

# Estudos de formação de co-cristais com o Diflunisal e isómeros de piridina-carboxamida

Carina Alexandra Dinis Forte

Mestrado em Química

Departamento de Química

FCTUC

Setembro 2010



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

# **Estudos de formação de co-cristais do Diflunisal com isómeros de piridina-carboxamida**

**Carina Alexandra Dinis Forte**

**Dissertação apresentada a provas de Mestrado em Química, ramo Controlo de  
Qualidade e Ambiente**

Tese orientada pela

**Prof<sup>a</sup>. Doutora Teresa Margarida Roseiro Maria Estronca**

e pelo

**Prof.<sup>o</sup>. Doutor Mário Túlio dos Santos Rosado**

**Setembro de 2010**

**Universidade de Coimbra**

*“Não procure ser um homem com êxito, e sim um homem  
com valores.”*

(Albert Einstein)

Dedico este trabalho aos meus pais, que alumiaram o  
caminho da minha vida, ao meu irmão por ser um  
exemplo e uma referência para mim e à minha tia por ter  
sido uma mulher de elevados valores e impulsionadora da  
minha paixão pela leitura.

# Agradecimentos

Ainda que uma tese seja, pela sua finalidade académica, um trabalho individual, há contributos de várias pessoas que não podem e nem devem deixar de ser realçados. É, por isso, um prazer enunciar cada um deles e proceder ao seu reconhecido agradecimento:

À Professora Doutora Teresa Margarida Roseiro Maria Estronca e ao Professor Doutor Mário Túlio dos Santos Rosado, meus orientadores, pela competência científica e séquito do trabalho, bem como, pela disponibilidade, generosidade e perseverança reveladas ao longo deste trabalho, assim como pelas críticas, correcções e suscitações relevantes feitas durante a orientação, ensinando-me com prazer e dedicação parte do que sei.

À Professora Doutora Maria Ermelinda da Silva Eusébio, coordenadora do grupo de Termodinâmica Química, pela orientação, permanente disponibilidade e confiança depositada no meu trabalho, contribuindo para a realização desta tese.

A todos os professores pertencentes ao grupo de Termodinâmica Química, agradeço a disponibilidade, a partilha do saber e as valiosas contribuições para o trabalho.

Aos colegas de grupo, Joana, David, Suse e Osvaldo, pelo seu companheirismo, amizade, incentivo e disponibilidade em trocar informações.

Aos meus pais, os quais amo muito, pela compreensão e ternura sempre manifestadas, pelo orgulho com que sempre reagiram aos meus resultados académicos e porque é a eles que devo tudo.

Ao meu irmão Tiago, que é um exemplo para mim. O meu obrigado pelo amor, alegria e atenção sem reservas.

Ao meu avô, primas e demais família que soube entender a minha ausência nos muitos momentos desde que ingressei na faculdade, pelo carinho e paciência.

Aos amigos de todas as épocas, em especial à Joana, Luís, Marta, Jorge, Bárbara, Joel e João Pedro pelo apoio, força, incentivo, companheirismo e amizade, mas sobretudo por estarem sempre presentes. Sem eles não seria o que sou. Inexequível de pronunciar todos mas inesquecíveis e vitais.

Ao meu namorado, Flávio, pelo seu amor, carinho e empatia; por me dar força interior para superar as dificuldades e me suprir em todas as minhas necessidades.

A todos o meu profundo e sentido agradecimento pela oportunidade ímpar de crescimento académico e também pessoal, que de alguma forma contribuíram para a concretização desta tese, estimulando-me intelectual e emocionalmente. Esperançosa que o entusiasmo, seriedade e empenho que dedico ao trabalho lhes possa servir de estímulo para fazerem sempre “mais e melhor”.

# Resumo

O aumento constante de litígios sobre patentes envolvendo polimorfos e/ou pseudo-polimorfos conduziu a um interesse crescente no estudo de formas cristalinas revelando-se num tópico de grande importância para a indústria farmacêutica.

Neste trabalho foram efectuados estudos de pré-formulação com o princípio activo farmacêutico diflunisal e substâncias formadoras de co-cristal por métodos computacionais, mais concretamente por DFT usando os funcionais B3LYP e M06 e por método termoanalítico – calorimetria diferencial de varrimento (DSC). Os formadores de co-cristais usados são isómeros piridina-carboxamida: nicotinamida, picolinamida e isonicotinamida. O diflunisal e os co-formadores de cristais, nicotinamida e picolinamida, foram investigados por métodos computacionais para efectuar análise conformacional e avaliar possíveis interacções entre o diflunisal e os co-formadores. A capacidade de formação de co-cristais foi investigada através da comparação da estabilidade relativa dos homodímeros/heterodímeros dos compostos por métodos de modelação molecular. Através do método DSC obteve-se o perfil termoanalítico dos compostos originais bem como o comportamento térmico das misturas binárias – diflunisal/co-formador.

De forma a se obter conclusões mais precisas acerca da formação ou não de co-cristais, foram usadas as técnicas de espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) e difracção de raios-X de pó (PXRD).

# Abstract

The steady increase of patent litigation involving polymorphs and/or pseudo-polymorphs led to a growing interest in the study of crystalline forms which developed into a topic of major importance to the pharmaceutical industry.

In this essay were included pre-formulation studies with the Active Pharmaceutical Ingredient diflunisal and co-crystal formers using DFT computational methods (B3LYP and M06 functional) and thermal analysis - Differential Scanning Calorimetry (DSC). The co-crystal formers that were used are isomers pyridine-carboxamide isomers: nicotinamide, and picolinamida isonicotinamida. The diflunisal and the co-crystal formers, nicotinamide and picolinamida, were investigated by computational methods to analyse their conformational space and to evaluate possible interactions between diflunisal and co-formers. The ability to form co-crystals was investigated by comparing the relative, stability of the homodimers /heterodimers by molecular modeling methods. Through the DSC method was obtained the thermal profile of original compounds and thermal behavior of binary mixtures - diflunisal/co-formers.

In order to obtain more precise conclusions about the formation or non formation of co-crystals, the main technical's used were the Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) and X-ray powder diffraction (PXRD).

# Índice

Capítulo 1 .....	10
1.1. Objectivos .....	10
1.2. Introdução.....	10
1.2.1. Enquadramento do trabalho.....	10
1.2.2. Pré-formulação e o estado sólido .....	11
1.2.3. Polimorfismo .....	13
1.2.4. Co-cristais .....	14
1.2.5. Diflunisal e a sua aplicação farmacêutica .....	16
1.2.6. Aplicação farmacêutica de co-formadores .....	17
1.2.7. Estudos computacionais .....	18
1.2.8. Análise térmica e a sua aplicação farmacêutica .....	25
1.2.8.1. Calorimetria diferencial de varrimento .....	26
Capítulo 2 .....	29
2.1. Resultados e Discussão .....	29
2.2.1. Cálculos computacionais.....	29
a) ESTUDO CONFORMACIONAL .....	29
Diflunisal.....	29
Nicotinamida .....	31
Picolinamida .....	32
b) PREVISÃO DE FORMAÇÃO DE CO-CRISTAIS POR REACÇÕES ISODÉSMICAS.....	32
Homodímeros.....	33
Heterodímeros .....	36
2.2.2. Pesquisa experimental de co-cristais.....	40
Sistema Diflunisal: Nicotinamida.....	41
Sistema Diflunisal-Isonicotinamida .....	46
Sistema Diflunisal-Picolinamida .....	47
Capítulo 3 .....	54
3.1 Conclusão.....	54
Bibliografia.....	56

# Índice de Figuras

Figura 1 – Distribuição dos átomos no espaço em um sólido cristalino (a) e em um sólido amorfo (c). .....	12
Figura 2 – a) Sólido cristalino no qual os átomos são representados por esferas rígidas; b) Retículo cristalino.....	12
Figura 3 – Representação esquemática de formas cristalinas possíveis para uma API: (a) API puro, (b) polimorfo de API, (c) clatrato, hidrato /solvato de API, (d) hidrato/solvente de API, (e) sal de API, (f) co-cristal farmacêutico.).....	15
Figura 4 - Exemplos de síntões supramoleculares envolvendo ligações de hidrogênio. ....	16
Figura 5 – Estrutura do diflunisal.....	16
Figura 6 – Estrutura da nicotinamida. ....	17
Figura 7 – Estrutura da picolinamida.....	18
Figura 8 – Estrutura da isonicotinamida.....	18
Figura 9 – Representação esquemática de um DSC de compensação de potência. A – Célula para amostra; R – Célula para referência; S – Sensores de platina; .....	27
Figura 10 – Curva característica obtida num DSC de compensação de potência ilustrando picos correspondentes a transformações endotérmicas (a) e exotérmicas (b). ....	27
Figura 11 – Estruturas do confórmeros mais estáveis do diflunisal obtidos pelo método B3LYP /6-311++G(d,p).....	30
Figura 12 – Estruturas dos dois confórmeros mais estáveis do diflunisal obtidos pelo método B3LYP /6-311++G(d,p).....	31
Figura 13 - Estruturas dos confórmeros E e Z da nicotinamida obtidos pelo método B3LYP /6-311++G(d,p). ....	31
Figura 14 - Estruturas dos confórmeros I e II da picolinamida obtidos pelo método B3LYP /6-311++G(d,p). ....	32
Figura 15 – Dímero DFL-DFL. ....	34
Figura 16 - Dímero NA-NA. ....	35
Figura 17 – Dímero NA-NA'. ....	35
Figura 18 – Dímero PA-PA. ....	36
Figura 19 – Dímeros diflunisal_ sssa-nicotinamida_E, obtidos pelo método B3LYP /6-311++G(d,p).....	37
Figura 20 – Dímeros diflunisal_ sssa-picolinamida_I, obtidos pelo método B3LYP /6-311++G(d,p). ....	39
Figura 21 - Curva de DSC do 1º aquecimento de uma amostra de DFL, m =2.23 mg; $\beta$ =10 °C/min; $T_{onset}$ =212.1 °C, $\Delta H_{fus}$ =36.7 kJ/mol.....	42
Figura 22 - Curva de DSC de aquecimento de DFL cristalizado em metanol (m =1.56 mg), etanol (m =2.5 mg) e propanol (m =2.26 mg), $\beta$ =10 °C/min. ....	43
Figura 23 – Curvas de DSC de aquecimentos de uma amostra de NA,.....	43
Figura 24 - Curvas de DSC de aquecimentos da NA cristalizada em metanol .....	44
Figura 25 – Curvas de DSC do 1º aquecimento da mistura DFL/NA (1:1) cristalizada em, etanol (m =2.29 mg), metanol (m =1.32 mg), propanol (m =2.26 mg), acetato de etilo (m =2.31 mg) e tetra-hidrofurano (m =2.47 mg), $\beta$ = 10 °C/min.....	45



Figura 26 – Curvas de DSC do 1º aquecimento de misturas físicas DFL/NA preparadas em moinho de bolas; (1:1), $m = 2.16$ mg e (1:2), $m = 2.41$ mg, $\beta = 10$ °C/min. ....	45
Figura 28 – Curva de DSC do 1º aquecimento de uma amostra de INA, $m = 2.23$ mg; $\beta = 10$ °C/min. ....	46
Figura 29 – Curvas de DSC do 1º aquecimento de misturas físicas DFL/INA preparadas em moinho de bolas; (1:1), $m = 2.07$ mg e (1:2), $m = 2.87$ mg, $\beta = 10$ °C/min. ....	46
Figura 30 – Curva de DSC do 1º aquecimento de uma amostra de PA, $m = 2.70$ mg; $\beta = 10$ °C/min. ....	47
Figura 30 – Espectro de IV de uma amostra de diflunisal, picolinamida e da mistura DFL/PA (1:1), na gama de 3800 a 1800 $\text{cm}^{-1}$ . .....	51
Figura 31 – Espectro de IV de uma amostra de diflunisal, picolinamida e da mistura DFL/PA (1:1), na gama de 1800 a 1000 $\text{cm}^{-1}$ . .....	51
Figura 32 - Espectro de IV de uma amostra de diflunisal, picolinamida e da mistura DFL/PA (1:1), na gama de 1000 a 400 $\text{cm}^{-1}$ . ....	52
Figura 33 – Espectros de difracção de raios-X de pó de uma amostra de diflunisal, picolinamida da mistura DFL/PA (1:1). ....	53

# Índice de Tabelas

Tabela 1 - Principais técnicas de análise térmica e parâmetros físicos medidos por cada uma. <sup>(85)</sup> .....	26
Tabela 2 – Energia relativa, população relativa e parâmetros geométricos dos confórmeros do diflunisal pelo método B3LYP /6-311++G(d,p). .....	30
Tabela 3 – Energia relativa, população relativa e parâmetros geométricos dos confórmeros da nicotinamida pelo método B3LYP /6-311++G(d,p). .....	31
Tabela 4 – Energia relativa e parâmetros geométricos dos confórmeros da picolinamida pelo método B3LYP /6-311++G(d,p) - Parâmetros obtidos da literatura <sup>(54)</sup> .....	32
Tabela 5 – Energia e parâmetros geométricos do homodímero do diflunisal-sssa pelo método B3LYP /6-311++G(d,p). .....	33
Tabela 6 – Energia relativa, população relativa e parâmetros geométricos dos homodímeros da nicotinamida-E pelo método B3LYP /6-311++G(d,p). .....	34
Tabela 7 – Energia e parâmetros geométricos do homodímero da picolinamida pelo método B3LYP /6-311++G(d,p). .....	35
Tabela 8 – Energias e parâmetros geométricos para o sintão I e sintão II do dímero do DFL-NA obtidos pelo método B3LYP /6-311++G(d,p). .....	37
Tabela 9 – Energias e parâmetros termodinâmicos para os dímeros NA-NA, DFL-DFL e para o sintão I e sintão II do dímero do DFL-NA obtidos pelo método B3LYP /6-311++G(d,p). .....	38
Tabela 10 – Energias e parâmetros termodinâmicos para os dímeros NA-NA, DFL-DFL e para o sintão I do dímero do DFL-NA obtidos pelo método M06/cc-pVDZ. .....	38
Tabela 11 – Energias e parâmetros geométricos para o sintão I e sintão II do dímero do DFL-PA obtidos pelo método B3LYP /6-311++G(d,p). .....	39
Tabela 12 – Energias e parâmetros termodinâmicos para os dímeros DFL-DFL, PA-PA e para os sintões I e II do dímero do DFL-PA obtidos pelo método B3LYP /6-311++G(d,p). .....	40
Tabela 13 - Substâncias utilizadas e indicação da respectiva pureza e origem .....	40
Tabela 14 - Parâmetros obtidos da literatura <sup>(35)</sup> .....	42

# Abreviaturas

- DSC** - Calorimetria Diferencial de Varrimento
- DFT** - Teoria do Funcional da Densidade
- API** - Princípio Activo Farmacêutico
- FTIR** - Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier
- PXRD** - Difração de raios-X pelo método do pó
- pKa*** - Constante de equilíbrio para a ionização de um ácido
- DTA** - Análise Térmica Diferencial
- $\Delta H$**  - Variação de entalpia
- K*** - Constante de calibração
- m*** - Massa (g)
- A*** - Área do pico
- S** - Solvente
- DFL** - Diflunisal
- NA** - Nicotinamida
- PA** - Picolinamida
- INA** - Isonicotinamida

# Capítulo 1

## 1.1. Objectivos

Neste trabalho pretende-se avaliar a possibilidade de formação de sintões entre o diflunisal e formadores de co-cristal por métodos de química computacional e calorimetria diferencial de varrimento. Os métodos computacionais foram usados com o objectivo de auxiliarem na previsão e orientação do trabalho experimental com vista à obtenção de co-cristais.

Como substâncias formadoras de co-cristal foram utilizadas a nicotinamida, a picolinamida e a isonicotinamida. Estas substâncias têm aparentemente a possibilidade de estabelecer sintões do tipo ácido-amida e ácido-piridina com o diflunisal.

Para avaliar a existência de interacção entre o diflunisal e os potenciais formadores de co-cristal foram efectuadas cristalizações com solventes e misturas físicas em moinho de bolas. O comportamento térmico dos sólidos obtidos nestas operações foi analisado por calorimetria diferencial de varrimento.

## 1.2. Introdução

### 1.2.1. Enquadramento do trabalho

Os produtos farmacêuticos fornecem os meios através dos quais substâncias farmacologicamente activas podem ser fornecidas ao organismo de modo que a administração (oral, rectal, cutânea, subcutânea, etc.) e as propriedades físico-químicas dos medicamentos sejam apropriadas. Um produto farmacêutico é formado pela(s) droga(s) em si ou princípio(s) activo(s) e os excipientes (espessantes, aditivos, etc.). Todos devem estar presentes nas proporções adequadas.

Os produtos farmacêuticos podem ser divididos em dois grupos diferentes dependendo da via de administração (oral, rectal, dérmica, subcutânea, etc.) ou da sua forma galénica (sólida, líquida, semi-líquida etc.). Como os produtos farmacêuticos são usados para tratar seres humanos, os padrões de qualidade aplicados são extremamente altos. Este trabalho irá apenas focar-se na forma galénica sólida.

Até alguns anos atrás, a preocupação do Controle de Qualidade restringia-se às análises físico-químicas básicas a fim de validar o teor da substância activa bem como a sua uniformidade na formulação, não sendo posta em causa a capacidade dessa em libertar o fármaco para que fosse absorvido em quantidade/velocidade adequadas para alcançar o efeito terapêutico desejado. (1)

A administração de medicamentos por via oral em formulações sólidas é, em geral, a mais conveniente, segura e barata, e, portanto a mais comum. No entanto, a sua eficácia terapêutica está directamente relacionada às características do fármaco no estado sólido que inclui a estrutura cristalina (polimorfismo), o hábito cristalino (morfologia) e o tamanho de partícula. O domínio da tecnologia para a cristalização dos

princípios activos representa um conhecimento, pensado habilmente de forma a conseguir bons resultados, que permite não só garantir a eficácia do medicamento quanto proteger a sua propriedade intelectual. O aumento constante de litígios sobre patentes envolvendo polimorfos e/ou pseudo-polimorfos conduziu a um interesse de estudo das formas cristalinas revelando-se num tópico de grande importância para a indústria farmacêutica. (2)

Assim o desenvolvimento de novas formas cristalinas é uma alternativa plausível para a protecção de patentes permitindo a extensão da exclusividade do mercado, mas também para facilitar o ingresso de novas formulações ao mesmo. (3)

Um requisito importante para a previsão de uma estrutura cristalina é o uso de métodos computacionais para classificar correctamente a relação entre as energias dos diferentes polimorfos. (4)

## 1.2.2. Pré-formulação e o estado sólido

O estudo de pré-formulação é a primeira fase de desenvolvimento racional de formas farmacêuticas de uma substância farmacologicamente activa. É nesta fase de desenvolvimento farmacêutico que se obtêm informações sobre as características físico-químicas do futuro medicamento, tais como solubilidade/estabilidade, se avalia a existência ou não de formas polimórficas, assim como o comportamento destas frente a prováveis excipientes farmacêuticos ou outras substâncias farmacológicas. O objectivo global de pré-formulação é gerar informações úteis para o formulador avaliar a compatibilidade do componente activo com excipientes farmacêuticos e dados para o desenvolvimento de novos produtos estáveis na dosagem certa, bem como na optimização de formulações já existentes. (5)

O termo fármaco é usado para designar uma substância quimicamente activa dotada de acção farmacológica ou que apresente interesse na medicina. Os excipientes funcionam como um veículo para as substâncias activas ou suas associações sem acção farmacológica, possibilitando a preparação, estabilidade, modificação das propriedades físico-químicas de medicamentos, alterando também a sua biodisponibilidade. (6)

Para o desenvolvimento de uma forma farmacêutica sólida estável e biodisponível, é necessário conhecer as propriedades físicas e químicas do fármaco e dos excipientes isoladamente assim como quando combinados. Este estudo para cada formulação é portanto denominado de estudo de pré-formulação. Os princípios activos farmacêuticos (APIs) são usualmente entregues ao paciente no estado sólido (por exemplo, comprimidos, cápsulas, etc.), pois são compactos e geralmente com formatos estáveis para armazenar. Compreender e controlar a química do estado sólido dos API é um aspecto importante do processo de desenvolvimento de medicamentos. Os API podem existir numa variedade de formas sólidas distintas, incluindo polimorfos, solvatos, hidratos, sais, sólidos cristalinos e sólidos amorfos. (7)

O sólido sobre o qual recai a preferência é geralmente o que apresenta a forma cristalina termodinamicamente mais estável do composto. No entanto, a forma cristalina estável dos princípios activos farmacêuticos pode apresentar baixos valores de solubilidade e/ou velocidade de dissolução. (7) Um grande número de factores pode influenciar a nucleação e crescimento do cristal durante este processo (por exemplo

alteração do pH da solução; o solvente usado, pois meios menos viscosos favorecem o crescimento do cristal; a velocidade de crescimento/precipitação já que a velocidades mais baixas de crescimento obtêm-se cristais com formas mais regulares). (8)

A forma como se distribuem pelo espaço átomos e moléculas de um determinado material é determinante nas suas propriedades macroscópicas. (9)

Conforme a distribuição espacial dos átomos, moléculas ou iões, os sólidos podem ser classificados em:

– Cristalinos: compostos por átomos, moléculas ou iões arranjados de uma forma periódica em três dimensões, Figura 1a. (9) As posições ocupadas seguem uma ordenação que se repete para grandes distâncias atômicas (de longo alcance). (10)

– Amorfo: compostos por átomos, moléculas ou iões que não apresentam uma ordenação de longo alcance. Diferem dos compostos cristalinos em características como o ponto de fusão e a expansão térmica (Figura 1b). (10)

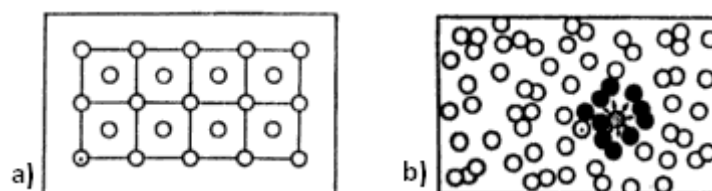


Figura 1 – Distribuição dos átomos no espaço em um sólido cristalino (a) e em um sólido amorfo (c). (12)

As substâncias cristalinas contêm arranjos ordenados de moléculas e átomos, que são mantidos em contacto por interações não covalente. (8) Nos cristais, cada unidade que se repete (célula unitária) é do mesmo tamanho e contém o mesmo número de moléculas ou iões dispostos de maneira idêntica. (11) Usualmente é mais conveniente considerar os átomos e moléculas como pontos e o cristal como o arranjo tridimensional destes pontos (Figura 2a), sendo este arranjo conhecido como retículo cristalino (Figura 2 b). (8)

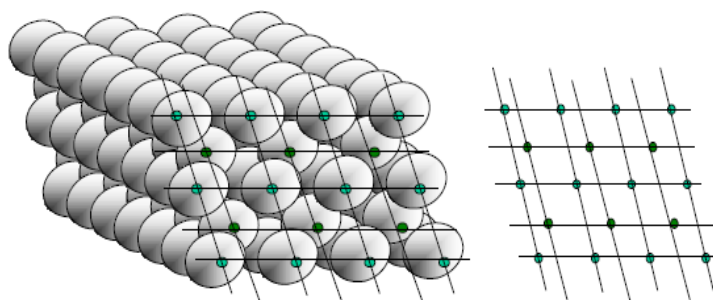


Figura 2 – a) Sólido cristalino no qual os átomos são representados por esferas rígidas;  
b) Retículo cristalino. (36)

Essas estruturas cristalinas observadas nos sólidos são descritas através de um conceito geométrico chamada rede espacial, e podem ser explicadas pelo modo como os poliedros de coordenação se agrupam, a fim de minimizar a energia do sólido. Os pontos do reticulado podem ser arranjados de 14 modos diferentes, denominados de reticulados/redes de Bravais, envolvendo sete sistemas diferentes, chamados sistemas de

Bravais. É importante destacar que cada ponto da rede pode estar associado mais de um átomo. (12)

### 1.2.3. Polimorfismo

De acordo com McCrone's (13) o polimorfismo é definido como sendo a possibilidade de uma molécula com determinada morfologia existir sob mais de uma forma cristalina. (14) Para Buerger, o polimorfo é uma forma de um dado composto químico que apresenta propriedades distintas de outras formas do mesmo composto. (15) Os vários polimorfos do mesmo composto químico apresentam propriedades físicas e químicas diferentes, tais como, compressibilidade, estabilidade, solubilidade, densidade, higroscopicidade, velocidade de dissolução em diferentes solventes, ponto de fusão, entre outras. Quer a estrutura cristalina quer as propriedades físico-químicas podem ser modificadas durante o processo de desenvolvimento e formulação. Novas formas cristalinas podem ser preparadas na presença de diferentes solventes, pela co-precipitação, na presença de impurezas, sob diferentes condições de cristalização, dando origem a novos polimorfos, solvatos, sais, co-cristais e fases amorfas. Por este motivo, é necessário procurar e seleccionar a forma sólida mais favorável, sendo esta uma etapa fundamental no processo de desenvolvimento de um novo medicamento. (3)

Assim, quando uma substância apresenta polimorfismo, as moléculas reorganizam-se de duas ou mais formas diferentes no cristal, podendo elas apresentar empacotamento distinto no retículo cristalino ou diferenças na sua orientação ou conformação em diferentes localizações do retículo. Estas variações causam diferenças nos difractogramas de raios-X de cada polimorfo, tornando-se a técnica de difracção de raios-X um dos métodos mais poderosos para detectar a existência de polimorfos. (8)

Muitos materiais farmacêuticos, dependendo das condições de preparação, apresentam polimorfismo. Os estados ou formas cristalinas apresentam diferentes níveis de estabilidade termodinâmica, por exemplo uma forma instável funde a uma temperatura significativamente menor do que a forma termodinamicamente estável. Uma forma polimórfica de um determinado fármaco pode ser mais solúvel no sistema digestivo do que outra forma, bem como o tempo de libertação. Além disso, pode apresentar uma vida útil mais longa do que a outra formulação. Por estas razões, é desejável que haja um meio de avaliação das formas polimórficas apresentadas por uma substância farmacêutica. A calorimetria diferencial de varrimento, DSC, sobretudo de compensação de potência, tem provado ser uma técnica extremamente valiosa para a caracterização de polimorfismo em materiais farmacêuticos. (16)

O facto de os polimorfos apresentarem diferentes retículos cristalinos leva a diferenças de energia influenciando a sua estabilidade ou comportamento biológico. Este facto deve-se aos diferentes arranjos moleculares nos polimorfos serem caracterizados por diferentes energias de interacção no estado sólido. Sob um dado conjunto de condições, a forma polimórfica de menor energia de Gibbs é a mais estável e as outras tendem a transformar-se nela. As transformações entre formas polimórficas podem causar problemas de formulação, pois as transformações de fase podem provocar mudanças no tamanho dos cristais em suspensão e, eventualmente, a sedimentação. Na generalidade o polimorfo mais estável é o menos solúvel e o que

apresenta menor velocidade de dissociação. (8) As formas cristalinas são as preferidas, porque tendem a ser mais estáveis, reprodutíveis e propícias a purificação do que outros tipos de formas sólidas tais como sólidos amorfos. (17)

Uma importante subclasse de polimorfismo é o polimorfismo conformacional, que surge pelo facto de uma dada molécula poder adoptar diferentes conformações que podem ser controladas através de processos de cristalização. (18)

Durante o processo de cristalização pode ocorrer a cristalização simultânea do soluto e do solvente. Os cristais que contêm solvente de cristalização são conhecidos como solvatos cristalinos, ou hidratos cristalinos se for a água o solvente de cristalização. Em alguns solvatos, o solvente é responsável pela coesão da estrutura, por exemplo através de pontes de hidrogénio. Os cristais que não contêm o solvente de cristalização chamam-se anidros. Uma mudança do solvente de cristalização pode resultar em diferentes formas solvatadas, o que revela ser um aspecto importante pois as formas anidras e hidratada de uma substância podem apresentar pontos de fusão e solubilidade suficientemente diferentes para afectar o seu comportamento farmacêutico. (8)

#### 1.2.4. Co-cristais

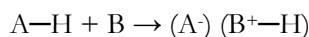
Um co-cristal é definido como um cristal que se construiu a partir de dois ou mais compostos orgânicos que são, na sua forma pura, sólidos em condições ambientes. (19-23). A engenharia de cristais é uma área verdadeiramente interdisciplinar (24) e foi reconhecida pelos cientistas farmacêuticos como um meio de melhorar e adaptar as propriedades físicas dos API. (22) A engenharia dos cristais é definida como a compreensão das interacções intermoleculares no arranjo do cristal, utilizando esse entendimento na concepção de novos sólidos, com novas propriedades químicas e físicas. (20) (23)

O desenvolvimento de formas activas de co-cristais como uma nova substância farmacêutica é alternativo para as tradicionais formas sólidas. (25-27) Co-cristais podem ter propriedades que são distintas das dos sólidos nas formas livres de API e seus sais e, portanto, oferecer aos potenciais fármacos uma preparação adequada das propriedades físico-químicas de modo a obter uma especificação óptima. (28) Os co-cristais são apresentados como tendo melhorado determinadas propriedades, tais como o prazo de validade, a velocidade de dissolução e a biodisponibilidade. (21). O desenvolvimento de novas formas de co-cristais também é esperado para a possibilidade de criação de novas patentes e propriedade intelectual. (2) (19) (29) (22)

A principal diferença entre solvatos e co-cristais é o estado físico das substâncias puras: se uma das substâncias se apresenta líquida à temperatura ambiente, os cristais são designados como solvatos (23); se ambas as substâncias são sólidas à temperatura ambiente, os cristais são designados por co-cristais. Esta diferença pode parecer insignificante, mas pode bastar para afectar profundamente a estabilidade, a formulação e as propriedades físicas do API. (20) Os co-cristais tendem a ser mais estáveis do que solvatos ou hidratos. (17)

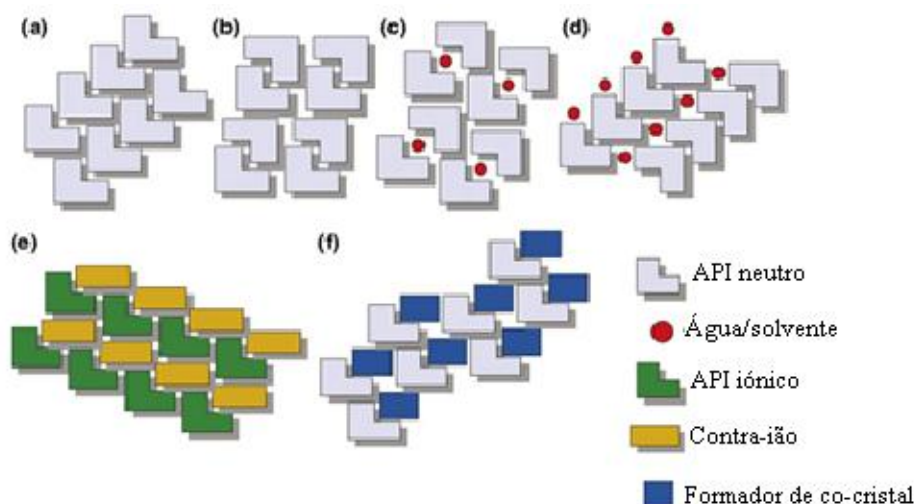


Co-cristais e sais são muitas vezes confundidos. Os sais são frequentemente escolhidos por melhorar a cristalinidade, estabilidade e a solubilidade de um API. Os co-cristais são uma alternativa aos sais, quando estes não têm as propriedades apropriadas no estado sólido ou não podem ser formados (o API não é ionizável). A formação de sais é uma reacção ácido-base entre o API e uma substância ácida ou básica na presença de um ou mais solventes. O sal é formado pela transferência de um protão ( $H^+$ ) do ácido (A) para a base (B).



A transferência do protão depende, principalmente, dos valores de  $pK_a$ 's das substâncias. Para que ocorra a formação de um sal é necessário uma diferença aproximada de 2,7 unidades de  $pK_a$  entre a base conjugada e o ácido conjugado [isto é  $pK_a(B) - pK_a(A) \geq 2,7$ ]. Quando um co-cristal é formado, geralmente, os valores de  $pK_a$  da base não são suficientemente elevados para permitir a transferência de um protão. (30)

Na Figura 3 apresentam-se esquematicamente exemplos de formas cristalinas possíveis para uma API. Sais e co-cristais também podem formar hidratos, solvatos, e polimorfos.



**Figura 3 – Representação esquemática de formas cristalinas possíveis para uma API: (a) API puro, (b) polimorfo de API, (c) clatrato, hidrato /solvato de API, (d) hidrato/solvente de API, (e) sal de API, (f) co-cristal farmacêutico. (17)**

Os co-cristais são entidades supramoleculares que oferecem oportunidades para modificar a composição da matéria e/ou propriedades físicas de uma espécie molecular, sem a necessidade de fazer ou quebrar ligações covalentes. (17) A química supramolecular é a química das interações intermoleculares de natureza não covalente. (31-34)

A engenharia de cristais tornou-se um protótipo para a síntese de novos compostos supramoleculares com base em sintões. (23) O sintões mais comuns na formação de co-cristais são do tipo ácido carboxílico combinado com N-heterocíclico. (24) Na figura 5 apresentam-se exemplos de sintões supramoleculares envolvendo ligações intermoleculares por pontes de hidrogénio: interações ácido-ácido (Figura 4.a e .b); amida-amida (Figura 4.c); ácido-piridina (Figura 4.d) e ácido-amida (Figura 4.e). As interações ácido-amida são energeticamente as mais favoráveis. (20-21)

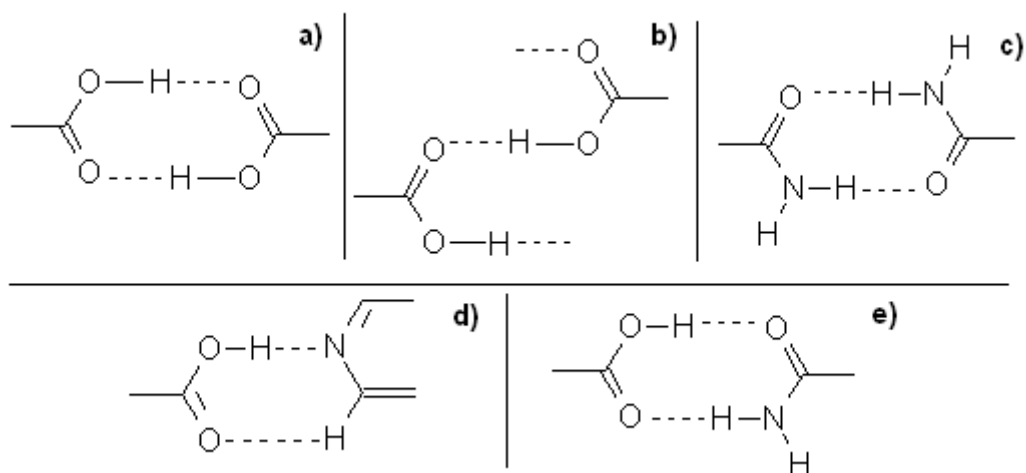


Figura 4 - Exemplos de sintões supramoleculares envolvendo ligações de hidrogénio.

### 1.2.5. Diflunisal e a sua aplicação farmacêutica

O diflunisal (DFL), ácido 5(2-4-difluorfenil)-2-hidroxi-benzóico (Figura 5), é um derivado da aspirina, ácido acetilsalicílico, e é um fármaco da classe dos anti-inflamatórios não esteróides (NSAID).<sup>(35)</sup> <sup>(37)</sup>

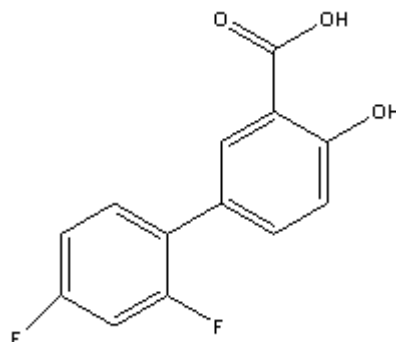


Figura 5 – Estrutura do diflunisal.

O diflunisal é utilizado terapêuticamente de forma similar à aspirina; <sup>(35)</sup> é usado no tratamento de inflamações e dor <sup>(38)</sup>, mais concretamente, para o alívio moderado associado à patologia musculoesquelética, tal como a osteoartrite e artrite reumatóide, entorse, contusão, bem como em pequenas cirurgias e no tratamento do cancro. <sup>(39)</sup>-<sup>(40)</sup> É ainda usado em antibióticos oftálmicos, corticosteróides e difenidramina (anti-histamínico). <sup>(37)</sup> Mesmo com alterações no grupo do ácido carboxílico da molécula, esta mostrou ter uma boa actividade anti-viral e anti-microbiana. <sup>(38)</sup>

O diflunisal é menos solúvel em água do que a aspirina e conseqüentemente, a absorção oral é lenta levando, após a ingestão, duas a três horas até se sentir os efeitos no organismo. Por esta razão a sua biodisponibilidade é mais baixa. <sup>(40)</sup>-<sup>(41)</sup>

Está agora estabelecido que o diflunisal é capaz de ser obtido em uma série de formas polimórficas e solvatomórficas, apesar de existir ambiguidade quanto à nomenclatura destas. (42) Várias formas cristalinas têm sido descritas, (35) havendo pelo menos quatro formas polimórficas. (35) (43-46)

### 1.2.6. Aplicação farmacêutica de co-formadores

A nicotinamida (NA – Figura 6) ou 3-piridina-carboxiamida pertence ao complexo da vitamina B, (47) sendo vulgarmente conhecida por vitamina B3.

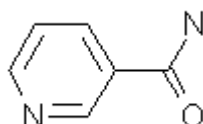


Figura 6 – Estrutura da nicotinamida.

A vitamina B3 pode ser encontrada em duas formas diferentes, niacina ou niacinamida. A niacina é conhecida quimicamente por ácido nicotínico. (48) O ácido nicotínico é encontrado na maioria dos alimentos (cereais integrais, verduras, frutas) e (49) é lhe conhecida actividade anti-pelegra. (50) O ácido nicotínico (niacina) e a nicotinamida (niacinamida) têm o mesmo efeito vitamínico, contudo, possuem acções farmacológicas e usos terapêuticos diferentes. O ácido nicotínico é uma piridina do ácido  $\beta$ -carboxílico ( $R=OH$ ) e a nicotinamida é a sua amida correspondente ( $R=NH_2$ ). A nicotinamida é considerada, ao nível farmacêutico, (51) como uma "Substância Geralmente Reconhecida como Segura" - GRAS (Ref. "C.R.F." Code of Federal Regulations do "FDA" Food and Drug Administration). (34)

A vitamina B3 tem relevância no nosso organismo pois para além de fazer parte da co-enzima NAD e NADH, participa em inúmeras reacções bioquímicas, como a produção de ATP na cadeia respiratória. A vitamina B3, apresenta também funções terapêuticas e é usada na preparação de cosméticas (51) e na prevenção/ tratamento de diabetes. (52)

A nicotinamida tem mostrado bons resultados no tratamento de inflamações cutâneas, como acne (51), pois demonstra ter a capacidade de bloquear as acções inflamatórias de iodetos conhecidos por exacerbar ou desencadear a acne (53); como um promissor agente hidratante e anti-envelhecimento, já que em estudos efectuados verificou-se o aumento de síntese de ceramida aquando da aplicação tópica da nicotinamida; tem sido investigada como acelerador do processo de cicatrização. (51). A nicotinamida impede a imunossupressão causada pela radiação UVA e UVB (50), podendo ser adicionada a protectores solares. Também tem sido relatado o uso da nicotinamida, ao nível tópico, como sendo um eficaz clareador da pele. Testes efectuados em animais demonstram que a nicotinamida tem ainda propriedades ansiolíticas. (53) Apresenta ainda actividade anti-oxidante, anti-cancerígena e putativa actividade contra osteoartrite e granuloma anular. (50) (52)

A nicotinamida apresenta quatro polimorfos. Os pontos de fusão descritos para as formas I, II, III e IV são 126-128, 112-117, 107-111 e 101-103 °C, respectivamente. (47)

A picolinamida (PA; 2-piridinacarboxamida – Figura 7) é um isómero da nicotinamida e difere desta apenas na posição do grupo carboxamida, na nicotinamida encontra-se na posição  $\beta$  e na picolinamida na posição  $\alpha$ . A picolinamida tem uma importante actividade biológica, assim como a nicotinamida também a picolinamida é um forte inibidor da sintetase poli(ADP-ribose) (52) (54) que se traduz na protecção da síntese da proinsulina, com efeitos na prevenção de agentes com actividades diabetogénicas. (55)

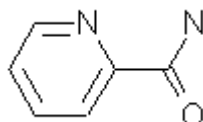


Figura 7 – Estrutura da picolinamida.

A isonicotinamida (INA; 4-piridinacarboxamida – Figura 8) é um derivado da piridina, com o grupo carboxamida na posição  $\gamma$ . Demonstrou possuir fortes propriedades anti-tuberculosas, anti-piréticas e anti-bacterianas. (56) Devido aos seus fortes efeitos farmacológicos, misturas de sais de isonicotinamida são extensivamente usados para fármacos em processos biológicos e medicinais. (54)

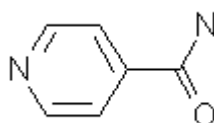


Figura 8 – Estrutura da isonicotinamida.

A picolinamida e a isonicotinamida apresentam dois polimorfos, contudo os valores quantitativos dos pontos de fusão não são descritos na literatura. (57-58)

Os três isómeros apresentam o anel piridil com estrutura rígida, já o grupo carboxamida, em princípio, pode adoptar diferentes estruturas rotatórias. Um aspecto importante da ligação amida é o seu carácter parcial de dupla ligação, que resulta da doação de um par de electrões do nitrogénio da amida. Este facto leva a um maior constrangimento na rotação da ligação C–N da amida, formando-se uma estrutura planar em torno deste grupo. (54)

### 1.2.7. Estudos computacionais

Nos dias de hoje a química usa de forma intensa e com uma especificidade muito própria, as principais funcionalidades dos computadores. Actualmente é necessário sintetizar cerca de 35 000 compostos novos para se encontrar um novo medicamento. Como o progresso na tecnologia de hardware é acompanhado de desenvolvimentos no software de modo a tratar sistemas de grande complexidade, a Química Computacional é, cada vez mais utilizada no desenvolvimento de medicamentos e drogas de modo a fornecer guias eficientes

sob o ponto de vista de tempo e de custos. (59) Variadíssimas e importantes propriedades químicas e físicas dum sistema químico podem ser previstas por técnicas computacionais (60) e as estruturas moleculares geradas, manipuladas e/ou representadas de forma realista. Presentemente, os sistemas de modelação molecular estão dotados de poderosas ferramentas para construção, visualização, análise e armazenamento de modelos de sistemas moleculares complexos que auxiliam na interpretação das relações entre a estrutura e a actividade biológica, desempenhando um importante papel no design de fármacos. (61)

A determinação experimental da estrutura molecular de um composto é um processo complexo, pois não são muitos os métodos capazes de caracterizar completamente uma dada estrutura, permitindo uma descrição exacta em relação a distâncias, ângulos de ligação e ângulos de torção que definem a sua conformação. A cristalografia de raios-X é uma técnica experimental eficiente para a obtenção deste tipo de dados, todavia, é limitada porque se destina a substâncias em fase cristalina. (62)

Através da Química Computacional podem-se gerar e apresentar dados moleculares, tais como: geometrias de equilíbrio de um sistema molecular (ângulos de torção), no estado fundamental ou em estados excitados, correspondendo a um mínimo na superfície da energia potencial ou a estados de transição; energias (energias de activação); propriedades electrónicas (cargas, potencial de ionização, afinidade electrónica) e espectroscópicas (modos vibracionais, desvios químicos de RMN) entre outras propriedades (volumes, superfícies, difusão, viscosidade, etc.). No entanto a intuição/formação de um químico é necessária para interpretar os resultados adequadamente e quando possível a comparação de dados experimentais também é importante para orientar quer o trabalho laboratorial quer computacional. (63)

Segundo Bernstein o polimorfismo conformacional não é mais que conforméros da mesma molécula em diferentes formas polimórficas. Geralmente o polimorfismo conformacional surge a partir da flexibilidade conformacional intrínseca das moléculas e são o resultado das interacções intra e intermoleculares. (13) As características como forma e tamanho dos compostos, aliadas com outros factores como as características das ligações e condições experimentais influenciam na preparação de co-cristais, sendo de elevada importância para o seu estudo o polimorfismo conformacional e a flexibilidade conformacional. (24) Dependendo do tamanho das moléculas, a flexibilidade conformacional e a sua versatilidade química vão ser alteradas e conseqüentemente a sensibilidade às condições externas também. (64) Assim, quanto maior a flexibilidade conformacional de uma dada molécula, maior o número de conformações diferentes que se podem esperar. Todavia, há que referir que é possível existir polimorfos distintos da mesma molécula mas com a mesma conformação (exemplo: molécula de aripiprazole). (65)

A superfície de energia potencial (PES) é uma parcela da relação matemática entre a estrutura molecular e sua energia. Todos os mínimos de uma molécula, sobre uma superfície de energia potencial representam pontos estacionários. Os pontos estacionários com energias mais baixas correspondem a estruturas moleculares estáveis, isómeros, ou conforméros (mínimos global e locais) e estados de transição (pontos de sela). O mínimo global representa a conformação mais estável, os mínimos locais, as conformações menos estáveis, e os pontos de sela representa conformações de transição entre os mínimos. (66) As geometrias das estruturas estáveis e a forma dos mínimos que lhes estão associados, determinam os espectros rotacional e vibracional das moléculas, sendo de elevada aplicabilidade no estudo da estrutura molecular, neste trabalho de

co-cristais, aquando da comparação entre os espectros de infravermelho calculados e os obtidos experimentalmente. (67)(68)

A análise conformacional visa o estudo do espaço conformacional das moléculas e a influência das diferentes conformações nas propriedades das moléculas. O objectivo principal da análise conformacional é identificar as conformações mais prováveis de uma molécula, ou seja, as conformações que determinam o seu comportamento. Isso requer a localização das conformações que estão nos pontos mínimos de energia da superfície. Assim, os métodos de minimização de energia têm um papel importante na análise conformacional. (69)

A análise conformacional pode ser realizada utilizando métodos sistemáticos e aleatórios. No método sistemático, a superfície de energia potencial é analisada através da variação de ângulos diedros utilizando incrementos regulares. São avaliados todos os ângulos diedros possíveis da molécula. Por esse motivo, o número de estruturas moleculares geradas são elevadas. Na análise conformacional aleatória, a superfície de energia potencial é analisada tendo por base os movimentos aleatórios dos átomos. As estruturas moleculares obtidas podem ser ou não aceites de acordo com o que foi definido pelo analista nas diferentes etapas do cálculo. Dependendo da molécula ou sistema molecular a ser analisado é aplicado um destes métodos. A análise conformacional aleatória é indicada para moléculas contendo anéis saturados, susceptíveis a torções intramoleculares. Para moléculas que apresentam rotações internas, a análise conformacional sistemática é mais apropriada. (70)

A química computacional pode ser dividida em duas áreas fundamentais: a Mecânica Molecular e a Mecânica Quântica. A Mecânica molecular distingue-se dos outros métodos usados no cálculo de estruturas e propriedades moleculares pelo uso exclusivo das leis da Mecânica Clássica. A energia potencial de todos os sistemas em Mecânica Molecular é calculada utilizando campos de forças derivados da Física Clássica. O campo de força é um conjunto de funções e parametrizações usadas em cálculos de mecânica molecular, para descrever a energia potencial de um sistema molecular. Estes cálculos podem ser aplicados tanto a pequenas moléculas como a sistemas de grande dimensão e complexidade, com baixo custo computacional e têm a característica de tratar cada átomo como um todo, não separando átomos em núcleos e nuvens electrónicas. As ligações entre os átomos são tratadas como “molas”, sendo a sua energia potencial definida por equações da Mecânica Clássica. São feitas suposição sobre os comprimentos e ângulos de ligação “naturais”, uma vez que os valores reais desses parâmetros estruturais apresentam desvios em relação aos valores ditos “naturais”. Esses desvios resultam em tensão de ligação e tensão angular, respectivamente. As forças de Van der Waals e eletrostáticas entre átomos não ligados também são levadas em conta, havendo Alguns campos de força que podem conter termos relativos às ligação hidrogénio e outros efeitos estruturais. Os cálculos da Mecânica Molecular são principalmente aplicados na minimização de energia potencial de um dado sistema. (69-71)

Prever propriedades moleculares quantitativamente ou tendências qualitativas dessas propriedades e explicar a natureza da ligação química, estão entre os principais objectivos da Química Quântica. (72) O físico austríaco Erwin Schrödinger, em 1925, marcou o início da mecânica quântica moderna ao propor a equação que hoje tem o seu nome:

$$H\Psi = E\Psi \quad \text{Equação 1}$$

Esta simples equação, onde H é o operador hamiltoniano,  $\Psi$  é a função de onda e E a energia, determina a função de onda quântica de um sistema (seja ele um átomo, uma molécula ou um sólido), e contém toda a informação necessária para determinar o estado do sistema. (73) Contudo os Métodos Quânticos, também designados por cálculos de Orbitais Moleculares, têm soluções exactas apenas para um conjunto muito restrito de sistemas moleculares, o que implica que para sistemas polieletrónicos se obtenham apenas soluções aproximadas. As funções de onda são capazes de prever a posição de um electrão em determinado momento, mas como o electrão se comporta tanto com uma partícula como uma onda, não é possível antedizer a sua localização. (70-71) (74)

A natureza e a extensão das aproximações envolvidas diferenciam e divide os cálculos de Orbitais Moleculares em três grupos distintos: cálculos *ab initio*, cálculos semiempíricos e DFT.

Os cálculos *ab initio* são cálculos que se baseiam apenas em princípios mecânicoquânticos e nas aproximações de Born\_oppenheimer e Combinação Linear de Orbitais Atómicas, não usando nenhuma espécie de parâmetros experimentais. (71)

Ao contrário do que acontece com os cálculos *ab initio*, os cálculos semiempíricos usam parâmetros derivados de dados experimentais para simplificar os cálculos computacionais. A simplificação pode ocorrer a vários níveis: simplificação do Hamiltoniano (por exemplo, como no método de Hückel), avaliação aproximada de certas integrais moleculares e simplificação da função de onda. Muitas das integrais são estimadas mediante dados de espectroscopia ou de propriedades físicas, como as energias de ionização. (70-71) (74)

Nos anos 60, Walter Kohn apresentou uma reformulação da mecânica quântica baseada, não em funções de onda correspondentes às orbitais moleculares, mas em funcionais densidades electrónica como modo de determinar a energia de um sistema molecular, ficando conhecida por teoria funcional de densidade – DFT. Esta densidade é representada por  $\rho(\vec{r})$  e mede a probabilidade de encontrarmos um electrão no ponto de coordenada  $(\vec{r})$ . (73) O termo “funcional” que aparece no nome vem do facto de a energia de uma molécula ser uma função de densidade electrónica, representada por  $E[\rho]$ ; a energia do estado fundamental de um sistema multieletrónico pode ser escrita como:

$$E[\rho] = E_K + E_{P;e,N} + E_{P;e,e} + E_{XC}[\rho] \quad \text{Equação 2}$$

Onde  $E_K$  é a energia cinética total,  $E_{P;e,N}$  é a energia potencial electrão-núcleo,  $E_{P;e,e}$  é a energia potencial electrão-electrão e  $E_{XC}[\rho]$  a energia de troca de correlação, que tem em conta os efeitos devidos ao spin. As osbitrais. (74)

Havia, contudo, o problema de como determinar na prática  $\rho(\vec{r})$  para um sistema real. (73) A solução chegou pela equação de Kohn-Sham (Equação 3), sendo as orbitais usadas para construir a densidade dadas por esta equação: (74)

$$\rho(\vec{r}) = \sum_{i=1}^n |\Psi(\vec{r})|^2 \quad \text{Equação 3}$$

As equações de Kohn-Sham são encontradas aplicando-se a o princípio variacional à energia electrónica. Estas equações são muito semelhantes as equações de Hartree –Fock, excepto por um termo  $V_{XC}$ , o potencial de troca de correlação. Na representação de Kohn-Sham, o potencial  $V_{XC}$  (Equação 4) é definido como a derivada funcional da energia total de troca de correlação:

$$V_{XC}(r) = \frac{\delta E_{XC}[\rho(r)]}{\delta \rho(r)} \quad \text{Equação 4}$$

O estudo teórico de algumas propriedades de interesse em sistemas químicos leva-nos, invariavelmente, ao problema de correlação electrónica. Sobre este aspecto a DFT leva vantagem sobre outras metodologias de cálculo, (60) uma vez que a correlação electrónica é tratada intrinsecamente no formalismo DFT. (75)

Com os recentes progressos no desenvolvimento de funcionais e da versátil disponibilidade de software, a DFT tornou-se uma abordagem comum para o estudo de estruturas moleculares, frequências vibracionais e energias (76), compostos típicos em catálise, superfície e estado sólido; em electroquímica e microelectrónica, (72) bem como, na criação de novos fármacos, (73) Com o uso da DFT os cálculos computacionais são menos exigentes (em termos do tempo de CPU e uso do disco) do que as técnicas convencionais de *ab initio* post Hartree-Fock. (76) Por exemplo, para um sistema arbitrário qualquer modelado com  $n$  funções de base, a exigência computacional no estudo deste sistema utilizando a DFT aumenta na ordem de  $n^3$ , enquanto para os métodos Hartree-Fock aumenta em  $n^4$  e  $n^5$ . Comparando com métodos semiempíricos, o hamiltoniano da DFT é bem definido e as suas características não são encobertas ou injustificáveis aproximações no procedimento experimental. Aparentemente, nas derivadas da DFT nenhum parâmetro precisa ser ajustado ou determinado empiricamente, podendo ser assim a DFT considerada como uma teoria de natureza *ab initio*. (72) Assim este método fornece uma promissora abordagem custo-benefício principalmente para cálculos que envolvem moléculas grandes, combinando precisão computacional com rapidez e facilidade de uso. (76) Estudos recentes mostram que os cálculos utilizando métodos DFT estão próximos dos dados obtidos em laboratório e são de qualidade muito superior em alguns casos (particularmente em complexos d-metálicos) aos obtidos ao nível Hartree-Fock (HF). (72) (74) (76)

Infelizmente, a DFT não pode ser aplicada a todos os sistemas electrónicos, em particular, a sistemas magnéticos, supercondutores, condensados de Bose-Einstein, pois encontram-se fora do domínio desta teoria. (73)

A interacção do tipo ligação de hidrogénio é uma das mais importantes interacções intermoleculares, responsável pela associação de moléculas orgânicas (29) e fundamental em inúmeros processos químicos e biológicos. (75). Por outro lado a ligação de hidrogénio é uma interacção mais fraca do que ligações químicas



típicas, e por esse motivo requer cálculos com maior precisão. Sabe-se que a correlação electrónica é fundamental na descrição de estruturas e propriedades envolvendo ligações de hidrogénio, dessa forma a DFT é a mais indicada para sistemas com ligações de hidrogénio. (75)

Um conjunto de bases é um conjunto de funções matemáticas usadas para a representação de orbitais moleculares. (71) A maioria dos métodos quanto-mecânicos que usa a expansão das orbitais em um conjunto de base, tem como passo inicial a escolha das funções de base a serem utilizadas no cálculo, que são utilizadas para expressar as orbitais moleculares. Estes métodos, ao contrário dos semiempíricos, possibilitam a selecção de diferentes conjuntos de bases. (69) O uso de um conjunto de funções de base adequado é essencial para o êxito do cálculo. (75) Pode-se distinguir o conjunto mínimo de bases (inclui uma função de base para cada orbital atómica ocupado de SCF - do inglês Self-Consistent Field, Campo Autocoerente - com números quânticos principal e de momento angular distintos). (71) Ao tratamos moléculas diatómicas, as funções de base são usualmente tomadas como orbitais atómicas. Cada orbital atómica pode ser representada como uma combinação linear de uma ou mais orbitais de Slater. Em 1950 Boys, de forma a aumentar a velocidade de resolução dos integrais, propôs o uso de funções Gaussianas. Ao invés de utilizar uma função Gaussiana individual, como função de base, pode utilizar-se cada função de base como sendo uma combinação linear de algumas gaussianas, podendo ser representado de acordo com: (77)

$$\chi = \sum_u d_{ur} g_u \quad \text{Equação 5}$$

Sendo  $g_u$ 's gaussianas cartesianas normalizadas, centradas sobre um mesmo átomo e  $d_{ur}$  os coeficientes de contracção, que são mantidos fixos durante o cálculo. As primeiras funções são chamadas Gaussianas primitivas e a segunda denominada de função Gaussiana contraída (CGTF – *Contracted Gaussian-type Function*). Ao utilizar as funções contraídas, o número de coeficientes variacionais a serem determinados reduz-se, diminuindo o custo computacional. (69) (77)

O conjunto de bases cujas orbitais atómicas de valência são divididas em duas (a do interior mais compacta e a exterior mais difusa) é chamado de funções de *split-valence*; o conjunto de bases de *duplo*  $\zeta$  (DZ sendo a letra  $\zeta$  usada para designar o expoente da cada gaussiana individual) é obtido da mesma maneira para as orbitais do cerne. Assim o conjunto de funções de bases *split-valence* é mínimo para a camada interna e o *duplo*  $\zeta$  (ou *triple*  $\zeta$ ) para a camada de valência. O uso de funções *duplo*  $\zeta$  permite variar o tamanho da orbital e a sua forma. O conjunto de bases polarizadas incorpora funções de base de número quântico angular mais alto, além daquele requerido pelo átomo no estado fundamental; permite aos orbitais mudar não apenas o tamanho, mas também a forma imprimindo maior flexibilidade; o conjunto de bases com funções difusas é mais usado para cálculos em aniões ou moléculas que requeiram uma descrição muito melhorada dos pares de electrões não ligantes. Assim, as funções de polarização auxiliam na descrição das distorções da nuvem electrónica em ambiente molecular, importantes na descrição das ligações químicas, e correspondem a funções adicionais com momento angular diferente daquele apresentado pela base original. (71) (77)

Para o grupo de funções de bases *split-valence* foi desenvolvido a seguinte nomenclatura:  $N_1$ - $N_2$  $N_3$ G. O termo a esquerda do hífen refere-se a contracção das orbitais atómicas de camada interna e  $N_1$  representa o número de funções primitivas utilizadas. Os termos  $N_2$  e  $N_3$  referem-se aos índices de contracção das orbitais

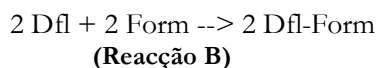
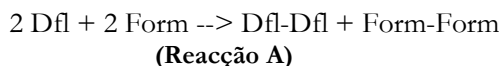
da camada externa. A inclusão de funções de polarização constitui um modo importante de flexibilizar a forma das orbitais nas bases das funções e é inserido utilizando-se o símbolo \* após a sigla da base, ou então, utilizando-se o símbolo das orbitais entre parêntesis (d,p), sendo a adição de orbitais d aos átomos pesados e a adição das orbitais p aos átomos de hidrogénio. As funções difusas, que são fundamentais no tratamento de formas iónicas, são incluídas adicionando-se o símbolo + na função de base e dois símbolos + dão a indicação que são incluídas funções difusas para todos os átomos do sistema, inclusive os átomos de hidrogénio. Um conjunto de base 6-311+G\*\* indicam a inclusão de funções difusas em todos os átomos diferentes do hidrogénio e a inclusão de funções de polarização em todos os átomos do sistema. (69) (77)

De todos os métodos híbridos de DFT, o funcional com três parâmetros abreviado a B3LYP (que inclui a correcção de troca de gradiente Becke e correlação funcional de Lee, Yang e Parr) é o mais usado, sendo normalmente combinado com a base triplo- $\zeta$  6-311++G(d,p). (78) Devido à sua maior flexibilidade em descrever a camada de valência, o triplo- $\zeta$  6-311++G(d,p) aparece como uma opção mais confiável, principalmente para uma correcta descrição dos modos de vibração. (54) Dentre os vários funcionais analisados, o funcional híbrido B3LYP é o mais usado no estudo de co-cristais e geralmente produz bons resultados. (71) (79-80) Por esta razão optou-se pela aplicação do método híbrido B3LYP neste trabalho.

O funcional de densidade Minnesota06 conduz a resultados de precisão semelhante aos obtidos com B3LYP. (81) O M06 é um funcional que inclui grande número de parâmetros, que pode ser aplicados aos metais de transição e não metais. Assim o funcional M06 é especialmente adequado no tratamento de sistemas organometálicos/inorganometálicos e que contenham interacções não covalentes, sendo estas últimas especialmente importantes nos sistemas moleculares estudados neste trabalho. Neste trabalho este dois funcionais com o respectivo conjunto de bases foram utilizados para fornecerem resultados similares.

As bases de funções com consistência na correlação electrónica com funções de polarização e duplo, triplo ou quádruplo zeta (correlation consistent polarized basis set of X quality - cc-pVXZ, com X= D, T, Q), desenvolvidas por Dunning e colaboradores, são usadas neste trabalho, nomeadamente a base cc-pVDZ. Estes conjuntos de bases têm sido utilizados extensivamente como uma hierarquia de conjuntos de bases para reduzir os erros de cálculo e aproximar do limite do conjunto de bases a energia de correlação. (82)

Neste trabalho, de modo a conseguir avaliar por métodos computacionais a probabilidade de formação de um co-cristal difluorídrico-formador, foi seguida uma metodologia baseada na comparação energética de reacções de formação de heterodímeros com a respectiva formação de homodímeros. Deste modo, é possível comparar as energias livres dessas duas reacções possíveis, verificando se há maior ou menor estabilidade de cada um dos dímeros, de um ponto de vista puramente termodinâmico. Não obstante, não devem ser esquecidas as limitações desta metodologia, nomeadamente a redução do entorno cristalino ao dímero como unidade fundamental, e a consideração simples de propriedades termodinâmicas relativas exclusivamente aos reagentes e produtos, sem considerar factores cinéticos que implicariam um estudo da superfície de energia potencial que incluísse barreiras e estados de transição. De forma a minimizar erros derivados de grandes diferenças na correlação electrónica em ligações covalentes diferentes, é imperativo o uso de reacções isodésmicas (em que haja conservação do número e tipo de ligações covalentes entre reagentes e produtos). (80) Neste trabalho as reacções isodésmicas usadas para a formação do homodímero (Reacção A) e para a formação do heterodímero (Reacção B) foram as seguintes:



Onde Dfl indica a molécula de diflunisal e Form a molécula de formador.

Assim, a modelação molecular é fundamental não só para o sucesso da descoberta de co-cristais mas também para a previsão do comportamento do co-cristal e da sua estabilidade relativa, nas interacções entre o co-cristal (heterodímeros) sobre os compostos de origem (homodímeros). (28) (34)

### 1.2.8. Análise térmica e a sua aplicação farmacêutica

A partir da segunda metade do século passado houve uma evolução extraordinária em relação às técnicas termoanalíticas em virtude não só dos progressos globais da ciência e da tecnologia com a introdução de automação, hardware/software confiável, bem como, o aumento da produção de instrumentação de maior sensibilidade, (83) que permitiram o aperfeiçoamento contínuo da instrumentação básica como pela redescoberta das potencialidades de aplicação desses métodos nos mais variados sectores científicos, tecnológicos e de produção de bens de consumo. (84)

A análise térmica, definida por Mackenzie e aceite pela Confederação Internacional de Análise Térmica e Calorimetria (ICTAC) é: “Um grupo de técnicas nas quais uma propriedade física de uma substância, e/ou seus produtos de reacção, é medida como função da temperatura, enquanto a substância é submetida a um programa controlado de temperatura”. (84-87) Segundo esta definição para que uma técnica possa ser considerada como termoanalítica, é necessário satisfazer os seguintes critérios: a medição efectuada tem de envolver uma propriedade física (entalpia, massa, temperatura, dimensão, características dinâmicas, entre outras), (16) cuja medida deve ser expressa (directa ou indirectamente) em função da temperatura (ou do tempo) e realizar esta medição sob um programa controlado de temperatura (84-85). Assim, a análise térmica tem grande aplicabilidade não só pela sua capacidade em caracterizar quantitativamente e qualitativamente uma enorme variedade de materiais, (86) entre os quais novos compostos químicos, plásticos, cerâmicas, ligas metálicas, materiais de construção, minerais, alimentos e fármacos (9) (85) como também pelo facto de o poderem fazer num intervalo alargado de temperatura. (86) A análise térmica não pode ser considerada apenas como um método qualitativo, pois proporciona resultados quantitativos termodinâmicos e cinéticos quanto às propriedades dos materiais com a vantagem do tempo reduzido de ensaio e a utilização de pequenas quantidades de amostras. (85) Na Tabela 1 apresentam-se as principais técnicas de análise térmica e os parâmetros físicos medidos.

**Tabela 1 - Principais técnicas de análise térmica e parâmetros físicos medidos por cada uma.** (85)

Propriedade Física	Técnica principal	Abreviatura
Massa	Termogravimetria	TG
Varição de massa $dm/dt$ )	Termogravimetria Diferencial	DTG
Temperatura ( $T_i-T_f$ )	Análise Térmica Diferencial	DTA
Entalpia ( $dH/dt$ )	Calorimetria Diferencial de Varrimento	DSC
Dimensões	Dilatometria	TD

Os métodos de análise térmica são aplicados na área das ciências farmacêuticas desde o ano 1970 e já estão bem estabelecidos. (83) O aquecimento/arrefecimento que é realizado sob condições rigorosamente controladas, pode revelar alterações na estrutura e outras propriedades importantes do material em estudo. As estruturas dos diversos materiais bem como o estudo da influência das suas composições sobre o processo de decomposição térmica são de grande interesse, (9) principalmente na indústria farmacêutica, (35) uma vez que o desenvolvimento e produção de medicamentos requer especial atenção à pureza, qualidade, estabilidade e segurança a fim de garantir que o fármaco actue como pretendido (88) e não possa ter um impacto negativo nos consumidores. (89) Por causa dos inúmeros aspectos envolvidos, torna-se importante uma compreensão completa das propriedades dos materiais farmacêuticos. (88) Os métodos de análise térmica são utilizados em aplicações farmacêuticas, (89) para avaliar a pureza e estabilidade dos materiais, a existência de polimorfismo, compatibilidade fármaco-excipientes, etc. (88-89) “De um modo geral, um equipamento de análise térmica inclui um sensor da propriedade física, um forno de atmosfera controlada e um programador, a maioria das vezes constituído por um computador.” (86)

### 1.2.8.1. Calorimetria diferencial de varrimento

Os métodos térmicos, como a calorimetria diferencial de varrimento, são normalmente usados na indústria farmacêutica, como referido anteriormente, para a determinação e caracterização das propriedades físico-químicas dos materiais farmacêuticos. (90-91) O recurso ao DSC no domínio farmacêutico é considerável, já que se aplica no estudo de polimorfos, compostos de inclusão, dispersões sólidas, estudo de compatibilidade fármaco-fármaco e fármaco-excipientes a nível da pré-formulação, determinação da pureza química, estudo das reacções no estado sólido (estabilidade térmica e parâmetros cinéticos), análise de formas farmacêuticas sólidas, controlo de qualidade, alguns deles já referidos. (92) Aparentemente Watson e colaboradores foram os primeiros a usar o termo “Differential Scanning Calorimetry” para descrever a técnica instrumental desenvolvida em 1963 pela Perkin Elmer Corporation. (84) (93)

Nos DSC de compensação de potência (Figura 9.) a amostra e a referência são aquecidas individualmente por resistências de aquecimento e têm sensores que medem a temperatura de cada uma, em compartimentos separados, de modo a manter ambas em condições rigorosamente isotérmicas. (86) (93)

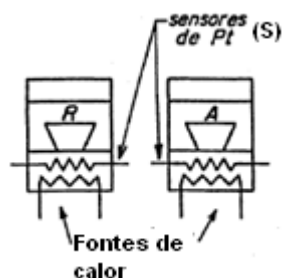


Figura 9 – Representação esquemática de um DSC de compensação de potência. A – Célula para amostra; R – Célula para referência; S – Sensores de platina;

“Quando é detectada uma diferença de temperatura entre a amostra e a referência devido a uma alteração da amostra, é adicionada energia térmica ( $\partial H/\partial t$ ) a uma das células de modo a manter um diferencial de temperaturas nulo entre ambas ( $T_{amostra} = T_{ref}$ ). Uma vez que essa quantidade de energia é exactamente equivalente à quantidade de energia absorvida ou libertada na transformação ocorrida na amostra, o seu registo fornece uma medida calorimétrica directa da variação de energia associada à transformação”. (86) Nos instrumentos de compensação de potência as transformações endotérmicas dão origem a picos no sentido ascendente (aumento de entalpia), enquanto um pico correspondente a uma transformação exotérmica é registado na direcção oposta (Figura 10).

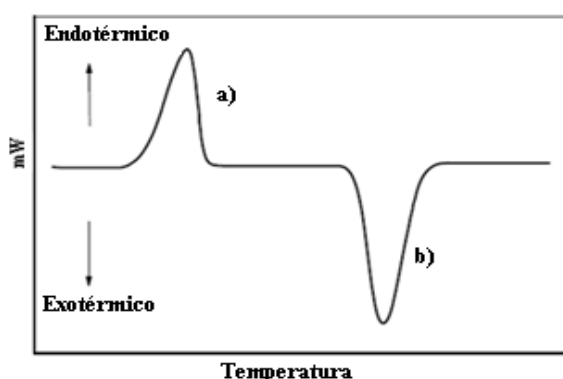


Figura 10 – Curva característica obtida num DSC de compensação de potência ilustrando picos correspondentes a transformações endotérmicas (a) e exotérmicas (b).

A área do pico (A) de uma curva de DSC é directamente proporcional à variação de entalpia ( $\Delta H$ ) (84) do processo físico ou químico e depende da massa (m) e da condutividade térmica da amostra. Estas variáveis estão reunidas na equação 6:

$$A = \Delta H \frac{m}{K} \quad \text{Equação 6}$$

A constante de calibração, K, está relacionada com a geometria e condutividade térmica do sistema amostra/referência e usualmente é determinada pela calibração do sistema utilizando uma substância cuja entalpia de transição de fase seja conhecida. (84) Normalmente, utiliza-se a entalpia de fusão do índio para efectuar a calibração da entalpia. A calibração de temperatura é efectuada com substâncias padrão, cujas

temperaturas da transição de fase estão bem estabelecidas. Exemplos de substâncias usadas com esta finalidade são: índio ( $T_{fusão} = 156.6 \text{ °C}$ ), ácido benzóico ( $T_{fusão} = 122.4 \text{ °C}$ ), bifenilo ( $T_{fusão} = 68.93 \text{ °C}$ ) e o ácido anísico ( $T_{fusão} = 183.1 \text{ °C}$ ). (86)

## Capítulo 2

### 2.1. Resultados e Discussão

#### 2.2.1. Cálculos computacionais

##### Procedimento computacional

Para a realização deste trabalho utilizou-se os seguintes softwares: GAUSSIAN 03W, GAMESS versão 12 JAN 2009 (R3) e programa de visualização Avogadro.

Inicialmente, as estruturas dos compostos, diflunisal e nicotinamida, foram construídas usando o programa Avogadro e, em seguida, submetidos à análise conformacional, usando o método B3LYP no programa GAUSSIAN 03W. O objectivo da análise conformacional foi pesquisar as várias conformações possíveis dos compostos e, entre elas, seleccionar a conformação energeticamente mais estável. O conformero energeticamente mais estável de cada composto foi otimizado usando a Teoria do Funcional de Densidade com o funcional de troca e correlação híbrido B3LYP e o conjunto de funções de base triplo- $\zeta$  6-311++(d,p) implementados no programa GAUSSIAN 03W.

Os homo e heterodímeros foram posteriormente calculados no programa GAMESS usando a DFT com o funcional B3LYP e M06 e as bases triplo- $\zeta$  6-311++G(d,p) e cc-pVDZ.

#### a) ESTUDO CONFORMACIONAL

##### *Diflunisal*

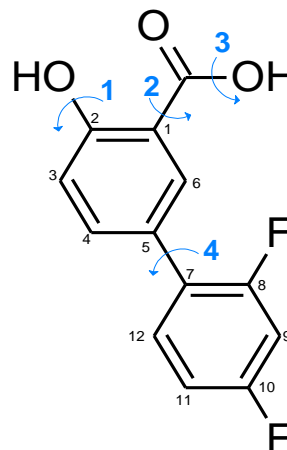
Para o diflunisal foram identificados oito conformeros, designados de acordo com quatro diédros torcionais relevantes ( $\phi_1$ ,  $\phi_2$ ,  $\phi_3$ ,  $\phi_4$ ) correspondendo as letras a e s ao isomerismo anti e syn, respectivamente.

$$\phi_1 = \text{H}-\text{O}-\text{C}_2-\text{C}_1$$

$$\phi_2 = \text{O}=\text{C}-\text{C}_1-\text{C}_2$$

$$\phi_3 = \text{H}-\text{O}-\text{C}=\text{O}$$

$$\phi_4 = \text{C}_6-\text{C}_5-\text{C}_7-\text{C}_8$$



Os cálculos executados permitiram obter geometrias optimizadas e valores de energia de todos os oito conformeros possíveis do diflunisal que são apresentados na Tabela 2.

Tabela 2 – Energia relativa, população relativa e parâmetros geométricos dos conforméros do diflunisal pelo método B3LYP /6-311++G(d,p).

Confórmero	sssa	ssss	sasa	ssas	ssaa	aaaa	aaas	sass
$\Delta$ Energia relativa / kJ mol <sup>-1</sup>	0.0	0.8	13.8	26.4	28.4	39.9	43.2	44.5
População %	57.67	42.09	0.22	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
<b>Diedros / °</b>								
$\phi_1$	0.3	-0.1	-0.5	3.4	2.7	173.8	-174.2	7.1
$\phi_2$	0.2	2.2	-179.2	-8.8	-8.0	176.9	-175.7	180.0
$\phi_3$	-0.3	179.5	-179.9	172.3	172.7	-179.5	179.2	-180.0
$\phi_4$	46.2	-135.8	-44.9	-138.4	-48.3	43.7	-133.4	-133.9
<b>Comprimentos de ligação / Å</b>								
O–H <sub>1</sub> ...O <sub>6</sub> =C	1.76	1.78	3.73	1.72	1.71	5.10	5.10	3.54
C=O <sub>6</sub> ...H <sub>8</sub> –O	2.26	2.25	2.28	3.00	3.00	3.02	3.01	2.28

As diferenças mais importantes entre estes resultados são as observadas entre aos conforméros sssa e ssss, que se encontram representados nas Figura 11 e Figura 12, respectivamente, e os restantes conforméros. Quanto aos grupos –COOH e C–OH nestes conforméros podemos verificar através da análise dos parâmetros estruturais que as formas s-cis são as mais importantes, pois têm a ligação H<sub>1</sub>...O<sub>6</sub> e O<sub>6</sub>...H<sub>8</sub> mais curta em comparação com a ligação nas formas a-trans, tornando as pontes de hidrogénio que se estabelecem entre elas mais fortes. Segundo a literatura corresponde ao polimorfo III o conforméromo sssa e ao polimorfo IV o conforméromo ssss. (43) Uma vez que os pontos estacionários com energia mais baixa correspondem a estruturas moleculares mais estáveis, conclui-se que o conforméromo mais estável da forma do diflunisal é o sssa e o segundo é ssss. Analisando os valores obtidos para o diedro 4, dos oito conforméromos, concluímos que este diedro tem pouco relevância energética na estrutura da molécula. É possível verificar para os dois conforméromos mais estáveis (sssa e ssss), que o diedro 4 é bastante diferente contudo as suas energias relativas são bastante próximas ( $\Delta$ Energia relativa= 0.8 kJ mol<sup>-1</sup>), sendo aparentes os átomos de flúor dos dois lados da molécula.

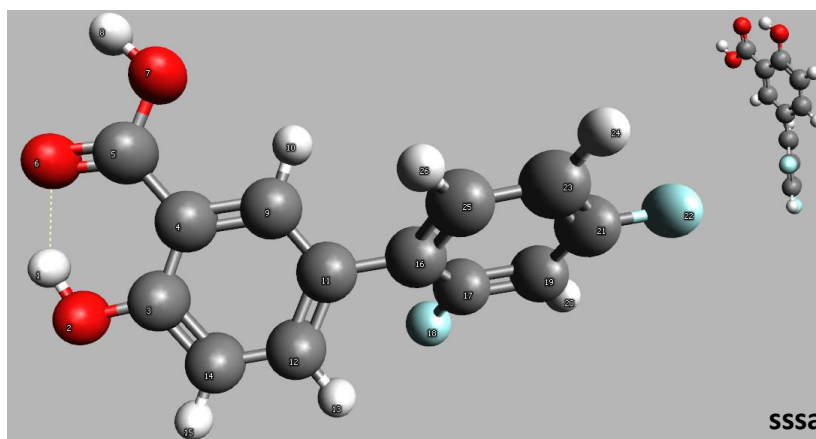


Figura 11 – Estruturas do conforméromos mais estáveis do diflunisal obtidos pelo método B3LYP /6-311++G(d,p).



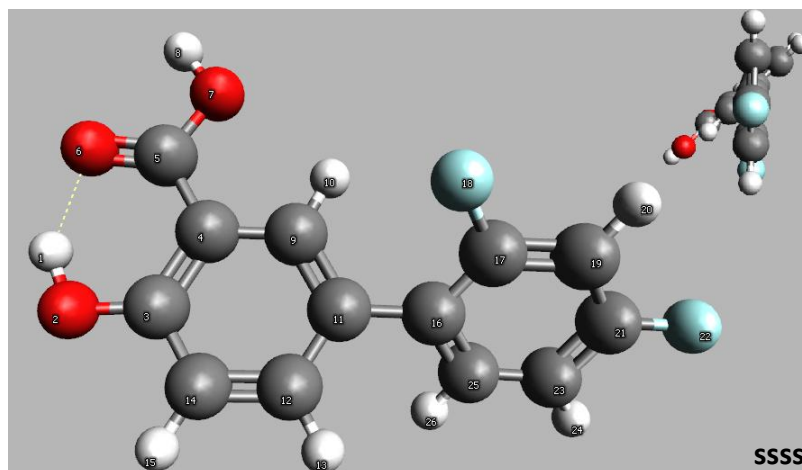


Figura 12 – Estruturas dos dois conforméros mais estáveis do diflunisal obtidos pelo método B3LYP /6-311++G(d,p).

### Nicotinamida

Foram identificados dois conforméros da nicotinamida, designados por conforméros E e Z (Figura 13), de acordo com a posição do grupo  $\text{-NH}_2$  relativamente ao anel. Podemos concluir a partir da energia relativa dos dois conforméros, Tabela 3, que a conformação mais estável é a E.

Tabela 3 – Energia relativa, população relativa e parâmetros geométricos dos conforméros da nicotinamida pelo método B3LYP /6-311++G(d,p).

Confórmero	E	Z
$\Delta$ Energia relativa / $\text{kJ mol}^{-1}$	0.0	4.1
População %	83.68	16.32
Diedros / °		
$\text{C}_9\text{-C}_4\text{-C}_2=\text{O}_3$	159.4	24.1

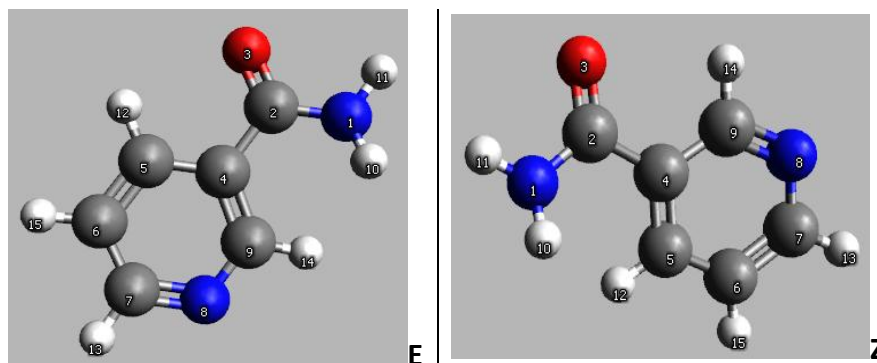


Figura 13 - Estruturas dos conforméros E e Z da nicotinamida obtidos pelo método B3LYP /6-311++G(d,p).

## Picolinamida

No caso da picolinamida não se efectuou o estudo conformacional para os conforméros I e II (Figura 14) vista já existir uma investigação (54) para esta molécula, usando o mesmo método computacional. Nesse estudo conclui-se ser o conforméro I o mais estável, Tabela 4.

Tabela 4 – Energia relativa e parâmetros geométricos dos conforméros da picolinamida pelo método B3LYP /6-311++G(d,p) - Parâmetros obtidos da literatura (54)

Conforméro	I	II
$\Delta$ Energia relativa / kJ mol <sup>-1</sup>	0.0	37.1
Diedros / °		
C <sub>9</sub> -C <sub>4</sub> -C <sub>2</sub> =O <sub>3</sub>	180.0	44.5

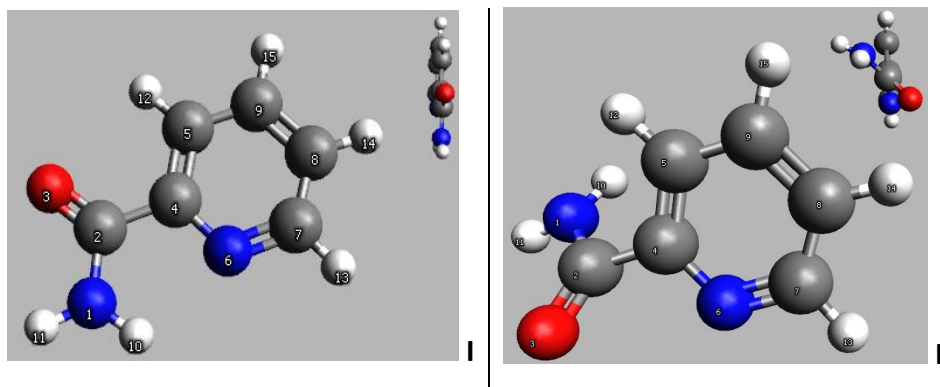
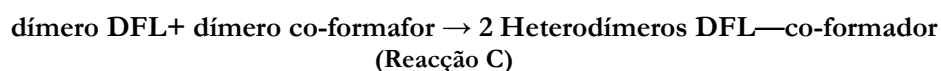


Figura 14 - Estruturas dos conforméros I e II da picolinamida obtidos pelo método B3LYP /6-311++G(d,p).

### b) PREVISÃO DE FORMAÇÃO DE CO-CRISTAIS POR REACÇÕES ISODÉSMICAS

A unidade estrutural básica no co-cristal é o dímero. O estudo centrou-se na simulação de co-cristais através de dímeros formados por ligações semelhantes entre monómeros, nomeadamente do tipo ponte de hidrogénio, que se supõe dar origem a interações mais fortes entre os monómeros. Estudaram-se os dímeros DFL-DFL, NA-NA, PA-PA, DFL-NA e DFL-PA

A formação co-cristal pode ser promovida por uma maior estabilização dos heterodímeros versus homodímeros. As energias relativas dos dímeros e as energias de dimerização [calculadas por  $E(\text{dímero}) - 2 \times E(\text{monómero})$ ] são dadas em kJ.mol<sup>-1</sup>. Os resultados preliminares DFT de um conjunto de possíveis estruturas diméricas, com os funcionais B3LYP e M06 e dois conjuntos de bases diferentes, podem calcular esta diferença correspondente à energia da seguinte reacção isodésmica:



## Homodímeros

O estudo computacional da molécula de diflunisal, de maior tamanho e flexibilidade conformacional é mais dispendioso que o das restantes. O diflunisal apresenta grupos (ácido e álcool) que estão directamente ou indirectamente envolvidos nas ligações do dímero DFL-DFL, enquanto o segundo anel do diflunisal encontra-se afastado do local onde se estabelecem as ligações por pontes de hidrogénio e por isso mesmo pode dizer-se que não influencia a ligação. Como foi referido anteriormente, a pequena diferença de energia entre sssa e ssss, vem justificar e reforçar a não consideração dos diferentes conformémeros pela irrelevância do anel aromático com os átomos de flúor para o estabelecimento do sintão. Assim, não houve necessidade do estudo do dímero sssa-sssa', ao contrário da nicotinamida. No dímero DFL-DFL, Figura 15, o comprimento de ligação do tipo C=O...H-O é de 1.635Å, Tabela 5.

Tabela 5 – Energia e parâmetros geométricos do homodímero do diflunisal-sssa pelo método B3LYP /6-311++G(d,p).

Dímero	sssa-sssa
Energia / kJ mol <sup>-1</sup>	-4858146.0
Energia dimerização / kJ mol <sup>-1</sup>	-61.5
<b>Diedros /≡</b>	
C <sub>12</sub> -C <sub>18</sub> -C <sub>28</sub> -C <sub>6</sub>	-42.6
C <sub>11</sub> -C <sub>17</sub> -C <sub>27</sub> -C <sub>5</sub>	42.6
H <sub>38</sub> -O <sub>16</sub> -C <sub>14</sub> -C <sub>20</sub>	-0.5
H <sub>37</sub> -O <sub>15</sub> -C <sub>13</sub> -C <sub>19</sub>	0.5
O <sub>26</sub> =C <sub>24</sub> -O <sub>32</sub> -H <sub>44</sub>	0.8
O <sub>25</sub> =C <sub>23</sub> -O <sub>31</sub> -H <sub>43</sub>	-0.8
C <sub>14</sub> -C <sub>20</sub> -C <sub>24</sub> =O <sub>26</sub>	-0.5
C <sub>13</sub> -C <sub>19</sub> -C <sub>23</sub> =O <sub>25</sub>	0.5
<b>Comprimentos de ligação / Å</b>	
C <sub>24</sub> =O <sub>26</sub> ...H <sub>43</sub> -O <sub>31</sub>	1.635
O <sub>32</sub> -H <sub>44</sub> ...O <sub>25</sub> =H <sub>23</sub>	1.635

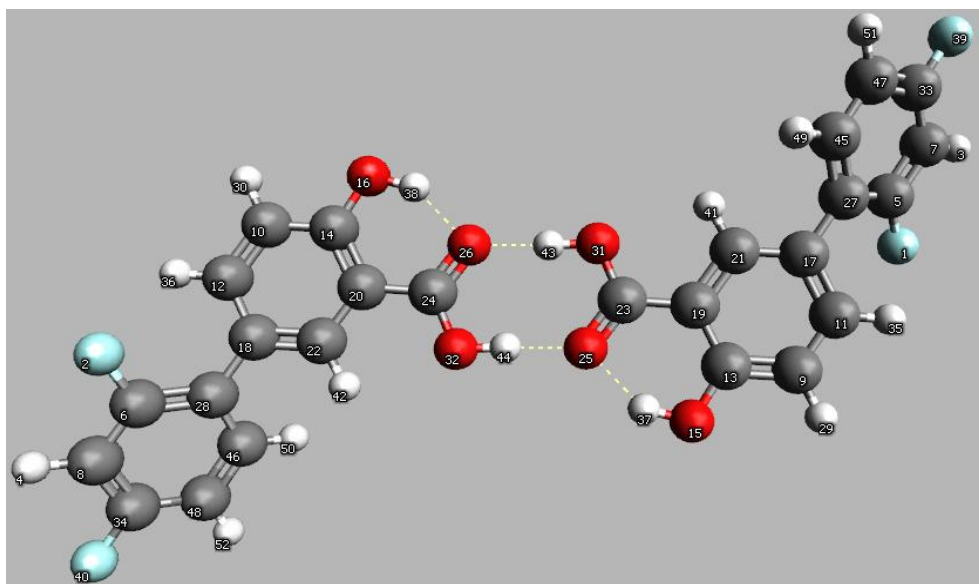


Figura 15 – Dímero DFL-DFL.

Relativamente à nicotinamida estudou-se a ligação entre os conformeros E (NA-NA), e entre o conformero E e o seu enantiómero (NA' - imagem no espelho de NA). Para cada dímero resultante fez-se a otimização de geometria, cujas estruturas podem ser vistas na Figura 16 e Figura 17.

A partir do dímero NA-NA e NA-NA' foram analisadas duas interações por pontes de hidrogénio:  $N-H \cdots O=C$  e  $C=O \cdots H-N$ , pois possuem o oxigénio dador de electrões para a realização de pontes de hidrogénio. Não se analisou nenhum dímero a partir da amina secundária do anel da nicotinamida porque o nitrogénio é menos electronegativo que o oxigénio. As ligações N-H apresentam-se menos polares que as ligações O-H e por essa razão, as aminas formam pontes de hidrogénio mais fracas. Um estudo realizado em 2008 (52) vem mostrar isso mesmo, corroborando os nossos resultados.

A distância das ligações da ponte de hidrogénio corresponde a 1.87 Å, Tabela 6, mantendo-se constante para os dois dímeros.

Tabela 6 – Energia relativa, população relativa e parâmetros geométricos dos homodímeros da nicotinamida-E pelo método B3LYP /6-311++G(d,p).

Dímero	NA-NA	NA-NA'
Energia / $\text{kJ mol}^{-1}$	-2189687.5	-2189687.4
Energia dimerização / $\text{kJ mol}^{-1}$	-48.7	-48.6
$\Delta$ Energia relativa / $\text{kJ mol}^{-1}$	0.000	0.033
População %	50.33	49.67
Diedros / °		
$O_3=C_2-C_4-C_9$	159.3	158.9
$O_{18}=C_{17}-C_{19}-C_{24}$	159.3	-158.9
Comprimentos de ligação / Å		
$N_1-H_{11} \cdots O_{18}=C$	1.87	1.87
$C=O_3 \cdots H_{30}-N_{16}$	1.87	1.87

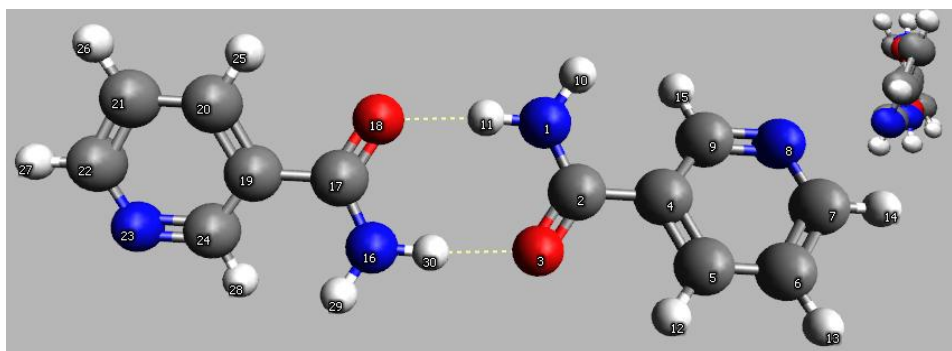


Figura 16- Dímero NA-NA.

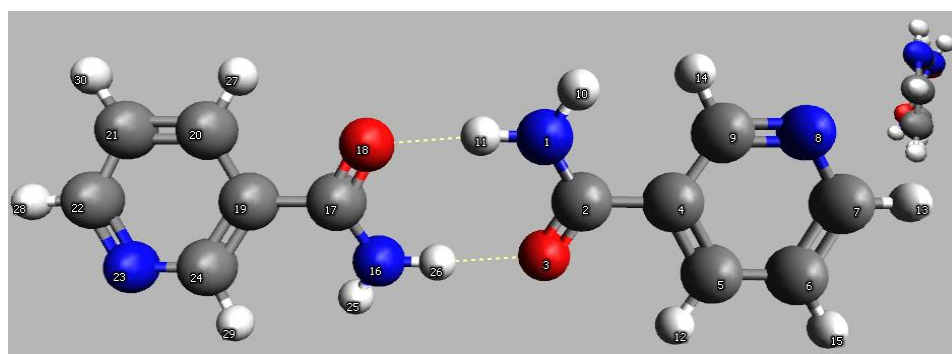


Figura 17 – Dímero NA-NA'.

O dímero PA-PA foi efectuado a partir da conformação mais estável (PA\_I) que se encontra representado na Figura 18. O dímero tem 1.84 Å para o comprimento de ligação do tipo C=O...H-O, como se pode observar na Tabela 7. Este homodímero é apresentado na literatura (52) como o mais estável quando comparado com mais três homodímeros.

Tabela 7 – Energia e parâmetros geométricos do homodímero da picolinamida pelo método B3LYP /6-311++G(d,p).

Dímero	PA-PA
Energia / kJ mol <sup>-1</sup>	-2188623.9
Energia dimerização / kJ mol <sup>-1</sup>	-44.7
Diedros / °	
O <sub>6</sub> =C <sub>4</sub> -C <sub>8</sub> -N <sub>18</sub>	180.0
O <sub>0</sub> =C <sub>3</sub> -C <sub>7</sub> -N <sub>17</sub>	180.0
Comprimentos de ligação / Å	
N <sub>1</sub> -H <sub>27</sub> ...O <sub>6</sub> =C	1.84
C=O <sub>5</sub> ...H <sub>28</sub> -N <sub>2</sub>	1.84

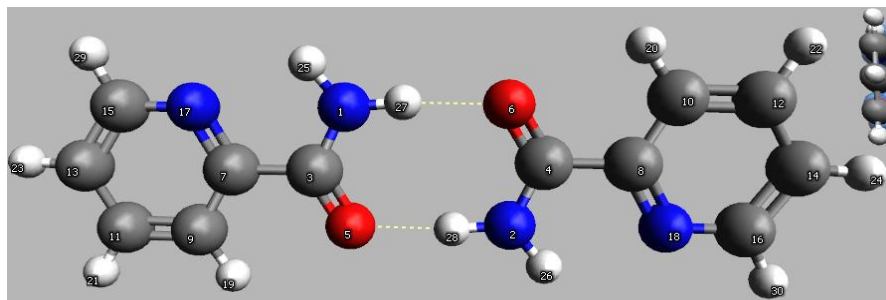


Figura 18 – Dímero PA-PA.

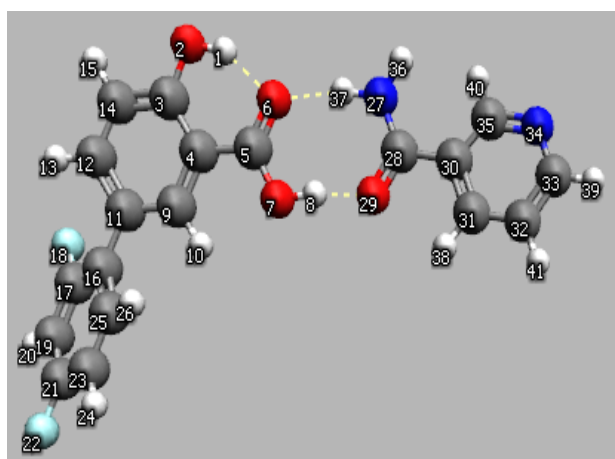
### *Heterodímeros*

Uma das dificuldades no estudo de co-cristais reside na determinação da sua estrutura molecular, principalmente quando temos compostos complexos, já que o espaço conformacional também se torna mais complexo podendo existir interações intermoleculares que influenciam na ligação dos compostos e na sua estabilidade. Depois do estudo dos dímeros entre compostos iguais, efectuou-se o estudo entre o diflunisal e a nicotinamida nas suas conformações mais estáveis, respectivamente diflunisal\_σσα e nicotinamida\_E (Figura 19). O estudo para os heterodímeros foi efectuado tendo em conta dois tipos de sintões supramoleculares: acido-amida e ácido-piridina, designando-se por I e II respectivamente.

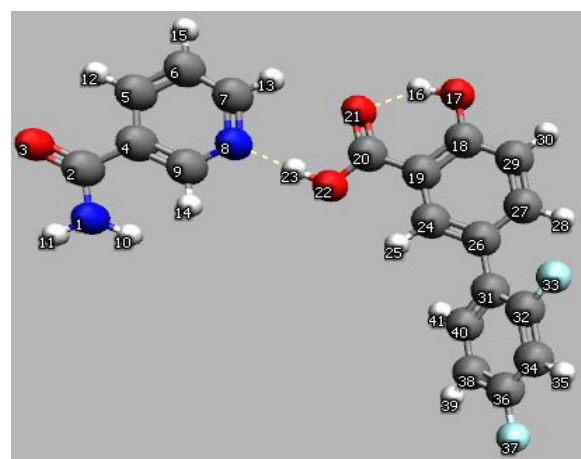
De acordo com a Tabela 8 é possível verificar que os comprimentos de ligação que se estabelecem por pontes de hidrogénio entre as duas moléculas não são iguais, sendo a que se estabelece no sintão I entre C5=O6...H37—N27 de 1.858 Å e mais fraca do que a que se estabelece entre O7—H8...O29—C28 de 1.590 Å. O mesmo se pode verificar no sintão II, observando-se uma ligação ainda mais fraca. Isto provoca alguma instabilidade na estrutura do dímero e justifica o facto da formação do homodímero DFL\_σσα-DFL\_σσα apresentar energia mais baixa, pois tem ligações de hidrogénio mais fortes que tornam a sua estrutura mais estável. O dímero maioritário (sintão I) apresenta uma população que corresponde a 99.95 % do equilíbrio conformacional, enquanto o minoritário apresenta apenas 0.05%.

Tabela 8 – Energias e parâmetros geométricos para o sintão I e sintão II do dímero do DFL-NA obtidos pelo método B3LYP /6-311++G(d,p).

Dímero	DFL_σσα-NA_E		
Sintão	I	II	
Energia / kJ mol <sup>-1</sup>	-3523366.2	-3523347.5	
ΔEnergia relativa / kJ mol <sup>-1</sup>	0.0	18.7	
População %	99.95	0.05	
<b>Diedros / °</b>			
C <sub>9</sub> –C <sub>11</sub> –C <sub>16</sub> –C <sub>17</sub>	-135.5	C <sub>32</sub> –C <sub>31</sub> –C <sub>26</sub> –C <sub>24</sub>	-140.1
H <sub>1</sub> –O <sub>2</sub> –C <sub>3</sub> –C <sub>4</sub>	0.359	H <sub>16</sub> –O <sub>17</sub> –C <sub>18</sub> –C <sub>19</sub>	0.5
O <sub>6</sub> =C <sub>5</sub> –O <sub>7</sub> –H <sub>8</sub>	-0.415	O <sub>21</sub> =C <sub>20</sub> –O <sub>22</sub> –H <sub>23</sub>	-1.2
C <sub>3</sub> –C <sub>4</sub> –C <sub>5</sub> =O <sub>6</sub>	0.158	C <sub>18</sub> –C <sub>19</sub> –C <sub>20</sub> =O <sub>21</sub>	0.2
<b>Comprimentos de ligação / Å</b>			
N <sub>27</sub> –H <sub>37</sub> ⋯O <sub>6</sub> =C <sub>5</sub>	1.858	C <sub>7</sub> –H <sub>13</sub> ⋯O <sub>21</sub> =C <sub>20</sub>	2.363
C <sub>28</sub> =O <sub>29</sub> ⋯H <sub>8</sub> –O <sub>7</sub>	1.590	C <sub>7</sub> =O <sub>8</sub> ⋯H <sub>23</sub> –O <sub>22</sub>	1.694
C <sub>5</sub> =O <sub>6</sub> ⋯H <sub>1</sub> –O <sub>2</sub>	1.694	C <sub>20</sub> =O <sub>21</sub> ⋯H <sub>16</sub> –O <sub>17</sub>	1.676



Sintão I



Sintão II

Figura 19 – Dímeros diflunisal\_σσα-nicotinamida\_E, obtidos pelo método B3LYP /6-311++G(d,p).

Verifica-se ainda, para os dois sintões, que o hidrogénio do grupo –OH do diflunisal se encontra mais próximo do oxigénio do grupo –COOH (1.694 Å para o sintão I e 1.676 Å para o sintão II) do mesmo composto do que o hidrogénio da nicotinamida que estabelece a ligação (por pontes de hidrogénio) com esse mesmo oxigénio do grupo –COOH do diflunisal. Este é mais um dos aspectos que enfraquece a ligação do dímero e que nos mostra que é mais viável a formação do homodímero do diflunisal, -61.50 kJ.mol<sup>-1</sup> que a obtenção do co-cristal, (energia de dimerização calculada para o sintão I = -59.13 kJ.mol<sup>-1</sup>). Na Tabela 9 é apresentada a diferença de energia que corresponde à reacção I [calculadas por 2×E(heterodímero)-(homodímero DFL) - (homodímero NA)], referida anteriormente. Como podemos verificar, a diferença energética para o sintão I e o para sintão II indica que a formação do heterodímero é favorecida no sintão II

(pois pela reacção I o valor positivo alude a formação do heterodímero). Apesar disso há que ter em conta que na análise da Tabela 8 verificamos que seria pouco provável a formação deste mesmo sintão.

**Tabela 9 – Energias e parâmetros termodinâmicos para os dímeros NA-NA, DFL-DFL e para o sintão I e sintão II do dímero do DFL-NA obtidos pelo método B3LYP /6-311++G(d,p).**

kJ/mol <sup>-1</sup>	DFL-DFL	NA-NA	DFL-NA		Diferença E	
			Sintão I	Sintão II	Sintão I	Sintão II
<b>E<sub>0</sub></b>	-4858146.0	-2188577.3	-3523366.2	-3523347.5	-9.1	28.3
<b>zpe</b>	974.0	610.7	791.7	790.5	-1.4	-3.8
<b>H</b>	-4857091.2	-2187921.5	-3522511.6	-3522700.1	-10.5	-387.5
<b>G</b>	-4857342.9	-2188086.6	-3522721.5	-3522700.1	-13.5	29.3

De forma a confirmar/validar se o funcional por nós escolhido e respectiva base estaria a ser tão precisos nos resultados como os relatados na literatura (81), para este tipo de moléculas orgânicas, usou-se o DFT mas com outro funcional de densidade, o M06. Em termos de base de funções utilizou-se a cc-pVDZ.

Analisando a Tabela 10 podemos afirmar que o método M06 e a base cc-pVDZ, usada para determinar as energias vinculativas nas ligações de hidrogénio complexas contra o qual o funcional de densidade é avaliado, pode dizer-se que estamos perante valores muito equiparados nos dois métodos, havendo apenas 1 kJ.mol<sup>-1</sup> de diferença para o sintão I.

**Tabela 10 – Energias e parâmetros termodinâmicos para os dímeros NA-NA, DFL-DFL e para o sintão I do dímero do DFL-NA obtidos pelo método M06/cc-pVDZ.**

kJ/mol <sup>-1</sup>	DFL-DFL	NA-NA	DFL-NA	Diferença E
			Sintão I	
<b>E<sub>0</sub></b>	-4857806.6	-2188327.9	-3523071.3	-8.1
<b>zpe</b>	979.2	609.9	793.6	-1.9
<b>H</b>	-4856748.8	-2187674.9	-3522214.5	-5.3
<b>G</b>	-4856989.9	-2187833.9	-3522424.9	-25.9

Efectuou-se o estudo do heterodímero entre o diflunisal\_ ssa e a picolinamida\_I (conformações mais estáveis dos compostos), para o sintão I e II, Figura 20. Comparando as energias obtidas para os dois heterodímeros, Tabela 11, verificamos que temos valores muito aproximados, no entanto o sintão I apresenta uma energia mais baixa que o sintão II. Esta observação leva-nos a supor que é mais propícia a formação do sintão I do que do sintão II, assim como os comprimentos de ligação dos heterodímeros também o sugerem, pois são sempre menores os comprimentos de ligação para o sintão I, revelando que a ligação é mais forte, do que para o sintão II.



Tabela 11 – Energias e parâmetros geométricos para o sintão I e sintão II do dímero do DFL-PA obtidos pelo método B3LYP /6-311++G(d,p).

Dímero	DFL_σσα-PA_I	DFL_σσα-PA_II	
Sintão	I	II	
Energia / kJ mol <sup>-1</sup>	-3523351.8	-3523336.7	
ΔEnergia relativa / kJ mol <sup>-1</sup>	0.0	15.1	
População %	99.77	0.23	
<b>Diedros / °</b>			
C <sub>23</sub> –C <sub>14</sub> –C <sub>12</sub> –C <sub>15</sub>	-141.9	C <sub>23</sub> –C <sub>14</sub> –C <sub>12</sub> –C <sub>15</sub>	-140.8
H <sub>11</sub> –O <sub>7</sub> –C <sub>9</sub> –C <sub>13</sub>	0.1	H <sub>11</sub> –O <sub>7</sub> –C <sub>9</sub> –C <sub>13</sub>	-0.1
O <sub>16</sub> =C <sub>17</sub> –O <sub>20</sub> –H <sub>22</sub>	0.8	O <sub>16</sub> =C <sub>17</sub> –O <sub>20</sub> –H <sub>22</sub>	-0.1
C <sub>9</sub> –C <sub>13</sub> –C <sub>17</sub> =O <sub>16</sub>	0.0	C <sub>9</sub> –C <sub>13</sub> –C <sub>17</sub> =O <sub>16</sub>	0.7
<b>Comprimentos de ligação / Å</b>			
N <sub>27</sub> –H <sub>37</sub> ⋯O <sub>16</sub> =C <sub>17</sub>	1.870	C <sub>7</sub> =O <sub>16</sub> ⋯H <sub>39</sub> –C <sub>33</sub>	2.292
C <sub>28</sub> =O <sub>29</sub> ⋯H <sub>22</sub> –O <sub>20</sub>	1.575	C <sub>30</sub> =O <sub>32</sub> ⋯H <sub>22</sub> –O <sub>20</sub>	1.766
C <sub>17</sub> =O <sub>16</sub> ⋯H <sub>11</sub> –O <sub>7</sub>	1.694	C <sub>17</sub> =O <sub>16</sub> ⋯H <sub>11</sub> –O <sub>7</sub>	1.674

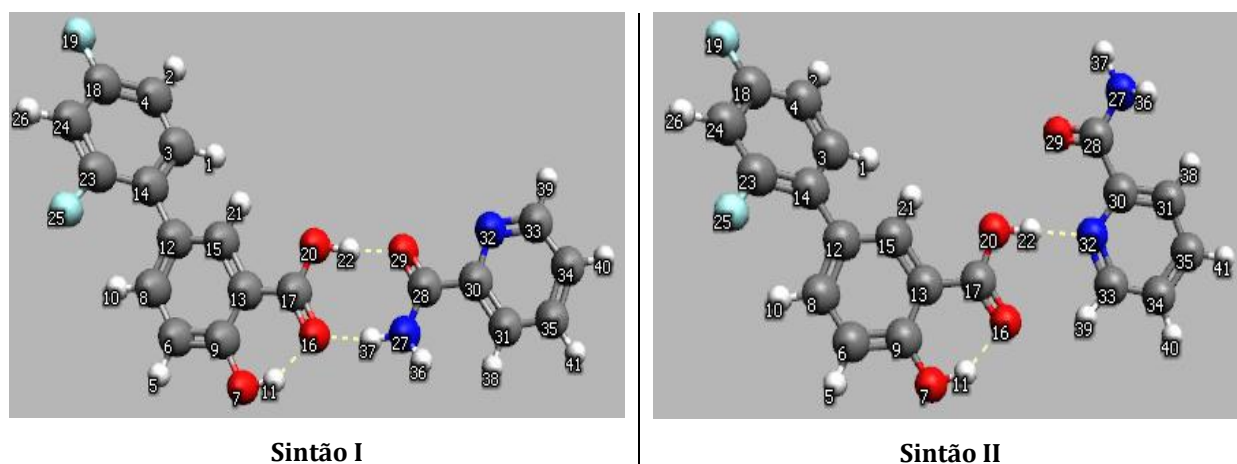


Figura 20 – Dímeros diflunisal\_σσα-picolinamida\_I, obtidos pelo método B3LYP /6-311++G(d,p).

Observando os valores das energias para os dois heterodímeros e para os homodímeros diflunisal e picolinamida, Tabela 12, apronta-se que a formação do heterodímero é bastante favorável para os dois sintões (sintão I – 66.4 kJ.mol<sup>-1</sup> e sintão II – 96.4 kJ.mol<sup>-1</sup>), dando a indicação que se poderá obter um co-cristal com a mistura de uma amostra de diflunisal e de picolinamida. Assim como se constatou para o heterodímero DFL-NA na Tabela 9, também o heterodímero DFL-PA apresenta na Tabela 12, um valor energético maior para o sintão II, que para o sintão I. Contudo há que referir que na análise da Tabela 11 verificamos que seria pouco provável a formação deste mesmo sintão. Podemos ainda verificar que os dois sintões do dímero DFL-PA apresentam diferenças de energia muito superiores à observada para o sintão II do dímero DFL-NA (28.3 kJ.mol<sup>-1</sup>).

Tabela 12 – Energias e parâmetros termodinâmicos para os dímeros DFL-DFL, PA-PA e para os sintões I e II do dímero do DFL-PA obtidos pelo método B3LYP /6-311++G(d,p).

kJ/mol <sup>-1</sup>	DFL-DFL	PA-PA	DFL-PA		Diferença E	
			Sintão I	Sintão II	Sintão I	Sintão II
<b>E<sub>0</sub></b>	-4858146.0	-2188623.9	-3523351.8	-3523336.7	66.4	96.4
<b>zpe</b>	974.0	612.6	791.4	790.8	-3.8	-4.9
<b>H</b>	-4857091.2	-2187967.2	-3522499.9	-3522484.6	58.6	89.3
<b>G</b>	-4857342.9	-2188130.5	-3522700.4	-3522687.6	72.7	98.3

Os valores das energias obtidos para os heterodímeros DFL:NA e DFL:PA na Tabela 8 e na Tabela 11 indicam sempre que o sintão I é favorecido relativamente ao sintão II, como era esperado.

Relativamente à isonicotinamida não são apresentados quaisquer cálculos neste trabalho devido ao erro sistemático dado durante o cálculo dos dímeros. Todavia, é usada experimentalmente para comparação, a nível estrutural, com os outros dois isômeros de piridina-carboxamida com vista à formação ou não formação do co-cristal.

## 2.2.2. Pesquisa experimental de co-cristais

### Materiais

Na Tabela 13 encontra-se informação acerca da origem e pureza de todas as substâncias utilizadas neste trabalho.

Tabela 13 - Substâncias utilizadas e indicação da respectiva pureza e origem

Substância	Pureza (%)	Origem
<b>Diflunisal</b>	≥ 99.0	SIGMA
<b>Nicotinamida</b>	≥ 99.0	SIGMA
<b>Picolinamida</b>	≥ 98.0	Aldrich
<b>Isonicotinamida</b>	≥ 99.0	Aldrich
<b>Solvente</b>		
<b>Etanol</b>	> 99.9	MERK
<b>Metanol</b>	> 99.9	MERK
<b>Propanol</b>	> 99.5	MERK
<b>Acetato de etilo</b>	> 99.9	MERK
<b>Tetrahidrofurano</b>	> 99.5	PANREAC
<b>Clorofórmio</b>	>99.8	MERK

## Síntese de co-cristais: procedimento experimental em DSC

A cristalização a partir da solução, por evaporação do solvente, é uma técnica muito usada na indústria farmacêutica e é um dos métodos mais utilizados na engenharia de cristais para a preparação de co-cristais. (94)(95) Neste trabalho, a cristalização foi um dos métodos empregue na tentativa de obtenção de co-cristais. Os solventes bem como as técnicas de cristalização influenciam a morfologia dos cristais e a estrutura dos mesmos. A partir dessa premissa, procuramos preparar, por cristalização em diferentes solventes co-cristais de diflunisal com os co-formadores seleccionados. Foram preparadas soluções equimolares e na proporção de 1:2 de diflunisal e co-formadores em diferentes solventes: metanol, etanol, propanol, acetato de etilo e tetra-hidrofurano. Os sólidos foram pesados e dissolvidos à temperatura ambiente. Após dissolução as soluções foram filtradas, usando papel de filtro Whatman nº 40, para caixas de petri sendo estas deixadas à temperatura ambiente. Uma vez que o solvente utilizado no processo de cristalização pode alterar o sólido obtido, foram também efectuadas cristalizações em solução de cada um dos compostos utilizados.

A mecanoquímica, moagem de dois sólidos formadores num moinho de bolas assistida por solvente foi também utilizada como método de obtenção de co-cristais. Foram preparadas misturas físicas de diflunisal com nicotinamida, picolinamida e isonicotinamida. Os sólidos foram pesados, na proporção 1:1 ou de 1:2, e submetidos a moagem assistida com solvente (etanol). A moagem foi efectuada num moinho de bolas Retsch MM400, durante 30 min, com 2 esferas de aço (de 7 mm de diâmetro), com frequência de vibração de 15 Hz. Como o processo de moagem pode alterar a forma polimórfica em que uma substância se encontra, cada um dos compostos usados foi, também, submetido a moagem nas condições usadas na tentativa de obtenção de co-cristal.

Os sólidos resultantes destes dois processos foram analisados por calorimetria diferencial de varrimento, e quando se justificou foram também caracterizados por espectroscopia de infravermelho e por difracção de raios-X de pó.

## ***Sistema Diflunisal: Nicotinamida***

### ● ***Caracterização por DSC***

Nos estudos efectuados por calorimetria diferencial de varrimento foram utilizados dois calorímetros: o calorímetro modelo DCS 7 e o calorímetro modelo Pyris 1, ambos da Perkin Elmer. Estes calorímetros são constituídos pelo bloco calorimétrico, regulador de temperatura e unidade de recolha e processamento de dados. Como sistema de arrefecimento utilizou-se o intracooler a -10 °C (etilenoglicol-água, 1:1). A calibração para medidas de temperatura foi efectuada com substâncias padrão de pureza elevada (96): índio (Perkin Elmer, x = 99.99%,  $T_{fus} = 156.60$  °C); bifênilo (CRM LGC 2610,  $T_{fus} = 68.93 \pm 0.03$  °C); ácido benzóico (CRM LGC 2606,  $T_{fus} = 122.35 \pm 0.02$  °C), cafeína (substância de calibração Mettler Toledo, ME 18 872,  $T_{fus} = 235.6 \pm 0.2$  °C) e ácido anísico (CRM LGC 2407,  $T_{fus} = 183.1$  °C. Para a calibração de entalpia (96) foi utilizado índio ( $\Delta H_{fus} = 3286 \pm 13$  J mol<sup>-1</sup>). Na obtenção das curvas de DSC foram observadas as seguintes condições

experimentais: gás de purga N<sub>2</sub> de pureza N50, fluxo 20 cm<sup>3</sup>/min; velocidade de aquecimento/arrefecimento de 10 °C/min; gama de temperatura estudada entre 25 e 220 °C; cápsulas de alumínio (de 10 e 30 µL) e massas de amostra próximas de 2 mg.

Na Figura 21 encontra-se ilustrada uma curva de DSC correspondente ao processo de aquecimento de uma amostra do diflunisal utilizado. Observa-se uma transformação endotérmica,  $T_{onset}^1 = (212.0 \pm 0.3) \text{ °C}$ ,  $\Delta H_{fus} = (36.7 \pm 0.2) \text{ kJ/mol}$ , ( $n=7$ ), característica do processo de fusão do diflunisal (35). De acordo com dados de raios-X obtidos para esta amostra de diflunisal concluiu-se estar perante o polimorfo I. (97)

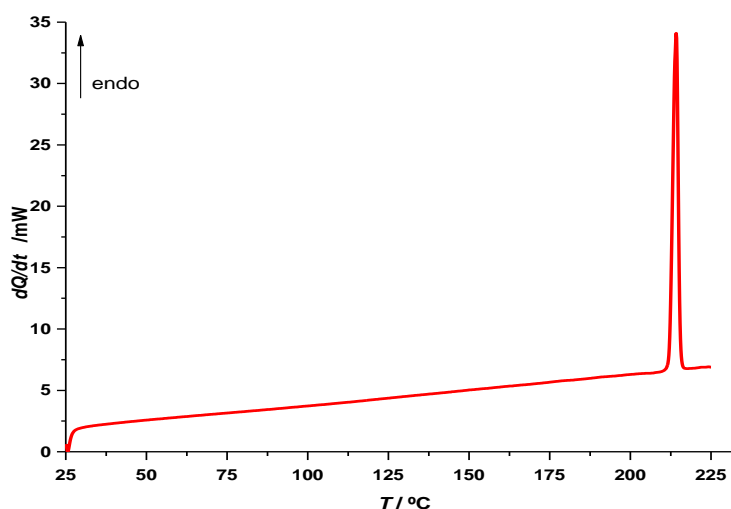


Figura 21 - Curva de DSC do 1º aquecimento de uma amostra de DFL,  $m = 2.23 \text{ mg}$ ;  $\beta = 10 \text{ °C/min}$ ;  $T_{onset} = 212.1 \text{ °C}$ ,  $\Delta H_{fus} = 36.7 \text{ kJ/mol}$ .

Tabela 14 - Parâmetros obtidos da literatura (35)

Polimorfo	$T_{onset} \text{ (°C)}$	$\Delta H_{fus} \text{ (kJ/mol)}$
I	212.8 0.2	35.9
II	$212.3 \pm 0.3$	35.8
III	a)	a)
IV	$213.2 \pm 0.3$	35.9

a) Transição de fase III→I 207 °C;  $\Delta H = 2 \text{ kJ.mol}^{-1}$ .

O diflunisal foi cristalizado em vários solventes (etanol, metanol e propanol) de forma a avaliar o efeito destes solventes no sólido obtido. As curvas de DSC do primeiro aquecimento de amostras cristalizadas nos solventes supracitados encontram-se representadas na Figura 22. Em todas as amostras foi observado um decréscimo da temperatura de fusão em relação às curvas do composto de partida. Este abaixamento da temperatura de fusão pode dever-se há eliminação incompleta do solvente uma vez que se observa também um alargamento do pico de fusão.

<sup>1</sup>  $T_{onset}$ : ponto de intercepção do prolongamento da linha de base do lado do ramo ascendente e da tangente à curva na sua porção ascendente.

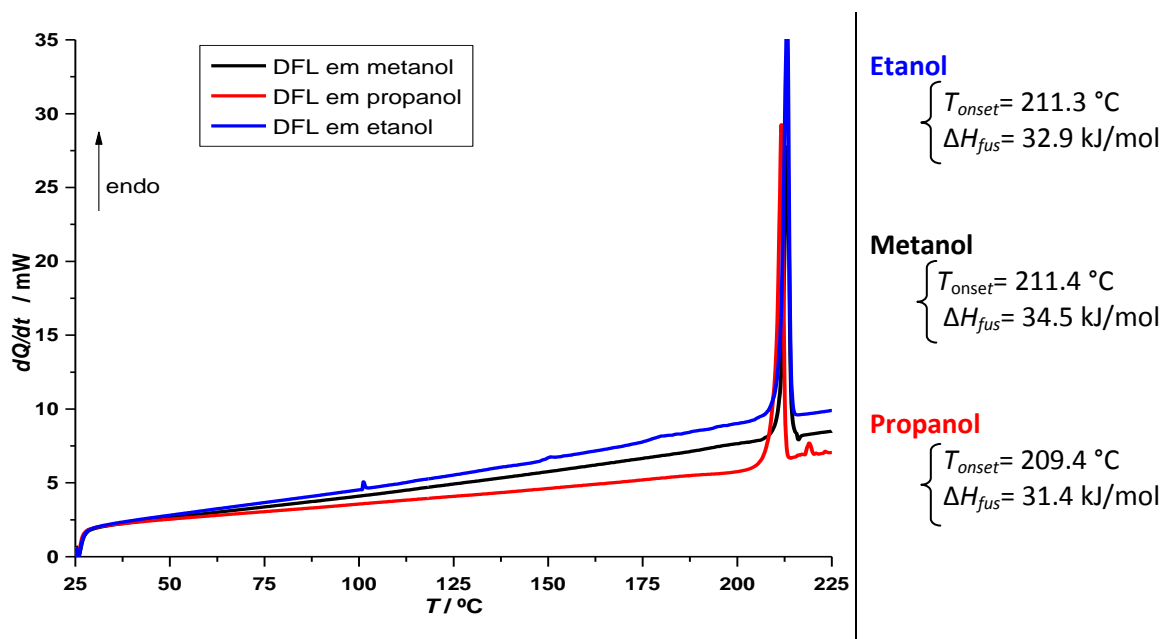


Figura 22 - Curva de DSC de aquecimento de DFL cristalizado em metanol ( $m = 1.56$  mg), etanol ( $m = 2.5$  mg) e propanol ( $m = 2.26$  mg),  $\beta = 10$  °C/min.

A nicotinamida utilizada neste trabalho foi analisada por DSC encontrando-se na Figura 23 quatro varrimentos, correspondentes ao aquecimento de uma amostra de nicotinamida, realizados em ciclos consecutivos de aquecimento/arrefecimento com velocidade de varrimento  $\beta = 10$  °C/min. Na curva de DSC, correspondente ao primeiro aquecimento desta substância, observa-se uma transformação endotérmica a  $T_{onset} = 128.4$  °C, a qual corresponde ao processo de fusão do polimorfo I ( $T_{onset} = 128.0$  °C;  $\Delta H_{fus} = 25.5$  kJ/mol) (47). No terceiro aquecimento, efectuado após arrefecimento do fundido, pode observar-se a fusão do polimorfo II a  $T_{onset} = 113.7$  °C ( $T_{onset} = 114.5$  °C;  $\Delta H_{fus} = 19.7$  kJ/mol) (47).

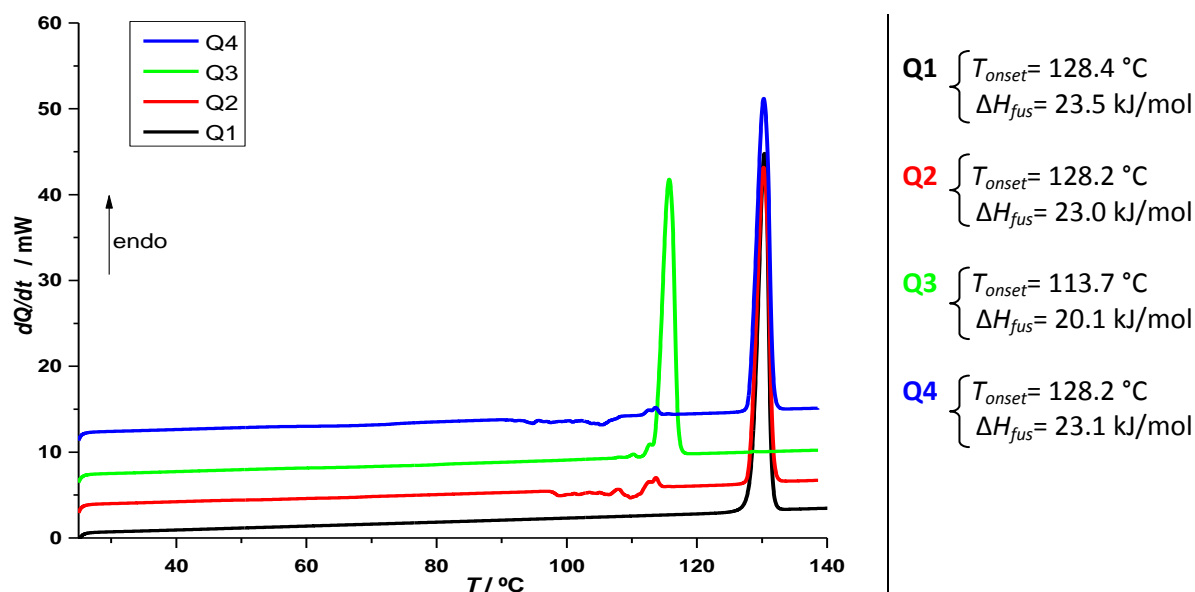
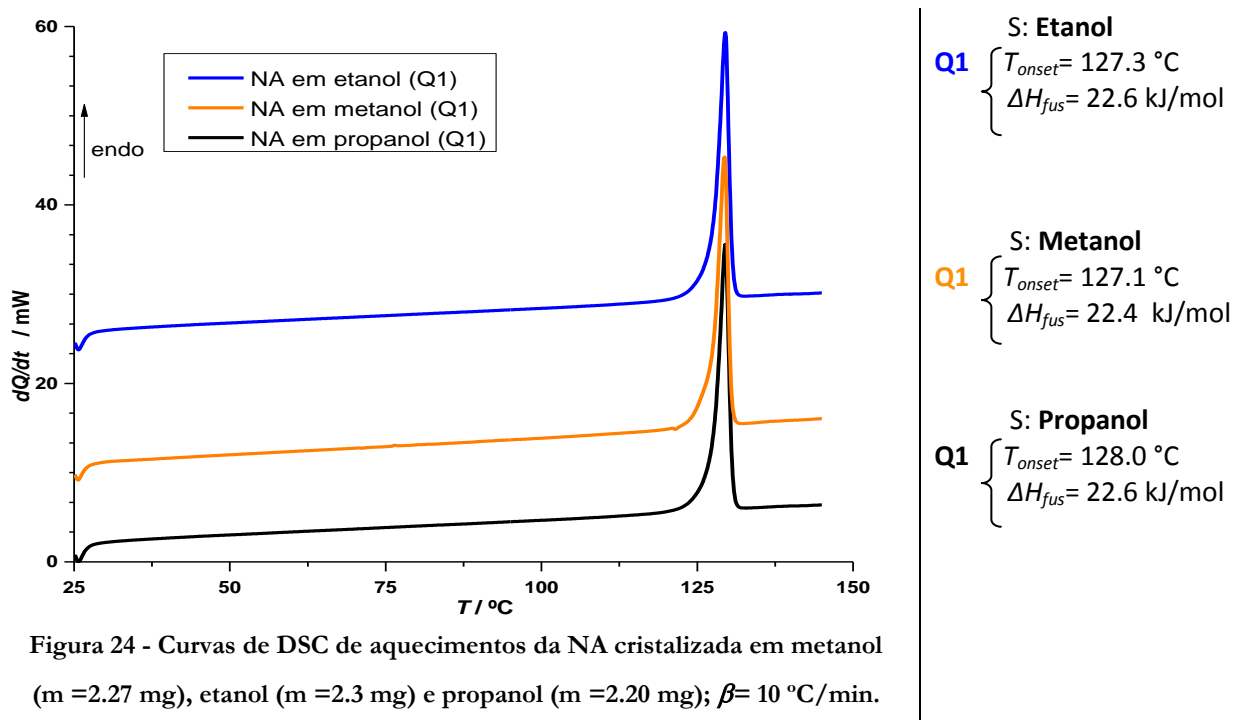


Figura 23 - Curvas de DSC de aquecimentos de uma amostra de NA,  $m = 2.58$  mg;  $\beta = 10$  °C/min.

A nicotinamida original foi cristalizada nos solventes, metanol, etanol e propanol. As curvas de DSC correspondentes a processos de aquecimento dos sólidos obtidos encontram-se registadas na Figura 24. Tal como se verificou nas curvas do diflunisal obtido após cristalização, também nas curvas da nicotinamida obtidas pelo mesmo método, foi observado um decréscimo da  $T_{onset}$ , em relação à temperatura de fusão do composto de partida.



Na Figura 25 encontram-se ilustradas curvas de DSC correspondentes ao processo de aquecimento dos vários sólidos obtidos a partir da cristalização de soluções equimolares de diflunisal e nicotinamida nos solventes metanol, etanol, propanol, acetato de etilo e tetra-hidrofurano. As curvas de DSC correspondentes ao primeiro aquecimento dos sólidos obtidos por cristalização nos solventes acima referidos são semelhantes. Em todas as curvas observa-se um pico endotérmico largo para valores de temperatura entre 175 e 190 °C correspondente à fusão do diflunisal, e um pico endotérmico menos energético entre 100 e 120 °C que poderá ser atribuído à fusão de um dos polimorfos da nicotinamida.

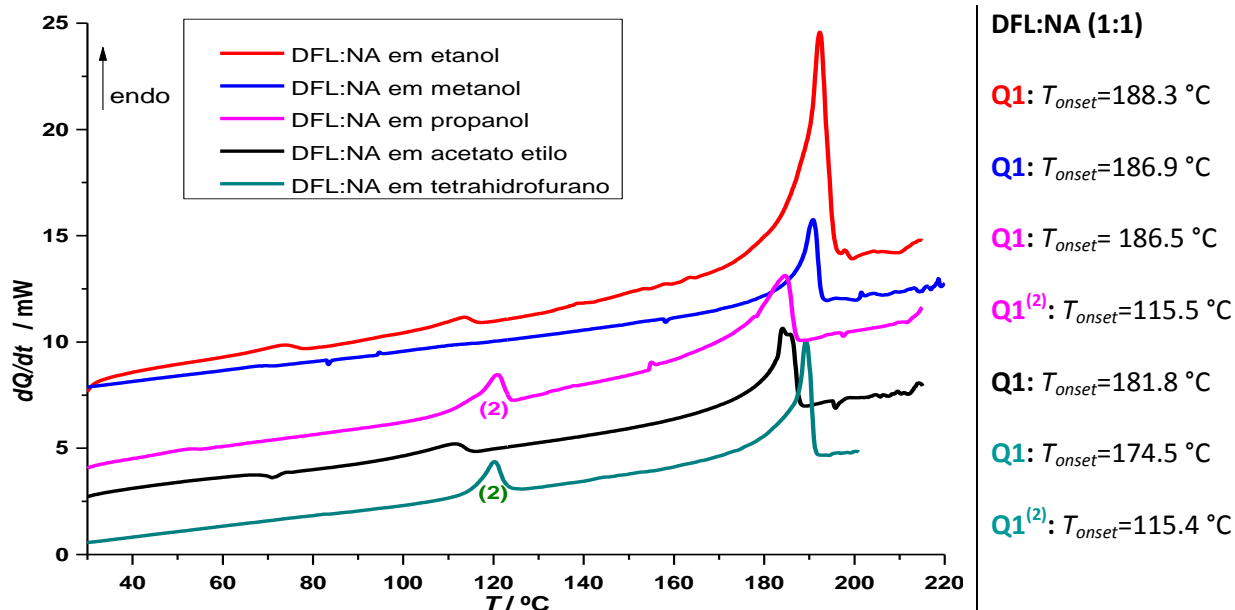


Figura 25 – Curvas de DSC do 1º aquecimento da mistura DFL/NA (1:1) cristalizada em, etanol (m =2.29 mg), metanol (m =1.32 mg), propanol (m =2.26 mg), acetato de etilo (m =2.31 mg) e tetra-hidrofurano (m =2.47 mg),  $\beta= 10\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$ .

Na Figura 26 encontram-se registadas curvas de DSC correspondentes ao primeiro aquecimento de misturas físicas de diflunisal com nicotinamida, submetidas previamente a moagem em moinho de bolas nas condições atrás indicadas. Nesta figura apresentam-se também curvas de DSC que ilustram a fusão do diflunisal utilizado e a fusão de dois polimorfos da nicotinamida.

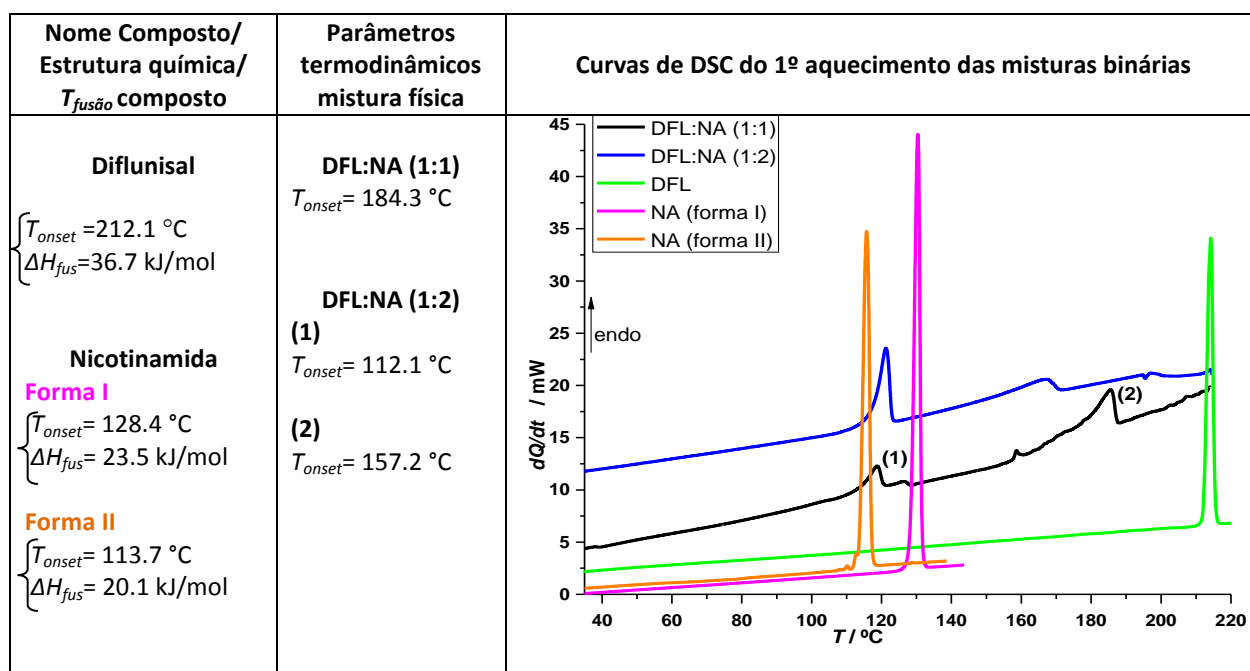


Figura 26 – Curvas de DSC do 1º aquecimento de misturas físicas DFL/NA preparadas em moinho de bolas; (1:1), m =2.16 mg e (1:2), m =2.41 mg,  $\beta= 10\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$ .

## Sistema Diflunisal-Isonicotinamida

### ● Caracterização por DSC

A curva de DSC que está presente na Figura 27, corresponde ao processo de aquecimento de uma amostra de isonicotinamida. Verifica-se que ocorre uma transformação endotérmica a qual corresponde ao processo de fusão em  $T_{onset} = (155.5 \pm 0.1) \text{ }^\circ\text{C}$ ,  $\Delta H_{fus} = (21.3 \pm 0.3) \text{ kJ mol}^{-1}$ , ( $n=2$ ).

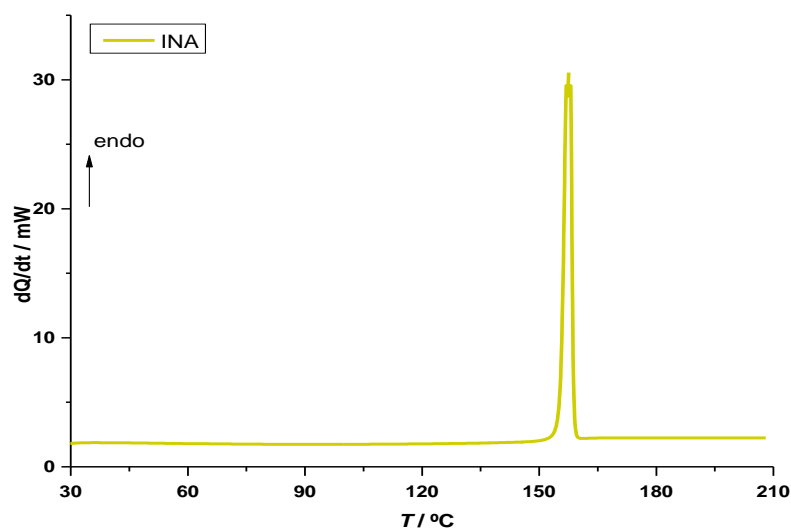


Figura 27 – Curva de DSC do 1º aquecimento de uma amostra de INA,  $m = 2.23 \text{ mg}$ ;  $\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C/min}$ .

Foram preparadas em moinho de bolas misturas físicas de diflunisal e isonicotinamida nas proporções de (1:1) e (1:2). As curvas de DSC obtidas no processo de aquecimento dos sólidos obtidos encontram-se registadas na Figura 28.

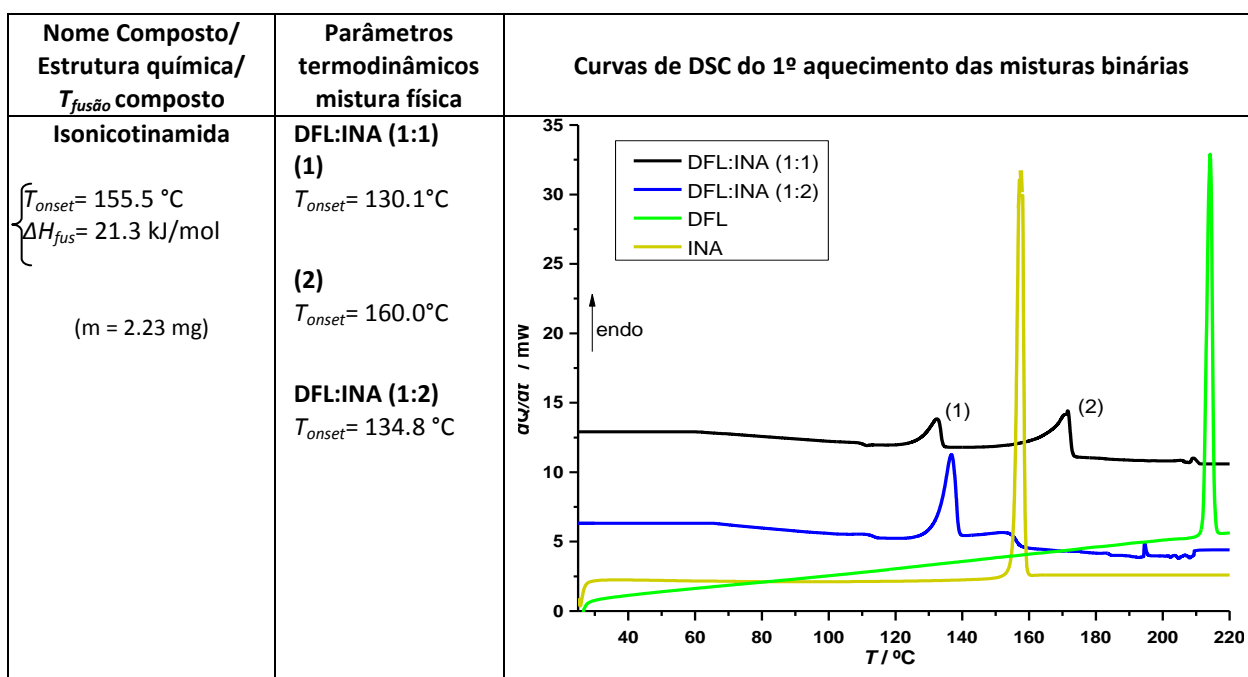


Figura 28 – Curvas de DSC do 1º aquecimento de misturas físicas DFL/INA preparadas em moinho de bolas; (1:1),  $m = 2.07 \text{ mg}$  e (1:2),  $m = 2.87 \text{ mg}$ ,  $\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C/min}$ .



A análise das curva de DSC das misturas binárias de diflunisal com nicotinamida e com isonicotinamida revelou um alargamento e deslocamento para temperaturas mais baixas dos picos de fusão relativamente à fusão dos compostos originais. Estas observações podem ser explicadas com base na equação de van't Hoff (III), a partir da qual é possível determinar a fracção molar das impurezas contidas no material.

$$T_0 - T_f = \frac{RT_0^2 \chi}{\Delta H_f} \quad \text{Equação 7}$$

Nesta equação  $T_0$  corresponde à temperatura de fusão do composto puro,  $T_{fus}$  à temperatura de fusão do composto impuro, ambas expressas em Kelvin (K), sendo R a constante dos gases ideais (8.314 J.K<sup>-1</sup>.mol<sup>-1</sup>),  $\chi$  a fracção molar da impureza e  $\Delta H_{fus}$  (J.mol<sup>-1</sup>) a entalpia de fusão do composto puro. (16) (98)

### Sistema Diflunisal-Picolinamida

#### ● Caracterização por DSC

Na Figura 29 encontra-se ilustrada uma curva de DSC correspondente ao processo de aquecimento de uma amostra de picolinamida. No processo de aquecimento observam-se três transformações endotérmicas. A transformação observada entre 70 e 85 °C, corresponde a uma transição sólido-sólido na qual ocorre a conversão de uma forma cristalina de picolinamida numa outra. Os picos registados para valores de temperatura superiores a 100 °C correspondem ao processo de fusão de duas formas polimórficas. Os parâmetros termodinâmicos característicos da forma polimórfica predominante nesta amostra são  $T_{onset} = (106.3 \pm 0.2) \text{ °C}$ ,  $\Delta H = (18.9 \pm 0.2) \text{ kJmol}^{-1}$  (n=2).

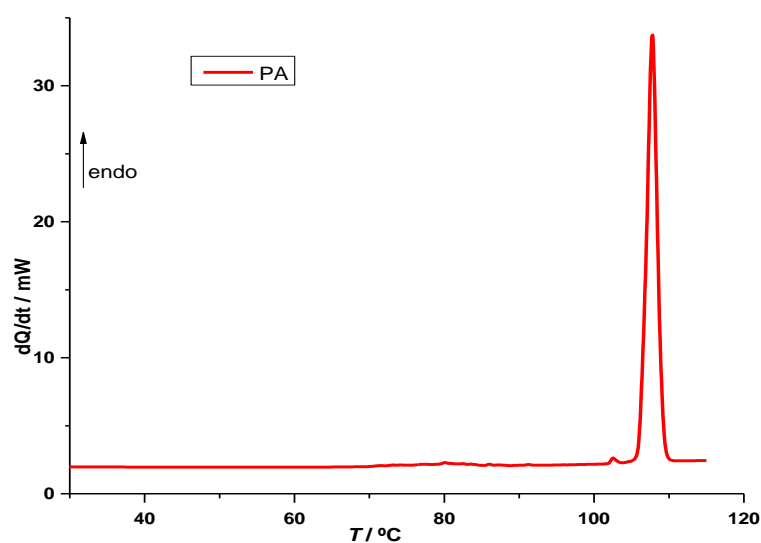


Figura 29 – Curva de DSC do 1º aquecimento de uma amostra de PA,  $m = 2.70 \text{ mg}$ ;  $\beta = 10 \text{ °C/min}$ .

Na Figura 31 encontram-se ilustradas curvas de DSC correspondentes ao primeiro aquecimento dos vários sólidos obtidos por cristalização de diflunisal/picolinamida nos diferentes solventes e dos compostos isolados cristalizados em etanol. As curvas obtidas são semelhantes, observando-se em todas apenas um pico endotérmico estreito para valores de temperatura entre 185 e 190 °C.

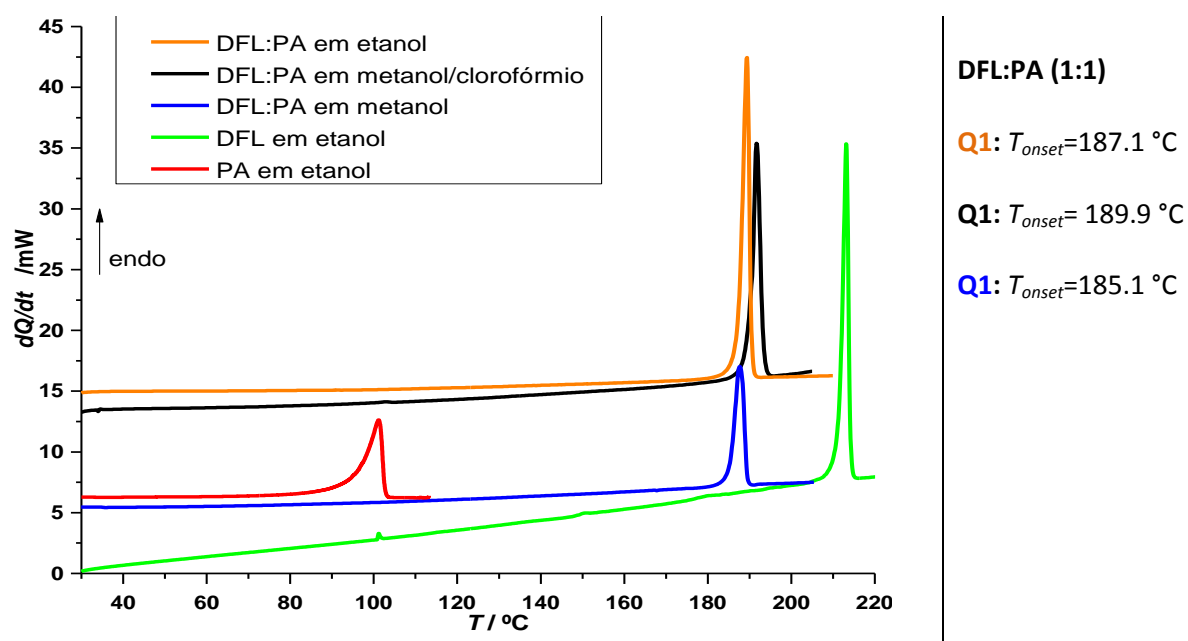


Figura 31 – Curvas de DSC do 1º aquecimento da mistura DFL/PA (1:1) cristalizada em, etanol ( $m=1.98\text{ mg}$ ), metanol/clorofórmio ( $m=1.42\text{ mg}$ ) e metanol ( $m=1.10\text{ mg}$ ),  $\beta=10\text{ °C/min}$ .

Foram, também, preparadas misturas físicas de diflunisal com picolinamida. Os sólidos foram pesados e misturados no moinho de bolas. A mistura resultante foi posteriormente analisada por DSC. As curvas de DSC obtidas apresentam-se na Figura 32.

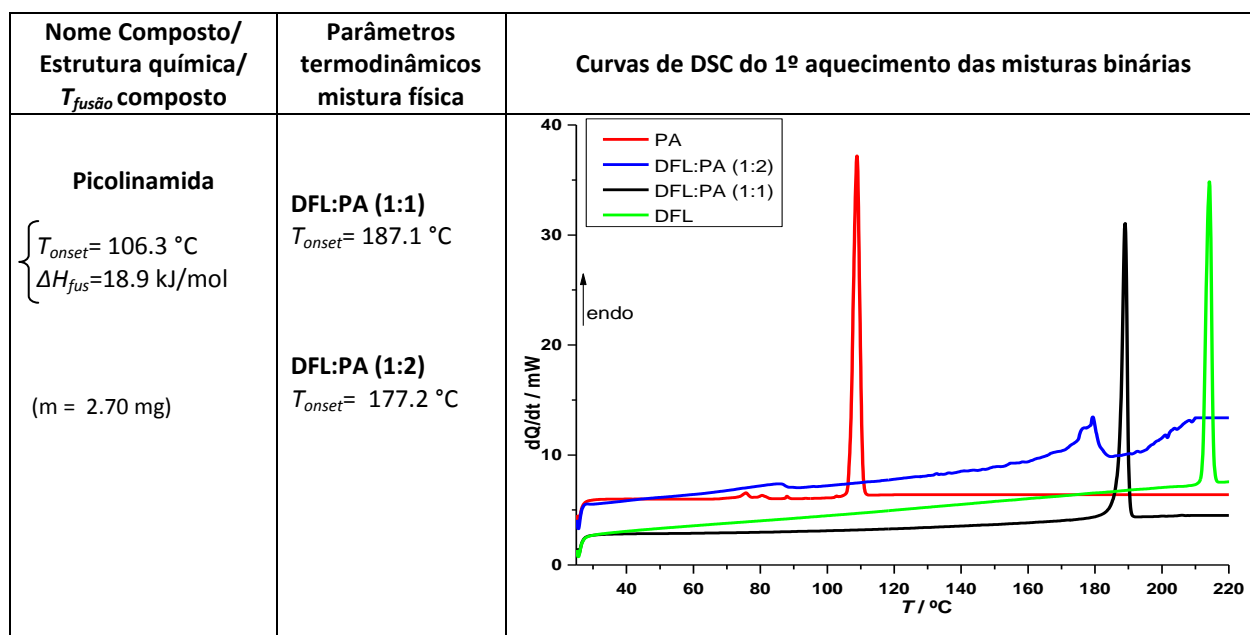


Figura 32 – Curvas de DSC do 1º aquecimento de misturas físicas DFL/PI preparadas em moinho de bolas; (1:1),  $m = 2.02\text{ mg}$  e (1:2),  $m = 2.21\text{ mg}$ ,  $\beta = 10\text{ °C/min}$ .

O comportamento térmico das misturas físicas diflunisal/picolinamida, preparadas por cristalização a partir de solução e em moinho de bolas, parece indicar a fusão de um co-cristal, pois observa-se na curva de DSC somente um pico endotérmico, a uma temperatura diferente da temperatura de fusão dos coformadores.

### Procedimento experimental para FTIR

Os espectros de absorção na região do infravermelho de amostras de diflunisal e picolinamida foram obtidos no espectrómetro Thermo Nicolet Nexus 670, na região de  $4000\text{ a }400\text{ cm}^{-1}$ , com uma resolução espectrofotométrica de  $1\text{ cm}^{-1}$ . A purga é feita com ar seco isento de dióxido de carbono.

As amostras foram moídas até que o tamanho das partículas fosse mínimo (para evitar os efeitos de espalhamento de radiação), para tal utilizou-se brometo de potássio de qualidade espectroscópica. Preparou-se a pastilha (disco) misturando-se intimamente cerca de  $1\text{ mg}$  da amostra com  $100\text{ mg}$  de KBr seco pulverizado. Fez-se a mistura por moagem num almofariz de ágata. A mistura do pó foi, posteriormente, prensada, numa prensa hidráulica a  $10\text{ ton}$  por alguns minutos. Obteve-se um disco translúcido muito frágil que foi, então, posicionado no feixe do instrumento para análise espectroscópica.

### ● Caracterização por espectroscopia de infravermelho

O espectro de infravermelho ajuda a revelar a estrutura de um novo composto, já que nos indica os grupos que estão presentes – ou ausentes – na molécula. O espectro de absorção de infravermelho do diflunisal, da picolinamida e da mistura dos dois compostos, ilustrados na Figura 30 e Figura 31, foram

realizados de forma a apresentar, ou não, diferenças entre os compostos de origem e a mistura dos dois compostos. Os compostos analisados por infravermelho foi o resultante do obtido no moinho de bolas. Avaliando os picos de absorção dos compostos de origem e comparando com os da mistura dos dois compostos verificam-se varias diferenças, entre elas a existência de um pico aos 1425 e 1290  $\text{cm}^{-1}$  no heterodímero, não se observando estas manifestações espectrais nos compostos de origem. Aquando da análise dos modos de vibração, obtidos teoricamente pelo método computacional, podemos associar a banda de 1425  $\text{cm}^{-1}$  à elongação do hidrogénio do grupo OH do diflunisal e a banda de 1290  $\text{cm}^{-1}$  à rotação dos hidrogénios do anel aromático do diflunisal que contem os átomos de flúor. Estes dados apontam para a existência de diferentes ligações químicas ou fragmentos moleculares de natureza distinta na substância produzida. Podemos também verificar que há picos de absorção devidos a certos grupos funcionais nos compostos puros que se apresentam desviados no espectro de infravermelho da mistura dos dois compostos, o que pode indiciar a alteração das constantes de força correspondentes a alguns modos vibracionais. Este é o caso das bandas devidas à distensão das ligações simples carbono-carbono do anel aromático, situadas entre 1500 e 1600  $\text{cm}^{-1}$ , e das ligações duplas a 1650  $\text{cm}^{-1}$  encontrando-se no heterodímero a 1600  $\text{cm}^{-1}$  (Figura 30). O grupo OH no ácido carboxílico apresenta uma banda larga que se estende de 2500 a 3500  $\text{cm}^{-1}$ , típica de forte ponte de hidrogénio.

A região do espectro de frequência mais baixas (Figura 32) é de interpretação mais difícil, com maior ruído e onde se observam as manifestações de muitos modos de vibração, por vezes sujeitos a desdobramentos. Nos anéis aromáticos, as flexões das ligações C-H para fora do plano produzem absorção na região de 650-900  $\text{cm}^{-1}$ .

Os desvios das bandas de absorção podem-se dever a várias alterações estruturais – conjugação, atracção de electrões por um grupo vizinho, tensão angular, tensão de van der Waals, ligações de hidrogénio – e tomada por uma banda de um grupo inteiramente diferente.

A espectroscopia de infravermelho foi utilizada neste trabalho para avaliar a formação de co-cristal. O que foi exposto anteriormente parece indicar a formação de um co-cristal. No entanto, dada a complexidade dos espectros de IV há a necessidade de explicar de forma mais precisa, as bandas observadas nos espectros dos compostos de origem.

No espectro de absorção do diflunisal a região de alta frequência do infravermelho é dominada por bandas associadas a modos de vibração atribuídos à elongação de ligações carbono-hidrogénio e oxigénio-hidrogénio, enquanto o espectro de infravermelho da picolinamida é altamente caracterizado pelos dois modos de elongação do grupo  $-\text{NH}_2$  e um forte modo de alongamento  $\text{C}=\text{O}$ . O diflunisal apresenta uma banda de intensidade elevada no modo de vibração de elongação do grupo carbonilo aos 1670  $\text{cm}^{-1}$  e outra de menor intensidade do grupo fenol aos 1620  $\text{cm}^{-1}$ . É ainda observada uma banda aos 1340  $\text{cm}^{-1}$ , correspondente à ligação que envolve os átomos de flúor. A absorção na região entre 3600 - 2700  $\text{cm}^{-1}$  é associada às vibrações de deformação axial nos átomos de hidrogénio ligados ao carbono, oxigénio e nitrogénio (C-H, O-H e N-H). Na picolinamida observa-se aos 3200  $\text{cm}^{-1}$  (Figura 31) um pico associado à ao grupo amida. A conjugação do grupo  $\text{C}=\text{O}$  com  $\text{C}=\text{C}$  é observada na picolinamida sendo a frequência da elongação observada a aproximadamente 1670  $\text{cm}^{-1}$ . Algumas destas bandas dos compostos puros são

observadas também na mistura dos dois compostos, mas na sua maioria apresentam desvios das bandas originais.

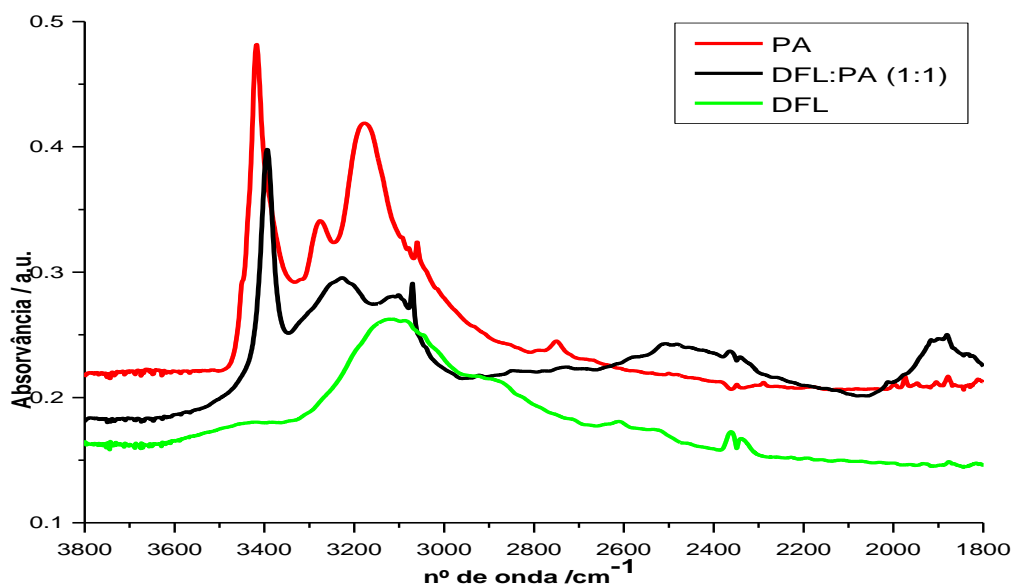


Figura 30 – Espectro de IV de uma amostra de diflunisal, picolinamida e da mistura DFL/PA (1:1), na gama de 3800 a 1800  $\text{cm}^{-1}$ .

A ausência de alterações em algumas bandas indica que os padrões de movimento molecular do sintão supramolecular da mistura dos dois compostos não são significativamente diferentes em relação aos dos compostos puros iniciais. Este facto indica que a força dos sintões supramolecular dos homodímeros (isto é, do diflunisal e da picolinamida) não são fortemente alteradas mediante a formação do sintão formado no heterodímero DFL:PA.

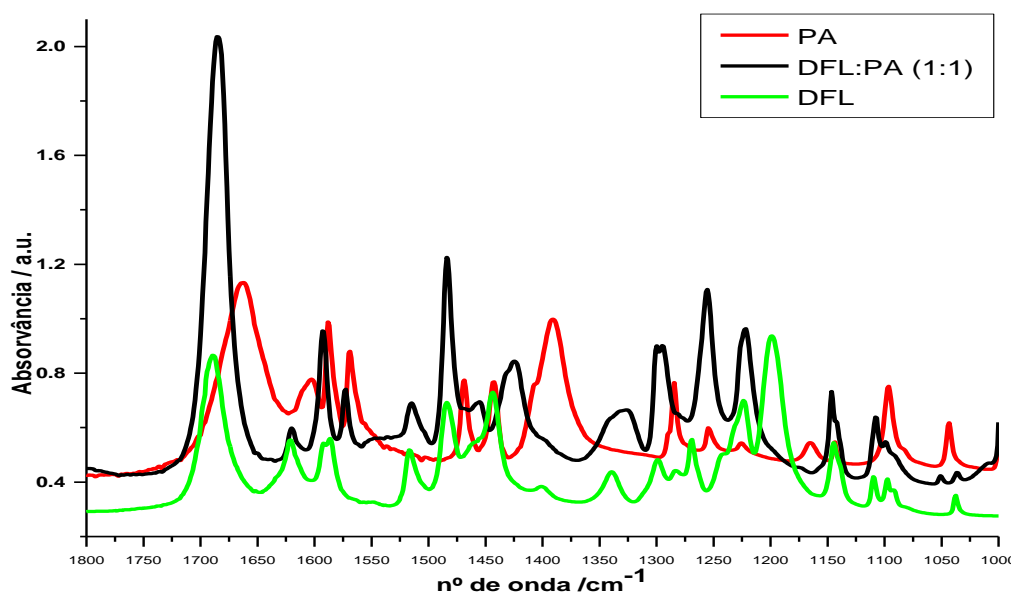


Figura 31 – Espectro de IV de uma amostra de diflunisal, picolinamida e da mistura DFL/PA (1:1), na gama de 1800 a 1000  $\text{cm}^{-1}$ .

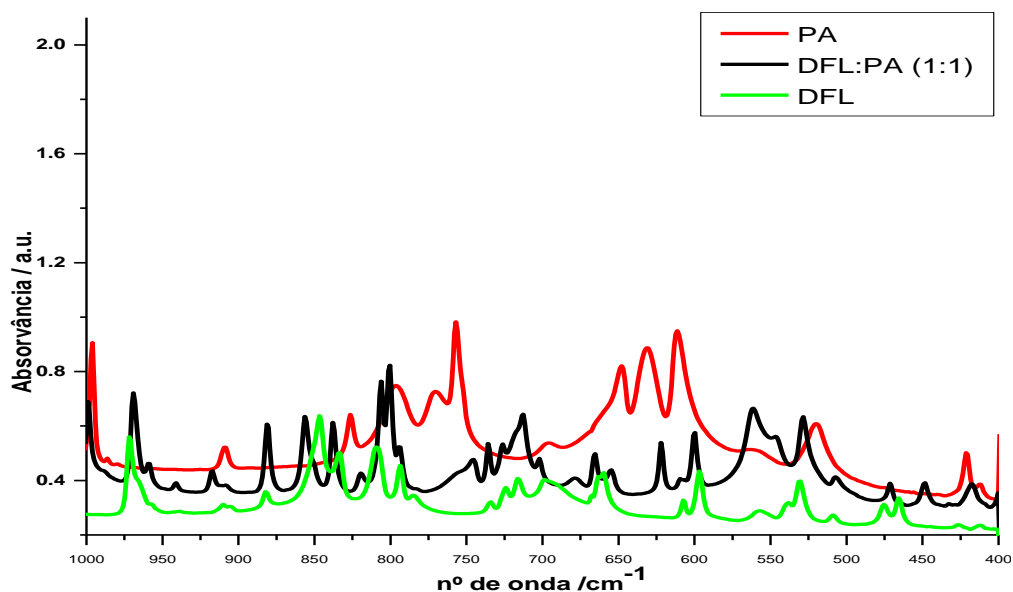


Figura 32 - Espectro de IV de uma amostra de diflunisal, picolinamida e da mistura DFL/PA (1:1), na gama de 1000 a 400  $\text{cm}^{-1}$ .

### Procedimento experimental para PXRD

O método de difracção de raios-X de pó consiste em fazer incidir o feixe de raios-X sobre um pó (conjunto aglomerado de microcristais). Dependendo da composição atómica e da orientação espacial do cristal, haverá reflexão do feixe de raios-X, que é registada sob a forma gráfica.

Os espectros de raios-X de diflunisal, picolinamida e das misturas foram obtidos num difractómetro de pó ENRAF-NONIUS (equipado com o detector CPS120 por INEL), que faz uso da geometria Debye-Scherrer, do Departamento de Física da Universidade de Coimbra.

Os difractogramas foram obtidos para a radiação  $\text{Cu K } \alpha_1$  ( $\lambda = 1.540598 \text{ \AA}$ ), sendo os dados recolhidos durante 5 h. Como calibrante externo foi usado o  $\text{AlK}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ .

### ● Caracterização por difracção de raios-X

A fim de avaliar/confirmar a existência do co-cristal diflunisal-picolinamida, efectuaram-se espectros de difracção de raios-X de pó do diflunisal de origem, da picolinamida de origem e da mistura equimolar dos dois compostos (DFL:PA), sendo os compostos resultantes da cristalização em solução (Figura 33). As figuras de difracção de raios-X mostram de forma mais clara algumas das diferenças estruturais evidenciadas pelo IV. Embora ambas as substâncias puras apresentem um pico de difracção em torno de  $13^\circ$ , a mistura dos dois compostos revela abaixo dos  $13^\circ$  dois picos de espalhamento bastante distintos das substâncias de origem. Próximo dos  $16^\circ$  é possível observar um pico de alguma intensidade que não se visualiza nem no difractograma de pó do diflunisal nem no difractograma de pó da picolinamida. Picos de forte dispersão,

característicos da substância pura do diflunisal perto dos  $22^\circ$  e picos de menor intensidade aos  $32,5^\circ$  e  $37^\circ$ , não se revelam no difractograma de pó do heterodímero. Pode verificar-se que não há correspondência nos padrões de difracção das matérias-primas relativamente à mistura dos dois compostos, concluindo-se que aparentemente estamos na presença de um co-cristal. Há que referir que não dispo de da possibilidade de obter as reflexões em monocristal, acabamos por ver limitadas as informações/conclusões que podemos extrair do estudo levado a cabo por este método.

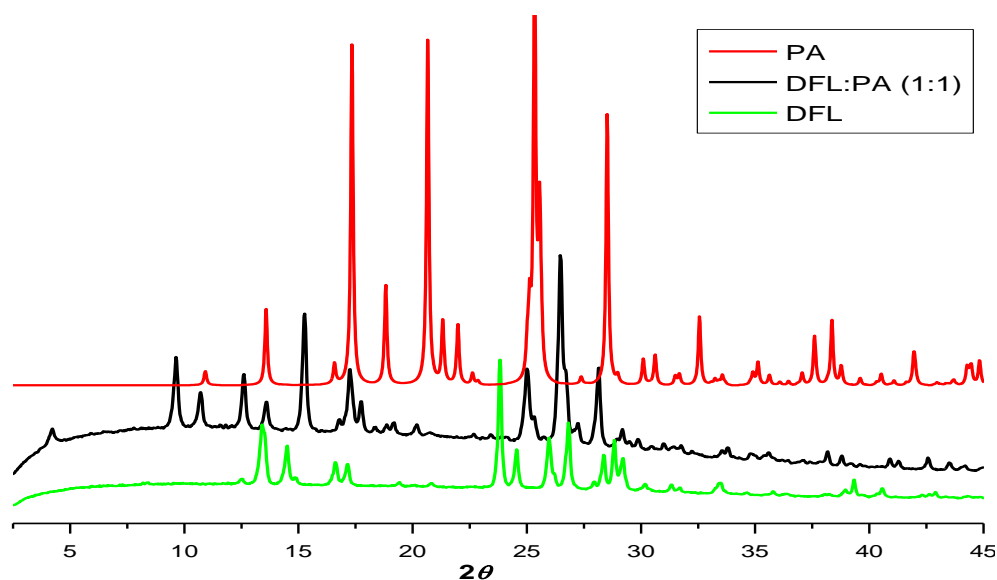


Figura 33 – Espectros de difracção de raios-X de pó de uma amostra de diflunisal, picolinamida da mistura DFL/PA (1:1).

## Capítulo 3

### 3.1 Conclusão

Formas farmacêuticas em que o princípio activo se apresenta no estado sólido, são de especial importância e requerem particular atenção uma vez que a dissolução pode ser afectada de forma significativa por características inerentes ao próprio API, bem como pela presença de excipientes. O estudo de pré-formulação é fundamental para que se possa garantir a qualidade de formas farmacêuticas.

A possibilidade de formação de ligações intermoleculares de homodímeros/heterodímeros do diflunisal e isómeros de piridina-carboxamida foi avaliada por métodos de modelação molecular. Conclui-se haver mais tendência para a formação do dímero diflunisal-diflunisal (Energia dimerização =  $-61.50 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ ) do que para a formação do dímero diflunisal-nicotinamida (Energia dimerização =  $-59.13 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ ), pois as ligações intermoleculares são mais fortes no primeiro caso, o que leva a uma maior estabilidade da estrutura. A diferença de energia para o sintão I ( $-9.1 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ ) vem reforçar essa mesma ideia. Para o sintão II a diferença de energia ( $28.32 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ ) dá um valor positivo indicando que a formação do heterodímero é favorecida. Apesar disso há que ter em conta o início do parágrafo onde se conclui, pelas energias de dimerização, que é pouco provável a sua formação. De facto, não há evidência de obtenção de qualquer co-cristal para a mistura diflunisal-nicotinamida com os procedimentos experimentais utilizados, apesar da energia de dimerização entre o homodímero do diflunisal e o heterodímero ser muito baixa (próxima de  $2 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ ).

Analisando as energias obtidas através de cálculos computacionais relativos aos homodímeros/heterodímero do sistema diflunisal/picolinamida conclui-se que é favorável a formação de um co-cristal com estes dois compostos, quer para o sintão I (diferença de energia =  $66.4 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ ) quer para o sintão II (diferença de energia =  $96.4 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ ), o que veio a ser confirmado experimentalmente. Na análise aos cálculos de DFT (B3LYP/6-31++G\*\*) observa-se a mesma tendência apresentada no cálculo M06.

Os estudos de DSC permitiram concluir que o diflunisal utilizado nos estudos laboratoriais se apresenta na forma polimórfica II e a nicotinamida na forma polimórfica I. A cristalização destes compostos em solventes não revelou a formação de outras formas polimórficas. A picolinamida funde a uma temperatura  $106.3 \text{ }^\circ\text{C}$ , não revelando qualquer alteração quando cristalizada em etanol e submetida ao estudo por DSC. A isonicotinamida apresenta uma temperatura de fusão de  $155.5 \text{ }^\circ\text{C}$ .

Foram preparadas misturas de diflunisal, nicotinamida e picolinamida utilizando dois procedimentos experimentais: dissolução dos dois compostos em vários solventes seguida de cristalização à temperatura ambiente por evaporação do solvente, e mistura física por moagem num moinho de bolas. Para a mistura de diflunisal e isonicotinamida apenas se utilizou o segundo procedimento. A mistura de diflunisal e a nicotinamida não apresentaram diferenças de resultados nos dois métodos. Na análise térmica não foi revelada a existência de interações entre as duas substâncias, já que se observa apenas um alargamento e um abaixamento da temperatura de fusão dos compostos.

O aquecimento dos sólidos obtidos por mistura física de diflunisal com isonicotinamida revelou um comportamento idêntico ao das misturas diflunisal/nicotinamida.



Os resultados de DSC relativos às misturas diflunisal/picolinamida, para os dois métodos experimentais usados, mostraram que neste sistema ocorre a formação de um pico endotérmico único, evidenciando a formação de um co-cristal.

O estudo por espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier prova a importância das ligações de hidrogénio no estabelecimento do sintão supramolecular no co-cristal. Os desvios de algumas bandas no espectro de IV e o aparecimento/desaparecimento de outras vêm confirmar a presença de um novo composto.

A difracção de raios-X é um método que por si só pode identificar novos compostos. Todavia, não dispondo de monocristais, o estudo de raios-X foi usado na determinação de difractogramas de pó dos compostos de origem e da mistura dos compostos. O difractograma da mistura equimolar revelou-se diferente dos difractogramas dos compostos de origem, o que nos leva a concluir a presença de um co-cristal.

Conclui-se assim que metodologia de modelação molecular conseguiu, apesar dos limites impostos ao modelo, prever com sucesso qual dos compostos é passível de formar co-cristal. Podemos afirmar que o uso de métodos computacionais no estudo de co-cristais é uma mais-valia, já que se consegue prever antecipadamente se haverá ou não a sua formação. As vantagens reflectem-se num menor tempo de actividade experimental e no custo, pois é evitado o desperdício dos compostos durante as tentativas de formação de co-cristais.

# Bibliografia

1. **Mettler Toledo**. <http://www.micronal.com.br/farmaceuticas.pdf>. *micronal*. [Online] [Citação: 6 de Janeiro de 2009.]
2. **Andrew V Trask**. An Overview of Pharmaceutical Cocrystals as Intellectual Property. *Molecular Pharmaceutics*. 2007, Vol. 4 (3), pp. 301-309.
3. **Piotr H. Karpinski**. Polymorphism of Active Pharmaceutical Ingredients. *Chemical Engineering & Technology*. 2006, Vol. 29 (2), pp. 233-237.
4. **Katie R. Mitchell-Koch, Adam J. Matzger**. Evaluating Computational Predictions of the Relative Stabilities of Polymorphic Pharmaceuticals. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2008, Vol. 97 (6), pp. 2121-2128.
5. **Moji Christianah Adeyeye, Brittain, Harry G.** *Preformulation in Solid Dosage Form Development*. 2ª. s.l. : Informa Health Care, 2008. p. 1. Vol. 178.
6. **Evanisa Maria Arone, Ana Beatriz Destruti**. *Introdução à Farmacologia*. 7ª. São Paulo : Senac - SP, 1999. pp. 9-10.
7. **Sherry L. Morissette, Almarssona, Orn e Petersona, Matthew L.** High-throughput crystallization: polymorphs, salts, co-crystals and solvates of pharmaceutical solids. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 56, 2004, pp. 275-300.
8. **Alexander Taylor Florence, Attwood D., Rothschild Zuleika**. *Princípios físico-químicos em farmácia*. 1ª. s.l. : EDUSP, 2003. pp. 36-38;42-45.
9. **Martin E. Reyes Melo, Moisés Hinojosa Rivera**. Estructura de sólidos amorfos. *Ingenierías*. Outubro-Dezembro de 2000, Vol. III (9), pp. 7-14.
10. **Mikell P. Groover** *Fundamentos de manufactura moderna: materiales, procesos y sistemas*. [trad.] Miguel Ángel Martínez Sarmiento Carlos M. de la Peña Gómez. 1ª. Estado do México : Pearson Educación, 1997. pp. 31-39.
11. **Paulo Cesar Pereira das Neves, Flávia Shenato e Bachi, Flávio Antonio**. *Introdução à mineralogia prática*. 2. Canoas : Editora da ULBRA, 2003. pp. 14-15. (16) 9. **William J Sichina**, Characterization of pharmaceuticals using thermal analysis. [ed.] International Scientific Communications. *American laboratory*. 2001, Vol. 33 (1), p. 16-35.
12. **Angelo Fernando Padilha**. *Materiais de Engenharia: Microestrutura e Propriedades*. Curitiba : Hemus, 1997. pp. 17;61-62.
13. **Sihui Long, Sean Parkin, Maxime A. Siegler, Arthur Cammers, Tonglei Li**. Polymorphism and Phase Behaviors of 2-(Phenylamino)nicotinic acid. *Crystal Growth & Design*. 2008, Vol. 8 (11), pp. 4006–4013.
14. **Melanie R. Hauser, Lev Zhakarov, Kenneth M. Doxsee, Tonglei Li**. Polymorphism of a Simple Organic Amide. *Crystal Growth & Design*. 2008, Vol. 8 (12), pp. 4428–4431.
15. **J. H. ter Horst, M. A. Deij, P. W. Cains**. Discovering New Co-Discovering New Co-Crystals. *Crystal Growth & Design*. 2009, Vol. 9 (3), pp. 1531–1537.

16. **William J. Sichina.** Characterization of pharmaceuticals using thermal analysis. *American laboratory*. 2001, Vol. 33 (1), pp. 16-35.
17. **Ning Shan, Zaworotko, Michael J.** The role of cocrystals in pharmaceutical science. *Drug Discovery Today*. 2008, Vols. 13 (9-10), p. 440-446.
18. **Jay R. Smith, Weizong Xu, Daniel Raftery.** Analysis of Conformational Polymorphism in Pharmaceutical Solids Using Solid-State NMR and Electronic Structure Calculations. *The Journal of Physical Chemistry. B.* 2006, Vol. 110 (15), pp. 7766-7776
19. **Joop H. Horst, Peter W. Cains.** Co-Crystal Polymorphs from a Solvent-Mediated Transformation. *Crystal Growth & Design*. 2008, Vol. 8 (7), p. 2537-2542.
20. **Vishweshwar, Peddy, McMahon, Jennifer A. e Peterson, Matthew L.** Pharmaceutical Co-Crystals. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2006, Vol. 95 (3), pp. 499-516.
21. **N. Jagadeesh Babu, L. Sreenivas Reddy, and Ashwini Nangia.** Amide–N-Oxide Heterosynthon and Amide Dimer Homosynthon in Cocrystals of Carboxamide Drugs and Pyridine N-Oxides. *Molecular Pharmaceutics*. 2007, Vol. 4 (3), pp. 417-434.
22. **Desiraju, Gautam R.** Polymorphism: The Same and Not Quite the Same. *Crystal Growth & Design*. 2008, Vol. 8 (1), pp. 3-5.
23. **Srinivas Basavoju, Dan Boström, Sitaram P. Velaga.** Pharmaceutical Cocrystal and Salts of Norfloxacin. *Crystal Growth & Design*. 2006, Vol. 6 (12), pp. 2699-2708.
24. **Christer B. Aakeröy, Debra J. Salmon.** Building co-crystals with molecular sense and supramolecular sensibility. *CrystEngComm*. 2005, Vol. 7, pp. 439 - 448.
25. **Shyam Karki, Tomislav Frii and William Jones.** Control and interconversion of cocrystal stoichiometry in grinding: stepwise mechanism for the formation of a hydrogen-bonded cocrystal. *CrystEngComm*. 2009, Vol. 11, pp. 470-480.
26. **M. A. Elbagerma, H. G. M. Edwards, T. Munshi, M. D. Hargreaves, Pavel Matousek, I. J. Scowen.** Characterization of New Cocrystals by Raman Spectroscopy, Powder X-ray Diffraction, Differential Scanning Calorimetry, and Transmission Raman Spectroscopy. *Crystal Growth & Design*. 2010, Vol. 10 (5), pp. 2360-2371.
27. **Tomislav Friseić, William Jones.** Recent Advances in Understanding the Mechanism of Cocrystal Formation via Grinding. *Crystal Growth & Design*. 2009 , Vol. 9 (3), pp. 1621–1637.
28. **Nair Rodríguez-Hornedo.** Cocrystals: Molecular Design of Pharmaceutical Materials. *Molecular Pharmaceutics*. Vol. 4 (3), pp. 299-300.
29. **Harry G. Brittain** Vibrational Spectroscopic Studies of Cocrystals and Salts. 3. Cocrystal Products Formed by Benzenecarboxylic Acids and Their Sodium Salts. *Crystal Growth & Design*. 2009, Vol. 9 (5).
30. **Sekhon BS.** Pharmaceutical co-crystal - a review. *ARS Pharmaceutica*. 2009, Vol. 50 (3), pp. 99-117.
31. **Katsuhiko Ariga Kunitake, Toyoki.** *Supramolecular Chemistry –Fundamentals and Applications*. 1<sup>a</sup>. s.l. : Springer, 2006. p. 1.
32. **Peddy Vishweshwar, Jennifer A. McMahon, Matthew L. Peterson, Magali B. Hickey, Tanise R. Shattocka, Michael J. Zaworotko.** Crystal engineering of pharmaceutical co-crystals from polymorphic active pharmaceutical ingredients. *Chemical communications*. 2005, Vol. 36, p. 4601-4603.

33. **Sujit Sasmala, Susanta Hazraa, Sohini Sarkara, Sasankasekhar Mohantaa.** Designed synthesis, structure, and 3-D topology of a supramolecular dimer and inorganic-organic cocrystal. *Journal of Coordination Chemistry*. 2010, Vol. 63 (10), pp. 1666-1677.
34. **Lemmerer A, Esterhuysen C, Bernstein J.** Synthesis, characterization, and molecular modeling of a pharmaceutical co-crystal: (2-chloro-4-nitrobenzoic acid):(nicotinamide). *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2010, Vol. 99 (9), pp. 4054-4071.
35. **German L. Perlovich, Lars Kr. Hansen, Annete Baur-Brandl.** Interration between Thermochemical and Structural Data of Polymorphs Exemplified by Diflusal. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2001, Vol. 91 (4), pp. 1036-1046.
36. **Afrânio Alen Martins da Luz.** [Online] [Citação: 3 de Novembro de 2009.] [http://www.fortium.com.br/faculdedefortium.com.br/afranio\\_alen/material/8809.pdf](http://www.fortium.com.br/faculdedefortium.com.br/afranio_alen/material/8809.pdf).
37. **Kristina E. Ward, Raoul Archambault, Tracey L. Mersfelder.** Severe adverse skin reactions to nonsteroidal antiinflammatory drugs: A review of the literature. *American Journal of Health-System Pharmacy*. 2010, Vol. 67 (3), pp. 206-213.
38. **Guang-Xiang Zhong, Lu-Lu Chen, Hai-Bo Li, Fu-Jin Liu, Jin-Qing Hu, Wei-Xiao Hu.** Synthesis and biological evaluation of amide derivatives of diflunisal as potential anti-tumor agents. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 2009, Vol. 19 (15), pp. 4399-4402.
39. **Shigeo Yamamura, Hiroaki Gotoh, Yohko Sakamoto, Yasunori Momose.** Physicochemical properties of amorphous salt of cimetidine and diflunisal system. *International Journal of Pharmaceutics*. 2002, Vol. 241, pp. 213-221.
40. **M. C. Martínez-Ohárriz, C. Rodríguez-Espinosa, C. Martín, M. M. Goñi, M. C. Tros-Ilarduya, and M. Sánchez.** Solid Dispersions of Diflunisal-PVP: polymorphic and Amorphous States of the Drug. *Drug Development and Industrial Pharmacy*. 2002, Vol. 28 (6), pp. 717-725.
41. **K. D. Rainsford.** *Aspirin and Related Drugs*. 1ª. s.l. : CRC Press, 2004. pp. 132-134.
42. **Harry G. Brittain, Bruce J. Helder, Paul K. Isbester, and Allen H. Salerno.** Solid-State Fluorescence Studies of Some Polymorphs os Diflunisal. *Pharmaceutical Research*. 2005, Vol. 22 (6), pp. 999-1006.
43. **Wendy I. Cross, Nicholas Blagden, and Roger J. Davey.** A Whole Output for Polymorph Screening: Combining Crystal Structure Prediction, Graph Set Analysis, and Targeted Crystallization Experiments in the Case of Diflunisal. *Crystal Growth & Design*. 2003, Vol. 3 (2), pp. 151-158.
44. **M. C. Martínez-Oharriz, C. Martín, M. M. Goñi, C. Rodríguez-Espinosa, M. C. Tros de Ilarduya-Apaolaza, and M. Sánchez.** Polymorphism of Diflunisal: Isolation and Solid-State Characteristics of New Crystal Form. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 1994, Vol. 83 (2), pp. 174-177.
45. **E. Weber, Yasuhiro Aoyama.** *Design of Organic Solids*. 1ª. s.l. : Springer, 1998. p. 192.
46. **Harry G. Brittain, Harry Ed. Brittain.** *Physical Characterization of Pharmaceutical Solids*. 1ª. s.l. : Informa Healthcare, 1995. pp. 239-243. Vol. 70.
47. **Tomoaki Hino, James L. Ford, Mark W. Powell.** Assessment of nicotinamide polymorphs by differential scanning calorimetry. *Thermochimica Acta*. 2001, Vol. 374, pp. 85-92.
48. **Steve Blacke.** *Vitamins and Minerals Demystified*. s.l. : McGraw-Hill Professional, 2007. p. 19.
49. **Jose Milton Andriguetto, L. Perly.** *Nutrição Animal: bases e fundamentos*. s.l. : Nobel, 1990. p. 154.

50. **Kumar M, Jaiswal S, Singh R, Srivastav G, Singh P, Yadav TN, Yadav RA.** Ab initio studies of molecular structures, conformers and vibrational spectra of heterocyclic organics: I. Nicotinamide and its N-oxide. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 2010, Vol. 75, pp. 281-292.
51. **Rosane Maria Jorio Nogueira.** O Uso da Nicotinamida em Medicina Estética. *www.sbme.org.br*. [Online] Julho de 2004. [Citação: 10 de Janeiro de 2009.] [http://www.sbme.org.br/portal/download/revista/16/03\\_nicotinamida.pdf](http://www.sbme.org.br/portal/download/revista/16/03_nicotinamida.pdf).
52. **Ana Borba, Merwe Albrecht, Andrea Gómez-Zavaglia, Leszek Lapinski, Maciej J. Nowak, Martin A. Suhm and Rui Fausto.** Physical Chemistry Chemical Physics. *Dimer formation in nicotinamide and picolinamide in the gas and condensed phases probed by infrared spectroscopy*. 2008, Vol. 10, pp. 7010-7021.
53. **S. Ramalingama, S. Periandyb, M. Govindarajanc, S. Mohand.** FT-IR and FT-Raman vibrational spectra and molecular structure investigation of nicotinamide: A combined experimental and theoretical study. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 2010, Vol. 75, pp. 1552–1558.
54. **Ana Borba, Andrea Gómez-Zavaglia, R. Fausto.** Molecular Structure, Vibrational Spectra, Quantum Chemical Calculations and Photochemistry of Picolinamide and Isonicotinamide Isolated in Cryogenic Inert Matrixes and in the Neat Low-Temperature Solid Phases. *The Journal of Physical Chemistry A*. 2008, Vol. 112 (1), pp. 45–57.
55. **Hiroshi Okamoto.** *Molecular biology of the islets of Langerhans*. 1ª. New York : Cambridge University Press, 1990. pp. 210-216.
56. **E. Akalin, A. Yilmaza, S. Akyuza.** Vibrational analysis of isonicotinamide. *Journal of Molecular Structure*. 2005, Vols. 744-747, pp. 881-886.
57. **Dario Braga, Fabrizia Grepioni.** *Making crystals by design: methods, techniques and applications*. Bologna : Wiley-VCH, 2007. p. 228.
58. **J. Seliger, V. Žagar.** 14N NQR study of nicotinamide and related compounds. *Magnetic Resonance in Chemistry*. 2008, Vol. 46 (1), pp. 58-62.
59. **Fernandes, Fernando M. S. Silva.** *Cadernos Didáticos de Ciências*. [www.des.min-edu.pt] s.l. : Ministério da Educação Departamento do Ensino Secundário, Janeiro de 2001. Química Computacional - Uma seta na direcção do século XXI.
60. **Fang-Fang Jian, Pu-Su Zhao, Yu-Feng Li, Xian Wang, Qing Yu.** A combined computational and experimental approach for investigating a hydrogen-bonded supermolecular compound comprising benzimidazole and malonic acid. *International Journal of Quantum Chemistry*. 2008, Vol. 108 (3), pp. 521-531.
61. **Antonio Monge, C. Robin Ganellin.** [Online] 2006. [Citação: 15 de Fevereiro de 2010.] [www.iupac.org/publications/cd/medicinal\\_chemistry/](http://www.iupac.org/publications/cd/medicinal_chemistry/).
62. **Eliezer J. Barreiro e Carlos Rangel Rodrigues.** Modelagem Molecular: uma ferramenta para o planejamento racional de fármacos. *Química Nova*. 1997, Vol. 20 (1), p. 300-310.
63. **Allen B. Richon** An Introduction to Molecular Modeling. <http://www.netsci.org/>. [Online] 1994. <http://www.netsci.org/Science/Compchem/feature01.html> .
64. [http://prolina.df.ibilce.unesp.br/xtal/cristal\\_wfa.pdf](http://prolina.df.ibilce.unesp.br/xtal/cristal_wfa.pdf)

65. **Doris e. Braun, Thomas Gelbrich, Volker Kahlenberg, Richard Tessadri, Josef Wieser, Ulrich J. Griesser.** Conformational Polymorphism in Aripiprazole: Preparation, Stability and Structure of Five Modifications. *Journal of Pharmaceutical Sciences* . 2009, Vol. 98 (6).
66. **Suzanne W. Slayden.** comp-chem. [Online] [Citação: 2 de Agosto de 2010.] <http://classweb.gmu.edu/sslayden/Chem350/manual/docs/comp-chem.pdf>.
67. **Alejandra Favila, Marco Gallo, Daniel Glossman-Mitnik.** CHIH-DFT determination of the molecular structure infrared spectra, UV spectra and chemical reactivity of three antitubercular compounds: Rifampicin, Isoniazid and Pyrazinamide. *Journal of Molecular Modeling*. 2007, Vol. 13 (4), pp. 505-518.
68. **Daniel Glossman-Mitnik.** CHIH-DFT Determination of the Molecular Structure and Infrared and Ultraviolet Spectra of Azathiophenes. *Chemistry and Materials Science*. 2007, Vol. 117 (1) , pp. 57-68.
69. **Andrew R. Leach.** *Molecular Modelling: Principles and Applications*. 2ª. s.l. : Pearson Education, 2001.
70. **Hélio F. Dos Santos.** Análise conformacional de modelos de lignina. *Química Nova*. 2001, Vol. 24 (4), pp. 480-490.
71. **Carlos Mauricio R. Sant'Anna** Glossário de termos usados no planejamento de fármacos (recomendações da iupac para 1997). *Química Nova*. 2002, Vol. 25 (3), pp. 505-512.
72. **Nelson H. Morgon e Rogério Custodio.** Teoria do Funcional de Densidade. *Química Nova*. 1995, Vol. 18 (1), pp. 44-55.
74. Peter **Atkins, Julio de Paula.** *Atkins - Físico-Química*. 7ª. s.l. : LTC Editora, 2002. Vol. 2.
75. **Heitor Avelino de Abreu.** *Estudo de Sistemas Químicos Aplicando-se a Teoria do Funcional de Densidade*. Belo Horizonte : s.n., 2004.
76. **Ming Wah Wong.** Vibrational frequency prediction using density functional theory. *Chemical Physics Letters*. 1996, Vol. 256, pp. 391-399
77. **Attila Szabó, Neil S. Ostlund.** *Modern quantum chemistry: introduction to advanced electronic structure theory*. New York : Courier Dover Publications, 1996.
78. **M. P. Andersson, P. Uvdal.** New Scale Factors for Harmonic Vibrational Frequencies Using the B3LYP Density Functional Method with the Triple- Basis Set 6-311+G(d,p). [ed.] American Chemical Society. *The Journal of Physical Chemistry A*. 2005, Vol. 109, pp. 2937-2941.
79. **Tatiana V. Timofeeva, Genevieve H. Kuhn, Volodymyr V. Nesterov, Vladimir N. Nesterov, Donald O. Frazier, Benjamin G. Penn, Mikhail Yu. Antipin.** Cocrystal of 1,1-Dicyano-2-(4-hydroxyphenyl)-ethene with L-Proline and Induced Conformational Polymorphism of 1,1-Dicyano-2-(4-hydroxy- 3-methoxyphenyl)-ethen. *Crystal Growth & Design*. 2003, Vol. 3 (3), pp. 383–391.
80. **C.J. Cramer** *Essentials of Computational Chemistry*. s.l. : Wiley, 2002. p. 336.
81. **Valero R, Costa R, de P R Moreira I, Truhlar DG, Illas F.** Performance of the M06 family of exchange-correlation functionals for predicting magnetic coupling in organic and inorganic molecules. *The Journal of Chemical Physics*. 2008, Vol. 128 (11), pp. 121-129.
82. **Yan Zhao, Donald G Truhlar.** The M06 suite of density functionals for main group thermochemistry, thermochemical kinetics, noncovalent interactions, excited states, and transition elements: two new functionals and systematic testing of four M06-class functionals and 12 other function. *Theoretical Chemistry Accounts*. 2007, Vols. 120 (1-3) , pp. 215-241 .

83. **D. Giron.** Applications of Thermal Analysis And Coupled Techniques in pharmaceutical Industry. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*. 2002, Vol. 68, pp. 335-357.
84. **M. Giolito Ionashiro.** *Fundamentos da Termogravimetria, Análise Térmica Diferencial, Calorimetria Exploratória Diferencial*. s.l. : Giz Editorial, 2004. pp. 6-7, 75, 77.
85. **Elton Clementino da Silva, Maria Valéria Robles Velasco de Paola, Jivaldo do Rosário Matos.** Análise térmica aplicada à cosmetologia. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*. 2007, Vol. 43 (3), pp. 347-356.
86. **Maria Helena Casimiro, João Paulo Leal, M. Helena Gil, Carlos A. Nieto de Castro.** Análise Calorimétrica aplicada a Polímeros Biológicos. *www.spq.pt*. [Online] <http://www.spq.pt/>.
87. **Bernhard Wunderlich.** *Definition of Thermal Analysis*. s.l. : Springer, 2005. p. 78.
88. **S. C. Mojumdar, M. Sain, R.C. Prasad, L. Sun and J. E. S. Vernant.** Selected Thermoanalytical Methods And Their Applications From Medicine to Construction Part I. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*. 2007, Vol. 90 (3), pp. 653-662.
89. **Michael E. Brown, Patrick K. Galagher.** *Handbook of Thermal Analysis and Calorimetry: Recent Advances, Techniques and Applications*. s.l. : Elsevier, 2007. p. 709.
90. **Laura Bond, Stephanie Allen, Martyn C. Davies, Clive J. Roberts, Arif P. Shivji, Saul J. B. Tendler, Phillip M. Williams, Jianxin Zhang.** Differential scanning calorimetry and scanning thermal microscopy analysis of pharmaceutical materials. *International Journal of Pharmaceutics*. 2002, Vol. 243, pp. 71-82.
91. **Martin Maus, Karl G. Wagner, Andreas Kornherr, Gerhard Zifferer.** Molecular dynamics simulations for drug dosage form development: thermal and solubility characteristics for hot-melt extrusion. *Molecular Simulation*. 2008, Vols. 34 (10-15), pp. 1197-1207.
92. **João Canotilho, Adriano T.B. de Sousa e J.A.M. da Cunha Pinto.** Análise térmica. Interesse em tecnologia farmacêutica. *Revista Portuguesa de Farmácia*. 1992, Vol. 62 (4), pp. 5-12.
93. **Aline Brionísio Lemos.** Generalidades da Análise Térmica. *Boletim de Tecnologia e Desenvolvimento de Embalagens*. 2003, Vol. 15 (3), p. 2.
94. **Dafratec.** Co-crystallization studies. [Online] [Citação: 27 de Agosto de 2010.] [http://www.dafratec.com/pdf/crystal16\\_Co\\_Crystals.pdf](http://www.dafratec.com/pdf/crystal16_Co_Crystals.pdf).
95. **Dejan-Kresimir Buar, Rodger F. Henry, Xiaochun Lou, Richard W. Duerst, Leonard R. MacGillivray, Geoff G. Z. Zhang.** Cocrystals of Caffeine and Hydroxybenzoic Acids Composed of Multiple Supramolecular Heterosynthons: Screening via Solution-Mediated Phase Transformation and Structural Characterization. *Crystal Growth & Design*. 2009, Vol. 9 (4), pp. 1932–1943.
96. **R. Sabbah, X. W. An, J.S. Chickos, M.L.P. Leitão, M. V. Roux, and L. A. Torres.** Reference materials for calorimetry and differential thermal analysis. *Thermochimica Acta*. 1999, Vol. 331, p. 93-204.
97. **António Osvaldo Lima Évora.** Investigação da formação de co-cristais farmacêuticos diflunisal-pirazinamida. *Tese de Mestrado*. Universidade de Coimbra, 2009.
98. **Patrick Oening Rodrigues, Teófilo Fernando Mazon Cardoso, Marcos António Segatto Silva e Jivaldo do Rosário Matos.** Aplicação de Técnicas Termoanalíticas na Caracterização da Pureza e Cinética de Degradação da Zidovudina. *Acta Farmacêutica Bonaerense*. 2005, Vol. 24 (3), pp. 384-385.