Foi realizada a otimização das geometrias dos homodímeros e dos heterodímeros assim como os cálculos para as frequências vibracionais. Estes cálculos permitiram então calcular alguns dos parâmetros termodinâmicos à temperatura de 25°C e permitiram confirmar a natureza do estado estacionário atingido como um mínimo na superfície de energia potencial pela ausência de frequências imaginárias.

2.2.4.2 Superfícies de Hirshfeld

Compreender as interações intermoleculares é fundamental para depreender sistemas químicos a nível molecular e algumas das suas propriedades físico-químicas, como por exemplo o seu ponto de fusão. Com o objetivo de estudar e revelar os diferentes tipos de interações foram usadas superfícies de Hirshfeld.

As superfícies de Hirshfeld representam os volumes moleculares individuais com base na densidade eletrónica do cristal. Na superfície de Hirshfeld, cada molécula presente na estrutura cristalina relaciona-se com moléculas vizinhas^[35, 36]. A sua análise ajuda a compreender as suas interações e os contactos mais próximos que mantêm unidas as moléculas na estrutura cristalina. Em termo teóricos, a superfície de Hirshfeld é definida pela função peso para cada átomo da molécula ($w(r)$), onde a soma das densidades eletrónicas médias dos átomos na molécula em estudo é dividida pelas densidades eletrónicas dos átomos do cristal, designando-se pró-molécula e pró-cristal, respetivamente, Equação 5^[106, 107]:

$$w(r) = \frac{\rho_{\text{pró-molécula}}}{\rho_{\text{pró-cristal}}} \quad (5)$$

Vale a pena salientar que a função $w(r)$ toma valores compreendidos entre 0 e 1, sendo que a superfície de Hirshfeld é formada pelos pontos onde esta função toma o valor de 0,5.

O espaço interior da superfície de Hirshfeld constitui a região do espaço onde a contribuição da densidade eletrônica da molécula excede a do resto do cristal^[106, 107].

De modo a visualizar as diferentes interações e os contactos mais próximos presentes na superfície de Hirshfeld, é conveniente definir em primeiro lugar algumas funções geométricas de distância, representadas na Figura 2.1:

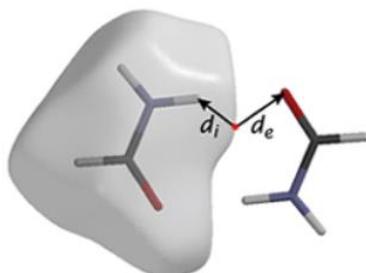


Figura 2.1 Ilustração de um dímero da formamida, onde é representado os valores de d_e e d_i . Retirada de [118].

O parâmetro d_e corresponde à distância da superfície de Hirshfeld ao átomo mais próximo na região externa dessa superfície e d_i faz referência à distância da superfície ao átomo mais próximo localizado no seu interior^[38]. É importante referenciar que estes valores de distância vão depender em grande medida do tamanho dos respetivos átomos. Para visualizar estas distâncias recorre-se a uma função dependente destas, normalizadas pelo raio de van der Waals, denominada de d_{norm} , Equação (6)^[106, 107]:

$$d_{\text{norm}} = \frac{d_i - r_i^{\text{vdW}}}{r_i^{\text{vdW}}} + \frac{d_e - r_e^{\text{vdW}}}{r_e^{\text{vdW}}} \quad (6)$$

A identificação dos contactos mais próximos é de extrema importância neste trabalho, já que estes locais indicam os locais de interações mais intensas, servindo como orientação na construção das estruturas de partida dos heterodímeros.

Partindo dos valores de d_e e d_i é ainda possível apresentar um gráfico denominado de *fingerprint*. O gráfico *2D-fingerprint* da superfície de Hirshfeld é um auxiliar no estudo das interações nos cristais, fornecendo um resumo visual em diferentes cores dos diferentes tipos de interações. Através destes gráficos é possível visualizar as contribuições individuais dos vários tipos de interações presentes nas moléculas do cristal em estudo. Estes gráficos característicos de cada molécula diferente são igualmente sensíveis ao ambiente químico da molécula^[108].

Condições experimentais

Para a obtenção da estrutura de partida dos heterodímeros recorreu-se à superfície de Hirshfeld do AS (CCDC FAHFAV01)^[41]. Tendo então como referência os contactos mais próximos na superfície de Hirshfeld do AS, procedeu-se à construção dos heterodímeros com os co-formadores, nomeadamente a MCP (CCDC METPRA01)^[109], o BIS (CCDC ZEXKIW)^[110], a ISONAM (CCDC EHOWIH)^[111], a NAM (CCDC NICOAM01)^[112] e a CAF (CCDC NIWFEE03)^[113]. No desenho dos hipotéticos heterodímeros, a principal preocupação foi a tentativa de posicionar

os co-formadores o mais próximo possível do ponto de interação preferencial assinalado a vermelho na superfície de Hirshfeld (menor valor de d_{norm}).

A análise das estruturas cristalinas, a construção dos agregados a partir destas e a simulação dos difractogramas de raios-X de pó foi efetuada usando o programa Mercury.

2.2.4.3 Análise de ligações não covalentes

As interações não covalentes representam um papel chave no estudo de sistemas químicos e biológicos. Interações van der Waals, ligações de hidrogénio, ligações dipolo-dipolo e interações π - π , são alguns exemplos de interações não covalentes com uma enorme importância e influência no desenvolvimento de novas formas sólidas, em particular na síntese de co-cristais e co-amorfos^[114].

De modo a estudar estes tipos de interações surge o programa de análise de ligações não covalentes (NCI). A análise NCI baseia-se na densidade eletrónica e nos seus derivados, possibilitando a identificação dos vários tipos de interação não covalentes. A análise NCI permite calcular o gradiente da densidade eletrónica reduzido (RDG), s , em função da densidade eletrónica, ρ , em cada ponto do espaço^[114].

As interações evidenciadas pelo programa NCI podem ser de natureza atrativa ou repulsiva. De modo a diferenciar os diferentes tipos de interações a densidade eletrónica é multiplicada pelo sinal do segundo valor próprio da Hessiana ($\text{sinal}(\lambda_2) \cdot \rho$). Este valor possibilita caracterizar a força das interações por meio da densidade. Interações atrativas e repulsivas são identificadas como regiões onde $\text{sinal}(\lambda_2) \cdot \rho < 0$ e $\text{sinal}(\lambda_2) \cdot \rho > 0$, respetivamente. Para interações mais fracas, como é o caso das interações de van der Waals, registam-se gradientes de densidade eletrónica reduzido com $\text{sinal}(\lambda_2) \cdot \rho \approx 0$ ^[114].

Para visualizar essas regiões correspondentes aos diferentes tipos de interações, é frequentemente usado um código de cores baseado no valor de $\text{sinal}(\lambda_2) \cdot \rho$. Evidencia-se a cor azul na presença de ligações de hidrogénio, a cor verde na presença de interações van der Waals e a cor vermelha para interações do tipo repulsivas, normalmente associadas a interações intramoleculares^[45]. A localização destas regiões pode ser visualizada com a ajuda de superfícies correspondentes a determinado valor de RDG (normalmente 0,3), projetados na estrutura molecular.

Condições experimentais

Os gráficos NCI 2D foram gerados com os resultados do programa NCIPLOT 4.0.^[116], usando o programa GNUPLOT^[116]. A visualização das superfícies NCI nas estruturas dos dímeros foi obtida com o programa VMD^[117].

2.2.4.4 Potencial eletrostático

Condições experimentais

O potencial eletrostático é utilizado para a análise das regiões carregadas positivamente e negativamente da molécula em estudo. A sua utilização pode muitas das vezes ajudar a

justificar um determinado tipo de associação. Neste trabalho, o cálculo do potencial eletrostático teve esse mesmo objetivo, justificar um determinado tipo de associação.

A determinação do potencial eletrostático foi realizado somente para o sistema artesunato-isonicotinamida, uma vez que existia duvidas de qual seria a associação preferencial entre o artesunato e a isonicotinamida.

Para o cálculo do potencial eletrostático das moléculas de artesunato e isonicotinamida foi utilizado o programa Gaussian 16. A determinação do mínimo na superfície das moléculas foi determinado pelo programa Multiwfn 3.7.

Capítulo 3

Resultados e

Discussão

Capítulo 3

Resultados e Discussão

3.1 Investigação da forma sólida do artesunato

Numa primeira etapa do trabalho foi identificada a forma sólida do AS adquirido comercialmente. Para tal, recorreu-se à difração de raios-X de pó, recolhendo o difractograma do AS comercial que foi comparado com os difractogramas do AS simulados a partir dos ficheiros CIF das estruturas cristalinas depositadas na CCDC, recorrendo ao programa Mercury. A comparação dos difractogramas está evidenciada na Figura 3.1.

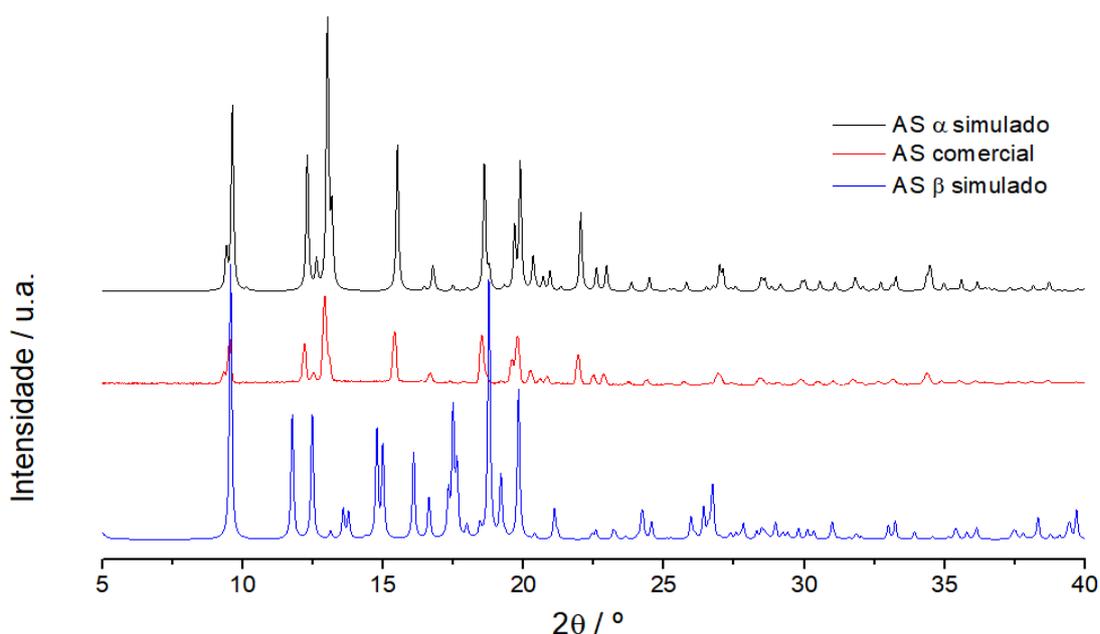


Figura 3.1. Difractogramas de raio-X de pó do AS comercial, do diastereoisómero α e β do AS obtidos por simulação a partir dos ficheiros CIF depositados na CCDC com os códigos (FAHFAV01)^[41] e (MEXKOP)^[41], respetivamente.

Analisando a Figura 3.1 é possível verificar que a amostra AS adquirida comercialmente corresponde ao diastereoisómero α (código CCDC FAHFAV01), já que os dois difractogramas apresentam as mesmas reflexões nos mesmos locais. É importante reportar que essa forma sólida simulada do AS será a utilizada em todos os cálculos computacionais, uma vez que corresponde à mesma forma sólida do AS comercial.

A caracterização por DSC, Figura 3.2, denota apenas um pico endotérmico aquando do processo de aquecimento, correspondendo à fusão do AS ($T_{fus} = (140,5 \pm 0,85)^\circ\text{C}$ e $\Delta H_{fus} = (38,1 \pm 0,7)\text{kJ mol}^{-1}$). De forma a confirmar se existe algum efeito da mecanoquímica no composto AS, é apresentada também a curva de DSC da amostra AS sujeita a moagem NG, 25Hz, 30 minutos, ($T_{fus} = (140)^\circ\text{C}$ e $\Delta H_{fus} = (31)\text{kJ mol}^{-1}$). Verifica-se que as T_{fus} são concordantes, o que possibilita afirmar que a amostra não sofre alterações durante o processo de moagem. Um dos principais

fatores a ter em conta corresponde ao processo de degradação do AS, já que esta ocorre logo após a sua fusão.

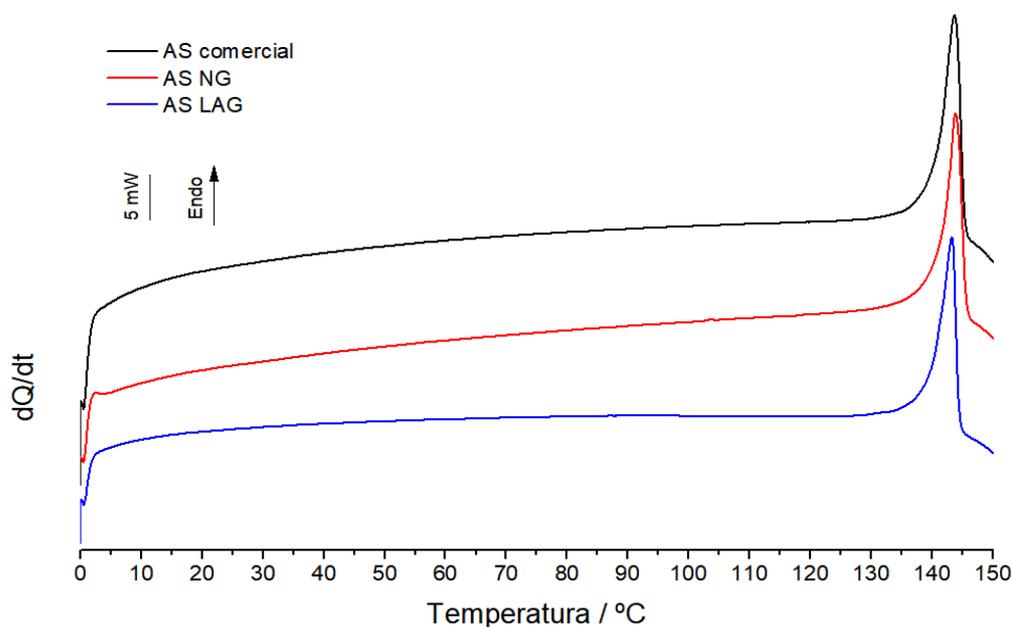


Figura 3.2. Curvas de DSC de aquecimento da amostra comercial de AS e das amostras submetidas a NG e LAG (10 μ L de etanol) ($\beta = 10$ °C/min.).

Através da análise dos espectros de IV do AS, apresentados na Figura 3.3, é possível, não só confirmar uma vez mais que a ação da moagem não promove alterações na sua rede cristalina, mas também confirmar os grupos funcionais característicos do AS.

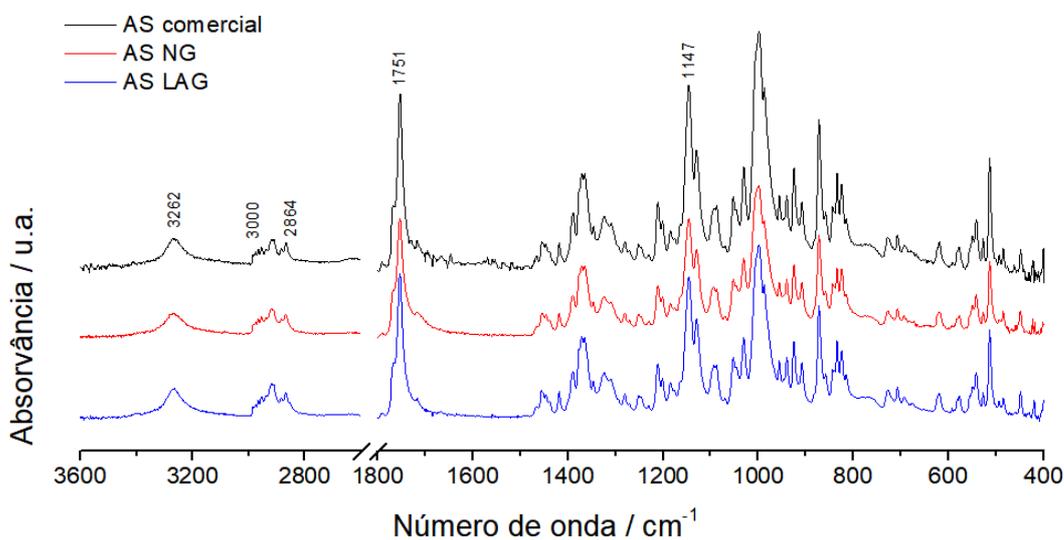


Figura 3.3. Espectros de infravermelho da amostra comercial de AS e das amostras submetidas a NG e LAG (10 μ L de etanol).

Pormenorizando a análise estrutural do AS, é possível observar a 3262 cm^{-1} a presença de uma banda correspondente elongação da ligação do grupo funcional -OH ^[43]. Em seguida regista-se uma série de bandas na região dos $3000\text{-}2864\text{ cm}^{-1}$. Estas bandas estão associadas às elongações da ligação C-H dos grupos CH_2 e CH_3 presentes na molécula de AS^[43, 118]. A banda a 1751 cm^{-1} é uma das mais características do AS, estando associada à vibração do tipo elongação do grupo C=O. Verifica-se também bandas entre os $1500\text{-}1000\text{ cm}^{-1}$ que correspondem a vibrações por deformação angular correspondentes a ligações C-H dos ciclohexanos. Por fim, a banda a 1147 cm^{-1} está relacionada a uma vibração por deformação angular do grupo endoperóxido, C-O-O-C^[118].

3.2 Investigação da forma sólida da metoclopramida

Na Figura 3.4 são apresentados os termogramas obtidos por DSC para a MCP comercial num ciclo de aquecimento/arrefecimento/aquecimento, entre $25\text{ }^\circ\text{C}$ e $155\text{ }^\circ\text{C}$. Na Figura 3.5 mostra-se imagens recolhidas por PLTM no primeiro aquecimento da amostra comercial.

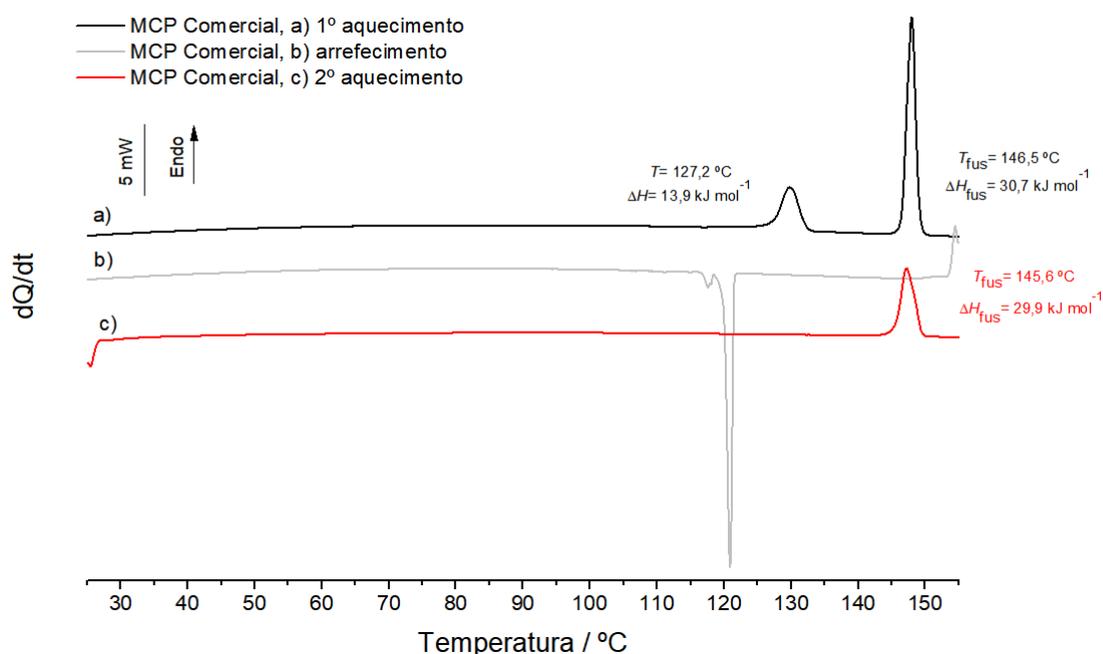


Figura 3.4. Curvas de DSC de aquecimento/arrefecimento de uma amostra de MCP comercial ($\beta = 10\text{ }^\circ\text{C}/\text{min.}$).

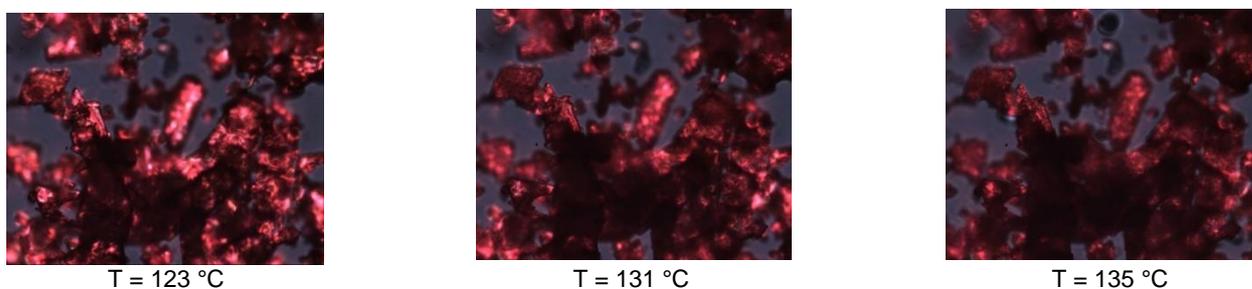


Figura 3.5. Imagens obtidas por PLTM num primeiro aquecimento da MCP comercial aquando da transição sólido-sólido. ($\beta = 10\text{ }^\circ\text{C}/\text{min.}$), ampliação $200\times$.

Nas Figuras 3.6 e 3.7 apresentam-se as curvas de DSC obtidas para as amostras submetidas a NG e LAG, 10 μ L de etanol. O ciclo térmico investigado é idêntico ao estudado para a amostra comercial.

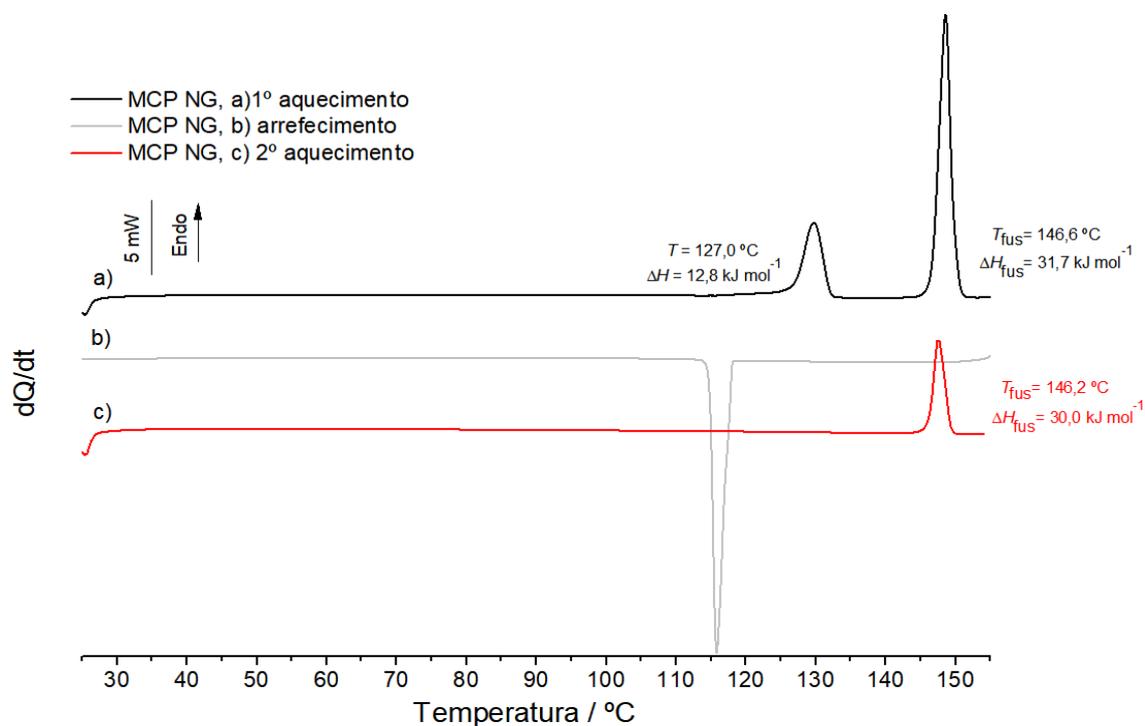


Figura 3.6. Curvas de DSC de aquecimento/arrefecimento de uma amostra de MCP submetida a NG ($\beta = 10\text{ }^{\circ}\text{C/min.}$).

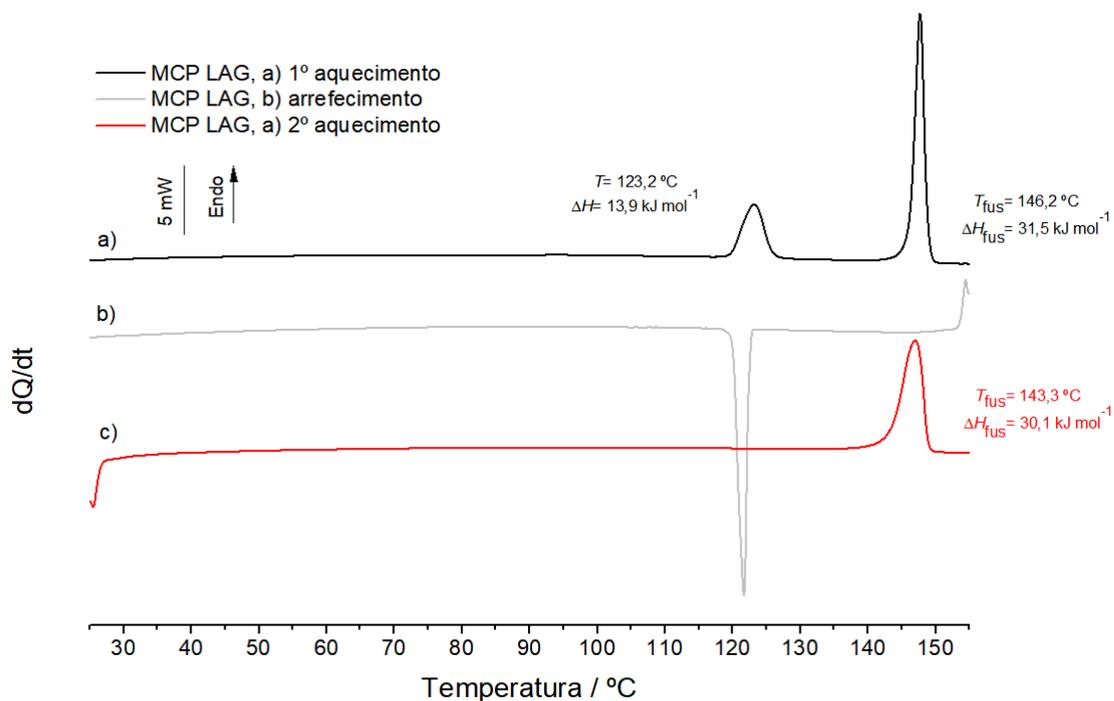


Figura 3.7. Curvas de DSC de aquecimento/arrefecimento de uma amostra de MCP submetida a LAG (10 μ L de etanol) ($\beta = 10\text{ }^{\circ}\text{C/min.}$).

De acordo com termogramas e imagens PLTM apresentados nas Figura 3.4, 3.5, 3.6 e 3.7 é evidente o mesmo comportamento térmico da amostra MCP comercial e das amostras MCP sujeita a NG e LAG. Investigando mais detalhadamente verifica-se, aquando do primeiro aquecimento, dois picos endotérmicos, correspondendo o primeiro a uma transição sólido-sólido, promovendo uma alteração da rede cristalina, ocorrendo alteração do polimorfo I para o polimorfo II. O segundo pico é atribuído à fusão do polimorfo II. Por cristalização do fundido, no segundo aquecimento, verifica-se apenas um pico endotérmico, indicando que no processo de cristalização do fundido a MCP cristaliza apenas na forma polimórfica II e por isso apenas se observa o pico associado à sua fusão do polimorfo II.

Na Figura 3.8 são apresentados os difractogramas de raios-X de pó da MCP comercial, da amostra submetida a moagem NG e LAG. O composto comercial corresponde à forma polimórfica I^[49]. Após o processo de arrefecimento em DSC, a amostra foi retirada da cápsula e posteriormente analisada por XRPD, obtendo-se pela primeira vez o padrão de difração do polimorfo II da MCP.

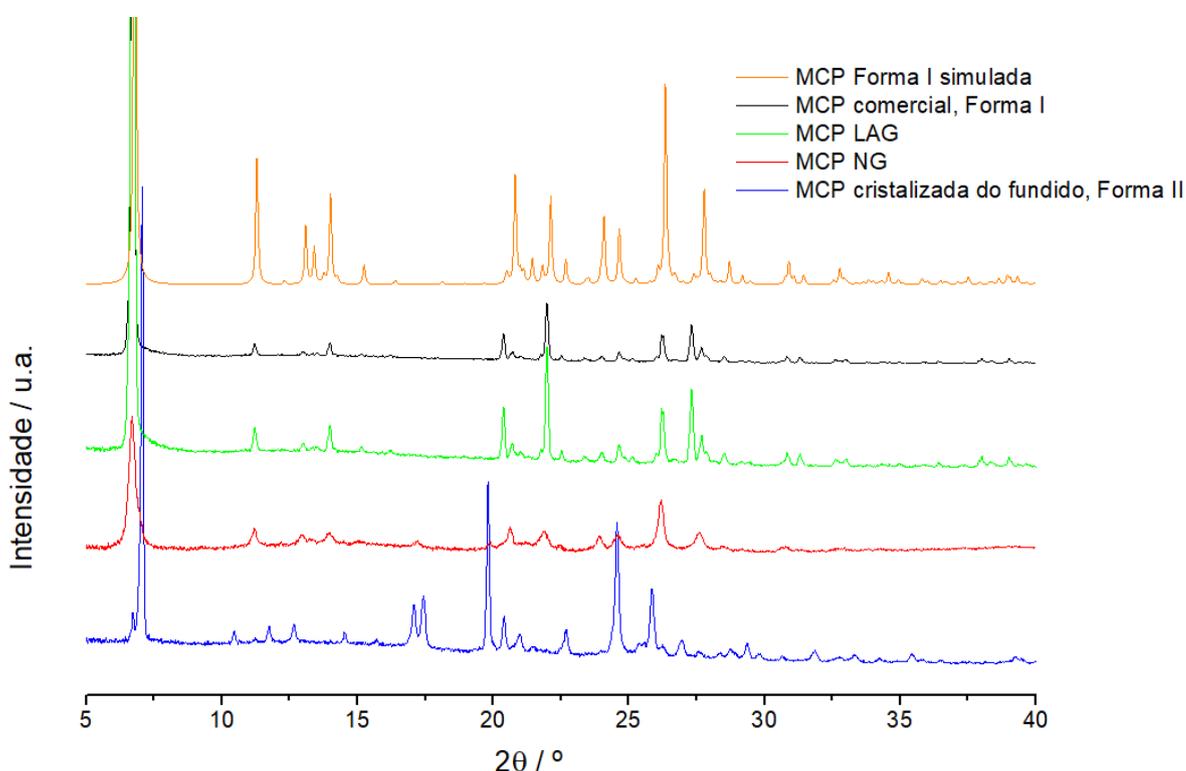


Figura 3.8. Difractogramas de raio-X de pó da MCP simulada a partir do ficheiro CIF depositado na CCDC com o código (METPRA), da MCP comercial correspondente à forma polimórfica I, das amostras de MCP submetidas a NG e LAG, (10 μ L de etanol) e da forma polimórfica II da MCP, obtida após a um ciclo de aquecimento/arrefecimento em DSC.

Examinando os difractogramas é possível concluir que a amostra da MCP submetida a LAG corresponde à forma polimórfica I enquanto que a amostra sujeita a NG corresponde a uma mistura dos dois polimorfos, apresentando reflexões mais intensas do polimorfo I a $2\theta = 6,7^\circ$; $11,2^\circ$; $13,9^\circ$; $22,0^\circ$ e $27,3^\circ$ e reflexões características do polimorfo II a $2\theta = 17,2^\circ$; $19,9^\circ$ e $27,6^\circ$.

A mesma conclusão é comprovada na comparação dos respetivos espetros de IV, apresentados na Figura 3.9.

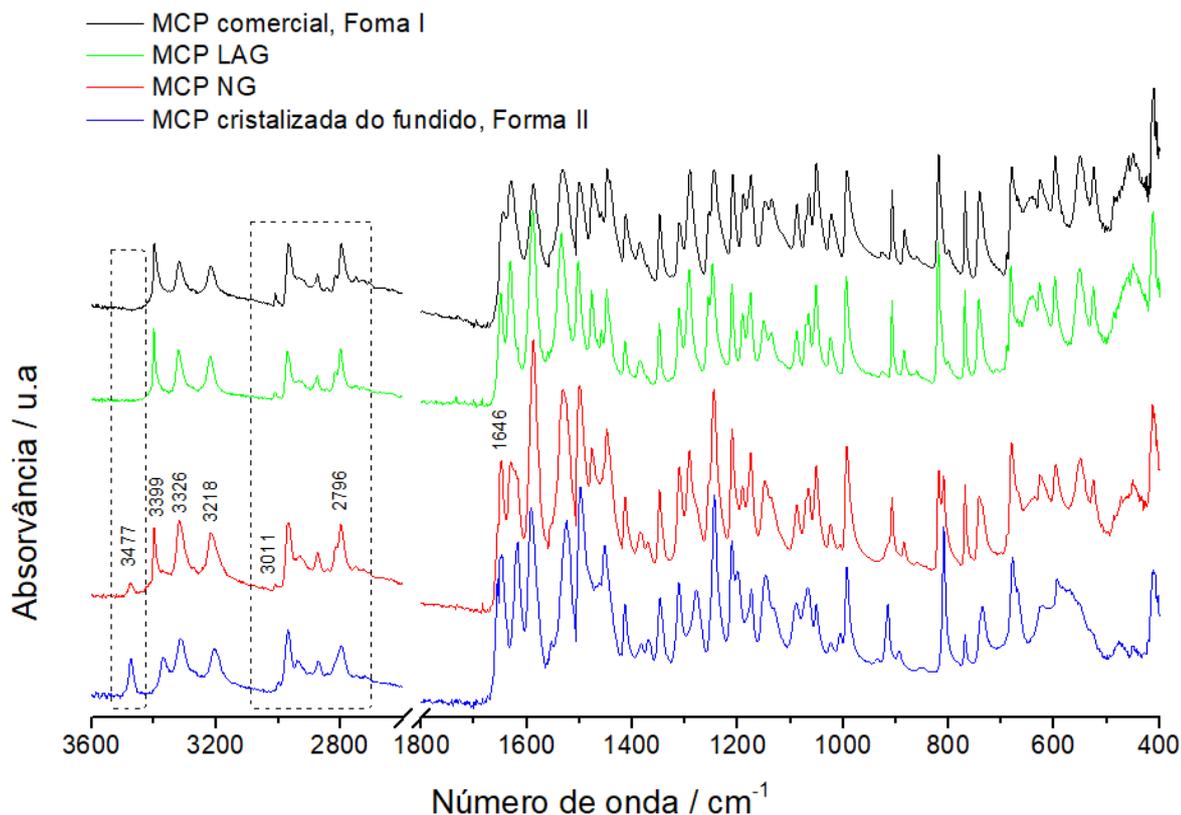


Figura 3.9. Espectros de infravermelho da MCP comercial correspondente à forma polimórfica I, das amostras de MCP submetidas a NG e LAG (10 μ L de etanol) e da forma polimórfica II da MCP, obtida após a um ciclo de aquecimento/arrefecimento em DSC.

Da comparação dos espectros de IV, é possível observar a presença dos dois polimorfos da MCP quando sujeita a moagem NG, resultando na presença da banda a 3477 cm^{-1} , característica do polimorfo II, associada à vibração do tipo alongação assimétrica da ligação NH_2 . A 3399 cm^{-1} , 3326 cm^{-1} e 3218 cm^{-1} surgem as bandas associadas à vibração por alongação simétrica da ligação NH_2 e da ligação NH do grupo amida. De igual modo, em todos os espectros visualiza-se bandas entre 3011-2796 cm^{-1} correspondentes à alongação da ligação C-H dos grupos CH_2 e CH_3 presentes na molécula de MCP. Observa-se ainda a banda a 1646 cm^{-1} correspondente à vibração por alongação do grupo $\text{C}=\text{O}$. Todos estes valores são semelhantes aos descritos na literatura^[119].

3.3 Sistema artesunato + metoclopramida

3.3.1 Previsão computacional de interações intermoleculares entre o artesunato e a metoclopramida: Reações isodésmicas e ligações não-covalentes

A formação de um novo sistema supramolecular está diretamente ligada com a capacidade das moléculas se associarem através de interações moleculares não covalentes. Em cálculos computacionais, a entidade mais simples que se pode simular para estes sistemas, conservando as interações intermoleculares envolvidas, é o heterodímero. O heterodímero é

caracterizado por compreender uma unidade molecular de cada um dos componentes puros. A previsão da interação entre dois compostos partindo de heterodímeros tem demonstrado resultados bastante positivos, prevendo corretamente se é favorável que ocorra a formação de um novo sistema supramolecular ou não^[12, 120]. Para se obter a confirmação de que determinada interação ocorra é necessário que os heterodímeros formados sejam mais estáveis que os respectivos homodímeros dos compostos puros^[12]. Contudo, em alguns sistemas, a energia de interação é relativamente próxima de zero, o que suscita dúvidas sobre a possibilidade de interação.

Para a obtenção da estrutura de partida dos heterodímeros recorreu-se à superfície de Hirshfeld da molécula de AS (FAHFV01)^[41], representada na Figura 3.10. É apresentada somente a superfície de Hirshfeld de AS por este ser o API principal deste trabalho, sendo que as superfícies de Hirshfeld de todos os co-conformadores utilizados estão presentes no Anexo I. A utilização da superfície de Hirshfeld do AS como base na construção dos heterodímeros de partida é justificada pela inexistência de estruturas cristalinas resolvidas de sistemas multicomponente com a molécula de AS, o que levou a que neste trabalho se recorresse à superfície de Hirshfeld para orientar a sua construção.

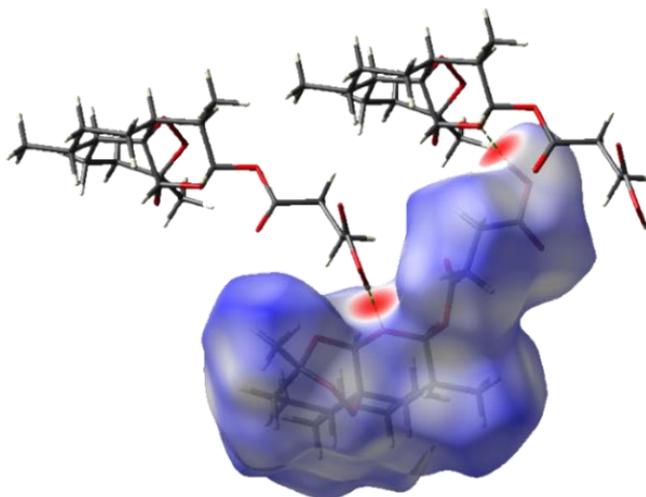


Figura 3.10. Superfície de Hirshfeld da molécula AS. As interações por pontes de hidrogénio estão assinaladas a tracejado na cor verde.

Evidenciam-se duas manchas de cor vermelha na superfície de Hirshfeld do AS, indicadores de dois locais de interações moleculares mais intensas. Identificando esses locais como os de interação mais forte entre as moléculas de AS, é presumível idealizar que as interações preferenciais entre as moléculas de AS e MCP seriam nesses locais de interação mais intensa, de maior proximidade.

De forma a caracterizar estes contactos de forma gráfica, são apresentados na Figura 3.11 os gráficos *fingerprint*. É possível observar nos gráficos *fingerprint* dois bicos proeminentes, Figura 3.11 b), relacionados com interações do tipo O...H, representando 38,2% da superfície de Hirshfeld. Verifica-se ainda uma região central, Figura 3.11 c) referente ao tipo de interação H...H, sendo esta uma interação de natureza dispersivas e/ou repulsiva, representando 59,8% da superfície de Hirshfeld da molécula de AS.

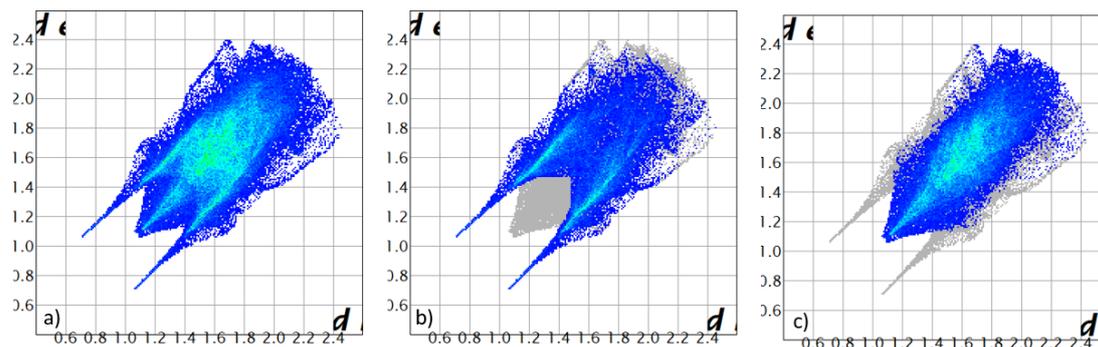


Figura 3.11. Representação gráfica 2D do *fingerprint* da molécula AS: a) Todo o tipo de interações do AS; b) Interações do tipo O...H; c) interações do tipo H...H.

Tendo então como referência os contactos mais próximos na superfície de Hirshfeld da molécula de AS, procedeu-se à construção dos heterodímeros. No desenho dos hipotéticos heterodímeros, a principal preocupação foi a tentativa de posicionar a molécula MCP o mais próximo possível do ponto interação preferencial assinalado a vermelho do grupo funcional -OH da molécula AS. Objetivou-se o ponto de interação preferencial do grupo funcional -OH pois este possibilita a formação de uma ligação de hidrogénio com o grupo C=O da MCP. Uma vez que as duas moléculas apresentam vários grupos funcionais possíveis de funcionar como dadores e aceptores de ligações de hidrogénio e devido à sua grande flexibilidade conformacional, não é possível estudar exhaustivamente todo o espaço conformacional dos heterodímeros. As estruturas dos heterodímeros construídos representam apenas exemplos de estruturas possíveis, entre muitas.

Tendo em conta estes fatores procedeu-se à otimização completa da geometria e calculo das frequências vibracionais dos homodímeros dos compostos puros, onde a estrutura foi retirada diretamente da sua rede cristalina, e dos heterodímeros construídos. Os resultados obtidos para as energias e outras propriedades termodinâmicas estão apresentadas na Tabela 3.1.

Tabela 3.1. B3LYP/def2svp Energias dos homodímeros de AS e MCP e energias dos heterodímeros de AS-MCP1 e AS-MCP2^a.

	$E_{\text{ele}}/E_{\text{h}}$	$E_{\text{zpe}}/E_{\text{h}}$	$H_{298\text{ K}}/$ (kJ mol ⁻¹)	$S_{298\text{ K}}/$ (J K ⁻¹ mol ⁻¹)	$G_{298\text{ K}}/$ (kJ mol ⁻¹)
AS-AS	-2683,3042	-2682,3731	-7042433	1224	-7042798
MCP-MCP	-2641,8121	-2641,1035	-6934093	1220	-6934457
AS-MCP1	-2662,5569	-2661,7374	-6988260	1236	-6988629
AS-MCP2	-2662,5629	-2661,7430	-6988276	1195	-6988632

^a E_{ele} : energia eletrónica; E_{zpe} : E_{ele} + energia vibracional do ponto zero; $H_{298\text{ K}}$: entalpia a 298 K; $S_{298\text{ K}}$: entropia a 298 K; $G_{298\text{ K}}$: energia de Gibbs a 298 K.

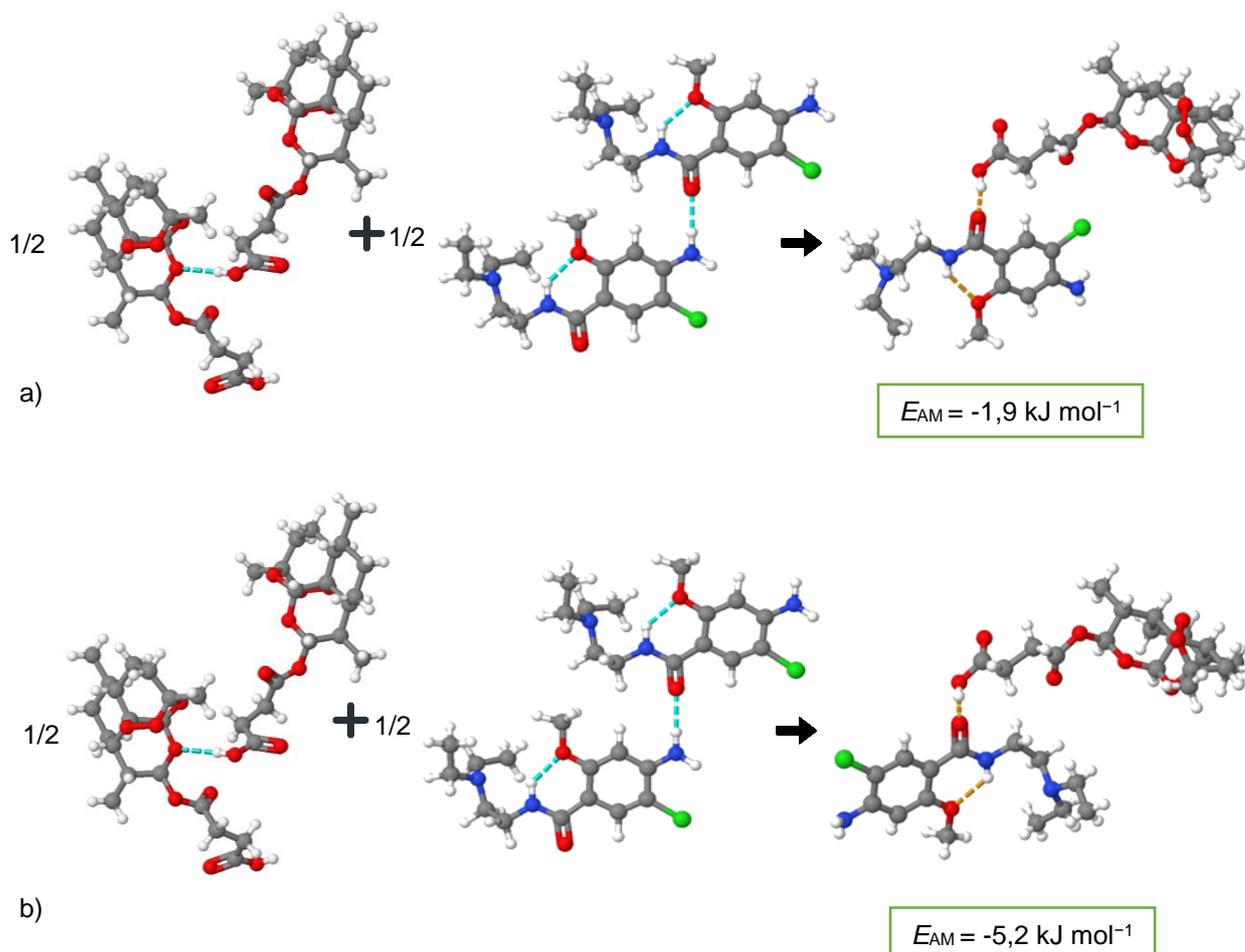
Recorrendo aos valores obtidos após o cálculo computacional foi possível verificar se a formação de um novo sistema supramolecular é termodinamicamente favorável. Para avaliar a sua maior estabilidade relativa foi necessário determinar o valor da energia de ligação dos heterodímeros (ΔE_{AM}) que pode ser estabelecida segundo a Equação 7^[12]:

$$\Delta E_{AM} = E_{AM} - \frac{E_{AA} + E_{MM}}{2} \quad (7)$$

Onde o E_{AM} , o E_{AA} e o E_{MM} denotam, respetivamente, a energia do heterodímero, a energia do homodímero do AS e a energia do homodímero da MCP.

Tendo em conta os valores da energia eletrónica expressos na Tabela 3.1 é possível então calcular o valor ΔE_{AM} . Os valores obtidos para os heterodímeros estão apresentados no Esquema 1, assim como a representação esquemática dos homodímeros e dos heterodímeros construídos.

Esquema 1. Reações isodésmicas para o cálculo da estabilidade relativa dos heterodímeros vs homodímeros: AS-MCP1 e AS-MCP2.



O valor ΔE_{AM} obtido para o heterodímero AS-MCP1 foi de $-1,9 \text{ kJ mol}^{-1}$ e o valor de ΔE_{AM} para o heterodímero AS-MCP2 foi de $-5,2 \text{ kJ mol}^{-1}$. Para ambos os heterodímeros obteve-se um valor negativo de energia de interação o que permite concluir que a sua junção, segundo a estrutura de heterodímeros escolhida, é favorável, justificando assim a associação AS-MCP como promissora no desenvolvimento de um novo sistema supramolecular. No entanto, estas pequenas diferenças de energia ($<10 \text{ kJ mol}^{-1}$)^[121] indicam pouca segurança na indicação da formação do heterodímero, que deverá depender bastante das metodologias experimentais utilizadas.

De modo a estudar o tipo de interações não-covalentes nos heterodímeros AS-MCP1 e AS-MCP2 recorre-se ao programa de análise de interações não covalentes, NCI (do inglês *Non-Covalent interactions analysis*), no qual se obteve as estruturas moleculares presentes na Figura 3.12. O foco deste estudo está na análise das interações intermoleculares dos respetivos heterodímeros, sendo por isso que as diversas interações intramoleculares foram previamente filtradas no programa NCIPLOT.

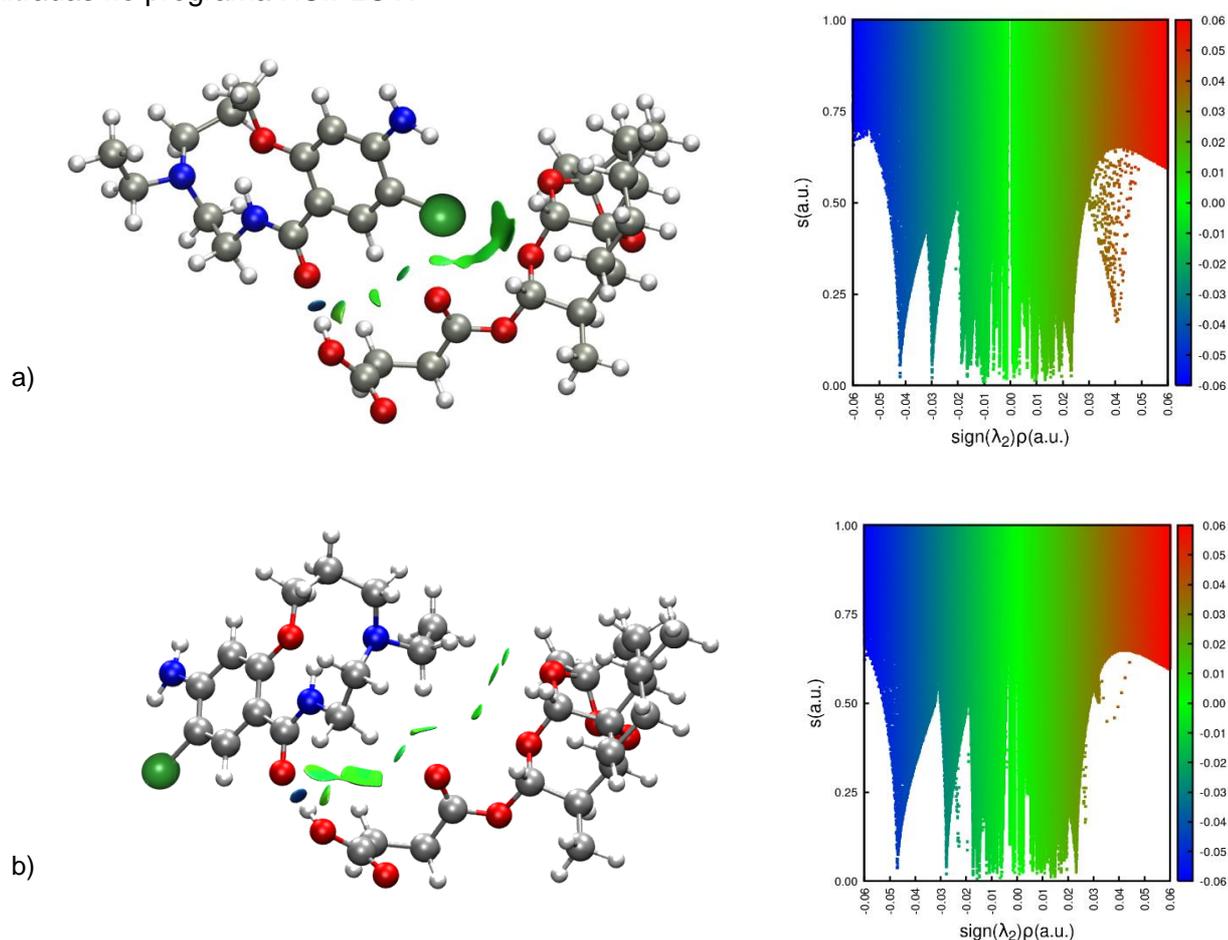


Figura 3.12. Representação dos heterodímeros AS-MCP evidenciando as diferentes interações intermoleculares e os respetivos gráficos NCI: a) Heterodímero AS-MCP1; b) Heterodímero AS-MCP2.

Denotam-se as interações intermoleculares entre o AS e a MCP, com a escala de cores onde a cor verde corresponde a interações van der Waals e a cor azul corresponde a ligações de hidrogénio. Atendendo à Figura 3.11, é possível verificar que ambos os heterodímeros

apresentam interações van der Waals ao longo dos contactos intermoleculares auxiliadas pela forte ligação de hidrogénio entre o grupo ácido da molécula de AS ($\rho \approx 0,05$) e do carbonilo amida da molécula de MCP. Observa-se também uma ligação de hidrogénio não clássica, mais fraca ($\rho \approx 0,03$) correspondente ao sintão $\text{CH}\cdots\text{O}=\text{éster}$. O heterodímero AS-MCP2 apresenta a ligação de hidrogénio ácido-amida ligeiramente mais forte que o AS-MCP1, ao passo que a outra ligação de hidrogénio é ligeiramente mais fraca.

3.3.2 Investigação da formação de sólidos multicomponente artesunato-metoclopramida por mecanoquímica

O estudo da interação do AS com a MCP é algo completamente novo. A investigação deste sistema ocorreu inicialmente por moagens a 30Hz por um período de 30 minutos, NG e LAG, 10 μL de etanol. O produto destas moagens revelou ser impossível de retirar dos vasos de moagens, apresentando uma textura gelatinosa. Esta alteração de textura do composto é justificada aquando da formação de um amorfo, cuja T_g é ultrapassada devido ao aquecimento dos vasos durante os processos de moagem. Tendo em conta este fator, implementou-se o protocolo descrito na secção 2.2.1.1 que visa manter a temperatura dos vasos num valor mais baixo, evitando que o sistema atinja a T_g . Implementando este protocolo foi possível obter um produto na forma sólida, recuperável, após o processo de moagem por NG. Contudo, no processo de moagem por LAG obteve-se o mesmo resultado alcançado na primeira etapa da investigação, novamente um composto de textura gelatinosa impossível de ser retirado do vaso. Como o único composto recuperável no estado sólido foi obtido por NG, todo o estudo da formação de sólidos multicomponente AS-MCP foi realizado por NG.

Esta investigação revelou a existência de um sistema co-amorfo na proporção de 1:1, 2:1 e 3:1, sendo que numa primeira etapa será analisado o sistema AS-MCP 1:1. Todos os resultados foram confirmados com recurso a XRPD, a ATR-FTIR e a DSC.

A síntese do co-amorfo AS-MCP 1:1 foi realizado por mecanoquímica, NG, a 25 Hz e por um período de 30 minutos. Os difractogramas obtidos para a mistura AS-MCP 1:1 e para os componentes puros estão representados na Figura 3.13.

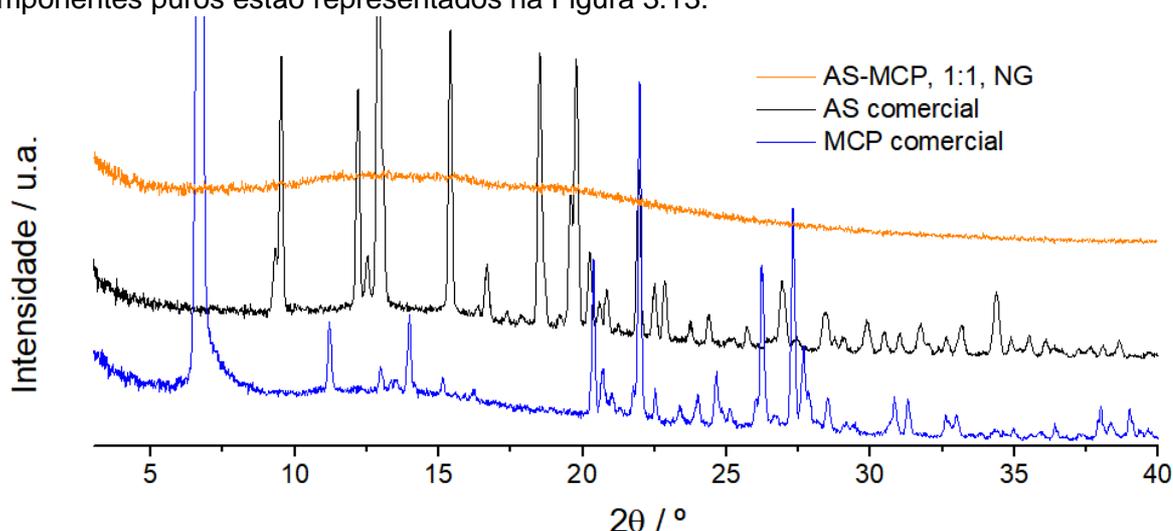


Figura 3.13. Difractogramas de raio-X de pó da mistura AS-MCP (1:1) NG, do AS comercial e da MCP comercial.

Na mistura AS-MCP 1:1, após o processo de moagem, verifica-se que os picos de difração característicos do AS e da MCP desaparecem nos padrões de XRPD, não se observando qualquer tipo de reflexão. Esta ausência de reflexões é justificada pela formação de um co-amorfo AS-MCP.

O comportamento térmico deste sistema é apresentado nos termogramas apresentados na Figura 3.14.

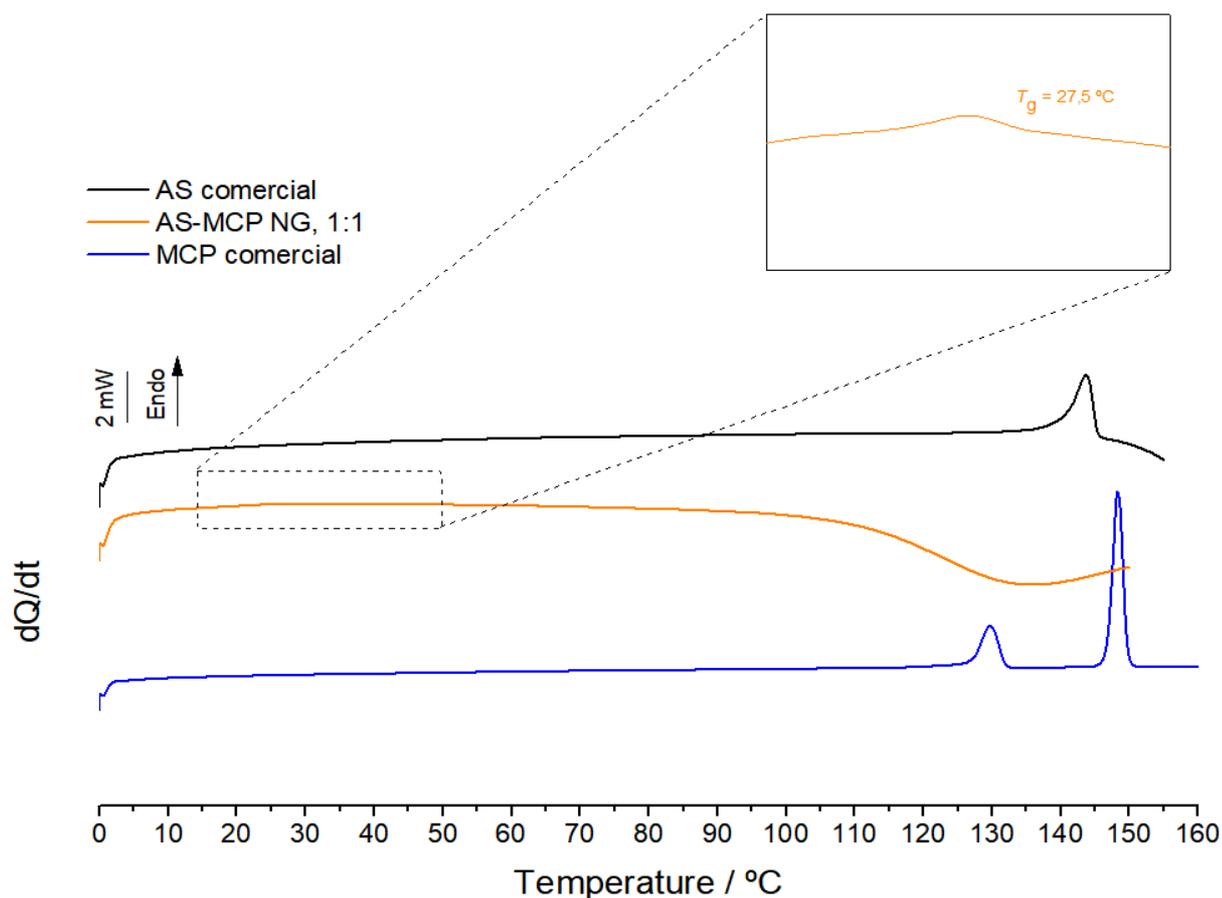


Figura 3.14. Curvas de DSC de aquecimento do AS comercial, $m = 1,77$ mg, da mistura AS-MCP (1:1) NG, $m = 1,47$ mg e da MCP comercial, $m = 1,43$ mg ($\beta = 10$ °C/min.).

Analisando os termogramas dos sólidos é possível verificar que a mistura AS-MCP 1:1 apresenta uma transição vítrea a $T_g = (27,5)^\circ\text{C}$, o que é mais uma prova de que se obteve um sistema amorfo.

Os espectros de IV, Figura 3.15, corroboram na confirmação da formação do sistema co-amorfo.

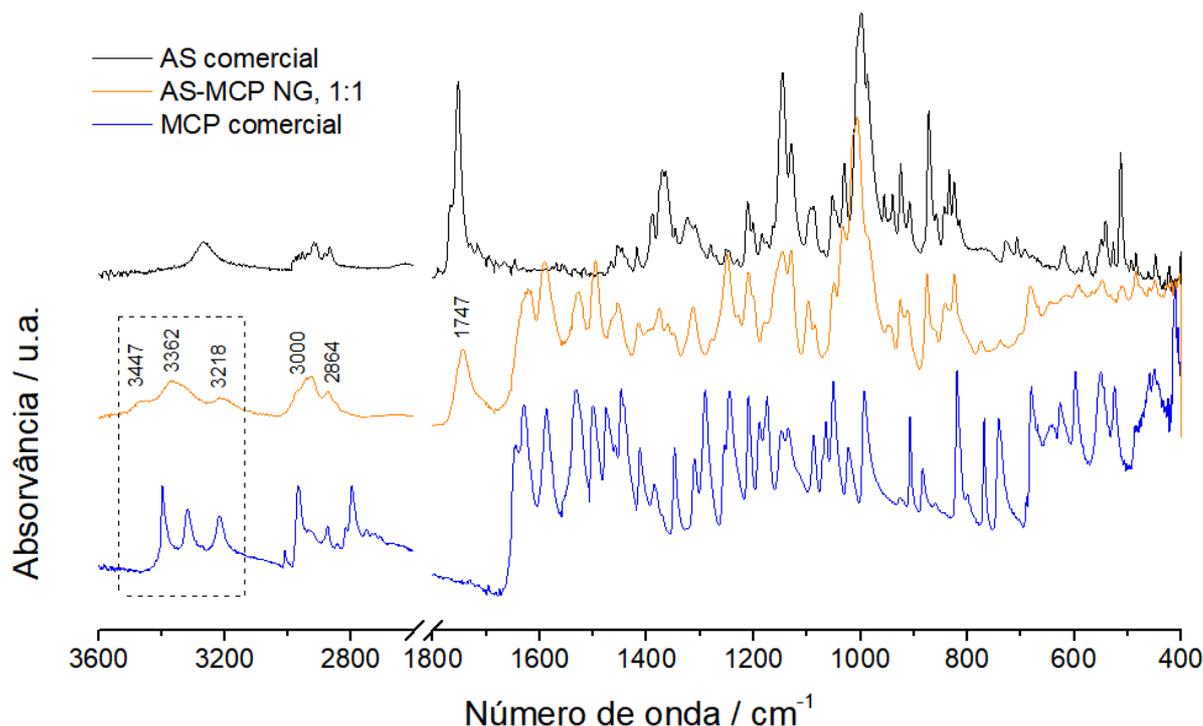


Figura 3.15. Espectros de infravermelho da amostra comercial de AS, da mistura AS-MCP (1:1) NG e da amostra comercial de MCP.

Na análise dos espectros de IV é possível verificar o alargamento das bandas, em particular nas bandas correspondentes à vibração por alongação da ligação NH_2 da molécula MCP. Observam-se desvios nos sinais da alongação da ligação NH_2 , de 3399 cm^{-1} para 3447 cm^{-1} e 3326 cm^{-1} para 3362 cm^{-1} . A evidência do alargamento de bandas é igualmente visível nas bandas associadas a vibrações por alongação da ligação C-H dos grupos CH_2 e CH_3 presentes na molécula de AS. A banda referente ao grupo carbonilo aparece, de igual modo, alargada e com um pequeno desvio, de 1751 cm^{-1} para 1747 cm^{-1} .

Todos os resultados obtidos indicam que ocorreu a formação de um sistema co-amorfo, contudo com uma T_g relativamente baixa. Por conseguinte estudou-se outros sistemas AS-MCP em diferentes proporções com o objetivo de aumentar a T_g .

3.3.3 Síntese de co-amorfos artesunato-metoclopramida nas proporções 2:1 e 3:1 por mecanoquímica

Tendo como foco o aumento da T_g , procedeu-se à preparação das misturas AS-MCP nas proporções 2:1 e 3:1. Inicialmente, após o processo de moagem a 25Hz, 30 minutos NG, foi necessário confirmar que a formação do co-amorfo era assegurada. A confirmação da formação do sistema co-amorfo nestas proporções está demonstrada nos difractogramas de raio-X de pó da Figura 3.16.

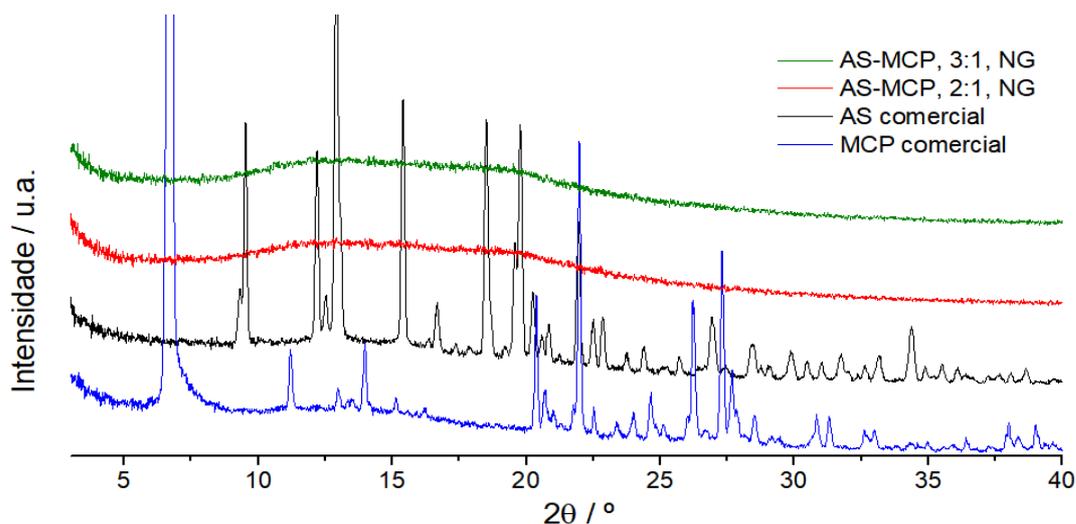


Figura 3.16. Difractogramas de raio-X de pó da mistura AS-MCP (3:1) NG, da mistura AS-MCP (2:1) NG, do AS comercial e da MCP comercial.

De acordo com os difractogramas é possível afirmar que, quer no sistema AS-MCP 2:1 quer no 3:1, a formação do sistema co-amorfo é alcançada, registrando-se novamente uma ausência de reflexões, os picos de difração dos compostos puros de AS e MCP desaparecem por completo.

As curvas de DSC ilustrativas dos sistemas co-amorfo AS-MCP nas proporções 2:1 e 3:1 estão evidenciadas na Figura 3.17.

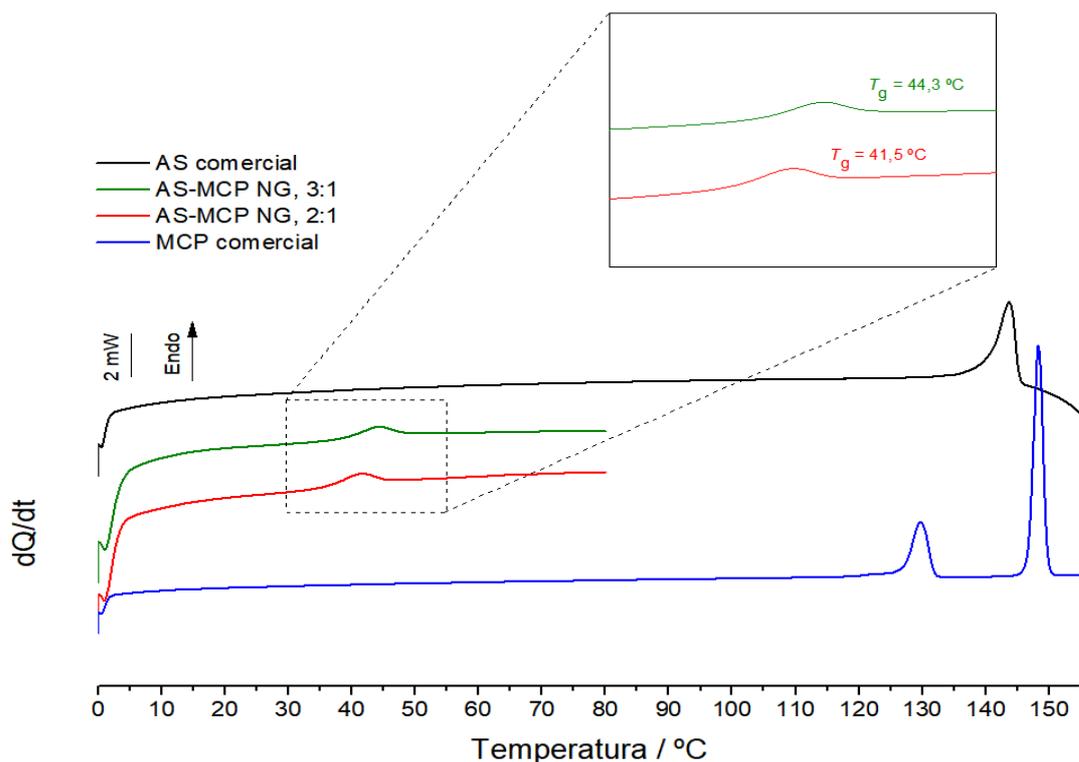


Figura 3.17. Curvas de DSC de aquecimento do AS comercial, $m = 1,77$ mg, da mistura AS-MCP (3:1) NG, $m = 2,14$ mg, da mistura AS-MCP (2:1) NG, $m = 1,48$ mg e da MCP comercial, $m = 1,43$ mg. ($\beta = 10$ °C/min.).

Ambos sistemas apresentam um evento de transição vítrea, confirmando uma vez mais a síntese de um co-amorfo. Para o sistema AS-MCP 2:1 obteve-se uma $T_g = (41,5)^\circ\text{C}$ enquanto que, para o sistema AS-MCP 3:1 obteve-se uma $T_g = (44,3)^\circ\text{C}$. Os dois sistemas cumpriram com o objetivo de aumentar a T_g fase ao sistema AS-MCP 1:1. Destaca-se o sistema co-amorfo AS-MCP 3:1 como o mais promissor, uma vez que este apresenta uma maior T_g .

Os espectros de IV presentes na Figura 3.18 estão em concordância com os resultados obtidos para o sistema AS-MCP 1:1, observando-se novamente um alargamento e alguns desvios nas mesmas bandas.

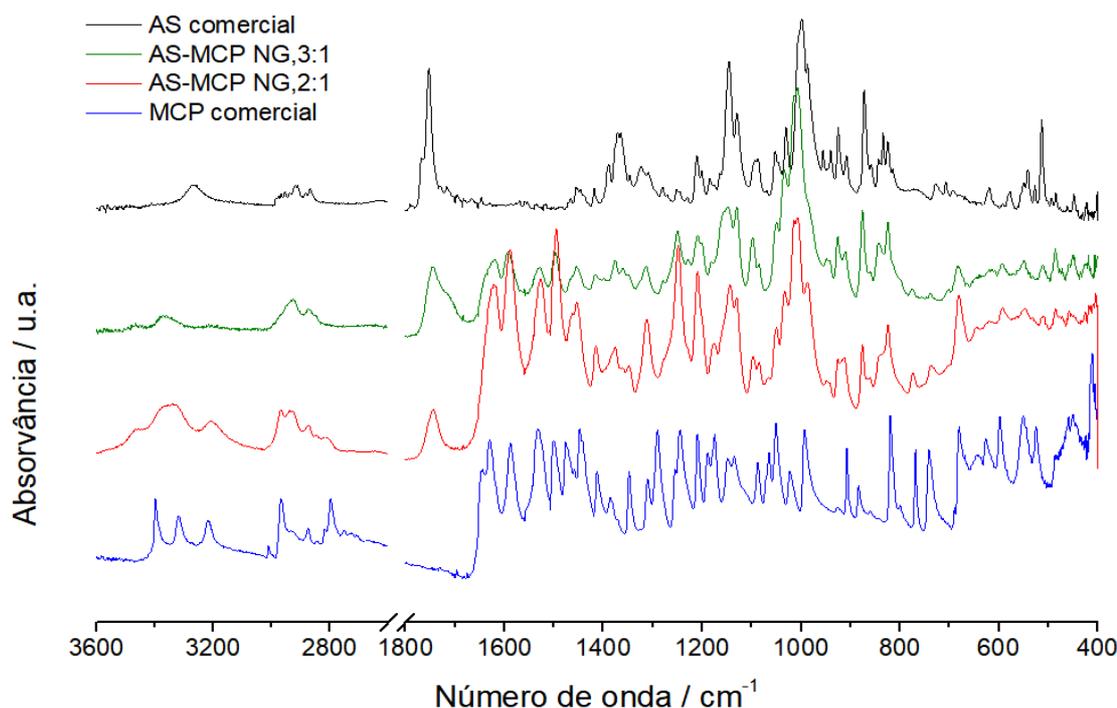


Figura 3.18. Espectros de infravermelho da amostra comercial de AS, da mistura AS-MCP (3:1) NG, da mistura (2:1) NG e da amostra comercial de MCP.

3.3.3.1 Teste de estabilidade

Foram realizados os estudos de estabilidade do sistema co-amorfo AS-MCP 3:1 nas condições de $25^\circ\text{C} / 60\% \text{ HR}$. Foi efetuado apenas o estudo de estabilidade do sistema AS-MCP na proporção 3:1, uma vez que, como descrito na última secção do trabalho, este sistema co-amorfo é o mais promissor, o que apresenta uma maior T_g .

O composto foi colocado em 6 cápsulas gelatinosas, sendo posteriormente armazenadas em uma câmara de estabilidade, como descrito na secção 2.2.3. Os difractogramas de raios-X de pó foram efetuados de 15 em 15 dias onde se obtiveram os resultados apresentados na Figura 3.19.

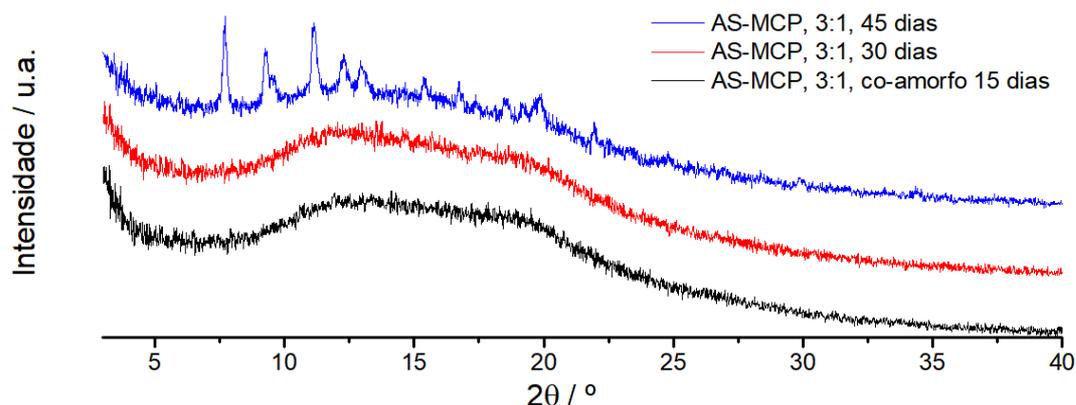


Figura 3.19. Difractogramas de raios-X de pó do co-amorfo AS-MCP (3:1) após 15, 30 e 45 dias, em câmara de estabilidade a 25 °C / 60 % HR.

Analisando os difractogramas é possível aferir que após um período de 15 e 30 dias o sistema continua co-amorfo, continuando a não existir qualquer tipo de reflexão, não existindo qualquer alteração no sistema AS-MCP. No entanto, passados 45 dias, é possível verificar o aparecimento de uma série de reflexões características do composto AS e do polimorfo I da MCP. O aparecimento das reflexões permite comprovar o processo de cristalização do sistema AS-MCP, o que possibilita afirmar que este sistema não é mais um sistema co-amorfo.

Tendo como referência que, nas condições de estabilidade impostas na câmara de estabilidade, ocorre o processo de cristalização passados 45 dias, procedeu-se a um novo estudo de estabilidade, onde neste novo estudo o sistema co-amorfo AS-MCP 3:1 permaneceu dentro de um exsiccador de sílica à temperatura ambiente. Impondo estas condições de estabilidade procedeu-se novamente à caracterização das amostras do sistema por XRPD, de 15 em 15 dias, por 90 dias. Os resultados obtidos estão apresentados na Figura 3.20.

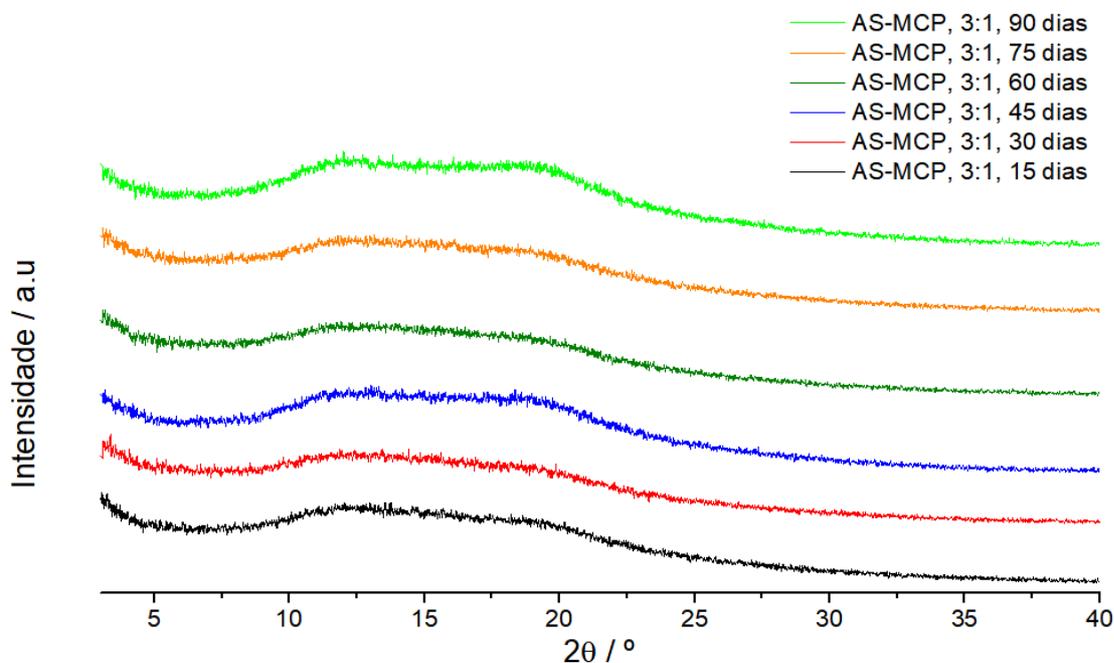


Figura 3.20. Difractogramas de raios-X de pó do co-amorfo AS-MCP (3:1) após 15, 30, 45, 60, 75 e 90 dias, armazenado num exsiccador com sílica.

Pela análise dos difractogramas, é possível verificar que durante os 90 dias o sistema permanece co-amorfo, não se verificando o aparecimento de novas reflexões como no caso anterior.

Como referido na secção 2.2.3, o estudo de estabilidade é importante para estabelecer as condições de armazenamento ideais. Quando armazenado numa câmara de estabilidade a uma temperatura fixa e um nível de humidade de 60 % o sistema cristaliza, deixa de ser um sistema co-amorfo enquanto que, quando armazenado dentro de um exsiccador a uma temperatura ambiente, mas em ambiente seco, o sistema permanece co-amorfo por um período mínimo de 90 dias. Estes resultados permitem, numa primeira abordagem a este sistema, concluir que se este co-amorfo fosse comercializado teria de ser armazenado em comprimidos selados de forma a impedirem um aumento do nível de humidade.

3.4 Sistema artesunato + isonicotinamida

3.4.1 Previsão computacional de interações intermoleculares entre o artesunato e a isonicotinamida: Reações isodésmicas e ligações não-covalentes

Numa primeira etapa procurou-se prever computacionalmente qual seria o sintão formado aquando da interação entre a molécula de AS e a molécula de ISONAM. Considera-se que a interação de AS com a ISONAM se dá por uma ligação de hidrogénio entre o grupo -OH de AS e o nitrogénio aromático na posição *para* da ISONAM. Para além desta ligação formada, prevê-se que o sintão amida...amida entre as moléculas de ISONAM permaneça intacto. A representação da possível interação está representada na Figura 3.21.

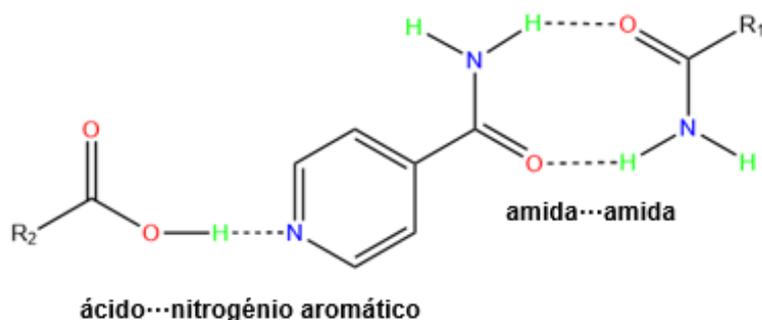


Figura 3.21. Representação ilustrativa dos diferentes sintões previstos para a interação AS-ISONAM. R₁ – Equivalente ao restante da molécula de ISONAM e R₂; R₂ – Restante estrutura química da molécula de AS.

Existem diversas diretrizes neste sistema que justificam que a interação entre as duas moléculas ocorra segundo os sintões supramoleculares apresentados na Figura 3.21. A permanência do sintão amida...amida das moléculas de ISONAM pode ser justificada com base no trabalho de Desiraju *et al.*^[122], onde é descrito uma metodologia teórica que procura confirmar a preservação desse dímero através da análise dos potencial eletrostático de cada molécula. Considerando o sintão amida...amida presente na Figura 3.22 a), a ligação de hidrogénio

formada N-H...O resulta de um átomo oxigénio básico, com um valor de potencial eletrostático de $-174,9 \text{ kJ mol}^{-1}$. Este átomo de oxigénio é uma forte base de Lewis, resultante da sua conjugação com o grupo amida, promovendo a formação de uma forte ligação de hidrogénio. Por outro lado, a formação do sintão ácido...amida, Figura 3.22 b), irá promover a formação de uma nova ligação de hidrogénio N-H...O(acido), sendo que esta interação ocorre segundo um átomo de oxigénio menos básico, associado a um valor de potencial eletrostático de $-152,7 \text{ kJ mol}^{-1}$. Este átomo de oxigénio está conjugado com o grupo -OH, caracterizado por ser uma base de Lewis mais fraca que o grupo amida, o que irá promover uma fraca ligação de hidrogénio N-H...O(ácido). Como tal, a permanência do sintão amida...amida apresentará ligações de hidrogénio mais fortes, sendo por isso mais estável.

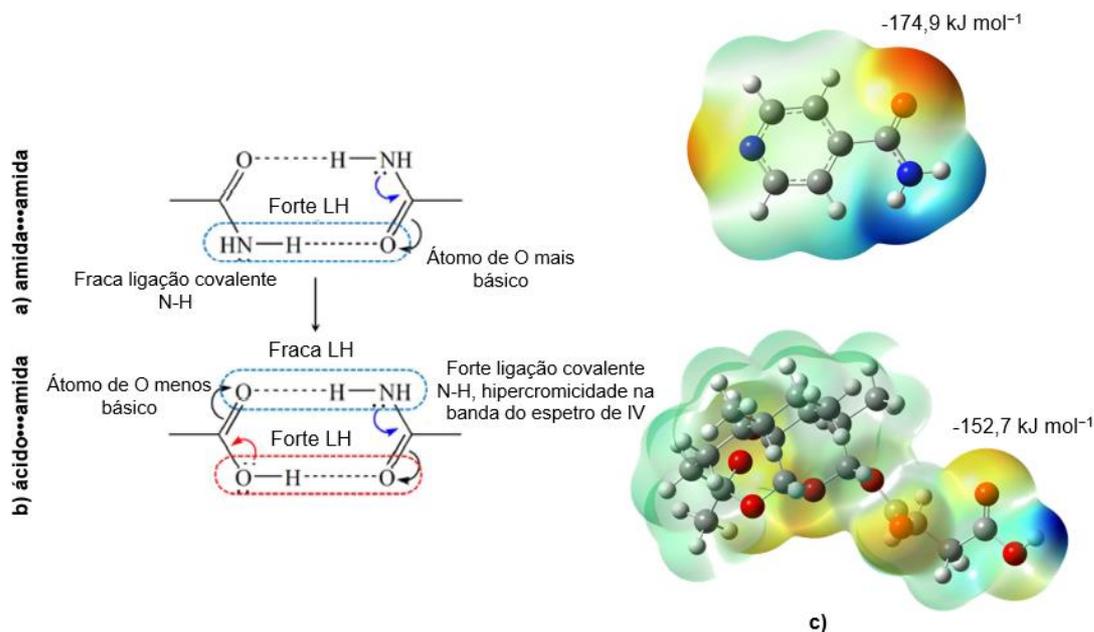


Figura 3.22. Representação esquemática dos sintões de interesse: a) sintão amida...amida associada a uma forte ligação de hidrogénio (LH) NH...O quando comparada com b) sintão ácido...amida. c) potencial eletrostático das moléculas de ISONAM e AS, calculados recorrendo ao método DFT-B3LYP, base de funções def2svp e mapeada sobre a superfície uma densidade eletrónica molecular de $0,002 \text{ eletrões/Å}$. Os valores de energia indicam os mínimos de potencial eletrostático nessa superfície.

É descrito ainda na investigação de Desiraju *et al.*^[122] que a formação do dímero ácido...amida irá fortalecer a ligação covalente N-H do grupo NH_2 , resultando num desvio hiperocrómico (para um valor de energia mais alto) no espectro de IV da banda associada à elongação dessa mesma ligação. O estudo deste desvio é seguido na secção 3.4.2 do trabalho.

A interação das moléculas de AS com a ISONAM de acordo com os sintões supramoleculares apresentados na Figura 3.21 pode ainda ser justificada teoricamente por comparação da energia de ligação de um agregado formado por esses mesmos sintões e um agregado formado segundo o sintão ácido...amida. Numa primeira etapa procedeu-se à construção de dois agregados tendo em consideração a permanência do sintão amida...amida das moléculas de ISONAM. Foram contruídos dois heterotetrámeros, constituídos por duas moléculas de ISONAM interligadas por meio do sintão amida...amida e duas moléculas de AS, cada qual ligada a uma molécula de ISONAM por uma ligação de hidrogénio entre o grupo -OH da molécula de AS e o nitrogénio do anel aromático da ISONAM.

A par do sistema AS-MCP, procedeu-se inicialmente à otimização dos homodímeros dos compostos puros (retirados diretamente da sua rede cristalina) e dos heterodímeros construídos. Denotar que a construção dos heterotetrámeros teve por base a construção de dois agregados o mais diferentes possíveis entre si. Os resultados obtidos para as energias e outras propriedades termodinâmicas estão apresentadas na Tabela 3.2.

Tabela 3.2. B3LYP/def2svp Energias dos homodímeros de AS e ISONAM e energias dos heterotrimeros de AS-ISONAM linear e AS-ISONAM compacto^a.

	$E_{\text{ele}}/E_{\text{h}}$	$E_{\text{zpe}}/E_{\text{h}}$	$H_{298\text{ K}}/$ (kJ mol ⁻¹)	$S_{298\text{ K}}/$ (J K ⁻¹ mol ⁻¹)	$G_{298\text{ K}}/$ (kJ mol ⁻¹)
AS-AS	-2683,3042	-2682,3731	-7042433	1224	-7042798
ISONAM-ISONAM	-833,3999	-833,1662	-2187433	565	-2187602
AS-ISONAM compacto	-3516,7150	-3515,5496	-9229890	1692	-9230395
AS-ISONAM linear	-3516,7089	-3515,5440	-9229874	1729	-9230390

^a E_{ele} : energia eletrónica; E_{zpe} : E_{ele} + energia vibracional do ponto zero; $H_{298\text{ K}}$: entalpia a 298 K; $S_{298\text{ K}}$: entropia a 298 K; $G_{298\text{ K}}$: energia de Gibbs a 298 K.

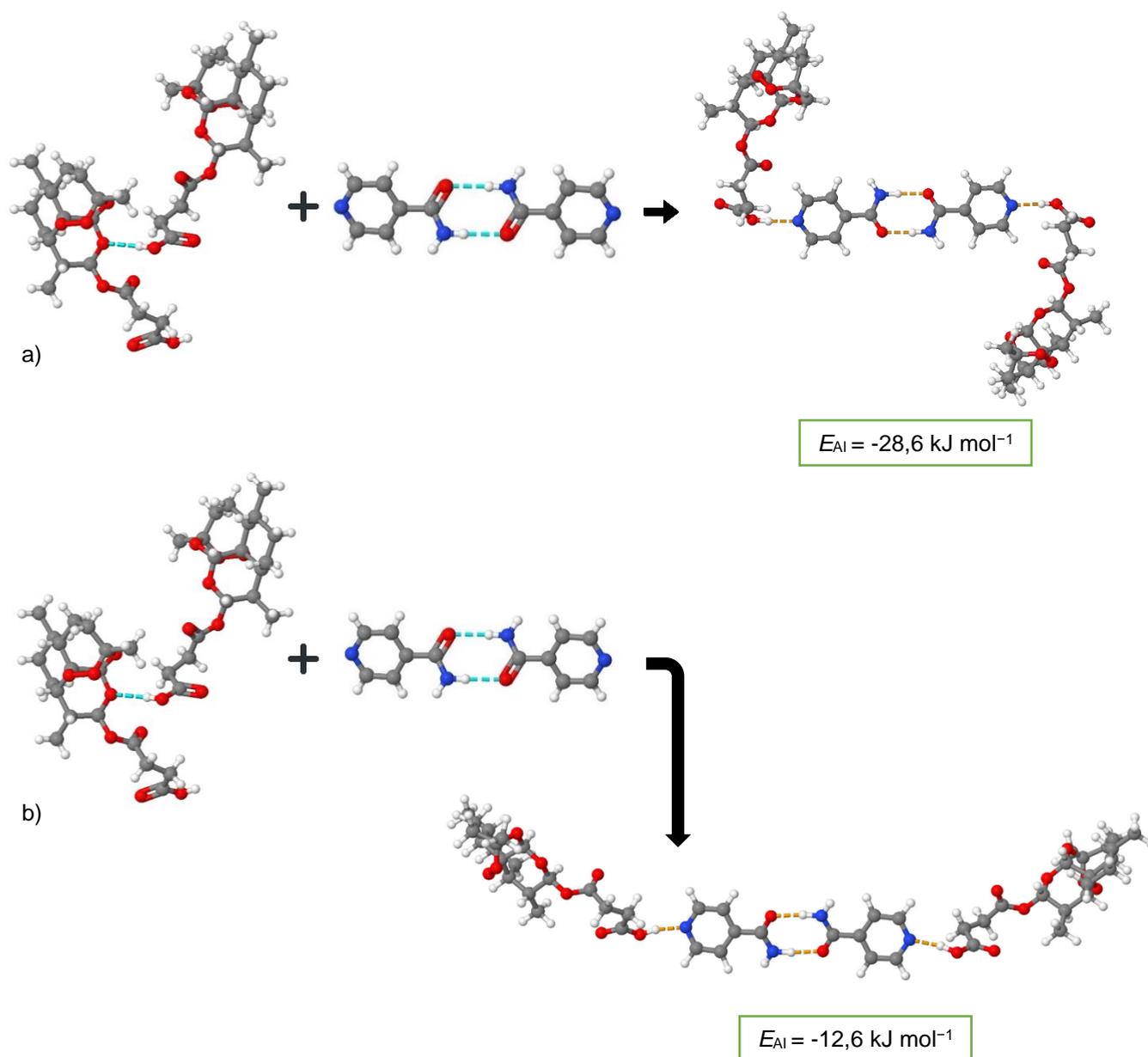
Após o cálculo computacional foi possível verificar se a formação de um novo sistema supramolecular é termodinamicamente favorável. Para confirmar a sua estabilidade termodinâmica foi necessário determinar o valor da energia de ligação dos heterotetrámeros (ΔE_{AI}) que pode ser estabelecida partindo da Equação 7. Contudo, neste sistema estão a ser consideradas duas moléculas de AS e duas moléculas de ISONAM. Atendendo a este fator, o valor da energia de ligação dos heterotetrámeros é estabelecido pela Equação 8:

$$\Delta E_{\text{AI}} = E_{\text{AI}} - (E_{\text{AA}} + E_{\text{II}}) \quad (8)$$

Onde o E_{AI} , o E_{AA} e o E_{II} denotam, a energia do heterotetrámero, a energia do homodímero do AS e a energia do homodímero de ISONAM, respetivamente.

Tendo em conta os valores da energia eletrónica expressos na Tabela 3.2 é possível então determinar o valor ΔE_{AI} . Os valores obtidos para cada um dos heterotetrámeros estão apresentados no Esquema 2, assim como a representação esquemática dos homodímeros e dos heterotetrámeros construídos.

Esquema 2. Reações isodésmicas para o cálculo da estabilidade relativa do heterotrímero vs heterotetrámeros: a) AS-ISONAM compacto e b) AS-ISONAM linear.



Considerando o heterotetrâmero AS-ISONAM de geometria compacta, o valor da energia de ligação é de $-28,6 \text{ kJ mol}^{-1}$ enquanto que, para o AS-ISONAM de geometria linear, o valor da energia de ligação é de $-12,6 \text{ kJ mol}^{-1}$. Para ambos os heterotetrâmeros obteve-se um valor negativo de energia de interação o que permite concluir que a sua junção é favorável, segundo as estruturas dos heterotetrâmeros escolhidas, justificando assim a associação AS-ISONAM como promissora no desenvolvimento de um novo sistema supramolecular.

Como referido acima, a permanência do sintão amida...amida pode ser igualmente confirmada teoricamente pela comparação dos valores das energias de ligação entre os heterotetrâmeros e o heterodímero apresentado no esquema 3, cuja interação ocorre por meio

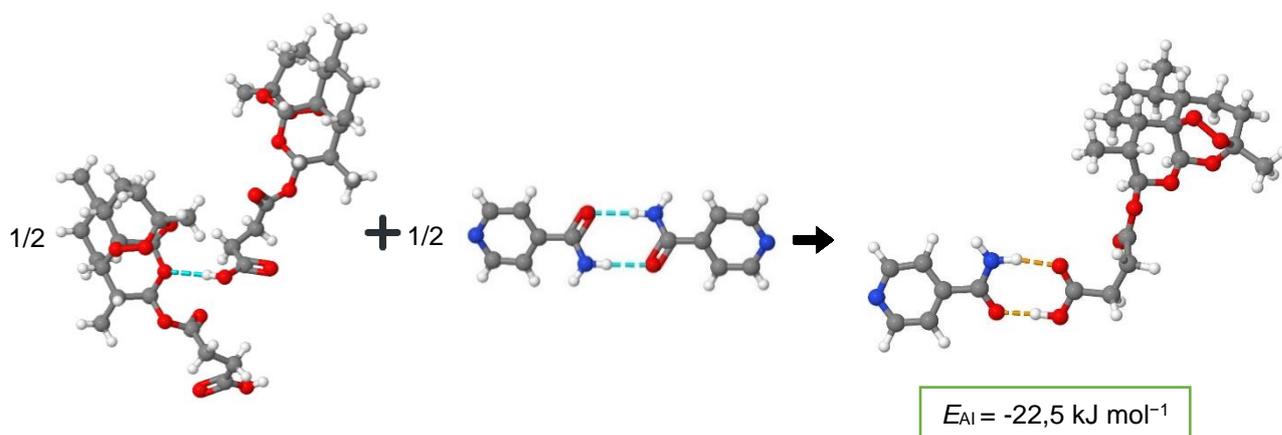
do sintão ácido...amida. Os respectivos resultados para as energias e outras propriedades termodinâmicas estão expressos na Tabela 3.3.

Tabela 3.3. B3LYP/def2svp Energias dos homodímeros de AS e ISONAM e energias dos heterotrimeros de AS-ISONAM linear e AS-ISONAM compacto^a.

	E_{ele}/E_h	E_{zpe}/E_h	$H_{298\text{ K}}/$ (kJ mol^{-1})	$S_{298\text{ K}}/$ ($\text{J K}^{-1} \text{mol}^{-1}$)	$G_{298\text{ K}}/$ (kJ mol^{-1})
AS-AS	-2683,3042	-2682,3731	-7042433	1224	-7042798
ISONAM-ISONAM	-833,3999	-833,1662	-2187433	565	-2187602
AS-ISONAM linear	-1758,3606	-1757,7788	-4614957	921	-4615232

^a E_{ele} : energia eletrônica; E_{zpe} : E_{ele} + energia vibracional do ponto zero; $H_{298\text{ K}}$: entalpia a 298 K; $S_{298\text{ K}}$: entropia a 298 K; $G_{298\text{ K}}$: energia de Gibbs a 298 K.

Esquema 3. Reações isodésmicas para o cálculo da estabilidade relativa do heterodímero vs heterotetrâmeros: AS-ISONAM.



Atendendo aos valores de energia de eletrônica e considerando a Equação 8 no cálculo da energia de ligação do agregado, obteve-se um valor de energia de ligação do heterodímero de $-22,5 \text{ kJ mol}^{-1}$. A par dos heterotetrâmeros construídos, o heterodímero apresenta um valor negativo de ligação. Contudo, o valor de ligação do heterodímero formado segundo o sintão ácido...amida é inferior à do heterotetrâmero AS-ISONAM com uma geometria compacta. Este valor mais negativo obtido para o heterotetrâmero formado segundo da Figura 3.21 corrobora com a premissa de que a interação entre a molécula de AS e ISONAM ocorre segundo o sintão ácido...nitrogénio aromático.

A segunda parte da metodologia computacional aplicada para este sistema passou pelo estudo das interações não covalentes dos heterotetrâmeros construídos segundo o sintão ácido...nitrogénio aromático. O resultado do estudo destas interações é representado na Figura 3.23.

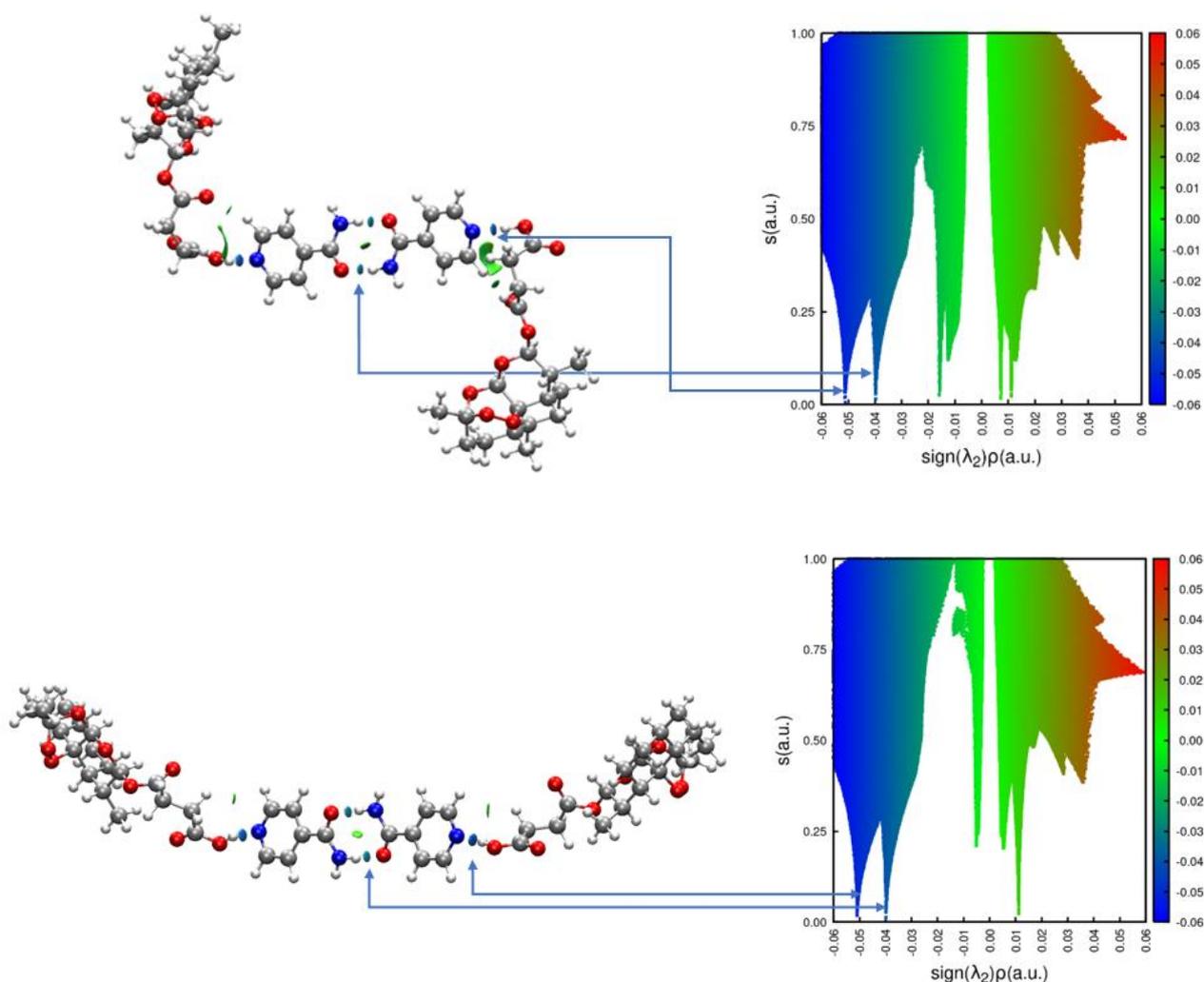


Figura 3.23. Representação dos heterotetrâmeros AS-ISONAM evidenciando as diferentes interações intermoleculares e os respectivos gráficos NCI: a) Heterotetrâmero AS-ISONAM com uma geometria compacto; b) Heterotetrâmero AS-ISONAM com uma geometria linear.

A Figura 3.23 denota os gráficos NCI e a representação das interações intermoleculares entre as moléculas de AS e ISONAM, segundo as estruturas dos heterotetrâmeros considerados. A associação entre as moléculas de AS e ISONAM é dominada por dois tipos de ligações de hidrogénio, sendo uma delas referente às duas ligações de hidrogénio entre as moléculas de ISONAM no sintão amida...amida e a interação entre o grupo -OH da molécula de AS e o nitrogénio do anel aromático da molécula de ISONAM. É possível verificar que esta última ligação de hidrogénio é a mais forte, apresentando um menor valor de $\text{sign}(\lambda_2) \cdot \rho$ (-0.051 a.u vs -0.04 a.u).

Para além das ligações de hidrogénio é evidente nas estruturas e nos gráficos NCI a presença de interações van der Waals ao longo das interações intermoleculares. Denotar que a geometria compacta apresenta uma maior contribuição de interações van der Waals que a geometria linear, o que torna a geometria compacta do heterotetrâmero AS-ISONAM a mais estável.

3.4.2 Investigação da formação de sólidos multicomponente artesunato-isonicotinamida por mecanoquímica

Num primeira etapa iniciou-se a investigação do sistema AS-ISONAM pela preparação de uma mistura equimolar por NG e LAG, 10 μ L de etanol, por um período de 30 minutos a 25 Hz. Após o processo de moagem das amostras, procedeu-se à sua caracterização por FTIR-ATR, onde o resultado está apresentado na Figura 3.24.

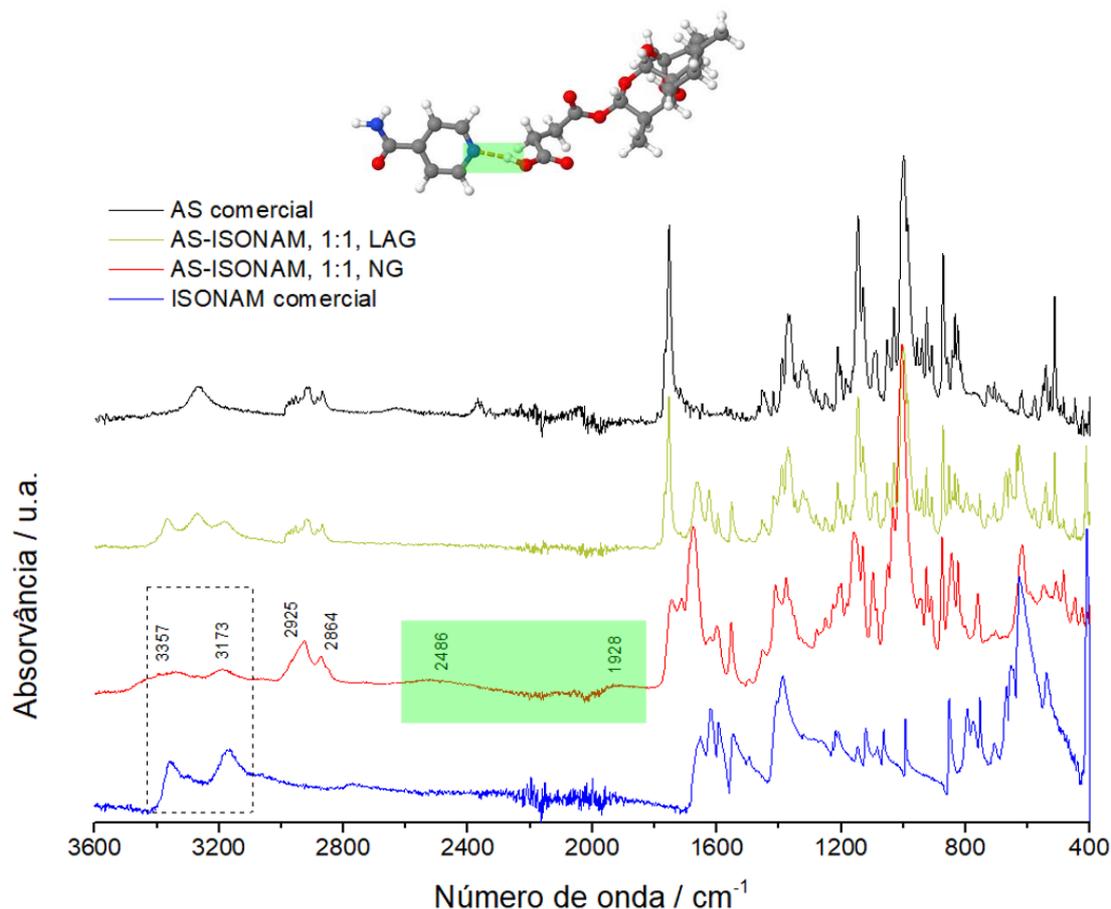


Figura 3.24. Espectros de IV do AS comercial, das misturas AS-ISONAM (1:1) obtidas por NG e LAG e da ISONAM comercial. A cor verde são evidências de bandas características da formação do sintão ácido...nitrogénio aromático.

Denota-se que a mistura obtida por NG apresenta um claro alargamento de bandas, nomeadamente nas bandas a 3357 e 3173 cm^{-1} correspondentes a vibrações por elongação simétrica e assimétrica da ligação N-H do grupo NH_2 da molécula de ISONAM. Visualiza-se ainda um alargamento das bandas referentes às elongações das ligações C-H dos grupos CH_2 e CH_3 presentes na molécula de AS^[118]. Verificam-se ainda duas bandas alargadas a 2486 e 1928 cm^{-1} bastante características aquando da formação do sintão ácido...nitrogénio aromático^[123]. Na mistura obtida por LAG é evidenciada apenas uma mistura física dos dois compostos puros, apresentando um soma perfeita dos espectros de IV dos compostos de partida.

Partindo duma primeira análise dos espectros de IV, é possível presumir que o alargamento de bandas possa ser devido à formação de um sistema co-amorfo. De forma a estudar essa possibilidade procedeu-se à caracterização por XRPD, Figura 3.25.

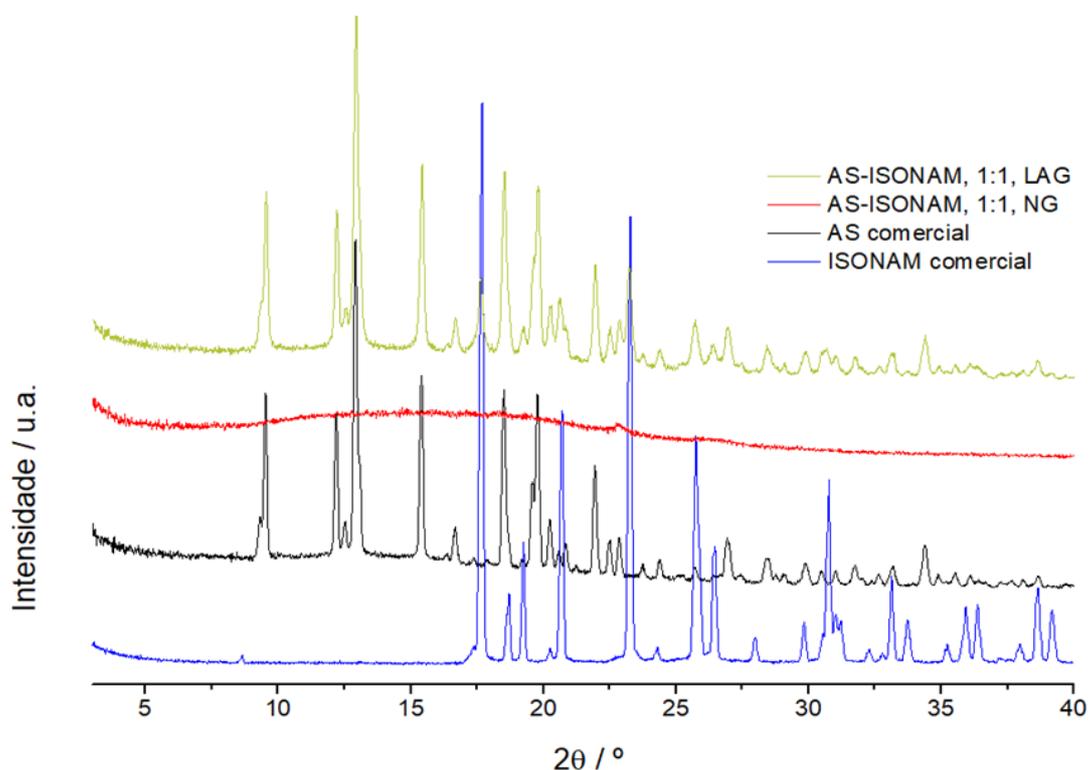


Figura 3.25. Difractogramas de raio-X de pó das misturas AS-ISONAM (1:1) obtidas por NG e LAG, do AS comercial e da ISONAM comercial.

Dos difractogramas de raio-X de pó das amostras confirma-se uma vez mais a mistura física da mistura AS-ISONAM obtida por LAG, uma vez que se observam as reflexões dos dois compostos puros. Para o sistema obtido por NG verifica-se que este não é completamente amorfo, apresentando reflexões de baixa intensidade ao longo do seu padrão de difração, em particular a $2\theta = 22,8^\circ$.

As curvas de DSC para a mistura AS-ISONAM obtida por NG e dos compostos puros são apresentadas na Figura 3.26. A curva de DSC da mistura obtida por LAG encontra-se apresentada no Anexo II na Figura A7.

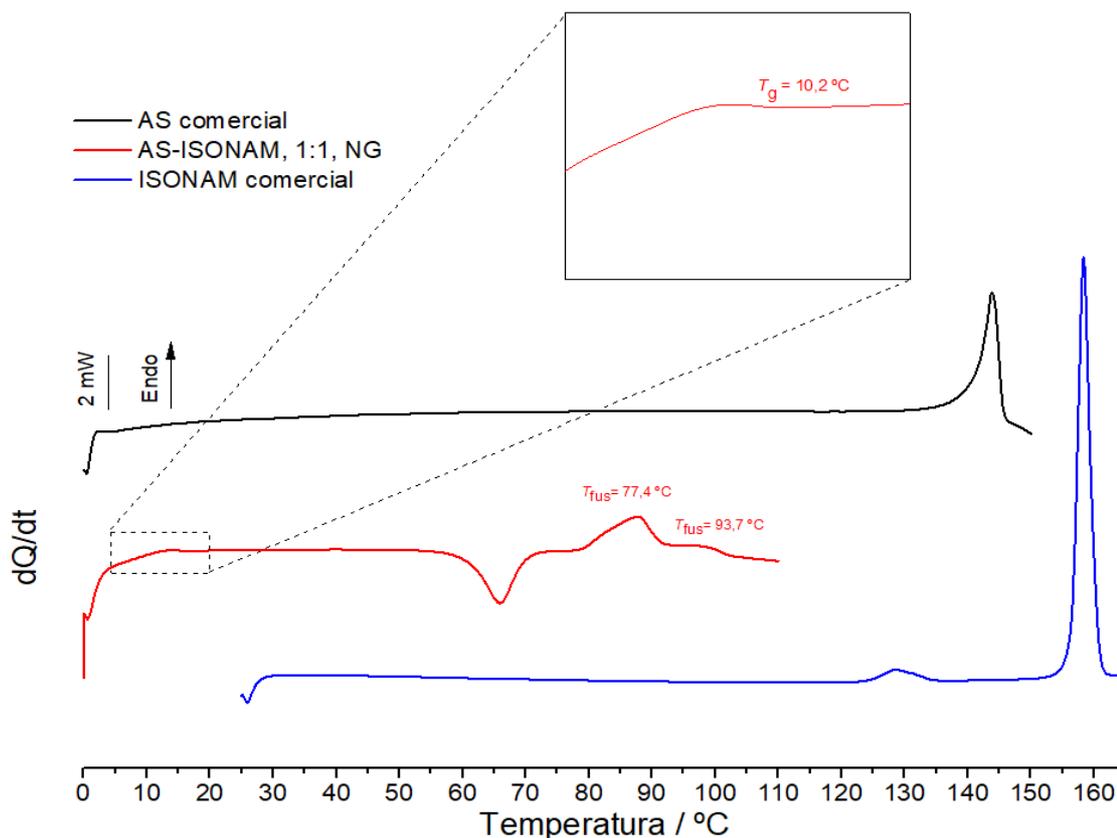


Figura 3.26. Curvas de DSC de aquecimento do AS comercial, $m = 1,77$ mg, da mistura AS-ISONAM (1:1) obtida por NG, $m = 1,78$ mg e da ISONAM comercial, $m = 2,10$ mg. ($\beta = 10$ °C/min.).

Na curva de DSC da mistura obtida por NG regista-se numa primeira etapa uma transição vítrea a $T_g = 10,2$ °C seguida por um processo de cristalização. Após o processo de cristalização observam-se dois picos endotérmicos onde o primeiro pico está associado à fusão do AS contaminado por ISONAM. O segundo pico endotérmico revela-se mais alargado, sendo que este alargamento pode ser justificado pela ISONAM, aquando da fusão, estar em contacto com a fase líquida constituída por AS contaminado pela ISONAM.

Nas condições aplicadas nesta primeira etapa de investigação do sistema AS-ISONAM foi possível verificar que existe interação entre as duas moléculas, formando um sistema semi-cristalino. Tendo a confirmação de que de facto existe interação entre o AS e a ISONAM num sistema semi-cristalino, procurou-se sintetizar um sistema co-amorfo. Para tal implementaram-se condições mais drásticas durante o processo de moagem, nomeadamente uma frequência de 30 Hz durante 30 minutos, NG.

Recorrendo ao processo de moagem criogénica, a uma frequência de 30 Hz por 30 minutos, NG, foi possível obter o espetro de IV apresentado na Figura 3.27.

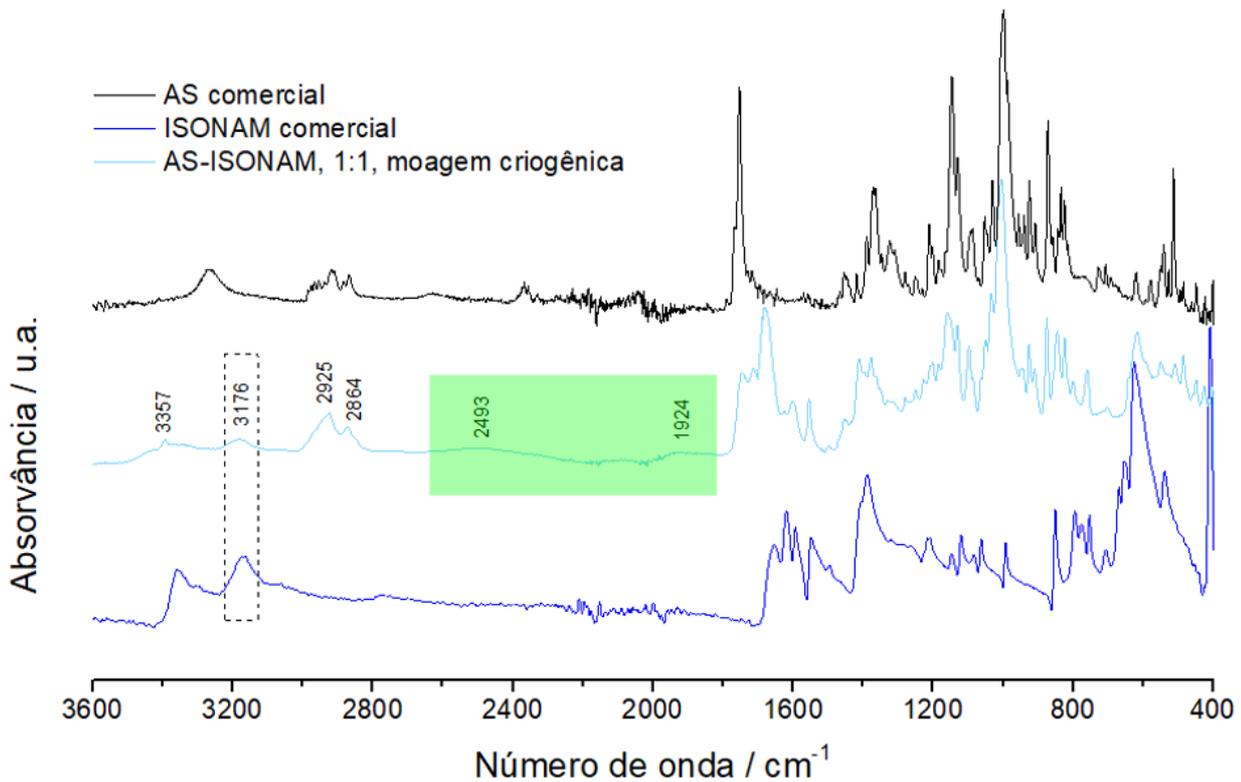


Figura 3.27. Espectros de IV do AS comercial, das misturas AS-ISONAM obtidas por moagem criogênica e da ISONAM comercial.

Tal como no sistema semi-cristalino obtido anteriormente, a mistura obtida por moagem criogênica apresenta um alargamento das bandas características de ISONAM e AS e ainda as duas bandas alargadas associadas à formação do sintão ácido...nitrogénio aromático^[123]. Verifica-se ainda que não ocorreu um desvio hiperocrómico associado à formação do sintão ácido...amida (evidenciado a tracejado), o que justifica assim, uma vez mais, a formação do sintão ácido...nitrogénio aromático^[122].

As curvas de DSC da mistura e dos respetivos compostos puros estão representadas na Figura 3.28.

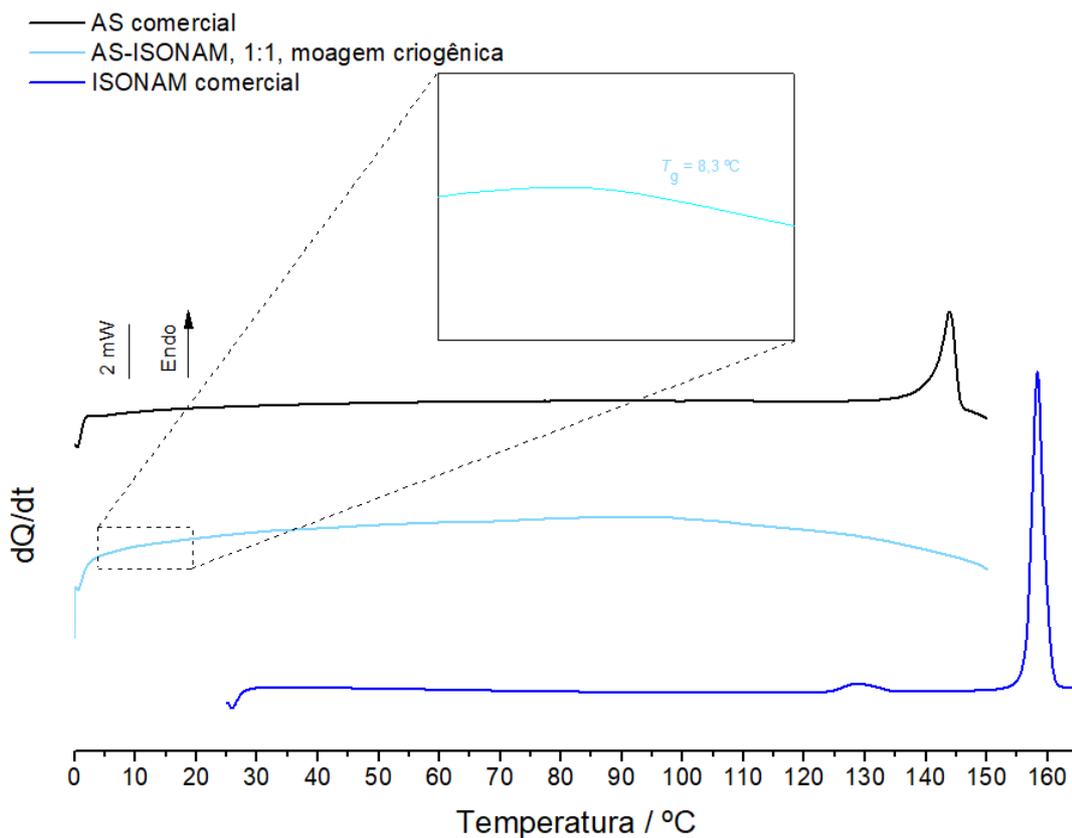


Figura 3.28. Curvas de DSC de aquecimento do AS comercial, $m = 1,77$ mg, da mistura AS-ISONAM (1:1) obtida por moagem criogênica, $m = 1,68$ mg, e da ISONAM comercial, $m = 2,10$ mg ($\beta = 10$ °C/min.).

Analisando os termogramas da mistura é possível verificar somente uma transição vítrea a $T_g = (8,3)^\circ\text{C}$. A observação apenas da temperatura de transição vítrea indica a formação de um novo sistema co-amorfo. A confirmação da formação do sistema co-amorfo é lograda pelo difractograma de raios-X de pó presente na Figura 3.29.

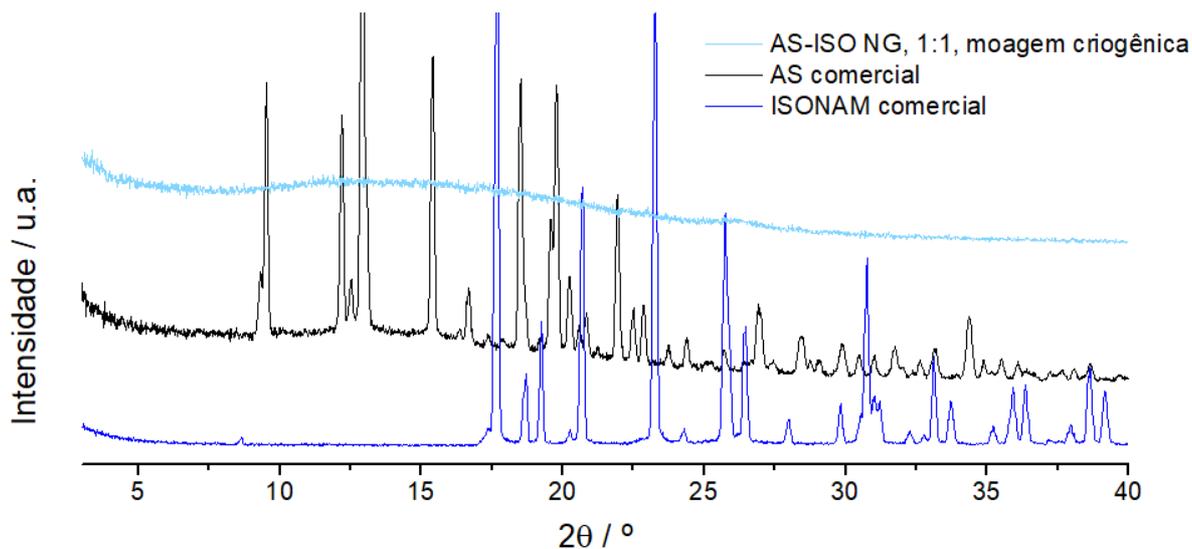


Figura 3.29. Difractogramas de raio-X pó das misturas AS-BIS (1:1) obtidas por moagem criogênica, do AS comercial e da ISONAM comercial.

Da análise do difractograma para a mistura AS-ISONAM (1:1) obtida por moagem criogênica verifica-se que os picos de difração característicos do AS e da ISONAM desaparecem nos padrões de XRPD, não se observando qualquer tipo de reflexão. Esta ausência de reflexões é justificada pela formação de um co-amorfo AS-ISONAM (1:1).

3.4.2.1 Teste de estabilidade

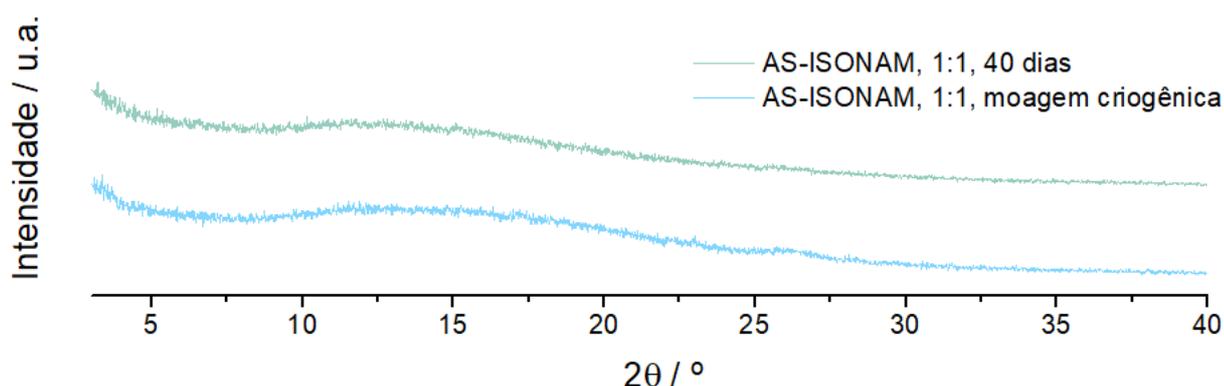


Figura 3.30. Diffractogramas de raios-X de pó do co-amorfo AS-ISONAM (1:1) após 40 dias à $T= 2^{\circ}\text{C}$.

Foram realizados os estudos de estabilidade do sistema co-amorfo AS-ISONAM (1:1) por um período de 40 dias. Devido à baixa T_g do co-amorfo, as respetivas amostras foram armazenadas em frascos rolhados à temperatura de 2°C . Os difractogramas de raios-X de pó foram efetuados de após os 40 dias onde se obtiveram os resultados apresentados na Figura 3.30.

Pela análise dos difractogramas, é possível verificar que após os 40 dias, nestas condições de armazenamento, o sistema permanece co-amorfo, não se verificando o aparecimento de qualquer reflexão.

3.5 Sistema artesunato + nicotinamida

3.5.1 Previsão computacional de interações intermoleculares entre o artesunato e a nicotinamida: Reações isodésmicas e ligações não-covalentes

Seguindo uma metodologia computacional idêntica à aplicada para o sistema AS-ISONAM, procedeu-se à construção de dois hipotéticos heterotetrámeros, sendo o ponto de interação uma ligação de hidrogénio entre o grupo -OH da molécula de AS e o nitrogénio do anel aromático na posição *meta* da molécula de NAM. Uma vez mais salientar que o local preferencial de ligação escolhido partiu da análise da superfície de Hirshfeld da molécula de AS (FAHFV01)^[41].

O processo de otimização dos homodímeros dos compostos puros e dos heterotetrámeros seguiu o mesmo princípio aplicado para os sistemas anteriores. Os respetivos resultados obtidos para as energias e outras propriedades termodinâmicas estão apresentadas na Tabela 3.4.

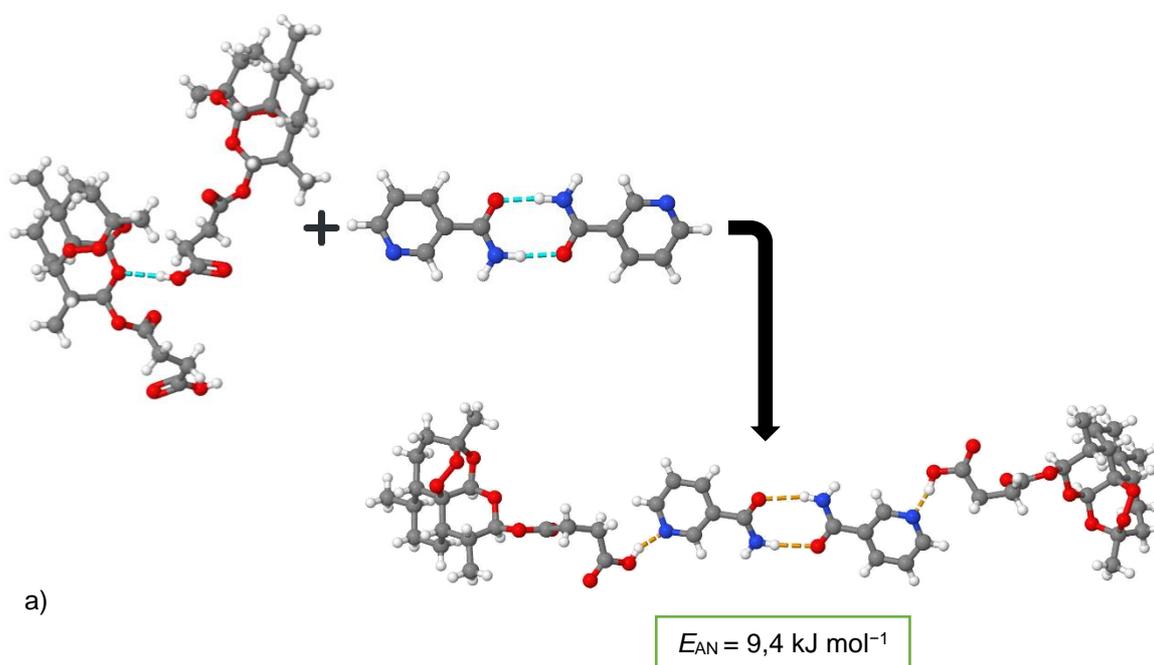
Tabela 3.4. B3LYP/def2svp Energias dos homodímeros de AS e NAM e energias dos heterotrímeros de AS-NAM linear e AS-NAM compacto^a.

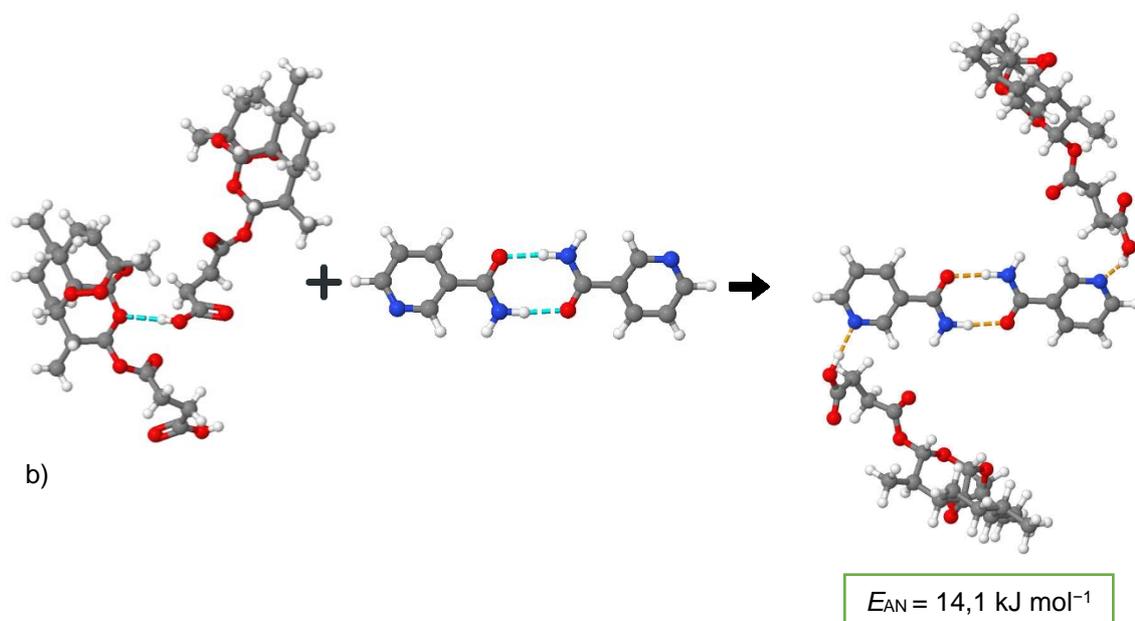
	E_{ele}/E_h	E_{zpe}/E_h	$H_{298\text{ K}}/(\text{kJ mol}^{-1})$	$S_{298\text{ K}}/(\text{J K}^{-1} \text{ mol}^{-1})$	$G_{298\text{ K}}/(\text{kJ mol}^{-1})$
AS-AS	-2683,3042	-2682,3731	-7042433	1224	-7042798
NAM-NAM	-833,4021	-833,1684	-2187439	565	-2187608
AS-NAM linear	-3516,7118	-3515,5466	-9229882	1726	-9230396
AS-NAM compacto	-3516,7089	-3515,5440	-9229874	1734	-9230391

^a E_{ele} : energia eletrônica; E_{zpe} : E_{ele} + energia vibracional do ponto zero; $H_{298\text{ K}}$: entalpia a 298 K; $S_{298\text{ K}}$: entropia a 298 K; $G_{298\text{ K}}$: energia de Gibbs a 298 K.

Partindo dos valores de energia eletrônica calculados computacionalmente é possível determinar, recorrendo à Equação 8, a energia de ligação para cada um dos heterotetrâmeros construídos e assim determinar se a sua associação para a formação de um forma sólida multicomponente é favorável. Os valores obtidos para cada um dos heterotetrâmeros estão apresentados no Esquema 4, assim como a representação esquemática dos homodímeros e dos heterotetrâmeros construídos.

Esquema 4. Reações isodésmicas para o cálculo da estabilidade relativa do heterotetrâmeros vs homodímeros: a) AS-NAM linear e b) AS-NAM compacto.





Verifica-se que, no heterotetrámero AS-NAM de geometria linear, o valor da energia de ligação é de $9,4 \text{ kJ mol}^{-1}$ e para o AS-NAM de geometria compacto, o valor da energia de ligação é de $14,1 \text{ kJ mol}^{-1}$. Para ambos os heterotetrámeros obteve-se um valor positivo de energia de interação, o que permite antever que não existirá qualquer associação entre a molécula de AS e a molécula de NAM, esperando-se obter apenas uma mistura física dos dois compostos.

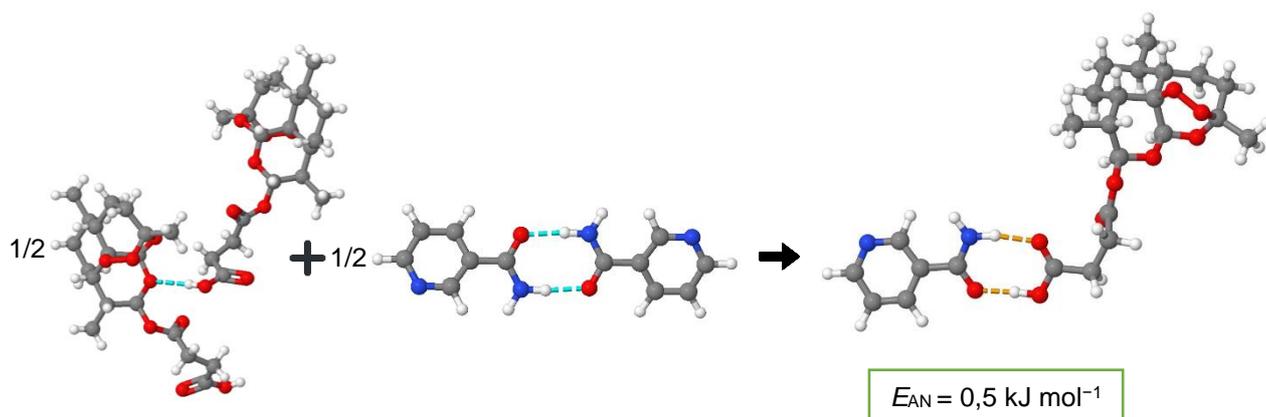
A par do sistema AS-ISONAM, a possibilidade da interação AS-NAM por intermédio do sintão ácido...amida pode ocorrer. Como tal procedeu-se à construção de um heterodímero de AS-NAM cuja interação ocorre segundo o sintão ácido...amida. A estrutura esquematizada e otimizada do heterodímero AS-NAM está representada no esquema 5. Os resultados obtidos para as energias e outras propriedades termodinâmicas estão expressos na Tabela 3.5.

Tabela 3.5. B3LYP/def2svp Energias dos homodímeros de AS e NAM e energias do heterodímero de AS-NAM^a.

	E_{ele}/E_h	E_{zpe}/E_h	$H_{298 K} /$ (kJ mol^{-1})	$S_{298 K} /$ ($\text{J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$)	$G_{298 K} /$ (kJ mol^{-1})
AS-AS	-2683,3042	-2682,3731	-7042433	1224	-7042798
NAM-NAM	-833,4021	-833,1684	-2187439	565	-2187608
AS-NAM	-1758,3490	-1757,7671	-4614961	928	-4615203

^a E_{ele} : energia eletrónica; E_{zpe} : E_{ele} + energia vibracional do ponto zero; $H_{298 K}$: entalpia a 298 K; $S_{298 K}$: entropia a 298 K; $G_{298 K}$: energia de Gibbs a 298 K.

Esquema 5. Reações isodésmicas para o cálculo da estabilidade relativa do heterodímero AS-NAM vs homodímero de AS e NAM.



De acordo com os valores obtidos após o cálculo computacional é possível determinar o valor da energia de interação entre as duas moléculas considerando o sintão ácido...amida. A energia de interação obtido para este sistema foi de $0,5 \text{ kJ mol}^{-1}$, o que permite uma vez mais prever uma não associação entre a molécula de AS e a molécula de NAM, embora o valor positivo obtido descreva-se por uma diferença de energia positiva muito pequena ($<10 \text{ kJ mol}^{-1}$)^[121]. Como os valores obtidos para os agregados foram positivos não se procedeu à sua caracterização das interações intermoleculares pelo programa NCI, uma vez que se espera que a sua associação não ocorra.

3.5.2 Investigação da formação de sólidos multicomponente artesunato-nicotinamida por mecanoquímica

O estudo da interação do AS com a NAM na proporção 1:1 foi executado por NG e por LAG (10 μ L de etanol), a uma frequência de 25 Hz por 30 minutos. Esta investigação revelou a existência de apenas uma mistura física, em concordância com a previsão computacional. Estes resultados foram confirmados com recurso às técnicas de XRPD, FTIR-ATR e DSC.

Na Figura 3.31 são apresentados os difractogramas de raios-X de pó das misturas sólidas AS-NAM 1:1 e dos respetivos compostos puros.

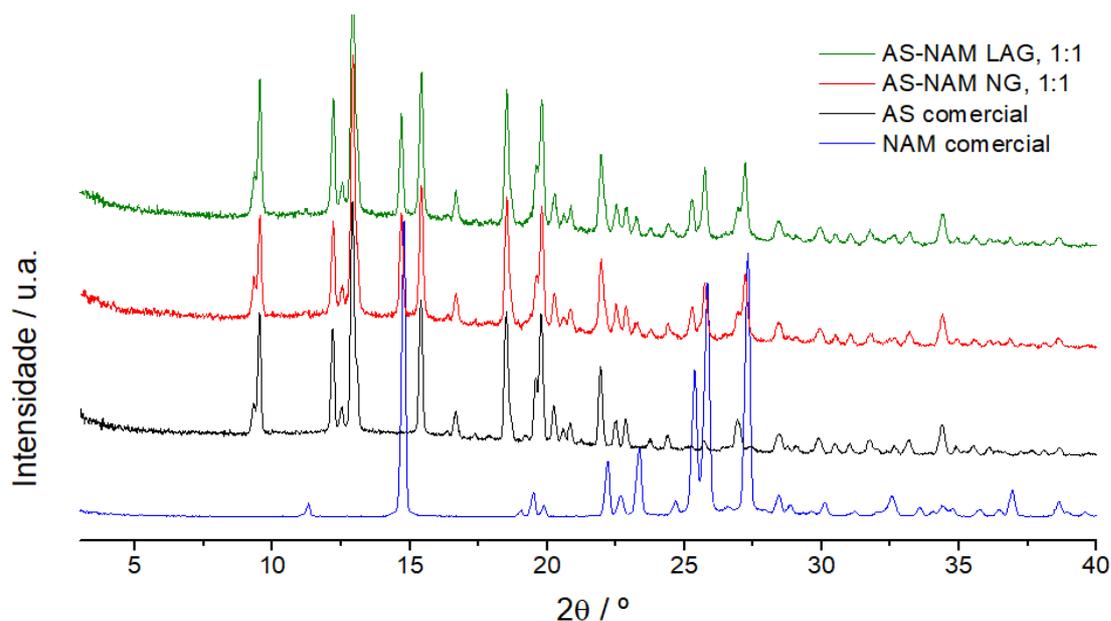


Figura 3.31. Difractogramas de raio-X de pó das misturas AS-NAM (1:1) obtidas por NG e LAG, do AS comercial e da NAM comercial.

Analisando as reflexões registadas para as misturas, comprava-se a não formação de um novo composto supramolecular, uma vez que o difractograma é apenas uma soma dos difractogramas dos compostos puros, não existindo novas reflexões associadas a novos planos cristalográficos.

Os espectros de IV obtidos para as misturas e para os componentes puros estão representados na Figura 3.32.

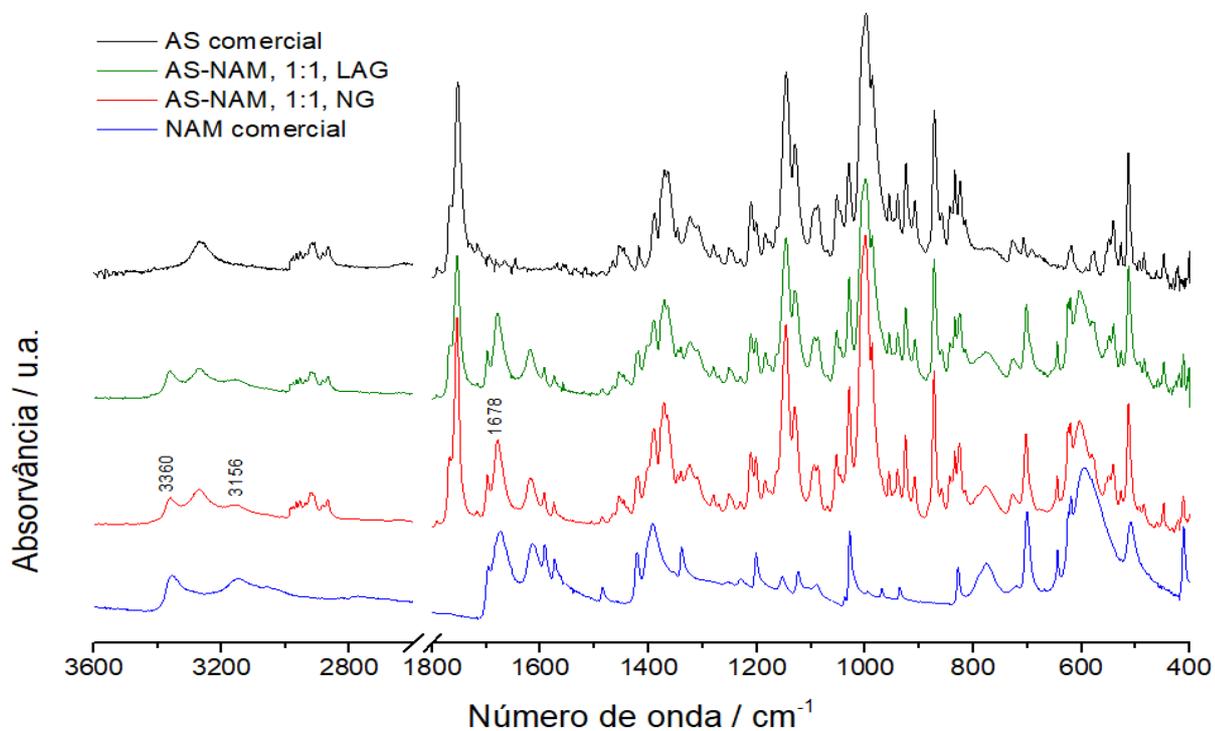


Figura 3.32. Espectros de IV do AS comercial, das misturas AS-NAM (1:1) obtidas por NG e LAG e da NAM comercial.

Analisando a Figura 3.32 é possível observar, quer no espectro do sistema AS-NAM NG quer por LAG, uma soma perfeita dos espectro de IV dos compostos puros, não se verificando novas bandas e nem desvios. No espectro das misturas físicas confirmam-se as bandas características da molécula de AS e as bandas características da NAM, nomeadamente as duas bandas na região dos 3360 cm^{-1} e 3156 cm^{-1} . Estas duas bandas são características das amidas primárias, sendo justificadas pela vibração por alongação simétrica e assimétrica da ligação N-H do grupo NH_2 ^[57]. Para além destas bandas também é possível confirmar a presença de uma outra banda típica da NAM associada à alongação do grupo C=O. Esta banda está presente nos dois espectros das misturas sólidas, na região dos 1678 cm^{-1} .

Na Figura 3.33 são apresentadas as curvas de DSC de aquecimento das misturas. Da análise dos termogramas é possível constatar 2 picos endotérmicos nos dois sistemas, um primeiro pico fino estreito associado à fusão da NAM contaminada por AS. O segundo pico endotérmico é algo arrastado, sendo que o este alargamento pode ser justificado pelo AS, aquando da fusão, estar em contacto com a fase líquida que fundiu anteriormente. Esta é observação é justificada considerando o diagrama de fases apresentado no Anexo III, Figura A8.

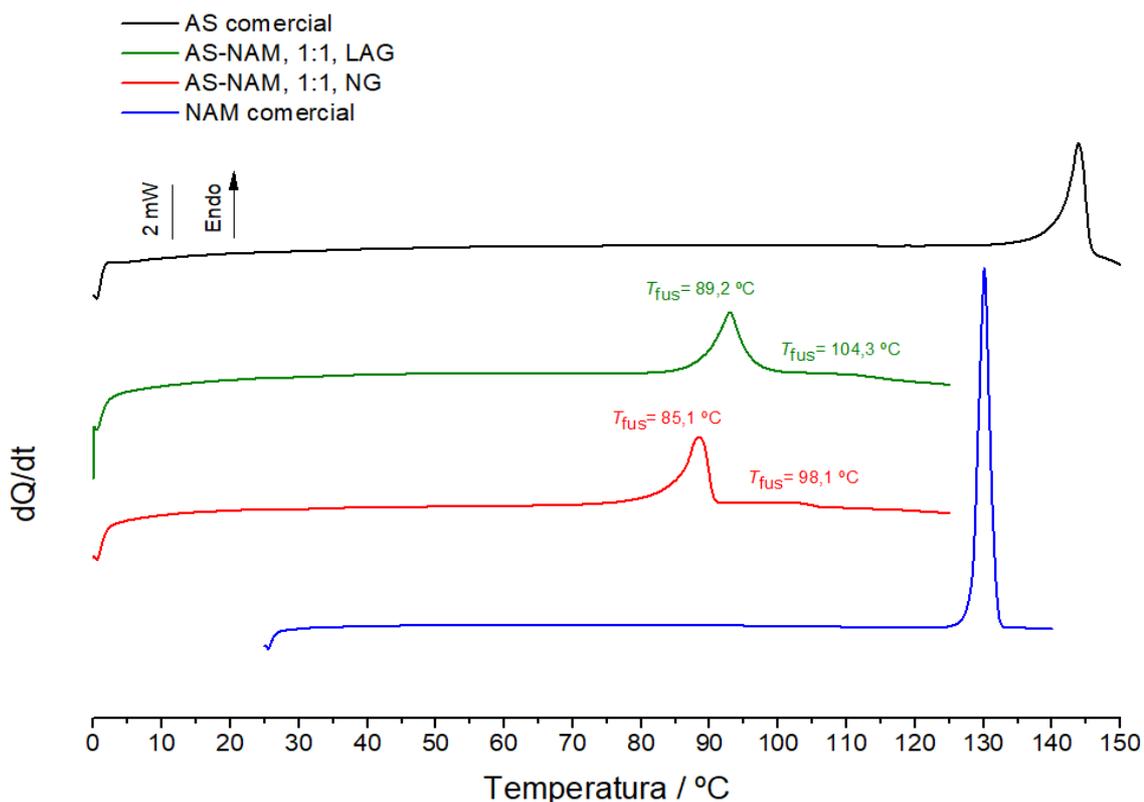


Figura 3.33. Curvas de DSC de aquecimento do AS comercial, $m = 1,77\text{ mg}$, da mistura AS-NAM (1:1) obtida por NG, $m = 1,53\text{ mg}$, e LAG, $m = 1,57\text{ mg}$, e da NAM comercial, $m = 2,24\text{ mg}$ ($\beta = 10\text{ °C/min.}$).

3.6 Sistema artesunato + benzamida

3.6.1 Investigação da formação de sólidos multicomponente artesunato-benzamida por mecanoquímica

A investigação do sistema AS-BEZ foi feita exclusivamente numa vertente experimental. O estudo deste sistema começou pela preparação das amostras numa proporção equimolar por NG e LAG (10 μ L de etanol) a 25Hz, por um período de 30 minutos. A tentativa de associação entre o composto AS e a BEZ não foi alcançada, obtendo-se apenas uma mistura física dos dois compostos. O difractograma das misturas obtidas está representado na Figura 3.34, onde é observável uma clara mistura dos dois compostos de partida, não existindo novas reflexões aliadas a novos planos cristalográficos.

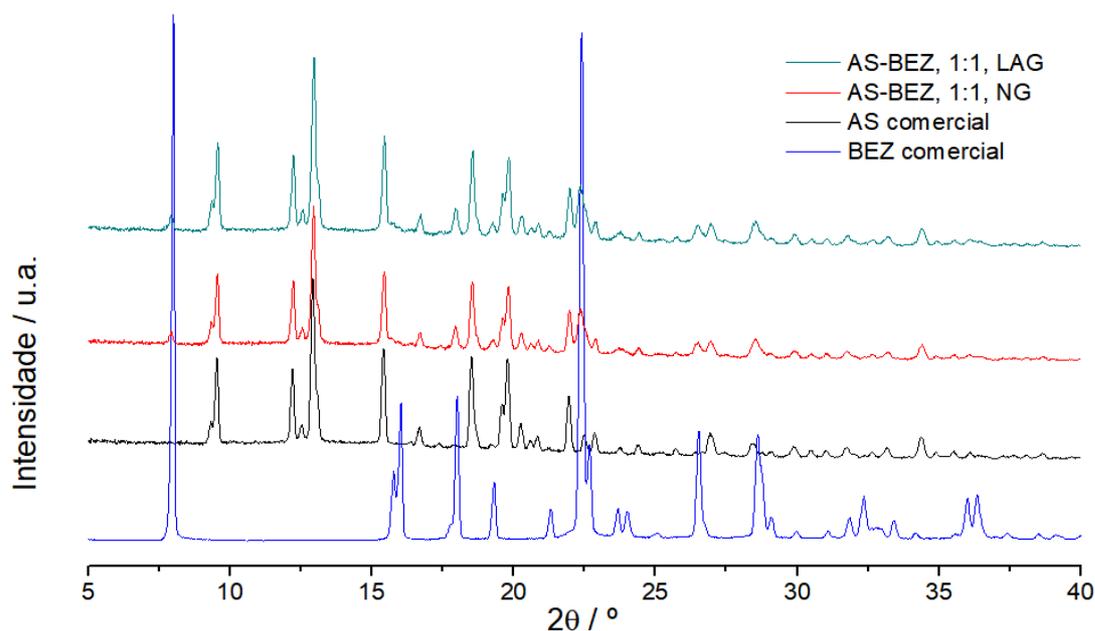


Figura 3.34. Difractogramas de raio-X de pó das misturas AS-BEZ (1:1) obtidas por NG e LAG, do AS comercial e da BEZ comercial.

Partindo da análise dos espectros de IV apresentados na Figura 3.35, comprovavam-se os resultados obtidos por XRPD, confirmando-se uma soma perfeita dos espectros de IV dos compostos puros. Verificam-se nos espectros de IV das misturas as bandas características da molécula de AS e as bandas características da molécula de BEZ, nomeadamente as duas bandas a 3367 e 3166 cm^{-1} correspondentes a vibrações por alongação simétrica e assimétrica da ligação N-H do grupo NH_2 . Verifica-se ainda a banda a 1659 cm^{-1} associada à vibração por alongação do grupo C=O da molécula de BEZ^[57].

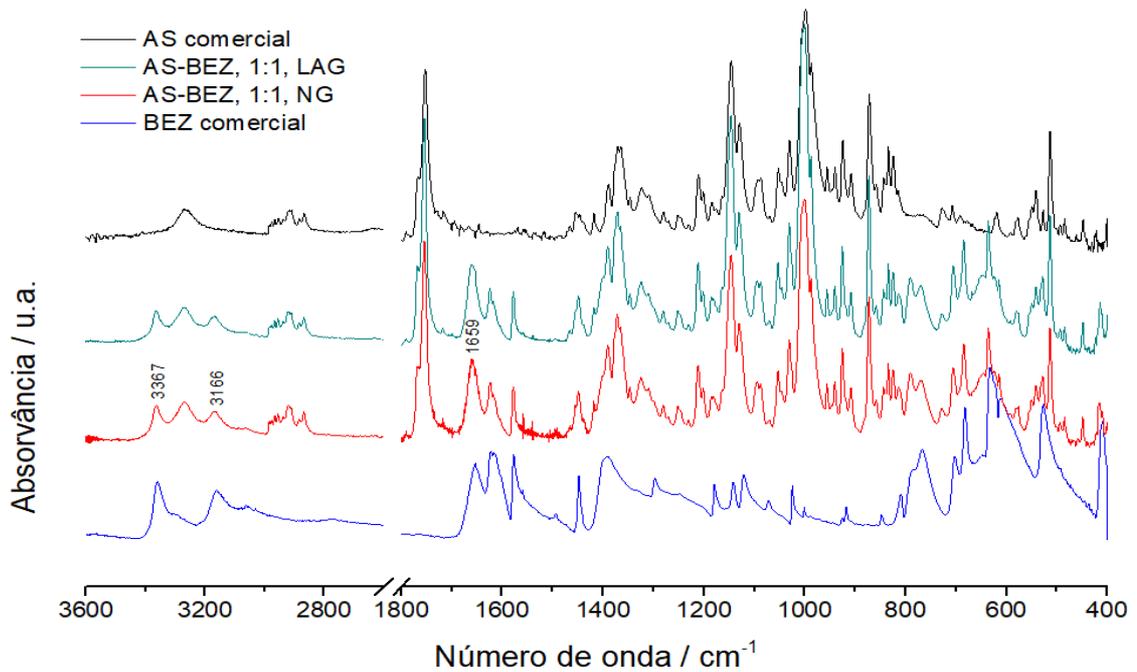


Figura 3.35. Espectros de IV do AS comercial, das misturas AS-BEZ (1:1) obtidas por NG e LAG e da BEZ comercial.

As curvas de DSC de aquecimento das misturas são apresentadas na Figura 3.36. O perfil das curvas das amostras obtidas por NG e por LAG é idêntico, observando-se 2 picos endotérmicos, similares às curvas de DSC obtidas para o sistema AS-NAM.

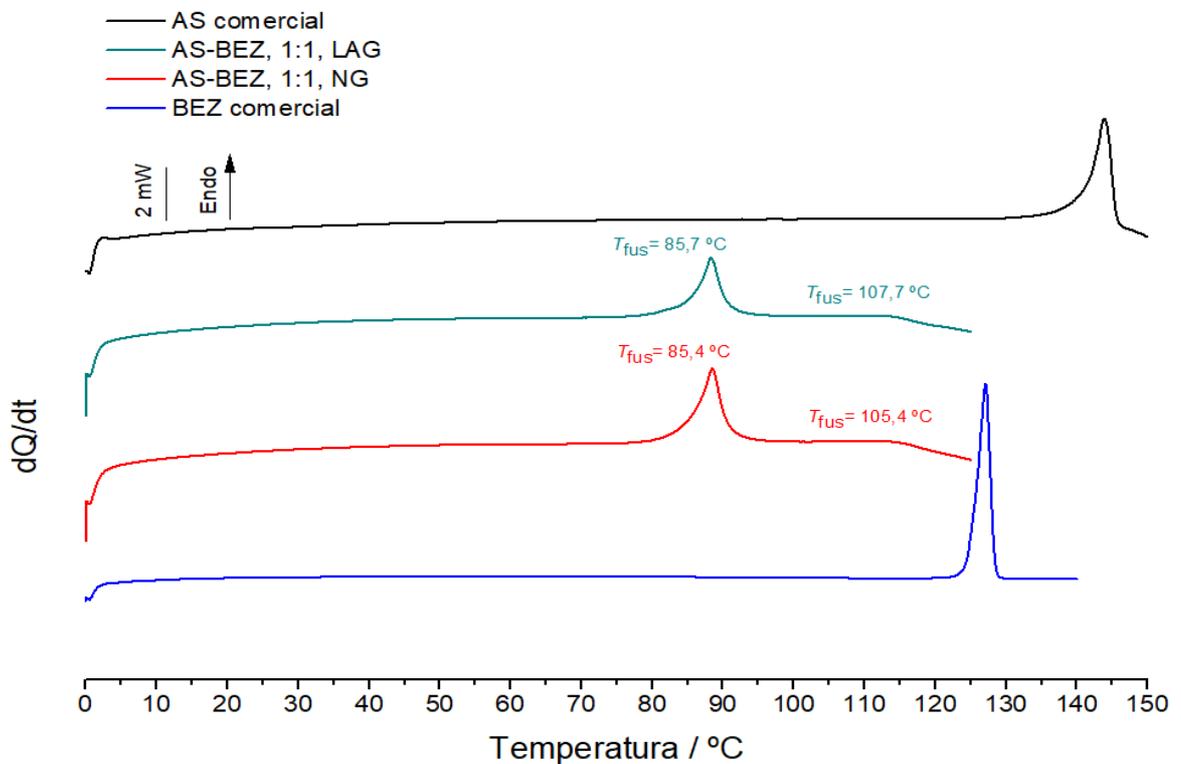


Figura 3.36. Curvas de DSC de aquecimento do AS comercial, $m=1,77$ mg, da mistura AS-BEZ (1:1) obtida por NG, $m=1,96$ mg, e LAG, $m=1,56$ mg, e da BEZ comercial, $m=1,42$ mg ($\beta = 10$ °C/min.).

A não associação da molécula de AS com a BEZ permite concluir que a sua interação pelo sintão ácido...amida não ocorre, justificando uma vez mais a formação do sintão ácido...nitrogénio aromático como a interação preferencial na formação de um sistema supramolecular no sistema AS-ISONAM.

3.7 Sistema artesunato e 1,2-bis(4-piridil)etano

3.7.1 Previsão computacional de interações intermoleculares entre o artesunato e o 1,2-bis(4-piridil)etano: Reações isodésmicas e ligações não-covalentes

A metodologia computacional aplicada para este sistema seguiu um princípio idêntico ao aplicado aos anteriores sistemas, onde numa primeira etapa se procurou construir agregados hipotéticos das moléculas de AS e BIS. A escolha do local preferencial de interação entre as duas moléculas foi escolhida partindo uma vez mais da superfície de Hirshfeld do AS (FAHFV01)^[41], onde se procurou estabelecer uma ligação de hidrogénio entre o grupo funcional -OH da molécula de AS e o nitrogénio do anel aromático da molécula de BIS. Devido aos dois nitrogénios presentes nos anéis aromáticos da molécula de BIS, procedeu-se à construção de um agregado com um molécula de BIS e duas moléculas de AS, formado assim um heterotrímero. O planeamento dos heterotrímeros é sempre hipotético, sendo que para este sistema são apresentados 2 heterotrímeros, um com uma geometria linear e outro com uma geometria mais compacta.

Delineados os homodímeros dos compostos puros e os heterotrímeros, procedeu-se em seguida à otimização das estruturas. Os resultados obtidos para as energias assim como para outras propriedades termodinâmicas estão apresentadas na Tabela 3.6.

Tabela 3.6. B3LYP/def2svp Energias dos homodímeros de AS e BIS e energias dos heterotrímeros de AS-BIS linear e AS-BIS compacto^a.

	E_{ele}/E_h	E_{zpe}/E_h	$H_{298\text{ K}} /$ (kJ mol ⁻¹)	$S_{298\text{ K}} /$ (J K ⁻¹ mol ⁻¹)	$G_{298\text{ K}} /$ (kJ mol ⁻¹)
AS-AS	-2683,3042	-2682,3731	-7042433	1224	-7042798
BIS-BIS	-1147,1816	-1146,7517	-3010732	765	-3010960
AS-BIS linear	-3256,9000	-3255,7539	-8547808	1631	-8548294
AS-BIS compacto	-3256,9053	-3255,7588	-8547821	1595	-8548297

^a E_{ele} : energia eletrónica; E_{zpe} : E_{ele} + energia vibracional do ponto zero; $H_{298\text{ K}}$: entalpia a 298 K; $S_{298\text{ K}}$: entropia a 298 K; $G_{298\text{ K}}$: energia de Gibbs a 298 K.

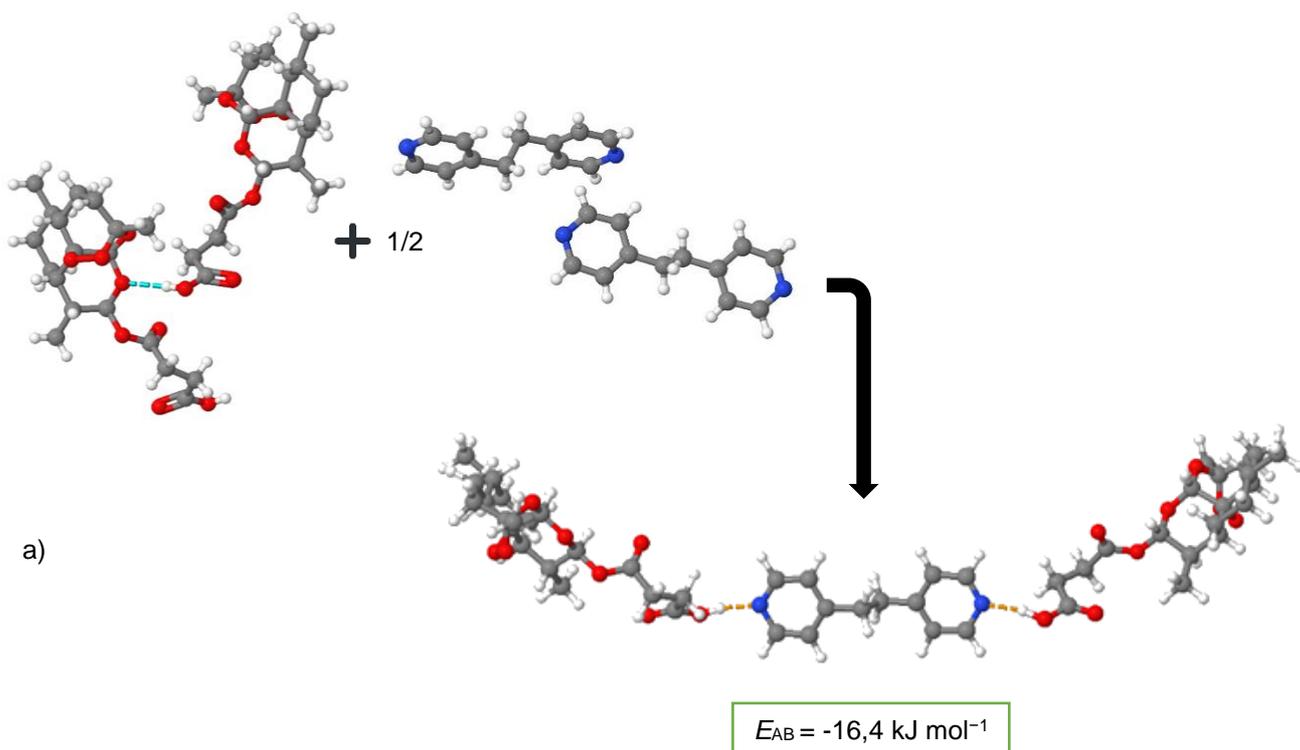
Tomando em consideração os valores obtidos de energia eletrônica foi possível verificar se a possibilidade de formação de um novo sistema supramolecular com as moléculas de AS e BIS é termodinamicamente favorável. Para confirmar a sua estabilidade termodinâmica foi necessário determinar o valor da energia de ligação dos heterotrímeros (ΔE_{AB}) que pode ser estabelecida partindo da Equação 7. Contudo, neste sistema estão a ser consideradas duas moléculas de AS e por isso não será necessário proceder à divisão por 2 do valor de energia do homodímero de AS. Atendendo a este fator, o valor da energia de ligação dos heterotrímeros estabelece-se segundo a Equação 9:

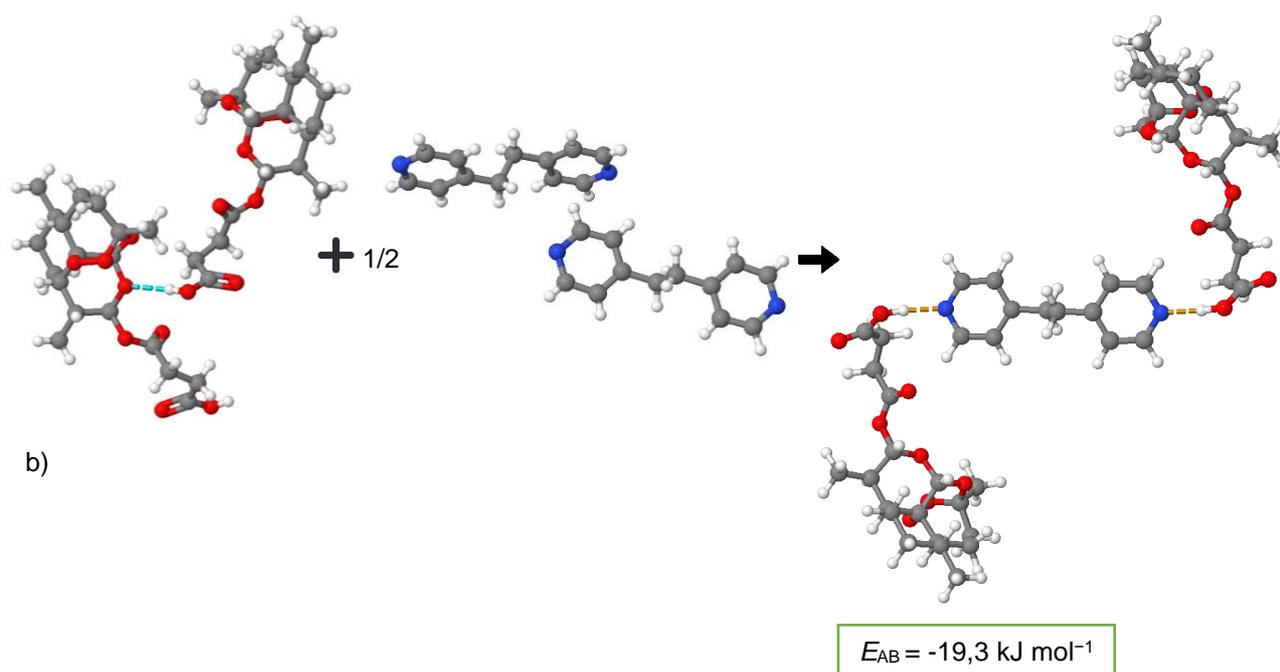
$$\Delta E_{AB} = E_{AB} - \left(E_{AA} + \frac{E_{BB}}{2} \right) \quad (9)$$

Onde o E_{AB} , o E_{AA} e o E_{BB} denotam, a energia do heterotrímero, a energia do homodímero do AS e a energia do homodímero do BIS, respetivamente.

Atendendo à resolução da Equação 9 foi possível calcular os valores de energia de ligação para os heterotrímeros considerados, sendo que esses mesmo valores são apresentados no Esquema 4, assim como a representação esquemática dos homodímeros e dos heterotetrámeros construídos.

Esquema 6. Reações isodésmicas para o cálculo da estabilidade relativa dos heterotrímeros vs homodímeros: AS-BIS linear e AS-BIS compacto.





O valor ΔE_{AB} obtido para o heterotrímero AS-BIS de geometria linear foi de $-16,4 \text{ kJ mol}^{-1}$ e o valor de ΔE_{AB} para o heterotrímero AS-BIS de geometria compacta foi de $-19,3 \text{ kJ mol}^{-1}$. Para ambos os heterotrímeros obteve-se um valor negativo de energia de liga o o que permite concluir que a sua jun o, segundo a estrutura dos heterotrímeros construídos,   favorável. De forma a verificar se este valor de energia de liga o seria suficiente para justificar a forma o de um co-cristal AS-BIS, procedeu-se   sua compara o com um heterotrímero de AS-4,4bipiridil, cuja evidência de forma o de co-cristal já foi investigada^[42].

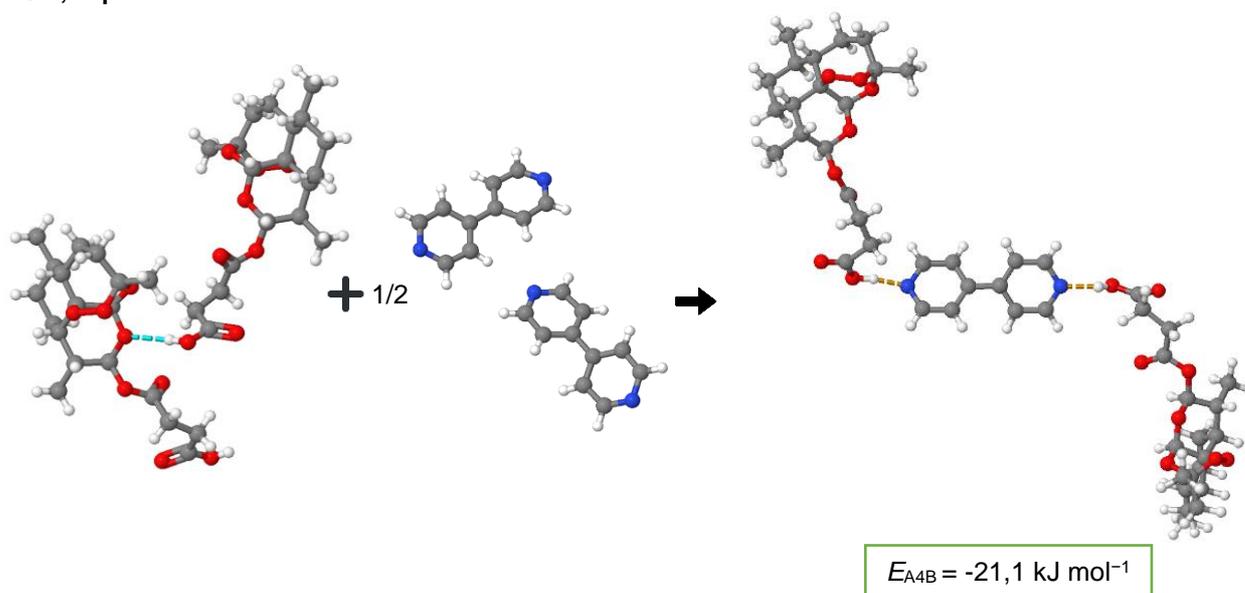
A constru o do heterotrímero de AS-4,4bipiridil teve por base a mesma motiva o dos heterotrímeros AS-BIS. A estruturas otimizada deste heterotrímero assim como a os valores obtidos para as energias e outras propriedades termodinâmicas estão expressos no Esquema 7 e Tabela 3.7, respetivamente.

Tabela 3.7. B3LYP/def2svp Energias dos homodímeros de AS e 4,4bipiridil e energia do heterotrímero de AS-4,4bipiridil^a.

	E_{ele}/E_h	E_{zpe}/E_h	$H_{298 \text{ K}} /$ (kJ mol^{-1})	$S_{298 \text{ K}} /$ ($\text{J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$)	$G_{298 \text{ K}} /$ (kJ mol^{-1})
AS-AS	-2683,3042	-2682,3731	-7042433	1224	-7042798
4,4bipiridil	-990,0447	-989,7277	-2598475	679	-2598678
AS-4,4bipiridil	-3178,3312	-3177,2416	-8341681	1540	-8352158

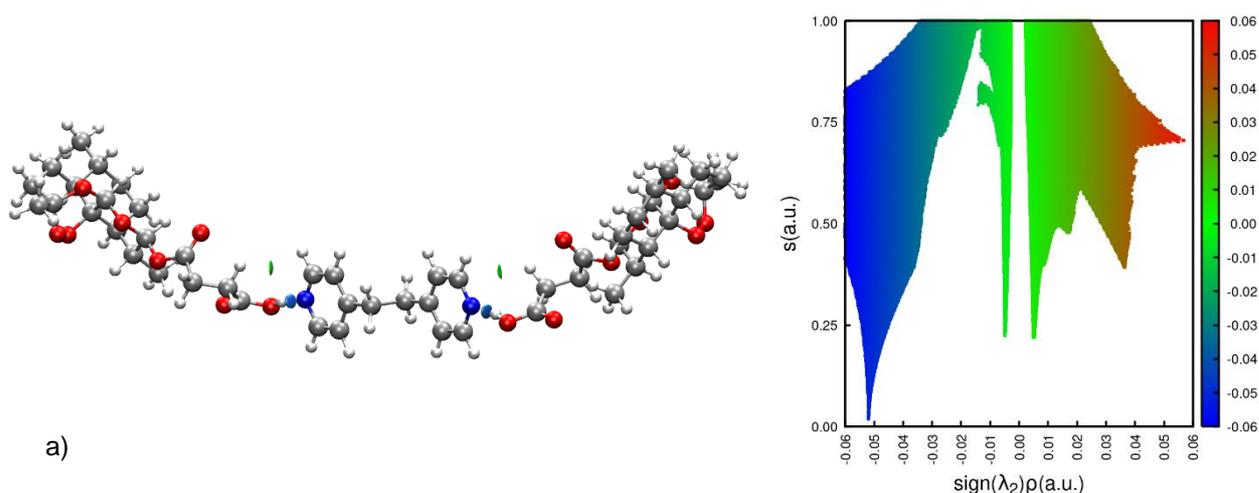
^a E_{ele} : energia eletr nica; E_{zpe} : E_{ele} + energia vibracional do ponto zero; $H_{298 \text{ K}}$: entalpia a 298 K; $S_{298 \text{ K}}$: entropia a 298 K; $G_{298 \text{ K}}$: energia de Gibbs a 298 K.

Esquema 7. Reações isodésmicas para o cálculo da estabilidade relativa do heterotrímero vs homodímeros: AS-4,4bipiridil.



Considerando uma vez mais os valores obtidos para a energia de Gibbs a 298 K foi possível determinar o valor de energia de ligação do heterotrímero AS-4,4bipiridil. O valor obtido para a energia de ligação para o heterotrímero considerado foi de $-21,1 \text{ kJ mol}^{-1}$. Comparando o valor de energia de ligação obtido para os 2 sistemas é possível aferir que os valores são similares, o que permite prever teoricamente que a associação do composto AS com o BIS poderá formar um co-cristal.

O estudo dos diferentes tipos de interações presentes nos heterotrímeros de AS-BIS está presente na Figura 3.37. Uma vez mais salientar que neste trabalho o foco está no estudo das interações intermoleculares, sendo que as interações intramoleculares foram previamente filtradas das análises NCI.



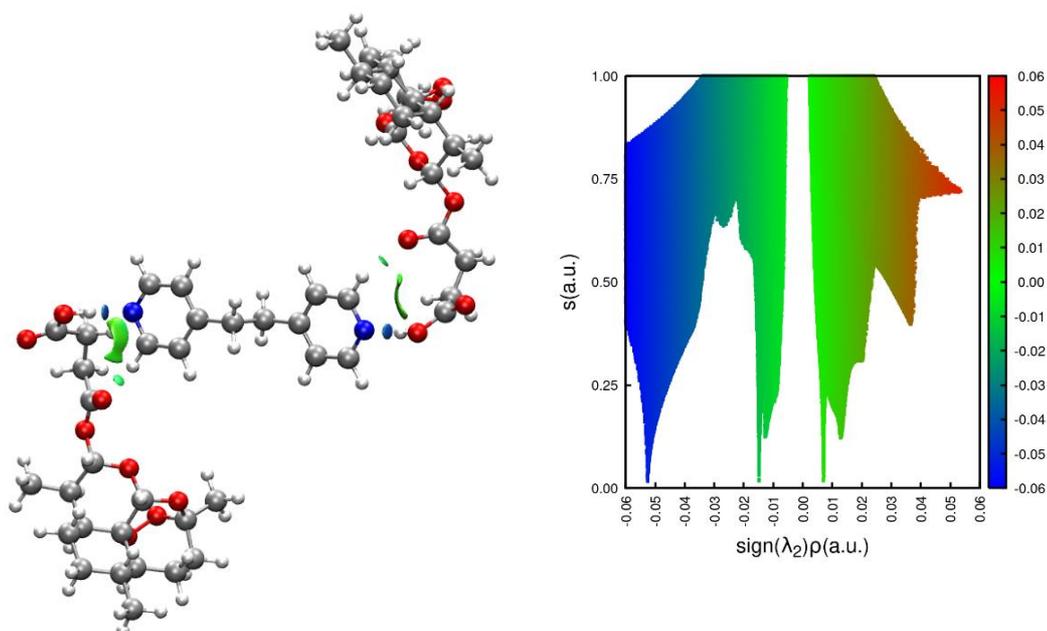


Figura 3.37. Representação dos heterotrimeros AS-BIS evidenciando as diferentes interações intermoleculares e os respectivos gráficos NCI: a) Heterotrimerio AS-BIS linear; b) Heterotrimerio AS-BIS compacto.

Partindo da análise da representação dos heterotrimeros presentes na Figura 3.37 é possível aferir as ligações de hidrogénio a cor azul e as interações de van der Waals a cor verde. Pormenorizado as interações de van der Waals, verifica-se que esta denota uma maior contribuição no heterotrimerio com uma geometria compacta do que no heterotrimerio com uma geometria mais linear. Esta maior contribuição é confirmada na representação dos dois heterotrimeros e na comparação dos gráficos NCI, onde fica evidente uma maior predominância da superfície de cor verde no heterotrimerio com uma geometria mais compacta. No entanto, nos dois heterotrimeros, as interações de van der Waals são auxiliadas por uma forte ligação de hidrogénio entre o grupo ácido da molécula de AS e do nitrogénio do anel aromático da molécula de BIS ($\rho \approx 0,052$).

3.7.2 Investigação da formação de sólidos multicomponente artesunato-1,2-bis(4-pitidil)etano por cristalização em solução

Como referido na secção anterior, o estudo da interação do AS com o BIS teve como base a investigação já realizada do AS-4,4bipiridil na proporção 2:1, na qual se obteve a formação de um co-cristal^[42]. Seguindo o protocolo aplicado para o sistema AS-4,4bipiridil, procedeu-se ao estudo da possibilidade de formação de uma nova forma sólida por cristalização em éter etílico^[42]. Preparou-se uma solução na proporção de 2:1 AS-BIS em éter etílico, como descrito na secção 2.2.1.2, tendo a solução permanecido em agitação por um período de 24H, sendo posteriormente o solvente evaporado à temperatura ambiente. Numa primeira etapa, o composto foi analisado por FTIR, Figura 3.38.

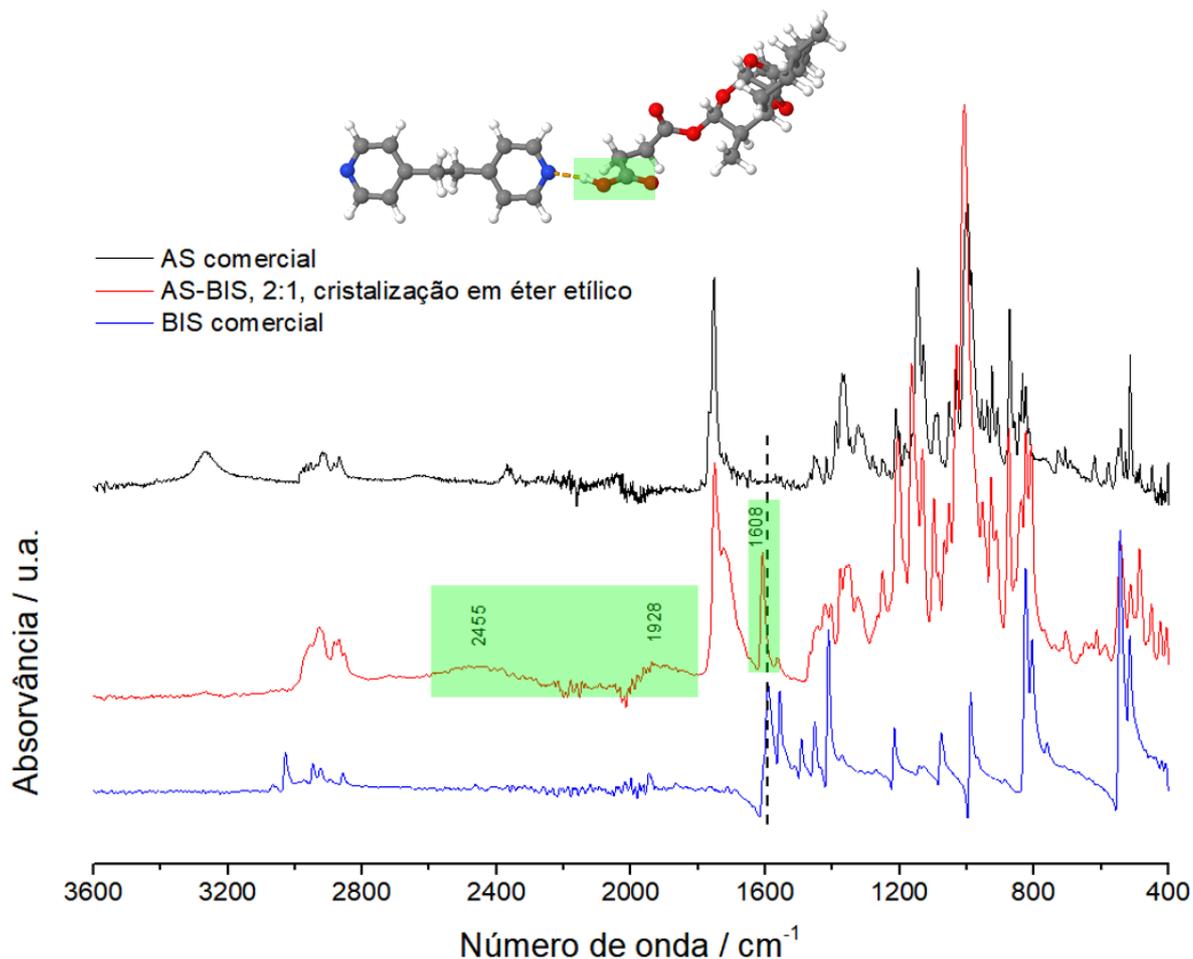


Figura 3.38. Espectros de IV da mistura AS-BIS (2:1), do AS comercial e da BIS comercial. É evidenciado a tracejado o desvio visualizado da vibração por elongação do anel aromático da molécula de BIS.

É evidenciado nos espectros de IV da mistura sólida a presença de duas bandas a 2455 e 1928 cm^{-1} . Estas duas bandas são bastante características aquando da formação do sintão ácido...nitrogénio aromático^[123], confirmando a formação de uma ligação de hidrogénio entre o grupo -OH da molécula de AS e os nitrogénios dos anéis aromáticos da molécula de BIS. É evidenciado ainda no espectro de IV um desvio no sinal da elongação do anel aromático, de 1589 cm^{-1} para 1608 cm^{-1} . O desvio nesta banda é uma confirmação adicional da formação da ligação de hidrogénio entre o grupo ácido de AS e o nitrogénio da molécula de BIS^[123].

Visando uma caracterização mais completa do sistema AS-BIS 2:1, procedeu-se à sua análise por XRPD. Os difractogramas de raio-X de pó para este sistema, Figura 3.39, corroboram com a formação de um novo arranjo cristalino, verificando-se a presença de uma série de reflexões que não existem nos difractogramas dos compostos puros. Todas estas evidências estão de acordo com a formação de um co-cristal AS-BIS na proporção 2:1.

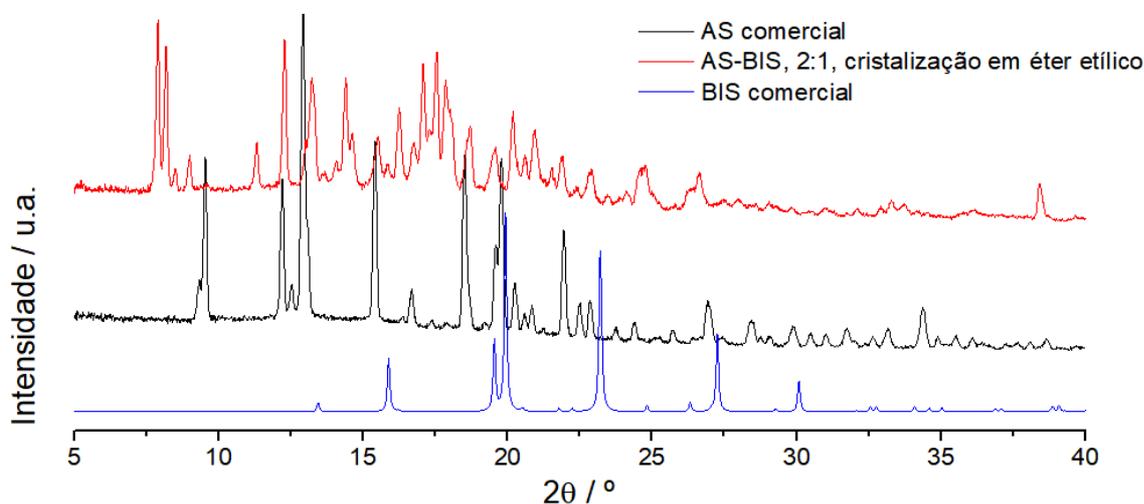


Figura 3.39. Difractogramas de raio-X da mistura AS-BIS (2:1), do AS comercial e da BIS comercial.

De forma a completar a caracterização deste sistema, foi também realizado o estudo por DSC, apresentado na Figura 3.40. Todos os parâmetros termodinâmicos obtidos para os 3 termogramas encontram-se resumidos na Tabela 4.

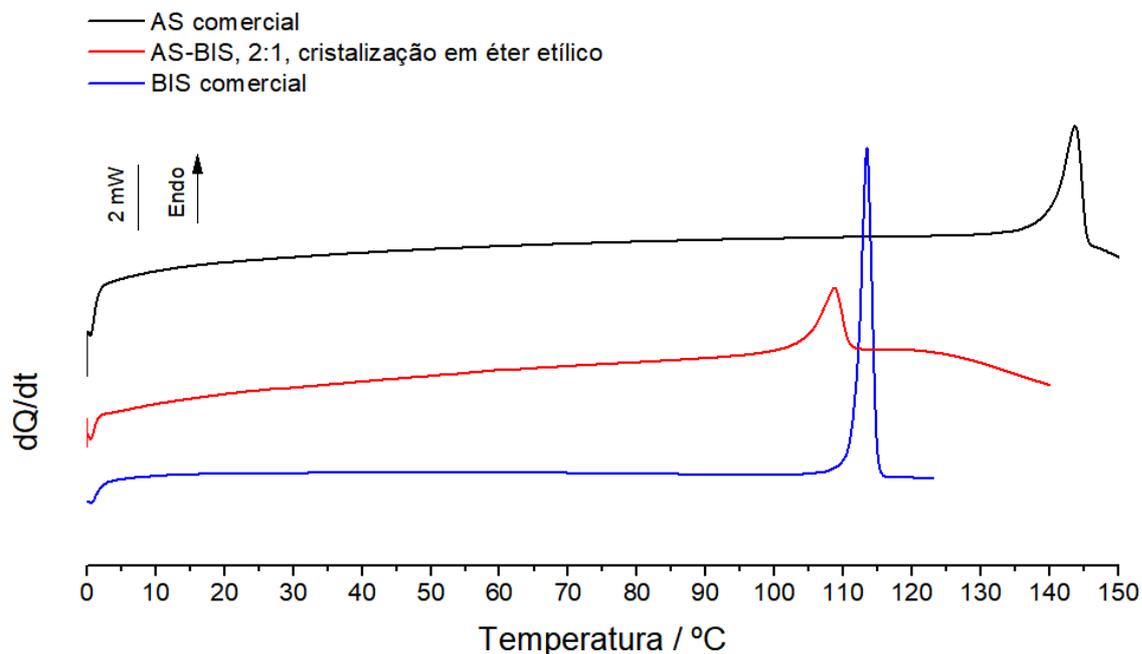


Figura 3.40. Curvas de DSC de aquecimento do AS comercial, $m= 1,77$ mg, da mistura AS-BIS (2:1) obtida por cristalização em éter etílico, $m= 1,10$ mg, e do BIS comercial, $m= 2,39$ mg ($\beta = 10$ °C/min.).

Tabela 3.8. Parâmetros termodinâmicos obtidos a partir dos termogramas do AS comercial, do co-cristal AS-BIS (2:1) e do BIS comercial.

	$T_{fus} / ^\circ\text{C}$	$\Delta H_{fus} / \text{kJ mol}^{-1}$
AS comercial	$140,5 \pm 0,8$	$38,1 \pm 0,7$
AS-BIS 3:1 cristalização em éter	$104,7 \pm 0,5$	$28,5 \pm 0,3$
BIS comercial	$111,7 \pm 0,2$	$25,9 \pm 0,3$

Analisando os termogramas é possível verificar que o sistema AS-BIS 2:1 apresenta um único pico endotérmico, associado à fusão do co-cristal. Contudo, observa-se que a sua temperatura de fusão é mais baixa que a dos compostos puros, o que apesar de ser frequente, já foi observado e investigado para outros co-cristais^[124, 125].

3.7.3 Investigação da formação do co-cristal artesonato-1,2 bis(4-pitidil)etano na proporção 2:1 por mecanoquímica

Comprovada a formação de um co-cristal AS-BIS na proporção 2:1 seguindo o protocolo já definido, procurou-se estudar a possibilidade da formação do co-cristal recorrendo à mecanoquímica. Procedeu-se à preparação da mistura de AS com o BIS, na proporção 2:1 por NG e LAG, 10 μL de etanol, a uma frequência de 25 Hz por um período de 30 minutos. As amostras obtidas foram primeiramente analisadas e caracterizadas por FTIR-ATR, obtendo-se os espectros apresentados na Figura 3. 41, não se verificando qualquer diferença entre eles.

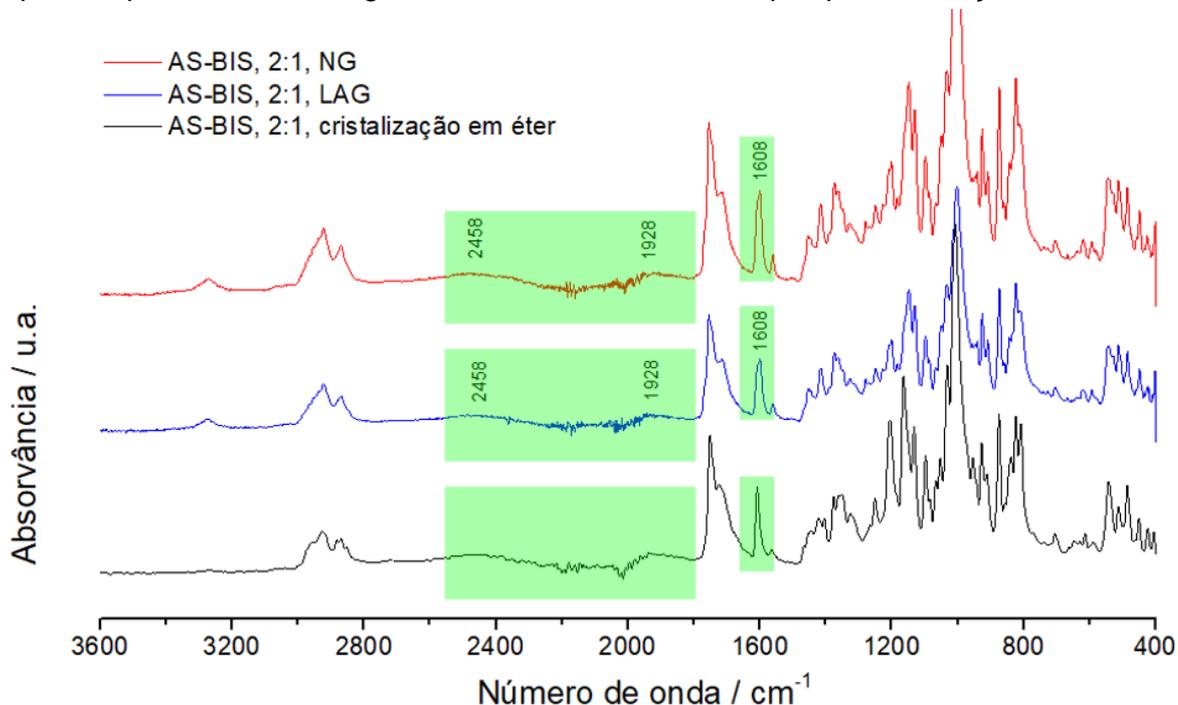


Figura 3.41. Espectros de IV da mistura AS-BIS (2:1) obtida por NG e por LAG e do co-cristal obtido por cristalização em éter etílico.

Na Figura 3.42 estão representados os difractogramas de raios-X de pó das amostras obtidas por mecanoquímica e da resultante da cristalização em éter etílico. Comparando os 3 difractogramas verifica-se que o padrão de difração das amostras submetidas a NG e LAG são idênticas ao padrão de difração do co-cristal. A presença de reflexões nos mesmos locais possibilita afirmar que a rede cristalina das 3 amostras é similar, tratando-se do mesmo co-cristal, obtido por metodologias dispares.

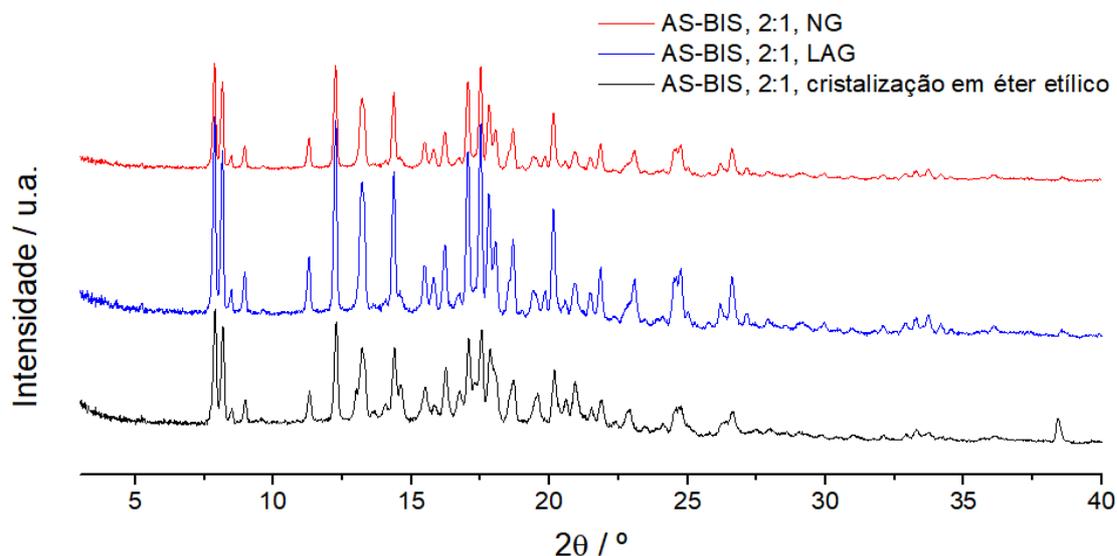


Figura 3.42. Difractogramas de raios-X de pó da mistura AS-BIS (2:1) obtida por NG e por LAG e do co-cristal obtido por cristalização em éter etílico.

As curvas de DSC de aquecimento obtidas para as misturas estão apresentadas na Figura 3.43.

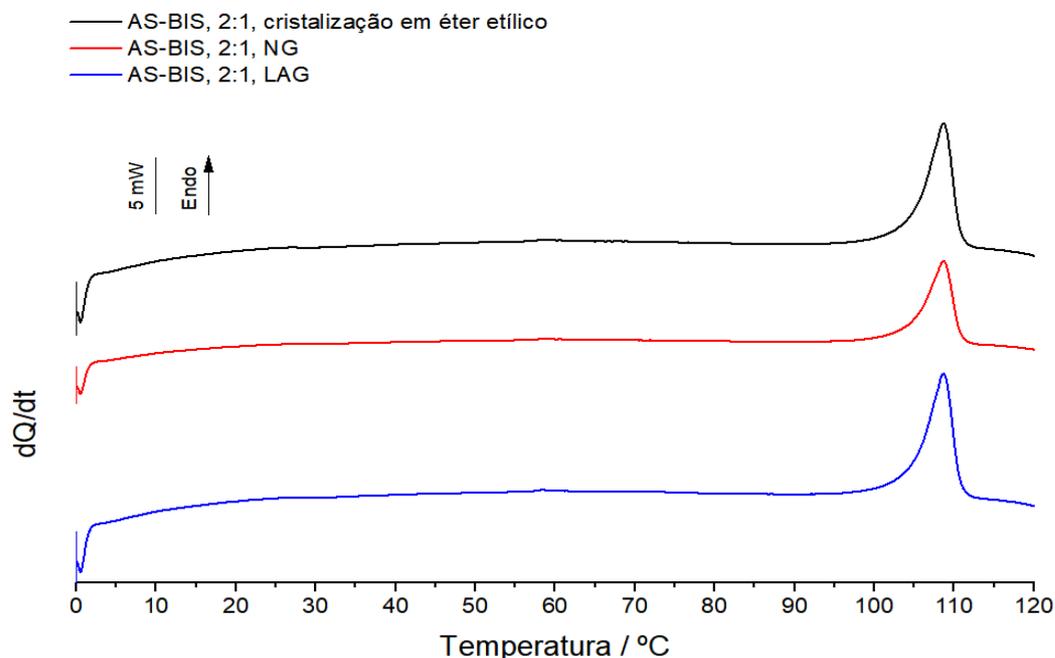


Figura 3.43. Curvas de DSC de aquecimento do co-cristal AS-BIS (2:1) cristalizado em éter etílico, $m = 1,10$ mg, e dos co-cristais obtidos por NG, $m = 1,30$ mg, e LAG, $m = 1,72$ mg ($\beta = 10$ °C/min.).

Da análise dos termogramas é possível concluir que as amostras obtidas por NG e LAG têm o mesmo comportamento térmico que o co-cristal AS-BIS obtido por cristalização em éter etílico. O co-cristal obtido por NG apresenta uma $T_{fus} = 104,2$ °C e uma $\Delta H_{fus} = 26,3$ kJ mol⁻¹ e o co-cristal por LAG caracteriza-se por uma $T_{fus} = 105,4$ °C e uma $\Delta H_{fus} = 29,70$ kJ mol⁻¹.

Em material suplementar, Figura A9 do Anexo IV, encontram-se curvas de DSC de aquecimento obtidas para misturas AS-BIS noutras proporções molares. Como se verifica, a temperatura de fusão do co-cristal é superior à do início do processo de fusão de qualquer uma dessas misturas, como se espera para um co-cristal com fusão congruente.

3.8 Sistema artesunato + pirazina

3.8.1 Previsão computacional de interações intermoleculares entre o artesunato e pirazina: Reações isodésmicas e ligações não-covalentes

Atendendo e seguindo a estratégia computacional aplicada para o sistema AS-BIS, procedeu-se ao estudo computacional do sistema AS com o co-formador a PYZ. A construção dos agregados teve em conta a possibilidade de interação do grupo -OH da molécula de AS com os nitrogénios aromáticos da molécula de PYZ. Denota-se que os dois nitrogénios presentes na molécula de PYZ permitem antever uma dupla associação com duas moléculas de AS, o que possibilita idealizar a formação de um heterotrímero. Indo ao encontro da formação de heterodímeros procedeu-se à sua construção considerando o heterosintão ácido...nitrogénio aromático. Como no sistema AS-BIS, realizaram-se 2 heterotrímeros, um com uma geometria linear e um segundo com uma geometria mais compacta.

Os valores obtidos para a otimização dos agregados considerados neste sistema estão apresentados na Tabela 3.9. Na tabela estão ainda representados os valores para as energias e outras propriedades termodinâmicas para cada um dos agregados.

Tabela 3.9. B3LYP/def2svp Energias dos homodímeros de AS e PYZ e energias dos heterotrímeros de AS-PYZ linear e AS-PYZ compacto^a.

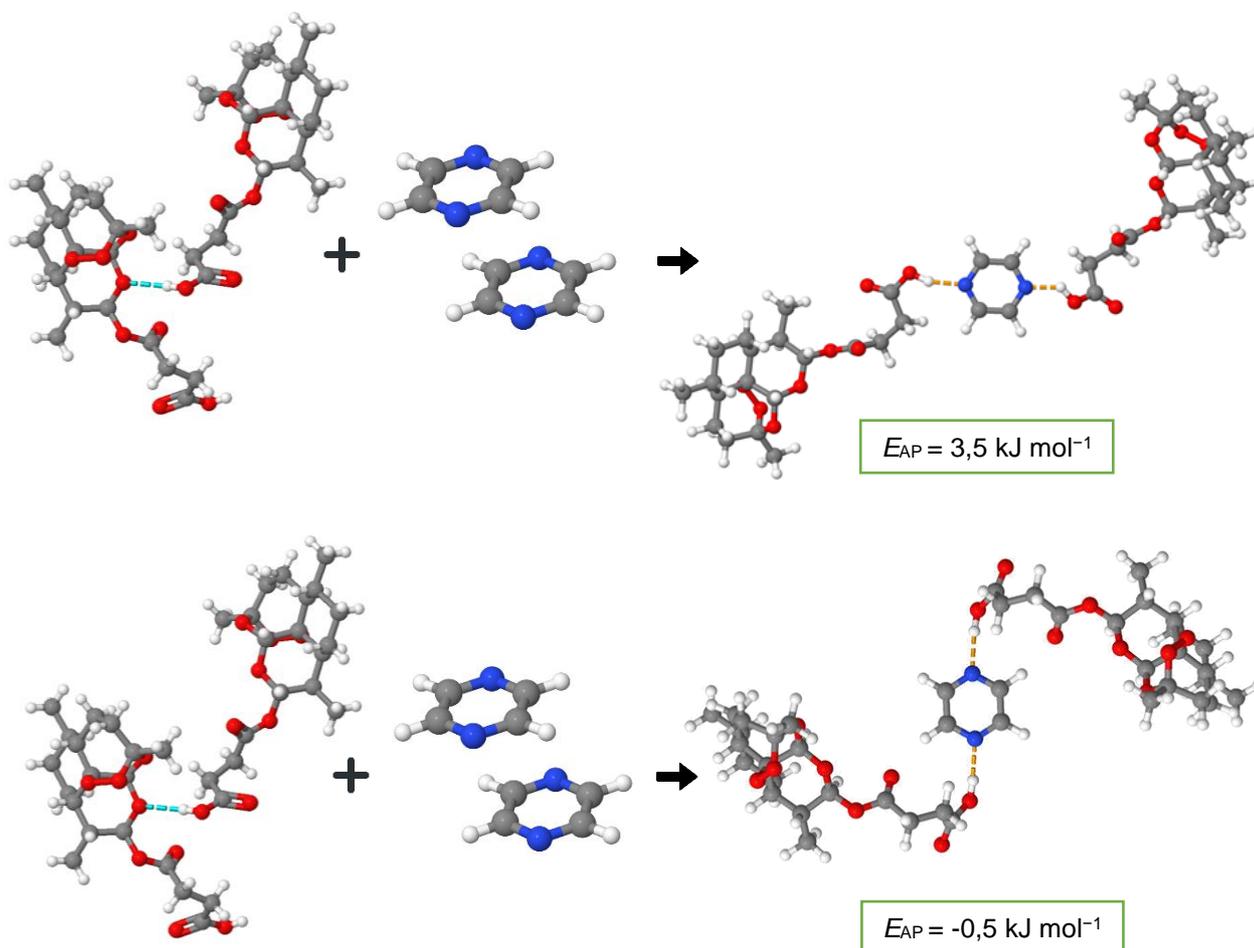
	E_{ele}/E_h	E_{zpe}/E_h	$H_{298 K} /$ (kJ mol ⁻¹)	$S_{298 K} /$ (J K ⁻¹ mol ⁻¹)	$G_{298 K} /$ (kJ mol ⁻¹)
AS-AS	-2683,3042	-2682,3731	-7042433	1224	-7042798
PYZ-PYZ	-528,2457	-528,0918	-1386478	466	-1386617
AS-PYZ linear	-2947,4295	-2946,4210	-7735674	1439	-7736103
AS-PYZ compacto	-2947,4335	-2946,4248	-7735684	1418	-7736107

^a E_{ele} : energia eletrónica; E_{zpe} : E_{ele} + energia vibracional do ponto zero; $H_{298 K}$: entalpia a 298 K; $S_{298 K}$: entropia a 298 K; $G_{298 K}$: energia de Gibbs a 298 K.

Com os valores obtidos para a energia de Gibbs foi possível calcular a energia de ligação para cada um dos heterotrímeros e assim avaliar se a formação do sistema supramolecular AS-PYZ é termodinamicamente favorável. Para avaliar então a estabilidade relativa dos

heterotrimeros construídos foi utilizada a Equação 9. Os valores de energia de ligação estão representados no Esquema 8 assim como a representação dos homodímeros dos compostos puros e os heterotrimeros hipotéticos.

Esquema 8. Reações isodésmicas para o cálculo da estabilidade relativa do heterotrímero vs homodímeros: AS-PYZ linear e AS-PYZ compacto.



Atendendo ao Esquema 8 é possível verificar que se obteve um valor de energia de ligação para o heterotrímero com geometria linear de $3,5 \text{ kJ mol}^{-1}$ e para o heterodímeros AS-PYZ com uma geometria compacta o valor de energia de ligação foi de $-0,5 \text{ kJ mol}^{-1}$. Verifica-se um valor de energia positivo para o heterotrímero linear, o que permite concluir que a sua junção não é favorável, pelo menos segundo a estrutura do agregado considerado. Já o heterotrímero com uma geometria compacta o valor obtido foi negativo, contudo um valor de diferença de energia bastante pequena, muito próximo de zero. Esta diferença de energia negativa extremamente pequena não promove uma grande segurança na indicação da formação do respetivo agregado^[121].

Relativamente ao estudo das interações intermoleculares não covalentes formadas nos agregados considerados na Esquema 9, procedeu-se à análise apenas no heterotrímero AS-PYZ de geometria compacta uma vez que foi o único heterotrímero com uma energia negativa de ligação. A representação das interações intermoleculares não covalentes presentes no heterotrímero AS-PYZ de geometria compacta é apresentada na Figura 3.44.

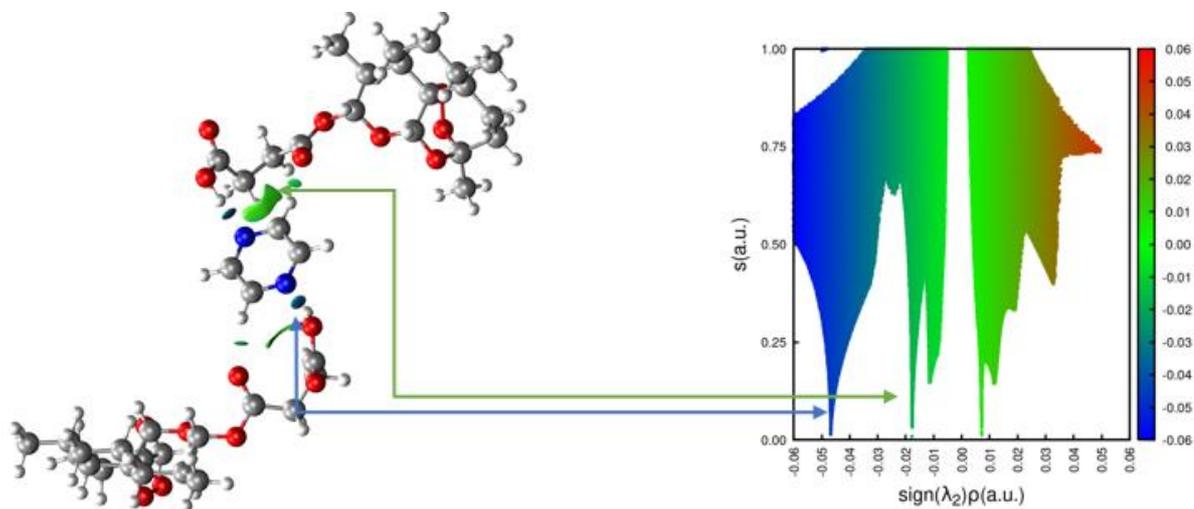


Figura 3.44. Representação do heterotrímero AS-PYZ compacto evidenciando as diferentes interações intermoleculares moleculares e o respetivo gráfico NCI.

É possível aferir na Figura 3.44 as interações intermoleculares entre a molécula de AS e a molécula de PYZ, onde é possível observar as interações van der Waals ao longo dos contactos intermoleculares auxiliadas pelas duas fortes ligações de hidrogénio entre o grupo ácido da molécula de AS e o nitrogénio aromático da molécula de PYZ ($\rho \approx 0,048$).

3.8.2 Investigação da formação de sólidos multicomponente artesunato-pirazina por cristalização em solução

Considerando a formação do co-cristal AS-BIS na proporção 2:1 por cristalização em éter etílico procurou-se inicialmente estudar a possibilidade de formação de um co-cristal AS-PYZ numa proporção de 2:1 e 1:1 replicando o protocolo aplicado anteriormente.

Preparou-se uma solução em éter etílico com os compostos AS e PYZ nas proporções de 2:1 e 1:1, seguindo o procedimento descrito na secção 2.2.1.2 deste trabalho. Após a evaporação por completo do solvente procedeu-se à análise das amostras obtidas por FTIR-ATR, estando os resultados obtidos representados na Figura 3.45.

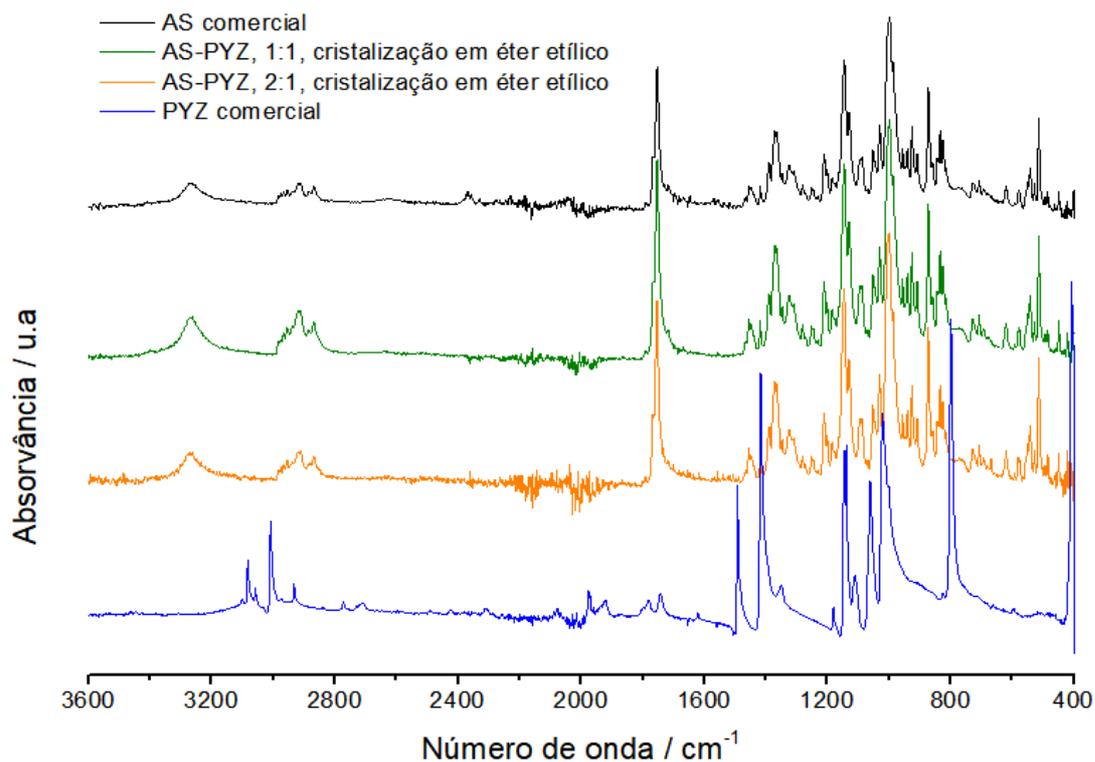


Figura 3.45. Espectros de IV do AS comercial, das misturas AS-PYZ (1:1) e (2:1) obtidas por cristalização em éter etílico e da PYZ comercial.

Os espectros de IV para ambas as misturas denotam somente a presença das bandas características do composto AS, não se verificando as bandas características da molécula de PYZ. É possível ainda aferir que não ocorreu nenhuma associação entre as moléculas pela inexistência das duas bandas alargadas entre os 2450-1900 cm⁻¹, bandas essas associadas à formação do sintão ácido...nitrogénio aromático^[123].

A presença de apenas AS é igualmente verificada aquando da análise dos difractogramas de raios-X de pó, Figura 3.46, e da análise dos termogramas obtidos por DSC representados na Figura 3.47.

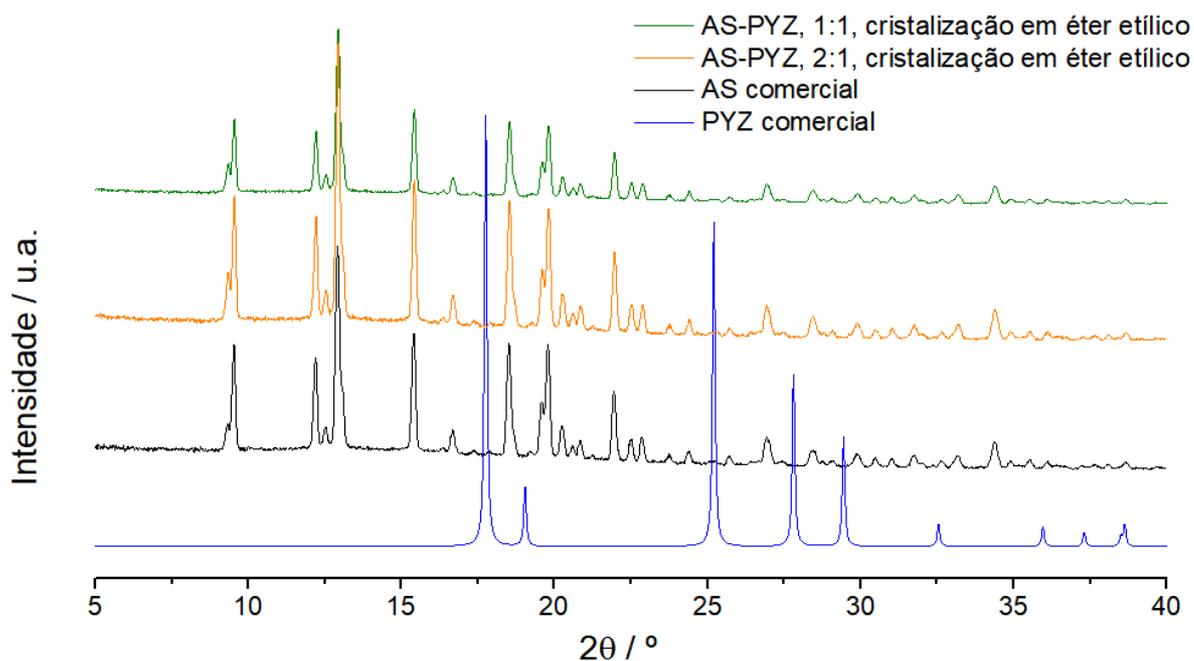


Figura 3.46. Difractogramas de raios-X de pó das misturas AS-PYZ (1:1) e (2:1) obtidas por cristalização em éter etílico, do AS comercial e da PYZ comercial.

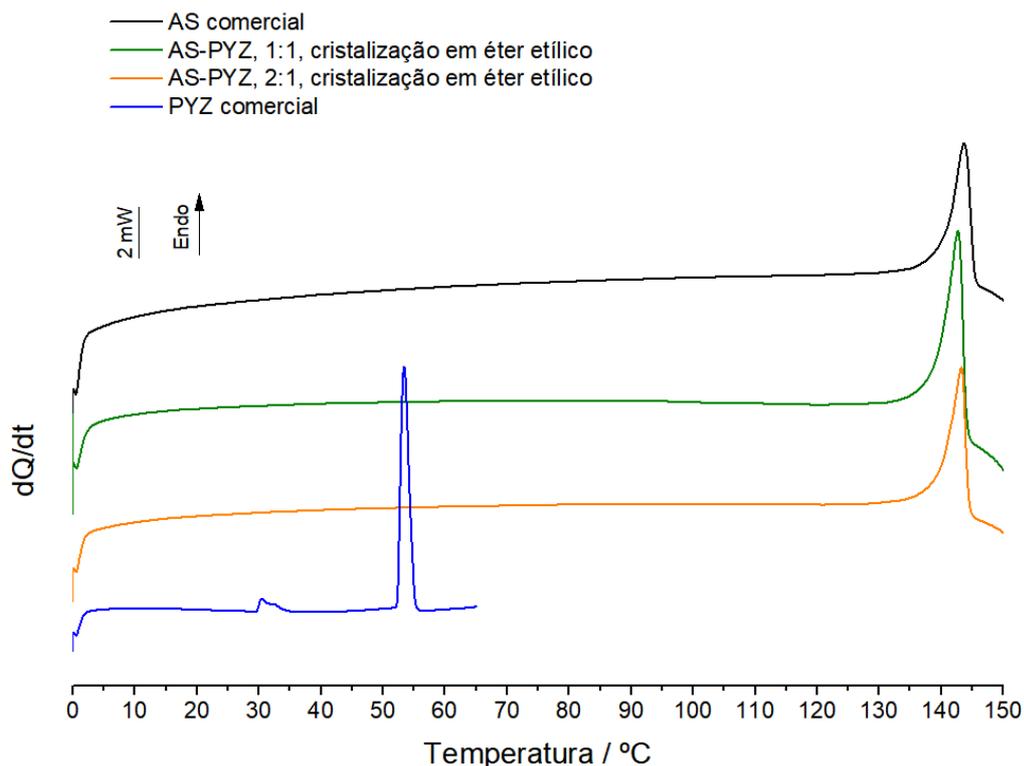


Figura 3.47. Curvas de DSC de aquecimento do AS comercial, $m = 1,77$ mg, das misturas AS-PYZ (1:1) e (2:1) obtidas por cristalização em éter etílico, $m = 1,25$ mg e $m = 1,57$ mg respectivamente, e do PYZ comercial, $m = 1,46$ mg ($\beta = 10$ °C/min.).

Da análise dos difractogramas de raios-X de pó das misturas é possível verificar única e exclusivamente as reflexões de AS. Analisando as curvas de DSC, Figura 3.47, verifica-se que

em ambas as misturas apenas é registado um único pico endotérmico associado à fusão do composto AS, não havendo qualquer alteração relativamente ao composto puro. Evidenciar apenas, na curva de DSC da PYZ comercial, um pequeno pico endotérmico a 30 °C referente a uma transição sólido-sólido do composto.

Para ambas as misturas é correto afirmar que não se verifica qualquer associação entre o AS e a PYZ, não se registando a formação do co-cristal. A presença de apenas do AS nas análises das misturas pode ser facilmente justificado pela elevada pressão de vapor da PYZ. Devido à elevada pressão de vapor da PYZ, esta sublima rapidamente à temperatura laboratorial (≈ 20 °C).

Foi ainda realizado um último estudo por cristalização em solvente, onde se procedeu à dissolução dos compostos AS e PYZ numa proporção 2:1 numa mistura de solventes etanol/água 1:1. Para esta mistura registou-se degradação do composto AS. A confirmação da degradação é evidente no espectro de IV e no difractogramas de raios-X de pós apresentados no Anexo V nas Figuras A10 e A11, respetivamente.

3.8.3 Investigação da formação de sólidos multicomponente artesunato-pirazina por mecanoquímica

A síntese de um novo sistema supramolecular com os compostos AS e PYZ foi igualmente estudada por mecanoquímica. Procedeu-se à preparação da mistura AS com a PYZ, na proporção 2:1 e 1:1 por NG, 10 μ L de etanol, a uma frequência de 25 Hz por um período de 30 minutos. Os resultados obtidos foram inicialmente analisados por FTIR-ATR, Figura 3.48.

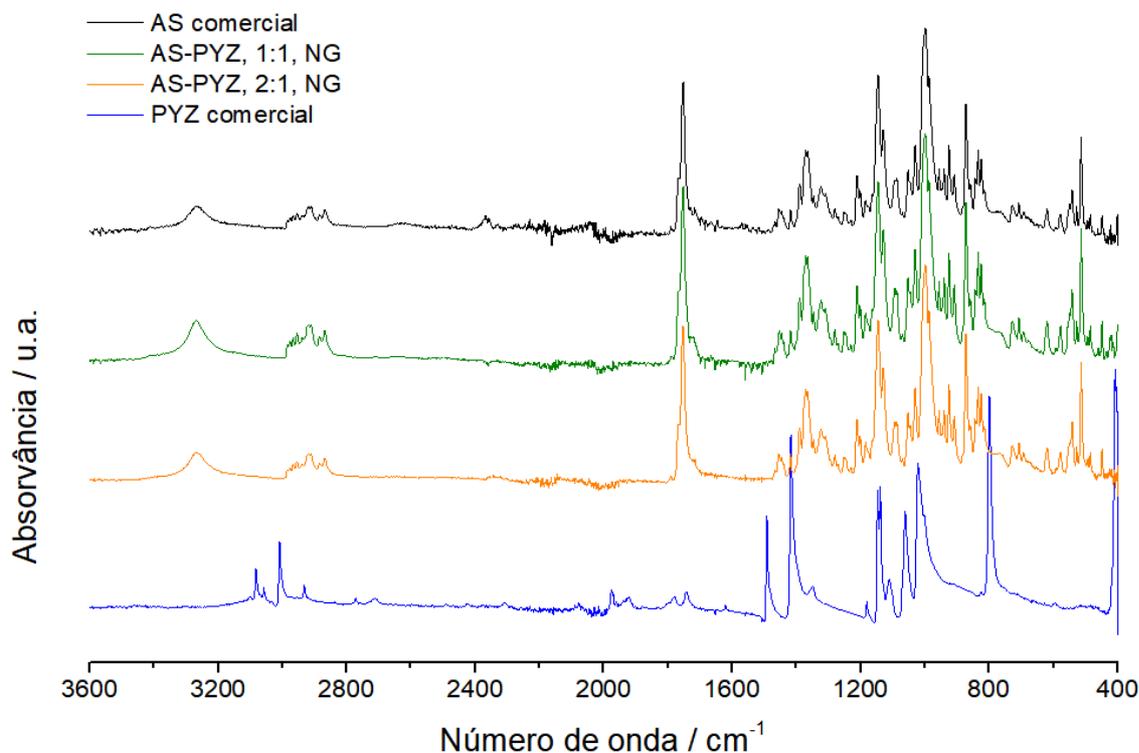


Figura 3.48. Espectros de IV do AS comercial, das misturas AS-PYZ (1:1) e (2:1) obtidas por NG e da PYZ comercial.

Considerando os espectros de IV da Figura 3.48 é possível uma vez mais verificar a presença de apenas as bandas características da molécula de AS, não se verificando as bandas características da PYZ nem novas bandas ou desvios que poderiam indicar a formação de uma nova forma sólida (os respectivos difractogramas de raios-X de pó e os termogramas estão representados no Anexo VI nas Figuras A12 e A13, respetivamente).

Devido ao processo de sublimação da PYZ à temperatura laboratorial, procurou-se seguir um protocolo que visasse uma diminuição da temperatura durante todo o processo de moagem, evitando assim que ocorresse a sublimação da PYZ. Seguindo esta premissa recorreu-se à técnica de moagem criogênica. Foi preparada uma amostra de AS e PYZ na proporção 2:1, onde foi aplicada uma frequência de 30 Hz por um período de 30 minutos. A amostra obtida foi numa fase inicial analisada por FTIR-ATR, Figura 3.49.

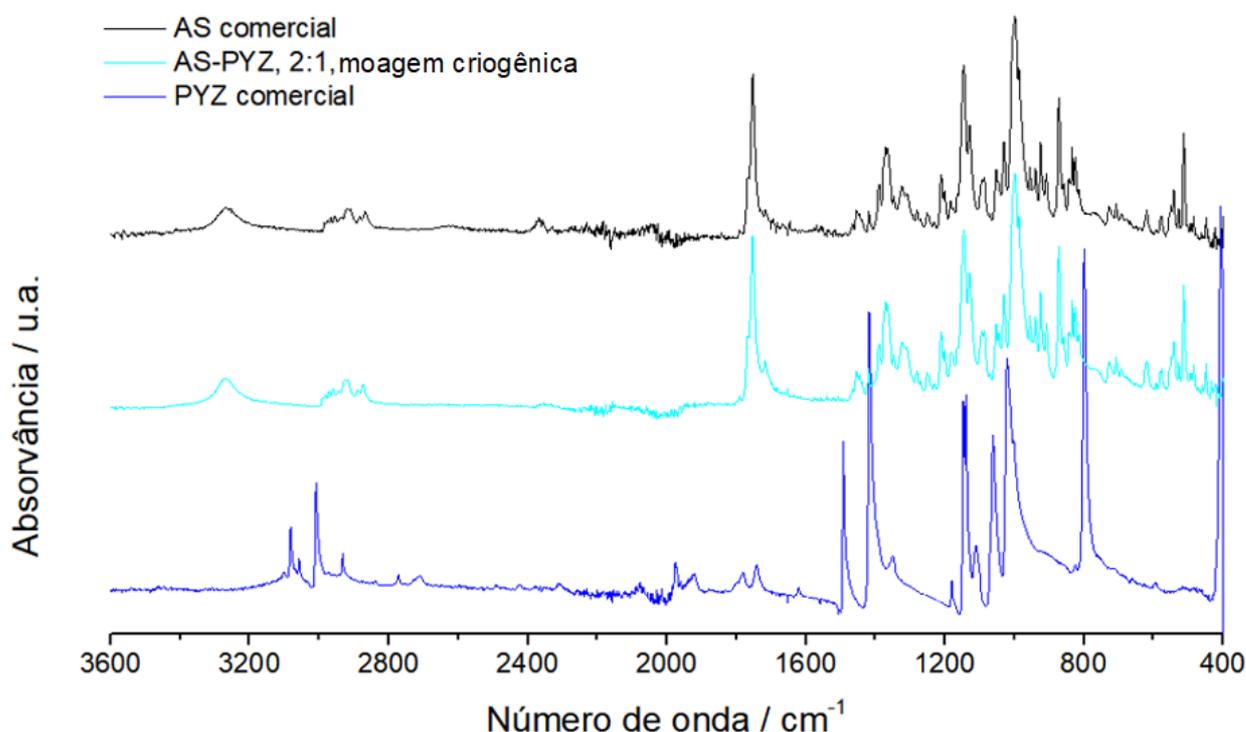


Figura 3.49. Espectros de IV do AS comercial, das misturas AS-PYZ (2:1) obtidas por moagem criogênica e da PYZ comercial.

O espectro de IV da mistura mostrou novamente a presença somente das bandas características do composto AS.

Da análise da curva de DSC obtida no aquecimento da amostra, Figura 3.50, é notório um processo endotérmico correspondendo à fusão do AS ($T_{\text{fus}} = 121,4^{\circ}\text{C}$ e $\Delta H_{\text{fus}} = 18,1 \text{ kJ mol}^{-1}$). Contrariamente às anteriores misturas estudadas, esta mistura não funde à temperatura de fusão do composto AS, mas sim a uma temperatura inferior. Contudo, o perfil do pico endotérmico é caracterizado por ser alargado e algo arrastado. Este perfil do pico pode ser justificado por contaminação com a PYZ.

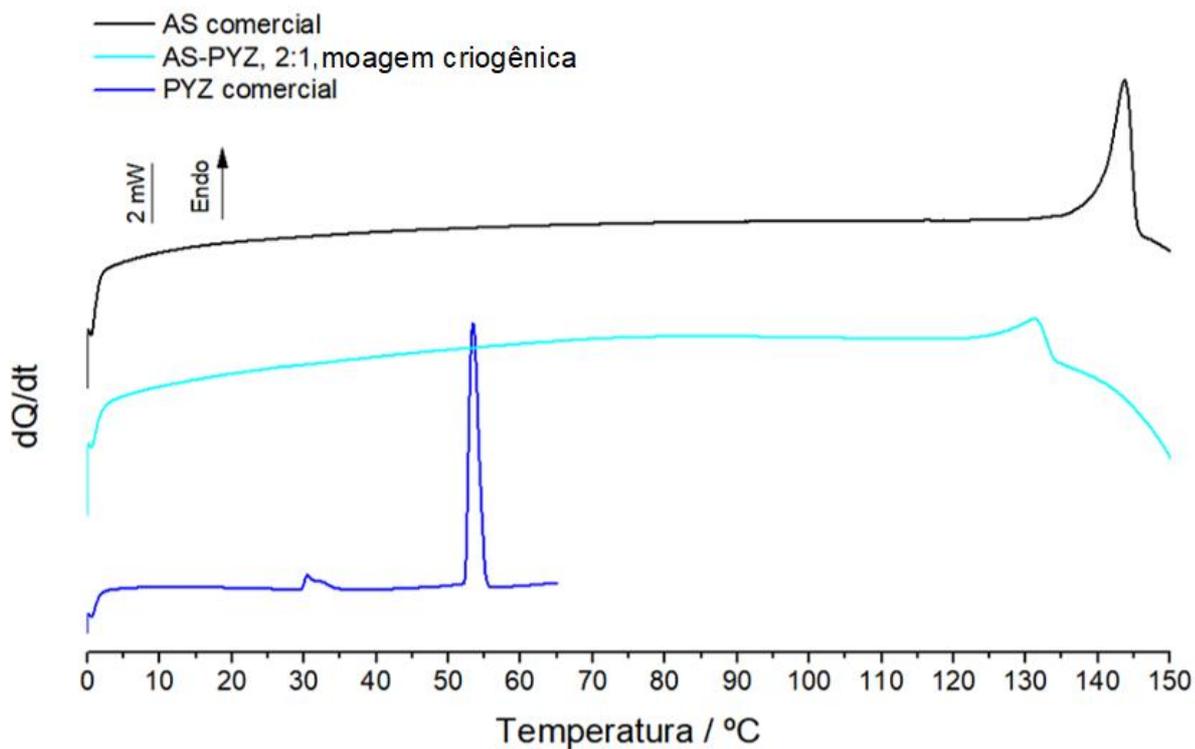


Figura 3.50. Curvas de DSC do AS comercial, $m = 1,77$ mg, das misturas AS-BIS (2:1) obtidas por moagem criogênica, $m = 1,43$ mg, e da PYZ comercial, $m = 1,46$ mg ($\beta = 10$ °C/min.).

Os difractogramas de raios-X de pó da mistura e dos respectivos compostos puros estão representados na Figura 3.51.

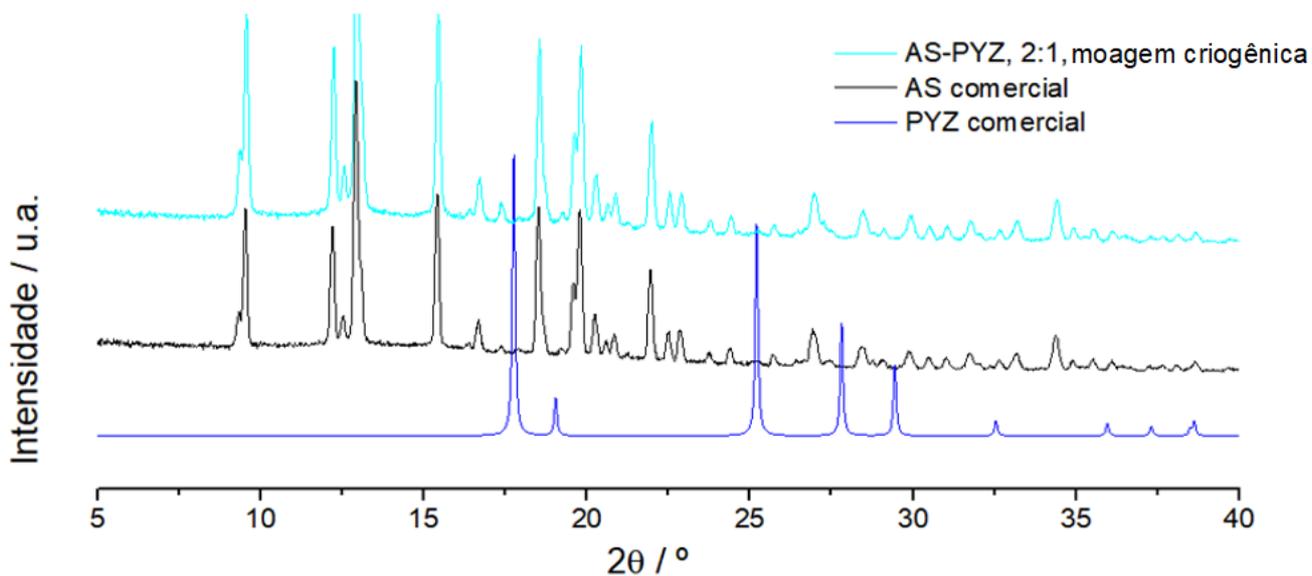


Figura 3.51. Difractogramas de raio-X pó das misturas AS-BIS (2:1) obtidas por moagem criogênica, do AS comercial e da PYZ comercial.

Atendendo ao difractogramas de raios-X de pó da mistura e comparando-o com os respetivos difractogramas dos compostos puros é possível aferir apenas as reflexões características de AS. A amorfização da PYZ pode justificar a não visualização do padrão de reflexão característico da PYZ no difractograma da mistura.

Todos os resultados obtidos experimentalmente, desde a cristalização em diferentes soluções até à utilização da técnica de mecanoquímica, apontaram para uma não formação de um novo sistema supramolecular entre o composto AS e a PYZ. Estes resultados vão de encontro com os resultados obtidos teoricamente, onde se tinha determinado um valor de energia de ligação entre a molécula de AS e a molécula de PYZ positivo e um valor negativo bastante pequeno, o que não permitia afirmar com uma grande certeza de que a sua associação seria favorável.

3.9 Sistema artesunato + cafeína

3.9.1 Previsão computacional de interações intermoleculares entre o artesunato e a cafeína: Reações isodésmicas e ligações não-covalentes

O estudo da previsão da energia de interação entre o AS e a CAF seguiu uma vez mais um princípio idêntico ao aplicado para todos os outros sistemas estudados. Numa primeira etapa, tendo em consideração os pontos de interação preferenciais da superfície de Hirshfeld da molécula de AS, procedeu-se à construção de 3 heterodímeros hipotéticos. O desenho dos 3 heterodímeros teve por base a interação do grupo ácido da molécula de AS com os 3 possíveis grupos funcionais dadores de ligações de hidrogénio da molécula de CAF, nomeadamente os dois grupos carbonilos e o nitrogénio.

Delineados as regiões de interação de interação entre a molécula de AS e a molécula de CAF, procedeu-se à otimização e cálculo das frequências vibracionais dos homodímeros e dos heterodímeros. Os valores obtidos para as energias e outras propriedades termodinâmicas estão apresentados na Tabela 3.10

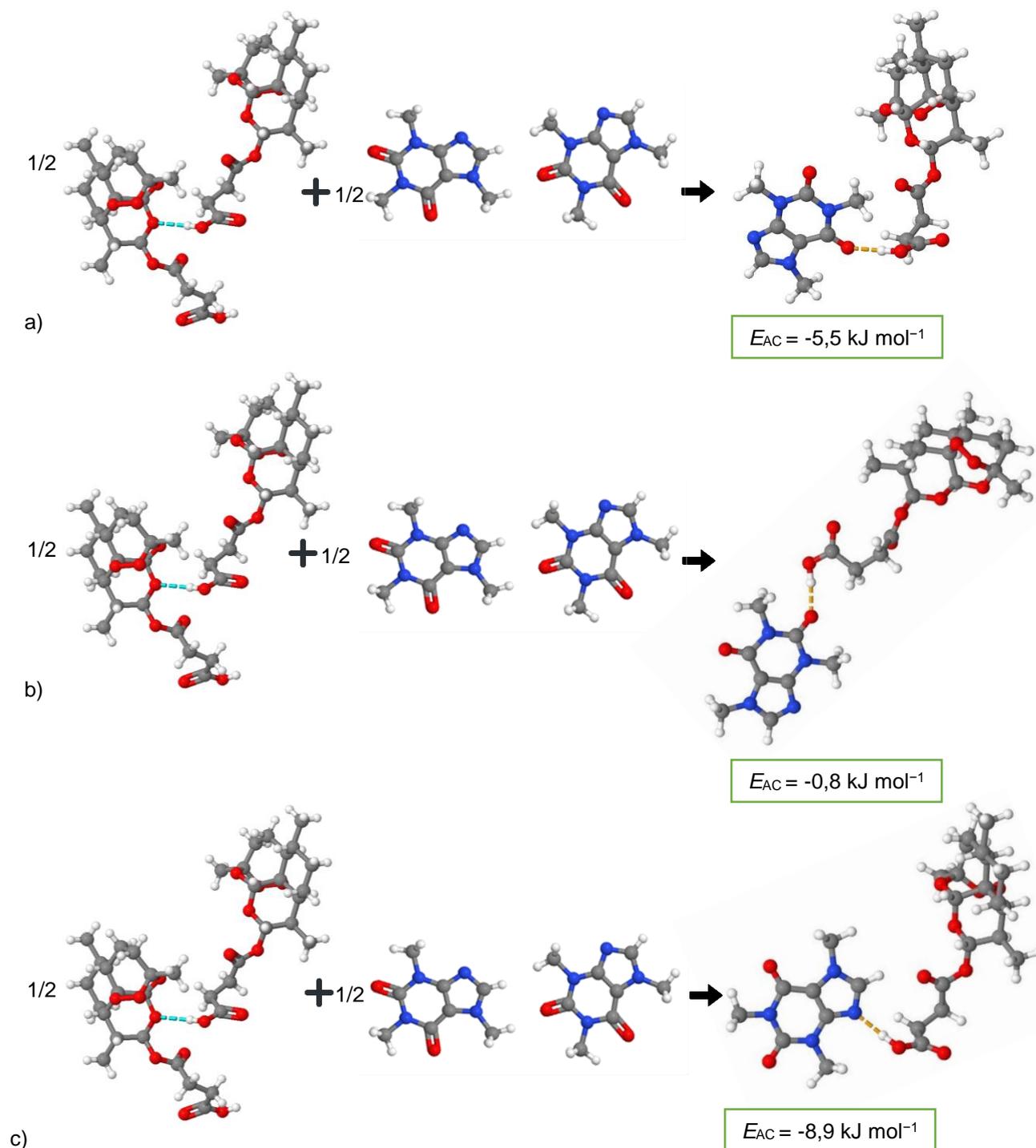
Tabela 3.10. B3LYP/def2svp Energias dos homodímeros de AS e CAF e energias dos heterodímeros de AS-CAF1, AS-CAF2 e AS-CAF3^a.

	$E_{\text{ele}}/E_{\text{h}}$	$E_{\text{zpe}}/E_{\text{h}}$	$H_{298\text{ K}} /$ (kJ mol ⁻¹)	$S_{298\text{ K}} /$ (J K ⁻¹ mol ⁻¹)	$G_{298\text{ K}} /$ (kJ mol ⁻¹)
AS-AS	-2683,3042	-2682,3731	-7042433	1224	-7042798
CAF-CAF	-1359,7805	-1359,4023	-3569034	819	-3569279
AS-CAF1	-2021,5396	-2020,8854	-5305727	1061	-5306044
AS-CAF2	-2021,5413	-2020,8867	-5305732	1032	-5306039
AS-CAF3	-2021,5437	-2020,8894	-5305738	1037	-5306047

^a E_{ele} : energia eletrónica; E_{zpe} : E_{ele} + energia vibracional do ponto zero; $H_{298\text{ K}}$: entalpia a 298 K; $S_{298\text{ K}}$: entropia a 298 K; $G_{298\text{ K}}$: energia de Gibbs a 298 K.

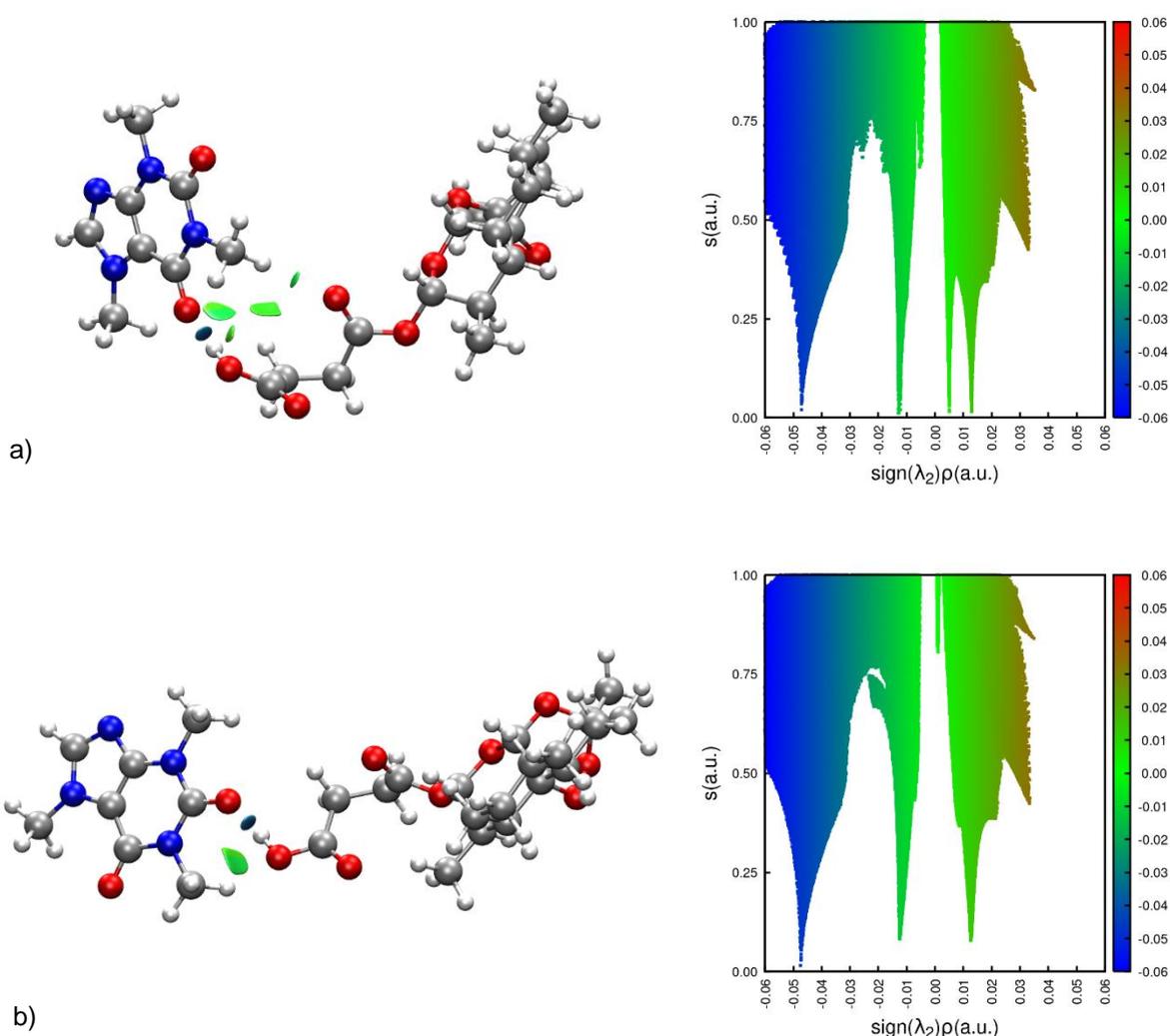
Os heterodímeros construídos são caracterizados por uma molécula de AS e uma de CAF. Por este motivo, o cálculo da energia de ligação para este sistema seguiu a Equação 7. Os valores de energia de ligação obtidos para cada um dos heterodímeros e as suas respectivas representações são apresentadas no Esquema 9.

Esquema 9. Reações isodésmicas para o cálculo da estabilidade relativa dos heterodímeros vs homodímeros:
a) AS-CAF1, b) AS-CAF2 e c) AS-CAF3.



Considerando o Esquema 9 verifica-se que se obteve um valor energia de ligação foi de $-5,5\text{kJ mol}^{-1}$ para o heterodímero AS-CAF1 enquanto que, para os heterodímeros AS-CAF2 e AS-CAF3 a energia de ligação foi de $-0,8\text{ kJ mol}^{-1}$ e $-8,9\text{ kJ mol}^{-1}$, respetivamente. Para todos os agregados contruídos o valor de energia de ligação é negativa, o que poderia justificar que a sua associação seria favorável. Contudo, é importante salientar uma vez mais, que os valores obtidos são caracterizados por pequenas diferenças de energia ($<10\text{ kJ mol}^{-1}$)^[121], podendo indicar uma pouca certeza de formação de qualquer um dos heterodímeros considerados. A sua associação vai depender em grande medida das metodologias experimentais utilizadas.

Apesar do valor obtido para a energia de ligação dos heterodímeros definir-se por uma pequena diferença de energia, a associação entre moléculas AS e CAF continua a ser uma possibilidade. Considerando os 3 heterodímeros contruídos na secção anterior deste trabalho, procedeu-se à análise das interações não covalentes presentes nos 3 heterodímeros contruídos, Figura 3.52.



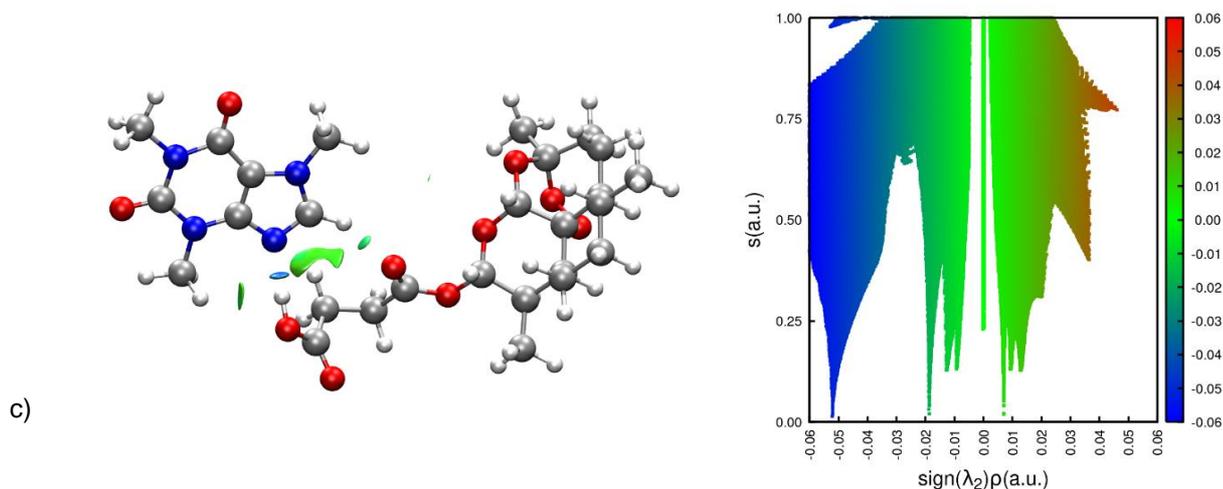


Figura 3.52. Representação dos heterodímeros AS-MCP evidenciando as diferentes interações intermoleculares e os respectivos gráficos NCI: a) Heterodímero AS-CAF1; b) Heterodímero AS-CAF2 e c) Heterodímero AS-CAF3.

Atendendo à Figura 3.52 é possível observar que os 3 heterodímeros apresentam a formação de uma ligação de hidrogénio entre o grupo ácido da molécula de AS e os 3 grupos funcionais da molécula de CAF. A ligação de hidrogénio formada é auxiliada pelas interações van der Waals presentes ao longo dos contactos intermoleculares.

Analisando os gráficos NCI, verifica-se que os heterodímeros formados por uma ligação de hidrogénio entre o grupo ácido da molécula de AS e os carbonilos da molécula de CAF apresentam uma ligação de hidrogénio ligeiramente mais fraca ($\rho \approx 0,048$) do que a ligação de hidrogénio formada aquando da interação entre o grupo ácido de AS e o nitrogénio de CAF ($\rho \approx 0,052$). A formação da ligação de hidrogénio mais forte no heterodímero AS-CAF3 justifica o valor mais negativo de energia de ligação de entre os heterodímeros contruídos.

3.9.2 Investigação da formação de sólidos multicomponente artesonato-cafeína por mecanoquímica

Iniciou-se a investigação do sistema AS-CAF pela preparação de uma mistura equimolar submetida NG e LAG (10 μ L de etanol) durante 30 minutos a uma frequência de 25 Hz. Os difractogramas das misturas obtidas e dos compostos puros estão representados na Figura 3.53, sendo possível aferir que ambas as misturas sólidas são apenas uma soma perfeita dos compostos puros, o que possibilita afirmar que não ocorreu qualquer tipo de associação entre a molécula de AS e a CAF. Se existisse a formação de um co-cristal seria de esperar o aparecimento de novos picos, que resultariam da existência de novos planos cristográficos devidos à formação de uma nova rede cristalina^[8].

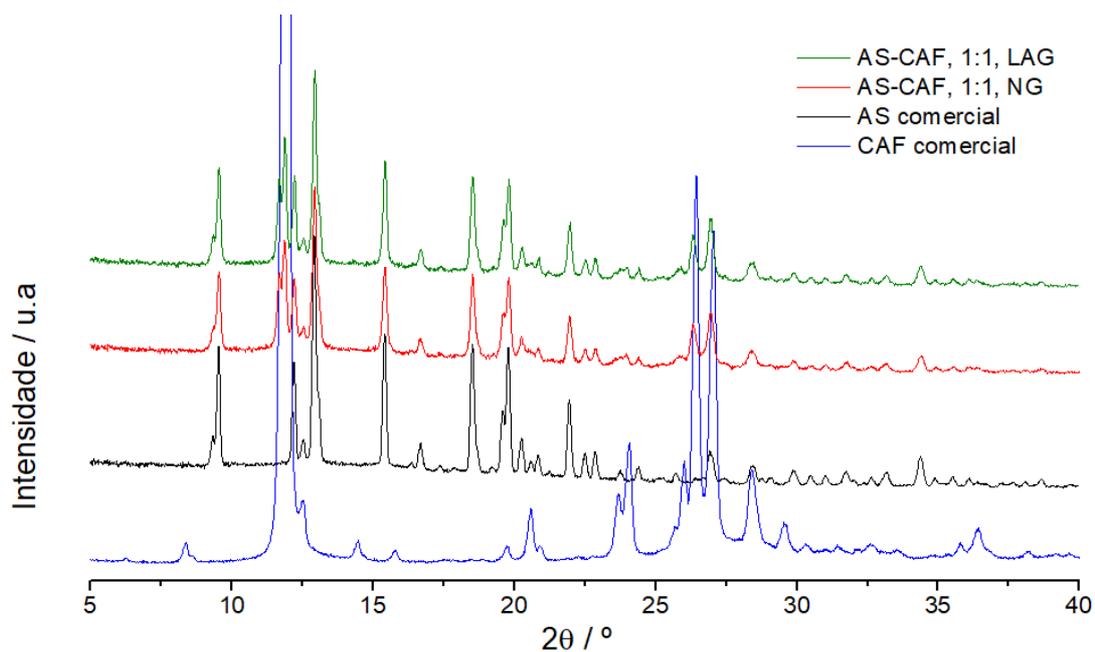


Figura 3.53. Difractogramas de raios-X de pó das misturas AS-CAF (1:1) obtidas por NG e por LAG, do AS comercial e da CAF comercial.

A mesma evidência é observada aquando da comparação dos espectros de IV das misturas equimolares AS-CAF com os espectros de IV dos compostos puros, Figura 3.54.

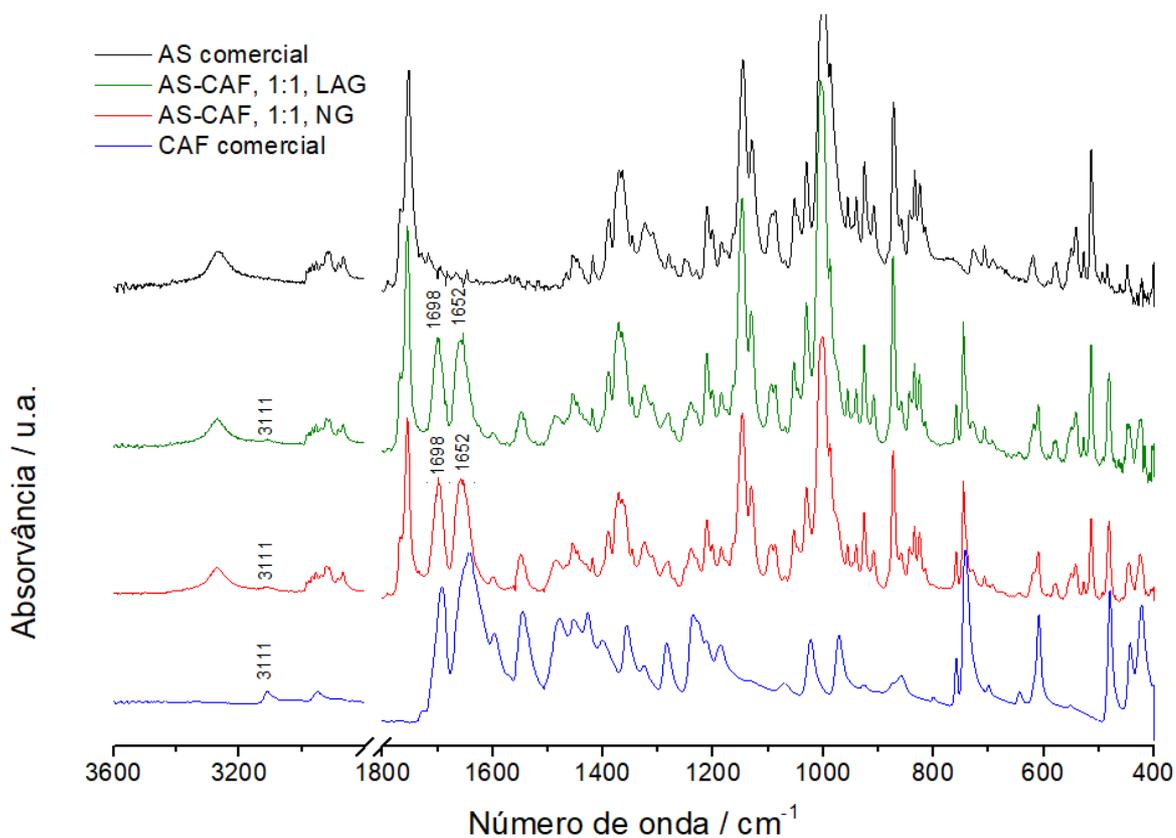


Figura 3.54. Espectros de infravermelho da amostra comercial de AS, das misturas AS-CAF (1:1) obtidas por NG e LAG e da amostra comercial de CAF.

Nos espectros das misturas sólidas AS-CAF evidencia-se as bandas características da molécula de AS e as bandas características da CAF, nomeadamente uma banda a 3111 cm^{-1} associada à vibração por alongação assimétrica da ligação C-H. Observa-se outras duas bandas da CAF, a 1698 e 1652 cm^{-1} devidas às vibrações por alongação dos dois grupos C=O^[69].

As curvas de DSC obtidas para as misturas investigadas e dos compostos puros estão apresentadas na Figuras 3.55.

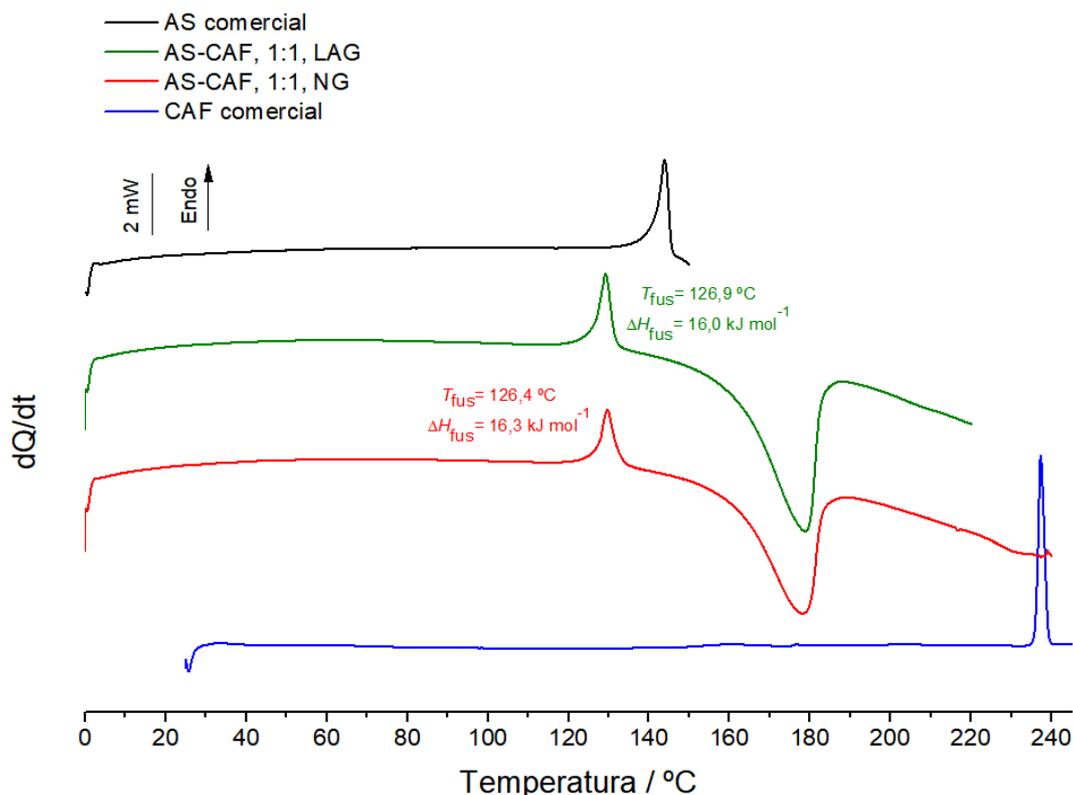


Figura 3.55. Curvas de DSC de aquecimento do AS comercial, $m = 1,77\text{ mg}$, da mistura AS-CAF (1:1) obtida por NG e LAG, $m = 1,57$ e $m = 1,28$ respetivamente e da CAF comercial, $m = 1,09\text{ mg}$ ($\beta = 10\text{ °C/min.}$).

Da análise dos termogramas da mistura AS-CAF por NG e LAG denota-se um único pico endotérmico associado à fusão do AS contaminado por CAF. O segundo pico registado no termograma é um pico exotérmico. Este evento deve-se ao processo de degradação da molécula de AS.

Foram ainda realizados ensaios por mecanoquímica e também por cristalização em solução de etanol para o sistema AS-CAF em diferentes proporções, nomeadamente 1:2. Em solução registou-se um processo de degradação do composto AS, que se transformou na sua forma ativa DHA. As evidências do processo de degradação são apresentadas nos termogramas e nos espectros de IV apresentados no Anexo VII nas Figuras A14 e A15, respetivamente.

Tendo em consideração os resultados obtidos computacionalmente, a previsão de formação de um novo sistema supramolecular AS-CAF estava associada a um valor de energia de ligação negativo, porém de valor baixo. Neste caso, (contrariamente do que observado para o sistema AS-MCP), não foi possível obter associação entre os compostos. É importante ter em consideração que valores negativos de energia pequenos nem sempre se transpõem para a formação de uma nova forma sólida (como no caso do sistema AS-MCP

Capítulo 4

Conclusões e

Perspetivas Futuras

Capítulo 4

Conclusões e Perspetivas Futuras

A caracterização do composto artesunato permitiu, numa primeira etapa, identificar o diastereoisómero adquirido comercialmente. O seu difractograma de raios-X de pó foi identificado como o diastereoisómero α por coincidência com o simulado para a estrutura desta forma depositada na CSD com o código FAHFAV01 e não com o diastereoisómero β (MEXKOP).

O estudo do sistema AS-MCP com vista a possível aplicação em terapia dual foi iniciado pela caracterização do co-formador MCP, do qual foram identificadas neste trabalho as duas formas polimórficas já antes detetadas. Contudo, não existe qualquer representação do difractograma de raios-X de pó da forma polimórfica II da MCP na literatura, tendo sido realizado pela primeira vez neste trabalho. Relativamente ao sistema AS-MCP, foi confirmada a formação de co-amorfos em diferentes proporções, nomeadamente nas proporções 1:1, 2:1 e 3:1, obtidos por mecanoquímica. Por análise do comportamento térmico dos 3 co-amorfos foi possível identificar que o sistema AS-MCP na proporção 3:1 era o mais promissor por apresentar um valor mais elevado de T_g , uma vez que permite a estabilização da forma amorfa a temperaturas próximas da temperatura ambiente. Por se tratar do co-amorfo mais promissor foi realizado um estudo de estabilidade do co-amorfo em câmaras de estabilidade 25 °C / 60 % HR, tendo-se registado o início do processo de cristalização ao fim de 45 dias. Realizou-se em seguida um novo estudo de estabilidade, onde o co-amorfo foi armazenado num exsiccador com sílica à temperatura ambiente, verificando-se que permanece na sua forma metaestável por um período mínimo de 90 dias.

Denotar ainda que a formação de uma nova forma sólida está de acordo com os resultados obtidos computacionalmente, onde se registou uma energia de ligação negativa para ambos os heterodímeros construídos, o que permitiu justificar que a sua associação era termodinamicamente favorável.

O estudo de associação do AS com os co-formadores piridinacarboxamidas e a BEZ revelou resultados semelhantes para NAM e BEZ, quer por mecanoquímica NG ou por LAG, observando-se somente uma mistura física dos dois compostos. O estudo computacional para o sistema AS-NAM provou ser uma boa aproximação para a previsão de formação de um novo sistema supramolecular, um vez que se registaram valores positivos de energia de ligação entre os diferentes agregados estudados, o que permitiu prever que a sua associação não era termodinamicamente favorável. No sistema AS-ISONAM foi registado a formação de um sistema semi-cristalino na proporção 1:1 aquando do processo de moagem NG, 25 Hz por um período de 30 minutos. Quando aplicada moagem criogénica nas condições de moagem NG, 30 Hz por 30 minutos foi possível obter um novo sólido co-amorfo. O estudo de estabilidade conduzido para o co-amorfo durante 40 dias confirmou a permanência na forma amorfa durante esse período.

Relativamente ao estudo computacional para o sistema AS-ISONAM, este corrobora os resultados práticos, uma vez que os resultados computacionais apontaram para uma associação favorável entre os dois compostos.

Relativamente à utilização do co-formador BIS, os resultados experimentais apontaram para a formação de um co-cristal na proporção 2:1. É de salientar que a formação do co-cristal

foi conseguida seguindo diferentes metodologias, nomeadamente por mecanoquímica NG e LAG e por cristalização em éter etílico. O estudo computacional realizado em paralelo à pesquisa experimental provou uma vez mais ser uma boa aproximação para a previsão de novos sistemas supramoleculares, uma vez que para o sistema AS-BIS a energia de ligação foi bastante negativa, indicando assim a formação do co-cristal.

Por fim, para os co-formadores PYZ e CAF os resultados obtidos apontaram somente para uma mistura física dos dois compostos de partida não se verificando qualquer tipo de associação entre as moléculas. Os resultados computacionais para ambos os sistemas indicaram um valor negativo de energia de interação que indicaria uma tendência favorável para associação do artesunato com o co-formador. Contudo o valor absoluto da energia de ligação não é suficientemente grande para se poder afirmar com segurança que a associação do AS com os co-formadores vá ocorrer.

A análise das interações não-covalentes demonstrou ser uma ferramenta útil para compreender qualitativamente o tipo de interação eletrónica responsável pela estabilização dos agregados supramoleculares e nalguns casos quantificar a presença de interações de maior ou menor energia.

Pode ser comprovado que APIs e co-formadores conformacionalmente flexíveis e grupos funcionais variados têm maior tendência para formar formas sólidas amorfas. Nestes casos, existe maior tendência para as moléculas se apresentarem em formas conformacionais variadas e para a competição de sintões, o que leva a maior dificuldade em estabelecer ordem estrutural de longo alcance essencial à co-cristalização. Na verdade, verificou-se a formação de co-cristais de AS apenas com o co-formador mais simples, BIS, enquanto que os outros sistemas levaram à formação de co-amorfos.

Tendo em consideração toda a investigação levada a cabo neste trabalho, é possível evidenciar alguns pontos que seriam promissores numa perspetiva futura. O co-amorfo AS-MCP reveste-se de um grande potencial farmacêutico devido à possibilidade de terapia dual. Faria sentido realizar investigação adicional, nomeadamente estudos de estabilidade mais prolongados de forma a confirmar a viabilidade do sistema. Teria ainda de se proceder a estudos de dissolução e de solubilidade de forma a confirmar se de facto estas propriedades físico-químicas do AS são melhoradas. Para uma transposição de escala com vista à produção industrial, seria importante testar outros processos de co-amorfização mais adequados nessas condições. Em termos computacionais, seria interessante estudar estes sistemas simulando agregados com número de moléculas bastante maior, recorrendo a métodos de dinâmica molecular, por exemplo.

Referências Bibliográficas

Referências Bibliográficas

- [1] Edwin G. Tse, Marat Korsik and Matthew H. Todd; The past, present and future of anti-malarial medicines; Journal of Korean Academy of Oral Health.43(3); 109-130; **2019**
- [2] Alan F. Cowman, Julie Healer, Danushka Marapana and Kevin Marsh; Malaria: Biology and Disease; Cell.167(3); 610-624; **2016**
- [3] Shigeharu Sato; Plasmodium: brief introduction to the parasites causing human malaria and their basic biology; Journal of Physiological Anthropology.40(1); 1-13; **2021**
- [4] Forman Erwin Siagian; Pulmonary Complication in Severe Malaria; International Journal of Pathogen Research.8(1); 19-27; **2021**
- [5] World Health Organization; **2022**, July 26; World malaria report 2021; Geneva
- [6] Harsh Rajvanshi, Kirti Mishra, Praveen K. Bharti, Debakanta Sandhibigraha, Sekh Nisar, Himanshu Jayswar, Aparup Das, Madan M. Pradhan, Pradipta K. Mohapatra, Pallavi Jain Govil, Nilima Kshirsagar, Aditya P. Dash, Shrinath Singh, Ram Shankar Sahu, Harpreet Kaur, Neeraj Dhingra, Azadar Khan and Altaf A. Lal; Learnings from two independent malaria elimination demonstration projects in India; Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene; **2021**
- [7] Monica Clements, Tanya le Roex and Margaret Blackie; Multicomponent crystal systems of known antimalarial drug molecules; ChemMedChem.10; 1786-1792; **2015**
- [8] António O. L. Evora, Ricardo A. E. Castro, Teresa M. R. Maria, Mário T. S. Rosado, M. Ramos Silva, A. Matos Beja, João Canotilho and M. Ermelinda S. Eusébio; Pyrazinamide-Diflunisal: A New Dual-Drug Co-Crystal; Crystal Growth & Design.11; 4780-4788; **2011**
- [9] Paolo Cerreia Vioglio, Michele R. Chierotti and Roberto Gobett; Pharmaceutical aspects of salt and cocrystal forms of APIs and characterization challenges; Advanced Drug Delivery Reviews.117; 2147-2152; **2017**
- [10] Anne Marie Healy, Zelalem Ayenew Worku, Dinesh Kumar and Atif M.Ma; Pharmaceutical solvates, hydrates and amorphous forms: A special emphasis on cocrystals; Advanced Drug Delivery Reviews.117; 25-46; **2017**
- [11] William Jones, W.D. Samuel Motherwell and Andrew V. Trask; Pharmaceutical Cocrystals: An Emerging Approach to Physical Property Enhancement; MRS Bulletin.31(11); 875-879; **2006**
- [12] Joana F.C. Silva, Mário T.S. Rosado and M.Ermelinda S. Eusébio; Structure and energetics of intermolecular association in two lurasidone co-amorphous drug systems; Journal of Molecular Structure.1242; 130709; **2021**
- [13] N. J. Babu and A. Nangia; Solubility Advantage of amorphous drugs and pharmaceutical cocrystals; Crystal Growth & Design.11; 2662-2679; **2011**
- [14] D. Sharma, M. Soni and S.Kumar; Solubility enhancement-eminent role in poorly soluble drugs; Research Journal of Pharmacy and Technology.2; 220-224; **2009**
- [15] Gordon L. Amidon, Hans Lennernäs, Vinod P. Shah and John R. Crison; A theoretical basis for a biopharmaceutic drug classification: the correlation of in vitro drug product dissolution and in vivo bioavailability; Pharmaceutical Research.12(3); 413-420; **1995**

- [16] Sui Ling Janet Tan and Nashiru Billa; Improved Bioavailability of Poorly Soluble Drugs through Gastrointestinal Muco-Adhesion of Lipid Nanoparticles; *Pharmaceutics*.13(11); 1817; **2021**
- [17] Arik Dahan, Jonathan M Miller and Gordon L. Amidon.; Prediction of Solubility and Permeability Class Membership: Provisional BCS Classification of the World's Top Oral Drugs; *Journal of the American Association of Pharmaceutical Scientists*.11(4); 740-746; **2009**
- [18] M. Gibson; *Pharmaceutical Preformulation and Formulation: A Practical Guide from Candidate Drug Selection to Commercial Dosage Form*; **2001**
- [19] A. M. Thayer; Finding solutions; *Chemical & Engineering News Archive*.22(22); 13-18; **2010**
- [20] S. Aitipamula, Gautam R. Desiraju, Michael J. Zaworotko et.al; Polymorphs, Salts, and Cocrystals: What's in a Name?; *Crystal Growth & Design*.12(5); 2147-2152; **2012**
- [21] N Rajesh Goud, Swarupa Gangavaram, Kuthuru Suresh, Sharmistha Pal, Sulur G Manjunatha, Sudhir Nambiar and Ashwini Nangia; Novel furosemide cocrystals and selection of high solubility drug forms; *Journal of Pharmaceutical Sciences*.101(2); 664-680; **2012**
- [22] E. Grothe, H. Meekes, E. Vlieg, J. H. ter Horst and R. de Gelder; Solvates, Salts, and Cocrystals: A Proposal for a Feasible Classification System; *Crystal Growth & Design*.16(6); 3237-3243; **2016**
- [23] Elena I. Korotkova and B. Kratochvíl; Pharmaceutical Cocrystals; *Procedia Chemistry*.10; 473-476; **2014**
- [24] Gautam R. Desiraju; Supramolecular synthons in crystal engineering - a new organic-synthesis; *Angew. Chem. Int. Ed.*34; 2311; **1995**
- [25] Amit Delori, Tomislav Frišić and William Jones; CrystEngComm; The role of mechanochemistry and supramolecular design in the development of pharmaceutical materials; *CrystEngComm*.7; 2350-2362; **2012**
- [26] Jean Louis Do and Tomislav Frišić; Mechanochemistry: A Force of Synthesis; *ACS Central Science*.3; 13-19; **2017**
- [27] Tomislav Frišić and W. Jones; Recent Advances in Understanding the Mechanism of Cocrystal Formation via Grinding; *Crystal Growth & Design*.9; 2621; **2009**
- [28] R. A. Chiarella, R. J. Davey and M. L. Peterson; Making co-crystals - The utility of ternary phase diagrams; *Crystal Growth & Design*.7; 1223-1226; **2007**
- [29] Marc Descamps; Emeline Dudognon and Jean François Willart; The Amorphous State; *Polymorphism in the Pharmaceutical Industry: Solid Form and Drug Development*; Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA; 189-239; **2019**
- [30] B. D. Cullity; *Elements of diffraction*; Addison-wesley Publishing CompanyInc; **1978**
- [31] R. Zallen; *The Physics of Amorphous Solids*; WILWY-VCH Verlag; **1983**
- [32] Tao Feng, Rodolfo Pinal and M Teresa Carvajal; Process induced disorder in crystalline materials: differentiating defective crystals from the amorphous form of griseofulvin; *Journal of Pharmaceutical Sciences*.97(8); 3207-3228; **2008**
- [33] Samuel Petit and Gérard Coquerel; *The Amorphous State*; **2006**

- [34] Ctirad Cervinka and Michal Fulem; Structure and Glass Transition Temperature of Amorphous Dispersions of Model Pharmaceuticals with Nucleobases from Molecular Dynamics; *Pharmaceutics*.13; 1253; **2021**
- [35] N. Chieng, J. Aaltonen, D. Saville and T. Rades; Physical characterization and stability of amorphous indomethacin and ranitidine hydrochloride binary systems prepared by mechanical activation; *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*.71(1); 47-54; **2009**
- [36] R. Mizoguchi, H. Waraya and Y. Hirakura; Application of Co-Amorphous Technology for Improving the Physicochemical Properties of Amorphous Formulations; *Molecular Pharmaceutics*.16(5); 2142-2152; **2019**
- [37] Marco A Biamonte, Jutta Wanner and Karine G Le Roch; Recent advances in malaria drug discovery; *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*.23; 2829-2843; **2013**
- [38] Punit J. Shah, Janice Koshy, Nichelle Everett and Engie Attia; Severe Plasmodium falciparum Malaria Treated with Investigational Artesunate in the United States; *Journal of Pharmacy Practice*.33(1); 108-112; **2020**
- [39] Akram Bashira, Sameh Abdel-Hamidb, Alia Badawic and Ahmed S. Geneidi; Enhancing dissolution of artesunate from immediate release tablets using a green granulation technique; *Archives of Pharmaceutical Sciences Ain Shams University*.3(1); 55-77; **2019**
- [40] Andreas Martin Lisewski, Joel P. Quiros, Caroline L. Ng, Anbu Karani Adikesavan, Kazutoyo Miura, Nagireddy Putluri, Richard T. Eastman, Daniel Scanzfeld, Sam J. Regenbogen, Lindsey Altenhofen, Manuel Llina´s, Arun Sreekumar, Carole Long, David A. Fidock and Olivier Lichtarge; Supergenomic Network Compression and the Discovery of EXP1 as a Glutathione Transferase Inhibited by Artesunate; *Cell*.158(4); 916-928, **2014**
- [41] Richard K. Haynes, Ho-Wai Chan, Man-Ki Cheung, Wai-Lun Lam, May-Kei Soo, Hing-Wo Tsang, Arnd Voerste and Ian D. Williams; C-10 ester and ether derivatives of dihydroartemisinin-10- α artesunate, preparation of authentic 10- β artesunate, and of other ester and ether derivatives bearing potential aromatic intercalating groups at C-10; *European Journal of Organic Chemistry*.1; 113-132; **2002**
- [42] Luo Bi, Zheng Chu, Hong Zhao-Guo, Wang Xiao-Feng, Bian He-Dong and Huang Fu-Ping; Synthesis, Characterization and Antibacterial Activities Study of a Pharmaceutical Cocrystal of Artesunate and 4,4'-Bipyridine; *Chinese Journal of Structural Chemistry*.39(9); 1633-1638; **2020**
- [43] Vânia M. do Prado, Thiago B. de Queiroz, Paula M. Sá, Rafael C. Seiceira, Nubia Boechat and Fabio F. Ferreira; Mechanochemistry for the production of a hybrid salt used in the treatment of malaria; *Green Chemistry*.22(1); 54-61; **2020**
- [44] J. O. Adebayo, H. Tijjani, A. P. Adegunloye, A. A. Ishola, E. A. Balogun and S. O. Malomo; Enhancing the antimalarial activity of artesunate; *Parasitology Research*.119; 2749-2764; **2020**
- [45] R. A Harrington, C. W. Hamilton, R. N. Brogden, J. A. Linkewich, J. A. Romankiewicz and R. C. Heel; Metoclopramide; *Drugs*.25(5); 451-494; **1983**
- [46] María A. Varillas, Marta I.V. Brededan and Noelia L. Gonzalez Vidal; Pharmaceutical Equivalence and Similarity Studies of Metoclopramide Tablets; *Dissolution Technologies*.25(1); 14-21; **2018**
- [47] Y. Gert van der Meer, Willem A. Venhuizen, Daren K. Heyland and R. H. van Zanten; Should we stop prescribing metoclopramide as a prokinetic drug in critically ill patients?; *Critical Care*.18(5); 502-507; **2014**

- [48] Metoclopramide FDA label. Highlights of prescribing information; 1979; [cited 10 de agosto de **2022**; [Available from https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2017/017854s062lbl.pdf]
- [49] A. G. Mitchell; Polymorphism in metoclopramide hydrochloride and metoclopramide; *Journal of Pharmacy and Pharmacology*.37; 601-604; **1985**
- [50] Yuda Prasetya Nugraha and Hidehiro Uekusa; Suppressed hydration in metoclopramide hydrochloride by salt cocrystallisation; *CrystEngComm*.20; 2653-2662; **2018**
- [51] Adriana M. Godin, Wallace C.Ferreira, Leonardo Tadeu S.Rocha, João Gabriel T.Seniuk, André Luiz L.Paiva, Leonardo A.Merlo, Elias B.Nascimento Jr., Leandro F.S.Bastos e Márcio M.Coelho; Antinociceptive and anti-inflammatory activities of nicotinamide and its isomers in different experimental models; *Pharmacology Biochemistry and Behavior*.99; 782; **2011**
- [52] Nikoletta B. Báthori, Andreas Lemmerer, Gerhard A. Venter, Susan A. Bourne and Mino R. Caira; Pharmaceutical Co-crystals with Isonicotinamide—Vitamin B3, Clofibrac Acid, and Diclofenac—and Two Isonicotinamide Hydrates; *Crystal Growth & Design*.11(1); 75-87; **2010**
- [53] Jinjing Li, Susan A. Bournea and Mino R. Caira; New polymorphs of isonicotinamide and nicotinamide; *Chemical Communications*.47(5); 1530; **2011**
- [54] Christer B. Aakeröy, Alicia M. Beatty, Brian A. Helfrich, and Mark Nieuwenhuyzen; Do Polymorphic Compounds Make Good Cocrystallizing Agents? A Structural Case Study that Demonstrates the Importance of Synthon Flexibility; *Crystal Growth & Design*.3(2); 159-165; **2003**
- [55] Kevin S. Eccles, Rebecca E. Deasy, László Fábián, Doris E. Braun, Anita R. Maguire and Simon E. Lawrence; Expanding the crystal landscape of isonicotinamide: concomitant polymorphism and co-crystallisation; *Crystal Growth & Design*.13(23); 6923; **2011**
- [56] Tomoaki Hino, James L. Ford, Mark W. Powell; Assessment of nicotinamide polymorphs by differential scanning calorimetry; *Thermochimica Acta*.374; 85-92; **2001**
- [57] Ricardo A. E. Castro, João D. B. Ribeiro, Teresa M. R. Maria, M. Ramos Silva, Consuelo Yuste-Vivas, João Canotilho and M. Ermelinda S. Eusébio; Naproxen Cocrystals with Pyridine-carboxamide Isomers; *Crystal Growth & Design*.11; 5396-5404; **2011**
- [58] Lists of chemicals generally recognized as safe (GRAS) by US-FDA [cited 5 of September **2022**; <https://www.cfsanappsexternal.fda.gov/scripts/fdcc/?set=SCOGS&sort=Sortsubstance&order=ASC&startrow=1&type=basic&search=nicotinamide>]
- [59] Yoshihisa Miwa, Takashi Mizuno, Kazunori Tsuchida, Tooru Tagaa and Yutaka Iwata; Experimental charge density and electrostatic potential in nicotinamide; *Acta Crystallographica*.55; 78-84; **1999**
- [59] António O.L. Évora, Ricardo A.E. Castro, Teresa M.R. Maria, M. Ramos Silva, J.H. ter Horst, João Canotilho and M. Ermelinda S. Eusébio; A thermodynamic based approach on the investigation of a diflunisal pharmaceutical co-crystal with improved intrinsic dissolution rate; *International Journal of Pharmaceutics*.466; 68-75; **2014**
- [60] Clémence Neurohr, Mathieu Marchivie, Sophie Lecomte, Yohann Cartigny, Nicolas Couvrat, Morgane Sanselme and Pascale Subra-Paternault; Naproxen–Nicotinamide Cocrystals: Racemic and Conglomerate Structures Generated by CO₂ Antisolvent Crystallization; *Crystal Growth & Design*.15(9); 5616-4626; **2015**

- [61] Shigeru Ando, Junko Kikuchi, Yuko Fujimura, Kenjiro Higashi, Kunikazu Moribe and Keiji Yamamoto; Physicochemical Characterization and Structural Evaluation of a Specific 2:1 Cocrystal of Naproxen–Nicotinamide; *Journal of Pharmaceutical Sciences*.101(9); 3214-3221; **2012**
- [62] Justus von Liebig and Friedrich Wöhler; Untersuchungen über das Radikal der Benzoesäure; *Annales pharmaceutiques françaises*.3(3); 249-282; **1832**
- [63] Noalle Fellah, Alexander G. Shtukenberg, Eric J. Chan, Leslie Vogt-Maranto, Wenqian Xu, Chao Li, Mark E. Tuckerman, Bart Kahr and Michael D. Ward; Disorderly Conduct of Benzamide IV: Crystallographic and Computational Analysis of High Entropy Polymorphs of Small Molecules; *Crystal Growth & Design*.20(4); 2670-2682; **2020**
- [64] Harry G. Brittain; Vibrational Spectroscopic Studies of Cocrystals and Salts. 3. Cocrystal Products Formed by Benzenecarboxylic Acids and Their Sodium Salts; *Crystal Growth & Design*.10(4); 1990-2003; **2010**
- [65] Jinbo Ouyang a, Limin Zhou a, Zhirong Liu, Saijin Xiao, Xin Huang and Jerry Y.Y. Heng; Solubility determination and modelling of benzamide in organic solvents at temperatures from 283.15 K and 323.15 K, and ternary phase diagrams of benzamide-benzoic acid cocrystals in ethanol at 298.15 K; *Journal of Molecular Liquids*.286; 110885; **2019**
- [66] Elbagerma MA, Edwards HGM, Munshi T. and Scowen IJ; Identification of a new co-crystal of salicylic acid and benzamide of pharmaceutical relevance; *Analytical and Bioanalytical Chemistry*.397(1); 137-146; **2009**
- [67] Giovanna Bruni, Francesco Monteforte, Lauretta Maggi, Valeria Friuli, Chiara Ferrara and Piercarlo Mustarelli; Probenecid and benzamide: cocrystal prepared by a green method and its physico-chemical and pharmaceutical characterization; *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*.140(4); 1859-1869; **2020**
- [68] Jelena M. Andrić, Ivana S. Antonijević, Goran V. Janjić and Snežana D. Zarić; Influence of hydrogen bonds on edge-to-face interactions between pyridine molecules; *Journal of Molecular Modeling*.24(3); 60-70; **2018**
- [69] Frederik B. Mortzfeld, Chiam Hashem, Kvetoslava Vranková, Margit Winkler and Florian Rudroff; Pyrazines: Synthesis and Industrial Application of these Valuable Flavor and Fragrance Compounds; *Biotechnology Journal*.15(11); **2020**
- [70] U.S. EPA Distributed Structure-Searchable Toxicity (DSSTox) Database; Pyrazine Vapor Pressure; [cited 10 de agosto de **2022**; Available from <https://comptox.epa.gov/dashboard/DTXSID8049410>]
- [71] João A. Baptista, Ricardo A. E. Castro, Mário T. S. Rosado, Teresa M. R. Maria, M. Ramos Silva, João Canotilho and M. Ermelinda S. Eusébio; Polymorphic Cocrystals of the Antimalarial Drug Pyrimethamine: Two Case Studies; *Crystal Growth & Design*.21; 3699-3713; **2021**
- [72] Jolanta Natalia Latosińska, Magdalena Latosińska, Grzegorz A. Olejniczak, Janez Seliger and Veselko Žagar; Topology of the Interactions Pattern in Pharmaceutically Relevant Polymorphs of Methylxanthines (Caffeine, Theobromine, and Theophiline): Combined Experimental (¹H–¹⁴N Nuclear Quadrupole Double Resonance) and Computational (DFT and Hirshfeld-Based) Study; *Journal of Chemical Information and Modeling*.54(9); 2570-2584; **2014**
- [73] G. Enright, V. Terskikh, D. Brouwer and J. Ripmeester; The Structure of Two Anhydrous Polymorphs of Caffeine from Single-Crystal Diffraction and Ultrahigh-Field Solid-State ¹³C NMR Spectroscopy; *Crystal Growth & Design*.7; 1406; **2007**

- [74] Emma Dichi, Bernard Legendre and Mehrez Sghaier; Physico-chemical characterisation of a new polymorph of caffeine; *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*.115(2); 1551; **2014**
- [75] Kristoffer E. Johansson and Jacco van de Streek; Revision of the Crystal Structure of the First Molecular Polymorph in History; *Crystal Growth & Design*.16(3); 1366-1370; **2016**
- [76] Maria A. Susano, Pablo Martín-Ramos, Teresa M.R. Maria, Steven Folkersma, Laura C.J. Pereira and Manuela Ramos Silva; Co-crystal of suberic acid and 1,2-bis(4-pyridyl)ethane: A new case of packing polymorphism; *Journal of Molecular Structure*.1147; 46-83; **2017**
- [77] Evelina Colacino, Gandrath Dayaker, Alain Morère and Tomislav Frišćić; Introducing Students to Mechanochemistry via Environmentally Friendly Organic Synthesis Using a Solvent-Free Mechanochemical Preparation of the Antidiabetic Drug Tolbutamide; *Journal of Chemical Education*.96(4); 766-771, **2019**
- [78] Stuart L. James, Christopher J. Adams, Carsten Bolm, Dario Braga, Paul Collier, Tomislav Frišćić, Fabrizia Grepioni, Kenneth D. M. Harris, Geoff Hyett, h William Jones, Anke Krebs, c James Mack, Lucia Maini, A. Guy Orpen, Ivan P. Parkin, William C. Shearouse, Jonathan W. Steedk and Daniel C. Waddel; Mechanochemistry: opportunities for new and cleaner synthesis; *Chemical Society Reviews*.41(1); 413-447; **2012**
- [79] G. Kaupp; Mechanochemistry: the varied applications of mechanical bondbreaking; *CrystEngComm*.11(3); 388–403; **2009**
- [80] Amit Delori, Tomislav Frišćić and William Jones; *CrystEngComm*; The role of mechanochemistry and supramolecular design in the development of pharmaceutical materials; *CrystEngComm*.14(7); 2350-2362; **2012**
- [81] Julia L. Shamshina ORCID, Robin S. Stein ORCID and Noureddine Abidi; Choosing the right strategy: cryogrinding vs. ball milling – comparing apples to apples; *Green Chemistry*.23; 9646-9657; **2021**
- [82] Ivan Halasz, Simon A J Kimber, Patrick J Beldon, Ana M Belenguer, Frank Adams, Veijo Honkimäki, Richard C Nightingale, Robert E Dinnebier and Tomislav Frišćić; In situ and real-time monitoring of mechanochemical milling reactions using synchrotron X-ray diffraction. *Nature Protocols*.8(9); 1718-1729; **2013**
- [83] Karimi-Jafari, Maryam; Padrela, Luis; Walker, Gavin M.; Croker and Denise M. Creating; Cococrystals: A review of Pharmaceutical Cococrystal Preparation Routes and Applications; *Crystal Growth & Design*.18(10); 6370- 6387; **2018**
- [84] Nitin Pawar, Anindita Saha, Neelesh Nandan and Jose V. Parambil; Solution cococrystallization: A scalable approach for cococrystal production; *Crystals*.11(3); **2011**
- [85] Andrei A. Bunaciu, Hassan Y., Aboul-Enein and Serban Fleschin; Application of Fourier Transform Infrared Spectrophotometry in Pharmaceutical Drugs Analysis; *Applied Spectroscopy Reviews* .45(3); 206-219; **2010**
- [86] R. Dunmur and M. Murray; *Spectroscopic Methods in Organic Chemistry*, M. Hesse, H. Meier, and B. Zeeh: Editors; Georg Thieme Verlag: Stuttgart, **2008**
- [87] John M. Chalmers and Geoffrey Dent; *Vibrational Spectroscopic Methods in Pharmaceutical Solid-state Characterization*, in *Polymorphism: in the Pharmaceutical Industry*, D.R. Hilfiker: Editor; Wiley- VCH Verlag GmbH & Co; 95-138; **2006**

- [88] Shahid Ali Khan, Sher Bahadar Khan, Latif Ullah Khan, Aliya Farooq, Kalsoom Akhtar and Abdullah M. Asiri; Chapter 9 - Fourier Transform Infrared Spectroscopy: Fundamentals and Application in Functional Groups and Nanomaterials Characterization; Ed: Sharma SK, ed. Handbook of Materials Characterization; Springer International Publishing; 317– 344; **2018**
- [89] J.D Schuttlefield and V.H Grassian; ATR-FTIR spectroscopy in the undergraduate chemistry laboratory part I: Fundamentals and examples; Journal of Chemical Education.85(2); 279–281; **2008**
- [90] Sophie-Dorothee Clas, Chad R. Dalton and Bruno C. Hancock; Differential scanning calorimetry: applications in drug development; Pharmaceutical Science & Technology Today.2(8); 311-320; **1999**
- [91] Haines and F. Wilburn; Chapter 5 - Differential thermal analysis and differential scanning calorimetry; in Handbook of Thermal Analysis and Calorimetry; Elsevier Science B.V.: Amsterdam; 279–361; **1998**
- [92] S. C. Mojumdar, M. Sain, R. C. Prasad, L. Sun and J. E. S. Venart J; Selected thermoanalytical methods and their applications from medicine to construction; Journal of Thermal Analysis and Calorimetry.90; 653–662; **2007**
- [93] D. Giron; Contribution of thermal methods and related techniques to the rational development of pharmaceuticals - Part 1; Pharmaceutical Science & Technology Today.1(5), 191-199; **1998**
- [94] Nichola J. Coleman and Duncan Q.M. Craig; Modulated temperature differential scanning calorimetry: A novel approach to pharmaceutical thermal analysis; International Journal of Pharmaceutics.131(1-2); 13-29; **1996**
- [95] R. Sabbah, An Xu-wu, J.S. Chickos, M.L. Planas Leitão, M.V. Roux, L.A. Torres, Reference materials for calorimetry and differential thermal analysis; Thermochimica Acta.331(2); 93-204; **1999**
- [96] Andrei A. Bunaciu, Elena Gabriela Udriștioiu and Hassan Y. Aboul-Enein; X - RAY DIFFRACTION: Instrumentation and Applications; Critical Reviews in Analytical Chemistry.45(4); 289–299; **2015**
- [97] W. H. Bragg and W. L. Bragg; The reflection of X-rays by crystals; Proceedings of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences.88(605);428-438; **1913**
- [98] J. Haleblian and W.McCrone; Pharmaceutical Application of Polymorphs; Journal of Pharmaceutical Sciences.58; 911-929; **1969**
- [99] Kenneth D.M. Harris; Powder Diffraction Crystallography of Molecular Solids, in Advanced XRay Crystallography, K. Rissanen, Editor. **2012**, Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg. 133-177
- [100] E. L. Charsley, C. Stewart, P. A. Barnes and G. M. B. Parkes; Development and applications of sample controlled thermomicroscopy; Journal of Thermal Analysis and Calorimetry.72; 1087-1090; **2003**
- [101] ICH Q1A (R2): Stability Testing of New Drug Substances and Products. EMEA (CPMP/ICH/2736/99); **2003**
- [102] Maylis Orio, Dimitrios A. Pantazis and Frank Neese; Density functional theory; Photosynthesis Research.102(2); 443-453; **2009**
- [103] Christopher J. Cramer; Essentials of Computational Chemistry: Theories and Models; Department of Chemistry and Supercomputing Institute, University of Minnesota, USA; Second Edition; Wiley; **2004**
- [104] W. Kohn and L. J. Sham; Self-Consistent Equations Including Exchange and Correlation Effects; Physical Review.140(4); A1133-A1138; **1965**

- [105] Florian Weigenda and Reinhart Ahlrichs; Balanced basis sets of split valence, triple zeta valence and quadruple zeta valence quality for H to Rn: Design and assessment of accuracy; *Physical Chemistry Chemical Physics*.7(18); 3297-3305; **2005**
- [106] Joana F. C. Silva, Mário T. S. Rosado, Małgorzata Ja-siurkowska-Delaporte, Manuela R. Silva, M. Fátima M. Piedade, Ewa Dryzek and M. Ermelinda S. Eusébio; Ordered and Plastic Crystals in the Complex Polymorphism of Pinanediol; *Crystal Growth & Design*.19; 6127-6135; **2019**
- [107] Shijie Li, Rupeng Bu, Rui-jun Gou and Chaoyang Zhang; Hirshfeld Surface Method and Its Application in Energetic Crystals; *Crystal Growth and Design*.21(12); 6619-6634; **2021**
- [108] Mark A. Spackman and Dylan Jayatilaka; Hirshfeld surface analysis; *CrystEngComm*.11(1); 19-32; **2009**
- [109] W.Shin, T.S.Chang and C.H.Koo; The Crystal Structure of Metoclopramide; *Bulletin of the Korean Chemical Society*.4(3); 123-127; **1983**
- [110] S.Ide, N.Karacan and Y.Tufan; 1,2-Bis(4-pyridyl)ethane; *Acta Crystallographica, Section C: Crystal Structure Communications*.51(11); 2304–2305; **1995**
- [111] P.Vishweshwar, A.Nangia and V.M.Lynch; Experimental Crystal Structure Determination; *CCDC* 199977; **2003**
- [112] Jinjing Li, S.A.Bourne and M.R.Caira; Experimental Crystal Structure Determination; *CCDC* 794756; **2011**
- [113] C.W.Lehmann and F.Stowasser; Experimental Crystal Structure Determination; *CCDC* 610381; **2007**
- [114] Julia Contreras-García, Erin R. Johnson, Shahar Keinan, Robin Chaudret, Jean-Philip Piquemal, David N. Beratan and Weitao Yang; NCIPLOT: A Program for Plotting Noncovalent Interaction Regions; *Journal of Chemical Theory and Computation*.7; 625-632; **2011**
- [115] Roberto Álvarez Boto, Francesca Peccati, Rubén Laplaza, Chaoyu Quan, Alessandra Carbone, Jean-Philip Piquemal, Yvon Maday and Julia Contreras-Garcia; NCIPLOT4: fast, robust and quantitative analysis of noncovalent interactions; *Journal of Chemical Theory and Computation*.15(7); 4150-4158; **2020**
- [116] Thomas Williams and Colin Kelley; Gnuplot 4.6: an interactive plotting program; **2013**
- [117] W. Humphrey, A. Dalke and K. Schulten; VMD - Visual Molecular Dynamics; *Journal of Molecular Graphics and Modelling*.14; 33-38; **1996**
- [118] Denisa Circioban, Ionut Ledeti, Gabriela Vlase, Adriana Ledeti, Carmen Axente, Titus Vlase and Cristina Dehelean; Kinetics of heterogeneous-induced degradation for artesunate and artemether; *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*; **2018**
- [119] Shan-Yang Lin; Molecular perspectives on solid-state phase transformation and chemical reactivity of drugs: metoclopramide as an example; *Drug Discovery Today*.20(2); 209-222; **2015**
- [120] Tejender S. Thakur and Gautam R. Desiraju; Crystal Structure Prediction of a Co-Crystal Using a Supramolecular Synthon Approach: 2-Methylbenzoic Acid–2-Amino-4-methylpyrimidine; *Crystal Growth and Design*.8(11); 4031-4044; **2008**
- [121] Jack. D. Dunitz and W. Bernd Schweizer; Molecular Pair Analysis: C-H...F Interactions in the Crystal Structure of Fluorobenzene? And Related Matters; *Chemistry a European Journal*.12(26); 6804-6815; **2006**

[122] Subhankar Saha and Gautam R. Desiraju; Acid-...Amide Supramolecular Synthon in Cocrystals: From Spectroscopic Detection to Property Engineering; Journal of the American Chemical Society.140(20); 6361-6373; **2018**

[123] Arijit Mukherjee, Srinu Tothadi, Shaunak Chakraborty, Somnath Ganguly and Gautam R. Desiraju; Synthon identification in co-crystals and polymorphs with IR spectroscopy. Primary amides as a case study; CrystEngComm.15(23);4640-4671; **2013**

[124] Ana Marques; Investigação de cocrystalis farmacêuticos e estudos de compatibilidade cocrystal-excipientes; Tese de Mestrado, Mestrado em Química Avançada, variante em Desenvolvimento e Estratégia. Universidade de Coimbra, **2021**

[125] German L. Perlovich; Thermodynamic characteristics of cocrystal formation and melting points for rational design of pharmaceutical two-component systems; CrystEngComm.17(37); 7019-7028; **2015**

Anexos

Anexos

Anexo I – Secção 3.3.1

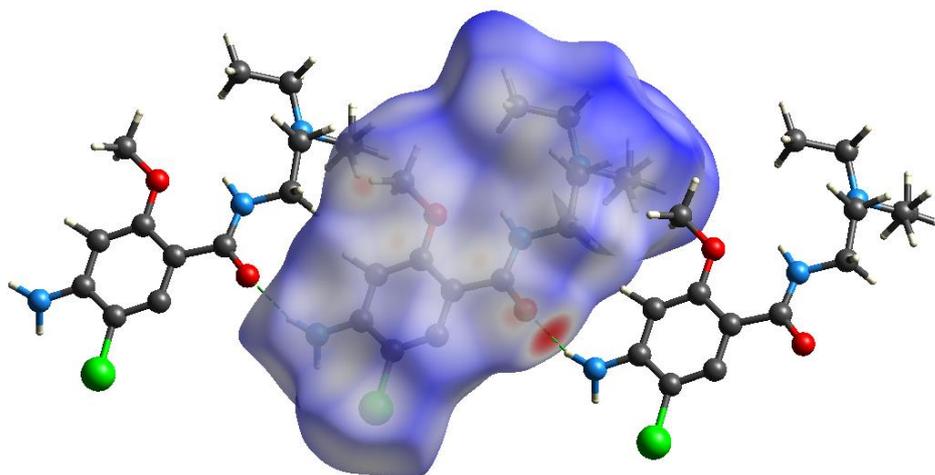


Figura A1. Superfície de Hirshfeld da molécula MCP. As interações por pontes de hidrogénio estão assinaladas a tracejado na cor verde.

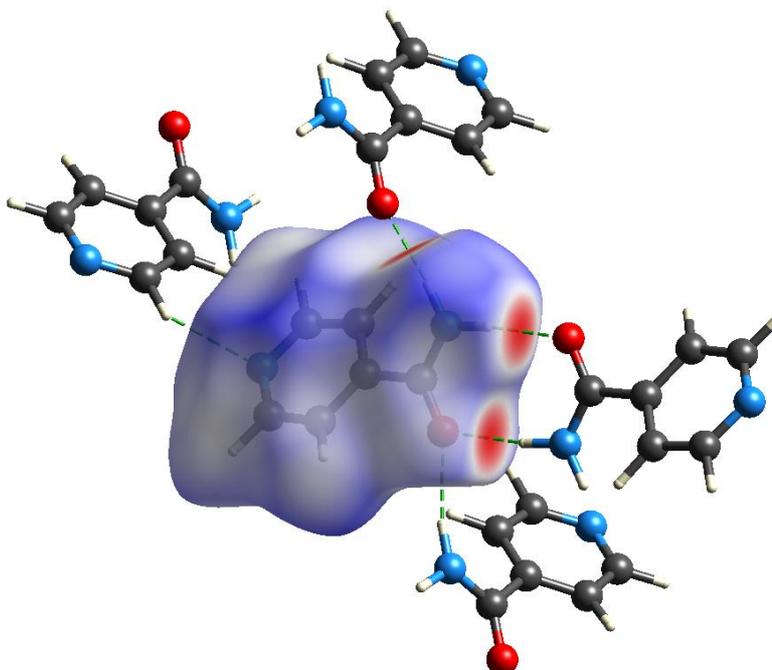


Figura A2. Superfície de Hirshfeld da molécula ISONAM. As interações por pontes de hidrogénio estão assinaladas a tracejado na cor verde.

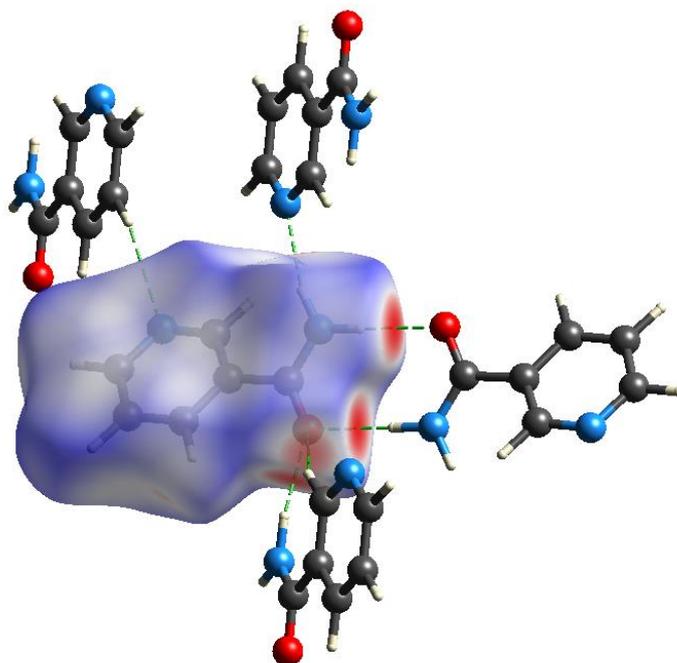


Figura A3. Superfície de Hirshfeld da molécula NAM. As interações por pontes de hidrogénio estão assinaladas a tracejado na cor verde.

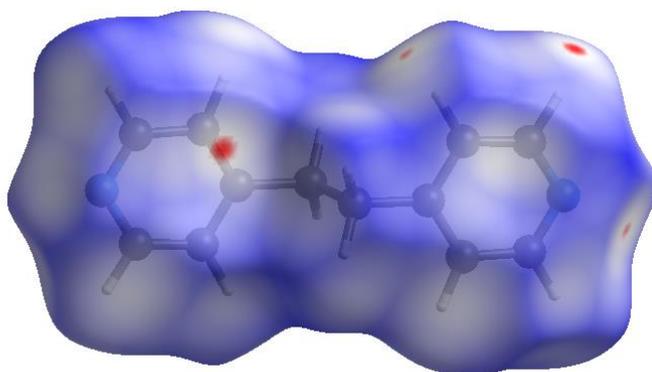


Figura A4. Superfície de Hirshfeld da molécula BIS.

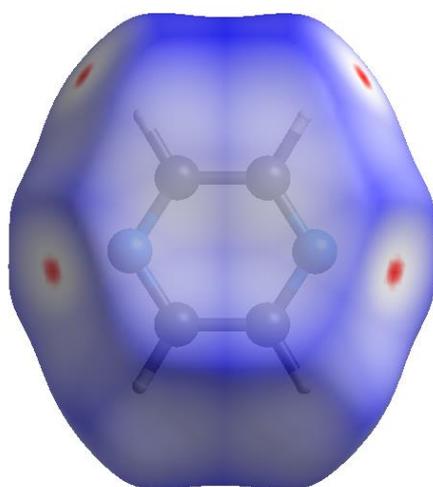


Figura A4. Superfície de Hirshfeld da molécula PYZ.

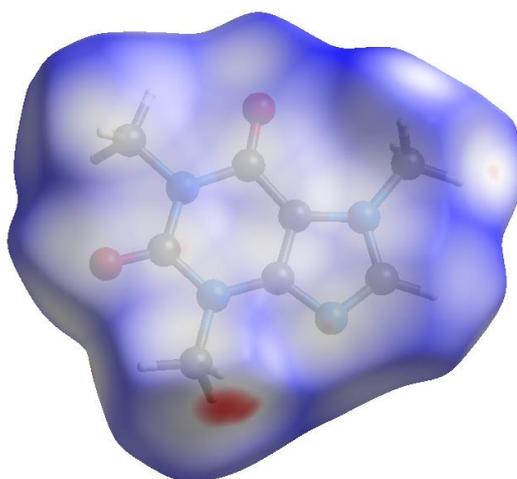


Figura A6. Superfície de Hirshfeld da molécula CAF.

Anexo II – Secção 3.4.2

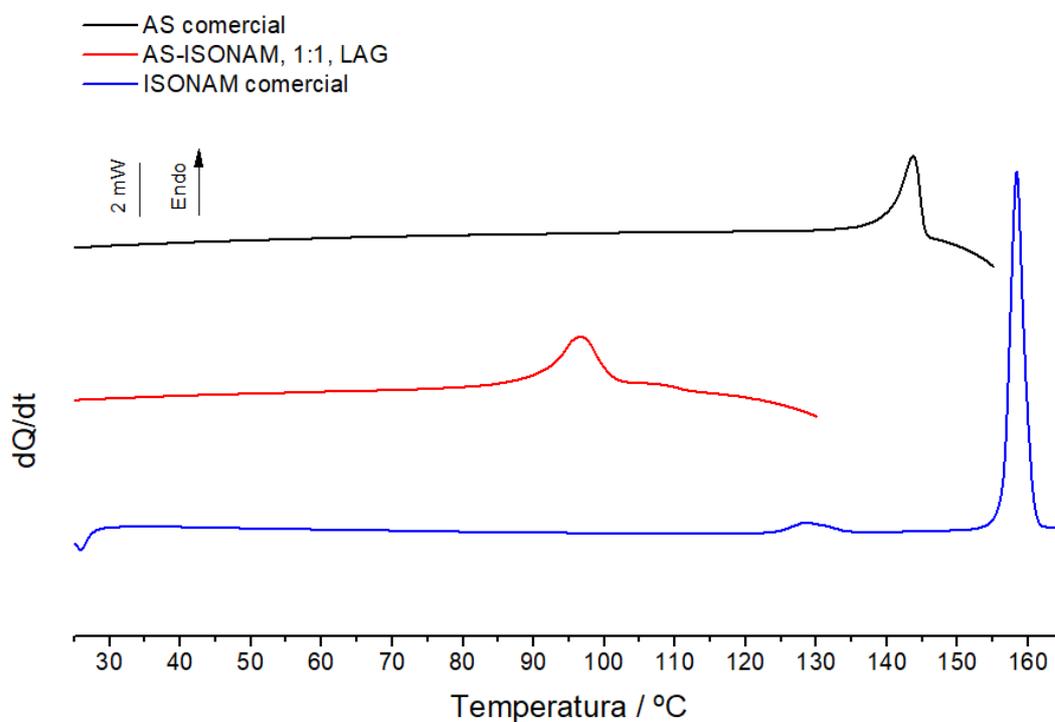


Figura A7. Curvas de DSC de aquecimento do AS comercial, $m = 1,77$ mg, da mistura AS-ISONAM (1:1) obtida por LAG, $m = 1,82$ mg e da ISONAM comercial, $m = 2,10$ mg. ($\beta = 10$ °C/min.).

Anexo III – Secção 3.5.2

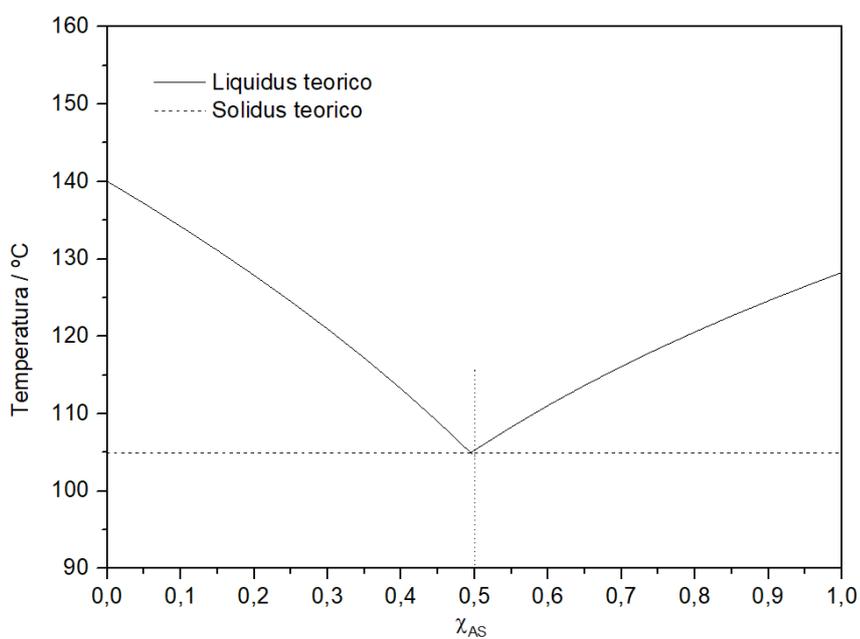


Figura A8. Diagrama de fases binário sólido-líquido do sistema AS com NAM, à pressão atmosférica.

Anexo IV – Secção 3.7.3

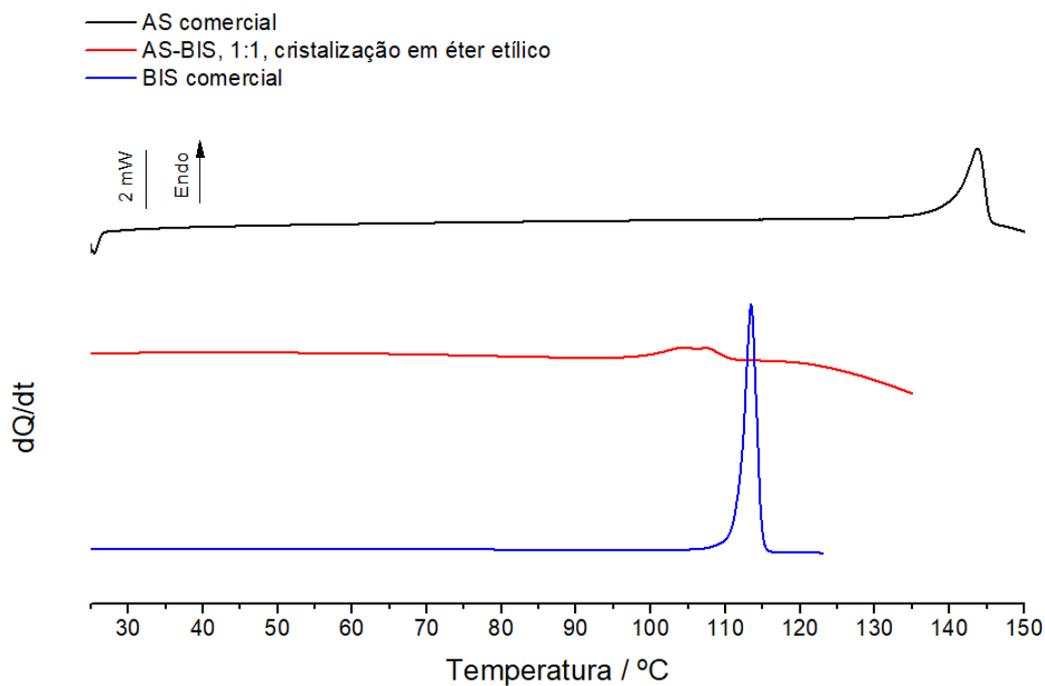


Figura A9. Curvas de DSC de aquecimento do AS comercial, $m = 1,77$ mg, da mistura AS-BIS (1:1) obtida por cristalização em éter etílico, $m = 1,32$ mg, e do BIS comercial, $m = 2,39$ mg ($\beta = 10$ °C/min.).

Anexo V – Secção 3.8.2

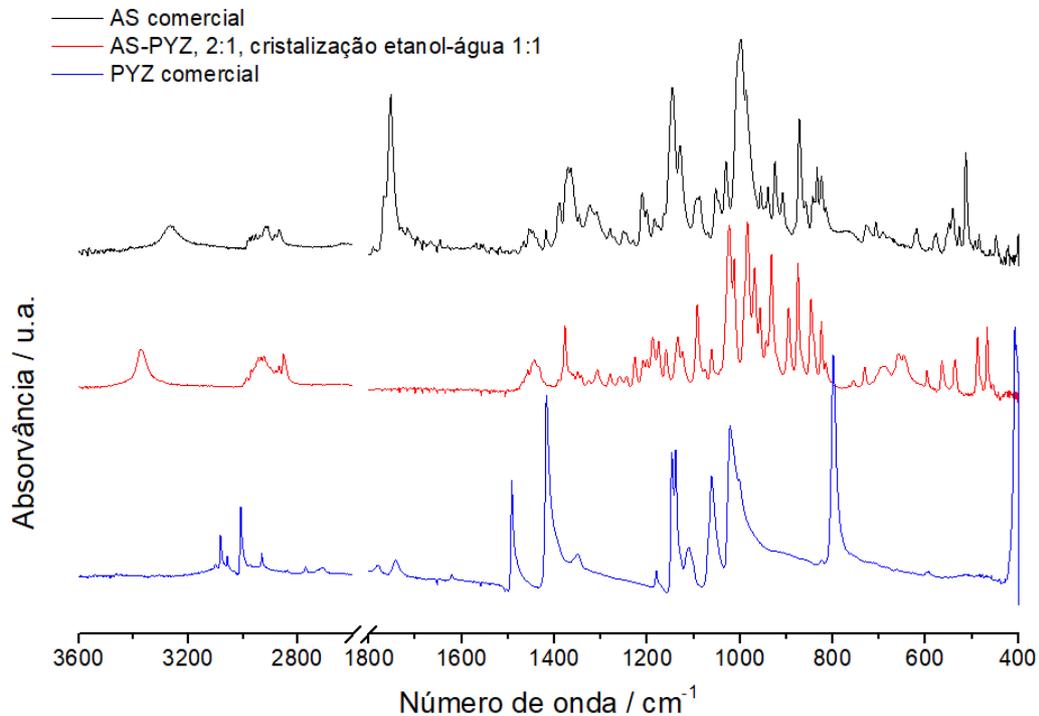


Figura A10. Espectros de IV do AS comercial, da mistura AS-PYZ (2:1) obtidas por cristalização em etanol-água (1:1) e da PYZ comercial.

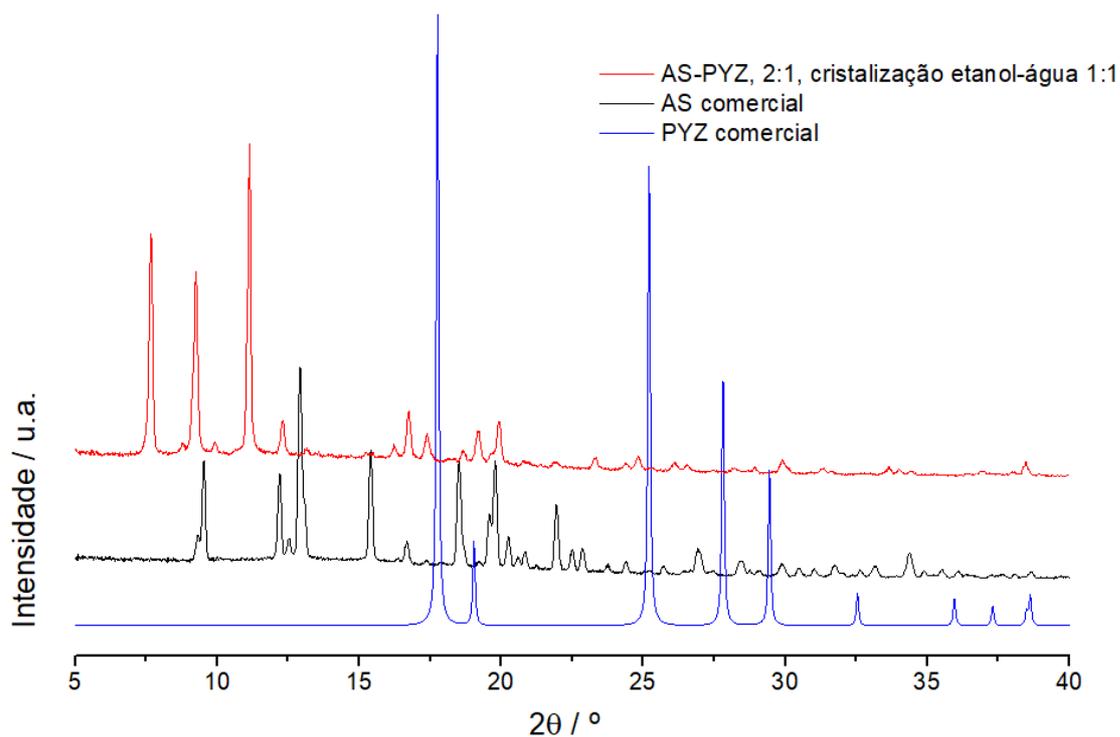


Figura A11. Difractogramas de raios-X de pó da mistura AS-PYZ (2:1) obtidas por cristalização em etanol-água (1:1), do AS comercial e da PYZ comercial.

Anexo VI – Secção 3.8.3

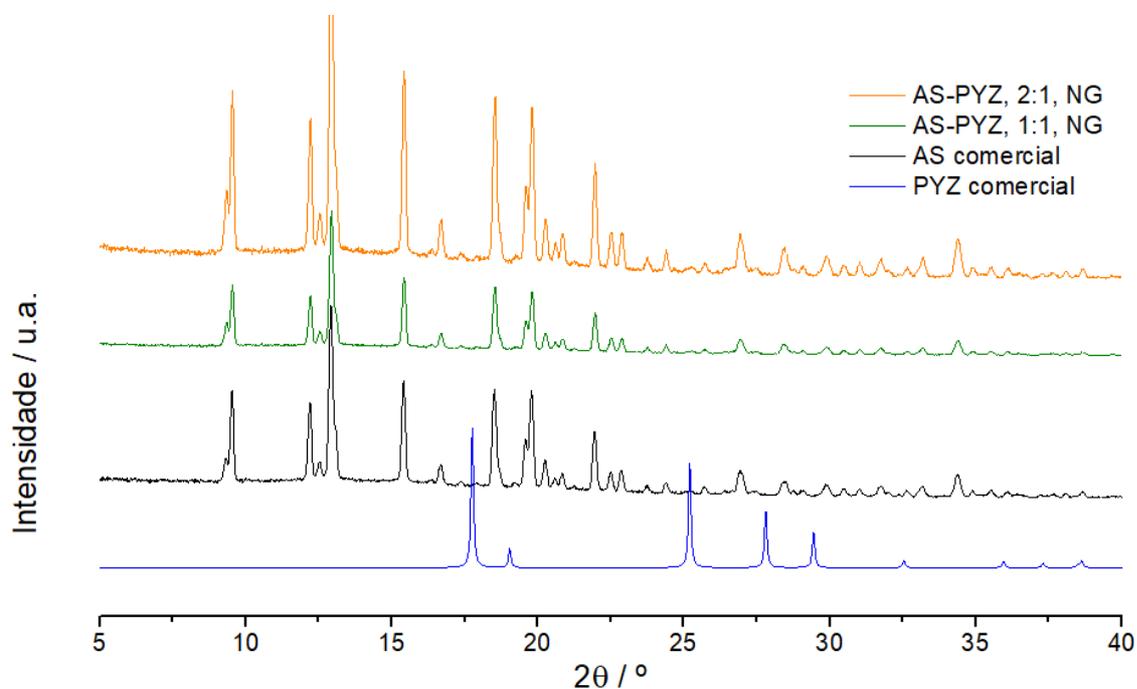


Figura A12. Difractogramas de raios-X de pó das misturas AS-PYZ (1:1) e (2:1) obtidas NG, do AS comercial e da PYZ comercial.

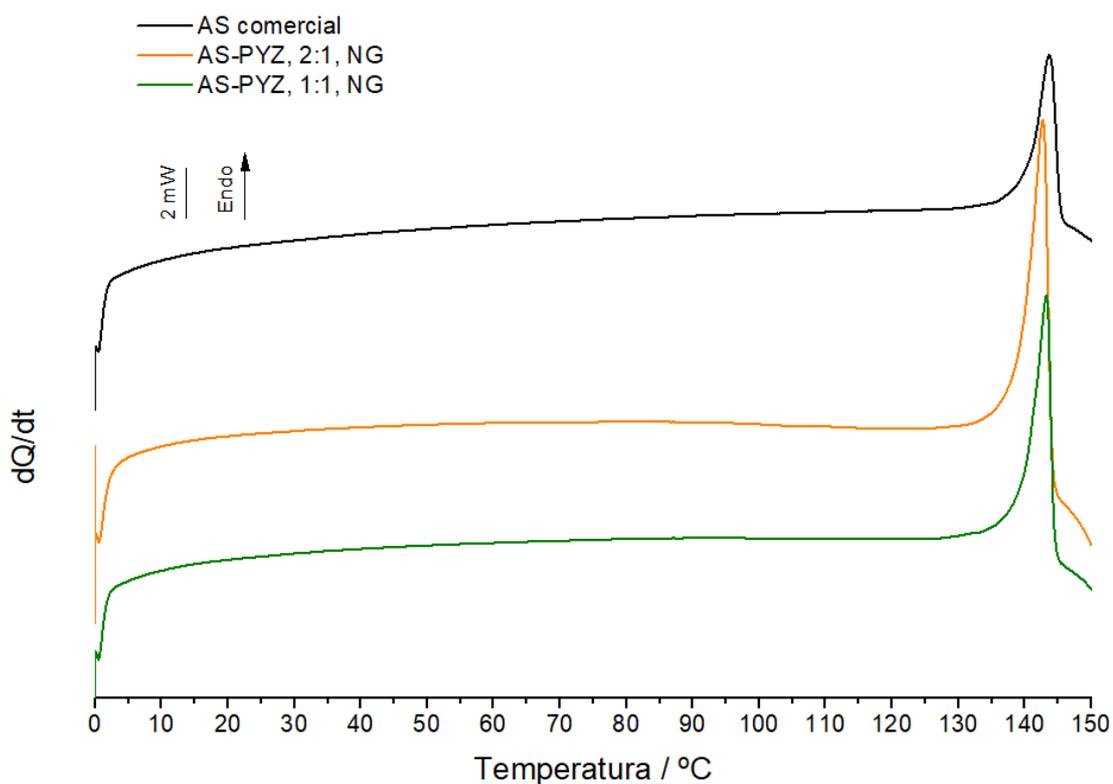


Figura A13. Curvas de DSC de aquecimento do AS comercial, $m= 1,77$ mg, das misturas AS-PYZ (1:1) e (2:1) obtidas NG, $m= 1,40$ mg e $m= 1,35$ mg respectivamente, e do PYZ comercial, $m= 1,46$ mg ($\beta = 10$ °C/min.).

Anexo VII – Secção 3.9.2

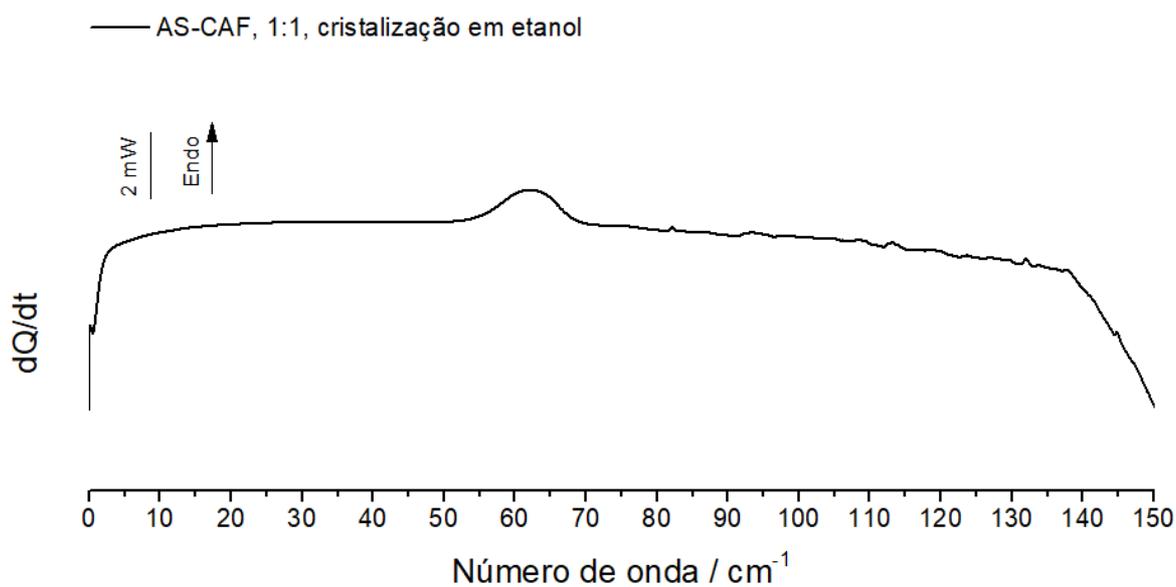


Figura A14. Curvas de DSC de aquecimento do AS comercial, $m= 1,77$ mg, da mistura AS-CAF (1:1) obtida cristalização em etanol, $m= 1,78$, e da CAF comercial, $m= 1,09$ mg ($\beta = 10$ °C/min.).

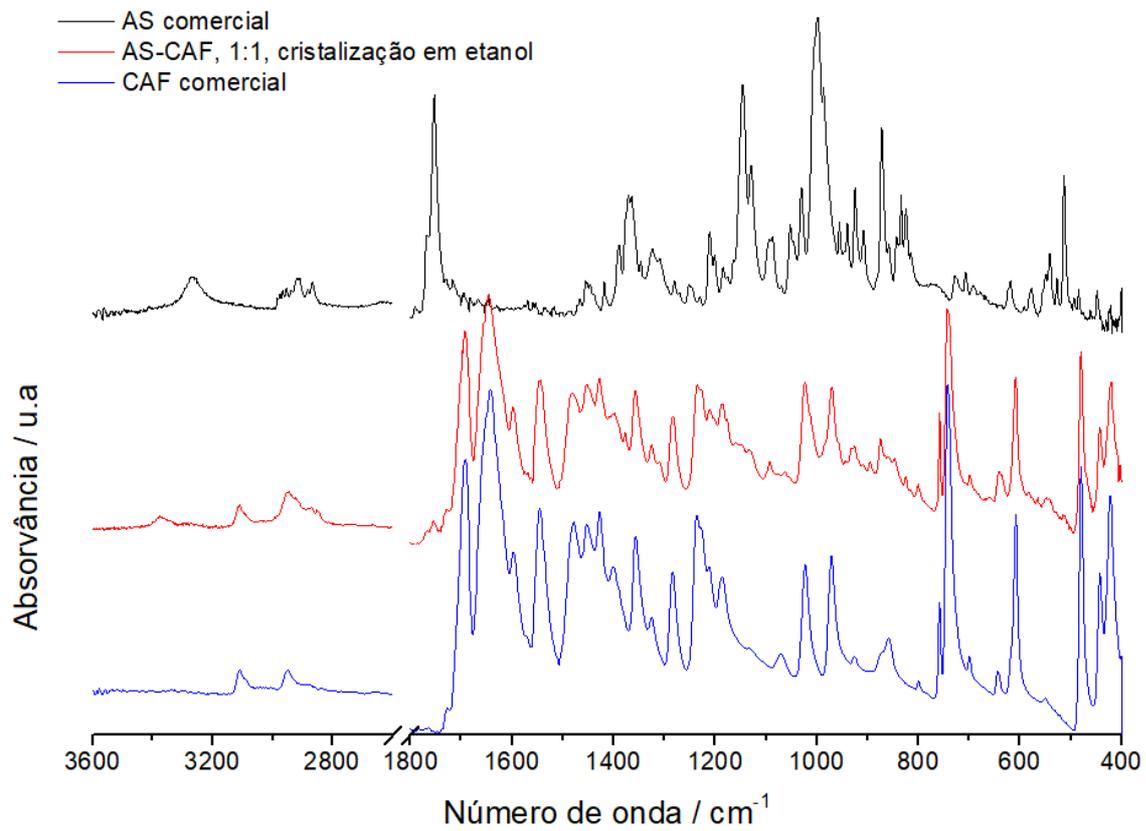


Figura A15. Espectros de infravermelho da amostra comercial de AS, da mistura AS-CAF (1:1) obtida por cristalização em etanol e da amostra comercial de CAF.