



UNIVERSIDADE D  
**COIMBRA**

Inês Margarida Rodrigues Morgado

**INVESTIGAÇÃO DE POLIMORFISMO E DE FORMAS  
SÓLIDAS MULTICOMPONENTE DE  
DELAFLORACINA, UMA FLUOROQUINOLONA DE  
QUARTA GERAÇÃO**

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

Setembro de 2022



Inês Margarida Rodrigues Morgado

**INVESTIGAÇÃO DE POLIMORFISMO E DE  
FORMAS SÓLIDAS MULTICOMPONENTE DE  
DELAFLOXACINA, UMA FLUOROQUINOLONA DE  
QUARTA GERAÇÃO**

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

Setembro de 2022



# Agradecimentos

Agradeço em primeiro lugar ao Professor Doutor João Carlos Canotilho Lage, pela oportunidade, orientação e disponibilidade ao longo do projeto.

À Professora Doutora Maria Ermelinda da Silva Eusébio, pelos conhecimentos transmitidos e pela dedicação que sempre mostrou.

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

Ao *Centro di Cristallografia Strutturale (CRIST)*, da Universidade de Florença, pela colaboração prestada neste projeto.

A todos os colegas de grupo, pela prontidão que sempre mostraram em ajudar.

Aos meus amigos, Carolina, Cindy, Daniel, Daniela, Gonçalo, Joana, Maria, Márcia, pela amizade e apoio ao longo de todo o meu percurso académico.

Agradeço em especial à minha família, aos meus pais, ao meu irmão e à minha irmã, por todo o seu apoio e por estarem sempre presentes, dando-me o impulso a completar este desafio. Nada disto teria sido possível sem vocês.

A todos,

O meu sincero obrigada.



# Índice

Índice de Figuras.....	iii
Índice de Tabelas.....	ix
Abreviaturas.....	xi
Resumo.....	xiii
Abstract.....	xv
Capítulo 1.....	3
1. Introdução.....	3
1.1. Formas sólidas de ativos farmacêuticos.....	3
1.1.2 Sistema de classificação biofarmacêutico (BCS).....	5
1.2. Engenharia de cristais.....	7
1.3 Objetivo.....	8
1.4 Delafloxacina e coformadores utilizados neste trabalho.....	9
1.4.1 Quinolonas.....	9
1.4.1.1 Delafloxacina.....	11
1.4.2 Estilbenos.....	12
1.4.2.1 <i>Trans</i> -resveratrol.....	13
1.4.2.2 <i>Trans</i> -pteroestilbeno.....	15
1.5 Ácido nicotínico.....	16
1.6 Nicotinamida.....	17
1.7 Aminoácidos: <i>L</i> -triptofano e <i>L</i> -prolina.....	18
1.8 Sacarina.....	19
1.9 4, 4' - Bipiridil.....	20
Capítulo 2.....	23
2.1. Materiais e métodos.....	23
2.1.1. Materiais utilizados.....	23
2.1.2 Métodos de preparação das amostras.....	25
2.1.2.1 Mecanoquímica.....	25
2.1.2.2. Cristalização de solução.....	26
2.2. Caracterização dos sólidos obtidos.....	26
2.2.1. Análise Térmica.....	26
2.2.1.1 Calorimetria Diferencial de Varrimento (DSC).....	27
2.2.1.2. Análise Termogravimétrica (TGA).....	28

2.2.1.3 Termomicroscopia com Luz Polarizada (PLTM) .....	29
2.2.2. Espectroscopia de Infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) .....	30
2.2.3. Espectroscopia de Difração de Raios-X (XRD).....	31
Capítulo 3.....	35
3. Resultados e Discussão.....	35
3.1. Delafloxacinina - pesquisa e caracterização de formas polimórficas.....	35
3.1.1. Avaliação do composto comercial .....	35
3.1.2 Pesquisa de formas polimórficas por mecanoquímica .....	38
3.1.3. Estudo da influência do solvente na obtenção de formas polimórficas da delafloxacinina .....	44
3.1.4 Estrutura cristalina de um polimorfo de delafloxacinina.....	52
3.2. Investigação de sólidos multicomponente.....	55
3.2.1 Delafloxacinina + nutracêuticos .....	55
3.2.1.1 Sistema delafloxacinina + resveratrol .....	55
3.2.1.2 Sistema delafloxacinina + pterostilbeno .....	61
3.2.2.1 Delafloxacinina + ácido nicotínico.....	68
3.2.2.2 Delafloxacinina + nicotinamida .....	69
3.2.3 Delaflocina + aminoácidos .....	73
3.2.4 Delafloxacinina + sacarina.....	76
3.2.5 Delafloxacinina + 4,4' – biperidil .....	79
Capítulo 4.....	83
Conclusões e perspectivas futuras .....	83
Referências Bibliográficas.....	87
Anexos .....	99

## Índice de Figuras

<b>Figura 1.1.</b> Representação esquemática de diferentes formas sólidas de ativos farmacêuticos...	4
<b>Figura 1.2.</b> Sistema de Classificação Biofarmacêutico (BCS).....	6
<b>Figura 1.3.</b> Representação de homo e heterossintões: a) ácido – ácido; b) amida-amida; c) ácido carboxílico – piridina; d) ácido carboxílico – amida. ....	8
<b>Figura 1.4.</b> Estrutura do núcleo ativo das quinolonas.....	9
<b>Figura 1.5.</b> Representação da estrutura química da delafloxacina.....	11
<b>Figura 1.6.</b> Representação da estrutura química do <i>trans</i> -estilbeno. ....	12
<b>Figura 1.7.</b> Representação da estrutura química do <i>trans</i> -resveratrol. ....	13
<b>Figura 1.8.</b> Representação da estrutura química do <i>trans</i> -pteroestilbeno. ....	15
<b>Figura 1.9.</b> Representação da estrutura química do ácido nicotínico. ....	16
<b>Figura 1.10.</b> Representação da estrutura química da nicotinamida. ....	17
<b>Figura 1.11.</b> Representação da estrutura química da prolina (a) e do triptofano (b). ....	18
<b>Figura 1.12.</b> Representação da estrutura química da sacarina.....	19
<b>Figura 1.13.</b> Representação da estrutura química do 4, 4' - biperidil.....	20
<b>Figura 3.1.1.</b> Difratoograma de raios-X de pó da amostra comercial de delafloxacina.....	35
<b>Figura 3.1.2.</b> Curva de DSC de uma amostra de delafloxacina comercial sujeita a um programa de aquecimento de 25 °C a 265 °C, $\beta = 10$ °C / min, m = 1.05 mg.....	36
<b>Figura 3.1.3.</b> Espectro de infravermelho obtido para uma amostra de delafloxacina comercial. ....	37
<b>Figura 3.1.4.</b> Difratoogramas de raios-X de pó das amostras de delafloxacina comercial, NG e LAG. ....	38
<b>Figura 3.1.5.</b> Espectros de infravermelho de amostras de delafloxacina comercial, NG e LAG.....	39
<b>Figura 3.1.6.</b> Curvas de DSC de aquecimento de amostras de delafloxacina comercial e submetidas a moagens, NG e LAG, $\beta = 10$ °C / min.....	40
<b>Figura 3.1.7.</b> Imagens registadas de uma amostra de delafloxacina LAG ao longo de um ensaio de aquecimento com recurso à microscopia de luz polarizada com uma ampliação de x200. a) Delafloxacina LAG a 25 °C; b) Delafloxacina LAG a 144 °C; c) Início da fusão da delafloxacina LAG a 238 °C; d) T = 241 °C; e) T = 244 °C. ....	41
<b>Figura 3.1.8.</b> Imagens registadas de uma amostra de delafloxacina NG no aquecimento até à fusão, ampliação de x200. a) Delafloxacina NG a 25.0 °C; b) Delafloxacina NG a 61.0 °C; c) Início	

da fusão da delafloxacina NG a 235 °C; d) T = 238 °C; e) Fusão de uma segunda forma da delafloxacina NG a 244 °C.....	41
<b>Figura 3.1.9.</b> Curvas termogravimétricas (TGA) de uma amostra comercial de delafloxacina e de amostras obtidas por NG e LAG. ....	42
<b>Figura 3.1.10.</b> Difrátogramas de raios-X de pó de uma amostra de delafloxacina comercial e de uma amostra obtida por NG, recolhidos em períodos de tempo diferentes, após preparação.....	43
<b>Figura 3.1.11.</b> Difrátogramas de raios-X de pó de amostras de delafloxacina cristalizada em diferentes solventes, indicados na Figura. ....	46
<b>Figura 3.1.12.</b> Espetros de infravermelho de amostras de delafloxacina cristalizada em diferentes solventes, indicados na Figura.....	46
<b>Figura 3.1.13.</b> Difrátogramas de raios-X de pó de amostras de delafloxacina cristalizada em diferentes solventes variando as condições experimentais (Tamb exceto quando referido): a) acetato de etilo; b) clorofórmio; c) THF. ....	47
<b>Figura 3.1.14.</b> Espetros de infravermelho de amostras de delafloxacina obtidas por cristalização em acetato de etilo.....	48
<b>Figura 3.1.15.</b> Espetros de infravermelho de amostras de delafloxacina obtidas por cristalização em clorofórmio.....	49
<b>Figura 3.1.16.</b> Espetros de infravermelho de amostras de delafloxacina obtidas por cristalização em THF.....	49
<b>Figura 3.1.17.</b> Curvas de DSC de várias amostras de delafloxacina cristalizadas em acetato de etilo e sujeitas a um programa de aquecimento de 25 °C a 265 °C, $\beta = 10 \text{ °C / min}$ .....	50
<b>Figura 3.1.18.</b> Curvas de DSC de várias amostras de delafloxacina cristalizadas em clorofórmio e sujeitas a um programa de aquecimento de 25 °C a 265 °C, $\beta = 10 \text{ °C / min}$ . ....	51
<b>Figura 3.1.19.</b> Curvas de DSC de várias amostras de delafloxacina cristalizadas em THF e sujeitas a um programa de aquecimento de 25 °C a 265 °C, $\beta = 10 \text{ °C / min}$ .....	51
<b>Figura 3.1.20.</b> a) Estrutura da delafloxacina cristalizada de etanol; b) Ligações de hidrogénio inter e intramoleculares estabelecidas; c) Empacotamento da célula unitária da delafloxacina cristalizada de etanol, vista ao longo do eixo a.....	53
<b>Figura 3.1.21.</b> Difrátogramas da delafloxacina comercial e da estrutura resolvida cuja amostra foi cristalizada de etanol.....	54
<b>Figura 3.2.1.</b> Difrátogramas de raios-X de pó do resveratrol comercial e difratogramas simulados a partir das estruturas depositadas na CCDC. ....	56

<b>Figura 3.2.2.</b> Difractogramas de raios-X de pó das amostras de resveratrol comercial, NG e LAG. ....	56
<b>Figura 3.2.3.</b> Difractogramas de raios-X de pó de amostras de delafloxacina e resveratrol comerciais, obtidas por LAG, e da mistura DLX:RSV (1:1) obtida por LAG. ....	57
<b>Figura 3.2.4.</b> Espetros de infravermelho de amostras de delafloxacina e resveratrol comerciais, obtidas por LAG e da mistura DLX:RSV (1:1) obtidas por LAG. ....	58
<b>Figura 3.2.5.</b> Difractogramas de raios-X de pó de amostras de delafloxacina e resveratrol comerciais, obtidas por NG, e da mistura DLX:RSV (1:1) obtida por NG. ....	59
<b>Figura 3.2.6.</b> Espetros de infravermelho de amostras de delafloxacina e resveratrol comerciais, obtidas por NG e da mistura DLX:RSV (1:1) obtidas por NG. ....	59
<b>Figura 3.2.7.</b> Difractogramas de raios-X de pó de amostras da mistura (1:1) delafloxacina:resveratrol NG analisadas ao longo do tempo. ....	60
<b>Figura 3.2.8.</b> Curvas de DSC de aquecimento de amostras de delafloxacina e resveratrol comerciais e submetidas a moagens em LAG, e da mistura DLX:RSV (1:1) submetida a LAG, $\beta = 10$ °C / min. ....	60
<b>Figura 3.2.9.</b> Curvas de DSC de aquecimento de amostras de delafloxacina e resveratrol comerciais e submetidas a moagens em NG, e da mistura DLX:RSV (1:1) submetida a NG, $\beta = 10$ °C / min. ....	61
<b>Figura 3.2.10.</b> Difractograma de raios-X de pó do pteroestilbeno comercial e difractograma simulado a partir da estrutura identificada como QAHWUU01. ....	62
<b>Figura 3.2.11.</b> Difractogramas de raios-X de pó do pteroestilbeno comercial, obtido por NG e LAG em etanol.....	62
<b>Figura 3.2.12.</b> Espectro de infravermelho de amostras de pteroestilbeno comercial, NG e LAG..	63
<b>Figura 3.2.13.</b> Difractogramas de raios-X de pó de amostras de delafloxacina e pteroestilbeno comerciais, obtidas por LAG e da mistura DLX:PTS (1:1) obtida por LAG. ....	64
<b>Figura 3.2.14.</b> Espetros de infravermelho de amostras de delafloxacina e pteroestilbeno comerciais, obtidas por LAG e da mistura DLX:PTS (1:1) obtida por LAG. ....	65
<b>Figura 3.2.15.</b> Difractogramas de raios-X de pó de amostras de delafloxacina e pteroestilbeno comerciais, obtidas por NG e da mistura DLX:PTS (1:1) obtida por NG.....	65
<b>Figura 3.2.16.</b> Espetros de infravermelho de amostras de delafloxacina e pteroestilbeno comerciais, obtidas por LAG e da mistura DLX:PTS (1:1) obtida por NG. ....	66

<b>Figura 3.2.17.</b> Difractogramas de raios-X de pó de amostras da mistura DLX:PTS (1:1) NG analisadas ao longo do tempo.....	66
<b>Figura 3.2.18.</b> Curvas de DSC de aquecimento de amostras de delafloxacina e pteroestilbeno comerciais e submetidas a moagens em LAG, e da mistura DLX:PTS (1:1) submetida a LAG, $\beta = 10$ °C / min. ....	67
<b>Figura 3.2.19.</b> Curvas de DSC de aquecimento de amostras de delafloxacina e pteroestilbeno comerciais e submetidas a moagens em NG, e da mistura DLX:PTS (1:1) submetida a NG, $\beta = 10$ °C / min. ....	67
<b>Figura 3.2.20.</b> Difractograma de raios-X de pó de amostras de delafloxacina e ácido nicotínico comerciais, obtidas por LAG e de DLX:ácido nicotínico (1:1) obtida por LAG. ....	68
<b>Figura 3.2.21.</b> Espetros de infravermelho de amostras de delafloxacina e ácido nicotínico comerciais, obtidas por LAG e de DLX:ácido nicotínico (1:1) obtidas por LAG. ....	69
<b>Figura 3.2.22.</b> Difractogramas de raios-X de pó de amostras de delafloxacina e nicotinamida comerciais, obtidas por LAG e de DLX:nicotinamida (1:1) obtida por LAG. ....	70
<b>Figura 3.2.23.</b> Espetros de infravermelho de amostras de delafloxacina e nicotinamida comerciais, LAG e de DLX:nicotinamida (1:1) LAG. ....	71
<b>Figura 3.2.24.</b> Difractogramas de raios-X de pó de amostras de delafloxacina e nicotinamida comerciais, NG e DLX:nicotinamida (1:1) NG. ....	71
<b>Figura 3.2.25.</b> Espetros de infravermelho de amostras de delafloxacina e nicotinamida comerciais, obtidas por NG e de DLX:nicotinamida (1:1) NG. ....	72
<b>Figura 3.2.26.</b> Curvas de DSC de aquecimento de amostras de delafloxacina e nicotinamida comerciais e submetidas a moagens em LAG, e da mistura DLX:nicotinamida (1:1) LAG, $\beta = 10$ °C / min. ....	72
<b>Figura 3.2.27.</b> Curvas de DSC de aquecimento de amostras de delafloxacina e nicotinamida comerciais e submetidas a moagens em NG, e da mistura DLX:nicotinamida (1:1) submetida a NG, $\beta = 10$ °C / min. ....	73
<b>Figura 3.2.28.</b> Difractogramas de raios-X de pó de amostras de delafloxacina e <i>L</i> -prolina comerciais, obtidas por LAG e de DLX: <i>L</i> -prolina (1:1) LAG. ....	74
<b>Figura 3.2.29.</b> Espetros de infravermelho de amostras de delafloxacina e <i>L</i> -prolina comerciais, obtidas por LAG e de DLX: <i>L</i> -prolina (1:1) LAG. ....	75
<b>Figura 3.2.30.</b> Difractogramas de raios-X de pó de amostras de delafloxacina e <i>L</i> -triptofano comerciais, obtidas por LAG e de DLX: <i>L</i> -triptofano (1:1) LAG. ....	75

<b>Figura 3.2.31.</b> Espectros de infravermelho de amostras de delafloxacina e <i>L</i> -triptofano comerciais, obtidas por LAG e de DLX: <i>L</i> -triptofano (1:1) LAG.....	76
<b>Figura 3.2.32.</b> Difratoogramas de raios-X de pó de amostras de delafloxacina e sacarina comerciais, obtidas por LAG e da amostra de DLX:sacarina (1:1), obtida por LAG.....	77
<b>Figura 3.2.33.</b> Espectros de infravermelho de amostras de delafloxacina e sacarina comerciais, obtidas por LAG e da amostra de DLX:sacarina (1:1), obtida por LAG.....	78
<b>Figura 3.2.34.</b> Curvas de aquecimento de DSC de amostras de delafloxacina e sacarina comerciais, obtidas por LAG e da amostra de DLX:sacarina (1:1), obtida por LAG, $\beta = 10\text{ }^{\circ}\text{C} / \text{min}$ .....	78
<b>Figura 3.2.35.</b> Difratoograma de raios-X de pó de amostras de delafloxacina e 4, 4' Bipiridil comerciais, obtidas por LAG e das moagens de DLX:4, 4' Bipiridil, obtidas por LAG, nas proporções 1:1, 1:2, 1:3 e 2:1. ....	79
<b>Figura 3.2.36.</b> Espectros de infravermelho de amostras de delafloxacina e 4, 4' - bipiridil comerciais, obtidas por LAG e das amostras de delafloxacina:4, 4' bipiridil, obtidas por LAG, nas proporções 1:1, 1:2, 1:3 e 2:1 (DLX:4, 4' bipiridil).....	80
<b>Figura 3.2.37.</b> Curvas de DSC de aquecimento de amostras de delafloxacina e 4, 4' - bipiridil comerciais, obtidas por LAG e das amostras de delafloxacina:4, 4' - bipiridil, obtidas por LAG, nas proporções 1:1, 1:2, 1:3 e 2:1 (DLX:4, 4' - bipiridil), $\beta = 10\text{ }^{\circ}\text{C} / \text{min}$ .....	80
<b>Figura S.1.</b> Curvas termogravimétricas (TGA) de uma amostra comercial de delafloxacina.....	99
<b>Figura S.2.</b> Difratoogramas de raios-X de pó de amostras de delafloxacina cristalizada em acetato de etilo e THF.....	99
<b>Figura S.3.</b> Difratoogramas experimental do ácido nicotínico comercial e simulados a partir das estruturas depositadas na CCDC, com os códigos identificados na figura. ....	100
<b>Figura S.4.</b> Difratoogramas experimental do nicotinamida comercial e simulados a partir das estruturas depositadas na CCDC, com os códigos identificados na figura. ....	100
<b>Figura S.5.</b> Difratoogramas experimental da sacarina comercial e simulados a partir das estruturas depositadas na CCDC, com os códigos identificados na figura. ....	101
<b>Figura S.6.</b> Difratoogramas experimental do 4, 4' - bipiridil comercial e simulados a partir das estruturas depositadas na CCDC, com os códigos identificados na figura. ....	101



## Índice de Tabelas

<b>Tabela 1.1.</b> Classificação de quinolonas e respectivas características. (Adaptado de [26]).....	10
<b>Tabela 2.1.1.</b> Origem e algumas características do ativo farmacêutico e dos coformadores utilizados neste trabalho. ....	23
<b>Tabela 2.1.2.</b> Origem e pureza dos solventes utilizados no estudo do polimorfismo da delafloxacina por cristalização em solução. ....	24
<b>Tabela 3.1.1.</b> Temperatura de fusão, <i>Tonset</i> , e entalpia de fusão ( $\Delta_{fus}H$ ) da delafloxacina comercial ( $n=3$ ), valores obtidos por calorimetria diferencial de varrimento. ....	37
<b>Tabela 3.1.2.</b> Imagens de cristais de delafloxacina obtida por cristalização nos solventes indicados; microscópio com luz polarizada (ampliação x50). ....	45
<b>Tabela 3.1.4.</b> Parâmetros cristalográficos de um cristal de delafloxacina obtido de etanol. ....	52
<b>Tabela 3.1.5.</b> Ligações de hidrogénio presentes na estrutura cristalina resolvida da delafloxacina. ....	54



## Abreviaturas

API (do inglês: *Active Pharmaceutical Ingredient*)

ATR (do inglês: *Attenuated Total Reflectance*)

BCS (do inglês: *Biopharmaceutical Classification System*)

CCDC (do inglês: *Cambridge Crystallographic Data Centre*)

CIF (do inglês: *Crystallographic Information File*)

DLX – Delafloxacina

DSC (do inglês: *Differential Scanning Calorimetry*)

FDA (do inglês: *Food and Drug Administration*)

FTIR (do inglês: *Fourier Transform Infrared*)

GRAS (do inglês: *Generally Recognized as Safe*)

LAG (do inglês: *Liquid-assisted Grinding*)

MTT (do inglês: *3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide*)

NG (do inglês: *Neat Grinding*)

PLTM (do inglês: *Polarized Light Thermal Microscopy*)

PTFE (do inglês: *Polytetrafluoroethylene*)

PTS – Pterostilbeno

RSV – Resveratrol

XRPD (do inglês: *X-ray Powder Diffraction*)



## Resumo

O foco na síntese de novas formas sólidas tem ganho cada vez mais impacto na indústria farmacêutica. Ao se verificar que polimorfos, cocristais, sais, coamorfos conseguem influenciar as propriedades físico-químicas e biológicas do API, melhorando-as, a necessidade de novos estudos nesta área da química do estado sólido tem sido assumida. Assim, este trabalho centrou-se na investigação de formas sólidas multicomponente de delafloxacina, cocristais e coamorfos, com diferentes coformadores, e no estudo de polimorfismo deste ativo farmacêutico. Na pesquisa de formas sólidas recorreu-se à técnica de mecanoquímica, via LAG e NG.

A delafloxacina é uma fluoroquinolona de 4ª geração que, possuindo vários grupos funcionais que podem participar em ligações de hidrogénio é uma molécula promissora na síntese de cocristais. Foram selecionados como coformadores dois nutracêuticos, o resveratrol e o pterostilbeno, o ácido nicotínico e a nicotinamida, do complexo vitamínico B3, dois aminoácidos, o *L*-triptofano e a *L*-prolina, a sacarina, um excipiente, e o 4, 4' – biperidil, coformador clássico na pesquisa de cocristais. Alguns dos coformadores foram selecionados tendo em consideração o seu potencial de formação de cocristais com quinolonas de outras gerações, avaliado por uma pesquisa prévia da literatura. Porém, nas condições experimentais utilizadas nesta investigação, a cocrystalização apenas foi bem sucedida com a molécula de 4, 4' – biperidil.

Como resultado desta investigação foram também identificados dois coamorfos, delafloxacina:resveratrol (1:1) e delafloxacina:pterostilbeno (1:1) que provaram ser cineticamente estáveis em ambiente seco a 4 °C, durante todo o período de tempo em que foi possível fazer a avaliação (7 e 2 meses). São duas novas formas multicomponente de delafloxacina de elevado interesse dado a natureza GRAS dos coformadores.

Para o estudo do polimorfismo da delafloxacina, foram feitos ensaios de cristalização em diferentes solventes, previamente selecionados, tendo-se verificado, na grande maioria dos solventes, a obtenção da forma comercial da delafloxacina. Os resultados obtidos em tetrahydrofurano e acetato de etilo apontam para a existência de outras formas. A mesma conclusão foi retirada da cristalização do amorfo obtido por NG. A obtenção de monocristais de delafloxacina em etanol permitiu-nos resolver pela primeira vez a sua estrutura cristalina.

**Palavras chave:** Coamorfos, cocristais, delafloxacina, fluoroquinolonas, polimorfismo, estrutura cristalina



## Abstract

The focus on the synthesis of new solid forms is increasingly gaining more impact in the pharmaceutical industry. By checking that polymorphs, salts, coamorphous are capable of influencing the physicochemical and biological properties of the API, improving them, the need for new studies in this solid state field has been assumed. Thereby, the present study focused on the investigation of multicomponent solid forms of delafloxacin, cocrystals and coamorphous, with different coformers, and the study of polymorphism of this pharmaceutical active.

Delafloxacin is a fourth generation fluoroquinolone that, owning several functional groups that can participate in hydrogen bonds, is a promising molecule for cocrystal synthesis. As coformers, were selected two nutraceuticals, resveratrol and pterostilbene, nicotinic acid and nicotinamide, from vitamin B3 complex, two amino acids, *L*-tryptophan and *L*-proline, saccharin, an excipient, and 4, 4' - bipyridyl, classic coformer in cocrystal research. Some of the coformers were selected taking into account their for cocrystal formation with quinolones of other generations, assessed by a preliminar literature search. However, under the experimental conditions used in this investigation, cocrystallization was only successful with the 4, 4' - bipyridyl molecule.

As a result of this investigation, two coamorphous, delafloxacin:resveratrol (1:1) and delafloxacin:pteroestilbene (1:1), were also identified, proving to be kinetically stable in a dry environment at 4 °C for the entire time period that evaluation was possible (7 and 2 months). These are two new multicomponent forms of delafloxacin of great interest given the GRAS nature of the coformers.

For the polymorphism study of delafloxacin, crystallization tests were performed in diferent and previously selected solvents, and it has been verified that the commercial form of delafloxacin was obtained in the vast majority of solvents. The results obtained in tetrahydrofuran and ethyl acetate point out to the existence of other forms. The same conclusion was drawn from the crystallization of the amorphous obtained by NG. The acquisition of single crystals of delafloxacin in ethanol allowed us to solve its crystal structure for the first time.

**Keywords:** Coamorphous, coamorphous, cocrystals, delafloxacin, polymorphism, crystal structure



# Capítulo 1

## Introdução



# Capítulo 1

## 1. Introdução

### 1.1. Formas sólidas de ativos farmacêuticos

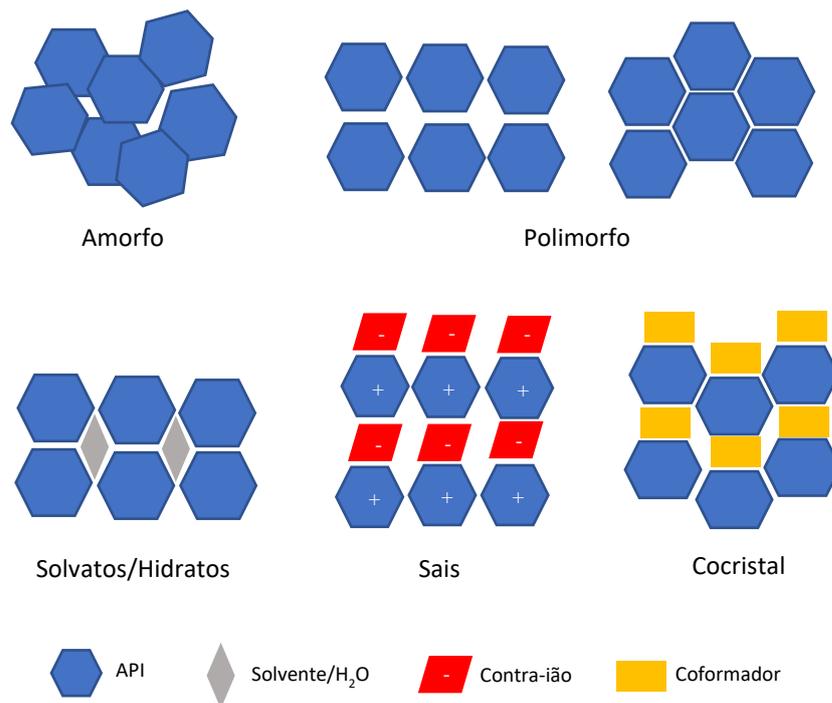
A investigação em química do estado sólido vem ao encontro da necessidade de compreensão e formulação de novos medicamentos. Neste capítulo irão ser descritos alguns aspetos sobre a química do estado sólido e a sua interligação no *design* de potenciais fármacos.

Os compostos, no estado sólido, podem encontrar-se no estado cristalino ou amorfo. Os sólidos que se classificam como cristalinos, apresentam uma estrutura espacialmente ordenada, sendo mais estáveis do ponto de vista termodinâmico do que as fases amorfas e com propriedades físico-químicas distintas. Por outro lado, um composto que se encontre no estado amorfo, apresenta uma estrutura espacialmente desordenada, podendo ser classificada como uma fase metastável. Não tendo uma ordem espacial de longo alcance, a diferença entre estes dois estados, cristalino e amorfo, é bastante evidente nos padrões de difratogramas de raios-X. [1]

De salientar que as fases amorfas são muitas vezes um caminho viável na formulação de novos medicamentos. Uma vez que muitos candidatos a novos medicamentos apresentam baixa solubilidade aquosa, o composto no estado amorfo, mostra, geralmente, uma maior solubilidade aquosa e, conseqüentemente, uma maior biodisponibilidade, sendo desta forma possível ultrapassar este problema. [2]

Os ativos farmacêuticos (API - *Active Pharmaceutical Ingredient*) podem ocorrer em várias formas, ou seja, as moléculas poderão adotar dois ou mais arranjos cristalinos apresentando, assim polimorfismo. [3] Ao apresentar polimorfismo, as diferentes formas vão também apresentar propriedades distintas, *e.g.*, solubilidade, ponto de fusão, velocidade de dissolução, etc, podendo estabelecer diferentes ligações inter e intramoleculares, justificando-se de interesse científico e prático a necessidade de estudo do desempenho destas formas sólidas. [4]

Para além das formas polimórficas, um ativo pode ainda apresentar formas cristalinas multicomponente, classificadas como solvatos, hidratos, sais ou cocristais, Figura 1.1.



**Figura 1.1.** Representação esquemática de diferentes formas sólidas de ativos farmacêuticos.

Os solvatos possuem na sua estrutura cristalina moléculas de solvente, como resultado dos processos de cristalização. Já um hidrato, um caso particular de solvatos, contém moléculas de água. Dentro dos hidratos podemos ter ainda os monohidratos, dihidratos, etc, dependendo do número de moléculas de água que fazem parte da célula unitária. [5] Um dos fatores que pode influenciar a formação de hidratos é o modo de preparação de uma amostra. Condições de armazenamento (temperatura, humidade, pressão) é algo a ter em conta, uma vez que se a forma anidra passar para a forma hidratada, as suas propriedades físico-químicas serão afetadas, podendo causar uma diminuição da solubilidade e, conseqüentemente, da biodisponibilidade do ativo farmacêutico. [5][6]

Os sais são uma das outras formas estudadas no estado sólido, considerando-se que cerca de 50% dos compostos farmacêuticos sejam administrados sob a forma de um sal. [7] Estes são formados quando o ativo farmacêutico ionizável é combinado com um contra-ião originando um complexo neutro. Os sais podem ainda ser considerados como uma alternativa ajudando a aumentar a solubilidade e a biodisponibilidade de um ativo farmacêutico. [7][8]

Os cocrystal farmacêuticos são sólidos cristalinos formados pelo ativo farmacêutico e por uma outra molécula, o coformador, ambos sólidos quando puros à temperatura ambiente. Estes possuem uma estequiometria definida e interagem através de ligações intermoleculares

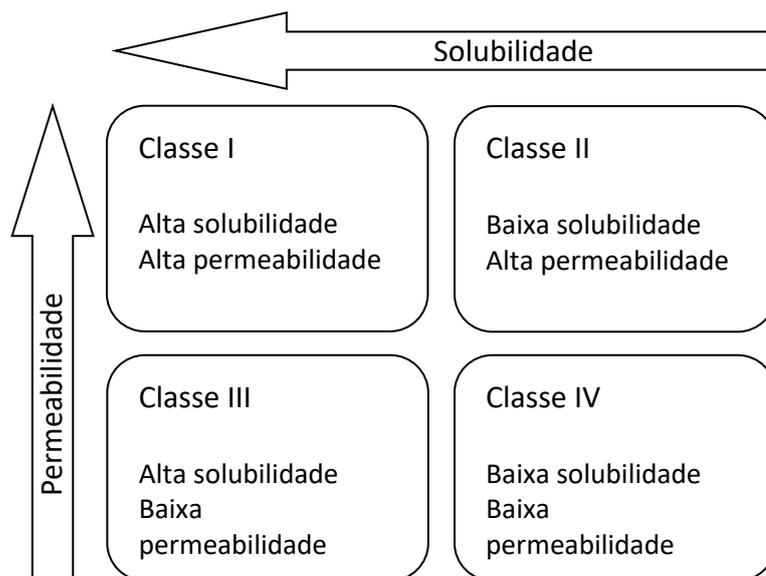
(ligações de hidrogénio, van der Waals, etc) sendo a sua rede cristalina diferente da dos componentes quando puros. [9]

Com o aumento constante da investigação de novos cocristais, os seus benefícios passam por proporcionar melhorias em diversas propriedades como o ponto de fusão, a biodisponibilidade, a solubilidade aquosa, a velocidade de dissolução, a higroscopicidade, entre outras. [10] Deste modo, a adição de uma nova substância para a formação de um cocrystal, pode ser o caminho certo na formulação e melhoria da eficácia dos medicamentos, sendo também uma alternativa barata.

Uma outra via que mostra ter benefícios na melhoria das propriedades dos ativos farmacêuticos com baixa solubilidade aquosa, é a adição de uma molécula de baixo peso molecular (coformador) à molécula de API, com o objetivo de formular fases coamorfos. [11] A adição destas moléculas tem mostrado eficiência na estabilização da fase amorfa durante longos períodos, tendo um interesse científico relevante, uma vez que são capazes de melhorar a solubilidade e biodisponibilidade do ativo. Nestes sistemas podem também ser utilizados excipientes para estabilizar a molécula de API. Exemplos de moléculas de baixo peso molecular que podem ser aplicadas nestes sistemas são: os aminoácidos, a sacarina, a nicotinamida, etc. [12]

### 1.1.2 Sistema de classificação biofarmacêutico (BCS)

Para uma melhor compreensão da solubilidade e do desempenho dos fármacos, foi desenvolvido um Sistema de Classificação Biofarmacêutico (BCS - *Biopharmaceutical Classification System*), Figura 1.2. Tal como podemos ver pela análise da Figura 1.2, o sistema BCS tem como objetivo caracterizar os APIs de acordo com a sua solubilidade aquosa e permeabilidade membranar, sendo utilizado como ferramenta no desenvolvimento de medicamentos. Estes podem-se enquadrar numa das diferentes classes I, II, III ou IV. [13]



**Figura 1.2.** Sistema de Classificação Biofarmacêutico (BCS).

Na classe I, o API apresenta, alta solubilidade aquosa e permeabilidade, não sendo necessária qualquer alteração para a melhoria do desempenho do medicamento que o veicula. Esta classe apresenta as características desejadas nas formulações. Como exemplos de APIs pertencentes à classe I cito o paracetamol e o loperidor.

A classe II é aquela que tem vindo a ser mais estudada, apresentando diversas limitações como a baixa solubilidade aquosa, com consequência na biodisponibilidade. Assim, a baixa solubilidade aquosa, implica que esta tenha de ser melhorada. Exemplo disso é o que acontece com o resveratrol, um dos coformadores utilizados neste trabalho e pertencente à classe dois do BCS, que tem sido alvo de investigação na formação de cocrystalis. [14]

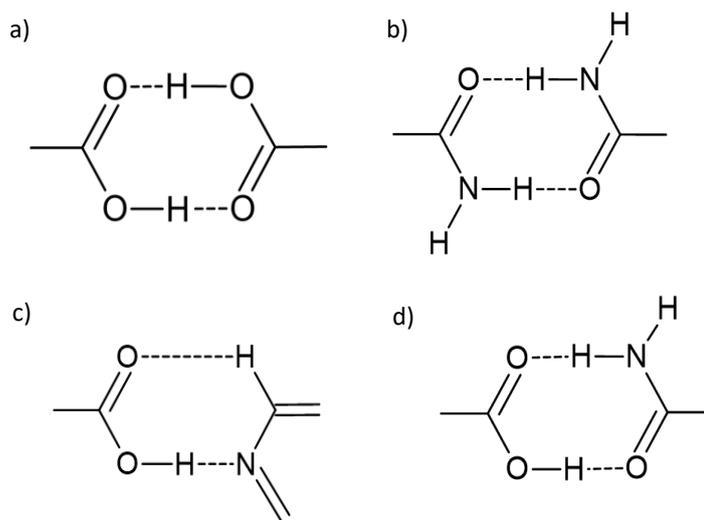
Na classe III, APIs como o aciclovir e a cimetidina, possuem baixa permeabilidade. Ao possuir baixa permeabilidade, a absorção do fármaco também irá ser afetada e, consequentemente, a biodisponibilidade. No caso do aciclovir, foram feitos estudos com o intuito de melhorar a solubilidade e permeabilidade do mesmo, algo que foi conseguido com sucesso, através da síntese de cocrystalis com ácido fumárico e glutárico. [15] Masuda *et al.*, (2012) estudaram as interações fármaco-excipientes através da formação de um cocrystal (aciclovir:ácido tartárico) e de uma fase amorfa (aciclovir:ácido cítrico). Foi provado um aumento da solubilidade e da permeabilidade em relação ao API puro, respetivamente. [16]

Os fármacos da classe IV apresentam baixa solubilidade e permeabilidade, que, consequentemente, irão ter baixa absorção. Cocristais de hidroclorotiazida, um medicamento diurético e pertencente à classe IV, foram sintetizados via LAG (*Liquid Assisted Grinding*) com cinco coformadores diferentes (resorcinol, ácido nicotínico, nicotinamida, succinamida e ácido 4-aminobenzóico) onde os seus sistemas binários mostraram um aumento na solubilidade para todos os casos, exceto para a succinamida e o resorcinol, e a permeabilidade aumentou para todos os coformadores excluindo a succinamida. [17] Para além da formação de cocristais, outras vias podem ser utilizadas com o intuito de aumentar a solubilidade de fármacos, como referido na secção 1.1.1.

## 1.2. Engenharia de cristais

A engenharia de cristais é definida como a compreensão das interações de um sistema cristalino que, no estudo de ativos farmacêuticos, tem como objetivo desenvolver novas formas farmacêuticas e com propriedades físico-químicas melhoradas. [18] Estas interações originam a formação de sintões supramoleculares, que envolvem ligações intermoleculares. Deste modo, nos cocristais e na associação ativo-coformador num coamorfo podem observar-se a formação de homosintões ou heterosintões.

Os homosintões supramoleculares são unidades de reconhecimento que se estabelecem entre grupos funcionais idênticos, tais como, amida  $\cdots$  amida, ácido  $\cdots$  ácido, etc. Já heterosintões supramoleculares mostram ligações que ocorrem entre grupos funcionais diferentes como, por exemplo, ácido carboxílico  $\cdots$  piridina, ácido carboxílico  $\cdots$  nitrogénio aromático, fenol  $\cdots$  nitrogénio aromático, etc. [19] As interações como C–H  $\cdots$  N and C–H  $\cdots$  O também podem ocorrer. Exemplos de sintões supramoleculares podem ser observados na Figura 1.3.



**Figura 1.3.** Representação de homo e heterossintões: a) ácido – ácido; b) amida-amida; c) ácido carboxílico – piridina; d) ácido carboxílico – amida.

Deste modo, a compreensão do tipo de heterossintões supramoleculares que as moléculas podem formar é essencial no desenvolvimento de cocristais. Apesar disto, é preciso ter em conta que as moléculas com vários grupos funcionais são capazes de formar diferentes ligações supramoleculares, dificultando assim a compreensão dos possíveis sintões que o API pode originar com o coformador.

### 1.3 Objetivo

O mercado dos medicamentos encontra-se em constante expansão, sendo cada vez mais alvo de estudos a formulação de novos medicamentos, onde os cocristais e os coamorfos têm vindo a adquirir um papel promissor. [10]

A maioria dos medicamentos, que chegam ao mercado, são formulados como formas sólidas para uso oral. Tal acontece, uma vez que os APIs são quimicamente mais estáveis na sua forma sólida, sendo menos propensos a degradarem-se tão facilmente comparativamente às respetivas soluções. [3] Com cerca de 80% das formulações farmacêuticas a serem comercializadas na sua forma sólida, uma percentagem significativa destes medicamentos ainda possui baixa biodisponibilidade oral colocando em causa a sua eficácia. [10][20] A investigação de formas sólidas que permitam otimizar propriedades físico-químicas do ativo é, portanto de grande interesse.

Neste trabalho foi investigado o polimorfismo de delafloxacina, uma fluoroquinolona de 4ª geração, classe II do BCS e também a formação de sólidos multicomponentes deste ativo com vários coformadores. [21]

Diversos fatores devem ser tidos em conta no momento da escolha dos coformadores e do API. [22] Estes terão de ser reconhecidos pela FDA (*Food and Drug Administration*) como substâncias seguras (*GRAS - Generally Recognized as Safe*) ou poderão ser outros ativos, numa perspectiva de terapia dual. [23] Uma outra particularidade a ter em conta é o tipo de ligações intermoleculares que o API consegue estabelecer com o coformador selecionado, ou seja, é necessário ter em conta os grupos funcionais de cada molécula e perceber que tipo de sintões supramoleculares (*e.g.* via ligações de hidrogénio, interações de van der Waals, ligações  $\pi - \pi$ , etc) são capazes de formar. Neste trabalho usaram-se como coformadores dois nutracêuticos e antioxidantes, o *trans*-resveratrol e o *trans*-pteroestilbeno, o ácido nicotínico e a nicotinamida, do complexo vitamínico B3, dois aminoácidos, o *L*-triptofano e a *L*-prolina, a sacarina, um excipiente comum, e o 4, 4' – bipyridil, um coformador clássico na investigação de cocrystalis.

## 1.4 Delafloxacina e coformadores utilizados neste trabalho

### 1.4.1 Quinolonas

Inicialmente desenvolvidas nos anos 60, as quinolonas, uma classe de compostos de origem sintética, Figura 1.4, têm vindo a adquirir elevada importância, tornando-se num dos antibióticos mais utilizados a nível mundial. [24]

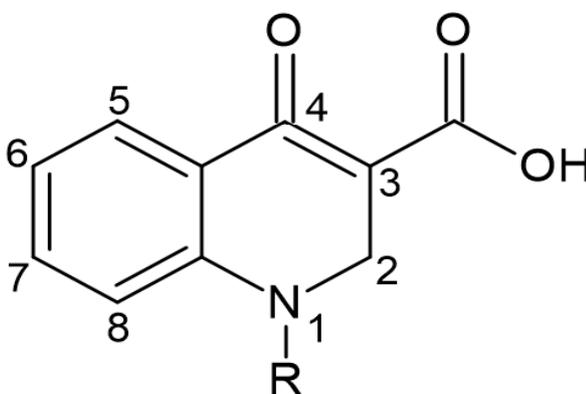


Figura 1.4. Estrutura do núcleo ativo das quinolonas.

A primeira quinolona a surgir foi o ácido nalidíxico, utilizado no tratamento de infeções urinárias, sendo um produto secundário descoberto na síntese da cloroquina, um medicamento utilizado no tratamento da malária. [24][25] A aplicação do ácido nalidíxico encontrava-se limitada a alguns tipos de infeções, possuindo também atividade antibacteriana moderada, o que fez com que surgisse a necessidade de se desenvolver novos fármacos e de melhorar as suas propriedades antibacterianas e, conseqüentemente, as restantes propriedades farmacológicas. [26] Deste modo, a investigação das suas propriedades tem, ao longo de vários anos, dado origem a novos agentes antibacterianos, através da adição de novos grupos funcionais na molécula, onde estes se encontram divididos em quatro gerações, dependendo da natureza dos seus substituintes e principais características, Tabela 1.1. [27] Um grupo ciclopropilo ou, em alternativa, um grupo difluorofenilo no carbono 1 (C1), um átomo de fluor no carbono 6 (C6) ou um grupo metóxi no carbono 8 (C8) são alguns dos exemplos de substituintes mais utilizados e que visam melhorar a atividade antibacteriana das quinolonas. [28]

**Tabela 1.1.** Classificação de quinolonas e respetivas características. (Adaptado de [28])

Classificação	Ativo	Principais características
1ª geração	Ácido nalidíxico Ácido oxolínico Ácido Pimemídico	Atividade moderada contra bactérias gram-negativas; Baixos tempos de meia vida.
2ª geração	Norfloxacina Ciprofloxacina Enoxacina	Tempos de meia vida superiores em relação às quinolonas de primeira geração; Maior atividade contra bactérias gram-negativas.
3ª geração	Levofloxacina Moxifloxacina Temafloracina	Ativas contra bactérias gram-positivas e gram-negativas.
4ª geração	Sitafloracina Trovafloracina Delafloxacina	Maior atividade contra as bactérias gram-negativas e gram-positivas; Ativas contra anaeróbios.

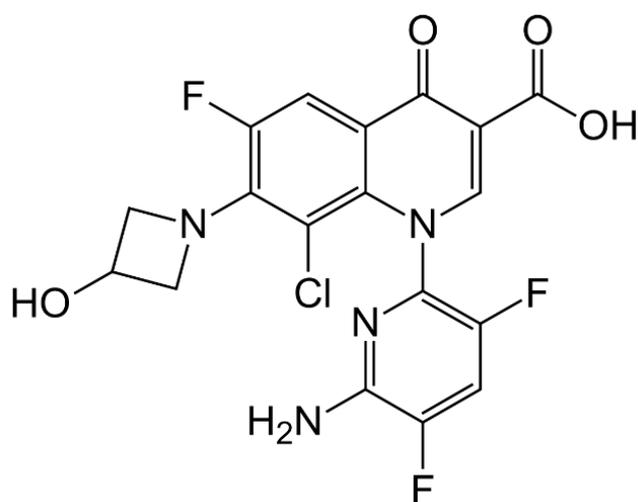
A adição de novos substituintes em locais específicos do núcleo da quinolona, faz aumentar a atividade desta perante novas bactérias gram-positivas e gram-negativas. Deste

modo, as quinolonas de segunda geração surgiram com a adição de um átomo de flúor no carbono 6 (C6), dando origem às fluoroquinolonas, melhorando as suas propriedades farmacocinéticas e diminuindo a sua toxicidade e aumentando a atividade destas contra novas bactérias. [29] No seu mecanismo de ação, as fluoroquinolonas são responsáveis pela inibição da síntese do ADN bacteriano. Estas ao atuarem em duas enzimas responsáveis pela replicação do material genético, o ADN girase e a topoisomerase IV, formam um complexo ternário, originando a quebra da dupla hélice do ADN bacteriano e, conseqüentemente, o bloqueio da sua replicação, levando à morte das células. [24][28][30][31]

Neste trabalho iremos focar-nos no estudo de fluoroquinolonas de quarta geração, mais precisamente, a delafloxacina.

#### 1.4.1.1 Delafloxacina

A delafloxacina, Figura 1.5, é o mais recente antibiótico da família das fluoroquinolonas, a ser aprovado para o tratamento de infeções bacterianas agudas na pele. Tem sido cada vez mais alvo de estudos, sendo também mais ativa e possuindo um espectro de atividade mais abrangente em bactérias gram-positivas e gram-negativas aeróbicas e anaeróbicas. [29][30][31]



**Figura 1.5.** Representação da estrutura química da delafloxacina.

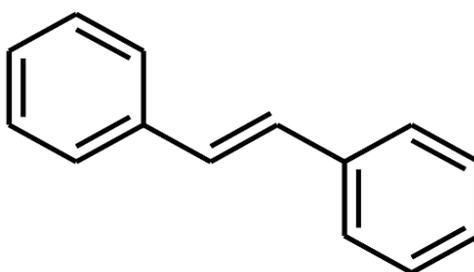
Os substituintes presentes no anel heteroaromático bicíclico fazem da delafloxacina um agente com maior atividade antibacteriana em relação às restantes fluoroquinolonas. [31][32][33]

No que diz respeito a investigação do estado sólido da delafloxacina, apenas há registo do trabalho de Anwer *et al.*, (2020), que fez a caracterização do composto comercial por calorimetria diferencial de varrimento (DSC), espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) e através de difração de raios-X de pó (XRPD). [34] Anwer *et al.*, (2020), fez também a formulação da delafloxacina em nanopartículas híbridas de quitosano e ácido obtidas por emulsão simples, recorrendo à técnica de evaporação de solvente, com o objetivo de aumentar a biodisponibilidade e atividade antibacteriana. [35] Com este estudo foi possível mostrar que estas nanopartículas apresentam melhor eficácia terapêutica em relação à delafloxacina, uma vez que a sua biodisponibilidade é maior. [35]

Não foram encontrados quaisquer registos de outras formas sólidas na literatura. Desta forma, surgiu a necessidade de pesquisar informação sobre outros compostos da mesma família da delafloxacina de modo a selecionar coformadores com os quais a cocristalização foi bem sucedida. Assim, foram escolhidos compostos como a levofloxacina, a ciprofloxacina e a norfloxacina. Apesar de estes não serem quinolonas de quarta geração, a semelhança dos seus grupos funcionais com os da delafloxacina, influenciou a escolha. A investigação de cocristais com outras quinolonas, permitiu verificar que todas as quinolonas selecionadas formam cocristais utilizando o ácido nicotínico como coformador. [36][37][38]

#### 1.4.2 Estilbenos

Os estilbenos, derivados do estilbeno (na Figura 1.6 é mostrada a estrutura do *trans*-estilbeno), são um vasto grupo de compostos apresentando dois grupos fenilo ligados a etileno. [39]



**Figura 1.6.** Representação da estrutura química do *trans*-estilbeno.

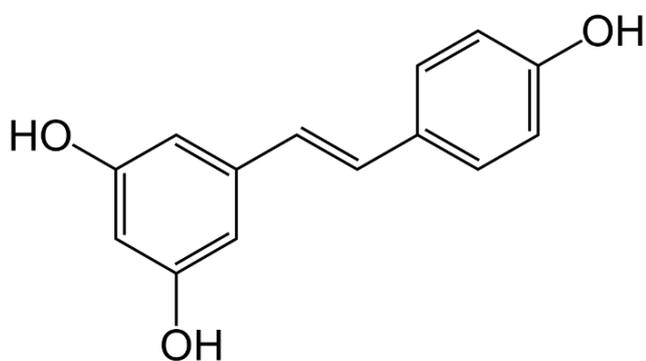
Os estilbenos são encontrados na natureza. Estão presentes no reino vegetal, em plantas tais como, na família de Gnetaceae, Pinaceae, Cyperaceae, Fabaceae, entre outros.

Os estilbenos podem variar nos seus substituintes, sendo conhecidos pelas suas propriedades biológicas cardio e neuroprotetoras, propriedades antidiabéticas, sendo também utilizados no tratamento e prevenção do cancro. [40] [41]

Uma vez que estes compostos possuem uma dupla ligação, podem ocorrer na forma *trans*- ou *cis*-, sendo a forma *trans*- a mais estável e a mais relevante a nível biológico. O seu poder antioxidante encontra-se relacionado com os seus substituintes. Neste trabalho iremos estudar o *trans*-resveratrol e *trans*-pteroestilbeno como coformadores a associar à delafloxacina na síntese de cocristais ou coamorfos.

#### 1.4.2 .1 *Trans*-resveratrol

O *trans*-resveratrol, Figura 1.7, (5-[(*E*)-2-(4hidroxifenil)etenil]benzeno1,3-diol ou 3,5,4'-trihidroxi-*trans*-estilbeno;  $C_{14}H_{12}O_3$ ), é um polifenol possuindo três grupos hidróxilo na sua estrutura. Este pode ser encontrado em fontes alimentares, como uvas, mirtilos, vegetais, etc.



**Figura 1.7.** Representação da estrutura química do *trans*-resveratrol.

O resveratrol possui propriedades biológicas importantes, onde muitas destas estão relacionadas com a sua configuração *trans*-, a forma mais estável, sendo assim a mais bioativa.

Um dos problemas deste composto é a baixa biodisponibilidade, fazendo com que seja necessário modificar a sua estrutura através da síntese de novos compostos, como forma de ultrapassar este problema. Apesar da sua baixa biodisponibilidade, têm sido atribuídas ao

resveratrol várias propriedades biológicas, atuando como antioxidante, possui atividade anticancerígena, anti-inflamatória, entre outras. [41]

O resveratrol tem vindo a ser estudado no que diz respeito à formação de cocrystalis e às suas propriedades físico-químicas. [42] A forma anidra do resveratrol foi estudada por Caruso *et al.*, (2004), em que a sua estrutura foi resolvida, tendo sido posteriormente corrigida por Zarychta *et al.*, (2016). [43][44] Já Kavuru *et al.*, (2010), reportou a existência de um novo cocrystal de resveratrol com betaína. [45]

De acordo com He *et al.*, (2017), a piperina, presente na pimenta preta, é capaz de melhorar consideravelmente a biodisponibilidade do resveratrol quando ambos são co-administrados. [46]

Mehta *et al.*, (2018) reportou a existência de uma forma monohidratada do resveratrol e de 10 novos cocrystalis com diferentes coformadores, evidenciando uma melhor solubilidade aquosa no cocrystal de resveratrol:piperazina, 1:1, em relação aos restantes. [47]

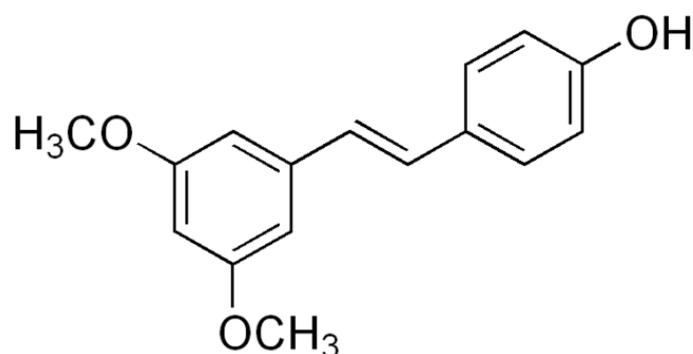
O estudo e a caracterização de um cocrystal de resveratrol e *L*-prolina, numa estequiometria de 1:2, foi executado por Lou *et al.*, (2021), acompanhado do estudo da sua citotoxicidade, pelo método MTT, em células humanas. [14] Também He *et al.*, (2017), sintetizou cocrystalis de resveratrol com a *L*-prolina (1:2), nicotinamida (1:1) e isonicotinamida (1:1) comprovando a melhoria das suas propriedades físico-químicas, principalmente na solubilidade, em comparação ao resveratrol comercial. [46]

Uma vez que a obtenção de cocrystalis é mais favorável por moagem assistida por solvente (LAG), um estudo realizado por Zhou *et al.*, (2016), onde foram sintetizados cocrystalis de resveratrol com 4-aminobenzamida e isoniazida numa estequiometria de 1:1, provou a melhoria das propriedades físico-químicas do ativo farmacêutico (API) e, conseqüentemente, um aumento da solubilidade em relação ao resveratrol puro. [48]

Pessoa *et al.*, (2019), procederam à preparação de dois cocrystalis de resveratrol com isoniazida e nicotinamida como coformadores, por recristalização com efeito anti-solvente, provando que os cocrystalis formados apresentam uma velocidade de dissolução superior à do resveratrol puro. [49]

#### 1.4.2.2 *Trans*-pteroestilbeno

A modificação estrutural do resveratrol através da adição de dois grupos metóxi (-OMe), nas posições 3 e 5, dá origem ao seu análogo pteroestilbeno, Figura 1.8 (C<sub>16</sub>H<sub>16</sub>O<sub>3</sub>). [48][49] Também pertencente à família dos estilbenos, o pteroestilbeno é classificado como uma fitoalexina, compostos químicos com propriedades antimicrobianas, onde, nas plantas, a sua principal função é proteger contra organismo patogénicos. [50] Este pode ser maioritariamente encontrado nos mirtilos, podendo também existir em plantas medicinais. [51]



**Figura 1.8.** Representação da estrutura química do *trans*-pteroestilbeno.

Tal como o resveratrol, também o pteroestilbeno, possui atividade biológica relevante, atuando como antioxidante e possuindo atividade anticancerígena e cardioprotetora, e também antimicrobiana, podendo ajudar na prevenção e várias doenças crónicas. [52] O pteroestilbeno apresenta uma maior biodisponibilidade em relação ao resveratrol. Isto acontece uma vez que o pteroestilbeno apresenta dois grupos metóxi (-OMe) na sua estrutura, fazendo com que seja mais lipofílico, de modo que seja absorvido pelas células, mostrando assim uma capacidade de absorção superior à do resveratrol que contém apenas grupos hidroxilo (-OH). [53][54]

O pteroestilbeno tem vindo a ser alvo de estudo no que diz respeito ao polimorfismo, encontrando-se patenteadas cinco formas deste composto, I-V. [55]

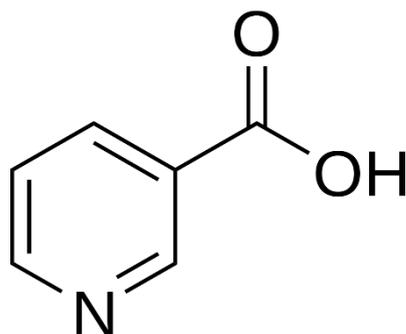
O desenvolvimento de novas formulações que potenciem o aumento da solubilidade do pteroestilbeno continua também a ser alvo de estudo através da formação de cocrystal. O cocrystal de pteroestilbeno com ácido picolínico tem vindo a ser estudado no que diz respeito ao polimorfismo e às suas propriedades farmacocinéticas, tendo sido comprovada a existência de dois polimorfos deste mesmo cocrystal. [51] [56] Bofill *et al.*, (2021) verificaram um incremento da biodisponibilidade oral do pteroestilbeno, em ratazana, em resultado da administração do cocrystal. [51]

A utilização do pteroestilbeno como coformador foi abordada por Schukltheiss *et al.*, (2010) que efetuou a síntese de dois cocrystalis utilizando como APIs a cafeína (polimorfo I e II) e a carbamazepina, onde estes demonstraram um aumento na solubilidade do pteroestilbeno. [57]

A piperazina e o ácido glutárico foram também utilizados como coformadores por Bethune *et al.*, (2011) na pesquisa de cocrystalis com o *trans*-pteroestilbeno. [58] Em ambos os casos obtiveram-se cocrystalis, sintetizados por vários métodos de preparação (LAG, evaporação lenta e arrefecimento lento), ambos mostrando melhorias na sua solubilidade do pteroestilbeno e tendo as suas estruturas resolvidas. [58]

### 1.5 Ácido nicotínico

O ácido nicotínico, Figura 1.9, uma forma ativa da vitamina B3, é um composto natural que pode ser encontrada numa grande variedade de alimentos.



**Figura 1.9.** Representação da estrutura química do ácido nicotínico.

O ácido nicotínico, por sua vez, é conhecido pelas suas vantagens no que diz respeito ao metabolismo lipídico, ou seja, sendo um fármaco hipolipemiante, apresenta benefícios no tratamento de pacientes com dislipidemia, uma vez que é capaz de aumentar os níveis de HDL como também diminuir os níveis de LDL e de colesterol total, possuindo um largo espectro lipídico. [59][60] Para além destas vantagens, esta forma de vitamina B também reduz os níveis de triglicéridos. Apesar destas vantagens, a utilização do ácido nicotínico apresenta efeitos colaterais afetando a sua eficácia clínica. [61]

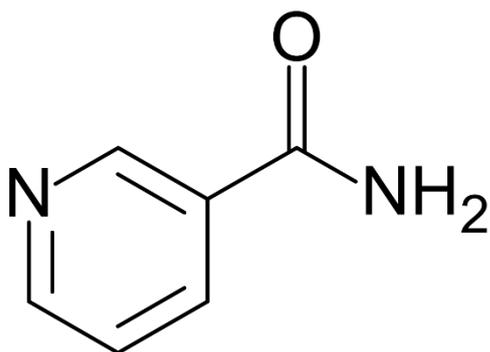
Até à data, um polimorfo de ácido nicotínico foi descoberto por Wright & King (1953), encontrando-se depositado na CCDC. [62]

No que diz respeito à melhoria das suas propriedades químicas, a formação de cocrystalis apresentam um papel importante. Ghosh *et al.*, (2021) preparou um cocrystal de modafinil:ácido

nicotínico via LAG, numa estequiometria 1:1, o que provou ter aumentado a solubilidade e biodisponibilidade do API. [63] Também um estudo feito por de Almeida *et al.*, (2020), provou que a formação de um cocrystal de ciprofloxacina:ácido nicotínico, numa estequiometria 1:1, apresenta um aumento da sua solubilidade aquosa em relação à ciprofloxacina pura e onde, mais uma vez, se recorreu à mecanoquímica como técnica de eleição na formação de cocrystal. [36]

## 1.6 Nicotinamida

A nicotinamida, Figura 1.10, é um derivado do ácido nicotínico, também conhecida como um derivado da vitamina B3. É reconhecida como um produto seguro para consumo (GRAS) sendo um dos compostos mais utilizados como coformador na síntese de cocrystal. [64] A sua estrutura química, constituída por um anel de piridina e um grupo amida, participa na formação de sintões supramoleculares. [65]



**Figura 1.10.** Representação da estrutura química da nicotinamida.

O estudo do polimorfismo e da formação de cocrystal com a nicotinamida tem vindo a ganhar cada vez mais interesse, existindo mais de 100 estruturas de cocrystal depositadas na CCDC (*Cambridge Crystallographic Data Centre*). O primeiro polimorfo a ser reportado foi em 1954 por Wright & King, (1954). [66] Li *et al.*, (2020), mostrando a existência de sete novas formas da nicotinamida ( $\gamma$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$ ,  $\zeta$ ,  $\eta$ ,  $\theta$ ,  $\iota$ ) obtidas por cristalização do fundido. [67]

Báthori *et al.*, (2011), utilizou a isonicotinamida como coformador na preparação de um cocrystal com nicotinamida numa estequiometria de 1:1. [68]

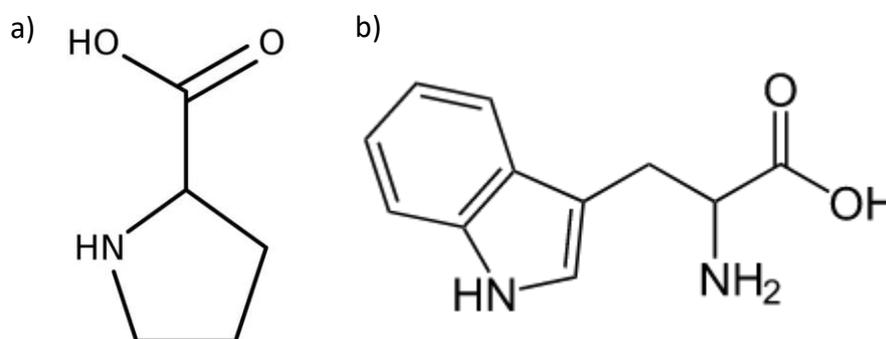
Chow *et al.*, (2012), preparou dois cocrystal de flurbiprofeno e ibuprofeno com nicotinamida, ambos por evaporação com etanol, provando que a nicotinamida é capaz de aumentar a velocidade de dissolução, indicando o aumento da solubilidade de ambos os

cocristais, havendo potencial para a sua comercialização. [69] Também Yuliandra *et al.*, (2018) estudou o cocrystal juntamente com a mistura de ibuprofeno:nicotinamida, 1:1, tendo confirmado o aumento da solubilidade e do efeito analgésico do cocrystal em relação à mistura ibuprofeno:nicotinamida e ao API na sua forma comercial. [70]

Lou & Hu, (2011), reportou a formação de dois cocristais de nicotinamida com dois ácidos (3-hidroxi-2-naftóico e 4-aminobenzoico). [71] Existem também vários estudos envolvendo o cocrystal carbamazepina:nicotinamida, obtido por LAG, tendo vindo a ser estudado no que diz respeito à sua solubilidade. [72][73][74]

### 1.7 Aminoácidos: *L*-triptofano e *L*-prolina

O *L*-triptofano e a *L*-prolina fazem parte dos 20 aminoácidos essenciais que podem ser encontrados nas proteínas. Ambos possuem na sua estrutura um carbono –  $\alpha$  ligado a um grupo amina ( $-\text{NH}_2$ ) e a um grupo carboxilo ( $-\text{COOH}$ ). Na figura 1.11 encontram-se representadas as estruturas dos dois aminoácidos.



**Figura 1.11.** Representação da estrutura química da prolina (a) e do triptofano (b).

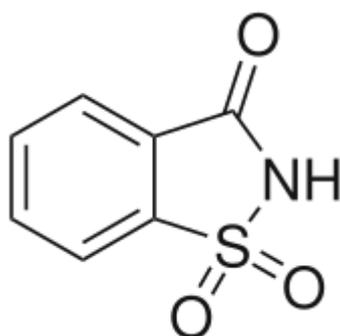
Görbitz *et al.*, (2012), obteve a primeira estrutura resolvida do *L*-triptofano (forma  $\alpha$ ), com o grupo espacial P1. [75] Seguidamente, e complementando este estudo, Al Rahal *et al.*, (2019), reportou a existência de um outro polimorfo de *L*-triptofano (forma  $\beta$ ). [76]

Tumanova *et al.*, (2014), estudou a formação de cocristais entre o *S*-naproxeno e vários aminoácidos na sua forma zwitteriônica, conseguindo resolver a estrutura do monohidrato *S*-naproxeno:*D*-triptofano, obtido por evaporação lenta. [77] Sanii *et al.*, (2022), obteve três novas formas cristalinas, uma de salicilato de lítio e duas de ácido anísico, ambas com *L*-prolina. [78]

A estrutura cristalina entre o aminoácido *L*-triptofano e o 4-nitrofenol, resultante de uma cristalização lenta em metanol, foi reportada por Rodrigues *et al.*, (2012). [79] Para além destas estruturas mencionadas, muitas outras foram estudadas, podendo ser encontradas na base de dados da CCDC. [80][81][82]

## 1.8 Sacarina

A sacarina, Figura 1.12, é um edulcorante artificial utilizada numa grande variedade de alimentos, podendo ser encontrada sob três formas diferentes: sacarina, sacarina de sódio e sacarina de cálcio.

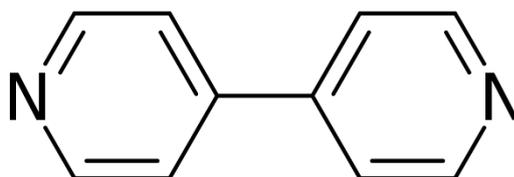


**Figura 1.12.** Representação da estrutura química da sacarina.

O cocrystal carbamazepina:sacarina (1:1) tem vindo a ser investigado em várias ocasiões, principalmente no que diz respeito à sua solubilidade. [83][84] Para além do cocrystal de carbamazepina:sacarina, Alhalaweh *et al.*, (2012), também mostrou que o cocrystal de indometacina:sacarina apresenta uma solubilidade aquosa 13 a 65 vezes superior à indometacina pura, entre valores de pH de 1 a 3. [85] Também Jung *et al.*, (2010), estudou o cocrystal de indometacina:sacarina no que diz respeito à sua dissolução e biodisponibilidade *in vivo*, provando que estas propriedades do cocrystal apresentam melhorias em relação ao API puro, o que confirma também o aumento da sua solubilidade aquosa. [86]

### 1.9 4, 4' - Bpiridil

O 4, 4' – bpiridil, Figura 1.13, é um composto orgânico, conhecido também como um dos isómeros do bpiridil, e que possui na sua estrutura dois anéis de piridina ligados por uma ligação simples. O 4, 4' – bpiridil é utilizado como um intermediário na síntese do paraquato.



**Figura 1.13.** Representação da estrutura química do 4, 4' - bpiridil.

Apesar deste composto não ser utilizado para fins terapêuticos, o 4, 4' – bpiridil é um composto muito utilizado no estudo de formação de cocristais e na compreensão dos arranjos cristalinos e dos sintões supramoleculares que consegue estabelecer com outras moléculas. [87] No que diz respeito à solubilidade, um estudo revela que o cocrystal de paracetamol:4, 4' – bpiridil apresenta uma maior solubilidade aquosa em relação ao paracetamol puro. [88]

# Capítulo 2

## Materiais e métodos



## Capítulo 2

### 2.1. Materiais e métodos

#### 2.1.1. Materiais utilizados

O ativo farmacêutico e os coformadores utilizados neste trabalho, são apresentados na Tabela 2.1.1, sendo indicados o laboratório de origem, o peso molecular ( $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ ), a pureza (%), e o ponto de fusão (informação do fornecedor).

**Tabela 2.1.1.** Origem e algumas características do ativo farmacêutico e dos coformadores utilizados neste trabalho.

<b>Composto</b>	<b>Origem</b>	<b>Peso molecular /<math>\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}</math></b>	<b>Pureza / %</b>	<b>Ponto de fusão / °C</b>
<b>Delafloxacina</b>	Shandong Octagon Chemicals	440.76	$\geq 98.0$	238-241
<b>Resveratrol</b>	BLD Pharmatech	228.24	98.98	254-257
<b>Pterostilbeno</b>	BLD Pharmatech	256.30	98.0	89-92
<b>Ácido nicotínico</b>	Sigma - Aldrich	123.11	$\geq 99.5$	236 - 239
<b>Nicotinamida</b>	Sigma - Aldrich	122.12	$\geq 99.5$	128 - 131
<b>L-triptofano</b>	Sigma - Aldrich	204.23	$\geq 99.5$	280 - 285
<b>L-prolina</b>	Sigma - Aldrich	115.13	99.0	228
<b>4,4' - Bipiridil</b>	Fluka	156.19	$\geq 99.0$	109 - 112
<b>Sacarina</b>	Sigma - Aldrich	183.19	98.0	226 - 229

Na Tabela 2.1.2 apresenta-se a informação relativa dos solventes utilizados nos ensaios de cristalização em solução, para o estudo do polimorfismo do ativo farmacêutico, delafloxacina.

**Tabela 2.1.2.** Origem e pureza dos solventes utilizados no estudo do polimorfismo da delafloxacina por cristalização em solução.

<b>Solvente</b>	<b>Origem</b>	<b>Pureza / %</b>
<b>Metanol</b>	Sigma-Aldrich	99.9
<b>Isopropanol</b>	EWG-Kennzerchnunh	99.7
<b>Etanol</b>	Fisher Scientific	99.8
<b>Acetato de etilo</b>	Sigma-Aldrich	99.9
<b>Tetra-hidrofurano (THF)</b>	Fisher Scientific	99.99
<b>Acetona</b>	Fisher Scientific	≥ 99.8
<b>Clorofórmio</b>	Fisher Scientific	99.99

## 2.1.2 Métodos de preparação das amostras

### 2.1.2.1 Mecanoquímica

A mecanoquímica, é uma técnica de eleição na síntese de cocristsais, que é promovida pela ação mecânica. [89] Este tipo de técnica que satisfaz os requisitos da química verde, é uma alternativa mais limpa, segura e eficiente e cada vez mais utilizada para a obtenção de novos sólidos com principal interesse na indústria farmacêutica. [90]

Este processo de obtenção de novos sólidos pode ser feito por ação mecânica, usando um moinho de bolas, ou manualmente, através de um almofariz. Para além disso, pode ainda ser feito por moagem a seco (*Neat Grinding, NG*) ou moagem assistida por solvente (*Liquid-Assisted Grinding, LAG*), neste caso com a adição de pequenas quantidades de solvente. Este tem um efeito catalítico, potenciando a velocidade da reação e, conseqüentemente, a formação dos cocristsais, tornando o uso de LAG uma técnica mais vantajosa. [90][91][92]

#### **Condições experimentais:**

Na etapa da preparação das amostras, utilizou-se um moinho de bolas Retsch MM400, com vasos de 10 mL e duas esferas de 7 mm de diâmetro em cada vaso, ambos de aço inoxidável. Posteriormente, e como forma de prevenir a contaminação das amostras durante a moagem, recorreu-se a vasos de óxido de zircónio, de 10 mL, e esferas de 4 mm de diâmetro, também deste material, sendo mais uma vez utilizado duas esferas por vaso.

Todas as moagens foram realizadas a uma frequência de 30Hz durante 30 minutos, usando massas totais de aproximadamente 70 mg. As moagens assistidas por solvente foram todas realizadas utilizando 10 µL de etanol.

### 2.1.2.2. Cristalização de solução

A cristalização de solução é uma forma de obtenção e de discriminação de formas polimórficas com grande relevância na indústria farmacêutica, onde a seleção de diversos solventes poderá gerar diferentes formas cristalinas. [93] Este método é bastante utilizado como uma primeira abordagem no estudo do polimorfismo de ativos farmacêuticos, sendo também a metodologia com maior sucesso para a obtenção de monocristais para resolução de estruturas por difração de raios-X. [94]

#### **Condições experimentais:**

Foram dissolvidos cerca de 7 mg de delafloxacina em 10 mL de solvente (Tabela 2.1.2) com agitação de modo a facilitar o processo de dissolução. Posteriormente, as amostras foram filtradas através de filtros de 0.45 $\mu$ m de PTFE hidrofóbico e transferidas para caixas de Petri ( $\phi$  = 5.1 cm; altura h = 1.2 cm) ou para copos de 50 mL ( $\phi$  = 6.5 cm; altura h = 3.5 cm). Por fim, deixou-se evaporar o solvente à temperatura ambiente ou a 4 °C. Os sólidos obtidos foram depois observados através de um microscópio de transmissão de luz polarizada, Leica, DMRB e analisados por difração de raios-X de pó, FTIR e DSC.

## 2.2. Caracterização dos sólidos obtidos

### 2.2.1. Análise Térmica

A análise térmica designa um conjunto de técnicas analíticas que têm como finalidade o estudo de propriedades físico-químicas de substâncias e materiais em função da temperatura ou do tempo, enquanto a amostra em estudo é submetida a um programa de temperatura, numa atmosfera controlada. [95][96] Neste trabalho, as técnicas de análise térmica utilizadas foram a calorimetria de diferencial de varrimento (DSC), a análise termogravimétrica (TG) e a termomicroscopia com luz polarizada (PLTM).

Ao submeter-se uma amostra a um programa de temperatura, sob uma atmosfera controlada, obtém-se um registo em função da temperatura ou do tempo, sendo possível assim apresentar os fenómenos que ocorreram durante o programa de temperatura imposto à amostra. Estes fenómenos podem resultar em absorção (endotérmico) ou libertação de energia

(exotérmico). Os estudos por DSC darão conta destes fenômenos, que serão registados por termomicroscopia quando observada sob luz polarizada. Por termogravimetria apenas serão registados eventos que conduzem a alteração da massa da amostra.

#### 2.2.1.1 Calorimetria Diferencial de Varrimento (DSC)

A calorimetria diferencial de varrimento, DSC, do inglês *Differential Scanning Calorimetry*, é uma das técnicas de análise térmica mais utilizadas que mede o fluxo de calor entre uma amostra e um material de referência. Predominante em áreas como o estudo de polímeros, fármacos e materiais inorgânicos, estuda os fenômenos que envolvem trocas de energia ou variação de capacidade calorífica, *e.g.* transição vítrea ( $T_g$ ), cristalização, fusão e degradação, que ocorrem numa amostra quando esta e o seu material de referência são submetidos a um programa de aquecimento e/ou arrefecimento sob uma atmosfera controlada, podendo durante este processo ocorrer ou não transferência de massa para a vizinhança. [97]

O sistema de DSC pode ser classificado como DSC de fluxo de calor e DSC de potência compensada, sendo este último o sistema utilizado no presente trabalho. No DSC de potência compensada a amostra e a referência estão dispostas em fornos separados, medindo-se a energia necessária para manter ambas à mesma temperatura, à medida que são submetidas a um programa controlado de temperatura, sob uma atmosfera especificada. Quando ocorre um evento térmico na amostra, a energia fornecida é ajustada de forma que a temperatura da amostra se mantenha igual à da referência ( $T_{amostra} = T_{referência}$ ). [92]

Tal como foi dito anteriormente, ao expormos a amostra a um programa de temperatura previamente selecionado, a sua curva térmica regista os eventos energéticos que ocorrem na amostra, sendo assim possível observar as alterações que ocorrem nas suas propriedades físicas. Estes eventos fazem aumentar (endotérmico) e diminuir (exotérmico) a energia que é necessário fornecer à amostra para que o programa de temperatura seja cumprido. [98]

### Condições experimentais:

Neste trabalho, foi utilizado um calorímetro Perkin-Elmer DSC 7 equipado com um banho de refrigeração ajustado a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ , utilizando como fluido de refrigeração uma mistura de etilenoglicol-água (1:1, v/v). O gás de purga utilizado foi o azoto, com um fluxo de 20 mL/min.

A generalidade das amostras foram preparadas em cápsulas de alumínio de 30  $\mu\text{L}$  perfuradas. Como referência, utilizou-se uma cápsula igual à da amostra, mas vazia.

A calibração do aparelho de DSC foi feita a uma velocidade de varrimento de  $10\text{ }^{\circ}\text{C} / \text{min}$ , tendo-se utilizado vários padrões de acordo com a gama de temperatura a que pretendíamos trabalhar.

Na calibração da temperatura foram utilizados os seguintes padrões: fenil-salicilato (material de referência certificado, LGC2613,  $T_{onset} = 41.46\text{ }^{\circ}\text{C}$ ); bifenilo (material de referência certificado, LGC2610,  $T_{onset} = 68.93\text{ }^{\circ}\text{C}$ ); naftaleno (material de referência certificado, LGC2401,  $T_{onset} = 80.20\text{ }^{\circ}\text{C}$ ); ácido benzóico (material certificado, LGC2606; índio (material de referência certificado Perkin-Elmer, 99.999%,  $T_{onset} = 156.60\text{ }^{\circ}\text{C}$ ). Na calibração da variação de entalpia,  $\Delta_{fus}H$ , foi utilizado o índio ( $\Delta_{fus}H = 28.8\text{ J} / \text{g}$ ). [99]

#### 2.2.1.2. Análise Termogravimétrica (TGA)

A análise termogravimétrica (TGA) é uma técnica em que a massa de uma substância é monitorizada ao longo do tempo, enquanto é exposta a um programa de temperatura controlado. Deste modo, permite estudar a estabilidade térmica através das perdas de massa que ocorrem num composto submetido a um programa de temperatura controlado e sob uma atmosfera especificada. [100]

O resultado da análise de uma amostra por TGA, é uma curva de % de massa em função da temperatura, designada por termograma, sendo única para cada composto, e permitindo identificar os eventos que vão ocorrendo na amostra ao longo do tempo, tais como, perda de água, perda de solvente, descarboxilação, oxidação, pirólise, etc. [101]

Para além da curva de perda de massa, a sua primeira derivada pode ser também representada, da qual podemos obter informações mais claras.

### **Condições experimentais:**

As curvas de TG foram obtidas na Unidade de Controlo de Qualidade de Produtos Farmacêuticos (UCQFarma) da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, através de um sistema TGA209F3A-0115-L numa gama de temperatura de 30-600 °C e sob uma atmosfera de azoto, com um fluxo de 20 mL / min. A velocidade de varrimento adotada foi de 10 °C / min.

As amostras foram pesadas de maneira a que tivessem uma massa de aproximadamente 10 mg em cápsulas de alumina (Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>).

#### **2.2.1.3 Termomicroscopia com Luz Polarizada (PLTM)**

A termomicroscopia com luz polarizada é uma técnica de análise térmica com elevada importância na caracterização do estado sólido. Os materiais são expostos a programas de temperatura, sendo monitorizados ao longo do tempo/temperatura com o auxílio de um microscópio. A partir desta técnica é possível observar os diferentes eventos térmicos que acontecem na amostra, por exemplo, podemos acompanhar eventos como a fusão, cristalização, transição vítrea, sublimação, decomposição, etc, que resultem na alteração da imagem da amostra quando observada sob luz polarizada.

Com interesse acentuado em várias áreas da ciência, possui elevada importância na investigação de produtos farmacêuticos. [102] Deste modo, é útil na observação da morfologia e na análise de ativos farmacêuticos (APIs) e de excipientes, sendo também uma das técnicas mais utilizada na caracterização/identificação de polimorfos, permitindo identificá-los através de pontos de fusão ou de outros eventos térmicos que se encontram a temperaturas diferentes em relação às outras formas polimórficas do mesmo composto. É, ainda, uma técnica versátil, permitindo observar o comportamento da amostra em diferentes programas de aquecimento e/ou arrefecimento, sendo também uma técnica complementar a outras técnicas analíticas, tais como, a calorimetria diferencial de varrimento (DSC), a espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) e a análise termogravimétrica (TGA). [102][103]

### **Condições experimentais:**

A termomicroscopia com luz polarizada (PLTM), foi utilizada neste trabalho para a obtenção de imagens dos sólidos preparados por evaporação lenta de solvente e visualização

dos fenómenos térmicos de algumas amostras quando sujeitas a programas de aquecimento e/ou arrefecimento. O equipamento utilizado possui uma placa de aquecimento DSC600, em que a temperatura é medida com sensores de platina (Pt100). O equipamento, é também, constituído por um bloco central de unidades possuindo diversas funções: a unidade CI94 (*Computer Interface*), que permite controlar o programa de temperatura, a unidade LNP94 (*Liquid Nitrogen Pump*), permitindo o controlo da refrigeração e uma unidade VTO232 (*Video Text*). O equipamento possui, ainda, um computador que permite controlar todo o sistema. As amostras foram observadas com recurso a um microscópio de transmissão de luz polarizada, Leica, DMRB. As imagens foram adquiridas com uma ampliação de x50.

## 2.2.2. Espectroscopia de Infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

Na espectroscopia de infravermelho, a radiação de frequência apropriada é absorvida pela molécula de acordo com os níveis de energia dos seus modos vibracionais. Para que um modo vibracional seja ativo em espectroscopia de infravermelho, a molécula terá de apresentar alterações no seu momento dipolar resultante desse modo vibracional. [104] Deste modo, a intensidade depende da capacidade da molécula em absorver energia na gama do infravermelho. [107] A espectroscopia de infravermelho é uma técnica analítica que, para além de permitir identificar grupos funcionais (tais como álcool, ácido carboxílico, etc.), origina um espectro, por exemplo de absorvância (u.a.) em função do número de onda ( $\text{cm}^{-1}$ ), que é a impressão digital da molécula em estudo. [104]

Existem vários modos de aquisição de espetros de infravermelho, sendo os mais comuns o modo de transmissão, de refletância total atenuada (ATR), de refletância difusa e de reflexão-absorção. No presente trabalho, os espetros foram obtidos em modo ATR na região média do infravermelho ( $4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$ ). Na sua recolha foi ainda utilizado um instrumento com transformada de Fourier, onde o monocromador é substituído por um interferómetro.

A espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) tem sido cada vez mais aplicada em diversas áreas da ciência, tais como, na área forense e farmacêutica, no estudo de proteínas, na análise de polímeros e plásticos, na identificação de tintas, resinas, borrachas, etc. Por sua vez, este método é significativamente útil na área do controlo e qualidade dos materiais.

Para além da calorimetria diferencial de varrimento e da técnica de difração de raios-X, também a espectroscopia de infravermelho é utilizada na investigação de polimorfos, sendo uma ferramenta importante no estudo das ligações intermoleculares que os grupos funcionais que duas ou mais moléculas estabelecem entre si. Simples, de fácil manuseio e de baixo custo, é uma das técnicas analíticas mais utilizadas.

### **Condições experimentais:**

Para a análise por espectroscopia de infravermelho, foi utilizado um espectrómetro com transformada de Fourier (FTIR) Thermo Scientific Nicolet 380 com a resolução de  $1 \text{ cm}^{-1}$ . Foi utilizado um acessório de refletância total atenuada, ATR, Smart Orbit Diamond ATR da Thermo Scientific Nicolet, possuindo um cristal de diamante que permite uma gama espectral no intervalo de  $10000\text{-}200 \text{ cm}^{-1}$ , e onde a área em que é colocada a amostra é de  $13 \text{ mm}^2$ .

De maneira a proceder-se à análise dos compostos, colocou-se uma pequena quantidade de amostra na zona ativa do ATR, baixando-se, posteriormente, a torre de pressão. Para a aquisição dos espectros utilizou-se o software EZ OMNIC 6.1. Cada espectro foi obtido com 32 scans, numa gama espectral de  $4000\text{-}400 \text{ cm}^{-1}$ .

### **2.2.3. Espectroscopia de Difração de Raios-X (XRD)**

A espectroscopia de difração de raios-X, é uma técnica complementar à espectroscopia de infravermelho no que diz respeito à identificação das formas polimórficas dos compostos. Tendo por base a incidência de um feixe monocromático de raios-X no cristal de uma amostra, é uma ferramenta importante na identificação das estruturas dos materiais cristalinos. Por não terem uma ordem de longo alcance, é pouco apropriada na análise de materiais amorfos.

Tal como foi referido, um feixe de raios-X incide na amostra, sendo posteriormente difratado pelos planos cristalográficos, ou seja, cada plano do cristal reflete a radiação segundo um ângulo  $\theta$ , dando origem a interferências construtivas para determinados ângulos, enquanto os restantes dão origem a interferências destrutivas. [98] O fenómeno de difração de raios-X pode ser explicado segundo a lei de Bragg, expressa pela seguinte equação:

$$n\lambda = 2d \sin \theta \quad [\text{Eq. 2.1}]$$

onde  $n$  descreve a ordem de difração,  $\lambda$  o comprimento de onda da radiação raios-X,  $d$  é a distância entre planos e  $\theta$  o ângulo de difração.

No presente trabalho foi utilizada a técnica de difração de raios-X de pó (XRPD). Tal como o nome indica, a amostra é analisada sob a forma de um pó policristalino, sendo possível uma análise qualitativa do material, através da comparação de padrões. O resultado da análise de uma amostra por XRPD, vai ser um espectro de intensidade em função do ângulo  $2\theta$ , onde a posição dos picos é característica da amostra em estudo, permitindo a comparação entre amostras e podendo a estrutura ser identificada a partir da base de dados *Cambridge Crystallographic Data Centre* (CCDC), caso já tenha sido resolvida e depositada. A intensidade dos picos pode depender do modo de preparação da amostra.

### **Condições experimentais:**

Os estudos por difração de raios-X de pó (XRPD) foram feitos na Unidade de Controlo de Qualidade de Produtos Farmacêuticos (UCQFarma) da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra. Neste processo, as amostras foram analisadas com recurso a um difratómetro de raios-X MiniFlex 600 (Rigaku, Japão). Utilizou-se radiação  $K\alpha$  ( $\lambda = 1,541862 \text{ \AA}$ ) com um filtro  $K\beta$ . Na preparação das amostras, foram utilizados porta amostras com superfícies em silício, sendo os difratogramas obtidos a uma temperatura de cerca de  $40^\circ\text{C}$ . Para simulação dos difratogramas a partir de estruturas resolvidas já existentes na literatura, de modo a comparar com as formas polimórficas obtidas, utilizou-se o software Mercury 2021.3.0.

# Capítulo 3

## Resultados e discussão



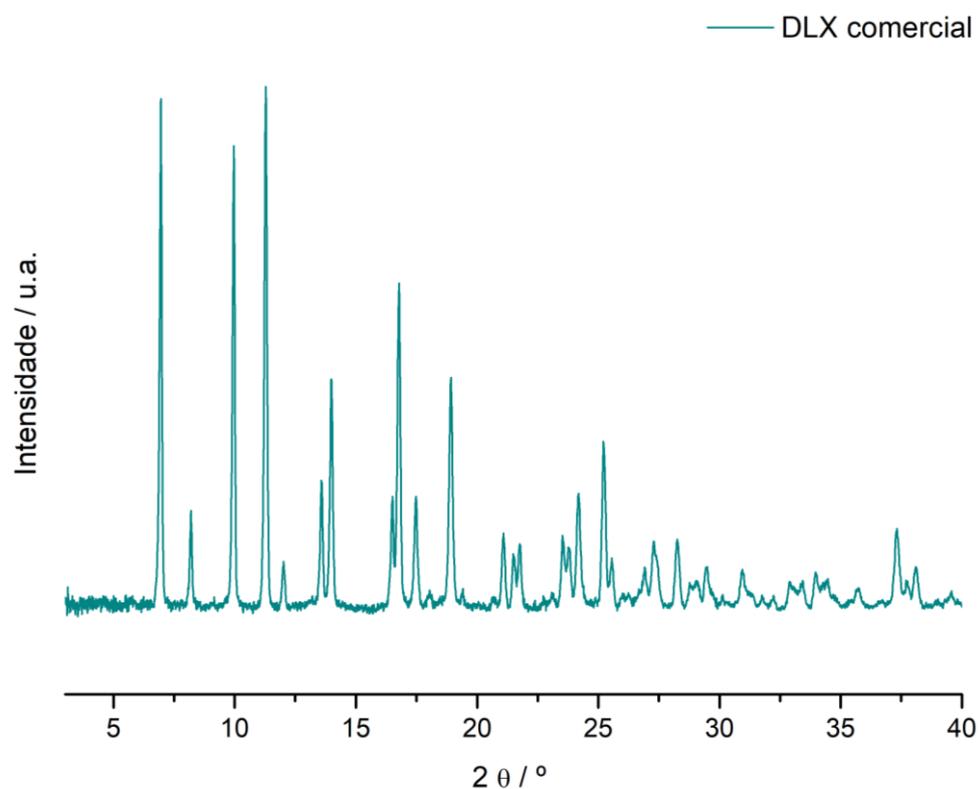
## Capítulo 3

### 3. Resultados e Discussão

#### 3.1. Delafloxacina - pesquisa e caracterização de formas polimórficas

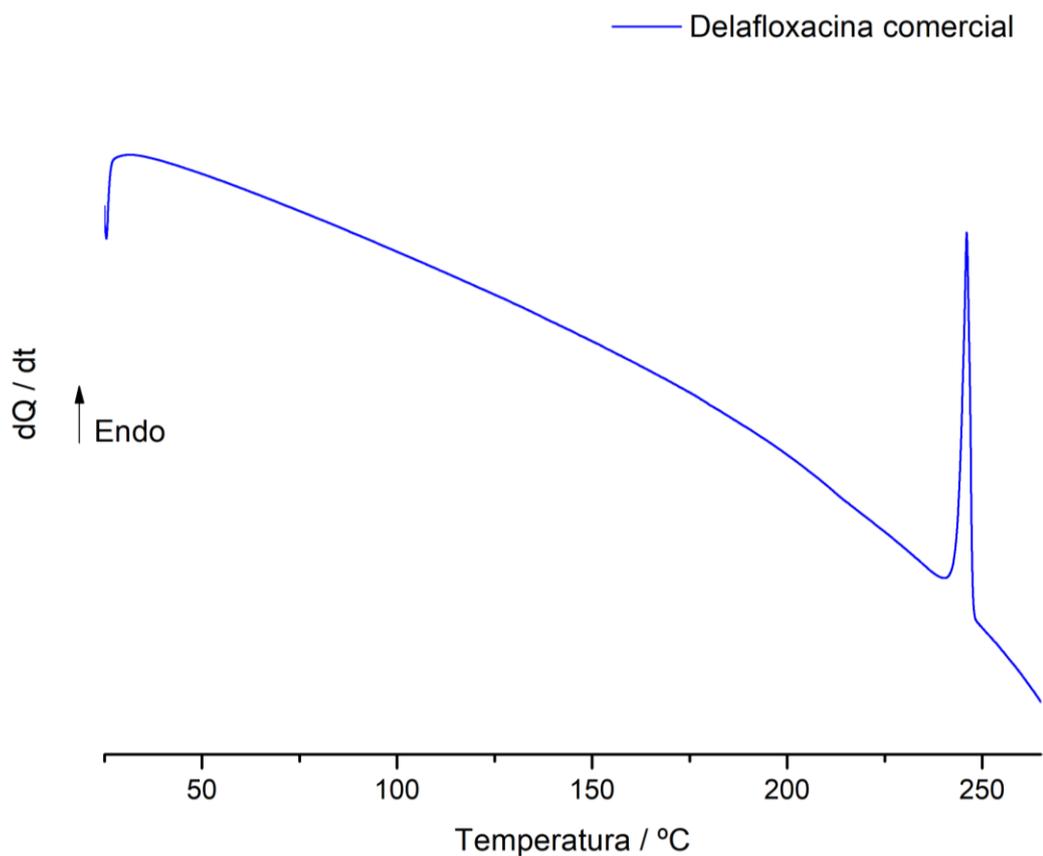
##### 3.1.1. Avaliação do composto comercial

A amostra de partida do ativo farmacêutico, delafloxacina, foi inicialmente caracterizada por difração de raios-X de pó, Figura 3.1.1, e identificada como a forma polimórfica anteriormente descrita por Anwer *et al.* [34]



**Figura 3.1.1.** Difratograma de raios-X de pó da amostra comercial de delafloxacina.

Ao caracterizarmos o composto por calorimetria diferencial de varrimento, DSC, Figura 3.1.2, observamos apenas uma transição de fase, o que foi confirmado por termomicroscopia, correspondente à fusão ( $T_{fus} = (244.0 \pm 0.5)$ ;  $\Delta_{fus}H = (48.3 \pm 0.6)$  kJ/mol), Tabela 3.1.1.

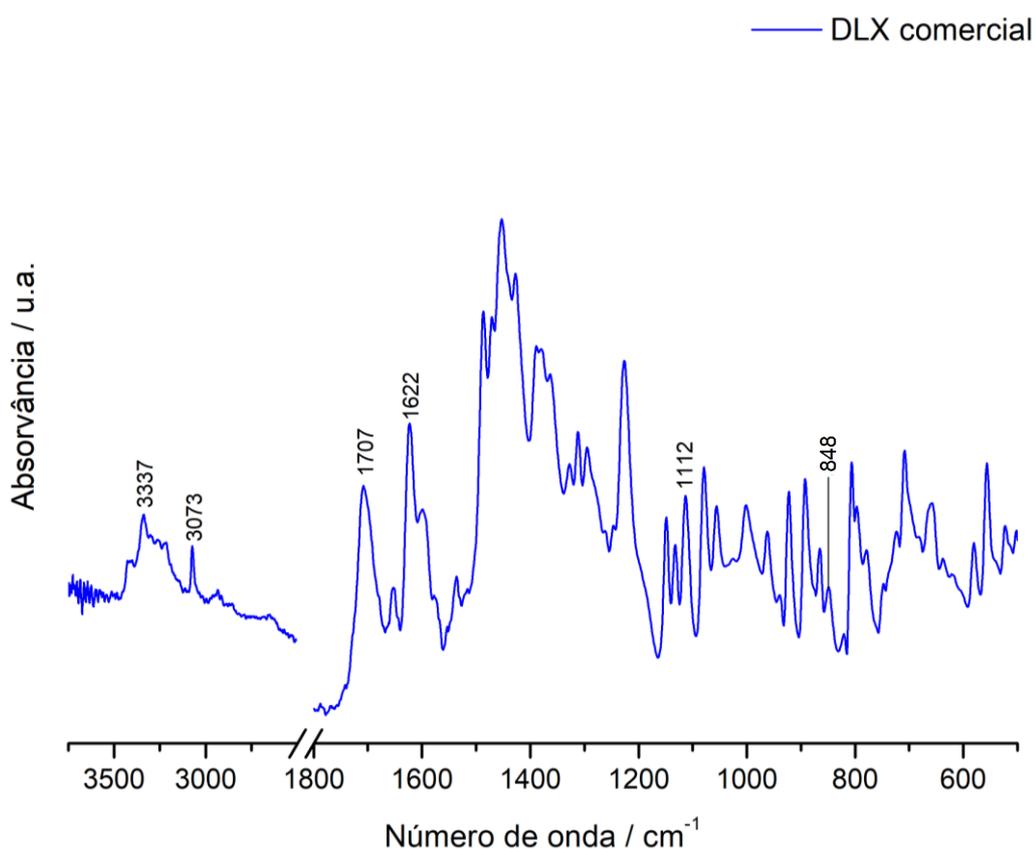


**Figura 3.1.2.** Curva de DSC de uma amostra de delafloxacina comercial sujeita a um programa de aquecimento de 25 °C a 265 °C,  $\beta = 10$  °C / min,  $m = 1.05$  mg.

**Tabela 3.1.1.** Temperatura de fusão,  $T_{onset}$ , e entalpia de fusão ( $\Delta_{fus}H$ ) da delafloxacina comercial (n=3), valores obtidos por calorimetria diferencial de varrimento.

Ensaio	$T_{onset} / ^\circ\text{C}$	$\Delta_{fus}H / \text{kJ} / \text{mol}$
1	243.5	48.9
2	244.6	48.5
3	244.0	47.6
<hr/>		
$\bar{x} \pm s$	$244.0 \pm 0.5$	$48.3 \pm 0.6$

No espectro de infravermelho, Figura 3.1.3, são identificados os picos correspondentes às elongações dos grupos funcionais O-H ( $3337 \text{ cm}^{-1}$ ), C-H ( $3073 \text{ cm}^{-1}$ ), cetona C=O ( $1707 \text{ cm}^{-1}$ ), elongação correspondente ao grupo C=O do ácido carboxílico ( $1622 \text{ cm}^{-1}$ ), a elongação do C-F ( $1112 \text{ cm}^{-1}$ ) e a elongação C-Cl ( $848 \text{ cm}^{-1}$ ).

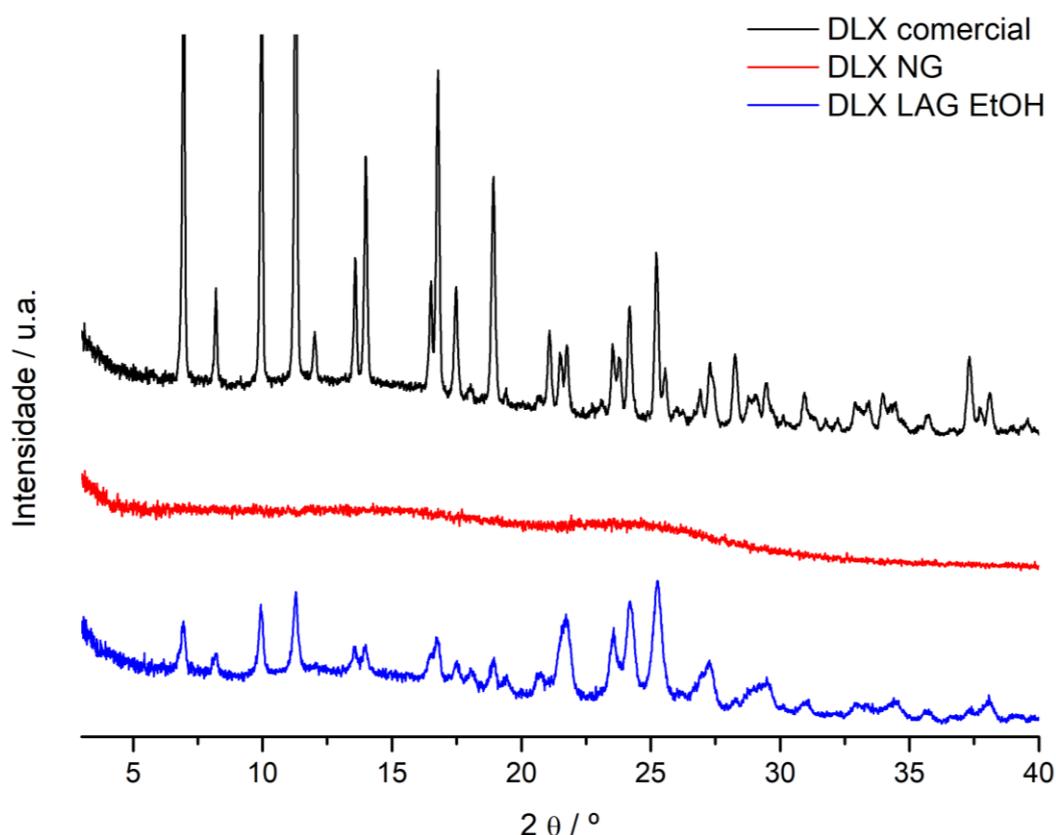


**Figura 3.1.3.** Espectro de infravermelho obtido para uma amostra de delafloxacina comercial.

### 3.1.2 Pesquisa de formas polimórficas por mecanoquímica

Após uma avaliação preliminar do composto comercial, e pretendendo estudá-lo utilizando a mecanoquímica, foram feitos ensaios usando moagem a seco (*Neat Grinding; NG*) e assistida por solvente (*Liquid Assisted Grinding; LAG*).

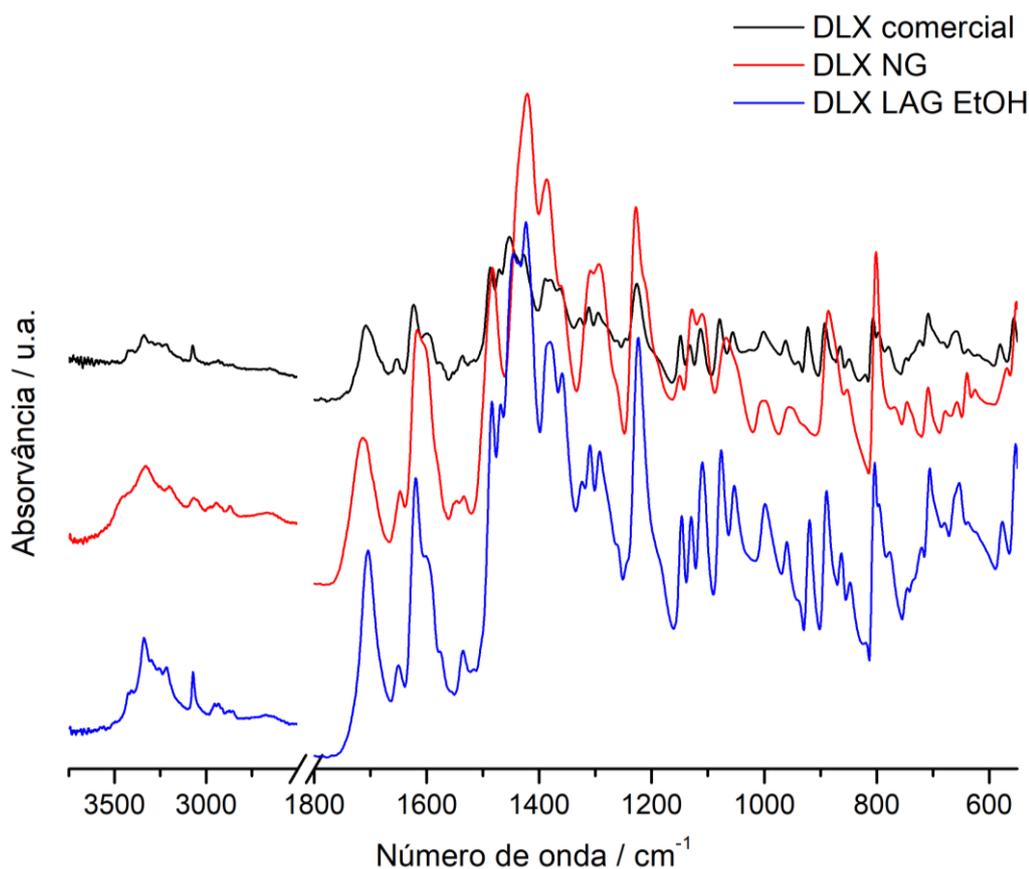
A caracterização por difração de raios-X de pó das amostras obtidas por moagem, Figura 3.1.4, permite verificar que o processo de NG conduz à formação de um amorfo, não apresentando assim qualquer ordenação espacial. Já a amostra obtida por LAG apresenta reflexões da forma polimórfica inicial, ou seja, do composto comercial, apesar de mais alargadas.



**Figura 3.1.4.** Difratomogramas de raios-X de pó das amostras de delafloxacina comercial, NG e LAG.

De modo a reunir informação adicional sobre as modificações estruturais sofridas durante os processos de moagem NG e LAG, procedeu-se à caracterização destas amostras pela técnica de FTIR, Figura 3.1.5. Quando comparamos os espectros da amostra comercial com o da amostra conseguida por NG, neste último, verificamos algumas alterações no perfil das bandas em comparação à amostra comercial, resultado da amorfização do composto. Mais concretamente, podemos observar um alargamento das bandas de elongação de alguns grupos funcionais característicos, tais como, -OH, cujo valor máximo de número de onda diminui de  $3337\text{ cm}^{-1}$  para  $3327\text{ cm}^{-1}$ . A elongação do grupo funcional cetona (C=O) da delafloxacina sofre um deslocamento de  $1707\text{ cm}^{-1}$  para  $1712\text{ cm}^{-1}$ . Também a elongação do grupo C=O do ácido carboxílico se desloca para um valor de  $1615\text{ cm}^{-1}$ . Já o sinal correspondente à elongação da ligação C-Cl, divide-se em dois sinais aumentando para um valor de  $853\text{ cm}^{-1}$ .

A amostra obtida por LAG manteve a sua estrutura, apresentando um espectro idêntico ao do composto comercial.



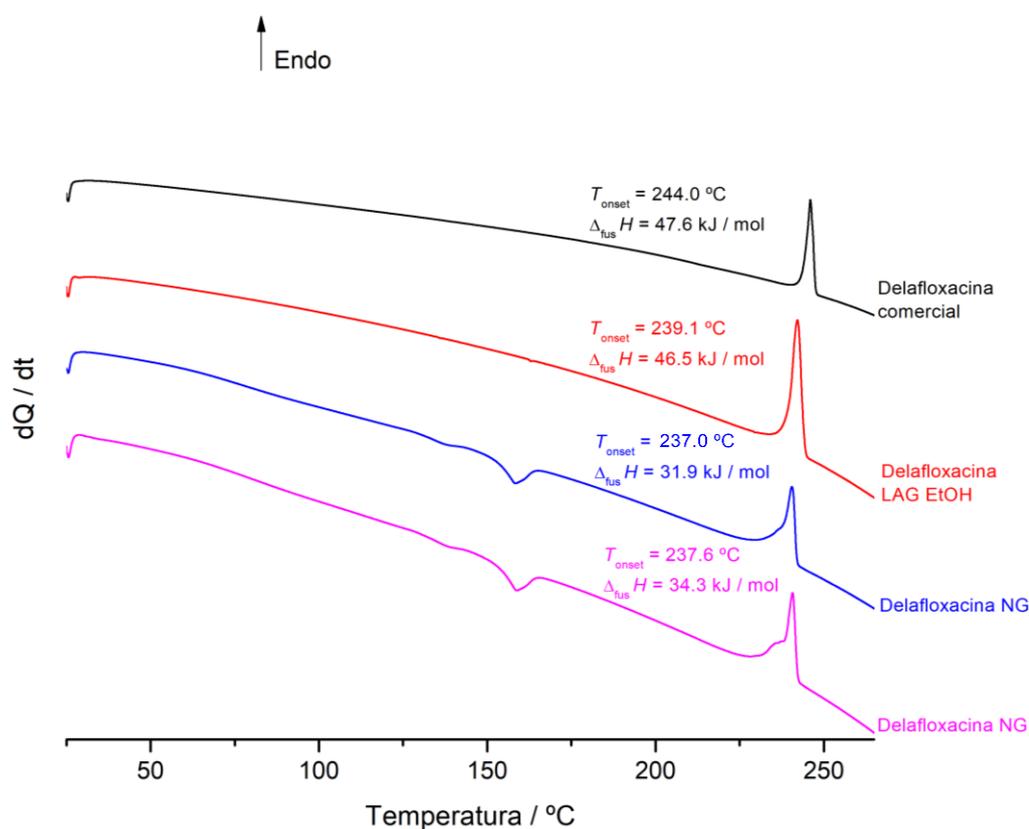
**Figura 3.1.5.** Espectros de infravermelho de amostras de delafloxacina comercial, NG e LAG.

As amostras de delafloxacina, obtidas por moagem NG e LAG, foram analisadas também por métodos de análise térmica, calorimetria diferencial de varrimento, Figura 3.1.6, PLTM, Figuras 3.1.7 e 3.1.8 e termogravimetria, Figura 3.1.9.

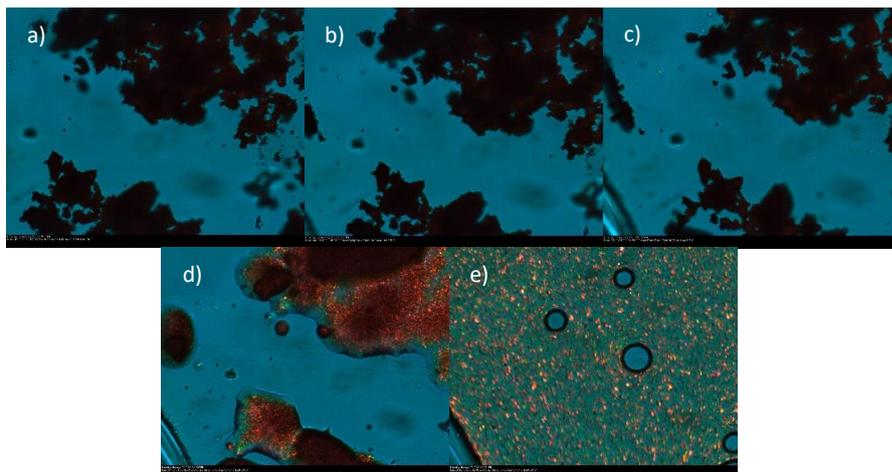
No estudo por DSC, Figura 3.1.6, observamos a ocorrência de vários eventos na curva da amostra obtida por *Neat Grinding*, nomeadamente, eventos exotérmicos atribuíveis a cristalização e por fim fusão. Os picos de fusão observados são de natureza complexa.

As curvas de DSC da amostra obtida por LAG têm um pico único correspondente à fusão, registando-se um decréscimo na temperatura a que a transição é observada. Dado que se trata do mesmo polimorfo da forma comercial, esta diferença poderá dever-se a diminuição do tamanho de partículas.

Imagens ilustrativas do comportamento térmico das amostras obtidas por LAG e NG, em ensaios de PLTM, são apresentadas nas Figuras 3.1.7 e 3.1.8. A amostra obtida por LAG, submetida a um programa de aquecimento de 25 a 265 °C, Figura 3.1.7, mostrou apenas fusão com início a  $T \sim 238$  °C.

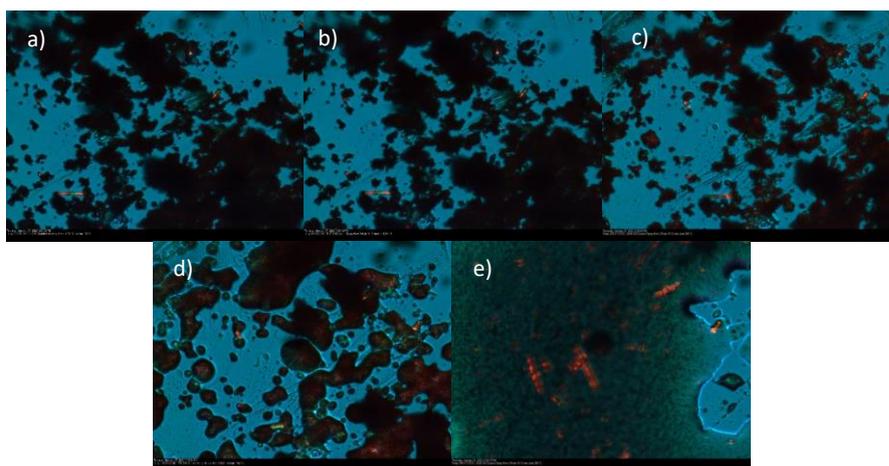


**Figura 3.1.6.** Curvas de DSC de aquecimento de amostras de delafloxacina comercial e submetidas a moagens, NG e LAG,  $\beta = 10$  °C / min.



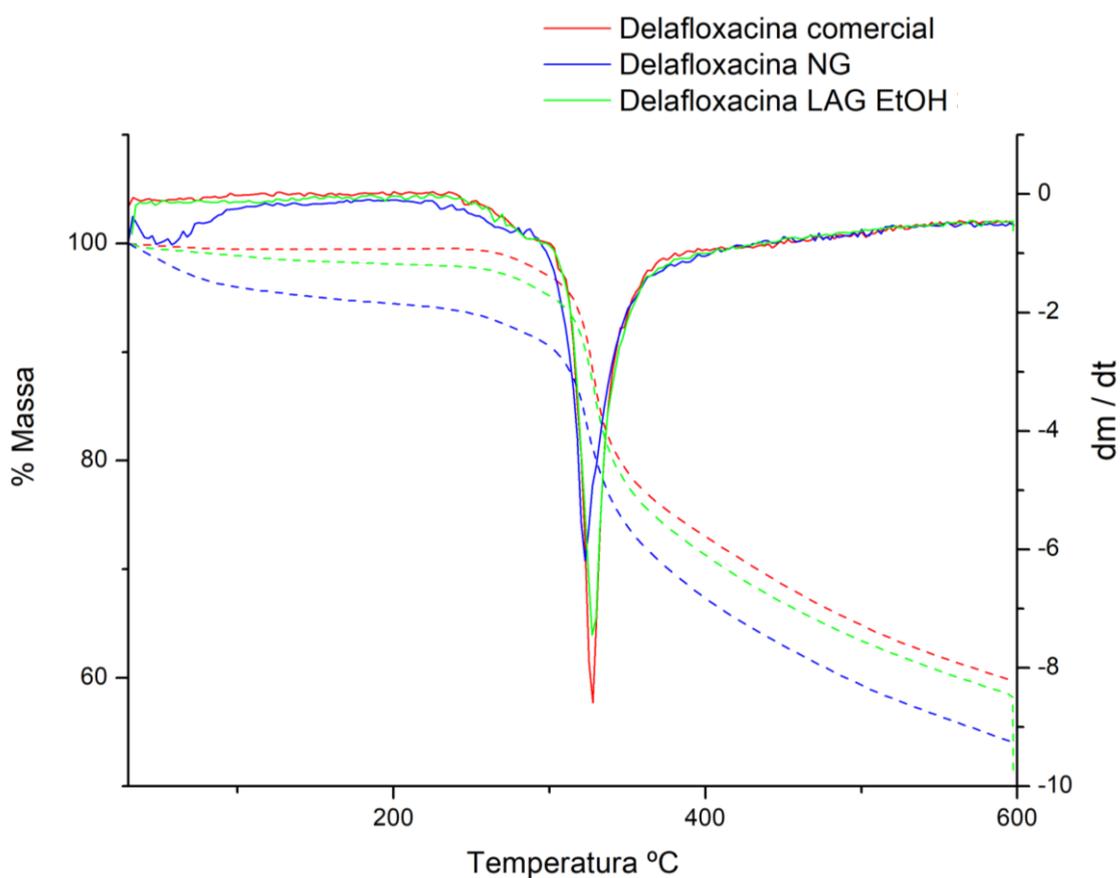
**Figura 3.1.7.** Imagens registadas de uma amostra de delafloxacina LAG ao longo de um ensaio de aquecimento com recurso à microscopia de luz polarizada com uma ampliação de x200. a) Delafloxacina LAG a 25 °C; b) Delafloxacina LAG a 144 °C; c) Início da fusão da delafloxacina LAG a 238 °C; d) T = 241 °C; e) T = 244 °C.

Os resultados obtidos para a amostra preparada por NG são exemplificados na Figura 3.1.8. De realçar que a amostra, no início da experiência, já se encontrava cristalina. Observam-se aglomerados cristalinos compactos e outros cristais distintos em muito menor quantidade. Verificou-se a fusão dos aglomerados cristalinos mais abundantes a uma temperatura de 235 °C, seguida da fusão de uma segunda forma do composto a 244 °C, justificando a interpretação das curvas obtidas por DSC. É assim proposta a identificação de duas formas sólidas com temperaturas de fusão a  $T \sim 235$  °C e 244 °C.



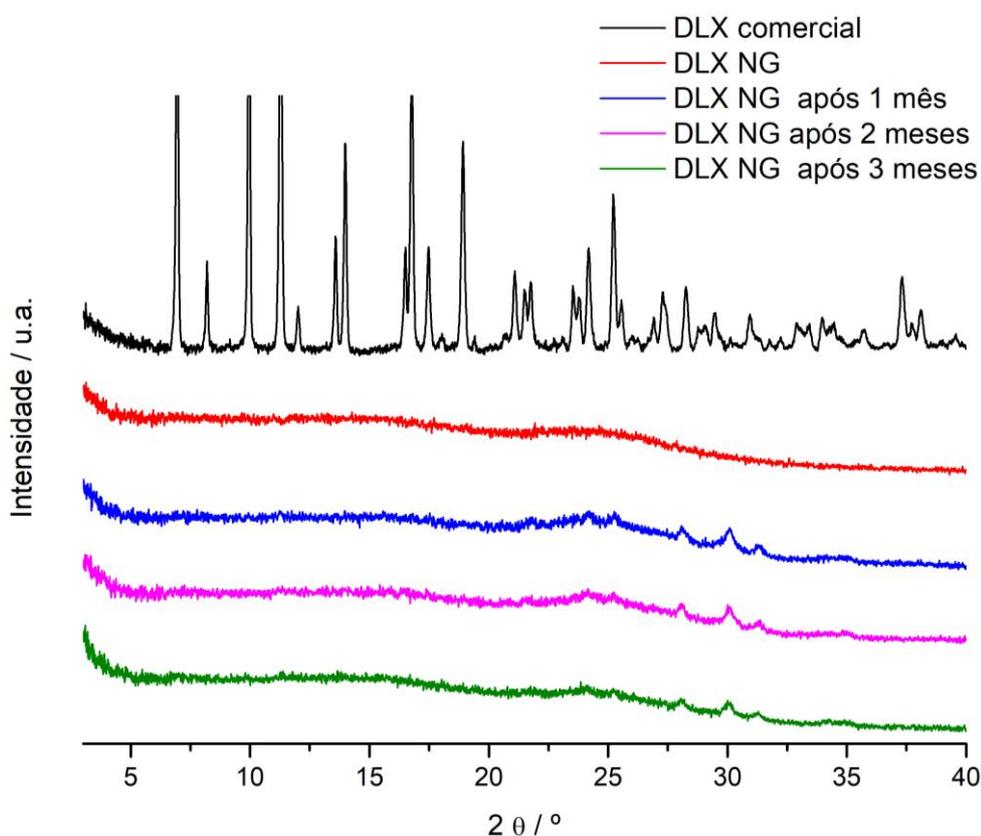
**Figura 3.1.8.** Imagens registadas de uma amostra de delafloxacina NG no aquecimento até à fusão, ampliação de x200. a) Delafloxacina NG a 25.0 °C; b) Delafloxacina NG a 61.0 °C; c) Início da fusão da delafloxacina NG a 235 °C; d) T = 238 °C; e) Fusão de uma segunda forma da delafloxacina NG a 244 °C.

Pela análise da curva termogravimétrica obtida para a delafloxacina comercial, Figura 3.1.9, não se verificou nenhuma perda de massa significativa até à fusão (% massa = 0.43;  $T_{onset}$  = 244.0 °C;  $T_{peak}$  = 246.5 °C), sendo a amostra termicamente estável até à ocorrência deste fenómeno. Figura 3.1.9 e S1. A temperatura de fusão está em concordância com o valor obtido por DSC. Já a última perda de massa (37.56 %) no intervalo de temperaturas de 295 – 600 °C ocorre aquando da decomposição da delafloxacina. O comportamento da amostra de delafloxacina LAG apresenta o mesmo perfil do da amostra comercial. A amostra obtida por NG mostra uma perda inicial de massa de cerca de 2% que poderá ter resultado da humidade adsorvida, e decomposição com perfil idêntico ao das outras amostras.



**Figura 3.1.9.** Curvas termogravimétricas (TGA) de uma amostra comercial de delafloxacina e de amostras obtidas por NG e LAG.

Tal como referido, a amostra obtida por NG, numa primeira abordagem, apresenta-se como uma fase amorfa. A amostra foi guardada num exsiccador sobre  $\text{CaCl}_2$ , a  $4^\circ\text{C}$ , e analisada ao longo do tempo, por XRPD, Figura 3.1.10, com o intuito de avaliar a estabilidade cinética do amorfo. Assim, verificámos que este apresenta algumas reflexões após um período de aproximadamente um mês. Isto acontece uma vez que os compostos amorfos são metaestáveis, tendendo a cristalizar ao longo do tempo. No entanto, nos três meses seguintes não foi observada evolução adicional do amorfo.



**Figura 3.1.10.** Difratogramas de raios-X de pó de uma amostra de delafloxacina comercial e duma amostra obtida por NG, recolhidos em períodos de tempo diferentes, após preparação.

### 3.1.3. Estudo da influência do solvente na obtenção de formas polimórficas da delafloxacina

Tal como foi dito anteriormente, o solvente utilizado pode influenciar a forma polimórfica do API que se irá obter no final de um processo de cristalização. Para este estudo foram usados os solventes apresentados na Tabela 2.1.2 da secção de materiais e métodos, com diferenças de polaridade e capacidade de formação de ligações de hidrogénio, de modo a dar lugar a diferentes interações intermoleculares com a delafloxacina.

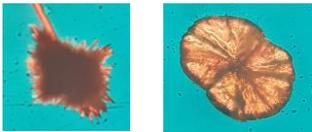
A utilização de um microscópio permitiu observar os hábitos cristalinos dos sólidos que se formaram com os diferentes solventes, Tabela 3.1.2. Em todos os casos foram obtidas acículas.

A Figura 3.1.11 apresenta os difratogramas de raios-X de pó obtidos para estas amostras, onde é possível apurar que o polimorfo indicado na forma comercial foi obtido na maioria dos solventes. No ensaio feito com tetrahidrofurano (THF) observamos um novo padrão de difração da delafloxacina, diferente do obtido para a forma comercial. As reflexões mais intensas são observadas para  $2\theta = 4.32, 7.17, 10.69, 14.65, 20.03^\circ$ . Nos difratogramas obtidos em acetato de etilo e acetona, para além reflexões registadas na amostra comercial há uma reflexão adicional a  $2\theta = 7.45^\circ$ .

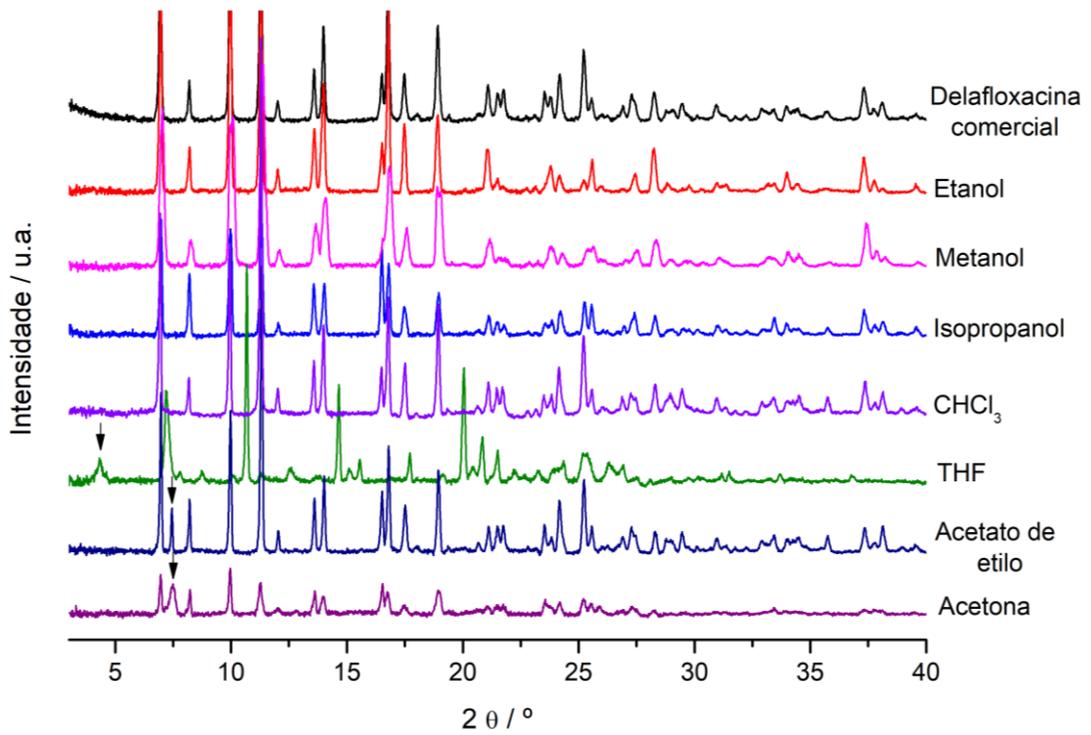
A influência do solvente na obtenção de formas polimórficas também foi estudada através do espectro de infravermelho dos sólidos obtidos em cada solvente.

Ao analisarmos os espectros de FTIR, Figura 3.1.12, há diferenças notórias nos espectros dos cristais obtidos com tetrahidrofurano (THF) relativamente ao do composto comercial. Todos os restantes conduziram à forma comercial da delafloxacina.

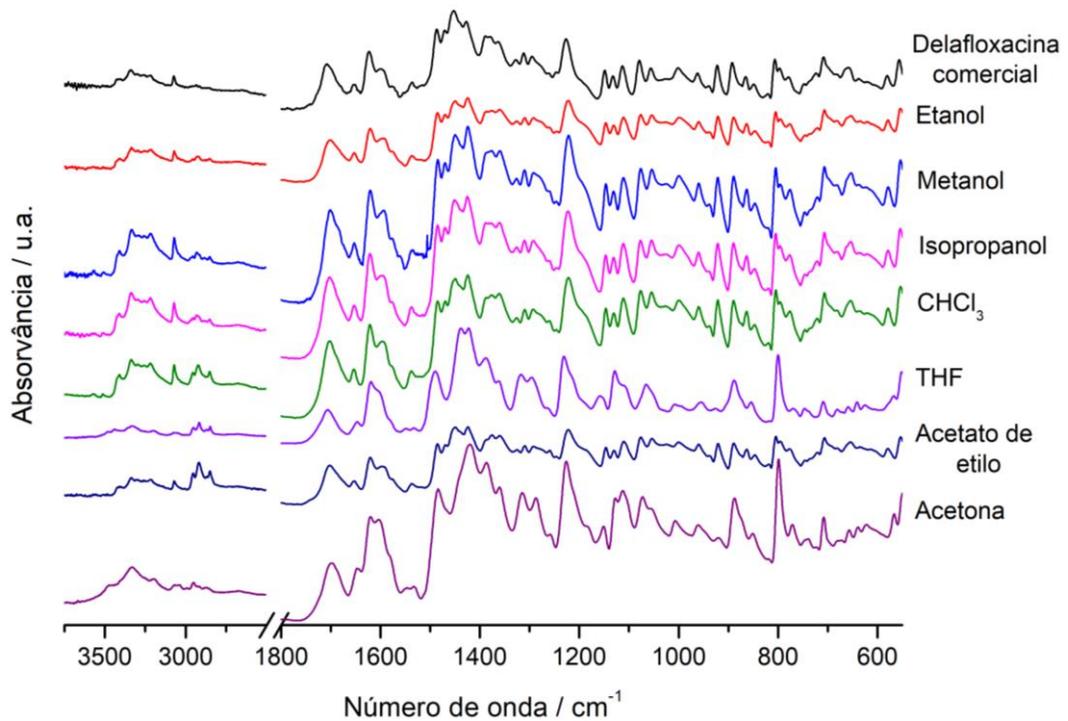
**Tabela 3.1.2.** Imagens de cristais de delafloxacina obtida por cristalização nos solventes indicados; microscópio com luz polarizada (ampliação x50).

Solvente	Cristais obtidos	Forma
Etanol		Forma comercial
Metanol		Forma comercial
Isopropanol		Forma comercial
Acetona		Forma comercial / (+)
THF		Diferente da comercial
Clorofórmio		Forma comercial
Acetato de etilo		Forma comercial / (+)

(+) – Reflexões adicionais no difratograma de raios-X de pó.

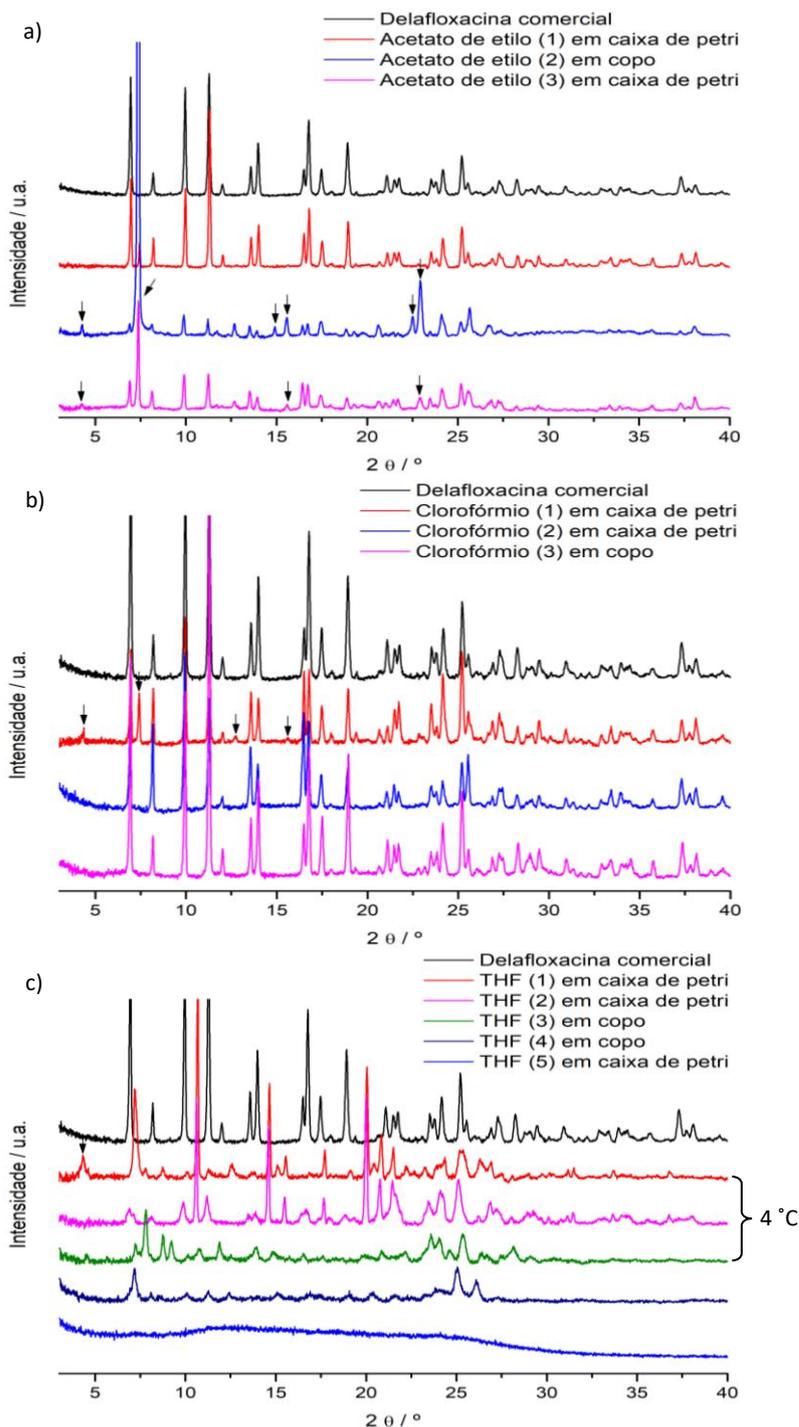


**Figura 3.1.11.** Difratogramas de raios-X de pó de amostras de delafloxacina cristalizada em diferentes solventes, indicados na Figura.



**Figura 3.1.12.** Espectros de infravermelho de amostras de delafloxacina cristalizada em diferentes solventes, indicados na Figura.

Os difratogramas representados na Figura 3.1.13, resultaram de vários ensaios de cristalização foram efetuados, usando os solventes acetato de etilo, clorofórmio e THF. Estes ensaios foram realizados em copo e em caixa de Petri, o que permite ter algum controlo sobre a velocidade de evaporação dos solventes de maneira a possuímos um termo de comparação entre os diferentes tempos de cristalização.

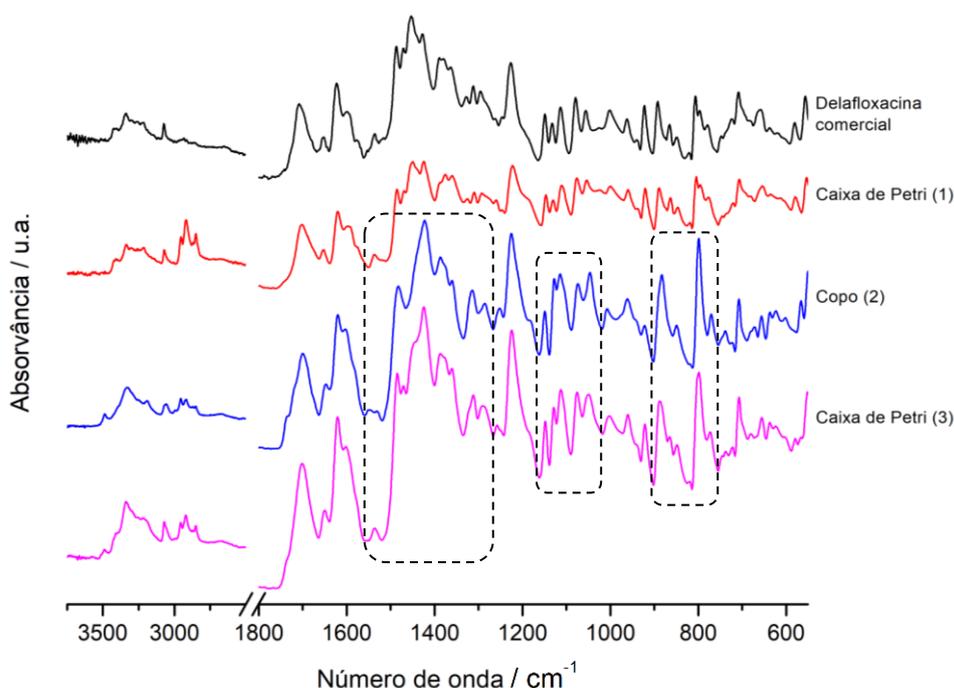


**Figura 3.1.13.** Difratogramas de raios-X de pó de amostras de delafloxacina cristalizada em direntes solventes variando as condições experimentais (Tamb exceto quando referido): a) acetato de etilo; b) clorofórmio; c) THF.

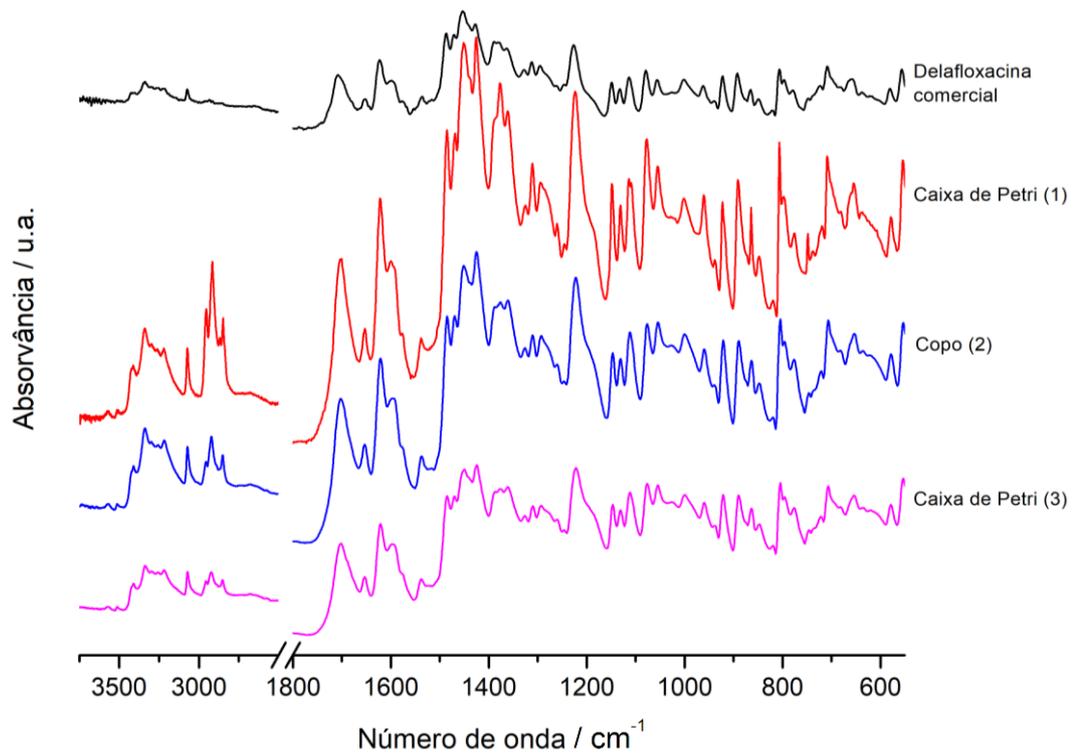
Na Figura 3.1.13 podemos ver que se obteve diferentes resultados para os vários ensaios realizados. No entanto, não é possível atribuir um efeito determinante da realização de evaporação em copo ou em caixa de Petri. Em acetato de etilo obteve-se uma mistura de forma comercial com outra forma caracterizada por reflexões a  $2\theta = 4.3^\circ$ ,  $7.4^\circ$ ,  $14.9^\circ$ ,  $15.6^\circ$ ,  $22.5^\circ$  e  $22.9^\circ$ . Esta forma tem maior contribuição nos ensaios (2) e (3). A Figura S.2 em anexo, completa esta análise. Em clorofórmio obteve-se maioritariamente a forma comercial. No ensaio (1) são visíveis reflexões da nova forma sólida. Em THF, em que a evaporação é mais rápida, obteve-se um amorfo (ensaio 5) em evaporação à temperatura ambiente. Os ensaios de evaporação realizados a  $4^\circ\text{C}$  (ensaios (1) a (3)) originaram diferentes sólidos como mostra a Figura 3.1.13 c). A diferença nos difratogramas de THF pode estar no facto de estarmos perante diferentes hidratos ou solvatos.

A análise dos espectros de infravermelho das amostras obtidas nestes ensaios é uma outra forma de avaliarmos se a estrutura dos compostos não se alterou, Figuras 3.1.14, 3.1.15 e 3.1.16.

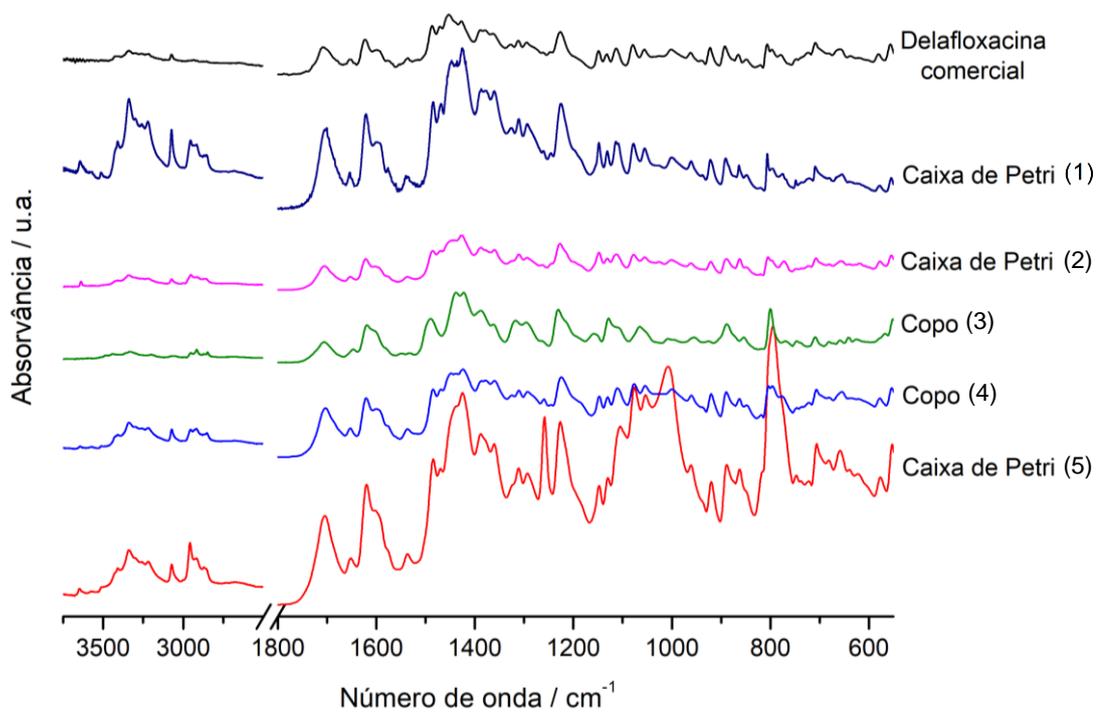
Os espectros de infravermelho em amostras cristalizadas em acetato de etilo apresentam diferenças subtis, nas regiões assinaladas na Figura 3.1.14, relativamente ao espectro da amostra comercial, em concordância com as conclusões retiradas por XRPD. Os espectros das amostras obtidas em clorofórmio, Figura 3.1.15 são, como se esperava, similares ao da amostra comercial, e em THF, Figura 3.1.16, as diferenças mais notórias são registadas para a amostra (5), amorfa.



**Figura 3.1.14.** Espectros de infravermelho de amostras de delafloxacina obtidas por cristalização em acetato de etilo.



**Figura 3.1.15.** Espectros de infravermelho de amostras de delafloxacin obtidas por cristalização em cloroformio.



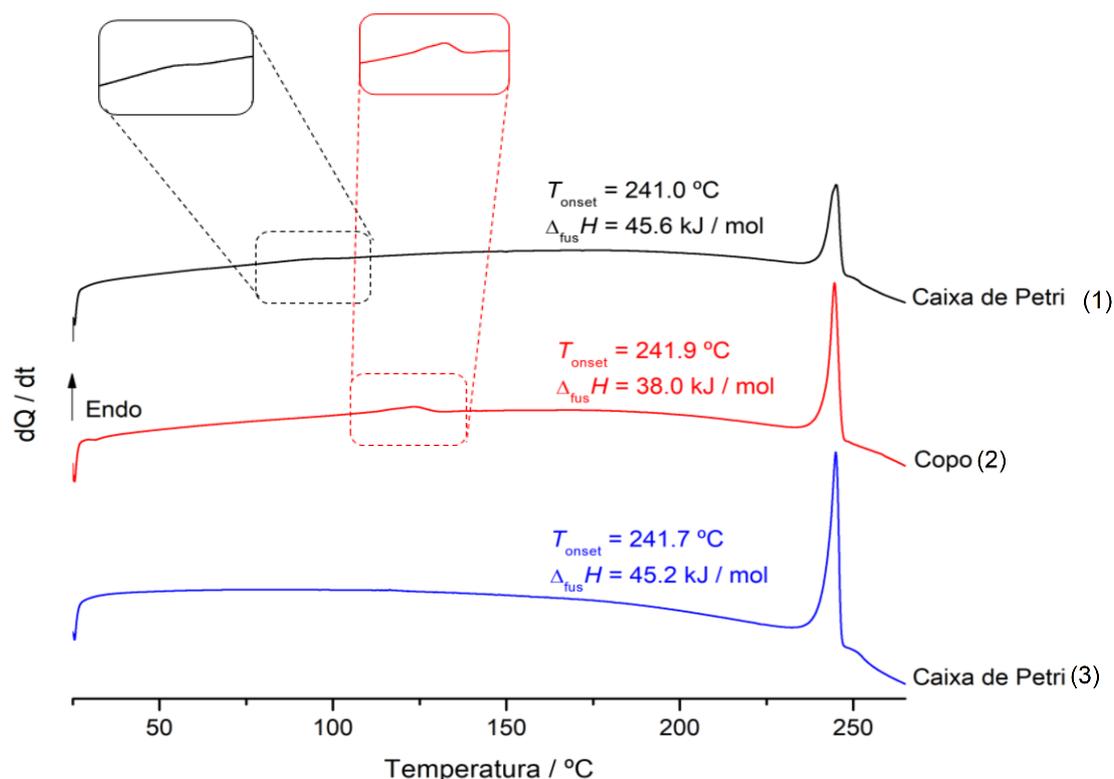
**Figura 3.1.16.** Espectros de infravermelho de amostras de delafloxacin obtidas por cristalização em THF.

Nas Figuras 3.1.17, 3.1.18 e 3.1.19 encontram-se representadas as curvas de DSC de aquecimento das amostras obtidas nos ensaios de cristalização em acetato de etilo, clorofórmio e THF, anteriormente descritos, respetivamente.

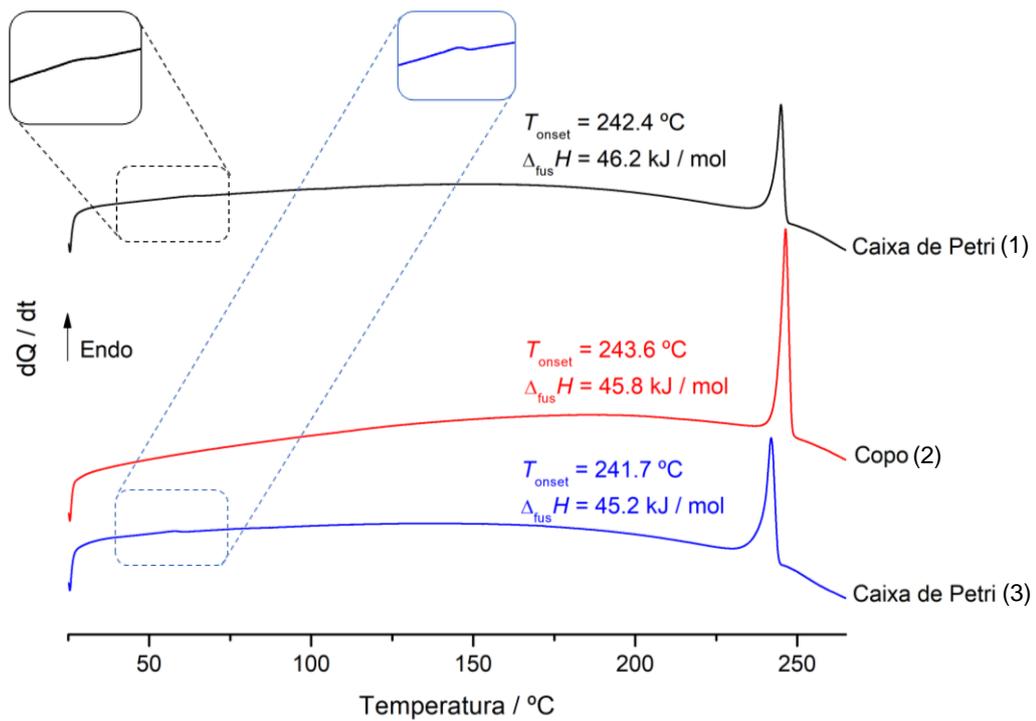
Os ensaios de DSC para as amostras cristalizadas em acetato de etilo e em clorofórmio mostram resultados de  $T_{\text{onset}}$  e de  $\Delta_{\text{fus}}H$  concordantes entre si. A fusão ocorre a  $T \sim 242 \text{ }^\circ\text{C}$ , e nalgumas curvas são observados eventos endotérmicos de baixa energia antes da fusão, que poderão evidenciar a existência de transições sólido – sólido ou dessolvatação.

Os ensaios em THF conduzem a resultados muito diversos, como se esperaria atendendo à diversidade de difratogramas de raios-X. Em alguns ensaios são observadas transições endotérmicas de baixa energia antes da fusão, a qual apresenta por vezes evidência de ser um fenómeno complexo.

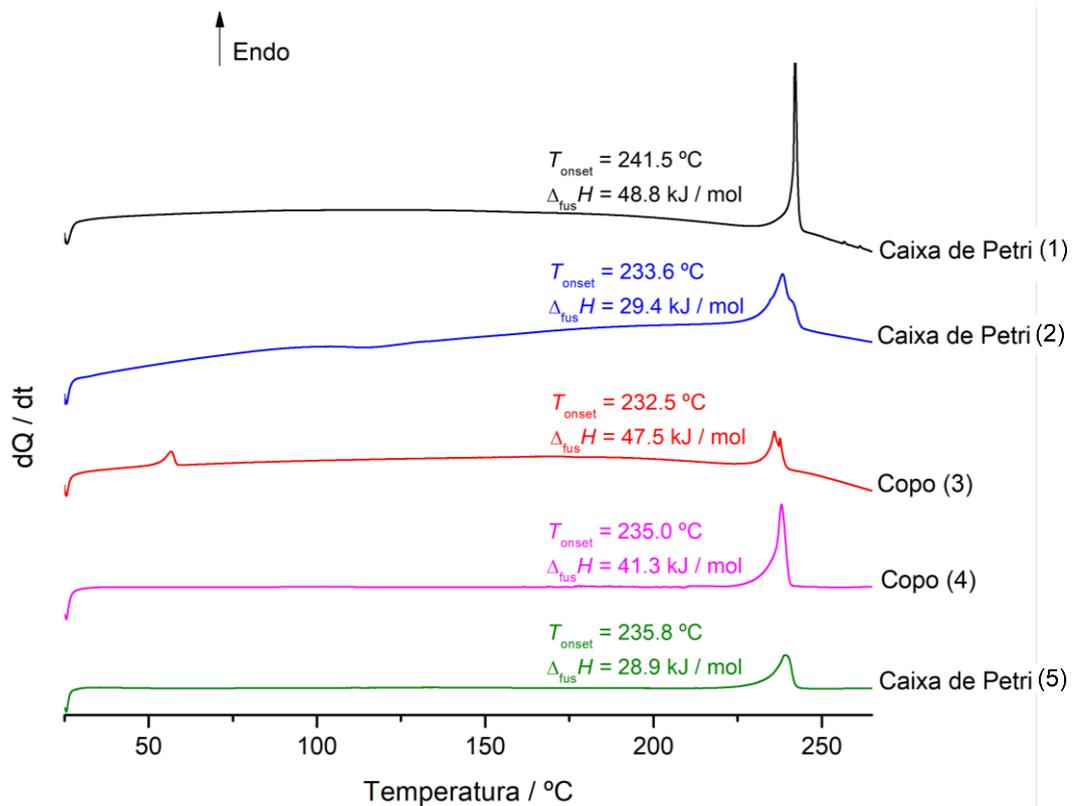
A quantidade reduzida de material disponível não permitiu realizar investigação adicional. No entanto, este trabalho abre perspectivas interessantes para o futuro, uma vez que não existe até agora, qualquer estudo sobre o polimorfismo da delafloxacina reportado na literatura.



**Figura 3.1.17.** Curvas de DSC de várias amostras de delafloxacina cristalizadas em acetato de etilo e sujeitas a um programa de aquecimento de  $25 \text{ }^\circ\text{C}$  a  $265 \text{ }^\circ\text{C}$ ,  $\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C} / \text{min}$ .



**Figura 2.18.** Curvas de DSC de várias amostras de delafloxacin cristalizadas em clorofórmio e sujeitas a um programa de aquecimento de 25 °C a 265 °C,  $\beta = 10$  °C / min.



**Figura 3.1.19.** Curvas de DSC de várias amostras de delafloxacin cristalizadas em THF e sujeitas a um programa de aquecimento de 25 °C a 265 °C,  $\beta = 10$  °C / min.

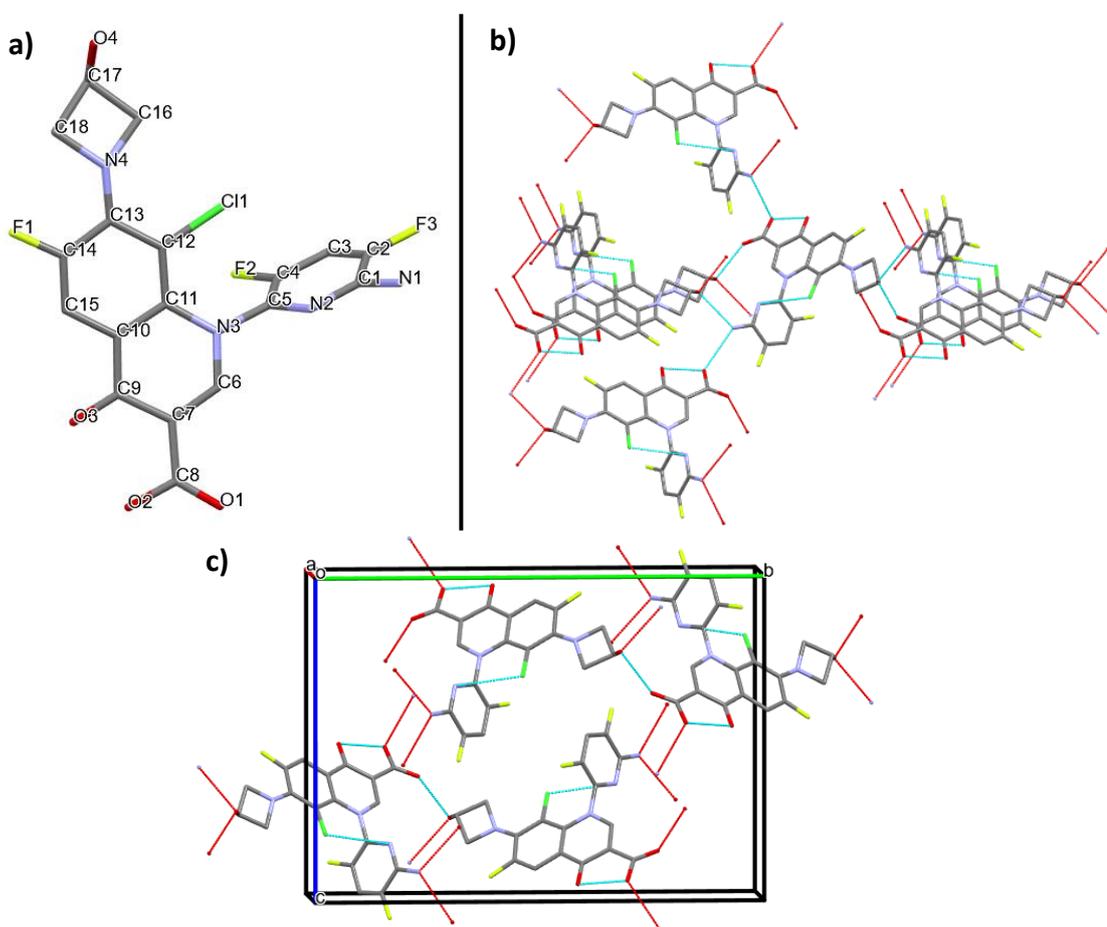
### 3.1.4 Estrutura cristalina de um polimorfo de delafloxacina

Em ensaios de cristalização em etanol, foram obtidos cristais com qualidade adequada para a resolução da estrutura por difração de raios-X de monocristal. A resolução da estrutura foi feita no laboratório *Centro di Cristallografia Strutturale (CRIST), Università degli Studi di Firenze*, Itália, à temperatura de 100 K. O sólido cristalizou num sistema monoclinico, no grupo espacial *P1*. Os parâmetros obtidos para a célula unitária foram os seguintes:  $a = 5.27150(10) \text{ \AA}$ ;  $b = 21.0848(6) \text{ \AA}$ ;  $c = 15.4527(4)$ ;  $\alpha = 90^\circ$ ;  $\beta = 90.6570(10)^\circ$ ;  $\gamma = 90^\circ$ ;  $Z = 8$  e  $V = 1717.43(7) \text{ \AA}^3$ . Na Figura 3.1.20, podemos observar a estrutura da delafloxacina e as ligações de hidrogénio intra e intermoleculares que as moléculas estabelecem. A Tabela 3.1.4 apresenta os parâmetros cristalográficos correspondente à estrutura resolvida.

**Tabela 3.1.4.** Parâmetros cristalográficos de um cristal de delafloxacina obtido de etanol.

Parâmetros cristalográficos	
Fórmula molecular	$C_9H_6Cl_{0.50}F_{1.50}N_2O_2$
Peso molecular (g/mol)	220.38
Temperatura (K)	100(2)
Comprimento de onda ( $\text{\AA}$ )	1.54178
Sistema cristalino	Monoclinico
Grupo espacial	<i>P1</i>
$a(\text{\AA})$	8.5635(2)
$b(\text{\AA})$	22.2507(5)
$c(\text{\AA})$	17.1758(4)
$\alpha(^\circ)$	90
$\beta(^\circ)$	102.1740(10)
$\gamma(^\circ)$	90
Volume( $\text{\AA}^3$ )	3199.14(13)
$Z, Z'$	8, 2
$\rho_{\text{calc}}$ (g/cm <sup>3</sup> )	1.436
Coefficiente de absorção (mm <sup>-1</sup> )	0.970
$F(000)$	1450

Com os resultados obtidos foi possível comprovar que se estabelece uma ligação de hidrogénio intramolecular e três ligações de hidrogénio intermoleculares, Figura 3.1.20 e Tabela 3.1.5. A ligação intramolecular que se verifica é entre o oxigénio do anel de quinolona com o grupo -OH do ácido carboxílico, O(2)-H(2)⋯O(3). Já o oxigénio deste grupo ácido interage através de uma ligação de hidrogénio com um dos hidrogénios do grupo amina, N(1)-HO(1A)⋯O(2). O grupo álcool (-OH) da amina cíclica interage através de ligações de hidrogénio com o grupo amina (-NH<sub>2</sub>), O(4)⋯H(1B)-N(1), e com o ácido carboxílico, O(4)-H(4)⋯O(1).



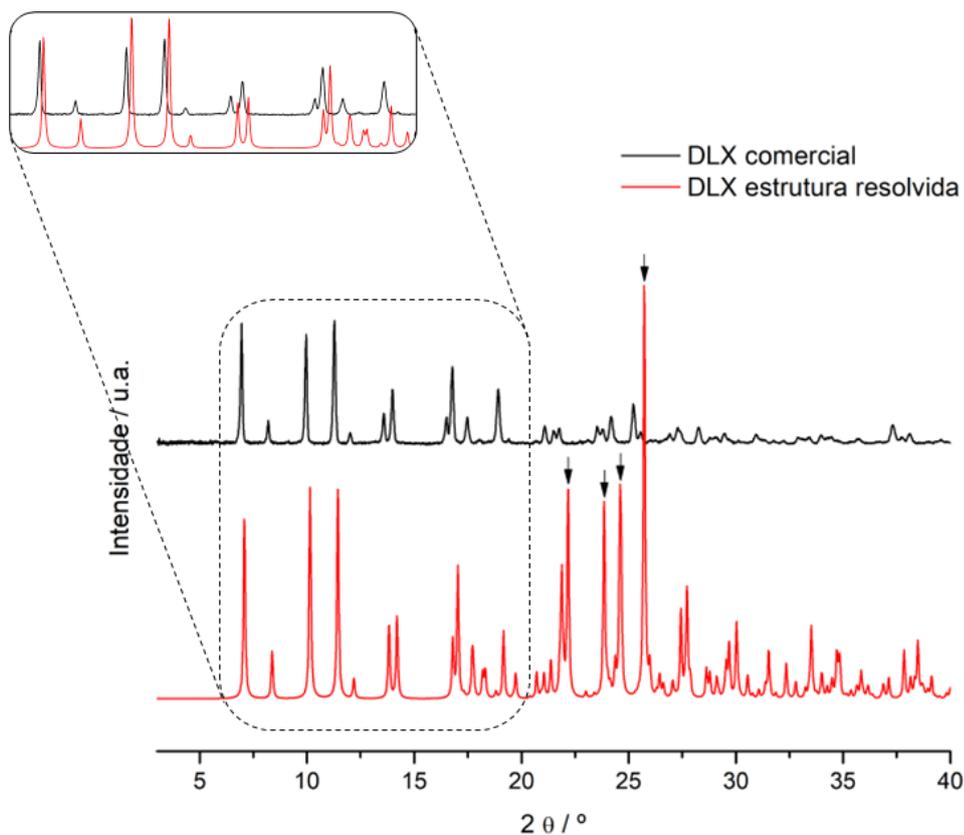
**Figura 3.1.20.** a) Estrutura da delafloxacina cristalizada de etanol; b) Ligações de hidrogénio inter e intramoleculares estabelecidas; c) Empacotamento da célula unitária da delafloxacina cristalizada de etanol, vista ao longo do eixo a.

**Tabela 3.1.5.** Ligações de hidrogênio presentes na estrutura cristalina resolvida da delafloxacina.

Ligações	Distância (D...A) / Å	Ângulos (D-H...A) / °
O(2)-H(2)···O(3)	2.471 (intra)	158.75
N(1)-H(1B)···O(4)	2.971	174.35
O(4)-H(4)···O(1)	2.682	170.71
N(1)-HO(1A)···O(2)	3.055	153.78

D – dador; A – aceitador.

Pela comparação do difratograma da delafloxacina comercial com o obtido para a sua estrutura resolvida, Figura 3.1.21, cuja amostra foi cristalizada de etanol, é possível verificar que até  $2\theta = 20^\circ$  o perfil dos difratogramas é idêntico, mas ocorre uma deslocação em relação às reflexões da amostra de delafloxacina comercial, que pode resultar da diferença de temperaturas a que se obtiveram os difratogramas.



**Figura 3.1.21.** Difratogramas da delafloxacina comercial e da estrutura resolvida cuja amostra foi cristalizada de etanol.

Entre  $2\theta = 20^\circ$  e  $40^\circ$  as alterações no perfil das reflexões é mais acentuada, o que poderá ser indicativo de maior sensibilidade à temperatura dos planos cristalográficos que dão origem a essas reflexões. A diferença também é mais notória por no difratograma experimental, poder haver alteração devido a orientações preferenciais (assinaladas na figura).

## 3.2. Investigação de sólidos multicomponente

Na investigação de sólidos multicomponente envolvendo a delafloxacina foram utilizados, como já foi referido, diferentes tipo de coformadores, com atividades farmacêuticas distintas e também com diferenças estruturais entre si que potenciam a formação de vários sintões supramoleculares por interação com o ativo farmacêutico. Assim, utilizaram-se dois nutracêuticos, o resveratrol e o pteroestilbeno, com potencial para ação antibacteriana sinérgica com o API; o ácido nicotínico e a nicotinamida do complexo vitamínico B3, dois aminoácidos, o *L*-triptofano e a *L*-prolina e a sacarina, um excipiente comum em formas farmacêuticas orais. Por fim, foi também utilizado o 4, 4' - bipyridil, um coformador muito comum na pesquisa de cocristais.

### 3.2.1 Delafloxacina + nutracêuticos

#### 3.2.1.1 Sistema delafloxacina + resveratrol

A investigação de sólidos multicomponente foi iniciada com a escolha de dois coformadores nunca estudados no grupo de investigação: resveratrol e pteroestilbeno. Ambos os compostos foram previamente investigados por moagens LAG e NG. Posteriormente, e de maneira a estudar a eventual associação que estes coformadores poderão estabelecer com a delafloxacina, foram investigadas misturas equimolares também em LAG e NG. Todas as moagens foram feitas a 30Hz durante 30 minutos.

A caracterização do resveratrol comercial por difração de raios-X de pó, Figura 3.2.1, mostrou que o composto de partida tem a estrutura cristalina depositada com o código DALGON 05. [105] Na Figura é feita a comparação com todas as estruturas depositadas na *Cambridge Structural Database* (CCDC).

A análise dos difratogramas obtidos, Figura 3.2.2, indica que as amostras obtidas por moagens feitas por NG e LAG correspondem à forma obtida para o composto comercial, DALGON 05. Os picos de difração são consideravelmente mais largos e há evidência de orientação preferencial

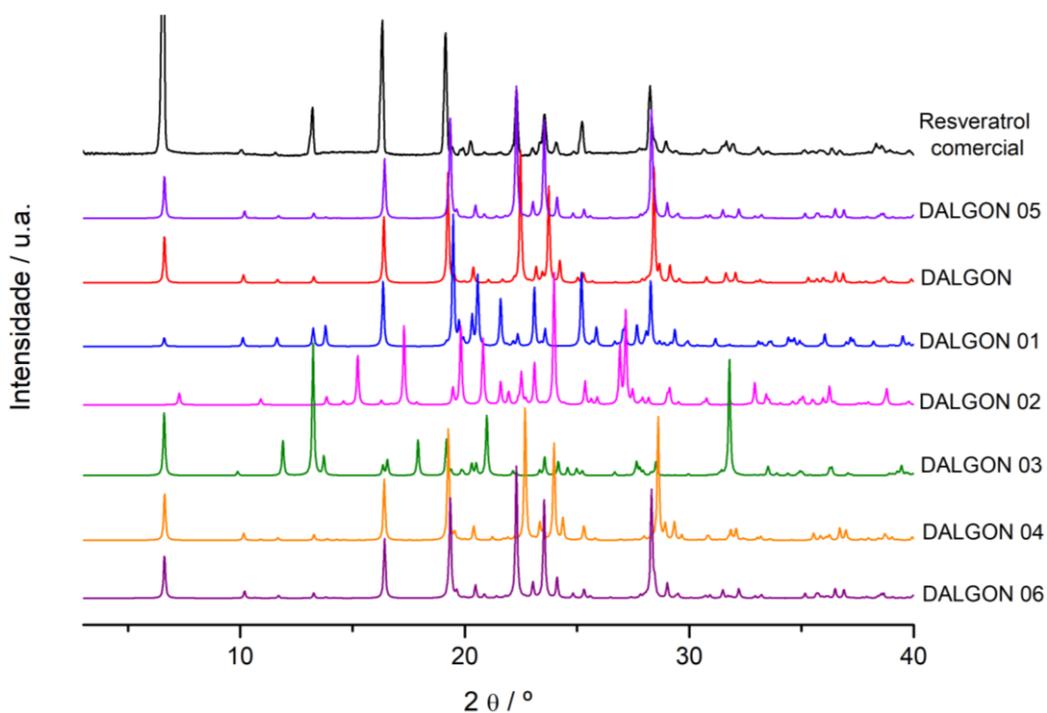


Figura 3.2.1. Difratogramas de raios-X de pó do resveratrol comercial e difratogramas simulados a partir das estruturas depositadas na CCDC.

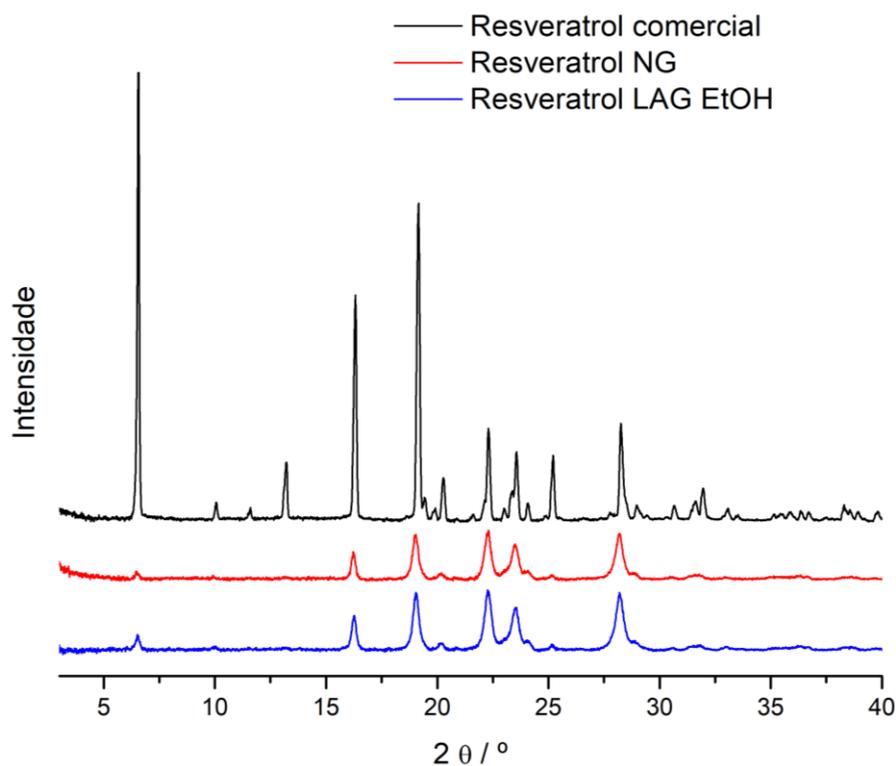
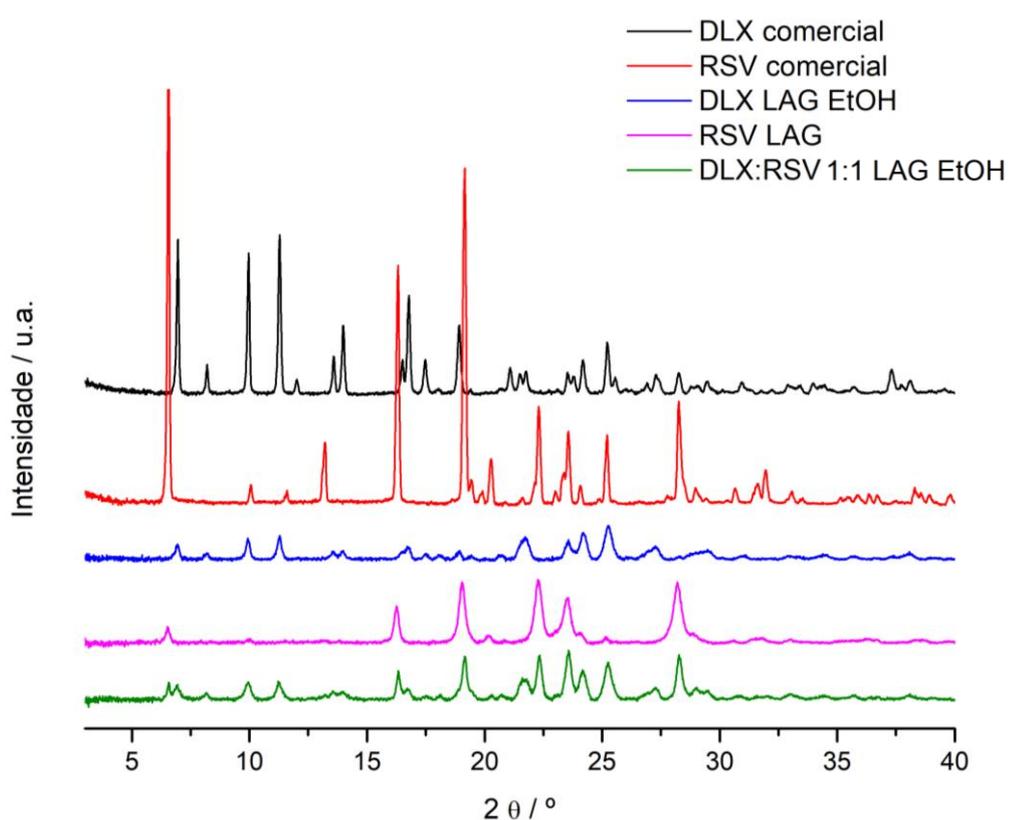
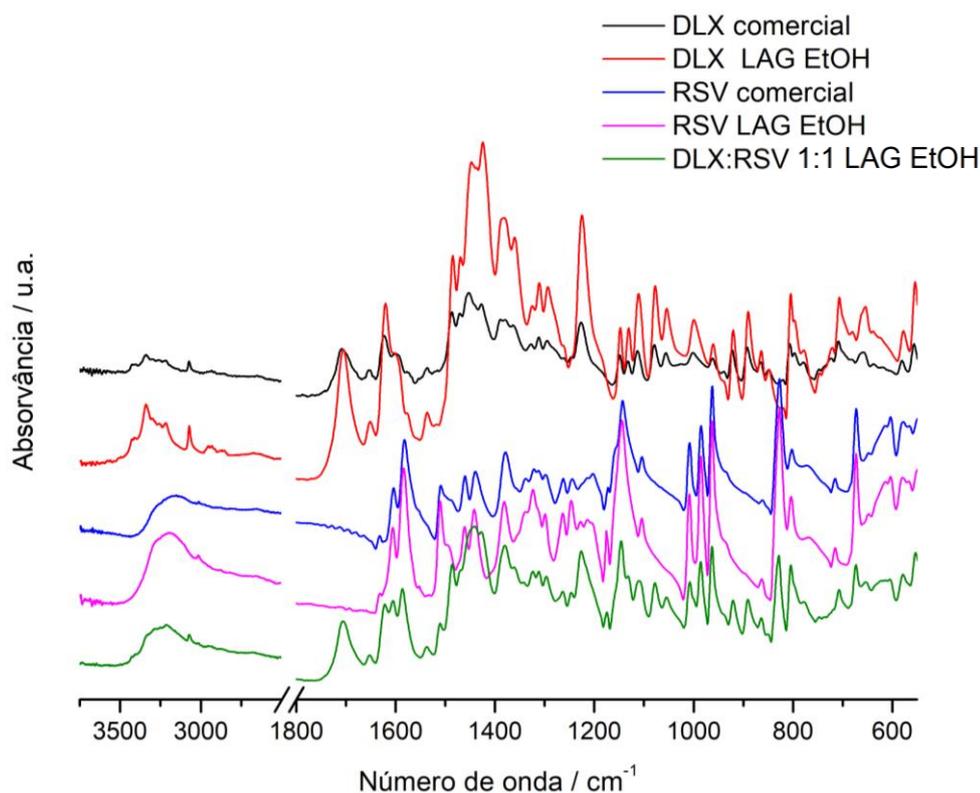


Figura 3.2.2: Difratogramas de raios-X de pó das amostras de resveratrol comercial, NG e LAG.

Na investigação de sólidos multicomponente envolvendo o resveratrol e a delafloxacina, foram estudadas misturas equimolares, submetidas a mecanoquímica na ausência de solvente ou assistida por etanol. Obteve-se uma mistura física pela moagem feita em LAG, como é possível observar pelas Figuras 3.2.3 e 3.2.4. O difratograma da mistura apresenta todas as reflexões dos compostos de partida e o espectro de infravermelho é a soma das bandas observadas nos sólidos de partida. Já na moagem por NG foi obtido um coamorfo, Figuras 3.2.5 e 3.2.6, tendo sido posteriormente estudada a sua estabilidade ao longo do tempo.



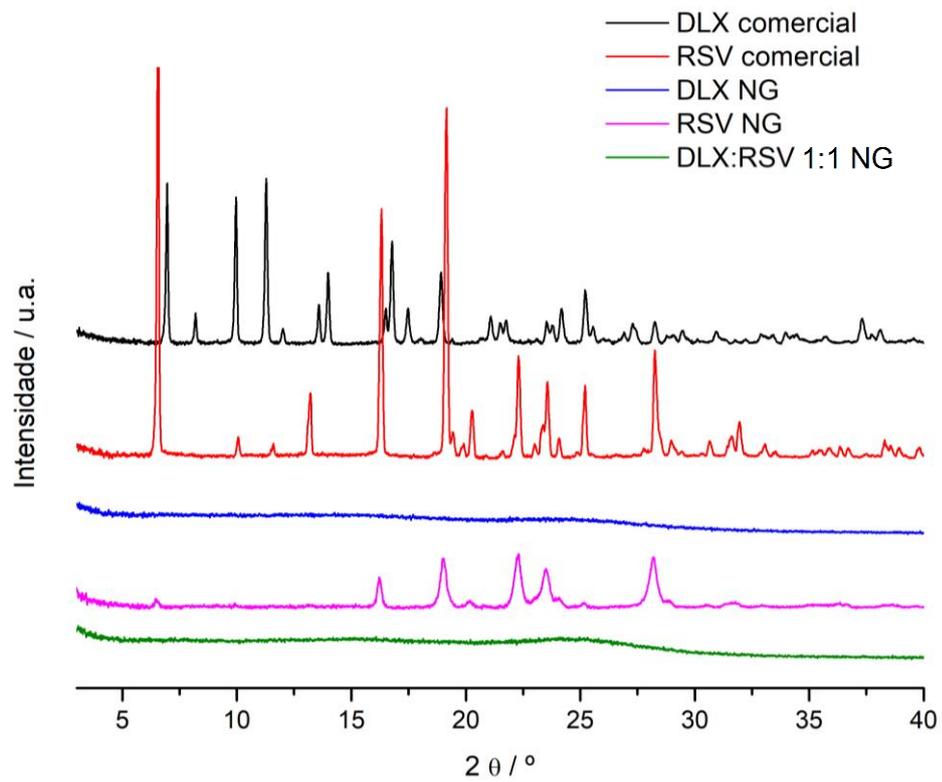
**Figura 3.2.3.** Difratogramas de raios-X de pó de amostras de delafloxacina e resveratrol comerciais, obtidas por LAG, e da mistura DLX:RSV (1:1) obtida por LAG.



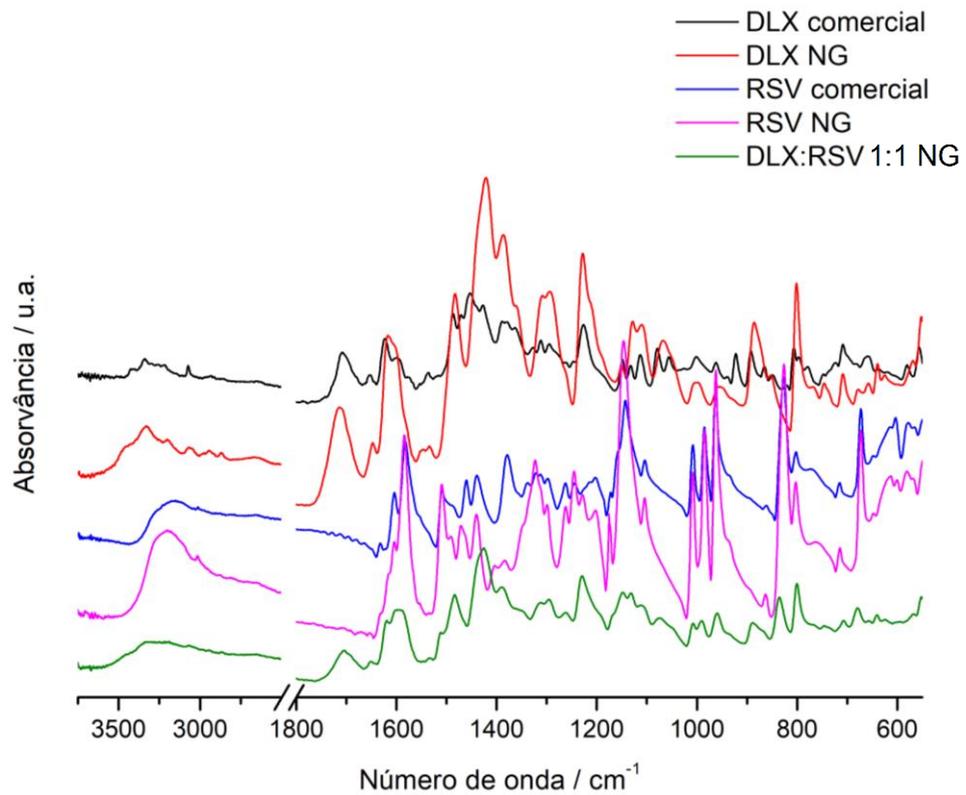
**Figura 3.2.4.** Espectros de infravermelho de amostras de delafloxacina e resveratrol comerciais, obtidas por LAG e da mistura DLX:RSV (1:1) obtidas por LAG.

Na Figura 3.2.6 podemos observar o espectro de infravermelho da mistura (1:1) delafloxacina:resveratrol NG, onde é possível verificar o alargamento das bandas compatível com a amorfização dos compostos. O estudo da estabilidade, Figura 3.2.7, feito durante sete meses e através de difração de raios-X de pó, provou que este se manteve amorfo. A amostra foi guardada em exsiccador, sobre  $\text{CaCl}_2$  anidro, a  $4^\circ\text{C}$ .

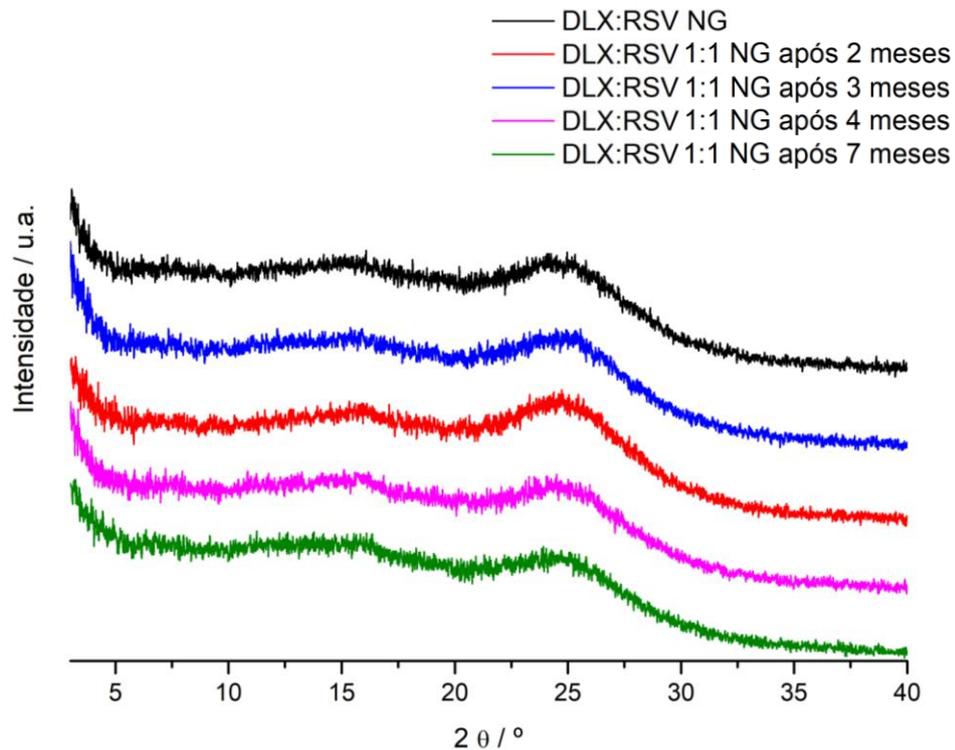
As curvas de DSC obtidas para as misturas LAG e NG encontram-se representadas nas Figuras 3.2.8 e 3.2.9, respetivamente. No aquecimento do coamorfo, obtido por NG, é registada desvitrificação a  $T \sim 60^\circ\text{C}$ , cristalização entre  $75$  e  $120^\circ\text{C}$ , seguindo-se um perfil de fusão idêntico ao da mistura obtida por LAG.



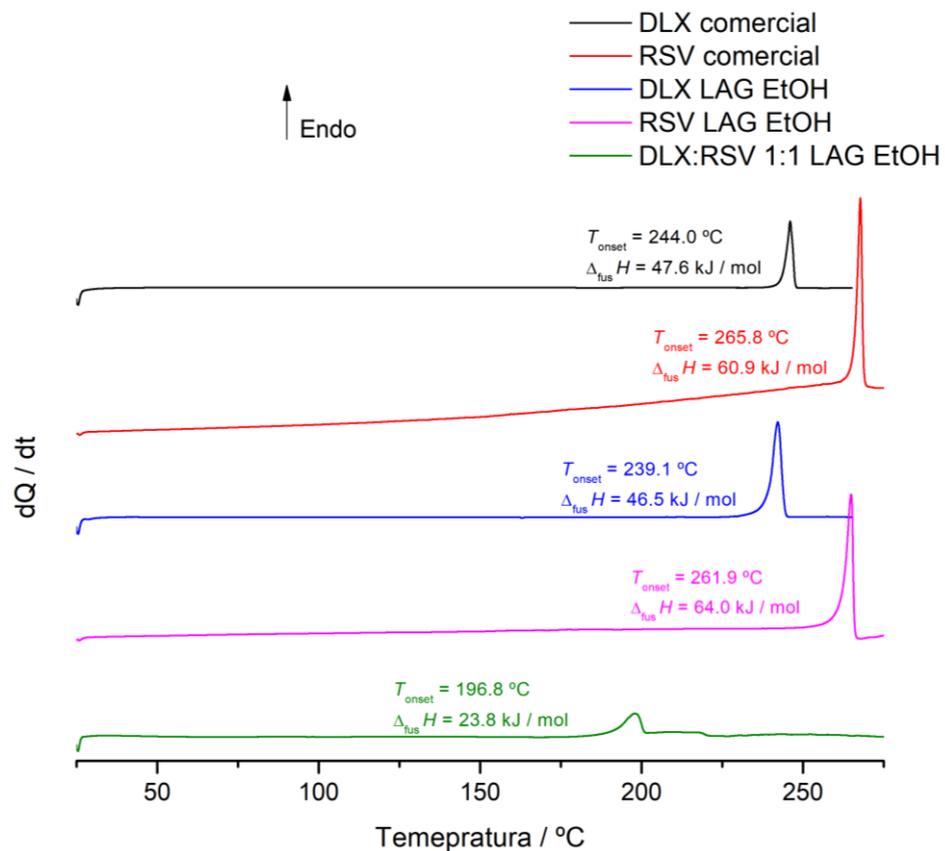
**Figura 3.2.5.** Difratomogramas de raios-X de pó de amostras de delafloxacina e resveratrol comerciais, obtidas por NG, e da mistura DLX:RSV (1:1) obtida por NG.



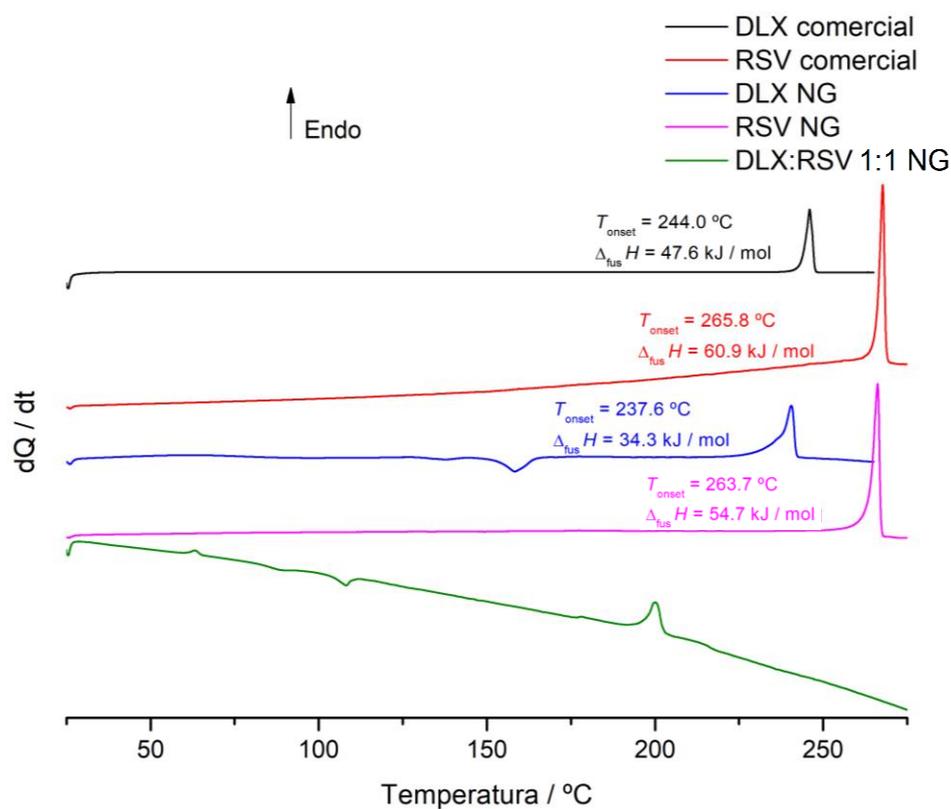
**Figura 3.2.6.** Espectros de infravermelho de amostras de delafloxacina e resveratrol comerciais, obtidas por NG e da mistura DLX:RSV (1:1) obtidas por NG.



**Figura 3.2.7.** Difratomogramas de raios-X de pó de amostras da mistura (1:1) delafloxacina:resveratrol NG analisadas ao longo do tempo.



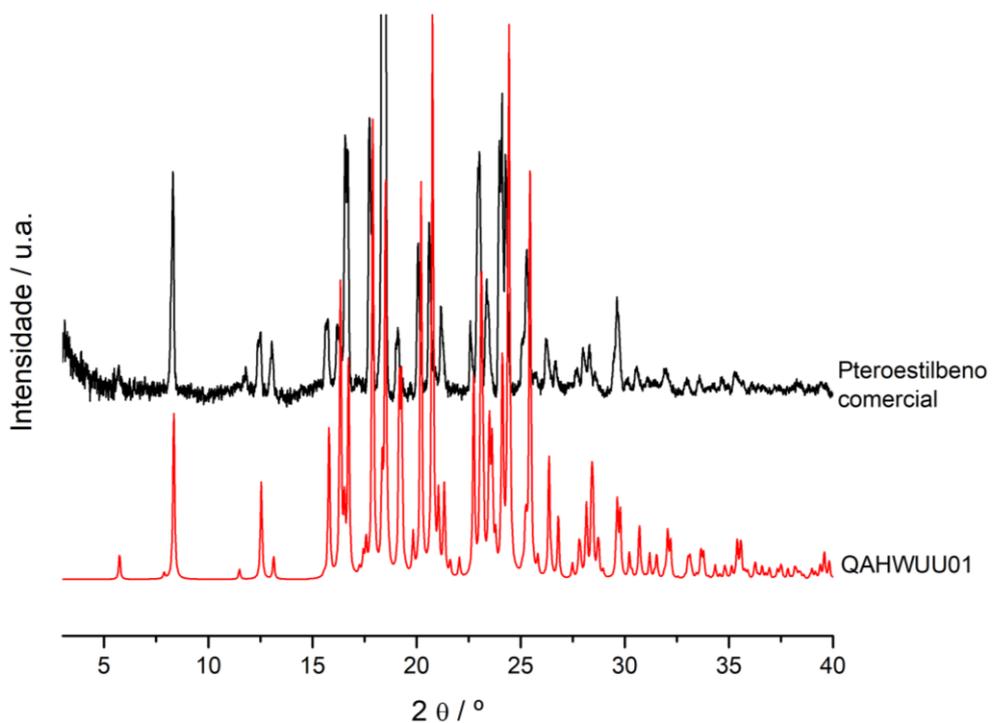
**Figura 3.2.8.** Curvas de DSC de aquecimento de amostras de delafloxacina e resveratrol comerciais e submetidas a moagens em LAG, e da mistura DLX:RSV (1:1) submetida a LAG,  $\beta = 10^\circ C / min$ .



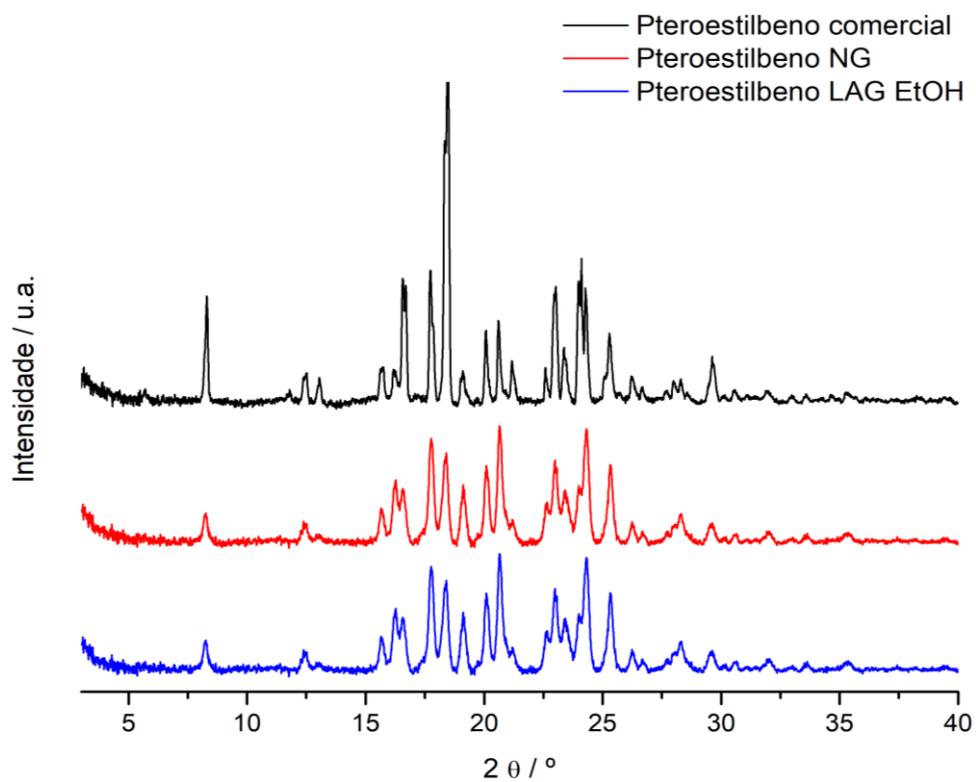
**Figura 3.2.9.** Curvas de DSC de aquecimento de amostras de delafloxacina e resveratrol comerciais e submetidas a moagens em NG, e da mistura DLX:RSV (1:1) submetida a NG,  $\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C} / \text{min}$ .

### 3.2.1.2 Sistema Delafloxacina + pteroestilbeno

Mais uma vez, com recurso à técnica de difração de raios-X de pó, a forma polimórfica do pteroestilbeno foi identificada como a forma QAHWUO1, descrita por Bofill *et al.*, (2011), [106] Figura 3.2.10. As amostras obtidas por LAG e NG não mostraram qualquer alteração na estrutura, Figura 3.2.11.

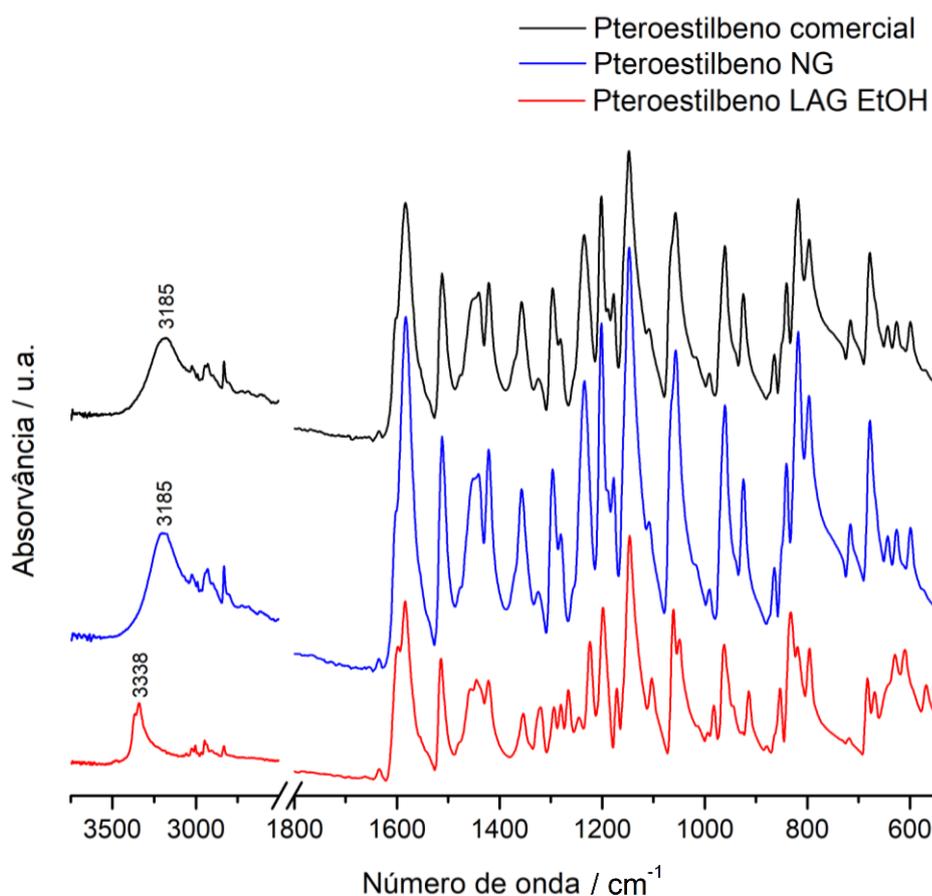


**Figura 3.2.10.** Difratograma de raios-X de pó do pteroestilbeno comercial e difratograma simulado a partir da estrutura identificada como QAHWUU01.



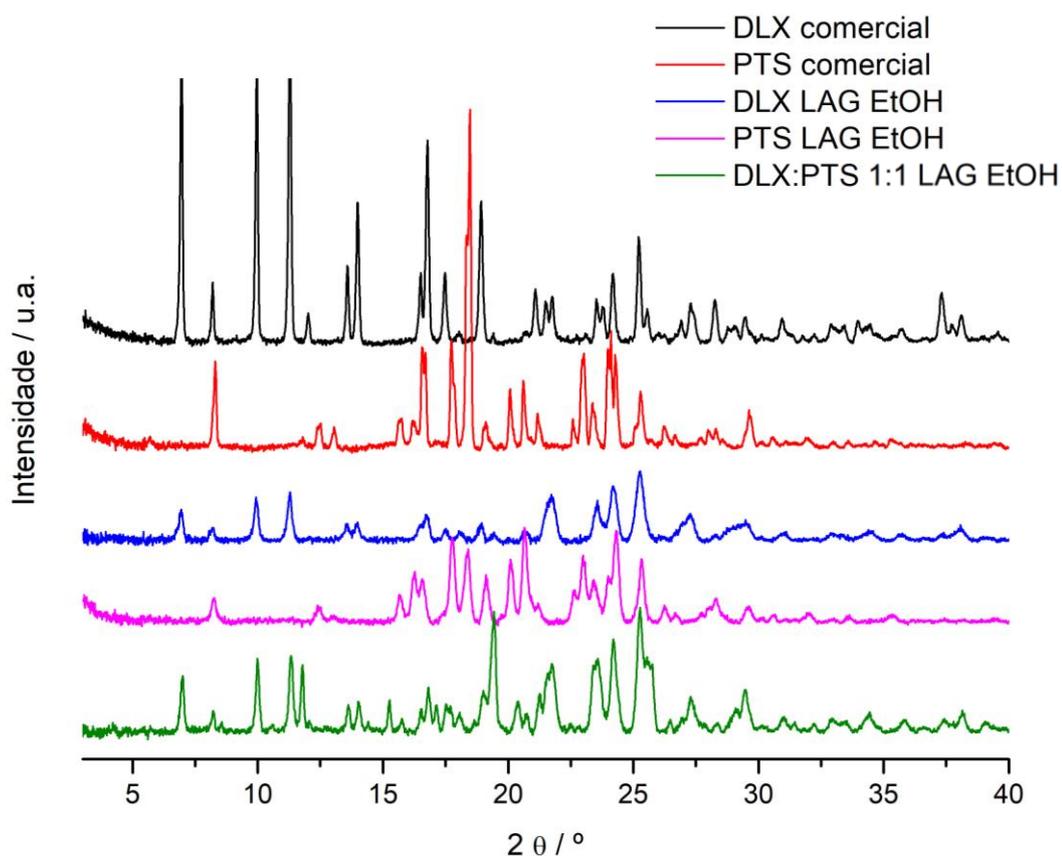
**Figura 3.2.11.** Difratogramas de raios-X de pó do pteroestilbeno comercial, obtido por NG e LAG em etanol.

Na Figura 3.2.12, encontram-se representados os espectros de infravermelho do pteroestilbeno comercial, LAG e NG. Analisando o espectro correspondente ao pteroestilbeno comercial, realçam-se as bandas de elongação corespondentes aos grupos -OH ( $3185\text{ cm}^{-1}$ ), =C-H ( $3023 - 2831\text{ cm}^{-1}$ ), ligação dupla C=C dos anéis aromáticos ( $1581\text{ cm}^{-1}$ ). Nos espetos de FTIR, notamos que o resultado obtido para a amostra moída com solvente, apresenta diferenças significativas relativamente aos espetros das duas outras amostras, como assinalado na Figura 3.2.12, o que terá de resultar da obtenção polimórfica distinta. Esta forma evolui para o polimorfo I, como comprova o difratograma de raios-X de pó.

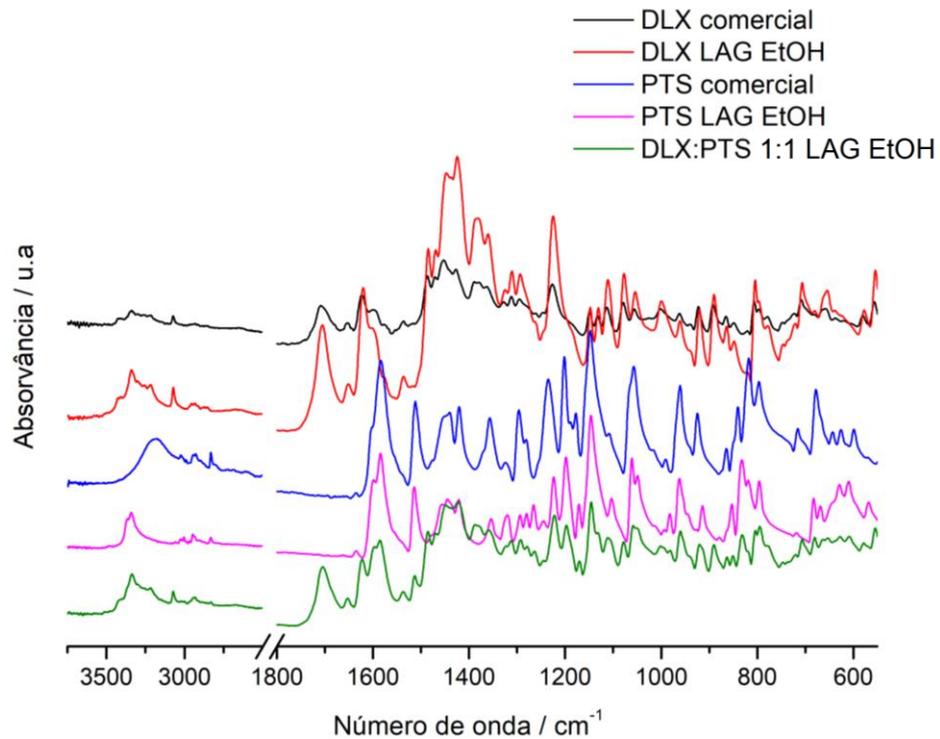


**Figura 3.2.12.** Espectro de infravermelho de amostras de pteroestilbeno comercial, NG e LAG.

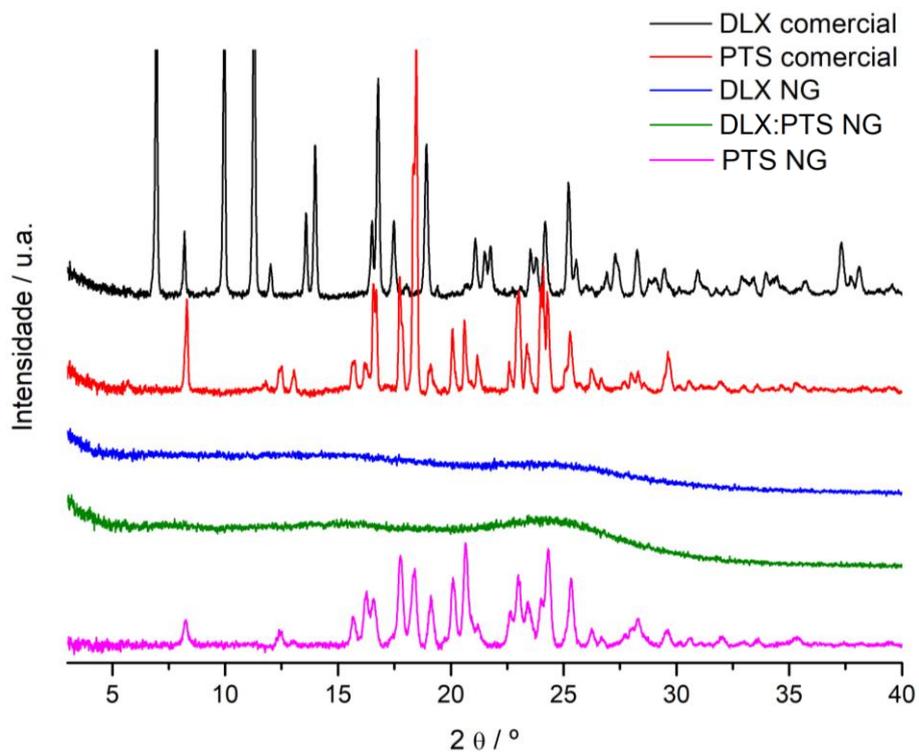
A investigação de uma mistura (1:1) de delafloxacina e pteroestilbeno, provou que através da moagem realizada em LAG se obteve uma mistura física, Figuras 3.2.13 e 3.2.14. Para a moagem em NG foi possível verificar, mais uma vez, que estamos perante um coamorfo, Figuras 3.2.15 e 3.2.16. As curvas de DSC da mistura física encontram-se representadas na Figura 3.2.18. Na Figura 3.2.19 podemos ver as curvas de DSC obtidas para o coamorfo DLX:PTS, onde tendo-se obtido um coamorfo, foi possível verificar a presença de uma transição vítrea a  $T \sim 50\text{ }^{\circ}\text{C}$ .



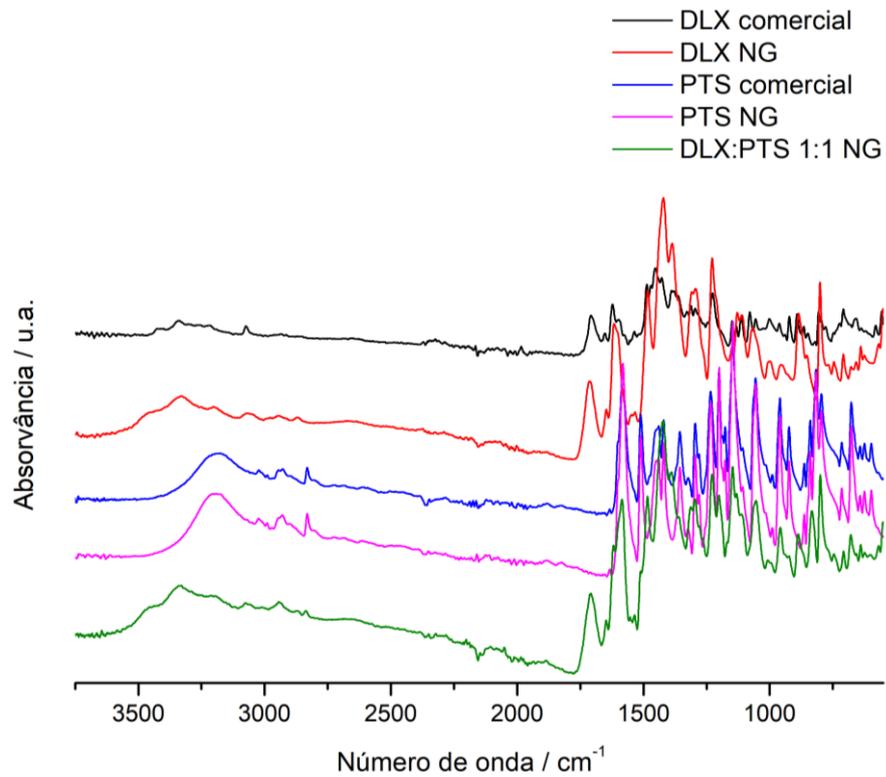
**Figura 3.2.13.** Difratogramas de raios-X de pó de amostras de delafloxacina e pteroestilbeno comerciais, obtidas por LAG e da mistura DLX:PTS (1:1) obtida por LAG.



**Figura 3.2.14.** Espectros de infravermelho de amostras de delafloxacina e pteroestilbena comerciais, obtidas por LAG e da mistura DLX:PTS (1:1) obtida por LAG.

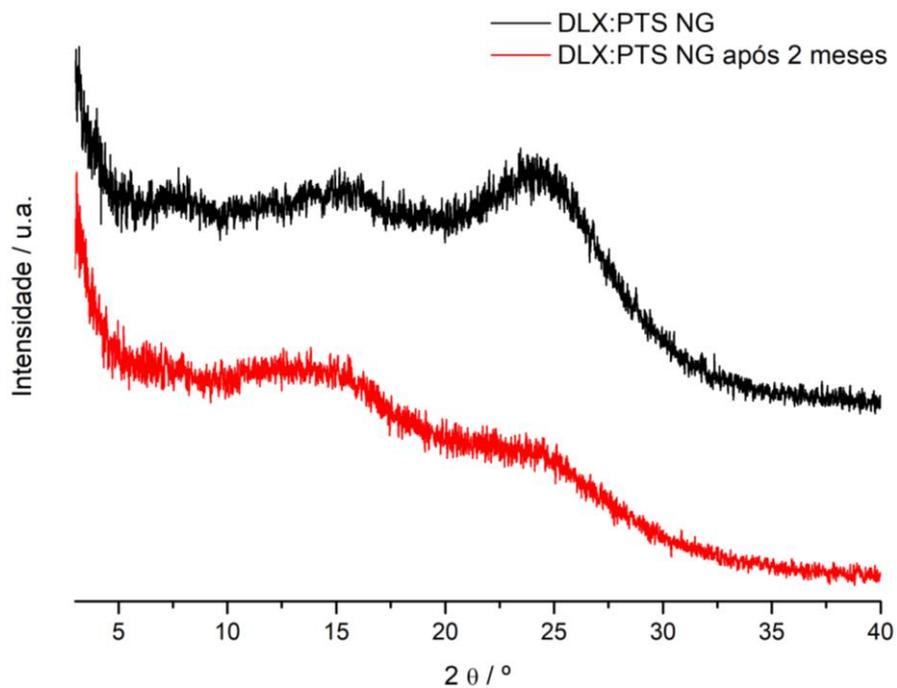


**Figura 3.2.15.** Difratogramas de raios-X de pó de amostras de delafloxacina e pteroestilbena comerciais, obtidas por NG e da mistura DLX:PTS (1:1) obtida por NG.

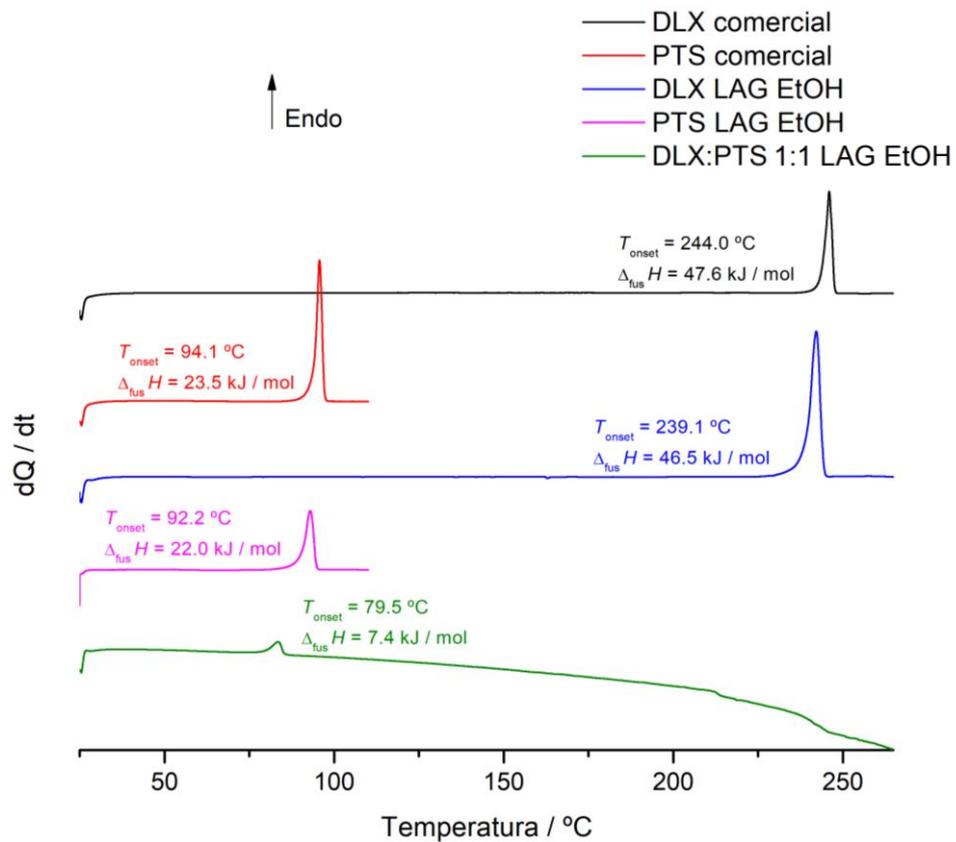


**Figura 3.2.16:** Espectros de infravermelho de amostras de delafloxacina e pterostilbena comerciais, obtidas por LAG e da mistura DLX:PTS (1:1) obtida por NG.

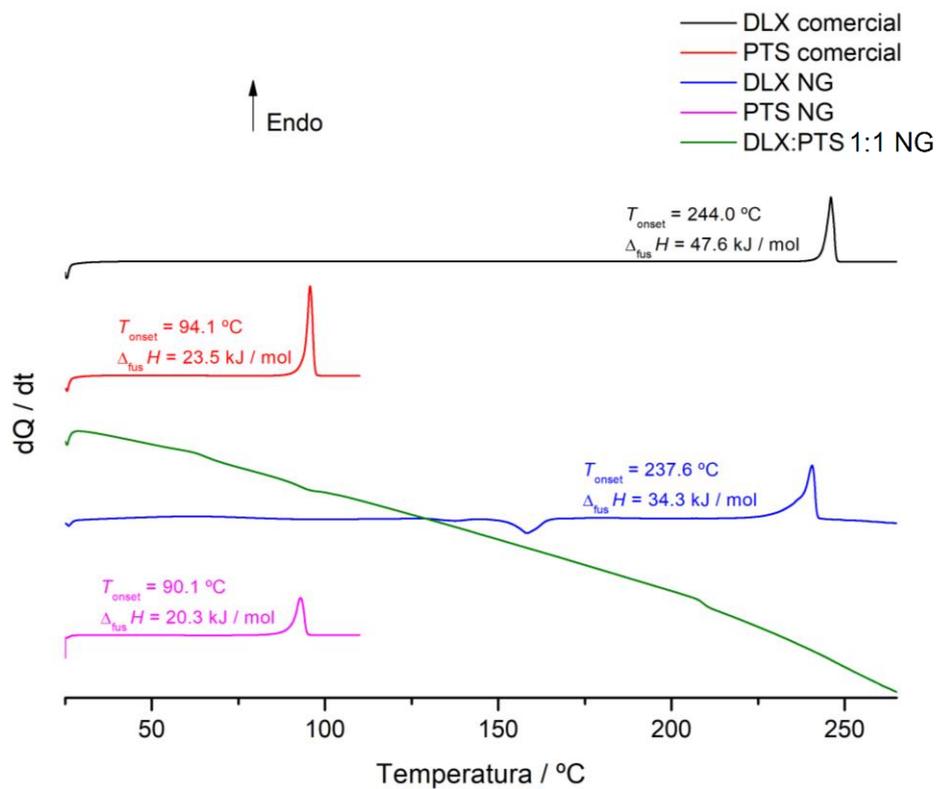
O coamorfo mostrou ser estável, pelo menos por um período de tempo de 2 meses, quando guardado em excicador sobre  $\text{CaCl}_2$  a  $4^\circ\text{C}$ , Figura 3.2.17.



**Figura 3.2.17.** Difratogramas de raios-X de pó de amostras da mistura DLX:PTS (1:1) NG analisadas ao longo do tempo.



**Figura 3.2.18.** Curvas de DSC de aquecimento de amostras de delafloxacina e pteroestilbena comerciais e submetidas a moagens em LAG, e da mistura DLX:PTS (1:1) submetida a LAG,  $\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C} / \text{min}$ .



**Figura 3.2.19.** Curvas de DSC de aquecimento de amostras de delafloxacina e pteroestilbena comerciais e submetidas a moagens em NG, e da mistura DLX:PTS (1:1) submetida a NG,  $\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C} / \text{min}$ .

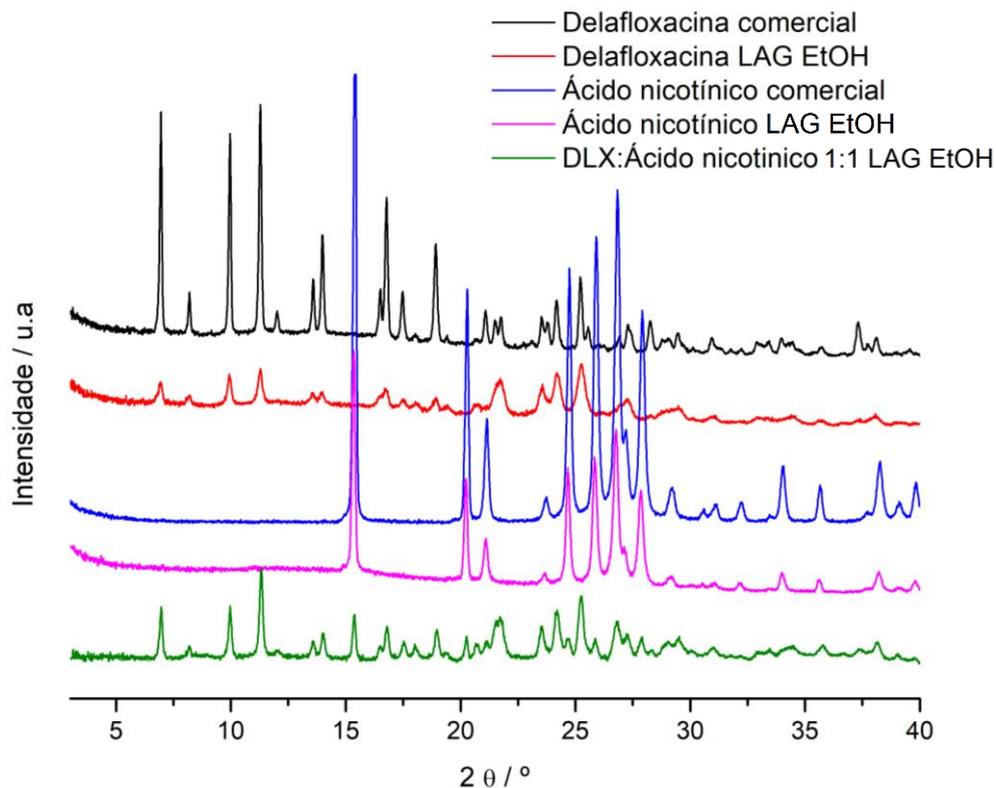
### 3.2.2 Delafloxacina + ácido nicotínico e delafloxacina + nicotinamida

#### 3.2.2.1 Delafloxacina + ácido nicotínico

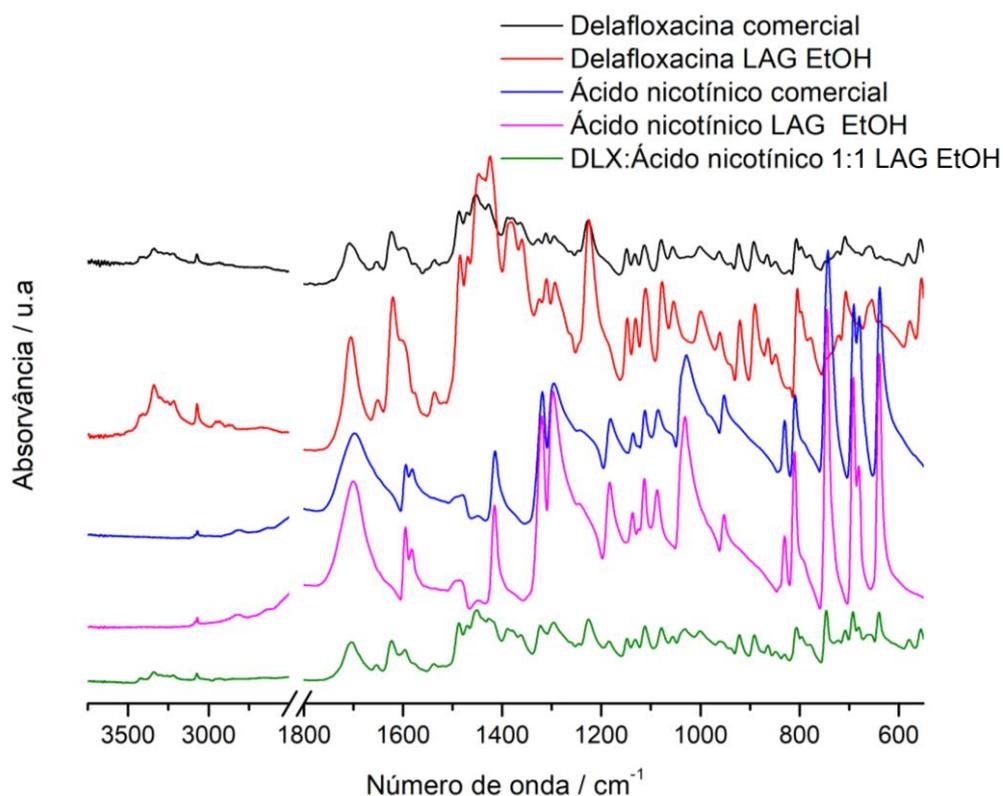
O ácido nicotínico, foi o terceiro co-formador a ser utilizado na investigação de formas de sólidos multicomponente com a delafloxacina. Vários estudos revelaram que o ácido nicotínico é capaz de formar cocrystalis com quinolonas de segunda e terceira geração, onde o grupo amina das fluoroquinolonas interage através de ligações de hidrogénio com o grupo ácido e o azoto do anel de piridina do ácido nicotínico. [36][37][38]

A investigação de cocrystalis com o ácido nicotínico mostra ser relevante, uma vez que é capaz de melhorar a solubilidade do API, sendo ainda um dos coformadores mais utilizados na formação de cocrystalis.

A investigação foi feita sobre uma mistura equimolar, por mecanoquímica assistida por etanol. O ácido nicotínico, forma I, resolvida por Wright & King (1953), [62] Figura S.3, não sofre alteração de forma sólida no processo, Figuras 3.2.20 e 3.2.21. Observa-se a partir das referidas figuras, que não ocorre associação entre o ativo e o ácido nicotínico, tendo-se obtido uma mistura física.



**Figura 3.2.20.** Difratograma de raios-X de pó de amostras de delafloxacina e ácido nicotínico comerciais, obtidas por LAG e de DLX:ácido nicotínico (1:1) obtida por LAG.



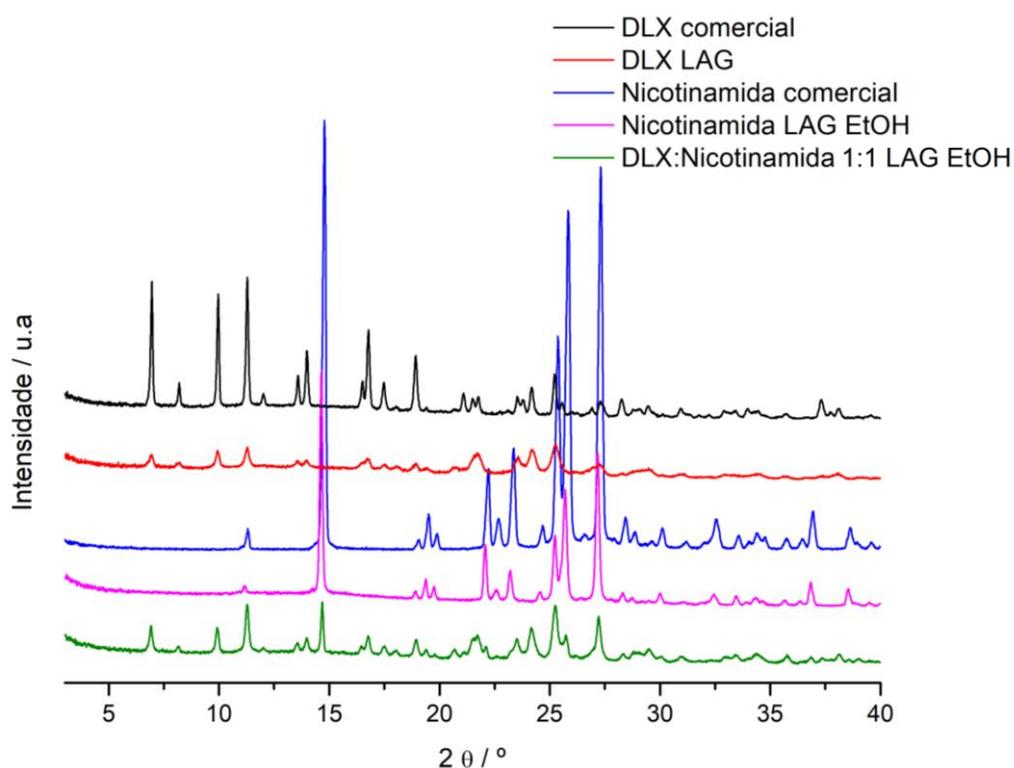
**Figura 3.2.21.** Espectros de infravermelho de amostras de delafloxacina e ácido nicotínico comerciais, obtidas por LAG e de DLX:ácido nicotínico (1:1) obtidas por LAG.

### 3.2.2.2 Delafloxacina + nicotinamida

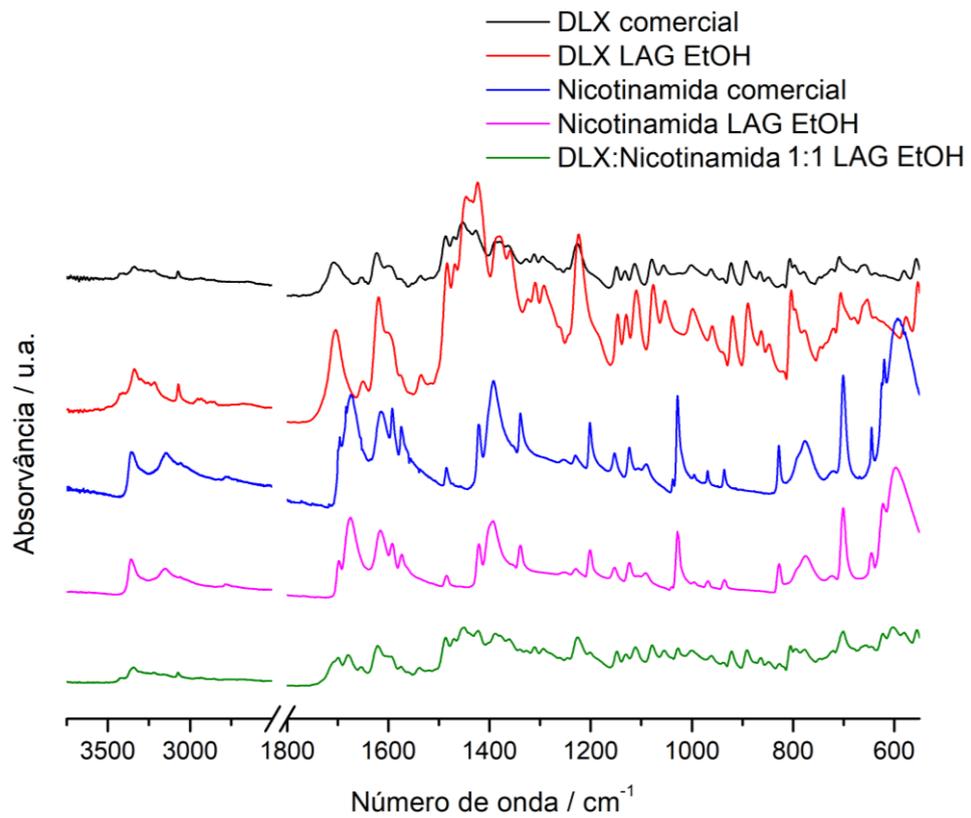
A nicotinamida, identificada como a forma NICOAM, resolvida por Wright & King (1954), [66] Figura S.4, pertencente ao grupo das piridina carboxamidas, foi um dos outros coformadores utilizados neste estudo. A associação da nicotinamida com a delafloxacina pode ser possível através do anel de piridina ou o grupo amida ( $-NH_2$ )

A preparação de misturas equimolares de delafloxacina e nicotinamida foi feita com um moinho de bolas, a 30Hz e 30 minutos, por NG e LAG. Os resultados obtidos mostraram que não houve qualquer associação em ambos os casos para a formação de um cocrystal, resultando uma mistura física para a moagem feita em LAG, Figuras 3.2.22 e 3.2.23 e 3.2.26.

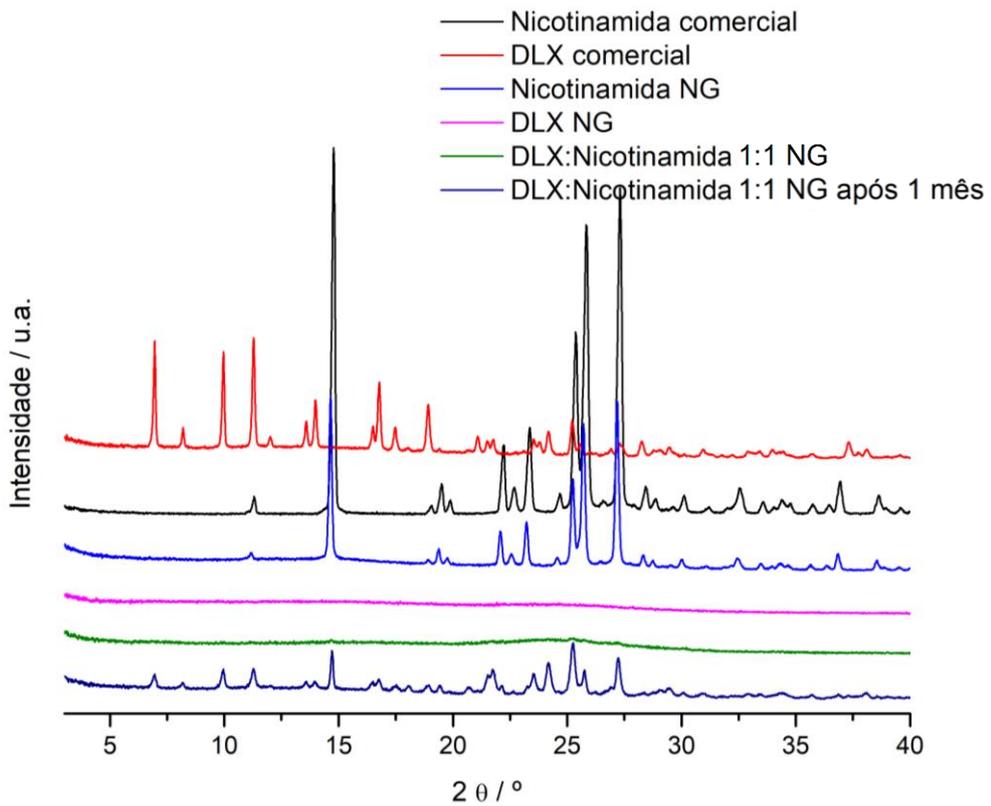
Numa primeira abordagem, o composto obtido por NG amorfiza, como é possível comprovar pelo seu difratograma e pelo espectro de infravermelho, Figuras 3.2.24 e 3.2.25, respectivamente. Após um período de um mês e meio, guardado em exsicador sobre  $\text{CaCl}_2$ , a  $4^\circ\text{C}$ , a amostra cristaliza, tal como é possível comprovar pela sua curva de DSC, Figura 3.2.27, e pelo seu difratograma de raios-X de pó, Figura 3.3.24, obtendo-se uma mistura física, onde se apresentam todas as reflexões correspondentes aos compostos puros. A cristalização do coamorfo é também observada no processo de aquecimento como registado na curva de DSC.



**Figura 3.2.22.** Difratogramas de raios-X de pó de amostras de delafloxacina e nicotinamida comerciais, obtidas por LAG e de DLX:nicotinamida (1:1) obtida por LAG.



**Figura 3.2.23.** Espectros de infravermelho de amostras de delafloxacina e nicotinamida comerciais, LAG e de DLX:nicotinamida (1:1) LAG.



**Figura 3.2.24.** Difractogramas de raios-X de pó de amostras de delafloxacina e nicotinamida comerciais, NG e DLX:nicotinamida (1:1) NG.

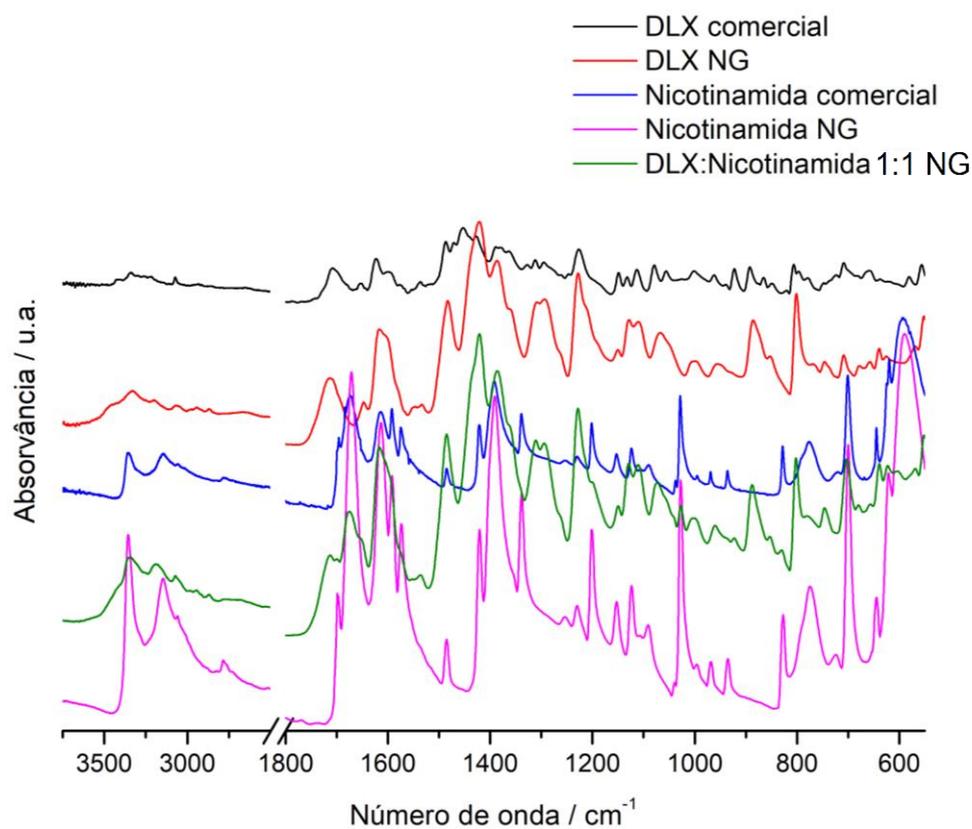


Figura 3.2.25. Espectros de infravermelho de amostras de delafloxacina e nicotinamida comerciais, obtidas por NG e de DLX:nicotinamida (1:1) NG.

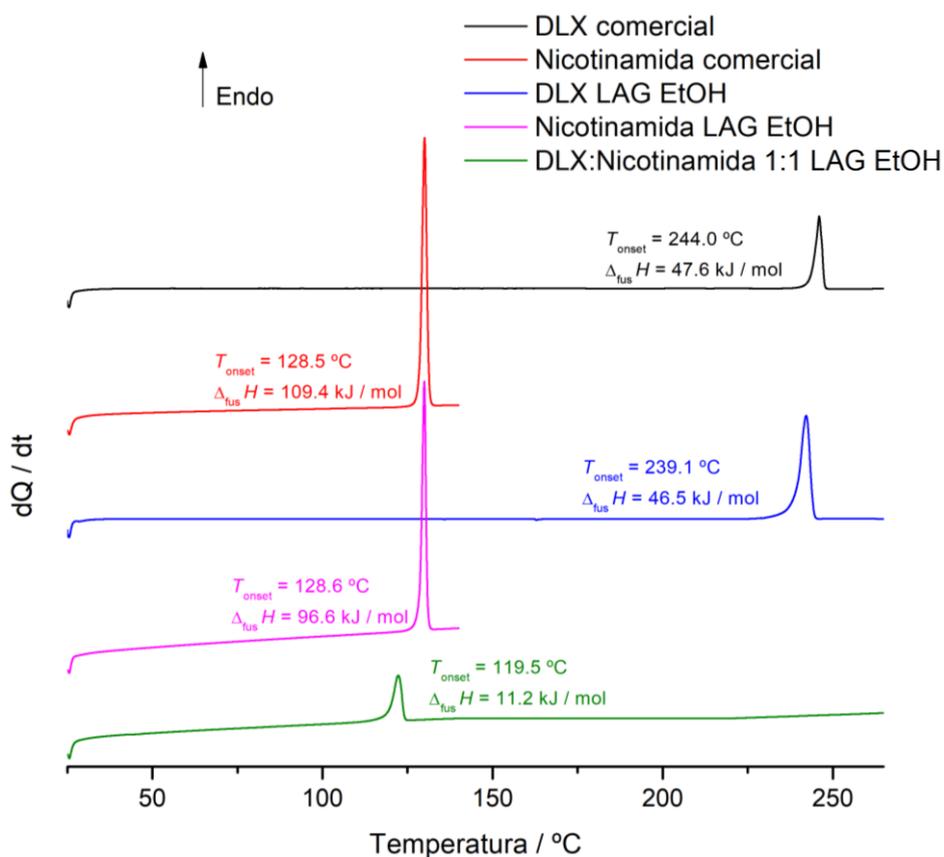
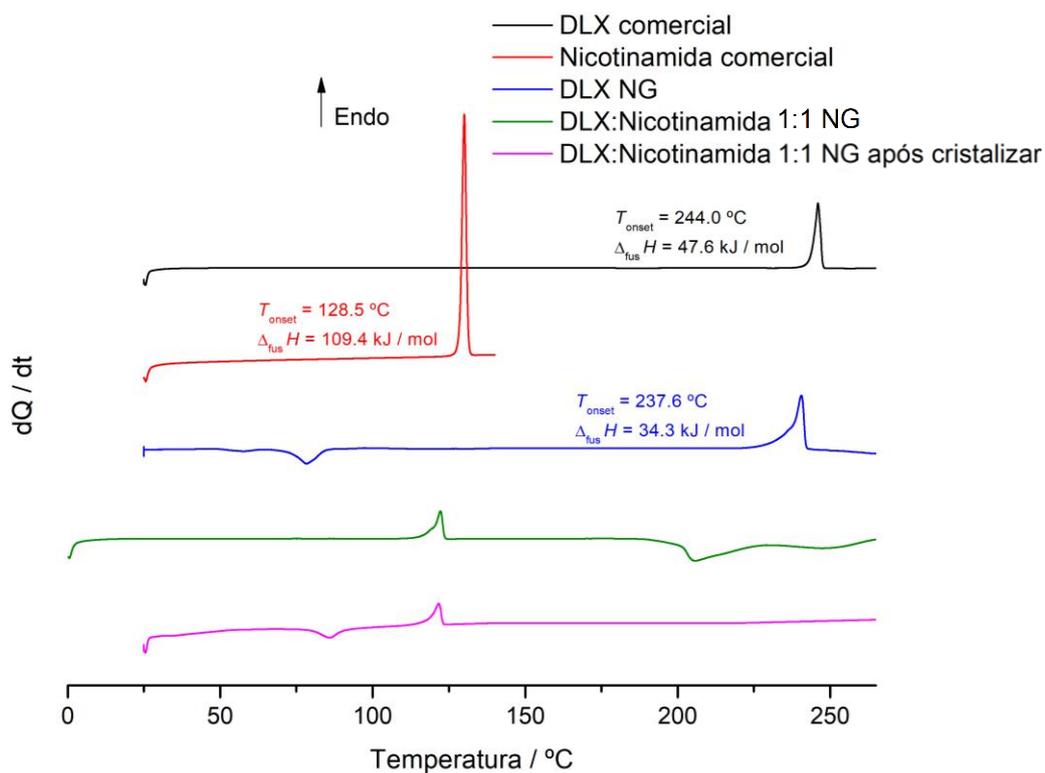


Figura 3.2.26. Curvas de DSC de aquecimento de amostras de delafloxacina e nicotinamida comerciais e submetidas a moagens em LAG, e da mistura DLX:nicotinamida (1:1) LAG,  $\beta = 10$  °C / min.

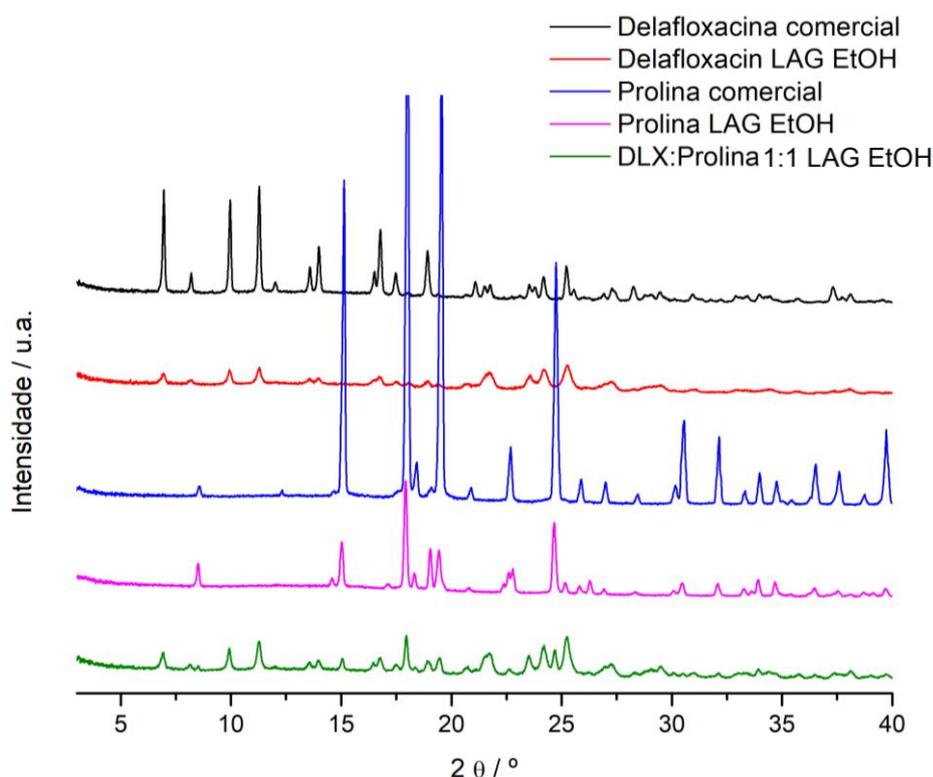


**Figura 3.2.27.** Curvas de DSC de aquecimento de amostras de delafloxacina e nicotinamida comerciais e submetidas a moagens em NG, e da mistura DLX:nicotinamida (1:1) submetida a NG,  $\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C / min}$ .

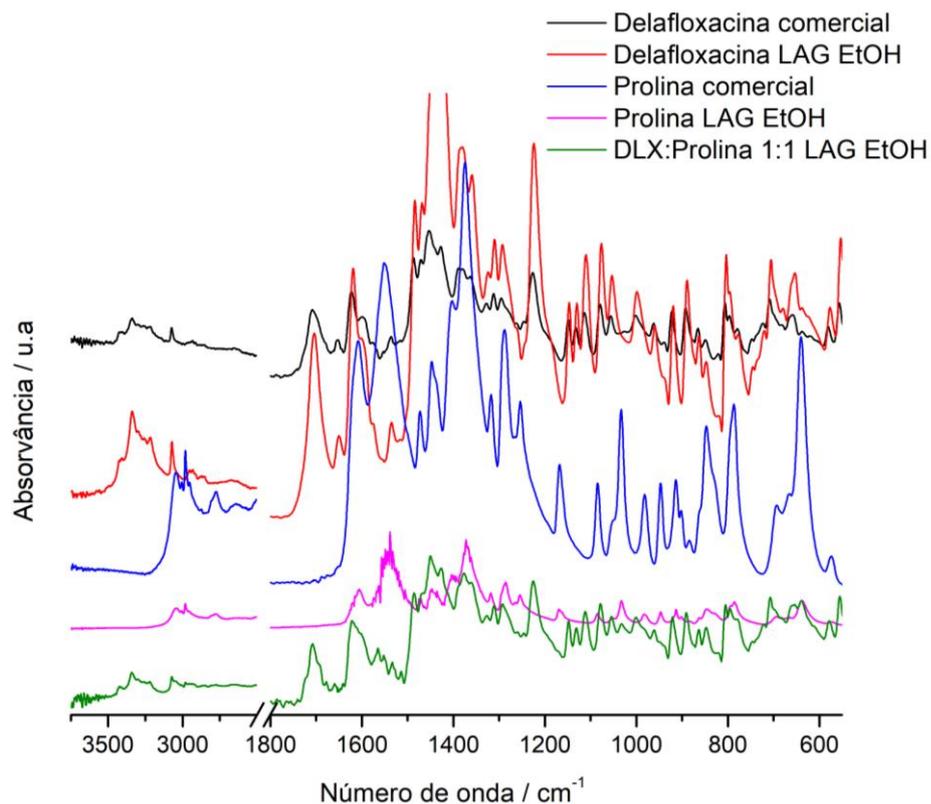
### 3.2.3 Delaflocina + aminoácidos

Os aminoácidos seleccionados neste estudo foram a *L*-prolina e o *L*-triptofano. A utilização de aminoácidos como coformadores tem vindo a ter cada vez mais interesse, uma vez que os seus grupos amina e ácido são capazes de se associarem através de ligações de hidrogénio, atuando como dadores ou aceitadores. [107]

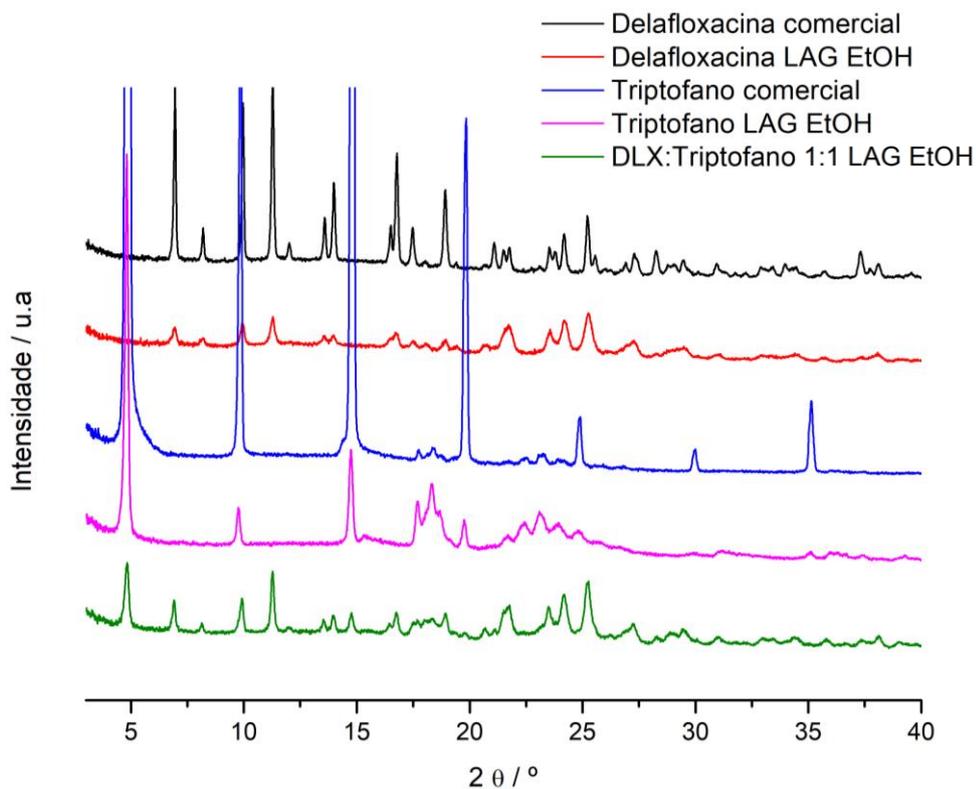
Para o estudo de formação de cocrystalos com aminoácidos, foram feitas misturas equimolares através de moagens assistidas por solvente. Os resultados mostraram, mais uma vez, que foram obtidas misturas físicas para ambos os coformadores. Os difratogramas de raios-X de pó e os espectros de infravermelho comprovam este facto, sendo possível observar todos os picos característicos de cada um dos compostos, Figuras 3.2.28, 3.2.29, 3.2.30 e 3.2.31. As curvas de DSC das misturas não foram apresentadas, uma vez que a degradação dos aminoácidos ocorre nas mesmas gamas de temperaturas das temperaturas de fusão destes compostos.



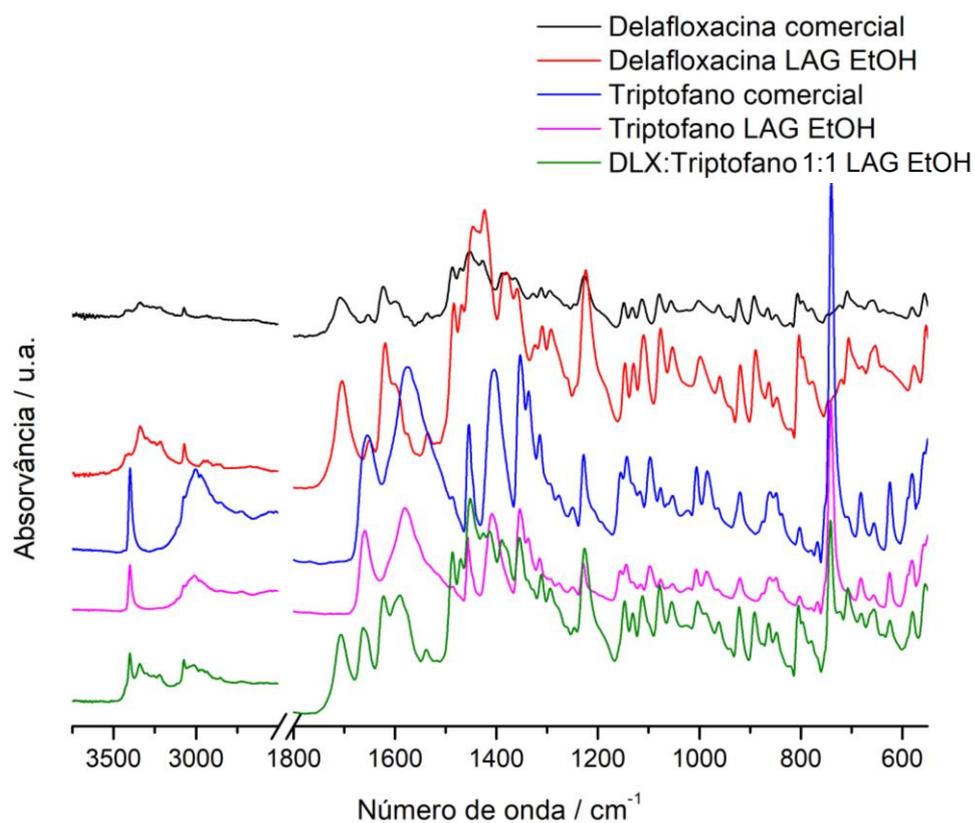
**Figura 3.2.28.** Difratogramas de raios-X de pó de amostras de delafloxacina e *L*-prolina comerciais, obtidas por LAG e de DLX:*L*-prolina (1:1) LAG.



**Figura 3.2.29.** Espectros de infravermelho de amostras de delafloxacina e *L*-prolina comerciais, obtidas por LAG e de DLX:*L*-prolina (1:1) LAG.



**Figura 3.2.30.** Difractogramas de raios-X de pó de amostras de delafloxacina e *L*-triptofano comerciais, obtidas por LAG e de DLX:*L*-triptofano (1:1) LAG.

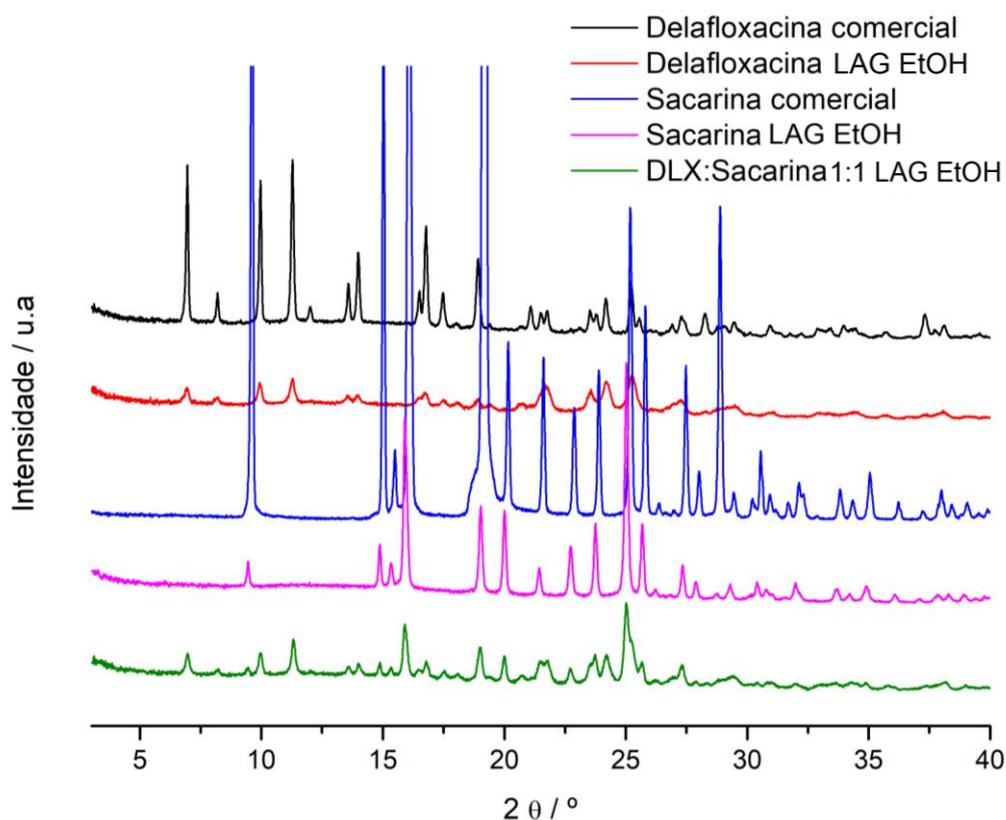


**Figura 3.2.31.** Espectros de infravermelho de amostras de delafloxacina e *L*-triptofano comerciais, obtidas por LAG e de DLX:*L*-triptofano (1:1) LAG.

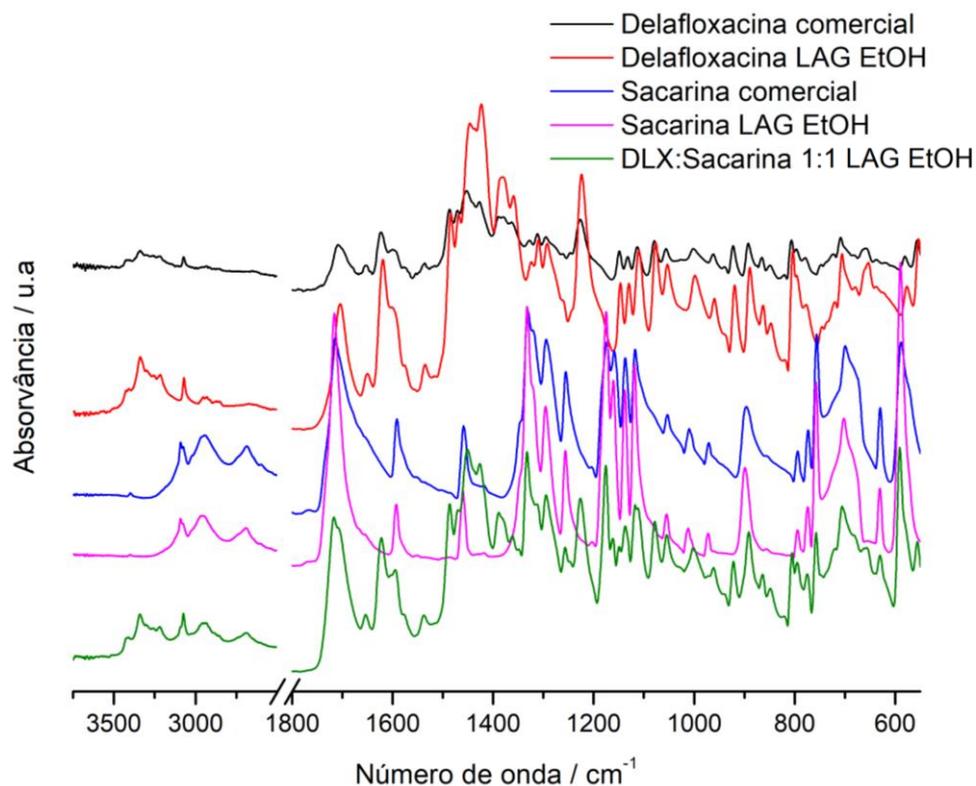
### 3.2.4 Delafloxacina + sacarina

A sacarina, identificada como a forma SCCHR<sub>N</sub>, Figura S.5, resolvida por Bart (1968), [108], é um coformador capaz de originar cocrystalis com outras fluoroquinolonas. [109] A sua associação pode ser feita através do grupo sulfonamida ou do grupo amida.

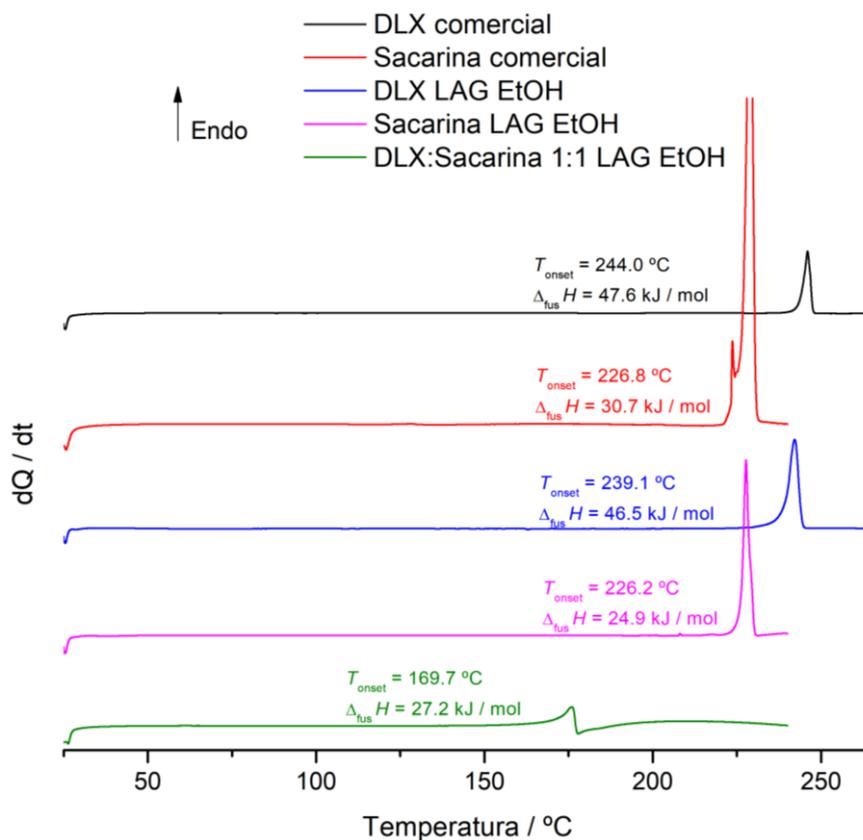
Preparam-se misturas de delafloxacina com sacarina na relação equimolar e sujeitaram-se as misturas a moagem. A moagem foi realizada por LAG mostrando, mais uma vez, ter-se obtido uma mistura física, como é possível comprovar pelo difratograma de raios-X de pó e o espectro de infravermelho, Figuras 3.3.32 e 3.3.33, respetivamente. As curvas de aquecimento de DSC estão representadas na Figura 3.3.34.



**Figura 3.2.32.** Difratogramas de raios-X de pó de amostras de delafloxacina e sacarina comerciais, obtidas por LAG e da amostra de DLX:sacarina (1:1), obtida por LAG.



**Figura 3.2.33.** Espectros de infravermelho de amostras de delafloxacina e sacarina comerciais, obtidas por LAG e da amostra de DLX:sacarina (1:1), obtida por LAG.



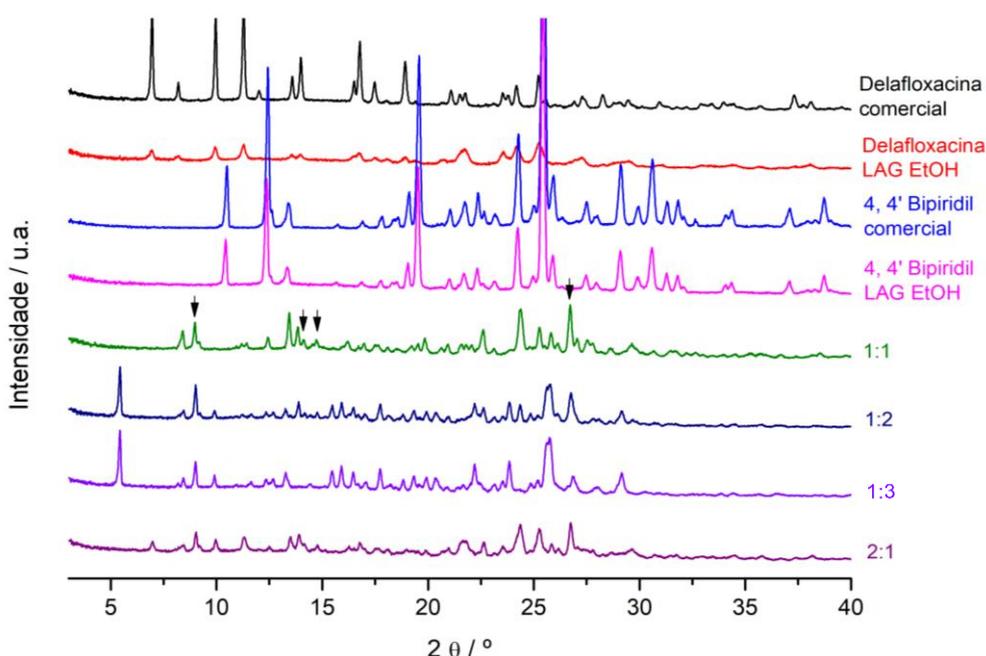
**Figura 3.2.34.** Curvas de aquecimento de DSC de amostras de delafloxacina e sacarina comerciais, obtidas por LAG e da amostra de DLX:sacarina (1:1), obtida por LAG,  $\beta = 10 \text{ } ^\circ\text{C} / \text{min}$ .

### 3.2.5 Delafloxacina + 4,4' – biperidil

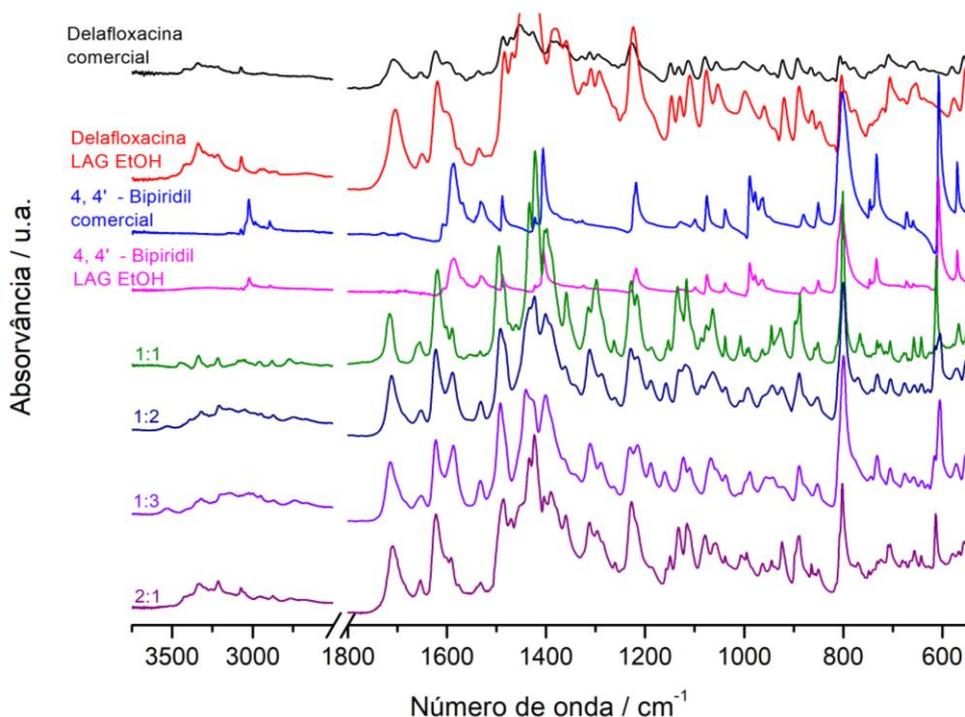
O 4, 4' – biperidil, identificado como a forma HIQWEJ01 e resolvida por Candan *et al.*, (1999), [110], Figura S.6, foi selecionado devido à sua elevada probabilidade em conseguir formar cocristais. A interação que se estabelece com o API é feita através dos átomos de nitrogénio dos anéis de piridina.

Na preparação de misturas com 4, 4' - biperidil foram feitas moagens de misturas nas proporções de 1:1, 1:2, 1:3 e 2:1 (DLX:4, 4' - biperidil), todas assistidas por solvente, a 30 Hz e durante 30 minutos. A Figura 3.2.35 apresenta os difratogramas de raios-X de pó obtidos para as diferentes amostras. Na estequiometria 1:1 foi possível obter um cocristal, com novas reflexões a ( $2\theta = 9.0^\circ$ ,  $13.9^\circ$ ,  $14.1^\circ$  e  $26.7^\circ$ ), cuja temperatura de fusão, obtida pela curva de aquecimento de DSC, Figura 3.2.37, se situa entre os valores de temperatura de fusão dos compostos puros. Já para as amostras nas proporções 1:2 e 1:3 verificou-se um excesso de biperidil nos difratogramas de raios-X de pó e nos espectros de infravermelho, Figura 3.2.36. A reflexão a  $2\theta = 5.0^\circ$  observada nos difratogramas destas misturas indicam um comportamento mais complexo que poderá ser alvo de investigação futura.

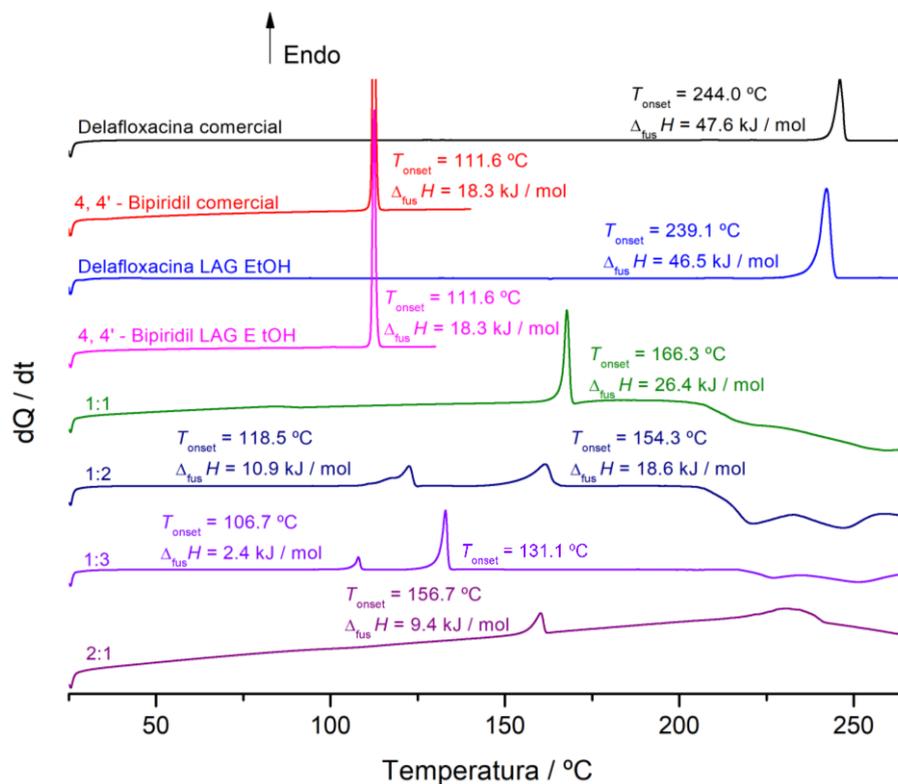
Na amostra na proporção 2:1 (DLX: 4, 4' – biperidil) confirma-se a formação do cocristal (1:1): registam-se todas as reflexões do cocristal (1:1), e também reflexões que indicam o excesso de delafloxacina.



**Figura 3.2.35.** Difratograma de raios-X de pó de amostras de delafloxacina e 4, 4' Biperidil comerciais, obtidas por LAG e das moagens de DLX:4, 4' Biperidil, obtidas por LAG, nas proporções 1:1, 1:2, 1:3 e 2:1.



**Figura 3.2.36.** Espectros de infravermelho de amostras de delafloxacina e 4, 4' - bipiridil comerciais, obtidas por LAG e das amostras de delafloxacina:4, 4' bipiridil, obtidas por LAG, nas proporções 1:1, 1:2, 1:3 e 2:1 (DLX:4, 4' bipiridil).



**Figura 3.2.37.** Curvas de DSC de aquecimento de amostras de delafloxacina e 4, 4' - bipiridil comerciais, obtidas por LAG e das amostras de delafloxacina:4, 4' - bipiridil, obtidas por LAG, nas proporções 1:1, 1:2, 1:3 e 2:1 (DLX:4, 4' - bipiridil),  $\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C} / \text{min}$ .

# Capítulo 4

## Conclusões e perspetivas futuras



## Capítulo 4

### Conclusões e perspectivas futuras

A investigação de formas polimórficas por cristalização em solução, permitiu concluir que se obtém a forma comercial na maioria dos solventes. Em acetato de etilo, os vários ensaios realizados deram conta da possível existência de uma mistura de forma comercial e de uma outra forma. A diversidade de difratogramas de raios-X de pó obtidos para as amostras cristalizadas em THF, apontam para uma maior diversidade de formas, sendo de todo o interesse aprofundar estes estudos. De realçar que por NG se obteve um sólido amorfo que, após cristalização, permitiu identificar inequivocamente a existência de duas formas polimórficas.

Foram obtidos monocristais da forma comercial por cristalização em etanol. Assim, é apresentada pela primeira vez neste trabalho, uma estrutura cristalina resolvida da delafloxacina.

Uma vez que estamos perante uma molécula complexa, a síntese de cocrystal mostrou-se um desafio, não tendo a cocrystalização sido bem sucedida com coformadores que formam cocrystal com outras fluoroquinolonas. Apenas com o 4, 4' – biperidil ocorreu cocrystalização. Nos primeiros ensaios para moagens feitas em LAG obteve-se maioritariamente uma mistura física. Para os ensaios de delafloxacina:resveratrol e delafloxacina:pteroestilbeno em NG obtiveram-se dois coamorfos cuja estabilidade cinética, estudada ao longo de vários meses por difração de raios-X de pó, foi confirmada.

O único cocrystal possível de obter foi com o 4, 4' – biperidil com estequiometria 1:1 e onde a sua possibilidade de formação de sintões supramoleculares se dá através dos anéis de piridina.

Foram obtidos dois coamorfos que podem ser alvo de investigação futura, uma vez que estes sistemas multicomponente, são estáveis ao longo de vários meses e concorrer para a melhoria da solubilidade aquosa do ativo.

A quantidade restrita de material disponível limitou a continuação e o desenvolvimento de alguns ensaios. Apesar disso, a investigação apresentada neste trabalho e a inexistência dos estudos apresentados sobre a fase sólida da delafloxacina, na literatura, faz com que estes tópicos possam vir a ser incorporados em investigação futura.



# Referências Bibliográficas



## Referências Bibliográficas

- [1] Hancock, B. C., & Zografi, G. (1997). Characteristics and Significance of the Amorphous State in Pharmaceutical Systems. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, **86**(1).
- [2] Shi, Q., Moinuddin, S. M., & Cai, T. (2019). Advances in coamorphous drug delivery systems. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, **9**(1), p.19–35.
- [3] Lee, A. Y., Erdemir, D., & Myerson, A. S. (2011). Crystal polymorphism in chemical process development. *Annual Review of Chemical and Biomolecular Engineering*, **2**, p.259–280.
- [4] Haleblan, J., & McCrone, W. (1969). Pharmaceutical applications of polymorphism. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, **58**(8), p.911–929.
- [5] Bhatia, A., Chopra, S., Nagpal, K., Deb, P. K., Tekade, M., & Tekade, R. K. (2018). Polymorphism and its Implications in Pharmaceutical Product Development. In *Dosage Form Design Parameters* (Vol. 2). Elsevier Inc.
- [6] Healy, A. M., Worku, Z. A., Kumar, D., & Madi, A. M. (2017). Pharmaceutical solvates, hydrates and amorphous forms: A special emphasis on cocrystals. *Advanced Drug Delivery Reviews*, **117**, p.25–46.
- [7] Thakuria, R., & Sarma, B. (2018). Drug-drug and drug-nutraceutical cocrystal/salt as alternative medicine for combination therapy: A crystal engineering approach. *Crystals*, **8**(2).
- [8] Elder, D. P., Holm, R., & De Diego, H. L. (2013). Use of pharmaceutical salts and cocrystals to address the issue of poor solubility. *International Journal of Pharmaceutics*, **453**(1), p.88–100.
- [9] Guo, M., Sun, X., Chen, J., & Cai, T. (2021). Pharmaceutical cocrystals: A review of preparations, physicochemical properties and applications. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, **11**(8), p.2537–2564.
- [10] Kumar Bandaru, R., Rout, S. R., Kenguva, G., Gorain, B., Alhakamy, N. A., Kesharwani, P., & Dandela, R. (2021). Recent Advances in Pharmaceutical Cocrystals: From Bench to Market. *Frontiers in Pharmacology*, **12**(November), p.1–16.
- [11] Wu, W., Wang, Y., Löbmann, K., Grohgan, H., & Rades, T. (2019). Transformations between Co-Amorphous and Co-Crystal Systems and Their Influence on the Formation and Physical Stability of Co-Amorphous Systems. *Molecular Pharmaceutics*, **16**(3), p.1294–1304.
- [12] Narala S, Nyavanandi D, Srinivasan P, Mandati P, Bandari S, R. M. (2021). Pharmaceutical

- Co-Crystals, Salts, and Co-Amorphous Systems: A Novel Opportunity of Hot Melt Extrusion. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*.
- [13] Haltner, E., Flötotto, T., & Bock, U. (2003). Biopharmaceutical classification system. *Farmaceutski Vestnik*, **54**(SPEC. ISS.), p.317–318.
- [14] Lou, Y., Yu, K., Wu, X., Wang, Z., Cui, Y., Bao, H., Wang, J., Hu, X., Ji, Y., & Tang, G. (2021). Co-crystals of resveratrol and polydatin with l-proline: Crystal structures, dissolution properties, and in vitro cytotoxicities. *Molecules*, **26**(18).
- [15] Yan, Y., Chen, J. M., & Lu, T. B. (2013). Simultaneously enhancing the solubility and permeability of acyclovir by crystal engineering approach. *Crystal Engineering Communications*, **15**(33), p.6457–6460.
- [16] Masuda, T., Yoshihashi, Y., Yonemochi, E., Fujii, K., Uekusa, H., & Terada, K. (2012). Cocrystallization and amorphization induced by drug-excipient interaction improves the physical properties of acyclovir. *International Journal of Pharmaceutics*, **422**(1–2), p.160–169.
- [17] Sanphui, P., Devi, V. K., Clara, D., Malviya, N., Ganguly, S., & Desiraju, G. R. (2015). Cocrystals of hydrochlorothiazide: Solubility and diffusion/permeability enhancements through drug-coformer interactions. *Molecular Pharmaceutics*, **12**(5), p.1615–1622.
- [18] Desiraju, G. R. (2013). Crystal engineering: From molecule to crystal. *Journal of the American Chemical Society*, **135**(27), p.9952–9967.
- [19] Hutchins, K. M. (2018). Functional materials based on molecules with hydrogen-bonding ability: Applications to drug co-crystals and polymer complexes. *Royal Society Open Science*, **5**(6).
- [20] Biscaia, I. F. B., Oliveira, P. R., Gomes, S. N., & Bernardi, L. S. (2021). Obtaining cocrystals by reaction crystallization method: Pharmaceutical applications. *Pharmaceutics*, **13**(6).
- [21] National Center for Biotechnology Information. "PubChem Compound Summary for CID 487101, Delafloxacin" *PubChem*, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Delafloxacin>. Acedido a 10 de setembro, 2022
- [22] Steed, J. W. (2013). The role of co-crystals in pharmaceutical design. *Trends in Pharmacological Sciences*, **34**(3), p.185–193.
- [23] Lemmerer, A., & Bernstein, J. (2010). The co-crystal of two GRAS substances: (Citric acid)-(nicotinamide). Formation of four hydrogen bonding heterosynthons in one co-crystal. *Crystal Engineering Communications*, **12**(7), p.2029–2033.

- [24] Emmerson, A. M., & Jones, A. M. (2003). The quinolones: Decades of development and use. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, **51**(SUPPL. 1), p.13–20.
- [25] Aldred, J., Katie, Kerns, J., Robert & Oshroff, N. (2014). Mechanism of Quinolone Action and Resistance. *Biochemistry Including Biophysical Chemistry & Molecular Biology*, p.52–53.
- [26] Sousa, J., Alves, G., Fortuna, A., & Falcão, A. (2012). Analytical methods for determination of new fluoroquinolones in biological matrices and pharmaceutical formulations by liquid chromatography: A review. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, **403**(1), p.93–129.
- [27] Sharma, P. C., Jain, A., & Jain, S. (2009). Fluoroquinolone antibacterials: A review on chemistry, microbiology and therapeutic prospects. *Acta Poloniae Pharmaceutica – Drug Research*, **66**(6), p.587–604.
- [28] Van Bambeke, F. (2014). Renaissance of antibiotics against difficult infections: Focus on oritavancin and new ketolides and quinolones. *Annals of Medicine*, **46**(7), p.512–529.
- [29] Kocsis, B., Domokos, J., & Szabo, D. (2016). Chemical structure and pharmacokinetics of novel quinolone agents represented by avarofloxacin, delafloxacin, finafloxacin, zabofloxacin and nemonoxacin. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, **15**(1), p.1–8.
- [30] Candel, F. J., & Peñuelas, M. (2017). Delafloxacin: Design, development and potential place in therapy. *Drug Design, Development and Therapy*, **11**, p.881–891.
- [31] Kingsley, J., Mehra, P., Lawrence, L. E., Henry, E., Duffy, E., Cammarata, S. K., & Pullman, J. (2016). A randomized, double-blind, Phase 2 study to evaluate subjective and objective outcomes in patients with acute bacterial skin and skin structure infections treated with delafloxacin, linezolid or vancomycin. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, **71**(3), p.821–829.
- [32] Hoover, R., Hunt, T., Benedict, M., Paulson, S. K., Lawrence, L., Cammarata, S., & Sun, E. (2016). Safety, Tolerability, and Pharmacokinetic Properties of Intravenous Delafloxacin after Single and Multiple Doses in Healthy Volunteers. *Clinical Therapeutics*, **38**(1), p.53–65.
- [33] Bassetti, M., Della Siega, P., Pecori, D., Scarparo, C., & Righi, E. (2015). Delafloxacin for the treatment of respiratory and skin infections. *Expert Opinion on Investigational Drugs*, **24**(3), p.433–442.
- [34] Anwer, M. K., Mohammad, M., Khalil, N. Y., Imam, F., Ansari, M. J., Aldawsari, M. F., Shakeel, F., & Iqbal, M. (2020). Solubility, thermodynamics and molecular interaction studies of delafloxacin in environmental friendly ionic liquids. *Journal of Molecular Liquids*, **305**,

112854.

- [35] Anwer, M. K., Iqbal, M., Muharram, M. M., Mohammad, M., Ezzeldin, E., Aldawsari, M. F., Alalaiwe, A., & Imam, F. (2020). Development of lipomer nanoparticles for the enhancement of drug release, anti-microbial activity and bioavailability of delafloxacin. *Pharmaceutics*, **12**(3), p.1–13.
- [36] de Almeida, A. C., Torquetti, C., Ferreira, P. O., Fernandes, R. P., dos Santos, E. C., Kogawa, A. C., & Caires, F. J. (2020). Cocrystals of ciprofloxacin with nicotinic and isonicotinic acids: Mechanochemical synthesis, characterization, thermal and solubility study. *Thermochimica Acta*, **685**(July 2019).
- [37] Ferreira, P. O., de Almeida, A. C., dos Santos, É. C., Droppa, R., Ferreira, F. F., Kogawa, A. C., & Caires, F. J. (2020). A norfloxacin-nicotinic acid cocrystal: Mechanochemical synthesis, thermal and structural characterization and solubility assays. *Thermochimica Acta*, **694**(June).
- [38] Li, M., Yang, Z., Zhang, Y., Xu, H., Zhang, S. hua, Sun, J., & Wang, J. (2022). Synthesis, crystal structure, and solubility study of a supramolecular assembly cocrystal formed by levofloxacin and nicotinic acid. *Journal of Molecular Structure*, **1249**.
- [39] Moreno, J., & Peinado, R. (2012). Non-Flavonoid Phenols. *Enological Chemistry*, p.53–76.
- [40] Akinwumi, B. C., Bordun, K. A. M., & Anderson, H. D. (2018). Biological activities of stilbenoids. *International Journal of Molecular Sciences*, **19**(3), p.1–25.
- [41] Valletta, A., Iozia, L. M., & Leonelli, F. (2021). Impact of environmental factors on stilbene biosynthesis. *Plants*, **10**(1), p.1–40.
- [42] Silva, R. de C. da, Teixeira, J. A., Nunes, W. D. G., Zangaro, G. A. C., Pivatto, M., Caires, F. J., & Ionashiro, M. (2017). Resveratrol: A thermoanalytical study. *Food Chemistry*, **237**, p.561–565.
- [43] Caruso, F., Tanski, J., Villegas-Estrada, A., & Rossi, M. (2004). Structural basis for antioxidant activity of trans-resveratrol: Ab initio calculations and crystal and molecular structure. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **52**(24), p.7279–7285.
- [44] Zarychta, B., Gianopoulos, C. G., & Pinkerton, A. A. (2016). Revised structure of trans-resveratrol: Implications for its proposed antioxidant mechanism. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, **26**(5), p.1416–1418.
- [45] Kavuru, P., Aboarayas, D., Arora, K. K., Clarke, H. D., Kennedy, A., Marshall, L., Ong, T. T., Perman, J., Pujari, T., Wojtas, Ł., & Zaworotko, M. J. (2010). Hierarchy of supramolecular

- synthons: Persistent hydrogen bonds between carboxylates and weakly acidic hydroxyl moieties in cocrystals of zwitterions. *Crystal Growth and Design*, **10**(8), p.3568–3584.
- [46] He, H., Zhang, Q., Wang, J. R., & Mei, X. (2017). Structure, physicochemical properties and pharmacokinetics of resveratrol and piperine cocrystals. *Crystal Engineering Communications*, **19**(41), p.6154–6163.
- [47] Mehta, B. K., Singh, S. S., Chaturvedi, S., Wahajuddin, M., & Thakur, T. S. (2018). Rational Cofomer Selection and the Development of New Crystalline Multicomponent Forms of Resveratrol with Enhanced Water Solubility. *Crystal Growth and Design*, **18**(3), p.1581–1592.
- [48] Zhou, Z., Li, W., Sun, W. J., Lu, T., Tong, H. H. Y., Sun, C. C., & Zheng, Y. (2016). Resveratrol cocrystals with enhanced solubility and tableability. *International Journal of Pharmaceutics*, **509**(1–2), p.391–399.
- [49] Pessoa, A. S., Aguiar, G. P. S., Vladimir Oliveira, J., Bortoluzzi, A. J., Paulino, A., & Lanza, M. (2019). Precipitation of resveratrol-isoniazid and resveratrol-nicotinamide cocrystals by gas antisolvent. *Journal of Supercritical Fluids*, **145**, p.93–102.
- [50] Duke, S. O. (2022). Benefits of Resveratrol and Pterostilbene to Crops and Their Potential Nutraceutical Value to Mammals. *Agriculture (Switzerland)*, **12**(3).
- [51] Bofill, L., Barbas, R., De Sande, D., Font-Bardia, M., Ràfols, C., Albertí, J., & Prohens, R. (2021). A Novel, Extremely Bioavailable Cocrystal of Pterostilbene. *Crystal Growth and Design*, **21**(4), p.2315–2323.
- [52] Peng, R. M., Lin, G. R., Ting, Y., & Hu, J. Y. (2018). Oral delivery system enhanced the bioavailability of stilbenes: Resveratrol and pterostilbene. *BioFactors*, **44**(1), p.5–15.
- [53] Dvorakova, M., & Landa, P. (2017). Anti-inflammatory activity of natural stilbenoids: A review. *Pharmacological Research*, **124**, p.126–145.
- [54] McCormack, D., & McFadden, D. (2013). A review of pterostilbene antioxidant activity and disease modification. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2013.
- [55] Mahesh, M., Subbaraju, G., Ivanisevic, I., Andres, M., & Stephens, K. (2010). *Solid forms of Pterostilbene*. WO 2010/141107 A1.
- [56] Barbas, R., Font-Bardia, M., Frontera, A., & Prohens, R. (2022). Polymorphism in the 1/1 Pterostilbene/Picolinic Acid Cocrystal. *Crystal Growth and Design*, **22**(1), p.590–597.
- [57] Schukltheiss, Nate, Bethune, S. & H. J.-O. (2010). Nutraceutical cocrystals: utilizing pterostilbene as a cocrystal former. *Crystal Engineering Communications*, **12**(8), p.2288–

2295.

- [58] Bethune, S. J., Schultheiss, N., & Henck, J. O. (2011). Improving the poor aqueous solubility of nutraceutical compound pterostilbene through cocrystal formation. *In Crystal Growth and Design* (Vol. 11, Issue 7).
- [59] Valentovic, M. (2007). Nicotinic acid. *XPharm: The Comprehensive Pharmacology Reference*, p.1–4.
- [60] Bodor, E. T., & Offermanns, S. (2008). Nicotinic acid: An old drug with a promising future. *British Journal of Pharmacology*, **153**(SUPPL. 1), p.68–75.
- [61] Vosper, H. (2009). Niacin: A re-emerging pharmaceutical for the treatment of dyslipidaemia. *British Journal of Pharmacology*, **158**(2), p.429–441.
- [62] Wright, W. B., & King, G. S. D. (1953). The crystal structure of nicotinic acid. *Acta Crystallographica*, **6**(4), p.305–317.
- [63] Ghosh, T., Juturu, T., Nagar, S. N., & Kamath, S. (2021). *Cocrystals of Modafinil-Nicotinic Acid: A Novel Cocrystal for Enhanced Bioavailability*. 12.
- [64] Cosmetic Ingredient Review Expert Panel (2005). Final report of the safety assessment of niacinamide and niacin. *International Journal of Toxicology*, **24**, p.1–31.
- [65] Maruyoshi, K., Iuga, D., Antzutkin, O. N., Alhalaweh, A., Velaga, S. P., & Brown, S. P. (2012). Identifying the intermolecular hydrogen-bonding supramolecular synthons in an indomethacin–nicotinamide cocrystal by solid-state NMR. *Chemical Communications*, **48**(88), p.10844–10846.
- [66] Wright, W. B., & King, G. S. D. (1954). The crystal structure of nicotinamide. *Acta Crystallographica*, **7**(3), p.283–288.
- [67] Li, X., Ou, X., Wang, B., Rong, H., Wang, B., Chang, C., Shi, B., Yu, L., & Lu, M. (2020). Rich polymorphism in nicotinamide revealed by melt crystallization and crystal structure prediction. *Communications Chemistry*, **3**(1), p.1–8.
- [68] Báthori, N. B., Lemmerer, A., Venter, G. A., Bourne, S. A., & Caira, M. R. (2011). Pharmaceutical Co-crystals with isonicotinamide-vitamin B3, clofibric acid, and diclofenac and two isonicotinamide hydrates. *Crystal Growth and Design*, **11**(1), p.75–87.
- [69] Chow, S. F., Chen, M., Shi, L., Chow, A. H. L., & Sun, C. C. (2012). Simultaneously improving the mechanical properties, dissolution performance, and hygroscopicity of ibuprofen and flurbiprofen by cocrystallization with nicotinamide. *Pharmaceutical Research*, **29**(7), p.1854–1865.

- [70] Yuliandra, Y., Zaini, E., Syofyan, S., Pratiwi, W., Putri, L. N., Pratiwi, Y. S., & Arifin, H. (2018). Cocrystal of ibuprofen–nicotinamide: Solid-state characterization and in vivo analgesic activity evaluation. *Scientia Pharmaceutica*, **86**(2).
- [71] Lou, B., & Hu, S. (2011). Different hydrogen-bonded interactions in the cocrystals of nicotinamide with two aromatic acids. *Journal of Chemical Crystallography*, **41**(11), p.1663–1668.
- [72] Patil, S. P., Modi, S. R., & Bansal, A. K. (2014). Generation of 1:1 Carbamazepine:Nicotinamide cocrystals by spray drying. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, **62**, p.251–257.
- [73] Rahman, Z., Agarabi, C., Zidan, A. S., Khan, S. R., & Khan, M. A. (2011). Physico-mechanical and stability evaluation of carbamazepine cocrystal with nicotinamide. *AAPS Pharmaceutical Science Technology*, **12**(2), p.693–704.
- [74] Shayanfar, A., Velaga, S., & Jouyban, A. (2014). Solubility of carbamazepine, nicotinamide and carbamazepine-nicotinamide cocrystal in ethanol-water mixtures. *Fluid Phase Equilibria*, **363**, p.97–105.
- [75] Görbitz, C. H., Törnroos, K. W., & Day, G. M. (2012). Single-crystal investigation of l-tryptophan with  $Z' = 16$ . *Acta Crystallographica Section B: Structural Science*, **68**(5), p.549–557.
- [76] Al Rahal, O., Hughes, C. E., Williams, P. A., Logsdail, A. J., Diskin-Posner, Y., & Harris, K. D. M. (2019). Polymorphism of l-Tryptophan. *Angewandte Chemie - International Edition*, **58**(52), p.18788–18792.
- [77] Tumanova, N., Tumanov, N., Robeyns, K., Filinchuk, Y., Wouters, J., & Leyssens, T. (2014). Structural insight into cocrystallization with zwitterionic co-formers: Cocrystals of S-naproxen. *Crystal Engineering Communications*, **16**(35), p.8185–8196.
- [78] Sanii, R., Andaloussi, Y. H., Patyk-Kaźmierczak, E., & Zaworotko, M. J. (2022). Polymorphism in Ionic Cocrystals Comprising Lithium Salts and l-Proline. *Crystal Growth and Design*, **22**(6), p.3786–3794.
- [79] Rodrigues, V. H., Costa, M. M. R. R., Belsley, M., & De Matos Gomes, E. D. (2012). L-Tryptophan 4-nitrophenol trisolvate. *Acta Crystallographica Section E: Structure Reports Online*, **68**(3), p.148–155.
- [80] Fujii, I. (2009). Crystal Structure of L-(S)-Tryptophane D-(R)-mandelate 1.5H<sub>2</sub>O. *The Japan Society for Analytical Chemistry*, **25**, p.3–4.

- [81] G. L. Gartland, G. R. F. A. C. E. B. (1974). Crystal Structures of Tryptamine Picrate and D,L-Tryptophan Picrate-Methanol, Two Indole Donor-Acceptor Complexes. *Acta Crystallographica Section B*, p.1841–1849.
- [82] Petrosyan, A. M., Giester, G., Ghazaryan, V. V., & Fleck, M. (2021). L-Prolinium L-proline halogenides: a comparison of the respective chloride, bromide and iodide salts. *Journal of Molecular Structure*, 1243, 130851.
- [83] Cuadra, I. A., Cabañas, A., Cheda, J. A. R., & Pando, C. (2018). Polymorphism in the co-crystallization of the anticonvulsant drug carbamazepine and saccharin using supercritical CO<sub>2</sub> as an anti-solvent. *Journal of Supercritical Fluids*, **136**(December 2017), p.60–69.
- [84] Hickey, M. B., Peterson, M. L., Scoppettuolo, L. A., Morrisette, S. L., Vetter, A., Guzmán, H., Remenar, J. F., Zhang, Z., Tawa, M. D., Haley, S., Zaworotko, M. J., & Almarsson, Ö. (2007). Performance comparison of a co-crystal of carbamazepine with marketed product. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, **67**(1), p.112–119.
- [85] Alhalaweh, A., Roy, L., Rodríguez-Hornedo, N., & Velaga, S. P. (2012). PH-dependent solubility of indomethacin-saccharin and carbamazepine- saccharin cocrystals in aqueous media. *Molecular Pharmaceutics*, **9**(9), p.2605–2612.
- [86] Jung, M. S., Kim, J. S., Kim, M. S., Alhalaweh, A., Cho, W., Hwang, S. J., & Velaga, S. P. (2010). Bioavailability of indomethacin-saccharin cocrystals. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, **62**(11), p.1560–1568.
- [87] Ejarque, D., Calvet, T., Font-Bardia, M., & Pons, J. (2021). Cocrystals based on 4,4'-bipyridine: Influence of crystal packing on melting point. *Crystals*, **11**(2), p.1–16.
- [88] Du, J. J., Lai, F., Váradi, L., Williams, P. A., Groundwater, P. W., Platts, J. A., Hibbs, D. E., & Overgaard, J. (2018). Monoclinic paracetamol vs. Paracetamol-4,4' -bipyridine co-crystal; what is the difference? a charge density study. *Crystals*, **8**(1).
- [89] Li, S., Yu, T., Tian, Y., McCoy, C. P., Jones, D. S., & Andrews, G. P. (2016). Mechanochemical synthesis of pharmaceutical cocrystal suspensions via hot melt extrusion: Feasibility studies and physicochemical characterization. *Molecular Pharmaceutics*, **13**(9), p.3054–3068.
- [90] Do, J. L., & Frišćić, T. (2017). Mechanochemistry: A Force of Synthesis. *ACS Central Science*, **3**(1), p.13–19.
- [91] Ying, P., Yu, J., & Su, W. (2021). Liquid-Assisted Grinding Mechanochemistry in the Synthesis of Pharmaceuticals. *Advanced Synthesis and Catalysis*, **363**(5), p.1246–1271.
- [92] Che, J. C. (2008). *Materials Characterization: Introduction to Microscopic and Spectroscopic*

*Methods, 2nd Edition.*

- [93] Kelly, R. C., & Rodríguez-Hornedo, N. (2009). Solvent effects on the crystallization and preferential nucleation of carbamazepine anhydrous polymorphs: A molecular recognition perspective. *Organic Process Research and Development*, **13**(6), p.1291–1300.
- [94] Bernstein, J. (2011). Polymorphism - A perspective. *Crystal Growth and Design*, **11**(3), p.632–650.
- [95] Saba, N., Jawaid, M., & Sultan, M. T. H. (2017). Thermal properties of oil palm biomass based composites. In *Lignocellulosic Fibre and Biomass-Based Composite Materials: Processing, Properties and Applications* (Vol. 1). Elsevier Ltd.
- [96] Zainal, N. F. A., Saiter, J. M., Halim, S. I. A., Lucas, R., & Chan, C. H. (2021). Thermal analysis: basic concept of differential scanning calorimetry and thermogravimetry for beginners. *Chemistry Teacher International*, **3**(2), p.59–75.
- [97] Amarachi, A. (2020). Differential Scanning Calorimetry : A Review. *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology*, **1**(2), p.1–7.
- [98] Hilfiker, R., Raumer, M. Von, Von Raumer, M., & Raumer, M. Von. (2019). Polymorphism in the Pharmaceutical Industry, *2nd Edition*.
- [99] Sabbah, R., Xu-Wu, A., Chickos, J. S., Leitão, M. L. P., Roux, M. V., & Torres, L. A. (1999). Reference materials for calorimetry and differential thermal analysis. *Thermochimica Acta*, **331**(2), p.93–204.
- [100] Saadatkah, N., Carillo Garcia, A., Ackermann, S., Leclerc, P., Latifi, M., Samih, S., Patience, G. S., & Chaouki, J. (2020). Experimental methods in chemical engineering: Thermogravimetric analysis—TGA. *Canadian Journal of Chemical Engineering*, **98**(1), p.34–43.
- [101] Kumar, A., Singh, P., & Nanda, A. (2020). Hot stage microscopy and its applications in pharmaceutical characterization. *Applied Microscopy*, **50**(1).
- [102] Ashton, G. P., Harding, L. P., & Parkes, G. M. B. (2022). HDM, interfacing thermal analysis and ambient ionisation mass spectrometry. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, **147**, p.10057–10065.
- [103] Berthomieu, C., & Hienerwadel, R. (2009). Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy. *Photosynthesis Research*, **101**(2–3), p.157–170.
- [104] Guerrero-Pérez, M. O., & Patience, G. S. (2020). Experimental methods in chemical engineering: Fourier transform infrared spectroscopy—FTIR. *Canadian Journal of Chemical*

- Engineering*, **98**(1), p.25–33.
- [105] Fronczek, F. R. (2018). CCDC 1834256: Experimental Crystal Structure Determination. *Cambridge Crystallographic Data Centre*.
- [106] Bofill, L., De Sande, D., Barbas, R., & Prohens, R. (2019). Hydrogen Bond Polarization Overcomes Unfavorable Packing in the Most Stable High Z' Polymorph of Pterostilbene. *Crystal Growth and Design*, **19**(5), p.2552–2556.
- [107] Nugrahani, I., & Jessica, M. A. (2021). Amino acids as the potential co-former for co-crystal development: A review. *Molecules*, **26**(11).
- [108] Bart, J. C. J. (1968). The Crystal and Molecular Structure of Saccharin (o-Sulphobenzoic Imide). *Journal of the Chemical Society B*, **376**, p.376–382.
- [109] Ferreira, P. O., de Moura, A., de Almeida, A. C., dos Santos, É. C., Kogawa, A. C., & Caires, F. J. (2022). Mechanochemical synthesis, thermoanalytical study and characterization of new multicomponent solid forms of norfloxacin with saccharin. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, **147**(3), p.1985–1997.
- [110] Candan, M. M., Eroğlu, S., Özbey, S., Kendi, E., & Kantarci, Z. (1999). Structure and conformation of 4,4'-bipyridine. *Spectroscopy Letters*, **32**(1), p.35–45.

**Anexos**



## Anexos

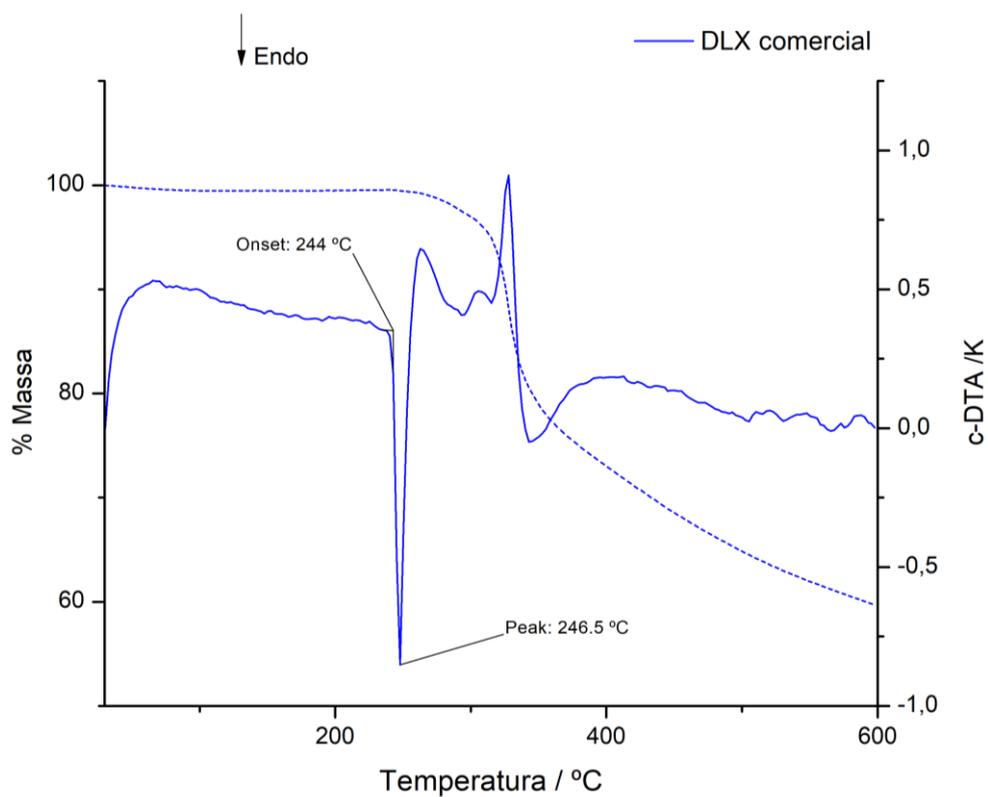


Figura S.1. Curvas termogravimétricas (TGA) de uma amostra comercial de delafloxacina.

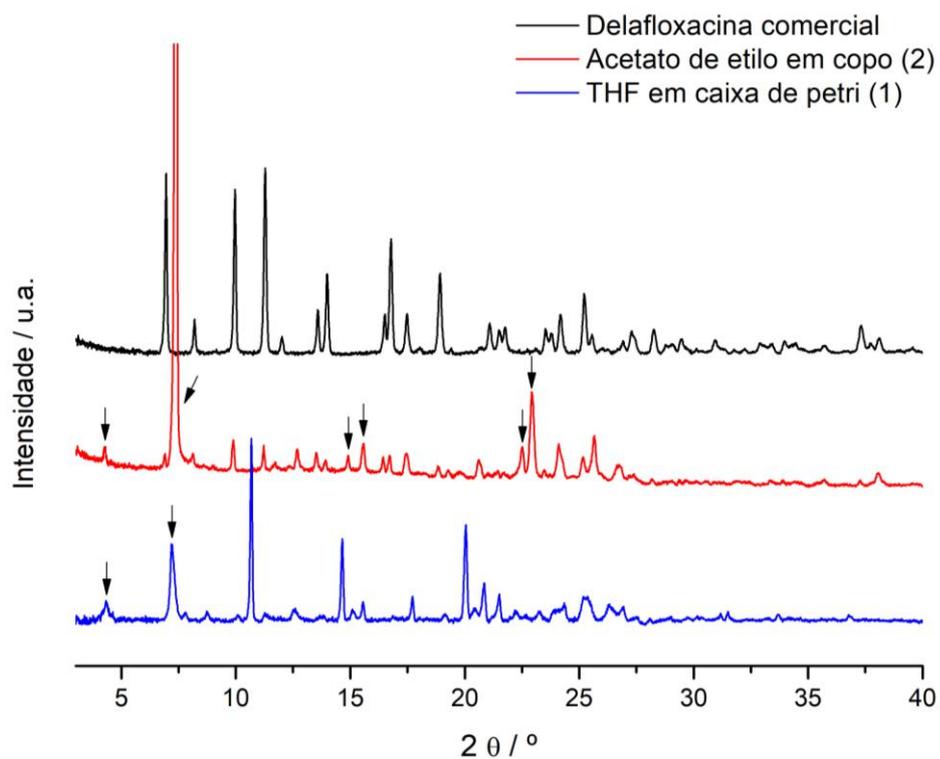
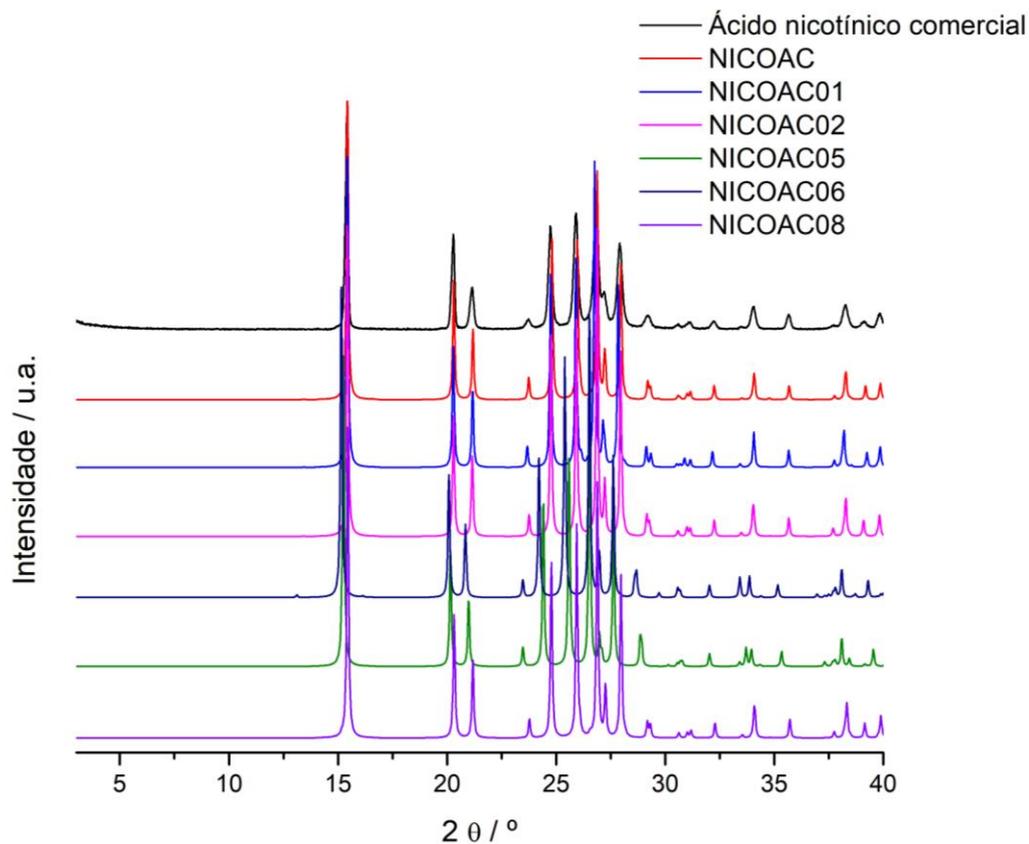
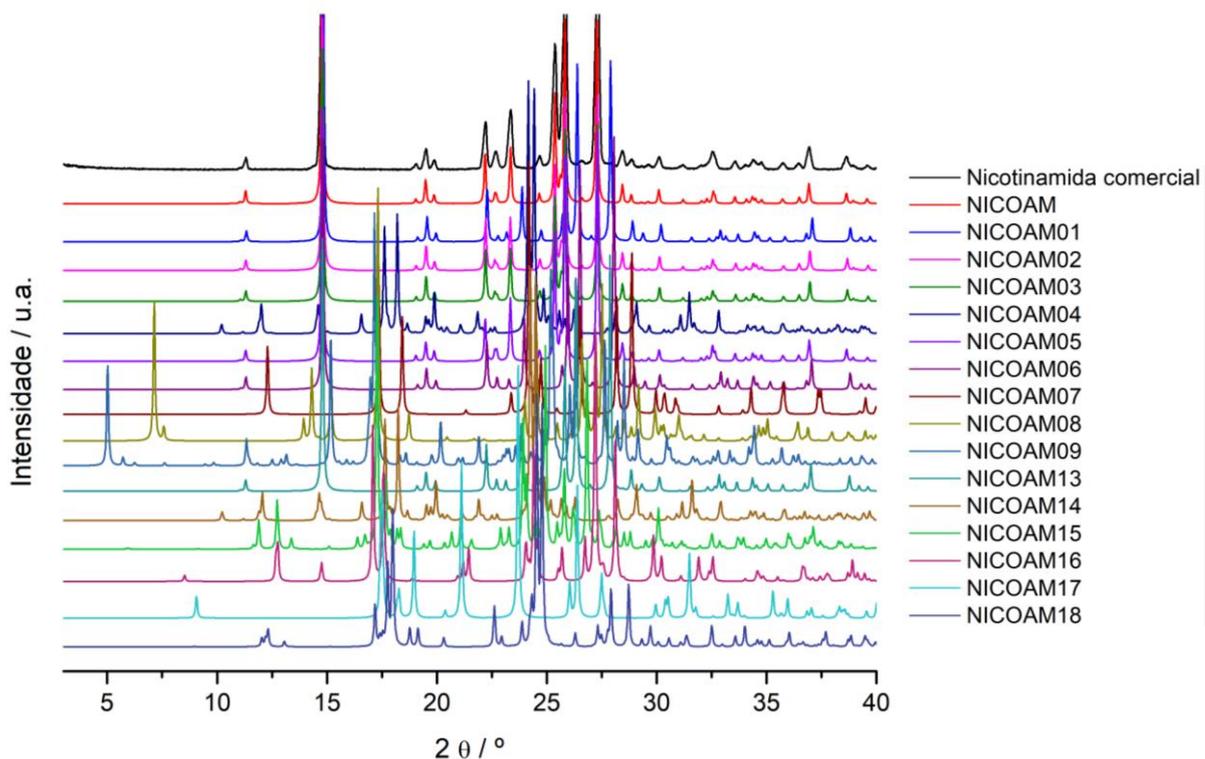


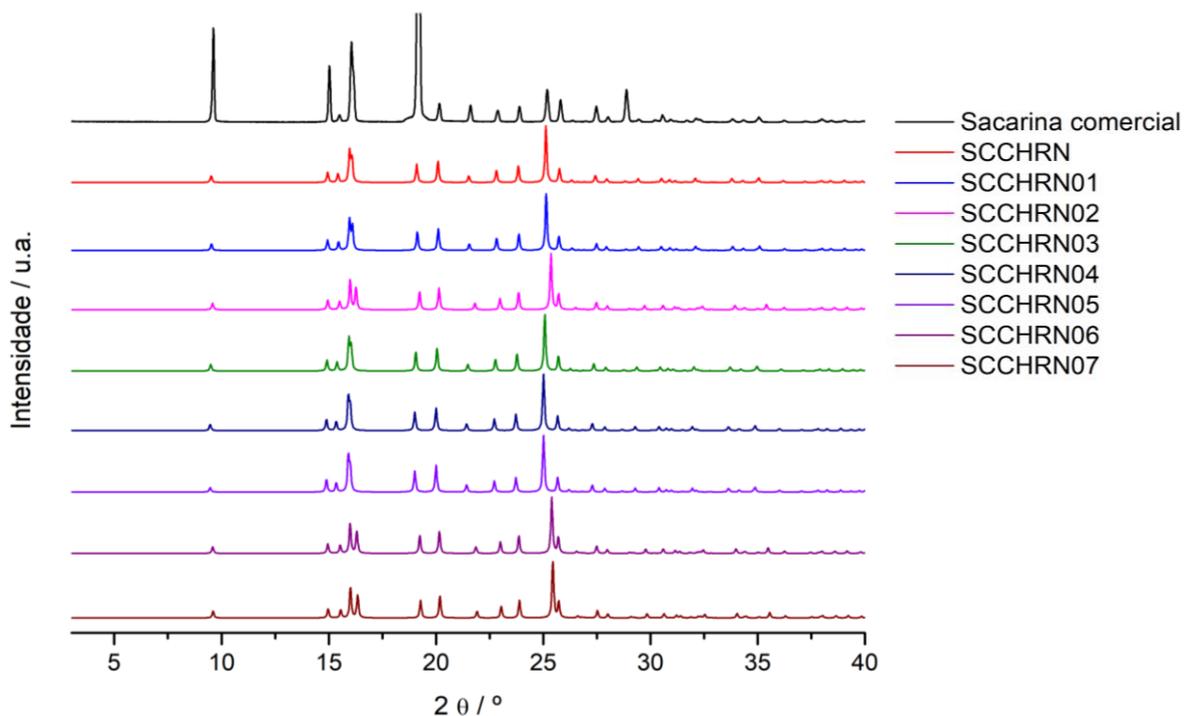
Figura S.2. Difratogramas de raios-X de pó de amostras de delafloxacina cristalizada em acetato de etilo e THF.



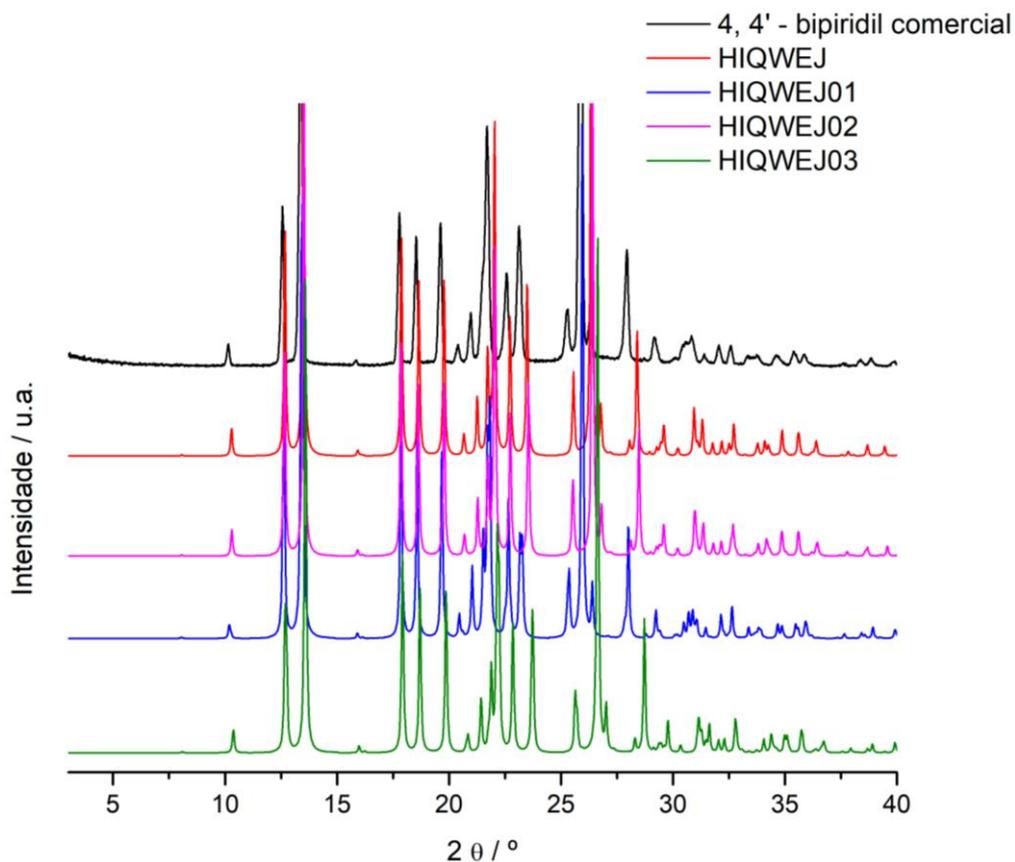
**Figura S.3.** Difratogramas experimental do ácido nicotínico comercial e simulados a partir das estruturas depositadas na CCDC, com os códigos identificados na figura.



**Figura S.4.** Difratogramas experimental do nicotinamida comercial e simulados a partir das estruturas depositadas na CCDC, com os códigos identificados na figura.



**Figura S.5.** Difratogramas experimental da sacarina comercial e simulados a partir das estruturas depositadas na CCDC, com os códigos identificados na figura.



**Figura S.6.** Difratogramas experimental do 4, 4' - bipyridil comercial e simulados a partir das estruturas depositadas na CCDC, com os códigos identificados na figura.