

Ana Luísa Fonseca Rodrigues

BICALUTAMIDA: UM CONTRIBUTO PARA A INVESTIGAÇÃO DO PROCESSO DE CRISTALIZAÇÃO E DE CO-CRISTALIZAÇÃO

Mestrado em Química

Departamento de Química

FCTUC

Setembro de 2016



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Ana Luísa Fonseca Rodrigues

**BICALUTAMIDA: UM CONTRIBUTO PARA A
INVESTIGAÇÃO DO PROCESSO DE
CRISTALIZAÇÃO E DE
CO-CRISTALIZAÇÃO**

Dissertação apresentada para provas de Mestrado Química
Área de especialização em Controle Químico de Qualidade e Ambiente

Orientação:

Professora Doutora Maria Ermelinda da Silva Eusébio

Professor Doutor João Carlos Canotilho Lage

Setembro 2016

Universidade de Coimbra

“The most fruitful basis for the discovery of a new drug is to start with an old drug.”
James W. Black

Agradecimentos

Ainda que uma tese seja, pela sua finalidade académica, um trabalho individual, existem diversos contributos que não podem, de modo algum, deixar de ser mencionados. Todo o caminho percorrido até aqui permitiu-me evoluir profissionalmente, através de todo o conhecimento adquirido, mas também pessoalmente, pois todas as fraquezas e obstáculos encontrados só nos tornam mais fortes. No entanto, nada disto seria possível sem a interveniência de algumas pessoas a quem quero deixar aqui o devido reconhecimento formal e às quais devo um verdadeiro e sincero agradecimento.

Em primeiro lugar, à Professora Doutora Maria Ermelinda da Silva Eusébio e ao Professor Doutor João Carlos Canotilho Lage, orientadores deste trabalho, agradeço todo o conhecimento e competência científica e profissional que me transmitiram. Agradeço também todo o carinho, apoio, compreensão, disponibilidade, generosidade e perseverança revelada ao longo deste trabalho.

A todo o grupo de investigação de Termodinâmica Molecular, à Professora Doutora Teresa Margarida Roseiro Maria Estronca, ao Professor Doutor Ricardo António Esteves de Castro e ao Professor Doutor Mário Túlio dos Santos Rosado, agradeço toda a partilha de saber, todas as contribuições para realização desta tese, disponibilidade e simpatia.

Deixo também um agradecimento especial ao Miguel, que é sem dúvida um dos maiores pilares de apoio em tudo.

Agradeço também à Mariana, à Nélia e à Sara por todas as palavras de incentivo e carinho, todo o companheirismo, amizade, todo o apoio que sempre me deram e por todos os momentos inesquecíveis que vivemos nestes cinco anos. A todos os meus colegas e amigos, que, de uma forma ou outra me apoiaram.

Finalmente agradeço aos meus pais, irmãs, avó e a todos os meus familiares pelas palavras de força nos momentos certos, pelo apoio e por todos os sacrifícios que sempre fizeram e fazem por mim.

A todos, um bem-haja, pois:

“Se eu fui capaz de ver mais longe, é porque me apoiei em ombros gigantes.”

Isaac Newton

Índice

Índice.....	i
Índice de Figuras	iii
Índice de Tabelas.....	ix
Abreviaturas	xi
Resumo.....	xiii
Abstract	xv
Capítulo 1.....	1
Introdução	3
1.1 Sistemas de um componente.....	6
1.1.1 Estabilidade termodinâmica e estabilidade cinética de polimorfos.....	8
1.2 Sistemas multicomponente.....	12
1.2.1 Sistemas binários	12
1.2.2 Co-cristais.....	16
1.3 Bicalutamida.....	19
1.4 Objetivo do trabalho	24
Capítulo 2.....	25
Materiais e Métodos	27
2.1 Materiais.....	27
2.2 Métodos de Preparação das Amostras	28
2.2.1 Cristalização em Solução	28
2.2.2 Mecanoquímica	28
2.3 Métodos de análise	30
2.3.1 Análise térmica	31
2.3.1.1 Calorimetria Diferencial de Varrimento (DSC).....	31

2.3.1.2	Termomicroscopia com luz polarizada (PLTM).....	32
2.3.2	Espetroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier	32
2.3.3	Difração de raios-X	33
2.4	Métodos Computacionais	34
Capítulo 3	35
3.1	Avaliação Preliminar do Composto Comercial.....	37
3.2	Influência do solvente na obtenção de formas polimórficas da bicalutamida	39
3.3	Investigação da formação de co-cristais de bicalutamida	51
3.3.1	Co-formador: 4,4'-bipiridil.....	51
3.3.2	Co-formadores: oxamida, ácido fumárico e ácido oxálico	53
3.3.3	Co-formadores: Carboxamidas.....	56
3.3.4	Co-formadores: Xantinas e Guanina	67
3.3.5	Co-formadores: pirazina e 1,2-bis(4piridil)etano	71
3.3.6	Co-formadores: taurina e <i>p</i> -benzoquinona.....	78
Capítulo 4	83
Conclusões	85
Referências	87
Apêndices	99
Apêndice 1	101
Apêndice 2	102

Índice de Figuras

Figura 1.1 : Representação esquemática do conceito de ordem molecular em sólidos, adaptado de ^[5]	3
Figura 1.2: Sistema de Classificação Biofarmacêutico de compostos. $D_0 < 1$ refere-se a compostos altamente solúveis, $D_0 > 1$ refere-se a compostos fracamente solúveis; $D_0 = 1000$ mostra quantas vezes o volume de um solvente farmacologicamente relevante deve ser aumentado para dissolver uma dose de um ativo em comparação com o ativo com $D_0 = 1$, adaptado de ^[10]	5
Figura 1.3: Diagrama de fases (pressão vs temperatura) proposto para a bicalutamida por Rietvel et al. ^[21] A forma II será estável a pressões elevadas e a forma I a pressões baixas. As linhas contínuas indicam equilíbrios estáveis e as linhas tracejadas indicam equilíbrios metaestáveis. Os círculos pretos indicam pontos triplos estáveis e os círculos cinzentos indicam pontos triplos metaestáveis.	7
Figura 1.4: Representação das relações termodinâmicas entre dois polimorfos A e B através da variação da energia de Gibbs molar vs. temperatura, a pressão constante: a) sistema enantiotrópico; b) sistema monotrópico. ^[29]	9
Figura 1.5: Curvas de solubilidade em (a) sistema enantiotrópico e (b) sistema monotrópico. ^[30] 10	10
Figura 1.6: Representação da competição de fatores termodinâmicos e de fatores cinéticos na formação de diferentes formas sólidas, a pressão e temperatura constantes. ^[29]	10
Figura 1.7: Tipos de diagramas de fases binários, sólido-líquido, com formação de soluções sólidas (S representa o estado sólido e L o estado líquido): (a) e (c) sistemas com desvio de comportamento ideal e (b) solução ideal. ^[38, 39]	13
Figura 1.8: Diagrama de fases binário sólido-líquido: (a) com eutético simples ^[13] ; (b) com eutético simples e miscibilidade parcial em fase sólida. ^[38]	14
Figura 1.9: Representação esquemática de um diagrama de fases binário sólido-líquido com formação de um composto com ponto de fusão congruente. A e B são os componentes puros e AB é o composto com ponto de fusão congruente. ^[41]	15
Figura 1.10: Correlação entre o diagrama de fases de um sistema binário sólido-líquido para um composto de adição com	16
Figura 1.11: Exemplo de sintões supramoleculares observados em co-cristais. ^[2]	19

Figura 1.12: Estrutura química da bicalutamida; carbono quiral assinalado com asterisco ^[21]	19
Figura 1.13: Representação do empacotamento cristalino da forma polimórfica II da bicalutamida, mostrando as ligações de hidrogénio intermoleculares e a descrição geométrica das interações por ligações de hidrogénio. ^[61]	20
Figura 1.14: Estrutura cristalina do polimorfo I da bicalutamida: JAYCES, com a representação das ligações de hidrogénio e a descrição geométrica das interações por ligações de hidrogénio. ^[65]	21
Figura 1.15: Conformação molecular da bicalutamida nas duas formas polimórficas: a) forma I e b) forma II. ^[61]	22
Figura 1.16: Sintões supramoleculares formados entre a bicalutamida e 4,4'-bipiridina, mostrando o comprimento de cada uma das ligações que são estabelecidas. ^[68]	23
Figura 1.17: Sintões supramoleculares formados entre a bicalutamida e trans-1,2-bis (4-piridil)etileno, mostrando o comprimento de cada uma das ligações que são estabelecidas. ^[68]	23
Figura 1.18: Estrutura da bicalutamida mostrando os grupos que podem participar em ligações de hidrogénio.....	24
Figura 3.1: Difractograma de raios-X de pó obtido para a bicalutamida comercial e difractogramas simulados de cada uma das estruturas descritas na literatura: JAYCES ^[65] e JAYCES01 ^[61]	37
Figura 3.2: Termograma da amostra 1; Programa: aquecimento de 25°C a 205°C, arrefecimento de 205°C a 25°C e aquecimento de 25°C a 205°C com $\beta=10^\circ\text{C}/\text{min}$	38
Figura 3.3: Espetros de FTIR-ATR das duas formas polimórficas da bicalutamida.	39
Figura 3.4: Confórmero da bicalutamida, no polimorfo I: JAYCES (a) estrutura de partida e (b) estrutura após otimização da geometria.....	42
Figura 3.5: Confórmero da bicalutamida, no polimorfo II: JAYCES02 (a) estrutura de partida e (b) estrutura após otimização da geometria.....	42
Figura 3.6: Espetros de FTIR-modo transmissão, 1800-1000 cm^{-1} , de soluções de bicalutamida em tetra-hidrofurano; sólido obtido neste processo de cristalização. Os espectros das formas polimórficas I e II e do solvente são apresentados para comparação.....	47
Figura 3.7: Espetros de FTIR-ATR, 1800-1000 cm^{-1} , de soluções de bicalutamida em tetra-hidrofurano (solvente utilizado na aquisição do background); sólido obtido neste processo de cristalização. Os espectros das formas polimórficas I e II e do solvente são apresentados para comparação.	47

Figura 3.8: Espectros de FTIR-ATR, 1000-500 cm^{-1} , de soluções de bicalutamida em tetra-hidrofurano (solvente utilizado na aquisição do background); sólido obtido neste processo de cristalização. Os espectros das formas polimórficas I e II e do solvente são apresentados para comparação	48
Figura 3.9: Espectros de FTIR-modo transmissão, 1650-1375 cm^{-1} , de soluções de bicalutamida em acetona; sólido obtido neste processo de cristalização. Os espectros das formas polimórficas I e II e do solvente são apresentados para comparação.....	49
Figura 3.10: Espectros de FTIR-modo transmissão, 1000-700 cm^{-1} , de soluções de bicalutamida em acetona; sólido obtido neste processo de cristalização. Os espectros das formas polimórficas I e II e do solvente são apresentados para comparação.....	49
Figura 3.11: Espectros de FTIR-ATR, 1650-1375 cm^{-1} , de soluções de bicalutamida em acetona; sólido obtido neste processo de cristalização. Os espectros das formas polimórficas I e II e do solvente são apresentados para comparação.	50
Figura 3.12: Espectros de FTIR-ATR, 1000-700 cm^{-1} , de soluções de bicalutamida em acetona; sólido obtido neste processo de cristalização. Os espectros das formas polimórficas I e II e do solvente são apresentados para comparação.	50
Figura 3.13: Termograma, DSC, das misturas equimolares de bicalutamida e 4,4'-bipiridil obtidas por moagem manual e nas condições apresentadas na Tabela 2.3, $\beta=10^\circ\text{C}/\text{min}$	51
Figura 3.14: Espectros de FTIR-ATR dos compostos de partida e das misturas equimolares de bicalutamida e 4,4'-bipiridil obtidas por moagem manual e por mecanoquímica (condições apresentadas na Tabela 2.3).	52
Figura 3.15: Difractogramas de raios-X de pó obtidos para as amostras equimolares obtidas por moagem manual de 4,4'-bipiridil e bicalutamida e por mecanoquímica (condições na Tabela 2.3). O difractograma simulado foi obtido a partir dos dados da literatura. ^[67]	52
Figura 3.16: Espectros de FTIR-ATR dos compostos de partida e das misturas equimolares obtidas entre a bicalutamida e o co-formador: a) oxamida; b) ácido fumárico e c) ácido oxálico.	54
Figura 3.17: Termograma, DSC, das misturas equimolares obtidas entre a bicalutamida e o co-formador: a) oxamida; b) ácido fumárico e c) ácido oxálico; $\beta=10^\circ\text{C}/\text{min}$	55
Figura 3.18: Termogramas, DSC, das misturas equimolares de bicalutamida e nicotinamida obtidas por moagem em moinho de bolas assistida por etanol e sem adição de solvente (condições na Tabela 2.3), $\beta=10^\circ\text{C}/\text{min}$	57

- Figura 3.19:** Espectros de FTIR-ATR dos compostos de partida e das misturas equimolares de bicalutamida e nicotinamida obtidas por moagem manual e em moinho de bolas com e sem adição de solvente (condições na Tabela 2.3).58
- Figura 3.20:** Termogramas, DSC, dos compostos puros e das misturas de diferentes proporções de bicalutamida e nicotinamida obtidas por moagem em moinho de bolas sem adição de solvente, $\beta=5^\circ\text{C}/\text{min}$59
- Figura 3.21:** Espectros de FTIR-ATR dos compostos de partida e de algumas misturas de bicalutamida e nicotinamida obtidas por moagem em moinho de bolas sem adição de solvente.60
- Figura 3.22:** Diagrama de fases sólido-líquido do sistema bicalutamida+nicotinamida (curvas a cheio-diagrama experimental; curvas ponteadas – previsão usando a equação 3.1).61
- Figura 3.23:** Termogramas, DSC, dos compostos puros e da mistura equimolar de bicalutamida e isonicotinamida obtida por moagem em moinho de bolas (condições na Tabela 2.3), $\beta=10^\circ\text{C}/\text{min}$62
- Figura 3.24:** Espectros de FTIR-ATR da bicalutamida I, dos polimorfos II e I de isonicotinamida e da mistura equimolar de bicalutamida:isonicotinamida. O polimorfo I de isonicotinamida foi gerado por aquecimento da forma comercial II até 140°C , seguido de arrefecimento. Mist. a) - amostra obtida por moagem; Mist. b) – Amostra a) após aquecimento em DSC até 135°C e arrefecimento até à temperatura ambiente.62
- Figura 3.25:** Espectros de FTIR-ATR dos compostos de partida e da mistura equimolar de bicalutamida e pirazinamida obtida por moagem em moinho de bolas sem adição de solvente.63
- Figura 3.26:** Termograma da mistura equimolar de pirazinamida e bicalutamida obtida por moagem em moinho de bolas sem adição de solvente; Programa: aquecimento de 25°C a 205°C , arrefecimento de 205°C a 25°C e aquecimento de 25°C a 205°C , $\beta=10^\circ\text{C}/\text{min}$64
- Figura 3.27:** Espectros obtidos por FTIR-ATR para os polimorfos γ de pirazinamida, I e II da bicalutamida e da mistura equimolar: a) após o ciclo (1+2) em DSC, Figura 3.26; b) após ciclo (1+2) seguido de aquecimento até 125°C e arrefecimento até à temperatura ambiente.65
- Figura 3.28:** Termograma, DSC, das misturas de bicalutamida e pirazinamida de diferentes composições: a) 1^o aquecimento; b) arrefecimento; c) 2^o aquecimento; a representação a tracejado diz respeito a uma réplica da mesma mistura representada a cheio.66
- Figura 3.29:** Espectros obtidos por FTIR-ATR para os polimorfos α e γ da pirazinamida, I e II da bicalutamida e para a a) mistura 2:1 de bicalutamida+pirazinamida e b) mistura 0.1:10.67

- Figura 3.30:** Espectros obtidos por FTIR-ATR para as misturas equimolares de bicalutamida e cafeína obtidas por mecanoquímica: a) moagem em moinho de bolas sem adição de solvente; b) moagem em moinho de bolas com adição de 5µL de etanol durante 30 minutos e com 15Hz e c) moagem em moinho de bolas com adição de 5µL durante 60 minutos e com 30Hz. 69
- Figura 3.31:** Termograma, DSC, das misturas equimolares de bicalutamida e cafeína obtidas por mecanoquímica: a) moagem em moinho de bolas sem adição de solvente; b) moagem em moinho de bolas com adição de 5µL de etanol durante 30 minutos e com 15Hz e c) moagem em moinho de bolas com adição de 5µL durante 60 minutos e com 30Hz; $\beta=10^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 69
- Figura 3.32:** Espectros obtidos por FTIR-ATR dos compostos de partida e de uma mistura equimolar de bicalutamida e teofilina obtida por moagem em moinho de bolas com adição de 5µL de etanol. 70
- Figura 3.33:** Termograma, DSC, da mistura equimolar de bicalutamida e teofilina gerada em moinho de bolas com adição de 5µL de etanol, e dos compostos de partida; $\beta=10^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 70
- Figura 3.34:** Espectros obtidos por FTIR-ATR dos compostos de partida e de uma mistura equimolar de bicalutamida e guanina obtida por moagem em moinho de bolas 71
- Figura 3.35:** Termograma, DSC, dos compostos de partida e da mistura equimolar de bicalutamida e guanina gerada por moagem em moinho de bolas com adição de 5µL de etanol. 71
- Figura 3.36:** Termograma, DSC, da mistura equimolar de bicalutamida:pirazina obtida por moagem em moinho de bolas com adição de 5µL de etanol, (condições na Tabela 2.3); $\beta=10^{\circ}\text{C}/\text{min}$. 72
- Figura 3.37:** Espectros de FTIR-ATR das misturas equimolares de bicalutamida e pirazina obtida por moagem em moinho de bolas com adição de 5µL de etanol, por moagem manual com adição de 10µL de dioxano, e dos compostos de partida. 73
- Figura 3.38:** Termogramas, DSC, das diferentes misturas de bicalutamida e 1,2-bis (4-piridil) etano obtidas por moagem em moinho de bolas com adição de 5µL de acetona, e dos compostos de partida; $\beta=10^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 73
- Figura 3.39:** Termogramas, DSC, das diferentes misturas de bicalutamida e 1,2-bis (4-piridil) etano obtidas por moagem em moinho de bolas com adição de 5µL de acetona, e dos compostos de partida; $\beta=5^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 74
- Figura 3.40:** Diagrama de fases sólido-líquido do sistema bicalutamida e 1,2-bis(4-piridil) etano. As linhas a tracejado indicam o comportamento previsto pela Equação 3.1 (sistema ideal com diagrama de fases com eutético simples). 75
- Figura 3.41:** Espectros obtidos por FTIR-ATR da mistura 3:2 de bicalutamida:1,2-bis (4-piridil) etano obtida por moagem em moinho de bolas com assistência de 5µL de acetona. 75

- Figura 3.42:** Difractograma de raios-X pó da mistura 3:2 de bicalutamida+1,2-bis (4-piridil) etano, co-cristal, da forma polimórfica II da bicalutamida ^[61], da forma polimórfica I e do 1,2-bis(4.piridil)etano ^[87]. 76
- Figura 3.43:** Espectros de FTIR-ATR das diferentes misturas dos compostos bicalutamida:1,2-bis (4-piridil) etano obtidos por moagem em moinho de bolas com assistência de 5µL de acetona. 76
- Figura 3.44:** Espectros obtidos por FTIR a diferentes temperaturas para a mistura $x_{bica}=0.60$; resolução:1 cm⁻¹..... 77
- Figura 3.45:** Espectros obtidos por FTIR a diferentes temperaturas para a mistura $x_{bica}=0.60$: a) entre 3600-2750 cm⁻¹; b) entre 1800-1000 cm⁻¹; resolução: 1 cm⁻¹..... 77
- Figura 3.46:** Termogramas, DSC, de misturas de bicalutamida e taurina obtidas em diferentes condições a) mistura 1:1, moagem em moinho de bolas sem adição de solvente; b) mistura 1:1, moagem em moinho de bolas com adição de solvente; c) misturas de diferentes proporções, moagem em moinho de bolas com adição de 5µL de etanol. 79
- Figura 3.47:** Espectros obtidos por FTIR-ATR dos compostos puros e das misturas equimolares de bicalutamida e taurina geradas por moagem em moinho de bolas com e sem adição de solvente..... 80
- Figura 3.48:** Termograma, DSC, da mistura equimolar de bicalutamida e *p*-benzoquinona obtida por moagem em moinho de bolas: a) assistida por 5µL de acetona; b) assistida por 5µL de etanol. 81
- Figura 3.49:** Espectros obtidos por FTIR-ATR da mistura equimolar de bicalutamida e *p*-benzoquinona obtida em moagem em moinho de bolas com a) adição de 5µL de acetona e após diferentes programas de DSC: 1) mistura de partida, 2) mistura 1) após o ciclo de DSC i)+ii), Figura 3.48, 3) Mistura 1) após o ciclo i)+ii)+iii); b) adição de 5µL de etanol. 82

Índice de Tabelas

Tabela 1.1: Solubilidade aquosa de acordo com a USP. ^[9]	4
Tabela 1.2: Dados cristalográficos das estruturas cristalinas publicadas por Hu e Gu [65] e por Vega <i>et al.</i> ^[61] para a bicalutamida.....	21
Tabela 2.1: Origem e pureza dos compostos utilizados neste trabalho.	27
Tabela 2.2: Laboratório de aquisição e pureza de cada um dos solventes usados.....	27
Tabela 2.3: Condições experimentais utilizadas na preparação das diferentes misturas.....	30
Tabela 3.1: Parâmetros termodinâmicos obtidos a partir das curvas de DSC, em ciclos de aquecimento, arrefecimento e aquecimento realizados sobre amostras independentes de bicalutamida.....	38
Tabela 3.2: Síntese dos resultados obtidos na investigação de formas polimórficas da bicalutamida, por cristalização em solução. As imagens obtidas por PLTM evidenciam os hábitos cristalinos dos sólidos obtidos por cristalização nos diferentes solventes: (a) ampliação de 50× e (b) ampliação de 200×. A forma polimórfica obtida foi identificada por FTIR-ATR e por DSC. ^[83]	40
Tabela 3.3: Ângulos de torção (°) representativos dos dois confórmeros da bicalutamida, antes e após a otimização da geometria; numeração apresentada na Figura 1.15.	42
Tabela 3.4: Descrição aproximada das frequências vibracionais obtidas computacionalmente; numeração atômica apresentada na Figura 1.15.	43
Tabela 3.5: Parâmetros termodinâmicos das curvas de DSC dos compostos de partida, bicalutamida e 4,4'-bipiridil, e da mistura equimolar de ambos, obtida em diferentes condições experimentais.....	52
Tabela 3.6: Alguns dos sintões supramoleculares que se podem formar na associação entre a bicalutamida e os co-formadores oxamida, ácido fumárico e ácido oxálico.	53
Tabela 3.7: Alguns dos sintões supramoleculares possíveis na associação entre a bicalutamida e os co-formadores: nicotinamida,isonicotinamida e pirazinamida.	56
Tabela 3.8: Parâmetros termodinâmicos das curvas de DSC da mistura equimolar de bicalutamida e nicotinamida e dos compostos de partida.....	57
Tabela 3.9: Parâmetros termodinâmicos das curvas de DSC das misturas de bicalutamida e nicotinamida com $\beta=5^{\circ}\text{C}/\text{min}$	59

Tabela 3.10: Parâmetros termodinâmicos das curvas de DSC obtidos em vários ensaios realizados sobre a mistura equimolar de bicalutamida e pirazinamida.	64
Tabela 3.11: Alguns dos sintões supramoleculares que podem existir na associação entre a bicalutamida e os co-formadores: cafeína, teofilina e guanina.....	68
Tabela 3.12: Possíveis sintões supramoleculares que se podem formar na associação da bicalutamida com os co-formadores: pirazina e 1,2-bis(4-piridil)etano.	72
Tabela 3.13: Frações molares das misturas de bicalutamida e 1,2-bis(4-piridil)etano preparadas por moagem com assistência de acetona e parâmetros termodinâmicos das curvas de DSC; $\beta=5^{\circ}\text{C}/\text{min}$	74
Tabela 3.14: Alguns dos sintões supramoleculares possíveis entre a bicalutamida e os co-formadores: <i>p</i> -benzoquinona e taurina.....	78
Tabela 3.15: Parâmetros termodinâmicos das curvas de DSC de misturas de bicalutamida e taurina, obtidas em diferentes condições: a) mistura 1:1, moagem em moinho de bolas sem adição de solvente; b) mistura 1:1, moagem em moinho de bolas com adição de solvente; c) misturas de diferentes proporções, moagem em moinho de bolas com adição de 5 μL de etanol, e vasos de diferentes dimensões.	80
Tabela A.1: Condições usadas na preparação das amostras por cristalização e solvente no relatório “Investigação de Formas Sólidas do Anti-neoplásico Bicalutamida”. ^[83]	101

Abreviaturas

API (do inglês *Active Pharmaceutical Ingredient*)

Aq - Aquecimento

ATR (do inglês *Attenuated Total Reflectance*)

BCS (do inglês *Biopharmaceutical Classification System*)

Bica – Bicalutamida

CIF (do inglês *Crystallographic Information File*)

CNT (do inglês *Classical Nucleation Theory*)

CSD (do inglês: *Cambridge Scrutural Database*)

DFT (do inglês *Density Functional Theory*)

DSC (do inglês *Differential Scanning Calorimetry*)

EAFFUS (do inglês: *Everything Added to Food in the United States*)

FDA (do inglês *Food and Drug Administration*)

FTIR -ATR (do inglês *Fourier Transform Infrared - Attenuated Total Reflectance*)

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

LAG (do inglês *Liquid-assisted Grinding*)

Mist. - Mistura

NG (do inglês *Neat Grinding*)

PLTM (do inglês *Polarized Light Thermal Microscopy*)

USP (do inglês *United States Pharmacopeia*)

XRD (do inglês *X-ray Diffraction*)

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

Arref - Arrefecimento

Resumo

Nos últimos anos a engenharia de cristais tem evoluído muito rapidamente, especialmente devido ao elevado interesse na síntese de co-cristais farmacêuticos. Isto porque, através destes, é possível, por vezes, obter propriedades físico-químicas e farmacocinéticas adequadas para o ativo farmacêutico. Assim, esta dissertação centra-se na investigação da formação de co-cristais e de misturas sólidas com interesse em aplicação farmacêutica, entre o composto em estudo, a bicalutamida, e vários co-formadores previamente selecionados. Para tal, foram utilizados métodos de síntese que envolvem a mecanoquímica, tanto manual como em moinho de bolas, ambos com e sem adição de solvente.

A molécula de bicalutamida, com vários grupos funcionais, tem possibilidade de formação de diversos sintões supramoleculares, o que a torna um bom modelo para investigar efeitos de competição inter-sintões na formação de co-cristais. Para avaliação deste efeito foram selecionados diversos grupos de co-formadores, com variações moleculares sistemáticas em cada grupo, que numa perspetiva de engenharia de cristais teriam possibilidade de associação com a bicalutamida por diversos tipos de ligação de hidrogénio. Os resultados confirmam a dificuldade de formação de co-cristais com esta molécula polifuncional, o que pode ser justificado pela competição inter-sintões. Apenas foi possível obter um co-cristal com o 1,2-bis (4-piridil) etano, um co-formador bifuncional, mas com possibilidade de associação com a bicalutamida mais restrita, nomeadamente como aceitador em ligação de hidrogénio, envolvendo azotos aromáticos.

Como resultado da investigação das misturas binárias de bicalutamida com os diversos co-formadores, merece destaque a identificação de uma mistura eutética bicalutamida:nicotinamida, $x_{\text{bica}}=0.15$, que é muito promissora numa perspetiva de incremento da biodisponibilidade oral do ativo.

A bicalutamida é também interessante como modelo para a investigação do efeito do solvente na obtenção de diferentes polimorfos por cristalização em solução, uma questão de grande importância em química do estado sólido. De facto, há apenas dois polimorfos da bicalutamida descritos, nos quais as moléculas apresentam conformações muito distintas. A investigação foi efetuada em soluções de acetona e de tetra-hidrofurano, por FTIR, de modo a tentar perceber a relação entre a conformação que se observa em solução e a estrutura cristalina que se obtém. Apesar de em solução prevalecer a conformação presente na forma metaestável II da bicalutamida, os sistemas evoluem, nos dois casos, para o cristal termodinamicamente estável, I.

Abstract

In recent years, crystal engineering has progressed very quickly, particularly due to the high interest in the synthesis of pharmaceutical co-crystals. This results from the potential of co-crystals to increment the desired physicochemical and pharmacokinetic properties of active pharmaceutical ingredients. Thus, this work focuses on the research of co-crystal formation, and also of solid mixtures with interest in pharmaceutical application, between bicalutamide and selected co-formers. Mechanochemistry, manual and using a ball mill, neat or solvent assisted, was used as the synthetic method.

Bicalutamide molecule, with multiple functional groups, has the possibility of forming several supramolecular synthons, which makes it a good model for investigating inter synthons competition effects in the formation of co-crystals. In order to evaluate these effects, several groups of co-formers were selected, with systematic molecular variations within each group and, in a crystal engineering perspective, with the possibility to give rise to several types of intermolecular hydrogen bonds with the API. The results confirm the difficulty of this multi-functional molecule to form co-crystals, which can be justified by inter synthons competition. It was only possible to obtain a co-crystal with 1,2-bis (4-piridil) ethane, a bifunctional co-former, which can only associate with bicalutamide by acting as an acceptor in hydrogen bonding through its aromatic nitrogen atoms.

As a result of the investigation of binary mixtures of bicalutamide with several co-formers, it is noteworthy the identification of the eutectic mixture bicalutamide:nicotinamide, $x_{\text{bica}} = 0:15$, which is quite promising for oral bioavailability increment of the API.

Bicalutamide is also an interesting model compound for the investigation of the effect of the solvent on the crystallization of particular polymorphic forms from solution, a subject of great importance in solid state chemistry. In fact, there are only two described polymorphs of bicalutamide in which the molecules have very different conformations. The investigation was performed in acetone and in tetrahydrofuran solutions, by FTIR, in order to try to understand the relationship between the conformation observed in the solutions and the crystal structure obtained. Although the characteristic conformation found in the metastable form II of bicalutamide prevails in solution, the systems evolve, in both cases, to the thermodynamically stable crystal form, I.

Capítulo 1

Introdução

Introdução

Os ativos farmacêuticos podem ser administrados por diversas vias, nomeadamente por via oral, via injetável (intramuscular, intravenosa, subcutânea, etc), por via intranasal (por inalação), e por aplicação subcutânea em diversas regiões do organismo animal. A seleção da forma, dosagem e a tecnologia disponibilizada para administração do ativo farmacêutico, API (do inglês *Active Pharmaceutical Ingredient*), dependem das propriedades físico-químicas do mesmo. No entanto, por questões de maior estabilidade, de dosagem exata, de facilidade de produção a baixo custo, a via oral, através de formulações sólidas, é a mais utilizada e a que maior expressão tem no mercado do medicamento. ^[1, 2]

As propriedades de um material, no estado sólido, dependem não apenas da identidade dos seus constituintes, mas também da sua organização, podendo distinguir-se sólidos cristalinos e sólidos amorfos. A principal diferença entre ambos é a ordem de longo alcance que implica, simultaneamente, a existência de ordem translacional, orientacional e conformacional, o que se observa no primeiro tipo de sólidos, estando ausente no segundo. De facto, os sólidos amorfos não apresentam um padrão de ordenação, o que implica que a disposição interna das moléculas é aleatória, apresentando desordem de longo alcance, embora possam apresentar alguma ordem de curto alcance entre moléculas próximas, devido às forças intermoleculares de atração e repulsão. A Figura 1.1 sintetiza as diferenças entre um estado cristalino (perfeita ordem de longo alcance), um estado intermédio (com alguma ordem de longo alcance) e um estado amorfo (ausência completa de ordem de longo alcance). ^[1, 3, 4]

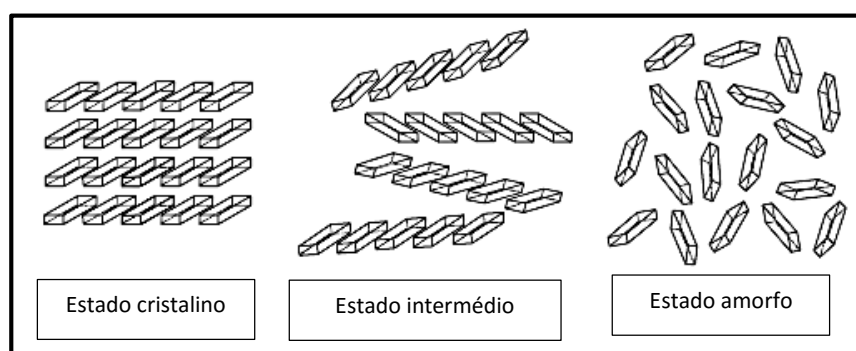


Figura 1.1 : Representação esquemática do conceito de ordem molecular em sólidos, adaptado de ^[5]

No estado sólido, um ativo farmacêutico pode existir em diferentes formas que são muitas vezes divididas em três classes distintas. A primeira inclui as fases cristalinas da substância pura, nas quais as moléculas do ativo têm diferentes arranjos e/ou conformações na rede cristalina. Estas

fases, numa visão restrita, designam-se por polimorfos. ^[1] A segunda classe inclui os solvatos cristalinos, que podem conter quantidades estequiométricas ou não-estequiométricas de solvente, sendo referidos, por vezes, como pseudopolimorfos. ^[1] São de facto sólidos multicomponentes e quando o solvente é a água recebem o nome de hidratos. ^[1] A última classe inclui os sólidos amorfos, em que as moléculas se encontram desordenadas, não possuindo uma estrutura de cristal distinguível. Numa visão mais lata, que é por exemplo a da FDA (do inglês *Food and Drug Administration*), todas estas variantes sólidas são denominadas polimorfos. ^[1,6]

O facto de, no estado sólido, um ativo farmacêutico poder apresentar-se em diferentes arranjos, confere-lhe diferentes propriedades, nomeadamente estabilidade, hábito, solubilidade, velocidade de dissolução e higroscopicidade. ^[1,6] Estas diferenças podem afetar a capacidade de processamento e a formulação de um dado ativo, bem como o seu efeito no organismo, o que poderá afetar a sua segurança, eficácia e a biodisponibilidade oral. ^[1,6,7]

A solubilidade aquosa é um dos parâmetros que influencia diretamente a biodisponibilidade oral, isto é, a capacidade de um ativo estar disponível numa concentração apropriada no sítio de ação, independentemente da forma de dosagem farmacêutica e da via de administração. ^[8]

De facto, no desenvolvimento industrial de um novo medicamento, um dos problemas encontrados é a baixa solubilidade aquosa do ativo: mais de 40% dos ativos comercializados são praticamente insolúveis (<0.1 g/mL) e cerca de 70% dos novos candidatos têm também muito baixa solubilidade aquosa. ^[8] A Tabela 1.1 sumaria a classificação dos ativos a partir da designação da solubilidade aquosa de acordo com a Farmacopeia Americana, USP (do inglês *United States Pharmacopeia*). ^[9]

Tabela 1.1: Solubilidade aquosa de acordo com a USP. ^[9]

Muito solúvel	100-1000 mg/mL
Solúvel	30-100 mg/mL
Moderadamente solúvel	1-10 mg/mL
Ligeiramente solúvel	1-10 mg/mL
Muito ligeiramente solúvel	0.1-1 mg/mL
Praticamente insolúvel	<0.1 mg/mL

Por sua vez, o Sistema de Classificação Biofarmacêutico, BCS (do inglês *Biopharmaceutical Classification System*), classifica as substâncias farmacologicamente ativas tendo em consideração a velocidade e a extensão de absorção do fármaco a partir de formas farmacêuticas sólidas de

libertação imediata. São considerados dois fatores principais, nomeadamente, a solubilidade e a permeabilidade intestinal, Figura 1.2. [8, 10, 11]

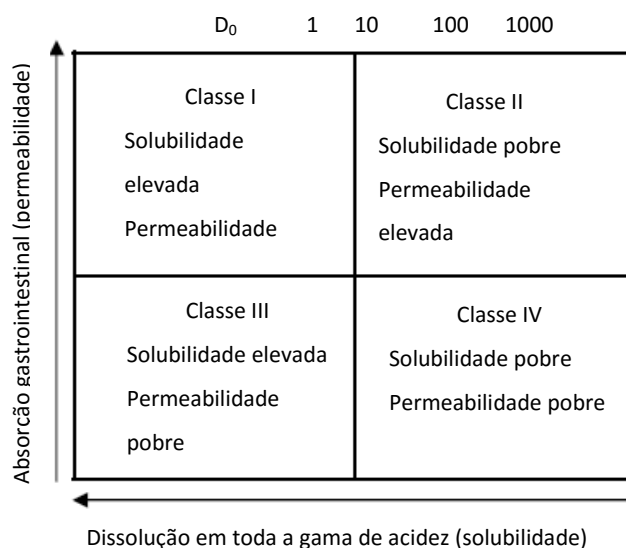


Figura 1.2: Sistema de Classificação Biofarmacêutico de compostos. $D_0 < 1$ refere-se a compostos altamente solúveis, $D_0 > 1$ refere-se a compostos fracamente solúveis; $D_0 = 1000$ mostra quantas vezes o volume de um solvente farmacologicamente relevante deve ser aumentado para dissolver uma dose de um ativo em comparação com o ativo com $D_0 = 1$, adaptado de [10].

De acordo com este sistema, todos os ativos podem ser arbitrariamente divididos em quatro classes, tendo em consideração o seu potencial de aplicabilidade. Os ativos da classe I apresentam elevada solubilidade e permeabilidade, sendo os ideais para formulações orais. São, no entanto, pouco comuns. Os ativos da classe II, também oferecem boas perspetivas de formulação, desde que os seus parâmetros de solubilidade sejam corrigidos. Os ativos da classe III necessitam de correção da permeabilidade membranar (fase sintética de correção estrutural) recorrendo a moléculas designadas por pró-ativos que assegurem a permeação do ativo através da membrana. Finalmente, os ativos da classe IV não podem ser aplicados sem o recurso a sistemas de transporte especiais, nomeadamente por via intravenosa, uma vez que as formulações orais desta classe são completamente ineficientes. [10]

A classe II é aquela que atrai maior atenção da indústria farmacêutica, uma vez que a correção da solubilidade pode ser conseguida realizando estudos apenas com a substância ativa. Poderá recorrer-se, por exemplo, à preparação de sais, à redução do tamanho da partícula, a modificações polimórficas metaestáveis/fases amorfas, à síntese de dispersões sólidas e à formação de co-cristais. [10, 11]

O estado amorfo tem sido largamente defendido como uma estratégia para melhorar a biodisponibilidade oral, relativamente a sólidos cristalinos, resultante de dissolução mais efetiva / incremento de solubilidade. No entanto, a estabilidade, tanto química como física, destas formas termodinamicamente metaestáveis, é a principal limitação para a sua utilização. ^[12, 13]

As formas cristalinas de ativos farmacêuticos são, em geral, mais convenientes e seguras, uma vez que tendem a ser mais estáveis e suscetíveis de purificação do que as formas amorfas. A velocidade de dissolução e a solubilidade intrínseca de diferentes formas cristalinas de um mesmo ativo podem ser diferentes e, desse modo, influenciar fortemente a biodisponibilidade oral. A estabilidade física, face à humidade, pode ser, também, crucialmente dependente do empacotamento do cristal. Sólidos multicomponente incluindo o API, por exemplo co-cristais e dispersões moleculares sólidas, são também de grande interesse. Quer os sólidos constituídos por um componente quer os multicomponente, podem existir nos estados amorfo e/ ou cristalino. ^[14]

A investigação do estado sólido do ativo farmacêutico, como forma de modulação de propriedades é, portanto, de grande interesse. ^[14] Neste contexto, a pesquisa pode abranger cristais de componente único, o que permite modular propriedades físico-químicas mais limitadas, uma vez que é restrita a polimorfos, ou sólidos multicomponente que permitem uma modelação mais abrangente das propriedades. ^[15]

A imprevisibilidade das estruturas, em fase sólida, que é possível obter para uma molécula de interesse e das suas respetivas propriedades físicas, são também vistas como um desafio em termos de proteção de propriedade intelectual. ^[16] De facto, as novas formas sólidas satisfazem os critérios para que uma invenção obtenha a cobertura de uma patente: novidade, que requer que a invenção reivindicada não faça parte do estado da arte, utilidade industrial e o facto de não serem óbvias. ^[17, 18]

1.1 Sistemas de um componente

Uma fase é uma parte homogénea de um sistema no que se refere ao estado físico e à composição química. Em 1876, Gibbs mostrou a relação entre o número de fases, P , número de componentes, C , e o número de graus de liberdade, F , que é conhecida como a regra das fases: $P+F=C+2$. O número de componentes é o número mínimo de espécies independentes que é necessário para definir a composição de todas as fases presentes no sistema, e o número de graus de liberdade é o número de variáveis intensivas (temperatura, pressão e composição) que devem ser fixadas de modo a especificar o estado de equilíbrio. A informação quanto ao número de fases presentes em diferentes condições, transformações e estabilidade de fases é sintetizada, no caso

de uma substância pura, em diagramas pressão vs. temperatura, como o exemplificado na Figura 1.3, para o caso da bicalutamida ^[19, 20]

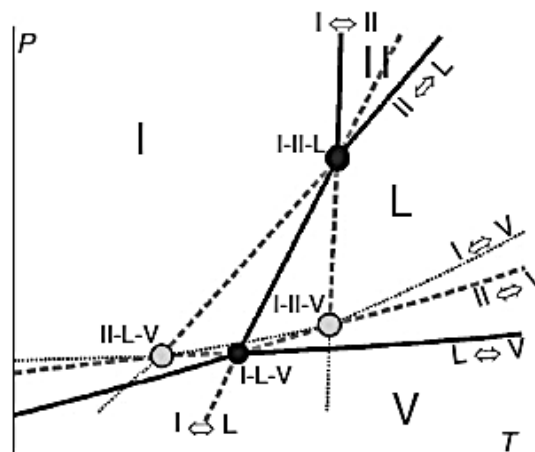


Figura 1.3: Diagrama de fases (pressão vs temperatura) proposto para a bicalutamida por Rietvel et al. ^[21] A forma II será estável a pressões e temperaturas elevadas e a forma I a pressões e temperaturas baixas. As linhas contínuas indicam equilíbrios estáveis e as linhas tracejadas indicam equilíbrios metaestáveis. Os círculos pretos indicam pontos triplos estáveis e os círculos cinzentos indicam pontos triplos metaestáveis.

Na Figura 1.3. identificam-se 2 pontos triplos, que representam a coexistência de três fases em equilíbrio, para os quais o número de graus de liberdade é zero. A substância apresenta polimorfismo. Num dos pontos triplos, duas fases sólidas e o líquido estão em equilíbrio II, I e L.

Klaproth pode ter sido o primeiro a ter consciência da existência de polimorfismo, quando em 1788 observou que o carbonato de cálcio cristalizava tanto como calcite e como aragonite. Mas, geralmente, o mérito da primeira utilização do termo polimorfismo é dado a Mitscherlich, em 1822, no decurso do seu trabalho sobre sulfatos isomórficos de ferro, cobalto, níquel, magnésio, cobre, zinco e manganês. ^[1] No entanto, em 1809, Humphrey Davy já tinha salientado que o diamante e a grafite, ambos carbono, diferiam apenas no arranjo dos átomos na fase sólida. ^[1]

Só em 1965 é que McCrone ^[22] cunhou a definição mais utilizada de polimorfo “uma fase sólida cristalina de um determinado composto que resulta da possibilidade de, pelo menos, dois arranjos diferentes das moléculas do composto no estado sólido”. No que diz respeito a substâncias elementares, o termo que se utiliza é alotropia, introduzido em 1844 por Berzelius. ^[3, 6, 20]

Numa visão mais ampla, um sistema é classificado como polimórfico, se a diferença for apenas no arranjo do estado sólido com a mesma composição química, sendo idênticas as fases líquida e gasosa, obtidas a partir dos vários polimorfos. ^[3, 20, 23]

Faz-se por vezes a distinção entre polimorfismo de empacotamento e polimorfismo conformacional. ^[1] O polimorfismo de empacotamento representa casos em que moléculas conformacionalmente rígidas estão dispostas de forma diferente na célula unitária de cada um dos polimorfos, mas a conformação molecular é mantida. ^[23, 24] Polimorfismo conformacional poderá ocorrer quando uma molécula flexível apresentar diferentes conformações e subsequentemente, originar estruturas cristalinas alternativas. ^[23, 24] A distinção entre o polimorfismo de empacotamento e polimorfismo conformacional é um pouco artificial, porque diferentes arranjos de empacotamento impõem, frequentemente, conformações moleculares diferentes e conformações diferentes, inevitavelmente poderão empacotar de forma diferente. O mais comum é existir polimorfismo misto, uma vez que não é possível a sua diferenciação. ^[24]

Em geral, moléculas conformacionalmente flexíveis e com grupos funcionais capazes de formar ligações de hidrogénio poderão ser mais propensas a apresentar polimorfismo, resultante da combinação de grupos funcionais passíveis de rotação, com a capacidade de formação de diferentes associações por pontes de hidrogénio. ^[25, 26, 27] No entanto, uma análise recente realizada por Bernstein et al. ^[28] parece contrariar esta proposta de relação entre características moleculares e propensão à existência de polimorfos.

1.1.1 Estabilidade termodinâmica e estabilidade cinética de polimorfos

Estabilidade Termodinâmica

Em 1888, Lehmann usou pela primeira vez os termos enantiotropia e monotropia para distinguir dois tipos de comportamento de polimorfos em termos de estabilidade termodinâmica. ^[1] De acordo com a regra das fases de Gibbs, para cada par de valores de pressão e de temperatura, à exceção das condições de equilíbrio, apenas uma forma estrutural será termodinamicamente estável. Deste modo, a uma dada pressão e temperatura, dois polimorfos terão uma relação de enantiotropia quando a temperatura de conversão da fase A na fase B, T_{trs} , é inferior à temperatura de fusão de qualquer uma das formas cristalinas e existe, para cada uma delas, uma gama de temperaturas na qual um polimorfo é estável relativamente ao outro. A transição de fases entre as duas formas é reversível, (Figura 1.4-a). Por outro lado, existe uma relação de monotropia entre polimorfos, quando uma das fases, B na Figura 1.4-b), é sempre termodinamicamente mais estável do que a outra à pressão considerada, qualquer que seja a temperatura e, portanto, a transformação de A em B é irreversível, (Figura 1.4-b). ^[1, 29]

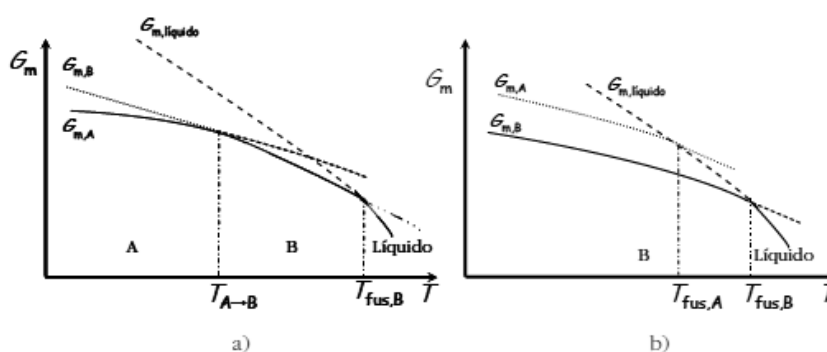


Figura 1.4: Representação das relações termodinâmicas entre dois polimorfos A e B através da variação da energia de Gibbs molar vs. temperatura, a pressão constante: a) sistema enantiotrópico; b) sistema monotrópico. ^[29]

No diagrama da Figura 1.4 é representada esquematicamente a energia de Gibbs molar de duas fases sólidas A e B e do líquido, G_m , em função da temperatura, a pressão constante. A uma dada temperatura uma fase termodinamicamente estável apresenta a menor energia de Gibbs molar e as outras fases são metastáveis ou instáveis. No diagrama a), sistema enantiotrópico, as curvas $G_{m,A}$ e $G_{m,B}$, as energias de Gibbs molares das fases sólidas A e B, cruzam-se na temperatura de transição ($T_{A \rightarrow B}$) onde ocorre a transição do polimorfo A para o B. Neste ponto, os dois polimorfos podem coexistir como misturas em equilíbrio, apresentando a mesma estabilidade. A curva $G_{m,liq}$ representa a fase líquida, e a sua intersecção com as curvas $G_{m,A}$ e $G_{m,B}$ representa o ponto de fusão desses polimorfos, respetivamente. No diagrama b), sistema monotrópico, verifica-se a ausência do cruzamento das curvas $G_{m,A}$ e $G_{m,B}$, o que indica que não há transição de fase abaixo dos pontos de fusão dos dois polimorfos. Nestas condições, o polimorfo B é sempre termodinamicamente mais estável do que A, qualquer que seja a temperatura considerada, abaixo da temperatura de fusão, sendo a transformação irreversível. ^[1, 29]

A relação de estabilidade entre polimorfos observada numa dada gama de pressões pode, obviamente, ser diferente quando a pressão é alterada, como ilustrado no diagrama de fases P . vs T . apresentado na Figura 1.3, no caso da bicalutamida.

Transições fora de controlo de polimorfos metaestáveis para formas mais estáveis representam um desafio significativo na indústria farmacêutica. Tal pode acontecer durante a cristalização do API, durante o processo de fabrico de comprimidos, ou mesmo no próprio comprimido durante o armazenamento. Portanto, uma formulação de um fármaco com o polimorfo mais estável é geralmente preferida. No entanto, por questões de solubilidade, nem sempre é este o escolhido, pois a solubilidade relativa de cada forma polimórfica reflete a sua estabilidade termodinâmica, tendo o polimorfo mais estável a menor solubilidade, Figura 1.5. ^[20, 23]

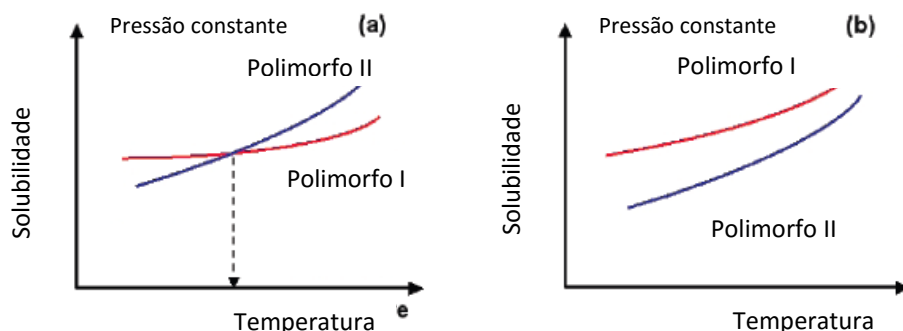


Figura 1.5: Curvas de solubilidade em (a) sistema enantiotrópico e (b) sistema monotrópico. [30]

Aspetos de Natureza Cinética

A formação de uma fase cristalina pode ser entendida como resultando de um processo de nucleação seguido de crescimento da fase. Para ocorrer a formação de um agregado molecular suficientemente estável, núcleo com dimensão crítica, para que ocorra crescimento, tem de vencer uma dada barreira de energia, o que resulta da dificuldade de formação de uma interface e da difusão molecular de modo a que ocorra agregação. A Figura 1.6 representa a competição de fatores cinéticos e termodinâmicos para um sistema dimórfico. [1, 29]

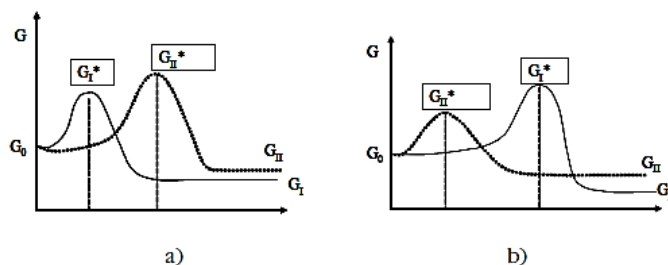


Figura 1.6: Representação da competição de fatores termodinâmicos e de fatores cinéticos na formação de diferentes formas sólidas, a pressão e temperatura constantes. [29]

O estado inicial, em que a energia de Gibbs molar do composto é G_0 , poderá ser uma solução sobressaturada, um líquido sobrearrefecido ou um sólido amorfo. A fase I, tem energia de Gibbs molar, G_I , inferior à da forma sólida II, G_{II} , sendo, portanto, o sólido mais estável em ambas as representações a) e b). O balanço termodinâmico e cinético que determina a formação da fase, no caso da Figura 1.6-a) é favorável à fase termodinamicamente estável, que é também a que apresenta uma energia de ativação mais baixa. Na representação da Figura 1.6-b) formar-se-á primeiro o cristal cinético, II, que é a fase metaestável, uma vez que apresenta uma menor energia

de ativação. No entanto, o cristal termodinâmico também se pode formar, nomeadamente por transformação de forma metaestável, dependendo da cinética deste processo. [4, 29]

A velocidade com que os processos ocorrem e, conseqüentemente, a barreira de energia de ativação, está dependente de um grande número de fatores, de entre os quais se destacam a natureza e concentração dos compostos de partida, pressão, temperatura, aditivos (catalisadores/inibidores) e meio/natureza do solvente. [31]

Como se referiu, classicamente, o processo de cristalização é descrito em termos de duas etapas distintas, a nucleação e o crescimento de cristal, que são responsáveis pela forma física final, conseqüência da relação cinética entre os dois processos elementares. [32, 30] De acordo com a CNT (do inglês *Classical Nucleation Theory*) a velocidade de nucleação de um cristal, J , é o número de partículas cristalinas que se formam a partir de uma solução sobressaturada por unidade de volume e de tempo. A relação de sobressaturação, S , é uma medida da distância a partir da experiência em equilíbrio pelo sistema sobressaturado. Assim, a velocidade de nucleação é geralmente expressa pela equação: [33]

$$J = A \exp \left(-\frac{B}{\ln^2 S} \right)$$

em que A e B são geralmente considerados constantes, e o expoente $B/\ln^2 S$ representa a barreira de energia para a nucleação. Deste modo, pequenas mudanças na sobressaturação podem induzir mudanças de várias ordens de grandeza na velocidade de nucleação. [33] A nucleação diz-se primária quando a solução formada não apresenta cristais, é límpida. Esta será designada de nucleação homogénea se os núcleos se formarem no seio da solução, e por nucleação heterogénea se os núcleos se formarem preferencialmente em substratos, tais como a parede do cristalizador, o agitador ou partículas sólidas, como partículas de poeira. Por outro lado, a nucleação secundária é induzida pela presença de cristais da mesma fase que são colocados como semente. Quando os núcleos formados excedem o tamanho crítico inicia-se a etapa de crescimento. [32, 30]

Portanto, a cristalização é um processo complexo e há diversas variáveis que podem influenciar os seus resultados, nomeadamente a temperatura, a natureza do solvente, o grau de sobressaturação, a pressão, o pH, a composição da solução e a velocidade de agitação. [34] A temperatura e a pressão desempenham um papel decisivo na obtenção da forma sólida, porque definem as suas condições de estabilidade e solubilidade. [34] A velocidade de nucleação e crescimento dependem da solubilidade do composto, do grau de sobressaturação, das interações intermoleculares e da tensão superficial entre líquido-sólido. [34] O grau de sobressaturação permite, em grande medida, determinar a morfologia da fase sólida que se obtém, pois quanto menor a sobressaturação maior será o grau de cristalinidade apresentado. [34]

Para além da natureza do solvente afetar a tensão interfacial núcleo/líquido, as interações entre as moléculas do solvente e do soluto, que são determinadas pela natureza do solvente têm um papel muito relevante. Relativamente ao efeito do solvente na cristalização deve considerar-se uma série de propriedades, tais como momento dipolar, viscosidade, constante dielétrica, bem como a presença de átomos aceitadores ou dadores em ligações de hidrogénio.^[35, 32] O solvente pode condicionar a conformação molecular e, tal como se observa em resultado da presença, mesmo vestigial, de aditivos, o solvente pode promover ou inibir a formação de redes de ligações de hidrogénio. Para o núcleo alcançar o tamanho crítico pode existir competição entre agregados ligados por diferentes tipos de interações intermoleculares, ou entre diferentes conformações moleculares, alguns deles mais privilegiados pelo solvente o que irá determinar a fase sólida que se obtém.^[32, 36]

1.2 Sistemas multicomponente

1.2.1 Sistemas binários

Os diagramas de fase sólido-líquido para sistemas binários, a uma pressão de interesse, são de grande utilidade, uma vez que permitem compreender com mais detalhe o comportamento de misturas de diferentes composições. Iremos apenas abordar sistemas binários em que existe miscibilidade completa em fase líquida. Duas situações limite podem ocorrer em fase sólida: os dois componentes podem ser completamente imiscíveis ou dar origem a soluções sólidas em toda a gama de composição binária.

O estado de uma fase num diagrama binário é descrito por três variáveis, pressão, P , temperatura, T , e fração molar de um componente, x , pelo que o diagrama total do equilíbrio de fases tem de ser representado num espaço tridimensional. Usualmente, quando se trata de um diagrama de fases sólido-líquido, a pressão é fixada no valor de pressão atmosférica e, por isso, é usado apenas o diagrama bidimensional, o plano T - x corresponde à pressão selecionada. Assim, fixando a pressão em $p=1\text{atm}$, a temperatura de equilíbrio é apenas função da composição.^[29]

Podem distinguir-se dois tipos de soluções sólidas. As soluções sólidas substitucionais são formadas quando um dos compostos pode substituir o outro na rede cristalina sem que haja distorção apreciável da mesma.^[37] As redes cristalinas dos dois componentes puros e as respetivas dimensões deverão ser semelhantes – isomorfismo e isosterismo. Nas soluções sólidas intersticiais ocorre a ocupação dos interstícios de uma dada rede cristalina pelas moléculas do outro

componente. ^[37, 38] A Figura 1.7 ilustra diagramas de fase binários sólido-líquido com formação de soluções sólidas.

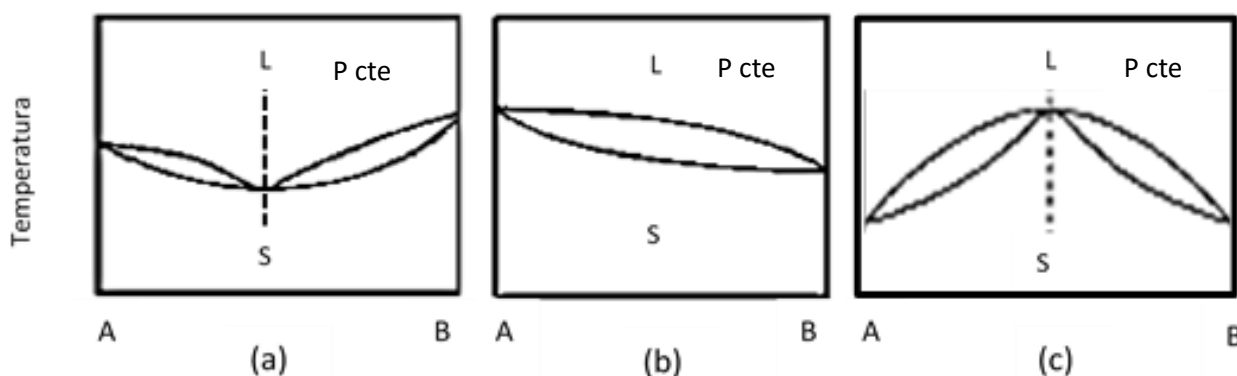


Figura 1.7: Tipos de diagramas de fases binários, sólido-líquido, com formação de soluções sólidas (S representa o estado sólido e L o estado líquido): (a) e (c) sistemas com desvio de comportamento ideal e (b) solução ideal. ^[38, 39]

No entanto, a formação de soluções sólidas em toda a gama de composição é muito rara. A imiscibilidade completa em fase sólida é mais comum. Nestes casos, o diagrama de fases binário sólido-líquido mais simples é o que se ilustra na Figura 1.8 com um eutético simples, com composição E, Figura 1.8-a). A mistura eutética funde numa gama estreita de temperatura, como se observa para substâncias puras. No ponto eutético, E, coexistem duas fases sólidas e uma líquida, portanto, com zero graus de liberdade, uma vez que a pressão é constante, representando um ponto invariante no diagrama. ^[29]

A linha horizontal define a temperatura do eutético, linha *solidus*, e corresponde ao aparecimento da primeira gota de líquido num processo de aquecimento, qualquer que seja a composição da amostra. Abaixo desta linha coexistem duas fases sólidas distintas. Para misturas com composição diferente da do eutético, a fusão inicia-se à temperatura do eutético, com formação de líquido de composição E, restando um excesso de composto sólido que funde num intervalo de temperatura, cujo limite superior é o valor que corresponde ao *liquidus* e que diz respeito ao desaparecimento do último vestígio de fase sólida, no processo de aquecimento. Entre o *solidus* e o *liquidus* coexistem uma fase líquida e uma fase sólida cristalina constituída pelo composto que se encontra em excesso relativamente à composição do eutético. Poderá ocorrer solubilidade parcial de um dos compostos no outro, ocorrendo a formação da solução sólida parcial nas composições extremas do diagrama, Figura 1.8-b). ^[29, 38]

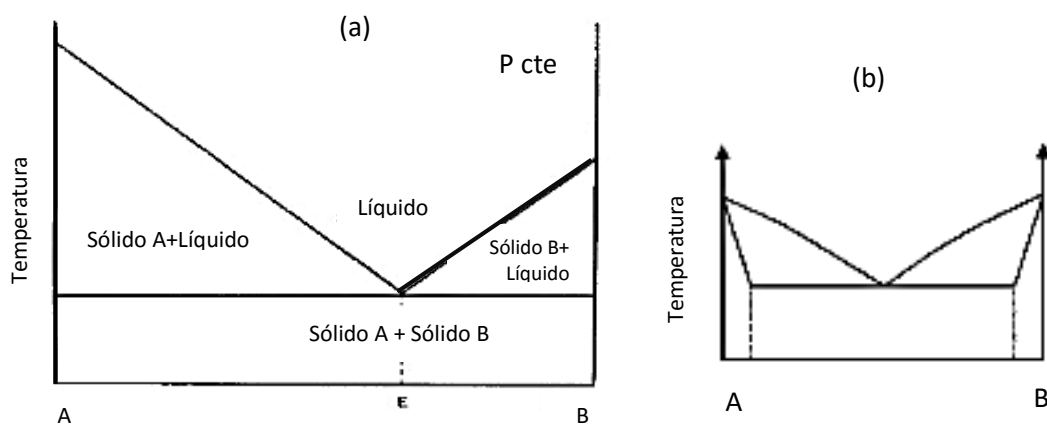


Figura 1.8: Diagrama de fases binário sólido-líquido: (a) com eutético simples^[13]; (b) com eutético simples e miscibilidade parcial em fase sólida.^[38]

As composições eutéticas representam uma das estratégias mais promissoras para melhorar a biodisponibilidade oral de ativos pouco solúveis em água. Isto resulta da redução do tamanho das partículas do ativo, o que irá aumentar a sua área de contacto com o fluido biológico, aumentando a solubilidade e velocidade de dissolução e, assim, a biodisponibilidade oral.^[13, 40] Quando uma mistura com composição E, que compreende um ativo muito pouco solúvel e um outro componente, transportador altamente solúvel em água, é dissolvida num meio aquoso, o transportador dissolve-se, libertando cristais de reduzida dimensão do ativo, aumentando, assim a respetiva velocidade de dissolução.^[13, 40]

Na Figura 1.9 é esquematizada a representação de um outro tipo de diagrama de fases sólido-líquido para um sistema binário com imiscibilidade em fase sólida. Neste caso ocorre formação de um composto de adição ou de um sal, com fusão congruente.^[41]

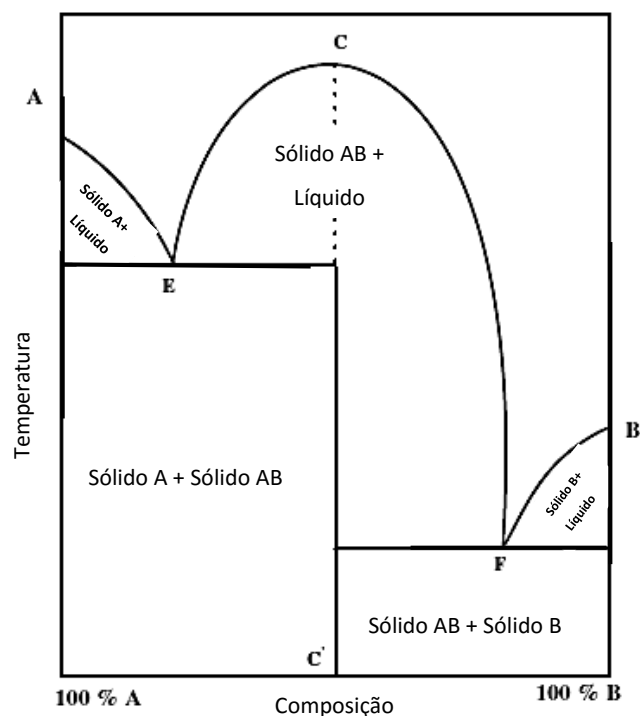


Figura 1.9: Representação esquemática de um diagrama de fases binário sólido-líquido com formação de um composto com ponto de fusão congruente. A e B são os componentes puros e AB é o composto com ponto de fusão congruente. [41]

Na Figura 1.9 as curvas AE e FB representam a composição do líquido em equilíbrio com o sólido A e com o sólido B, respetivamente, a diferentes temperaturas. A curva ECF, representa a composição do líquido em equilíbrio com o composto sólido AB. O máximo da curva, C, corresponde à temperatura de fusão de AB. No ponto C, as fases sólida e líquido têm a mesma composição. Neste caso, AB têm um ponto de fusão congruente. O ponto de fusão de AB pode ser superior, inferior ou situar-se entre os dois componentes. O diagrama evidencia a existência de dois pontos eutéticos, E e F. No ponto eutético E, coexistem os sólidos A e AB e líquido, enquanto que no ponto eutético F, os sólidos B e AB coexistem com a fase líquida F. Misturas com a composição de eutético ou AB fundem num intervalo de temperatura estreito, tal como as substâncias puras. [29, 41]

Quando se trata de um sistema binário como o que se apresenta na Figura 1.10, o composto AB funde incongruente à temperatura T_2 . Tal significa que a uma dada pressão, à temperatura T_2 ocorre a transformação de uma fase sólida, AB, numa mistura de duas fases, uma sólida, A, e uma outra, líquida, ambas de composição química distinta da composição química original. O ponto x, representa um ponto invariante no qual a composição da fase líquida coexiste

em equilíbrio termodinâmico com as fases sólidas. Este ponto designa-se por peritético e ao contrário dos pontos eutéticos não é um mínimo na curva *liquidus*. [42, 43, 44]

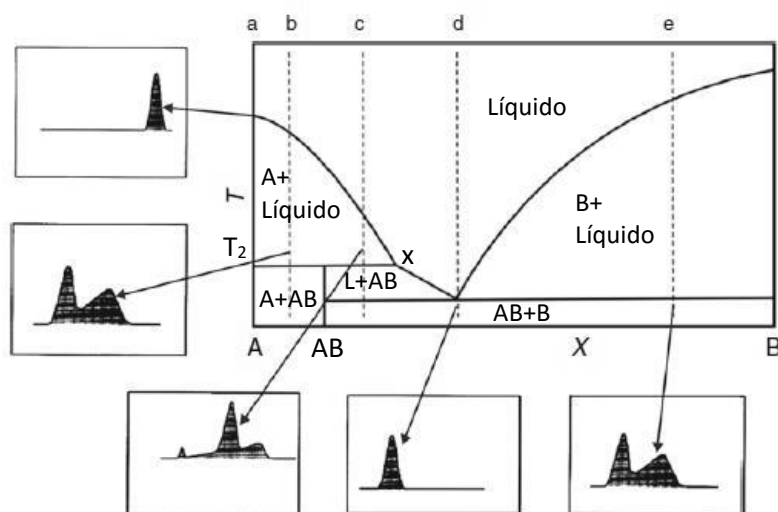


Figura 1.10: Correlação entre o diagrama de fases de um sistema binário sólido-líquido para um composto de adição com fusão incongruente e a forma das curvas de DSC. [45]

A existência de polimorfismo quer dos compostos puros, quer dos sólidos multicomponentes pode originar diagramas de maior complexidade.

1.2.2 Co-cristais

O *design* e síntese de cristais multicomponente, tais como co-cristais, compostos de adição, ganharam um interesse significativo nos últimos tempos, devido à capacidade destas formas sólidas alterarem as propriedades do material, para aplicações farmacêuticas, comparativamente à substância original. Apesar da recente popularidade generalizada dos co-cristais, ainda não há uma definição universalmente aceite para estas identidades, o que tem estimulado um debate científico significativo, com diferentes autores a utilizar diferentes parâmetros para a definição. [46]

A definição que adotamos é a dada pela *FDA*: co-cristais são materiais cristalinos, compostos por duas ou mais moléculas, distintas, na mesma estrutura cristalina, sendo os compostos de partida, sólidos à temperatura ambiente. Não ocorre transferência de prótons na formação de co-cristais. [47]

A distinção entre co-cristais e sais tem levantado alguma polémica. Segundo a *FDA*, sais definem-se como qualquer composto que resulta da substituição de parte ou de todo o hidrogénio ácido de um ácido por um metal ou um radical a atuar como um metal; sólidos cristalinos iónicos ou eletrovalentes. [47]

Deste modo, um sal é um sistema multicomponente, onde são transferidos prótons a partir de um ácido para uma base, originando um composto iónico. A transição da forma neutra $X-H\cdots Y$, com ligação de hidrogénio, para a ligação iónica pode ser vista como um contínuo de estados da ligação $X\cdots H\cdots Y$. O valor de ΔpK_a (pK_a da base - pK_a do ácido) em solução e o ambiente cristalino determinam a extensão da transferência de prótons.^[13] A distinção entre co-cristais e sais pode ser, portanto, difícil de estabelecer, com a FDA a considerar que uma diferença de $\Delta pK_a < 1$, em princípio, resultará na formação de um co-cristal. O recurso a métodos espectroscópicos e de difração de neutrões é recomendado para avaliar a efetiva transferência de próton, quando existem dúvidas.^[23, 48]

Num co-cristal farmacêutico pelo menos um dos componentes moleculares é um API que se associa com outro tipo de molécula designada por co-formador.^[15, 49] Mais rigorosamente, para ser útil, o componente não-API não deve ser tóxico e não deve possuir efeitos secundários adversos. Idealmente, o co-formador deve estar incluído na lista *EAFUS* (do inglês: *Everything Added to Food in the United States*) da FDA, que contém mais de 3000 substâncias que são adequadas como aditivos alimentares, ter sido aprovado como *GRAS* (do inglês: *Generally Recognized as Safe*) ou poderá ser também outro API.^[50] É de realçar que o número de contra-íões aprovado para formação de sais é muito mais reduzido.

O interesse em co-cristais farmacêuticos resulta de que, sendo formas cristalinas diferentes do API, aumentam a gama de formas sólidas disponíveis para a formulação. As propriedades físico-químicas do fármaco podem ser modificadas mantendo a sua atividade intrínseca. Os co-cristais têm diferentes propriedades físicas, como por exemplo o hábito cristalino, a densidade, a solubilidade, compressibilidade, ponto de fusão e velocidade de dissolução. A formação de um co-cristal muitas vezes oferece possibilidade de transformar um API amorfo ou difícil de cristalizar num estado cristalino estável facilmente manuseável. Os co-cristais representam também uma oportunidade de proteção de propriedade intelectual.^[48, 51]

A investigação de co-cristais alcançou um rápido sucesso, uma vez que a sua formação poderá ser pensada no âmbito da engenharia de cristais, a partir de um *design* simples baseado em sintões supramoleculares.^[6, 8] O conceito de engenharia de cristais foi introduzido por Pepinsky [52] em 1955 e implementado por Schmidt no contexto de reações fotoquímicas orgânicas no estado sólido.^[53] Desiraju^[54], posteriormente, definiu engenharia de cristais como " a compreensão das interações intermoleculares no contexto de empacotamento cristalino e na utilização de tal conhecimento na conceção de novos sólidos com propriedades físicas e químicas desejadas". Uma compreensão detalhada da química supramolecular dos grupos funcionais presentes numa dada

molécula é um pré-requisito fundamental para a conceção de um co-cristal, uma vez que facilita a seleção de co-formadores apropriados. [6, 8]

De facto, elementos chave envolvidos na formação de co-cristais são tipicamente ligações de hidrogénio fortes que são frequentemente complementadas por ligações de hidrogénio adicionais mais fracas, ligações por halogéneos, interações $\pi - \pi$ ou forças de van der Waals, embora uma combinação das forças mais fracas possa, por vezes, ser suficiente. Estas são as interações intermoleculares disponíveis para uma variada gama de funcionalidades e topologias que resultam numa ampla gama de oportunidades de formação de novas estruturas em fase sólida. [55]

Os fatores estruturais que estão na base de formação de co-cristais denominam-se sintões supramoleculares. Os homosintões representam a interação entre grupos funcionais idênticos e heterosintões envolvem a interação entre grupos funcionais distintos. A Figura 1.11 mostra alguns dos sintões supramoleculares mais comuns em co-cristais, de acordo com a pesquisa realizada na CSD (do inglês: *Cambridge Structural Database*), nomeadamente os homosintões: I, ácido-ácido e III, amida-amida e os heterosintões IV, ácido-amida e II, ácido-heterociclo. [55]

A seleção do co-formador é feita, com base na abordagem de sintão supramolecular, de modo que este possua fragmentos moleculares específicos que estabeleçam com o API sintões supramoleculares viáveis. Deste modo é fundamental que existam grupos funcionais específicos, complementares no fármaco e no co-formador. [23, 56]

No entanto, a abordagem de sintões supramoleculares pode ter desvantagens, uma vez que não é quantitativa: embora a formação do sintão possa ser muito favorável, pode não ser possível o empacotamento numa estrutura cristalina ordenada. [23, 56] Quando vários grupos funcionais estão presentes numa molécula, como é frequente para muitos APIs, a CSD raramente contém informação suficiente para dirigir a hierarquia dos possíveis sintões supramoleculares. [6, 57] Fatores de competição entre diferentes grupos funcionais presentes nas moléculas e impedimento estéreo entre os grupos dadores e aceitadores das ligações de hidrogénio, podem condicionar a associação API:co-formador. [23, 56]

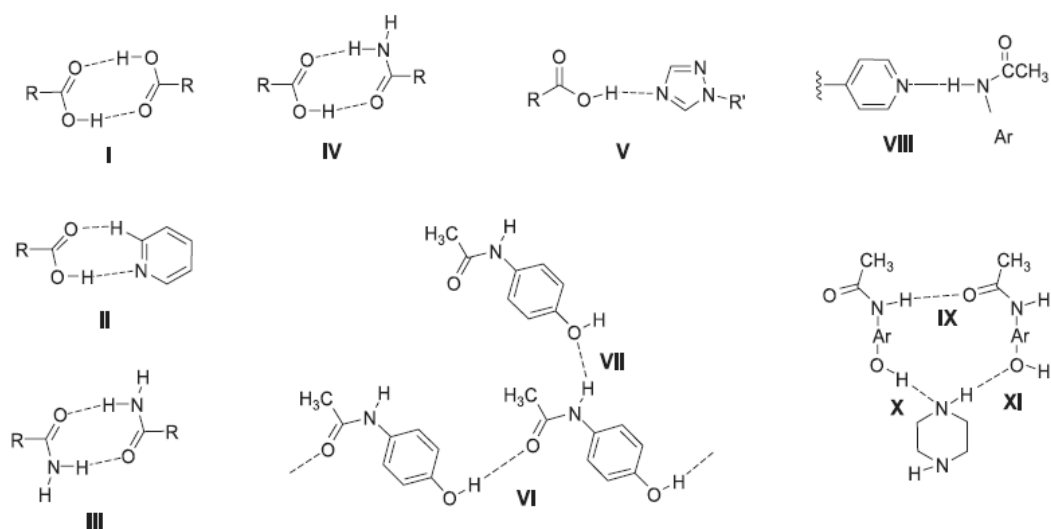


Figura 1.11: Exemplo de sintões supramoleculares observados em co-cristais. [2]

1.3 Bicalutamida

A bicalutamida, Figura 1.12, (+/-)-N-[4-ciano-3-(trifluorometil)-fenil]-3-[4-fluorofenil]sulfonil]-2-hidroxi-2-metilpropanamida, é comercializada como Casodex, Cosudex, Calutide e Kalumid e possui atividade anti-andrógena não-esteróide por via oral, sendo muito utilizada no tratamento do cancro da próstata e do hirsutismo. [58, 59]

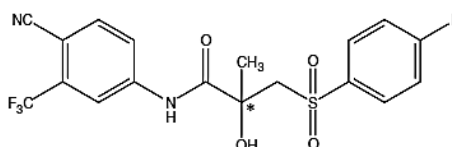


Figura 1.12: Estrutura química da bicalutamida; carbono quiral assinalado com asterisco [21]

A bicalutamida possui um carbono quiral, assinalado na Figura 1.12. O enantiómero R mostra afinidade para os recetores andrógenos superior em 30% à do enantiómero S, mas em formulações sólidas a mistura racémica ou heteroquiral é a comercializada. [60]

A bicalutamida é praticamente insolúvel em água (menos de 40 mg/L) [61], mas ao mesmo tempo parece ter uma elevada permeabilidade membranar. Assim, de acordo com o sistema de classificação biofarmacêutico de substâncias (BCS), pertence à classe II. [61]

A molécula de bicalutamida é flexível, o que significa que, à partida, poderá exibir polimorfismo conformacional. A cristalização de moléculas conformacionalmente flexíveis tem duas potenciais complicações que não são encontradas em moléculas rígidas, nomeadamente, a

possibilidade, já referida, de ocorrência de polimorfismo conformacional e a reduzida tendência de cristalização. [62, 61]

Foram descritas por Vega et al. [61] duas formas cristalinas da bicalutamida, a forma I (depositada em CSD: JAYCES01) e a forma II (depositada em CSD: JAYCES02), Figura 1.13 e uma fase amorfa, caracterizadas por calorimetria diferencial de varrimento, difração de raios-X de pó e de cristal único, quando aplicável, e espectroscopia de Raman. [61] As duas formas cristalinas terão, segundo Vega *et al.* uma relação de monotropia, à pressão atmosférica, sendo I a forma estável. [61] Anteriormente, já tinham sido relatados por Shintaku *et al.* [63] a caracterização por difração de raios-X da forma I e por Westheim e Jozef [64] a caracterização da forma II e do estado amorfo, sem resolução da estrutura cristalina.

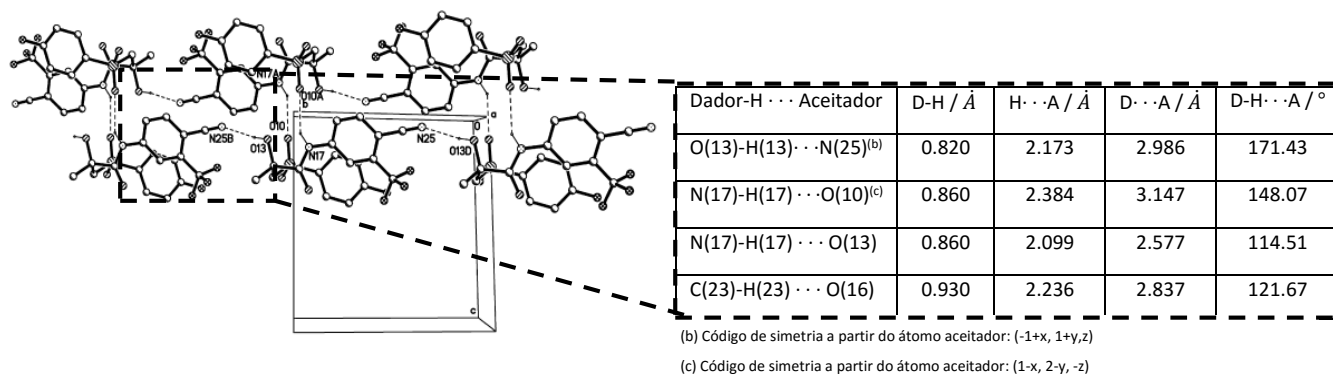


Figura 1.13: Representação do empacotamento cristalino da forma polimórfica II da bicalutamida, mostrando as ligações de hidrogênio intermoleculares e a descrição geométrica das interações por ligações de hidrogênio. [61]

Hu e Gu [65] reportaram também, anteriormente a Vega *et al.*, Figura 1.14, uma estrutura resolvida por difração de raios-X de cristal único (depositada em CSD: JAYCES). Os parâmetros cristalográficos das duas estruturas estão resumidos na Tabela 1.2. A estrutura resolvida por Hu e Gu, com parâmetros de ajuste de melhor qualidade que a de Vega *et al.*, é muito semelhante à da forma I. Como veremos no Capítulo 3 os difractogramas de raios-X de pó simulados são indistinguíveis. A conformação molecular nesta estrutura é muito semelhante à existente no cristal resolvido por Vega *et al.*, com exceção da orientação do hidrogênio do grupo hidroxilo. Esse facto traz consequências no que diz respeito às potenciais ligações de hidrogênio intermoleculares: a estrutura JAYCES apresenta uma ligação de hidrogênio intermolecular, entre um dos grupos sulfonilo e hidroxilo, Figura 1.14 enquanto que na estrutura JAYCES01 não existe qualquer tipo de ligação de hidrogênio. [65] De qualquer modo, atendendo aos parâmetros de ligação de hidrogênio, Figura 1.14, em JAYCES, esta é fraca. [66] A coesão do cristal fica a dever-se a outro tipo de interações intermoleculares.

Tabela 1.2: Dados cristalográficos das estruturas cristalinas publicadas por Hu e Gu [65] e por Vega *et al.* [61] para a bicalutamida.

	JAYCES	JAYCES01
Sistema Cristalino	Monoclínico	Monoclínico
Grupo Espacial	$P2_1/c$	$P2_1/c$
Parâmetros da Célula	a = 14.882 (5) Å b = 12.213 (3) Å c = 10.461 (3) Å $\beta = 104.680 (13)^\circ$	a = 14.997 (3) Å b = 12.244 (2) Å c = 10.483 (2) Å $\beta = 104.67 (3)^\circ$
Z	4	4
R [$F^2 > 2\sigma(F^2)$]	0.040	0.0675
R _{int}	0.027	0.0960

É de referir que a representação da estrutura cristalina da forma polimórfica I, efetuada por Vega *et al.* no artigo publicado no *International Journal of Pharmaceutics* [61], está incorreta, uma vez que não corresponde ao respetivo CIF (do inglês Crystallographic Information File), o mesmo acontece com a descrição das ligações de hidrogénio existentes nesta forma que é feita no texto.

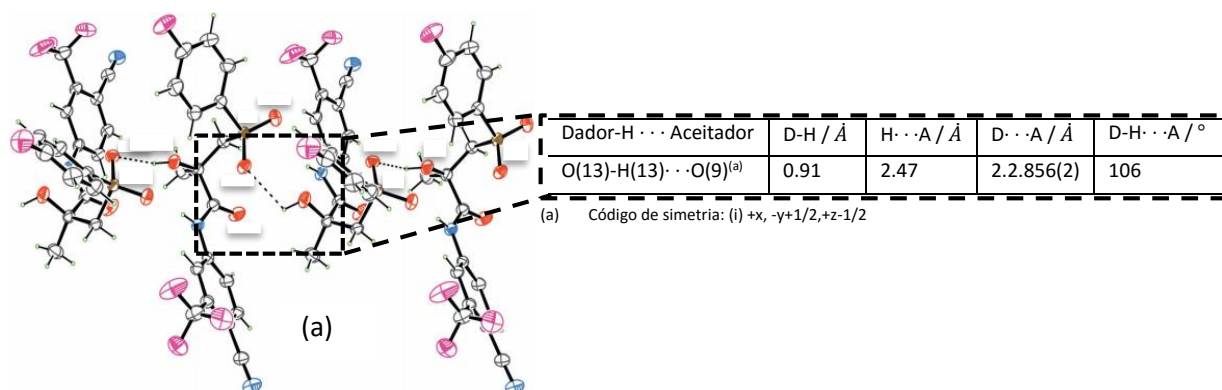


Figura 1.14: Estrutura cristalina do polimorfo I da bicalutamida: JAYCES, com a representação das ligações de hidrogénio e a descrição geométrica das interações por ligações de hidrogénio. [65]

Na forma polimórfica II duas moléculas estão ligadas entre si através de duas ligações de hidrogénio fracas nas quais N(17) atua como dador e O(10) como aceitador, formando dímeros que se associam em cadeia. Cada dímero interatua por ligações de hidrogénio que envolvem H(13), em que N(25) é o aceitador, o que determina a cadeia. Além disso, o facto das moléculas possuírem uma conformação fechada permite que ocorra uma interação $\pi \cdots \pi$ ainda que fraca entre os anéis de seis membros C2 / C3 / C4 / C5 / C6 / C7 e o anel C18 / C19 / C20 / C21 / C22 / C23 da molécula vizinha, Figura 1.13. [61]

Nas estruturas cristalinas das formas polimórficas I e II as moléculas apresentam conformações muito diferentes, Figura 1.15, sendo a principal diferença devida à torção do ângulo C12-C11-S8-C5, o que faz com que na forma I a molécula apresente uma estrutura aberta, e na forma II uma estrutura dobrada. ^[61] Ambas as conformações moleculares são estabilizadas por ligações de hidrogénio intramoleculares muito fracas, na forma I entre os grupos O13-H13 ··· O9 e na forma II entre os grupos N17-H17 ··· O13 e C23-H23 ··· O16.

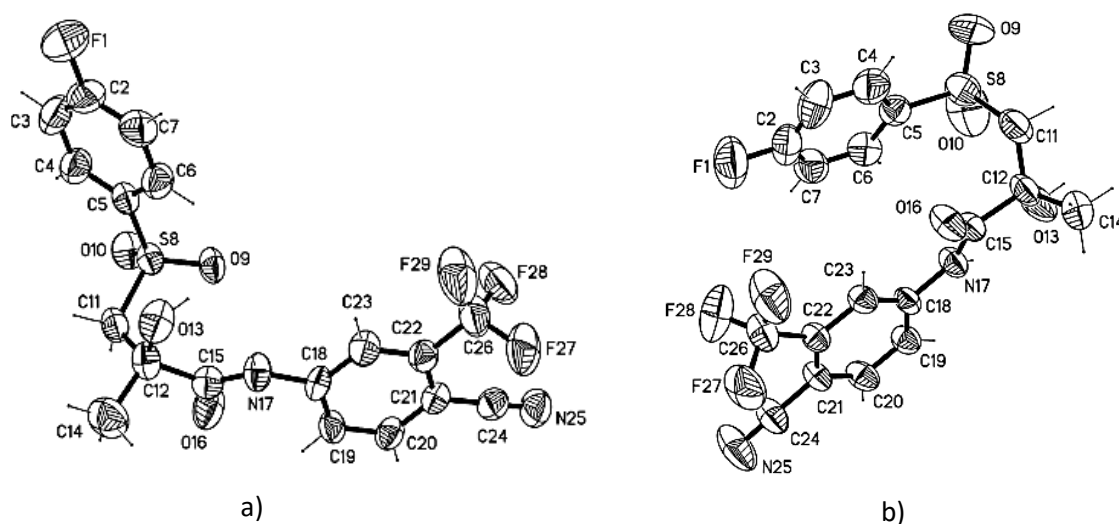


Figura 1.15: Conformação molecular da bicalutamida nas duas formas polimórficas: a) forma I e b) forma II. ^[61]

Bis *et al.* ^[67] descrevem dois co-cristais da bicalutamida, sendo os co-formadores 4,4'-bipiridina (depositado em CSD: KIHZOR), com estequiometria (bicalutamida)₁(4,4'-bipiridina)₁, e trans 1,2-bis (4-piridil) etileno (depositado em CSD: KIZIL), com estequiometria (bicalutamida)₂(trans 1,2-bis (4-piridil) etileno)₁. Neste estudo também foi possível verificar que o segundo sistema tende a formar solvato na presença de acetona, com estequiometria (bicalutamida)₂(trans 1,2-bis(4-piridil)₁(acetona)₂. Os métodos utilizados para a síntese de ambos foram a moagem manual, em almofariz e pilão de ágata, com adição de solvente. No caso do co-cristal KIHZOR foi usada acetona e no caso do co-cristal KIZIL foi usado dimetilsulfóxido. Foram obtidos mono-cristais por co-cristalização a partir da evaporação de solvente, à temperatura ambiente.

A estrutura cristalina do co-cristal bicalutamida:4,4'-bipiridina (1:1) é sustentada por heterosintões supramoleculares, nomeadamente por O(13)-H(13) ··· N_{aromático} e N(17)-H(17) ··· N_{aromático}, Figura 1.16. Estes são estabilizados por interações $\pi \cdots \pi$ contínuas que ocorrem entre as moléculas de 4,4'-bipiridina adjacentes. ^[68]

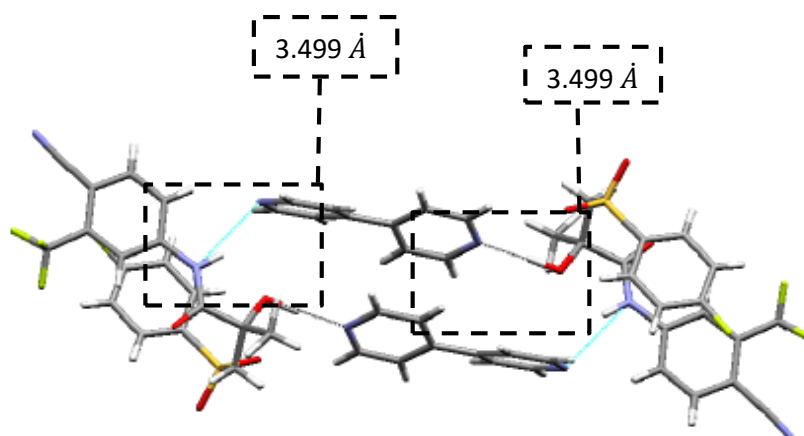


Figura 1.16: Sintões supramoleculares formados entre a bicalutamida e 4,4'-bipiridina, mostrando o comprimento de cada uma das ligações que são estabelecidas. ^[68]

Na estrutura cristalina do co-cristal de bicalutamida e trans-1,2-bis (4-piridil) etileno (2:1) a interação é conseguida, também, por heterosintões supramoleculares $O(13)-H(13) \cdots N_{\text{aromático}}$, Figura 1.17. Os agregados adjacentes são relacionados por um centro de inversão e envolvem a formação de heterosintões $N(17)-H(17) \cdots N_{\text{aromático}}$ e são adicionalmente estabilizados por empacotamento $\pi-\pi$ que ocorre entre as moléculas de trans-1,2-bis (4-piridil) etileno. ^[68]

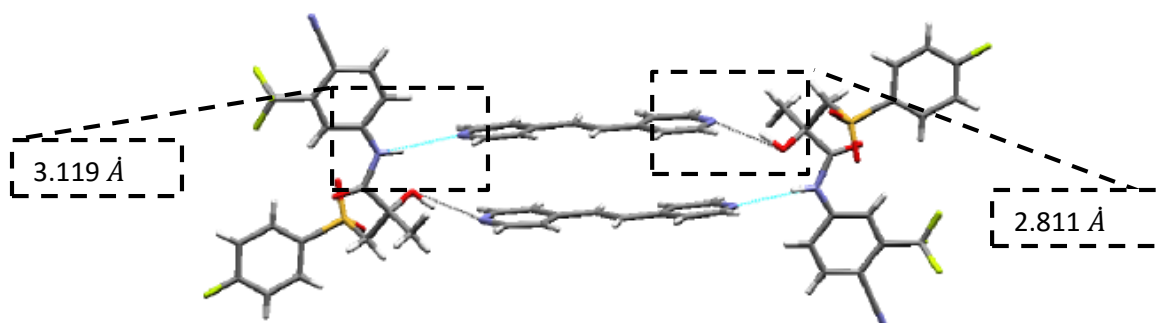


Figura 1.17: Sintões supramoleculares formados entre a bicalutamida e trans-1,2-bis (4-piridil)etileno, mostrando o comprimento de cada uma das ligações que são estabelecidas. ^[68]

Na literatura é ainda descrito o estudo de uma dispersão sólida da bicalutamida em polivinilpirrolidona, que se mostrou estável a 25°C durante 6 meses. ^[69] Foi também identificado um solvato de bicalutamida e dimetilsulfóxido com estequiometria de 1:1. Neste solvato, assim como nos dois co-cristais descritos anteriormente, a bicalutamida adota uma conformação dobrada. ^[62]

1.4 Objetivo do trabalho

Como se referiu na página 11 deste trabalho, a natureza do solvente pode condicionar a forma polimórfica que resulta de um processo de cristalização de um composto em solução. Em diferentes solventes as interações soluto-solvente e soluto-soluto, induzidas pelo solvente, serão distintas e a conformação molecular do composto poderá ser afetada pela natureza do solvente.

A bicalutamida, uma molécula conformacionalmente flexível, para a qual são conhecidos apenas dois polimorfos, nos quais as moléculas têm conformações muito distintas, é um composto promissor para averiguar efeitos de solvente na cristalização de polimorfos distintos.

Assim um dos objetivos desta dissertação é o estudo do efeito do solvente na formação de diferentes polimorfos de bicalutamida por cristalização em solução. Pretende-se investigar correlações entre a estrutura da bicalutamida em solução e a forma sólida gerada.

É também apresentado o resultado da investigação de co-cristalização, por mecanoquímica, da bicalutamida com diversos co-formadores. Numa perspetiva de formação de co-cristais, a presença, na molécula de bicalutamida, de vários grupos funcionais, Figura 1.18, suscetíveis de originar uma diversidade de sintões supramoleculares, torna este composto um exemplo paradigmático de possíveis efeitos de competição de sintões. Foram escolhidos grupos de co-formadores, com variações sistemáticas das estruturas em cada grupo, capazes de originar diferentes tipos de sintões supramoleculares. Sendo um ativo da classe II do BCS, alguns dos co-formadores foram escolhidos tendo em vista a investigação de formação de co-cristais ou de outras misturas sólidas, por exemplo, eutéticos binários, com potencial para aplicação farmacêutica.

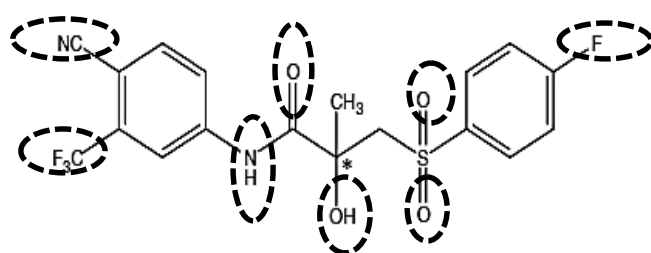


Figura 1.18: Estrutura da bicalutamida mostrando os grupos que podem participar em ligações de hidrogénio.

Capítulo 2

Materiais e Métodos

Materiais e Métodos

2.1 Materiais

Na Tabela 2.1, são apresentados os compostos utilizados neste trabalho, o API e os diferentes co-formadores selecionados, é indicado o respetivo peso molecular, o grau de pureza e o laboratório de origem. Na Tabela 2.2 são apresentados os diferentes solventes utilizados, quer para a investigação de co-cristais, quer nos ensaios de cristalização em solução.

Tabela 2.1: Origem e pureza dos compostos utilizados neste trabalho.

Composto	Laboratório	Pureza / %	MM / g.mol ⁻¹
Bicalutamida	West Pharma	99.0-101.0	430.37
4,4'-bipiridil	Fluka	≥99.0	156.19
Oxamida	Fluka	98.0	88.07
Ácido fumárico	Sigma-Aldrich	≥99.0	116.07
Ácido oxálico anidro	Fluka	≥99.0	90.04
Nicotinamida	Sigma-Aldrich	≥99.5	122.12
Isonicotinamida	Sigma-Aldrich	99.0	122.12
Pirazinamida	Fluka	99.0	123.11
Cafeína	Fluka	≥99.0	194.19
Teofilina anidra	Sigma-Aldrich	99	180.16
Guanina	Sigma-Aldrich	98.0	151.13
Pirazina	Sigma-Aldrich	≥99.0	80.09
1,2-Bis (4-piridil) etano	Sigma-Aldrich	99.0	184.24
Taurina	Sigma-Aldrich	99.0	125.15
<i>p</i> -benzoquinona	Sigma-Aldrich	≥99.5	108.09

Tabela 2.2: Laboratório de aquisição e pureza de cada um dos solventes usados.

Solvente	Laboratório	Pureza / %
Acetona	Lab-scan	99.5
Acetato de etilo	Fisher Chemical	99.97
Dioxano	Merck	99.8
Tetra-hidrofurano	Panreac	99.5
Etanol	Panreac	99.8
Metanol	Merck	≥99.9

2.2 Métodos de Preparação das Amostras

Para o estudo da relação entre a estrutura de bicalutamida em solução e a forma sólida obtida utilizou-se como metodologia a cristalização em solução. Na investigação da formação de co-cristais entre a bicalutamida e os diferentes co-formadores recorreu-se à mecanoquímica com e sem assistência de solvente.

2.2.1 Cristalização em Solução

A cristalização a partir de uma solução é uma operação unitária de importância significativa na produção industrial de produtos químicos orgânicos e inorgânicos, bem como na purificação química e produção de formas polimórficas em compostos farmacêuticos. [70]

Como se referiu, o solvente utilizado no processo de cristalização pode ter um papel de grande relevo na obtenção de formas polimórficas de um ativo. Com o objetivo de tentar obter correlação entre diferenças observadas entre a estrutura em solução e a forma sólida de bicalutamida cristalizada, foram efetuados ensaios de cristalização em 2 solventes, tetra-hidrofurano e acetona escolhidos como resultado de investigação prévia.

Condições experimentais

Dissolveram-se cerca de 21.5 mg de bicalutamida em 1.5 mL de acetona ou de tetra-hidrofurano. Para facilitar a dissolução, as amostras foram submetidas a ultrassons. Posteriormente foram filtradas com filtros de 0.45µm Millex-PVDF Durapore para frascos de polipropileno calibrados e o solvente evaporou à temperatura controlada de 25°C usando um banho seco MK-20. A solução inicial e as amostras de solução colhidas durante o processo de evaporação foram analisadas por FTIR. Foram também analisados os sólidos obtidos após evaporação total do solvente.

2.2.2 Mecanoquímica

Historicamente, a moagem sem adição de solvente foi a primeira metodologia associada à mecanoquímica: ato de misturar conjuntamente os componentes previamente selecionados para a investigação de formação de co-cristal triturando-os, manualmente, em almofariz com pilão, ou mecanicamente, utilizando um moinho de esferas. [51]

Em 2002, Shan *et.al* [71] introduziram a moagem assistida por solvente que envolve a trituração dos materiais em estudo com a adição de quantidades catalíticas de solvente. Isto implica que as quantidades de solvente utilizado são mínimas tendo apenas como finalidade o aumento no rendimento, na cristalinidade do produto, bem como o controlo de polimorfismo. [72, 51, 73, 74]

Condições experimentais

Utilizou-se um moinho de bolas Retsch MM400, em células de 1.5 mL de aço inoxidável, com uma esfera de 4 mm de diâmetro, também em aço inoxidável, sendo a massa total de ambos os componentes de cerca de 20 mg. Em algumas experiências também se utilizaram células de 10 mL de aço inoxidável, com duas esferas de 7 mm de diâmetro, também de aço inoxidável, com massa total de ambos os componentes de cerca de 40 mg.

Uma vez que os co-cristais formados com a bicalutamida, descritos na literatura são preparados por moagem manual em almofariz de ágata e pilão, também foi realizado o estudo de algumas amostras preparadas deste modo.

A Tabela 2.3 sumaria as condições experimentais dos vários ensaios realizados com diferentes proporções molares de bicalutamida e de cada um dos co-formadores escolhidos, sendo as composições das misturas detalhadas no Capítulo 3.

Tabela 2.3: Condições experimentais utilizadas na preparação das diferentes misturas.

	Tipo de moagem	Solvente (V/ μ L)	Tempo / min	Frequência / Hz
4,4'-bipiridil	Manual	Acetona (10)	4	-
	M.B ^(b)	Acetona (5)	30	15
Oxamida	Manual	Acetona (10)	4	-
	M.B ^(b)	Etanol (5)	30	15
Ácido fumárico	i) Manual	Acetona (10)	4	-
	ii) Manual sobre i)	Acetona (10)	4	-
	M.B ^(b)	Etanol (5)	30	15
Ácido oxálico anidro	i) M.B ^(a)	Etanol (5)	30	15
	ii) Manual sobre i)	Acetona (10)	4	-
Nicotinamida	M.B ^(b)	Etanol (5)	30	15
	Manual	Dioxano (5)	4	-
	M.B ^(b)	-	30	15
Isonicotinamida	M.B ^(b)	Etanol (5)	30	15
Pirazinamida	M.B ^(b)	-	30	15
Cafeína	M.B ^(a)	-	30	15
	i) M.B ^(a)	Etanol (5)	30	15
	ii) M.B ^(a) sobre i)	Etanol (5)	30	15
	M.B ^(a)	Etanol (5)	60	30
Teofilina	M.B ^(a)	Etanol (5)	30	15
Guanina	M.B ^(a)	Etanol (5)	30	15
Pirazina	i) M.B ^(a)	Etanol (5)	30	15
	ii) Manual sobre i)	Dioxano (10)	4	-
1,2-Bis (4piridil) etano	M.B ^(b)	Acetona (5)	30	15
	M.B ^(b)	Etanol (5)	30	15
Taurina	M.B ^(a)	-	30	15
	i) M.B ^(a)	Etanol (5)	30	15
	ii) M.B ^(a) sobre i)	Etanol (5)	30	15
	M.B ^(a)	Acetato de etilo (5)	60	30
	M.B ^(b)	Etanol (5)	90	15
	M.B ^(a)	Etanol (5)	90	15
p-benzoquinona	M.B ^(b)	Acetona (5)	30	15
	M.B ^(b)	Etanol (5)	30	15

(a) Moinho Retsh MM400, células de 10mL com duas esferas de 7mm de diâmetro; (b) Moinho Retsh MM400, células de 1.5mL com uma esfera de 4mm de diâmetro.

2.3 Métodos de análise

Neste trabalho foram utilizados métodos de análise térmica como calorimetria diferencial de varrimento (DSC) e a termomicroscopia com luz polarizada (PLTM). Utilizaram-se também métodos cristalográficos, a difração de raios-X de pó (XRPD) e métodos espectroscópicos nomeadamente a espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier – reflectância total atenuada (FTIR-ATR). Foram também feitos estudos computacionais sobre a molécula isolada de bicalutamida.

2.3.1 Análise térmica

A análise térmica representa um conjunto de técnicas em que uma propriedade da amostra é medida em função do tempo ou da temperatura enquanto a temperatura da amostra, numa atmosfera específica, é aumentada ou diminuída a uma velocidade constante ou mantida num valor fixo. [75]

2.3.1.1 Calorimetria Diferencial de Varrimento (DSC)

A calorimetria diferencial de varrimento, do inglês *Differential Scanning Calorimetry* (DSC), mede a diferença de fluxo de calor entre a célula da amostra e a célula de referência, em função da temperatura, enquanto ambos são submetidos a um programa de temperatura, numa atmosfera controlada. Neste trabalho foi utilizado um calorímetro de potência compensada. Neste, a amostra e a referência encontram-se em fornos individuais, sendo as diferenças de temperatura entre ambas compensadas por fornecimento diferencial de potência calorífica necessária para manter os dois fornos à mesma temperatura. Aquilo que se obtém é esta diferença de potência calorífica representada em função da temperatura da amostra, ou do tempo de ensaio. [76, 77, 78]

A calorimetria diferencial de varrimento é uma das técnicas térmicas mais utilizadas devido à sua capacidade em fornecer informações detalhadas sobre as propriedades físicas e energéticas de uma dada substância, nomeadamente as temperaturas de transição sólido-sólido, cristalização ou fusão, capacidade calorífica, interações fármaco-fármaco ou fármaco-excipiente. Utiliza uma pequena quantidade de amostra (~ 1-10 mg) sendo uma técnica tanto qualitativa como quantitativa. No entanto, a amostra perde a identidade durante a análise, não é obtida informação direta acerca da natureza dos eventos térmicos e pode ser difícil resolver eventos térmicos que se sobreponham, em valores de temperatura próximos. [78, 79]

Condições experimentais

Neste trabalho foram utilizados dois calorímetros, Perkin-Elmer DSC 7 e Perkin-Elmer Pyris 1, ambos equipados com sistemas de refrigeração ajustados a -7.8 °C e -25.1°C, respetivamente, sendo o fluido de refrigeração uma mistura etilenoglicol/água (1:1, (v/v)). Utilizou-se como gás de purga o azoto, com fluxo de 20 mL/min.

As amostras foram preparadas em cápsulas de alumínio de 30 µL hermeticamente fechadas. Como referência foi utilizada uma cápsula igual, mas vazia. Os programas de varrimento são descritos ao longo do trabalho.

A calibração foi efetuada para diferentes velocidades de varrimento com recurso a padrões de elevado grau de pureza. Para a calibração da temperatura utilizaram-se o bifenilo (material

certificado, LGC 2610, $T_{fus}=68.93$ °C); o naftaleno (material de referência certificado LGC 2401, $T_{fus}=80.20$ °C); o ácido benzoico (material certificado, LGC 2606, $T_{fus}=122.4$ °C); o índio (material de referência certificado Perkin-Elmer, 99.999 % $T_{fus}=156.60$ °C). Para a calibração da entalpia foi usado o índio $\Delta_{fus}H=28.6$ J.g⁻¹.

2.3.1.2 Termomicroscopia com luz polarizada (PLTM)

A termomicroscopia com luz polarizada, também designada por *hot-stage thermomicroscopy*, envolve a observação da amostra através de um microscópio ótico com luz polarizada em função da temperatura, o que permite visualizar eventos térmicos como transições de fase sólido-sólido, fusão, cristalização, entre outros. Tal implica que esta técnica é complementar à calorimetria diferencial de varrimento, uma vez que permite visualizar através de imagens e/ou vídeo os processos que ocorrem ao longo de um programa de temperatura pré-definido. Esta técnica permite ainda observar a cristalinidade, a morfologia e o hábito cristalino das formas sólidas, utilizando uma quantidade mínima de amostra. No entanto a informação quantitativa não é avaliada. [50, 79, 80]

Condições experimentais

O equipamento utilizado neste trabalho é constituído por uma placa de aquecimento DSC600 da Linkam, sendo a temperatura controlada por sensores de platina (Pt100). O equipamento possui um bloco central com várias unidades que desempenham diversas funções: a unidade CI94 (*computer interface*) que tem como função o controle do programa de temperatura, a unidade LNP94 (*Liquid Nitrogen Pump*) que controla a refrigeração e uma unidade VTO232 (*Video Text*) e um computador que controla todo o sistema. A observação da amostra é feita por um microscópio de transmissão de luz polarizada, DMRB adquirido à empresa Leica, sendo toda a experiência fotografada e filmada pela câmara Sony CCD-IRIS/RGB modelo DXC-151 AP e gravada em computador.

As imagens foram obtidas com ampliação de 50× ou 200×, sendo descritas ao longo do trabalho.

2.3.2 Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier

A espectroscopia de infravermelho baseia-se na absorção de radiação eletromagnética na região do infravermelho por moléculas, resultando em transição entre níveis vibracionais. São ativos em

infravermelho os modos vibracionais que resultam em variação do momento dipolar. Esta técnica tem um elevado potencial na elucidação das estruturas moleculares, já que o espectro que se obtém fornece uma impressão digital única do composto. É também muito importante no estudo de polimorfismo, ou de um modo geral para dar informação sobre a associação intermolecular por ligação de hidrogénio entre grupos funcionais no composto. ^[81]

Condições experimentais

Os estudos de espectroscopia de absorção no infravermelho foram realizados num espectrómetro Thermo Nicolet 380 FTIR com resolução de 1 cm^{-1} . Este equipamento possui um detetor DTGS. Foi utilizado o acessório de refletância total atenuada, ATR, Smart Orbit Diamond ATR da Thermo Scientific Nicolet, com um cristal de diamante que permite uma gama espectral no intervalo de $10000\text{-}200 \text{ cm}^{-1}$, sendo a área onde é colocada a amostra de 13 mm^2 . Foram também obtidos espectros em modo de transmissão através de uma célula de percurso ótico fixo 0.025 mm PYE UNICAM de KBr e através de pastilha de KBr, para uso espectroscópico, na proporção de 1:100 (1 mg de composto a analisar para 100 mg de KBr), sendo as misturas pulverizadas num almofariz de ágata e prensadas num sistema hidráulico de forma a obter uma pastilha suficientemente fina.

A aquisição dos dados foi realizada com o software EZ OMNIC 6.1., sendo os espectros adquiridos com 64 scans, numa gama espectral de $4000\text{-}400 \text{ cm}^{-1}$.

2.3.3 Difração de raios-X

A difração de raios-X (XRD) baseia-se na incidência de um feixe monocromático de raios-X num cristal da amostra. O feixe é difratado dando origem a um padrão de interferências construtivas que reflete o espaçamento entre os planos de distribuição dos átomos no cristal, que podem ser calculados pela lei de Bragg, $n\lambda = 2d \sin \theta$, onde n corresponde à ordem de difração, λ é o comprimento de onda da radiação incidente, d é a distância interplanar num conjunto de planos da estrutura cristalina e θ o ângulo de incidência de raio-X. ^[22,5]

O método de difração de raios-X usado neste trabalho foi o de pó (XRPD). Este é aplicado para amostras policristalinas e tal como o nome indica a amostra é observada sob a forma de pó, sendo obtidos os padrões de difração de raio-X característicos: picos em certas posições e com intensidades variáveis. A partir dos valores de 2θ a que os picos são observados é possível calcular, pela lei de Bragg, os valores de espaçamento para os diferentes planos do cristal. ^[22]

Condições experimentais

Os estudos de difração de raios-X de pó (XRPD) foram realizados no Centro de Física da Universidade de Coimbra (CFisUC), do Departamento de Física da Faculdade de Ciências e Tecnologias da Universidade de Coimbra.

Foi utilizado um difratómetro de raios-X pó de Enraf-Nonius com geometria de difração Debye-Sherrer, equipado com um detetor CPS 120° Inel. A radiação usada foi de Cu K α 1 ($\lambda=1.540598$ Å).

2.4 Métodos Computacionais

Procedimento Computacional

Nos cálculos efetuados foram tomadas como ponto de partida as conformações moleculares de bicalutamida presentes nas estruturas das duas formas que se encontram depositadas em CSD. Inicialmente foi realizada a otimização da geometria de cada uma dessas conformações e depois foi previsto o espectro de infravermelho de cada uma delas de modo a ser possível uma tentativa de atribuição de alguns modos de vibração da molécula às bandas obtidas experimentalmente. Recorreu-se à Teoria do Funcional da Densidade (DFT) com o funcional B3LYP e a base de funções base cc-pVDZ (CCD), e ao programa de visualização Avogadro e à aplicação PuTTY suite, versão Release 0.65.

Capítulo 3

Resultados e Discussão

3.1 Avaliação Preliminar do Composto Comercial

O composto de partida foi identificado, por difração de raios-X de pó, como o polimorfo I: JAYCES, descrito por Hu et al. ^[65], Figura 3.1.

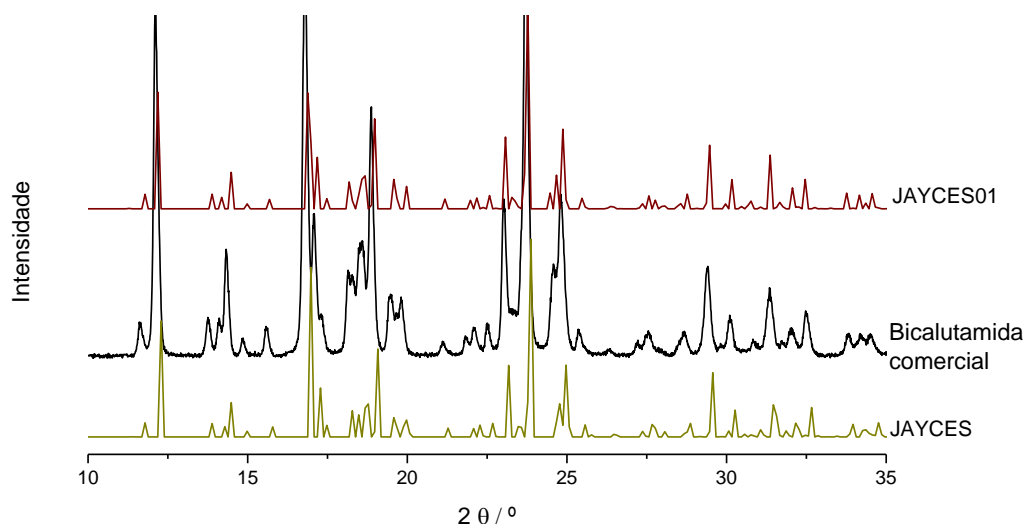


Figura 3.1: Diffractograma de raios-X de pó obtido para a bicalutamida comercial e diffractogramas simulados de cada uma das estruturas descritas na literatura: JAYCES ^[65] e JAYCES01 ^[61].

A caracterização por DSC, Figura 3.2, indica que no processo de aquecimento apenas se observa um pico endotérmico que corresponde à fusão do polimorfo I ($T_{\text{fus}} = (193.5 \pm 0.5)^\circ\text{C}$; $\Delta H = (45.1 \pm 3.9)$ kJ/mol; $n=4$). Durante o arrefecimento do fundido, nas condições utilizadas, não é verificada a cristalização do composto e no segundo aquecimento é observada uma transição vítrea $T_g = (55.5 \pm 0.6)^\circ\text{C}$, seguida de um pico exotérmico a $T = (116.0 \pm 1.4)^\circ\text{C}$; $\Delta H = (-25.8 \pm 1.4)$ kJ/mol; $n=4$ e um segundo pico endotérmico com $T_{\text{fus}} = (190.6 \pm 0.5)^\circ\text{C}$; $\Delta H = (37.6 \pm 3.3)$ kJ/mol; $n=4$. Portanto, nestas condições experimentais, no arrefecimento obtém-se o líquido sobreaquecido que vitrifica, apesar do sinal não ser muito evidente. No aquecimento subsequente ocorre uma transição vítrea seguida da cristalização do polimorfo II (pico exotérmico observado) que funde à temperatura descrita por Vega et al. ^[61] A Tabela 3.1. sumaria os resultados obtidos.

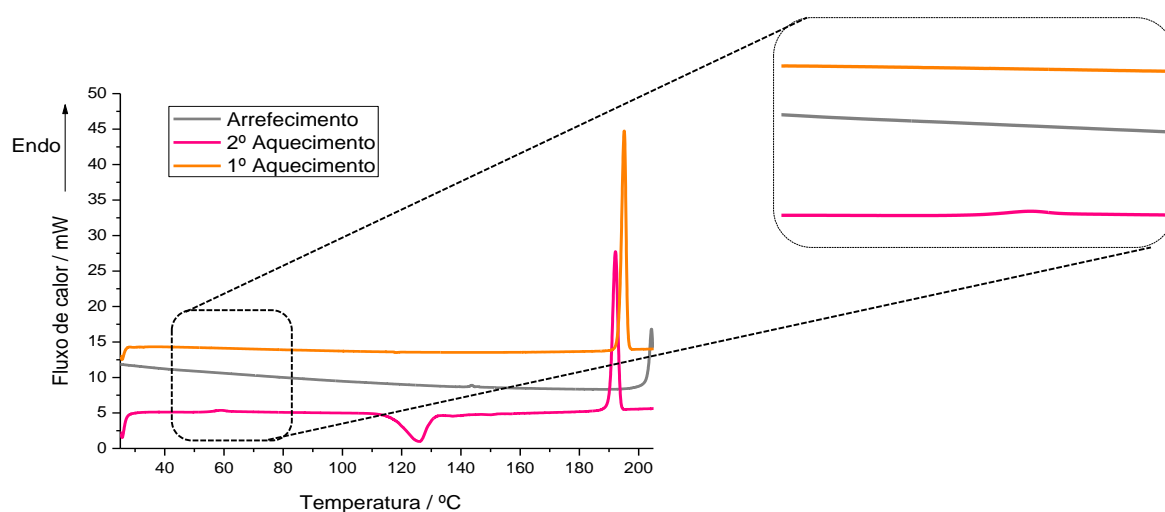


Figura 3.2: Termograma da amostra 1; Programa: aquecimento de 25°C a 205°C, arrefecimento de 205°C a 25°C e aquecimento de 25°C a 205°C com $\beta=10^\circ\text{C}/\text{min}$.

Tabela 3.1: Parâmetros termodinâmicos obtidos a partir das curvas de DSC, em ciclos de aquecimento, arrefecimento e aquecimento realizados sobre amostras independentes de bicalutamida.

Amostra	1º Aquecimento		$T_g / ^\circ\text{C}$	2º Aquecimento			
	$T_{\text{onset}} / ^\circ\text{C}$	$\Delta H / \text{kJ/mol}$		Pico exotérmico		Pico endotérmico	
	$T_{\text{onset}} / ^\circ\text{C}$	$\Delta H / \text{kJ/mol}$	$T_g / ^\circ\text{C}$	$T_{\text{onset}} / ^\circ\text{C}$	$\Delta H / \text{J/g}$	$T_{\text{onset}} / ^\circ\text{C}$	$\Delta H / \text{kJ/mol}$
1	193.4	46.0	54.9	114.4	-25.6	190.5	37.6
2	193.4	48.9	55.3	116.9	-27.4	190.3	41.2
3	193.1	45.9	55.4	117.5	-26.1	190.2	38.5
4	194.2	39.6	56.3	115.3	-24.0	191.4	33.2
$\bar{x} \pm s$	193.5 ± 0.5	45.1 ± 3.9	55.5 ± 0.6	116.0 ± 1.4	-25.8 ± 1.4	190.6 ± 0.5	37.6 ± 3.3

Através da análise por FITR-ATR, Figura 3.3, pode concluir-se que as duas formas polimórficas da bicalutamida apresentam diferenças nos espectros de infravermelho, como seria esperado atendendo às respetivas estruturas cristalinas. O espectro da forma polimórfica I é obtido diretamente do composto comercial, enquanto que a forma II foi preparada por ciclos de aquecimento, arrefecimento em DSC. Analisando os espectros, são registadas diferenças nas bandas localizadas entre $3500\text{-}3100\text{ cm}^{-1}$ que correspondem às elongações do N-H e do O-H, em bandas entre $1800\text{-}1600\text{ cm}^{-1}$ atribuídas à banda de elongação C=O e à deformação angular N-H, e a cerca de 1100 cm^{-1} , atribuída à elongação C-O.

As duas formas têm uma relação de monotropia, tal como descrito na literatura por Vega *et al.* ^[61] e comprovado experimentalmente neste trabalho, uma vez que a forma polimórfica com

temperatura de fusão mais elevada, I, apresenta também maior entalpia de fusão.^[82] Portanto a forma II, à pressão atmosférica, é metaestável relativamente ao polímorfo I.

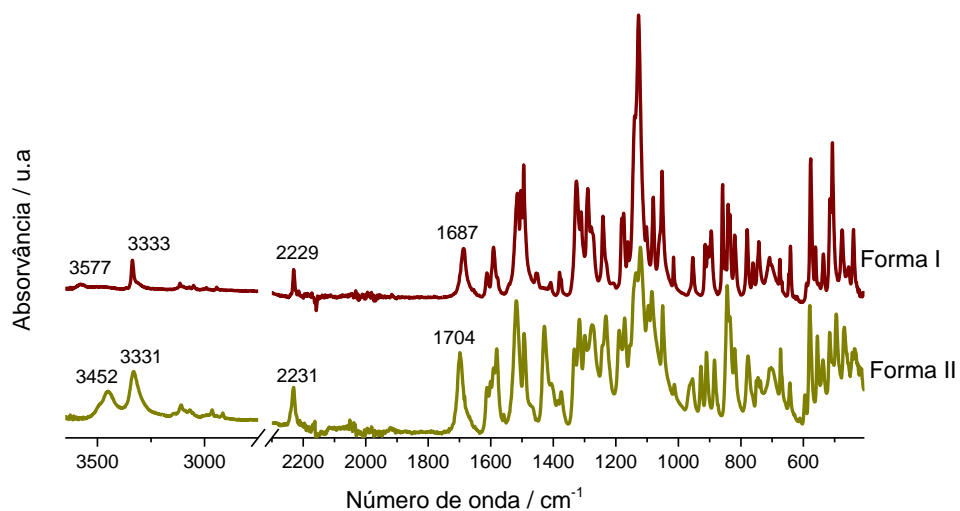









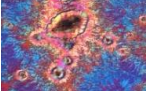
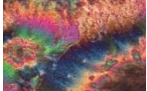








Figura 3.3: Espectros de FTIR-ATR das duas formas polimórficas da bicalutamida.

3.2 Influência do solvente na obtenção de formas polimórficas da bicalutamida

A investigação de novas formas polimórficas da bicalutamida foi desenvolvida no âmbito do estágio curricular do 1º ano do curso Mestrado em Química, dando origem a um relatório intitulado “*Investigação de Formas Sólidas do Anti-neoplásico Bicalutamida*”.^[83] Foi investigada a obtenção de formas polimórficas da bicalutamida, por cristalização em solução, usando diferentes solventes. As condições de cristalização são apresentadas no Apêndice 1. A Tabela 3.2 sumaria os resultados obtidos.

Resultados e Discussão

Tabela 3.2: Síntese dos resultados obtidos na investigação de formas polimórficas da bicalutamida, por cristalização em solução. As imagens obtidas por PLTM evidenciam os hábitos cristalinos dos sólidos obtidos por cristalização nos diferentes solventes: (a) ampliação de 50× e (b) ampliação de 200×. A forma polimórfica obtida foi identificada por FTIR-ATR e por DSC. ^[83]

Solvente utilizado	Amostra sólida		Hábito cristalino	Polimorfo obtido
Tetracloroeto de carbono+acetona (80+20) V/V			Aglomerado Acicular + Lamelar	I
Clorofórmio			Prismático + Tabular	I
Diclorometano			Prismático + Tabular	I
Tetra-hidrofurano			Esferulite	II
Dioxano			Esferulite	II
Acetato de etilo			Dendrítico+Lanceolar	I
Acetona			Dendrítico+Lanceolar	I
Etanol			Prismático + Tabular	I
Metanol			Prismático + Tabular	I
Etanol+Água (89+11) V/V			Prismático + Tabular	I

O polimorfo I foi obtido na generalidade dos solventes. Apenas nos ensaios realizados usando éteres cíclicos, dioxano e tetra-hidrofurano, como solventes foi obtida a forma polimórfica, metaestável, II. Tendo como base estes resultados e tendo em consideração a simplicidade dos respectivos espetros de infravermelho, selecionou-se a acetona e o tetra-hidrofurano para realizar novos ensaios de cristalização, de modo a investigar a relação entre a estrutura da bicalutamida em

solução e a estrutura cristalina obtida. Os solventes escolhidos são essencialmente aceitadores em ligações de hidrogénio, com momento dipolar, $\mu=2.49$ D para a acetona e $\mu=1.175$ D para o tetra-hidrofurano. O parâmetro de Kamlet e Taft, α , que descreve a capacidade do solvente atuar como dador em ligações de hidrogénio, para a acetona é de 0.08 e para o tetra-hidrofurano é de 0.00 e o parâmetro de Kamlet e Taft, β , que corresponde à capacidade do solvente atuar como aceitador em ligações de hidrogénio, para a acetona é de 0.48 e para o tetra-hidrofurano é de 0.55. [84] A espectroscopia de infravermelho foi escolhida como método de estudo. A seleção daqueles dois solventes, como se referiu, resulta do facto de terem conduzido à formação de polimorfos diferentes, e também apresentarem espectros de infravermelho relativamente simples. Para uma melhor interpretação dos resultados começou por fazer-se o estudo vibracional das moléculas isoladas nas duas conformações existentes nos dois polimorfos de bicalutamida. Assim, foram retirados da CSD os CIFs das duas estruturas descritos da bicalutamida, JAYCES [65] e JAYCES02 [61], isoladas cada uma das moléculas e através de cálculos computacionais procedeu-se à otimização da geometria e posteriormente ao cálculo das respetivas frequências vibracionais.

Previsão computacional dos modos vibracionais dos confórmeros presentes em cada um dos polimorfos da bicalutamida através de cálculos computacionais

As Figuras 3.4 e 3.5 apresentam os dois confórmeros de partida e as estruturas após a otimização da geometria por B3LYP/cc-pVDZ, sendo a numeração atómica utilizada nesta dissertação a apresentada na Figura 1.15. A otimização da geometria não altera significativamente a conformação molecular, sendo verificadas apenas diferenças ao nível de alguns ângulos de torção, nomeadamente nos ângulos F(1)-S(8)-C(12)-N(25) e S(8)-C(11)-C(12)-C(15), Tabela 3.3. Na Tabela 3.4 é feita a descrição aproximada dos modos vibracionais obtidos computacionalmente e escalados com o fator de escala 0.96 e são assinaladas as zonas espectrais onde foi possível atribuir algumas bandas que se observam no espectro experimental. Esta descrição foi baseada na análise dos deslocamentos dos átomos relativos a cada modo vibracional através do programa Avogadro.

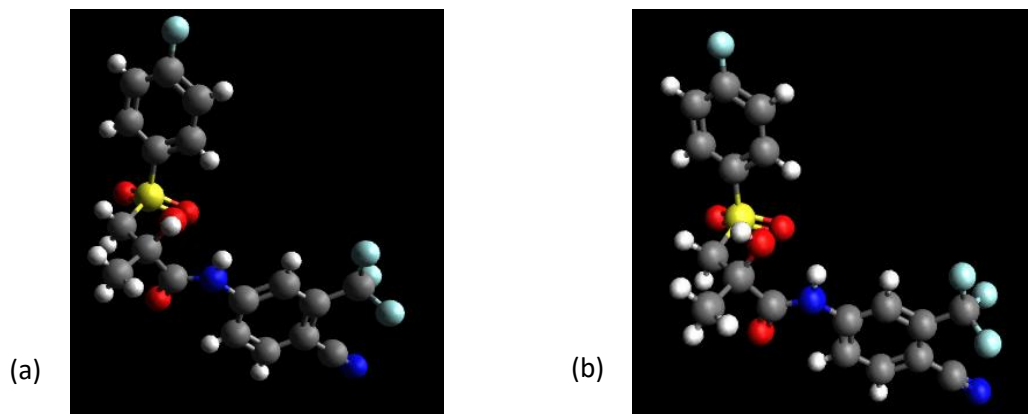


Figura 3.4: Confórmero da bicalutamida, no polimorfo I: JAYCES (a) estrutura de partida e (b) estrutura após otimização da geometria.

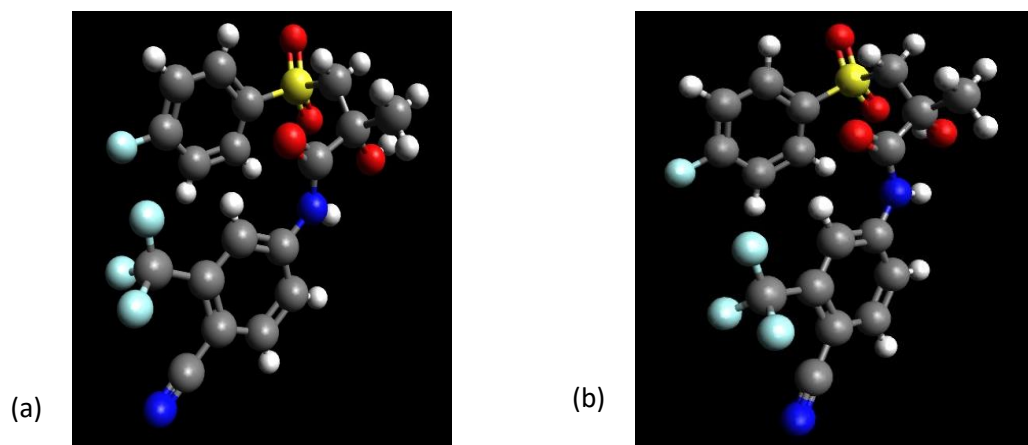


Figura 3.5: Confórmero da bicalutamida, no polimorfo II: JAYCES02 (a) estrutura de partida e (b) estrutura após otimização da geometria.

Tabela 3.3: Ângulos de torção ($^{\circ}$) representativos dos dois confórmeros da bicalutamida, antes e após a otimização da geometria; numeração apresentada na Figura 1.15.

	Ângulos de partida		Ângulos após otimização	
	JAYCES	JAYCES 02	JAYCES	JAYCES02
C(12)-C(11)-S(8)-C(5)	-87.4	72.5	-87.4	72.5
S(8)-C(11)-C(12)-C(15)	-64.9	-65.6	-64.9	65.6
C(11)-C(12)-C(15)-N(17)	131.5	128.8	131.5	128.8
C(12)-C(15)-N(17)-C(18)	-175.3	178.2	-175.3	178.2
F(1)-S(8)-C(12)-N(25)	-118.9	28.2	-106.9	39.8
C(19)-C(18)-N(17)-C(15)	-27.9	-164.4	-27.9	-164.4

Tabela 3.4: Descrição aproximada das frequências vibracionais obtidas computacionalmente; numeração atômica apresentada na Figura 1.15.

JAYCES				JAYCES02			
Frequência	*0.96	Intensidade ^(a)	Descrição aproximada	Frequência	*0.96	Intensidade ^(a)	Descrição aproximada
3789.27	3637.699	0.8	ν_{O16-H}	3530.64	3389.414	4.11	ν_{N17-H} e $O16-H$ (oop)
3559.9	3417.504	2.63	ν_{N17-H}	3513.87	3373.315	8.76	ν_{N17-H} e $O16-H$ (tp)
3266.89	3136.214	0.19	$\nu_{C18-C19-C20-C21-C22-C23}$ do anel (tp)(ss)	3250.21	3120.202	0.35	$\nu_{H-C23;C19-H;C20-H}$
3227.23	3098.141	0.07	$\nu_{C2-C3-C4-C5-C6-C7}$ do anel (tp) (ss)	3239.29	3109.718	0.04	$\nu_{H-C3;C4-H;C6-H;C7-H}$ (ss)
3219.73	3090.941	0.05	$\nu_{C2-C3-C4-C5-C6-C7}$ do anel (ss)	3225.4	3096.384	0.02	$\nu_{H-C23;C19-H;C20-H}$ (ss)
3213.39	3084.854	0.03	$\nu_{C18-C19-C20-C21-C22-C23}$ do anel (ass)	3222.8	3093.888	0.01	$\nu_{H-C3;C4-H;C6-H;C7-H}$ (ass)
3210.77	3082.339	0.01	$\nu_{C2-C3-C4-C5-C6-C7}$ do anel (ass)	3207.31	3079.018	0.02	$\nu_{H-C3;C4-H;C6-H;C7-H}$ (ss)
3204	3075.84	0.02	$\nu_{C2-C3-C4-C5-C6-C7}$ do anel (ass)	3193.75	3066	0.01	$\nu_{H-C3;C4-H;C6-H;C7-H}$ (ass)
3199.89	3071.894	0.09	$\nu_{C18-C19-C20-C21-C22-C23}$ do anel	3180.8	3053.568	0.14	$\nu_{H-C23;C19-H;C20-H}$ (ass)
3151.47	3025.411	0.06	ν_{C14-H} (ass)	3128.71	3003.562	0.06	$\nu_{C14-H;C11-H}$ (tp)
3137.3	3011.808	0.08	ν_{C11-H}	3124.56	2999.578	0.1	$\nu_{C14-H;C11-H}$ (oop)
3114.95	2990.352	0.52	ν_{C14-H} (ass)	3111.24	2986.79	0.35	ν_{C14-H} (ass)
3075.76	2952.73	0.24	ν_{C11-H} (ss)	3049.73	2927.741	0.03	$\nu_{H-C11-H}$ (ss)
3038.39	2916.854	0.38	ν_{C14-H} (ss)	3029.29	2908.118	0.29	$\nu_{H-C11-H}$
2350.61	2256.586	0.92	$\nu_{C24 \equiv N25}$	2349.21	2255.242	0.78	$\nu_{C24 \equiv N25}$
1774.12	1703.155	4.09	$\nu_{C15=O16}; \delta_{N17-H}$ (tp)	1765.37	1694.755	3.54	$\nu_{C15=O16}; \delta_{(N17-H)}$
1663.06	1596.538	3.05	$\delta_{C18 a 23-H}$	1660.06	1593.658	2.59	$\nu_{C18-C19-C20-C21-C22-C23}$ do anel
1644.38	1578.605	2.16	$\delta_{C2 a 7-H}$	1646.65	1580.784	2.01	$\nu_{C2-C3-C4-C5-C6-C7}$ do anel
1640.78	1575.149	0.47	$\delta_{C2 a 7-H}$	1639.2	1573.632	0.24	$\nu_{C2-C3-C4-C5-C6-C7}$ do anel
1621.06	1556.218	1.43	δ_{N17-H} (tp); $\delta_{C18 a 23-H}$ (ass)	1618.03	1553.309	2.65	$\nu_{do\ anel\ C18-C19-C20-C21-C22-C23}$ no plano (ass); $\nu_{C18-N17}$
1561.78	1499.309	20.91	δ_{N17-H} (tp); $\delta_{C18 a 23-H}$ (ss)	1551.5	1489.44	13.14	$\nu_{do\ anel\ C18-C19-C20-C21-C22-C23}$ no plano (ass); $\nu_{C18-N17}$
1532.85	1471.536	0.56	δ_{N17-H} (tp); $\delta_{C18 a 23-H}$ (ass)	1522.22	1461.331	1.13	ν_{C2-F1}
1519.59	1458.806	1.82	$\delta_{C2 a 7-H}$ (ss)	1513.06	1452.538	0.58	$\delta_{(N17-H}$ no plano)

(a) Debye2.A.2.amu-

Resultados e Discussão

Tabela 3.4: Descrição aproximada das frequências vibracionais obtidas computacionalmente; numeração atômica apresentada na Figura 1.15 (cont.).

JAYCES				JAYCES02			
Frequência	*0.96	Intensidade ^(a)	Descrição aproximada	Frequência	*0.96	Intensidade ^(a)	Descrição aproximada
1475.45	1416.432	0.18	δ_{C14-H} (ass)	1466.88	1408.205	1.48	$\nu_{do\ anel\ C18-C19-C20-C21-C22-C23}$ (ass); $\nu_{C18-N17}$; δ_{C14-H}
1461.41	1402.954	0.08	δ_{C14-H} (ass)	1461.67	1403.203	4.01	$\nu_{do\ anel\ C18-C19-C20-C21-C22-C23}$ (ass); $\nu_{C18-N17}$; δ_{C14-H}
1449.6	1391.616	0.17	δ_{N17-H} ; $\delta_{C18\ a\ 23-H}$	1456.41	1398.154	0.52	$\delta_{(C14-H)}$
1429.41	1372.234	0.18	$\delta_{C2\ a\ 7-H}$	1441.5	1383.84	1.43	$\delta_{(H-C11-H;C14-H;C12-O13)}$
1414.71	1358.122	0.44	δ_{C11-H}	1377.42	1322.323	0.1	$\delta_{(C14-H)}$ (ss)
1391.96	1336.282	0.12	δ_{C14-H} (ss)	1366.01	1311.37	2.2	$\nu_{do\ anel\ C18-C19-C20-C21-C22-C23}$ (ass); $\nu_{C22-C26}$; $\nu_{C18-N17}$
1371.85	1316.976	0.52	$\delta_{C12-O13-H}$	1316.33	1263.677	3.04	$\nu_{C22-C26}$
1341.12	1287.475	7.44	$\delta_{C18\ a\ 23-H}$	1312.32	1259.827	2.52	$\nu_{O10=S8=O9}$ (ass)
1324.55	1271.568	4.9	ν_{S02} (ass); ω_{C11-H}	1297.69	1245.782	1.19	$\delta_{(C3-H;C4-H;C7-H;C6-H)}$ no plano
1289.98	1238.381	0.25	$\delta_{C2\ a\ 7-H}$	1278.91	1227.754	1.75	$\nu_{C22-C26}$
1286.3	1234.848	1.17	$\delta_{C18\ a\ 23-H}$	1276.13	1225.085	1.99	ν_{C2-F1}
1277.62	1226.515	1.03	ω_{C11-H}	1261.45	1210.992	4.18	$\omega_{H-C11-H}$
1271.02	1220.179	2.71	$\delta_{C2\ a\ 7-H}$; ν_{C2-F1}	1224.26	1175.29	0.09	$\nu_{O12-C12-C11}$
1261.36	1210.906	1.05	δ_{N17-H} ; $\delta_{C18\ a\ 23-H}$	1194.12	1146.355	4.18	$\nu_{C26-F27\ a\ 29}$ (ss)
1216.69	1168.022	0.48	δ_{C14-H} ; δ_{N17-H} ; τ_{C11-H}	1172.39	1125.494	1.86	$\nu_{C26-F27\ a\ 29}$
1194.6	1146.816	0.56	τ_{C11-H} ; $\delta_{C12-O13}$	1170.76	1123.93	4.08	$\nu_{C26-F27\ a\ 29}$ (ass)
1186.65	1139.184	3.83	$\delta_{C18\ a\ 23-H}$	1152.04	1105.958	0.43	$\delta_{do\ anel\ C18-C19-C20-C21-C22-C23}$ no plano
1179.55	1132.368	4.19	δ_{O13-H} ; δ_{N17-H}	1130.86	1085.626	5.75	ν_{S8-C5} ; $\delta_{O10-S8-O9}$; $\nu_{O10-S8-O9}$; $\delta_{C15-N17}$
1174.56	1127.578	6.02	$\nu_{C26-F27\ a\ 29}$	1110.62	1066.195	0.24	$\delta_{(C3-H;C4-H;C6-H;C7-H)}$ no plano
1149.14	1103.174	0.96	$\delta_{C18\ a\ 23-H}$	1096.91	1053.034	0.19	$\tau_{H-C11-H}$; ν_{C5-S8}
1136.06	1090.618	6.51	$\delta_{C2\ a\ 7-H}$	1081.28	1038.029	0.65	$\nu_{C14-C12}$
1104.33	1060.157	0.34	$\delta_{C2\ a\ 7-H}$	1066.41	1023.754	1.6	$\nu_{(O10=S8=O9)}$ (ss); ν_{C11-S8}

(a) Debye2.A-2.amu-

Tabela 3.4: Descrição aproximada das frequências vibracionais obtidas computacionalmente; numeração atômica apresentada na Figura 1.15 (cont.).

JAYCES				JAYCES02			
Frequência	*0.96	Intensidade ^(a)	Descrição aproximada	Frequência	*0.96	Intensidade ^(a)	Descrição aproximada
1074.62	1031.635	1.15	$\delta_{C11-H}; \delta_{C2 a 7-H}$	1057.98	1015.661	0.89	$\delta_{do\ anel\ C18-C19-C20-C21-C22-C23\ no\ plano}$
1071.86	1028.986	0.32	$\tau_{C11-H}; \delta_{C14-H}; \delta_{C12-O13}$	936.37	898.9152	0.98	$\nu_{C26-F27\ a\ 29}$
1058.45	1016.112	1.23	$\delta_{C18\ a\ 23-H}$	896.64	860.7744	0.91	$\delta_{H-C11-H}; \delta_{O16-C15-N17}$
969.65	930.864	0.13	δ_{C14-H}	862.89	828.3744	0.89	$\delta_{(C7-H; C3-H; C4-H; C6-H)(oop)}$
952.54	914.4384	0.22	δ_{C14-H}	853.41	819.2736	0.74	$\delta_{(C23-H; C19-H; C20-H)(oop)}$
920.89	884.0544	0.84	ρ_{C11-H}	846.58	812.7168	0.79	$\nu_{C12-O13}; \nu_{C2-F1}; \nu_{C11-C12-O13}$
909.81	873.4176	0.5	$\delta_{C18\ a\ 23-H\ (oop)}$	786.76	755.2896	1.55	$\tau_{C12-O13}; \rho_{N17-H}$
900.78	864.7488	1.32	ρ_{C11-H}	750.06	720.0576	0.46	$\delta_{da\ molécula}$
884.53	849.1488	0.41	$\delta_{C18\ a\ 23-H\ (oop)}$	748.63	718.6848	0.58	$\delta_{do\ anel\ C18-C19-C20-C21-C22-C23}; \rho_{C26-F27\ a\ 29}$
862.64	828.1344	0.72	$\delta_{C2\ a\ 7-H\ (oop)}$	675.56	648.5376	0.32	$\delta_{do\ anel\ C18-C19-C20-C21-C22-C23}$
841.3	807.648	0.49	ρ_{C11-H}	622.13	597.2448	1.38	$\tau_{C12-O13}; \rho_{N17-H}$
835.32	801.9072	0.4	$\delta_{C2\ a\ 7-H\ (oop)}$	579.77	556.5792	1.91	$\delta_{O10-S8-O9}$
830.74	797.5104	0.27	$\delta_{C2\ a\ 7-H\ (oop)}$	502.93	482.8128	0.88	$\delta_{O10-S8-O9}$
763.61	733.0656	0.4	$\delta_{N17-H\ (oop)}$	468.69	449.9424	0.71	$\delta_{O10-S8-O9}; \delta_{C15-C12-O13}$
761.98	731.5008	0.77	$\delta_{C14-H}; \omega_{C11-H}$	451.61	433.5456	0.02	$\delta_{do\ anel\ C18-C19-C20-C21-C22-C23}$
738.86	709.3056	0.62	$\delta_{C2\ a\ 7-H}; \delta_{C14-H}$	448.92	430.9632	0.09	Vibração da molécula
680.71	653.4816	0.28	$\delta_{C18\ a\ 23-H}; \delta_{N17-H\ (oop)}$	437.6	420.096	0.35	$\delta_{C14-C12-O13}$
673.02	646.0992	1.51	$\delta_{N17-H\ (oop)}$				
576.99	553.9104	1.41	$\delta_{C2\ a\ 7-H}$				
516.01	495.3696	0.39	$\delta_{C2\ a\ 7-H}$				
506.08	485.8368	1.03	ρ_{C11-H}				
482.04	462.7584	0.99	Vibração do esqueleto da molécula				

(a) Debye2.A-2.amu-

Estudo por FTIR de soluções de bicalutamida em acetona e em tetra-hidrofurano

A previsão dos diferentes modos de vibração foi utilizada para proceder à investigação da influência do solvente na obtenção de uma forma polimórfica ou de outra, através da análise dos modos vibracionais característicos de cada um dos confórmeros nos espectros experimentais de infravermelho. São apresentados os resultados obtidos por FTIR em modo de ATR e em modo de transmissão, com uma célula de percurso ótico fixo, à medida que o solvente foi evaporando, à temperatura $T=25$ °C. Apenas são mostradas as zonas dos espectros onde se detetaram diferenças significativas e as zonas onde não existe interferência do solvente. Para estas zonas tentou-se fazer uma atribuição dos modos vibracionais de acordo com a descrição aproximada obtida computacionalmente. No entanto, uma vez que o cálculo é feito a partir de uma molécula isolada e os espectros que se obtém experimentalmente são em fase condensada e dado que se trata de uma molécula de elevada dimensão, os modos vibracionais não vão ser totalmente coincidentes e a atribuição das bandas não é linear.

Nas Figuras 3.6 a 3.12 são apresentados os resultados obtidos por FTIR, em modo de transmissão e em ATR, para soluções de bicalutamida, de diferentes concentrações, nos dois solventes selecionados. Os resultados obtidos utilizando qualquer um destes modos de aquisição estão em excelente concordância. Nestas são também indicadas propostas de atribuição de modos vibracionais nalgumas regiões do espectro. A banda a 1431 cm^{-1} que é observada na forma polimórfica II e que está ausente na forma polimórfica I, foi atribuída à elongação assimétrica do anel C18-C19-C20-C21-C22-C23, à elongação da ligação C18-N17 e à deformação angular C14-H. Esta banda é também intensa nos espectros de Raman apresentados por Némét et al. ^[58] para a forma II sendo também observada no estado amorfo. Os grupos envolvidos neste modo vibracional não participam em ligações de hidrogénio, pelo que as diferenças relativamente ao espectro da forma I, resultam das diferenças da conformação molecular.

As Figuras 3.6 a 3.8 relativas ao estudo em tetra-hidrofurano apontam que em solução haverá uma mistura de confórmeros com zonas do espectro com grande semelhança com a forma polimórfica II - $\nu_{C=O} \sim 1700\text{ cm}^{-1}$, regiões compreendidas entre $1400\text{-}1550\text{ cm}^{-1}$ e $1750\text{-}1650\text{ cm}^{-1}$ - e regiões que são mais próximas do espectro da forma polimórfica I - regiões compreendidas entre $1200\text{-}1100\text{ cm}^{-1}$ e $1350\text{-}1250\text{ cm}^{-1}$. Após a cristalização obtém-se a forma I.

Nestes ensaios, tal como já foi referido, a evaporação do solvente ocorreu a partir de um frasco calibrado de polipropileno com temperatura controlada, $T=25$ ° C, originando

maioritariamente a forma I. Nos ensaios discutidos no trabalho “*Investigação de Formas Sólidas do Anti-neoplásico Bicalutamida*”^[83] a evaporação ocorreu à temperatura ambiente a partir de uma caixa de Petri, originando a forma II. Como neste último ensaio a velocidade de evaporação é mais rápida do que no primeiro obtém-se o cristal cinético, isto é, aquele que apresenta menor energia de ativação.

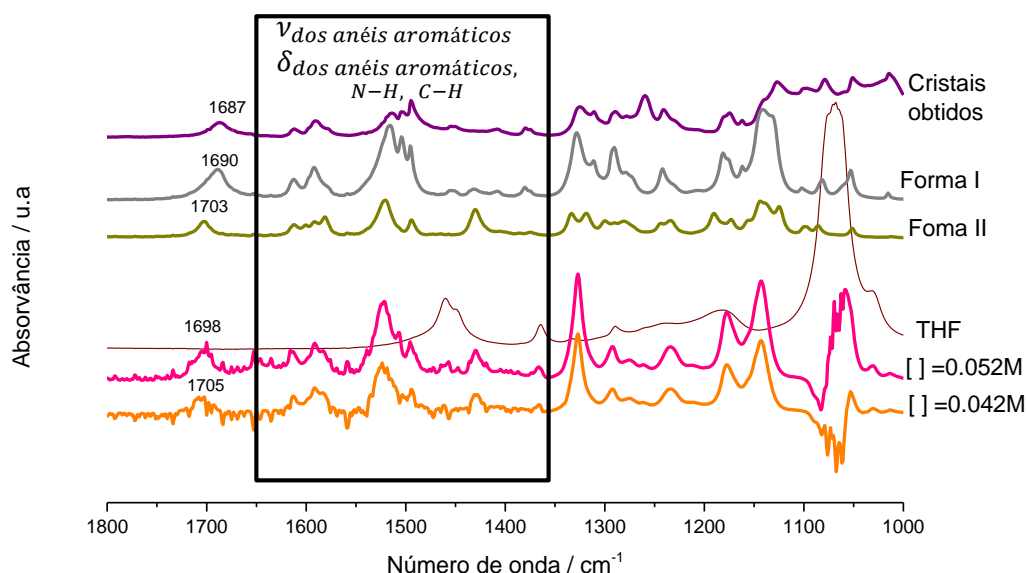


Figura 3.6: Espectros de FTIR-modo transmissão, 1800-1000 cm⁻¹, de soluções de bicalutamida em tetra-hidrofurano; sólido obtido neste processo de cristalização. Os espectros das formas polimórficas I e II e do solvente são apresentados para comparação.

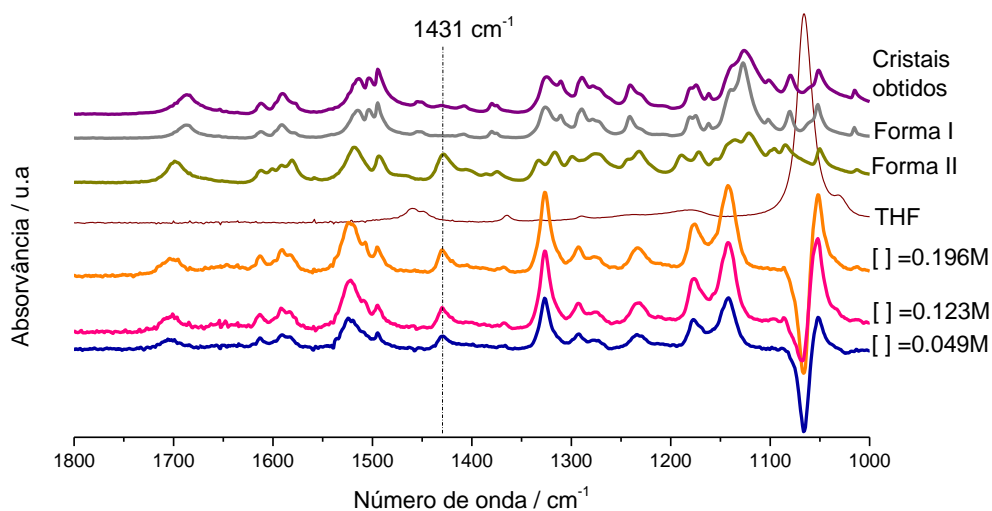


Figura 3.7: Espectros de FTIR-ATR, 1800-1000 cm⁻¹, de soluções de bicalutamida em tetra-hidrofurano (solvente utilizado na aquisição do background); sólido obtido neste processo de cristalização. Os espectros das formas polimórficas I e II e do solvente são apresentados para comparação.

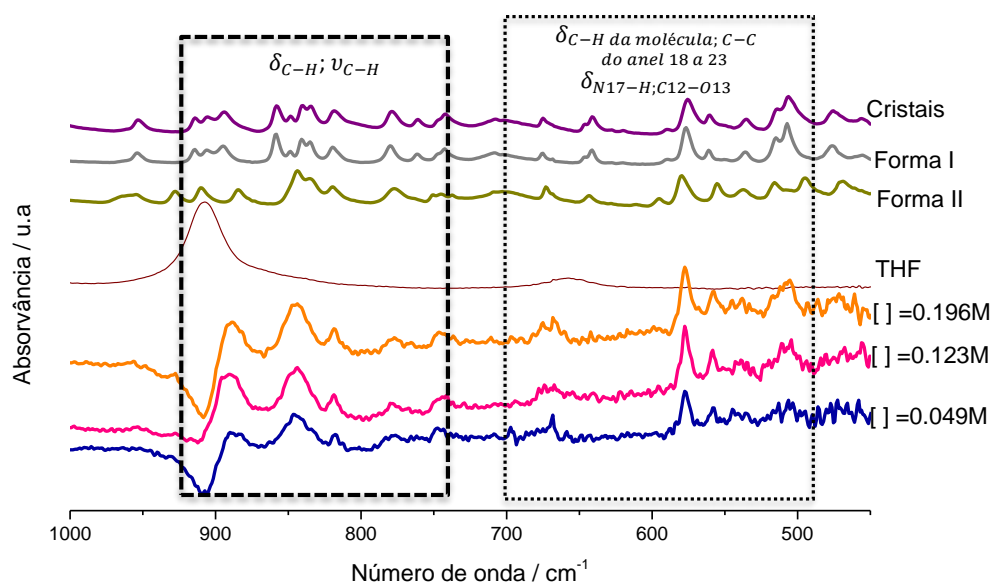


Figura 3.8: Espectros de FTIR-ATR, 1000-500 cm^{-1} , de soluções de bicalutamida em tetra-hidrofurano (solvente utilizado na aquisição do background); sólido obtido neste processo de cristalização. Os espectros das formas polimórficas I e II e do solvente são apresentados para comparação

Da análise das Figuras 3.9 a 3.12, resultados obtidos para a bicalutamida em solução de acetona, verifica-se que em solução o espectro é muito próximo ao da forma II. No entanto a cristalização conduz à forma polimórfica I tal como se tinha observado em ensaios noutras condições experimentais ^[83].

A estrutura da bicalutamida em solução deverá favorecer a formação do polimorfo II. Os resultados obtidos apontam, em ambos os solventes para que, mesmo que a forma II, monotrópica relativamente à forma I, seja obtida, a evolução para o polimorfo termodinamicamente estável tem uma cinética favorável nestas condições e é essa a fase final obtida. Seria interessante fazer o registo do espectro ao longo do tempo para avaliar esta proposta.

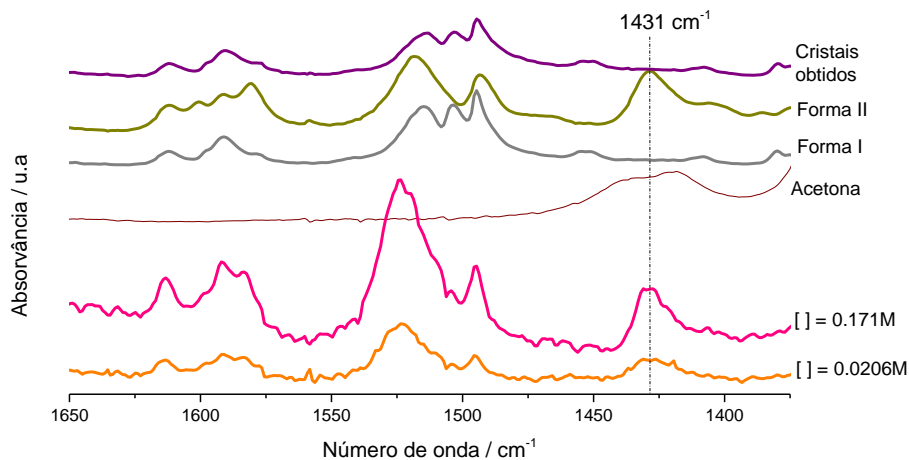


Figura 3.9: Espectros de FTIR-modo transmissão, 1650-1375 cm^{-1} , de soluções de bicalutamida em acetona; sólido obtido neste processo de cristalização. Os espectros das formas polimórficas I e II e do solvente são apresentados para comparação.

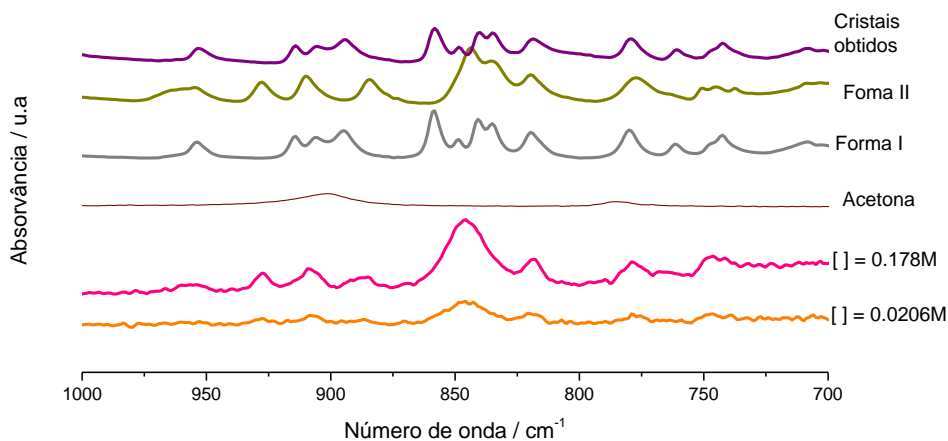


Figura 3.10: Espectros de FTIR-modo transmissão, 1000-700 cm^{-1} , de soluções de bicalutamida em acetona; sólido obtido neste processo de cristalização. Os espectros das formas polimórficas I e II e do solvente são apresentados para comparação.

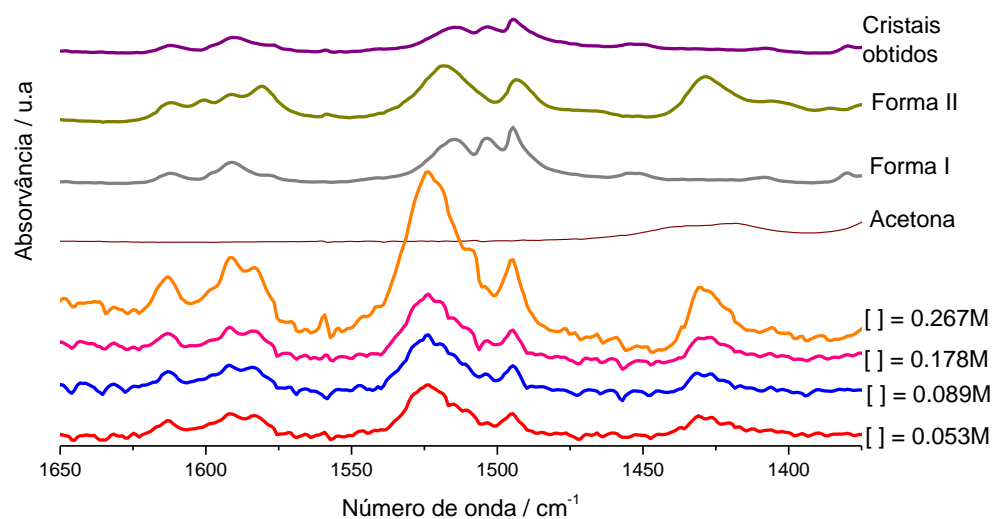


Figura 3.11: Espectros de FTIR-ATR, 1650-1375 cm⁻¹, de soluções de bicalutamida em acetona; sólido obtido neste processo de cristalização. Os espectros das formas polimórficas I e II e do solvente são apresentados para comparação.

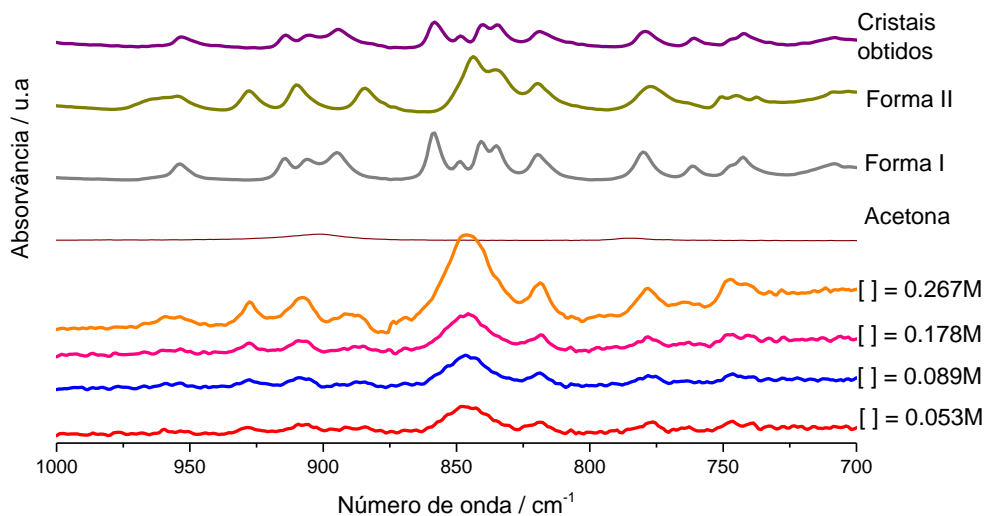


Figura 3.12: Espectros de FTIR-ATR, 1000-700 cm⁻¹, de soluções de bicalutamida em acetona; sólido obtido neste processo de cristalização. Os espectros das formas polimórficas I e II e do solvente são apresentados para comparação.

3.3 Investigação da formação de co-cristais de bicalutamida

3.3.1 Co-formador: 4,4'-bipiridil

Como referido anteriormente estão descritos na literatura dois co-cristais da bicalutamida com compostos aromáticos heterocíclicos como co-formadores, nomeadamente o 4,4'-bipiridil e o 1,2-bis(4-piridil)etileno, obtidos por moagem manual assistida por solvente. [67]

A investigação de co-cristais da bicalutamida iniciou-se com a reprodução de um destes co-cristais, com o co-formador 4,4'-bipiridil, nas condições descritas na literatura [67] e também através da síntese por moagem em moinho de bolas.

As curvas de DSC das misturas 1:1 de bicalutamida:4,4'-bipiridil, obtidas por várias metodologias, Figura 3.13, confirmam a formação de co-cristal. A temperatura de fusão da mistura equimolar, Tabela 3.5, situa-se entre as temperaturas de fusão dos compostos puros, obtendo-se um valor concordante com o descrito na literatura $T_{fus}=157-159^{\circ}\text{C}$ [67]. O perfil da curva de DSC da amostra obtida em moinho de bolas é mais satisfatório.

Os espetros de FTIR-ATR, Figura 3.14, mostram que a amostra obtida por moagem manual com adição de acetona apresenta diferenças significativas relativamente à amostra obtida em moinho de bolas. As diferenças observadas devem-se ao facto de a reação não ser completa quando se faz a moagem manual sendo notórias bandas de bicalutamida por reagir.

A análise por difração de raios-X de pó, Figura 3.15 confirma esta conclusão. São observadas todas as reflexões do co-cristal, já descrito, e a presença dos compostos de partida. As reflexões, assinaladas com asterisco na Figura 3.15 devem-se à presença de bicalutamida.

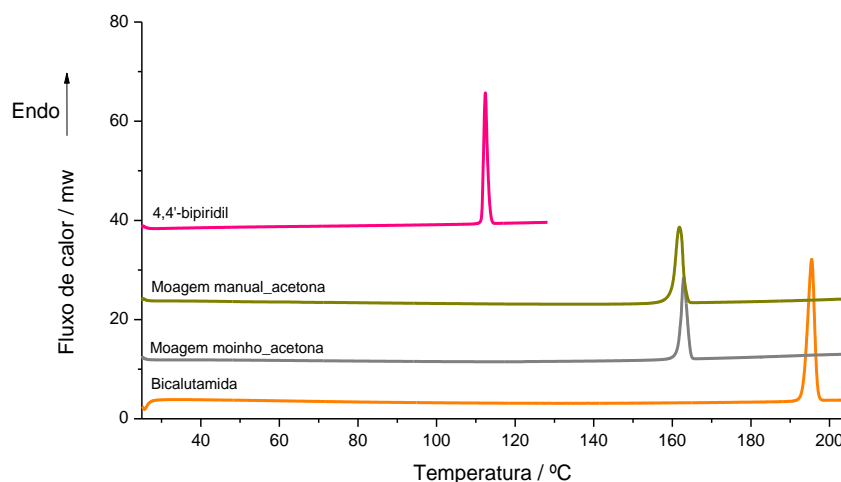


Figura 3.13: Termograma, DSC, das misturas equimolares de bicalutamida e 4,4'-bipiridil obtidas por moagem manual e nas condições apresentadas na Tabela 2.3, $\beta=10^{\circ}\text{C}/\text{min}$.

Tabela 3.5: Parâmetros termodinâmicos das curvas de DSC dos compostos de partida, bicalutamida e 4,4'-bipiridil, e da mistura equimolar de ambos, obtida em diferentes condições experimentais.

	$T_{\text{onset}} / ^\circ\text{C}$	$\Delta H / \text{Jg}^{-1}$
Bicalutamida	193.5±0.5	45.1±3.9
Mist. 1:1 moagem manual assistida por 10µL de acetona	159.9 ^(a)	112.7
Mist. 1:1 moagem em moinho assistida por 5µL de acetona	161.7 / 161.1	113.4
4,4'-bipiridil	111.5 ^(b)	119.1

(a) Literatura: $T_{\text{fus}} = 157-159$ [67]; Literatura: $T_{\text{fus}} = 110-114$ [67]

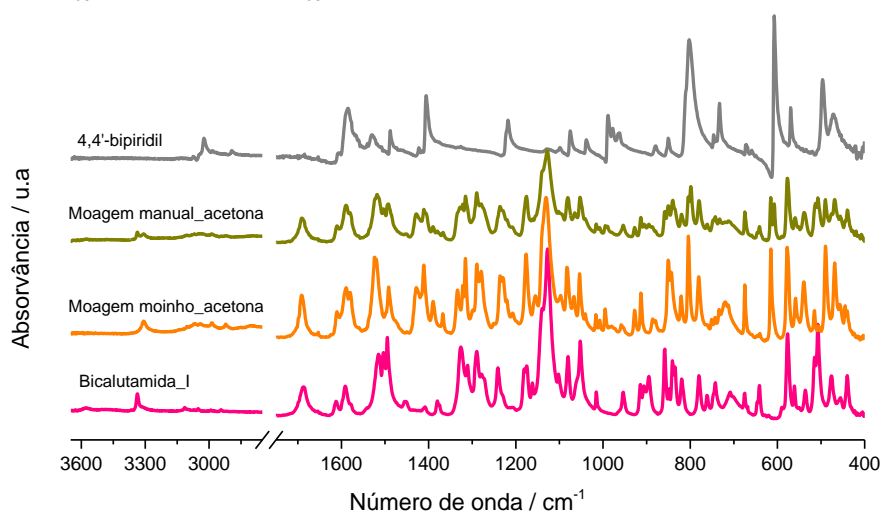


Figura 3.14: Espectros de FTIR-ATR dos compostos de partida e das misturas equimolares de bicalutamida e 4,4'-bipiridil obtidas por moagem manual e por mecanoquímica (condições apresentadas na Tabela 2.3).

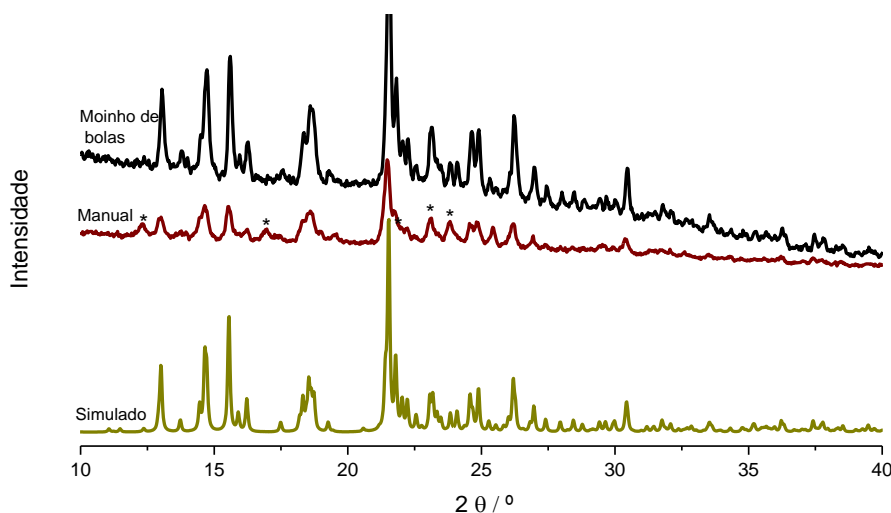


Figura 3.15: Difractogramas de raios-X de pó obtidos para as amostras equimolares obtidas por moagem manual de 4,4'-bipiridil e bicalutamida e por mecanoquímica (condições na Tabela 2.3). O difractograma simulado foi obtido a partir dos dados da literatura. ^[67]

3.3.2 Co-formadores: oxamida, ácido fumárico e ácido oxálico

Tendo como ponto de partida os co-cristais descritos que são sintetizados a partir de co-formadores bifuncionais com estrutura rígida, selecionaram-se outros co-formadores também bifuncionais e com estrutura rígida, com capacidade de associação supramolecular com a bicalutamida por outro tipo de sintões supramoleculares. Escolheram-se dois ácidos dicarboxílicos, ácido oxálico e ácido fumárico, e a oxamida por comparação estrutural com o ácido oxálico. A Tabela 3.6 ilustra algumas possibilidades de associação entre a bicalutamida e estes co-formadores.

Foram tentadas, em cada caso, várias metodologias de síntese de co-cristais, moagem manual, moagem em moinho de bolas com assistência de solvente, mas em todos os ensaios foram apenas obtidas misturas físicas dos compostos de partida como é evidente dos espectros de infravermelho apresentados na Figura 3.16.

Tabela 3.6: Alguns dos sintões supramoleculares que se podem formar na associação entre a bicalutamida e os co-formadores oxamida, ácido fumárico e ácido oxálico.

Oxamida	Ácido fumárico	Ácido oxálico

Em todos os sistemas, a fusão, curvas DSC na Figura 3.17, inicia-se a temperatura inferior à de fusão dos compostos de partida. As misturas físicas sofrem degradação não sendo possível a visualização de mais nenhum evento a temperaturas elevadas.

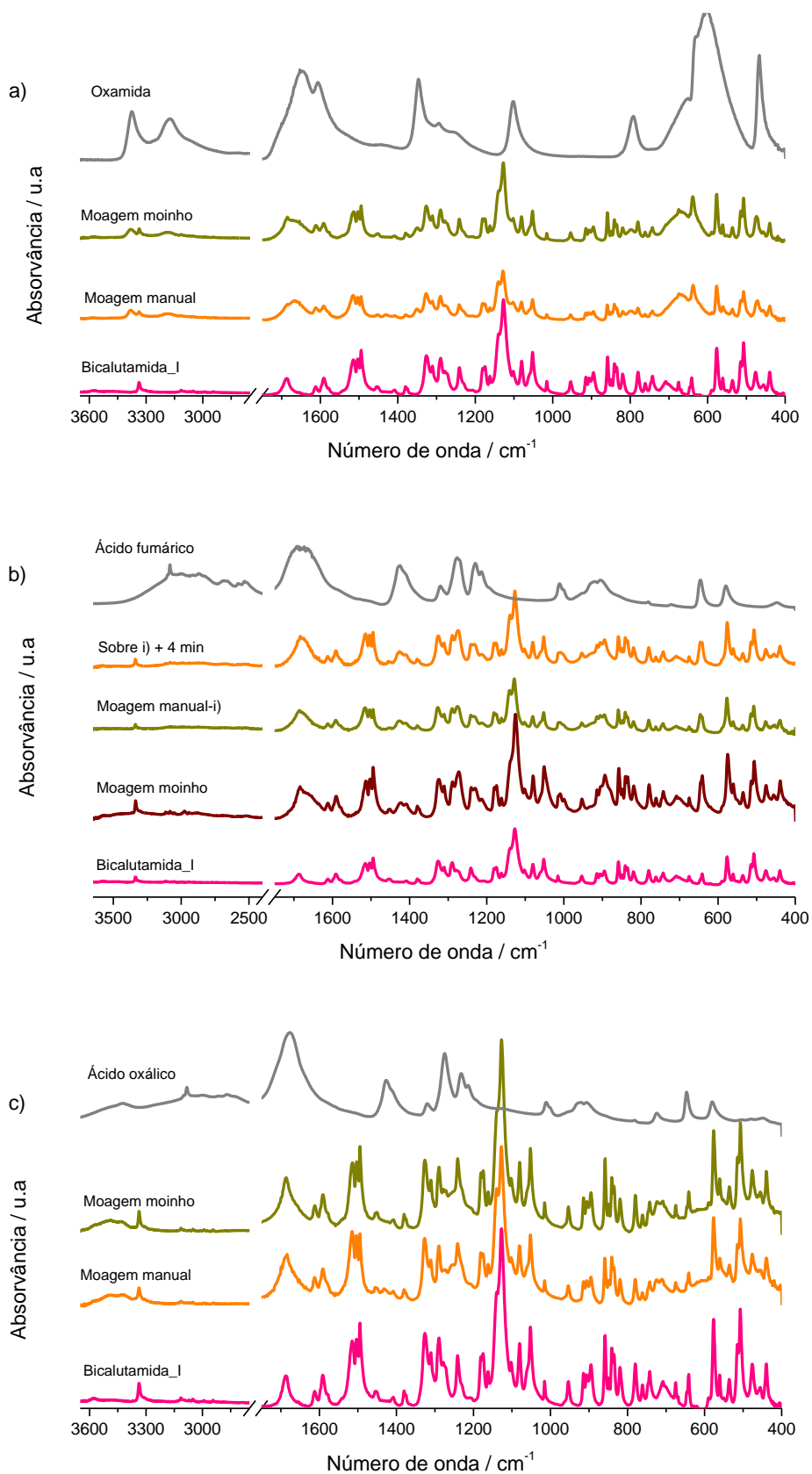


Figura 3.16: Espectros de FTIR-ATR dos compostos de partida e das misturas equimolares obtidas entre a bicalutamida e o co-formador: a) oxamida; b) ácido fumárico e c) ácido oxálico.

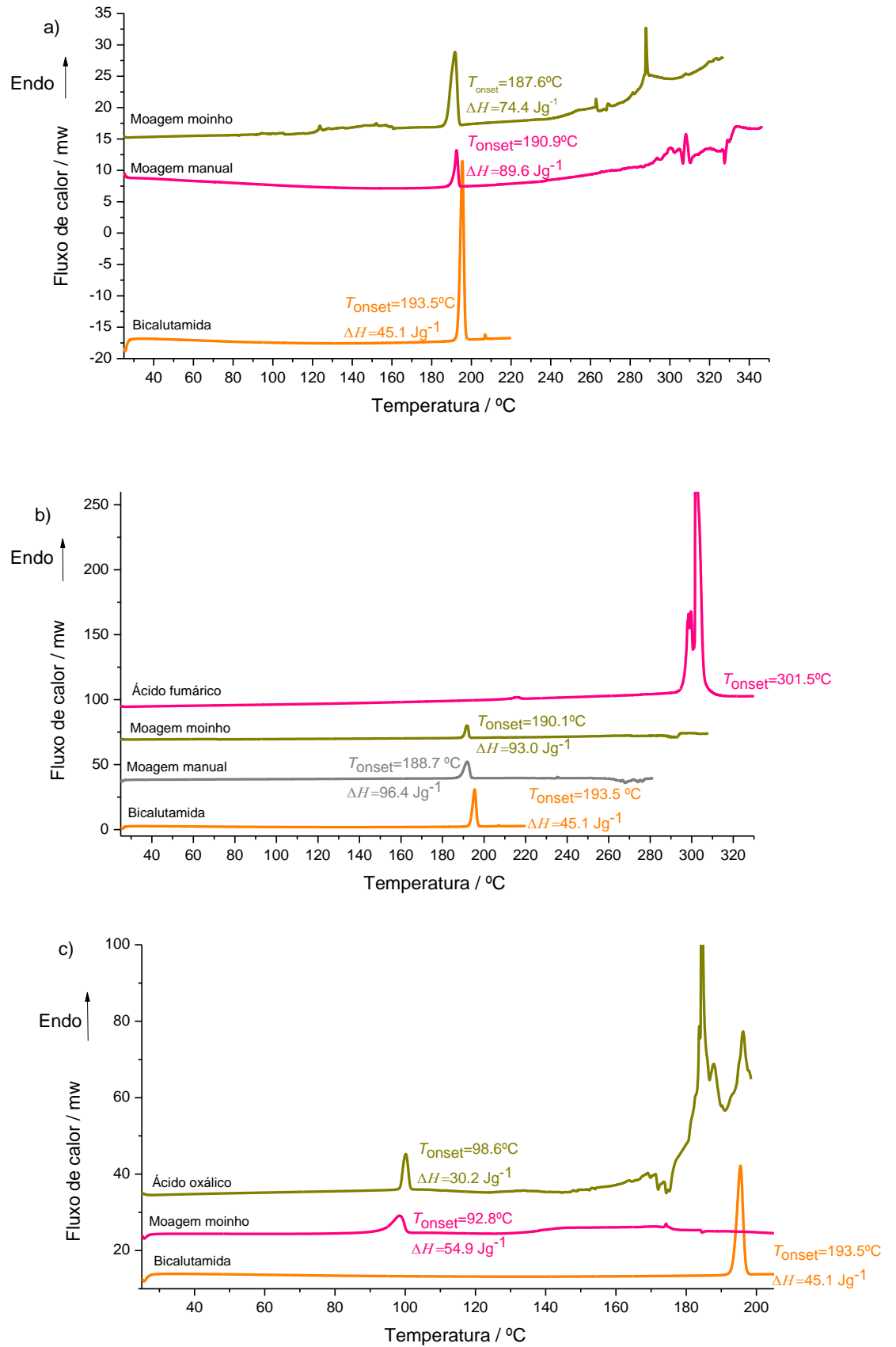


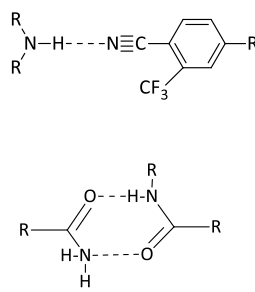
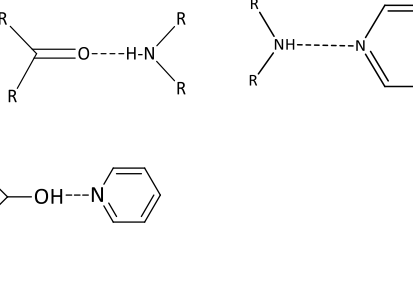
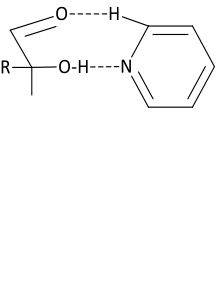
Figura 3.17: Termograma, DSC, das misturas equimolares obtidas entre a bicalutamida e o co-formador: a) oxamida; b) ácido fumárico e c) ácido oxálico; $\beta=10^{\circ}\text{C}/\text{min}$.

3.3.3 Co-formadores: Carboxamidas

O segundo grupo de co-formadores avaliados é constituído por um conjunto de carboxamidas, duas piridina carboxamidas, a isonicotinamida e a nicotinamida e uma pirazina carboxamida, a pirazinamida. Estes co-formadores, com estruturas moleculares que apresentam variações sistemáticas entre si, têm capacidade de associação com a bicalutamida por sintões supramoleculares envolvendo o azoto aromático, os quais se têm revelado robustos. A associação pelo grupo amida representa uma outra possibilidade, complementar ou competitiva. A Tabela 3.7 ilustra algumas possibilidades de associação entre estes co-formadores e a bicalutamida.

A investigação de misturas binárias de bicalutamida com estes compostos reveste-se de particular importância atendendo à atividade biológica que apresentam, informação apresentada no Apêndice 2. Será dada particular atenção ao sistema bicalutamida+nicotinamida, o mais promissor no que diz respeito a aplicação farmacêutica e com capacidade de melhorar características físico-químicas da bicalutamida (incremento de solubilidade).

Tabela 3.7: Alguns dos sintões supramoleculares possíveis na associação entre a bicalutamida e os co-formadores: nicotinamida, isonicotinamida e pirazinamida.

Nicotinamida	Isonicotinamida	Pirazinamida
		

Nicotinamida

Iniciou-se o estudo com preparação de misturas equimolares de bicalutamida com os componentes escolhidos como co-formadores. Da análise das curvas de DSC, Figura 3.18, dos parâmetros termodinâmicos, Tabela 3.8 e dos espetros de FTIR-ATR, Figura 3.19, pode concluir-

se que não ocorre formação de co-cristal. Obtém-se a soma das contribuições dos compostos de partida nos espectros de FTIR-ATR, o que significa que se trata de uma mistura física. Por outro lado, o perfil das curvas de DSC aponta para que possa ocorrer a formação de um sistema com eutético.

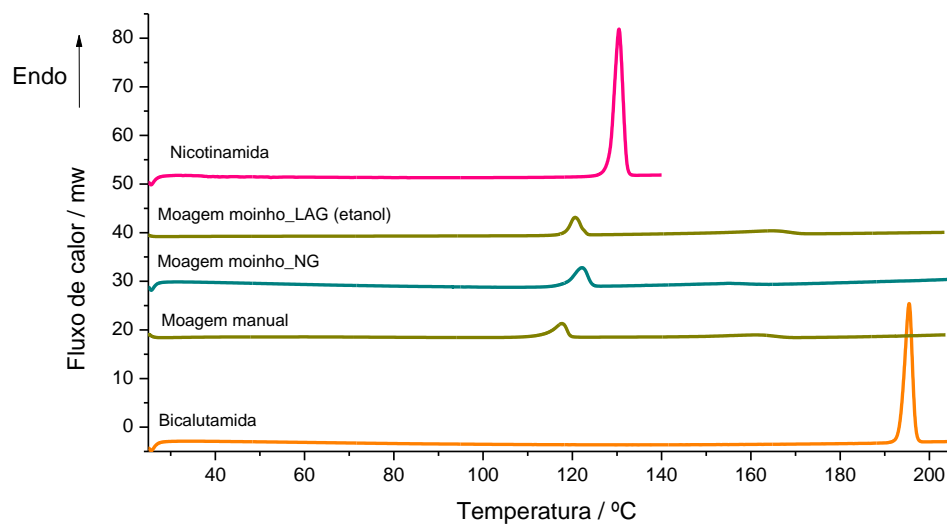


Figura 3.18: Termogramas, DSC, das misturas equimolares de bicalutamida e nicotinamida obtidas por moagem em moinho de bolas assistida por etanol e sem adição de solvente (condições na Tabela 2.3), $\beta=10^{\circ}\text{C}/\text{min}$.

Tabela 3.8: Parâmetros termodinâmicos das curvas de DSC da mistura equimolar de bicalutamida e nicotinamida e dos compostos de partida.

	1º Pico		2º Pico
	$T_{\text{onset}} / ^{\circ}\text{C}$	$\Delta H / \text{Jg}^{-1}$	$T_{\text{máx}} / ^{\circ}\text{C}$
Bicalutamida	193.5±0.5	45.1±3.9	
Mist. 1:1 manual (LAG, dioxano)	113.8	44.0	161.0
Mist. 1:1 moinho (LAG, etanol)	118.4	43.7	164.6
Mist. 1:1 moinho NG	118.4/120.7	69.3/78.9	154.9/149.0
Nicotinamida	128.3/128.5	191.1/187.3	

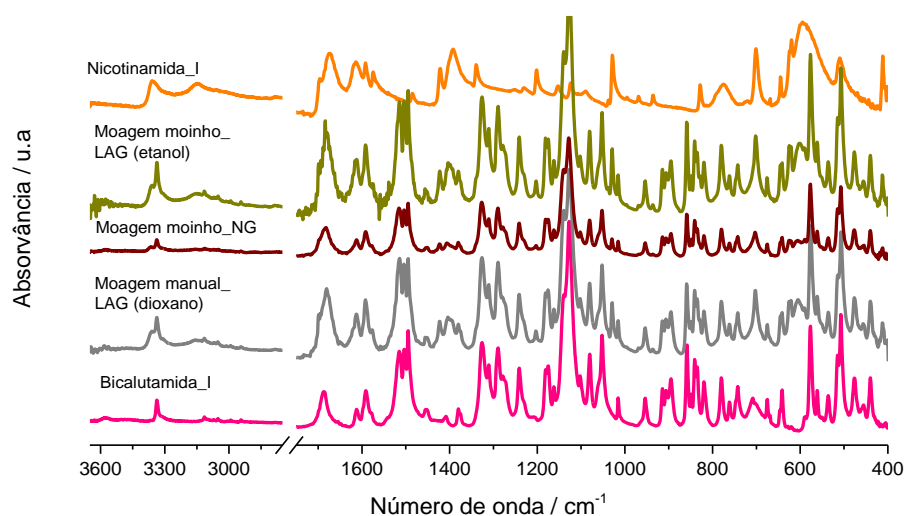


Figura 3.19: Espectros de FTIR-ATR dos compostos de partida e das misturas equimolares de bicalutamida e nicotinamida obtidas por moagem manual e em moinho de bolas com e sem adição de solvente (condições na Tabela 2.3).

Como se referiu anteriormente, no Capítulo 1, misturas eutéticas podem ser de grande interesse em aplicação farmacêutica no caso de ativos da classe II do sistema de classificação biofarmacêutico como a bicalutamida, numa perspetiva de incremento de solubilidade. Misturas de bicalutamida com nicotinamida revestem-se de particular relevância, uma vez que esta última, como detalhado na Apêndice 2, é a forma mais comum da vitamina B3. Assim, este sistema foi estudado com mais detalhe, sendo preparadas misturas com diferentes proporções molares e estabelecido o diagrama de fases binário sólido-líquido.

As curvas de DSC, obtidas com uma velocidade de varrimento $\beta=5^{\circ}\text{C}/\text{min}$, e os respetivos parâmetros termodinâmicos de interesse são apresentados na Figura 3.20 e na Tabela 3.9,

respetivamente. Os espectros de infravermelho de algumas destas misturas são apresentados na Figura 3.21, confirmando a formação de uma mistura física dos dois componentes.

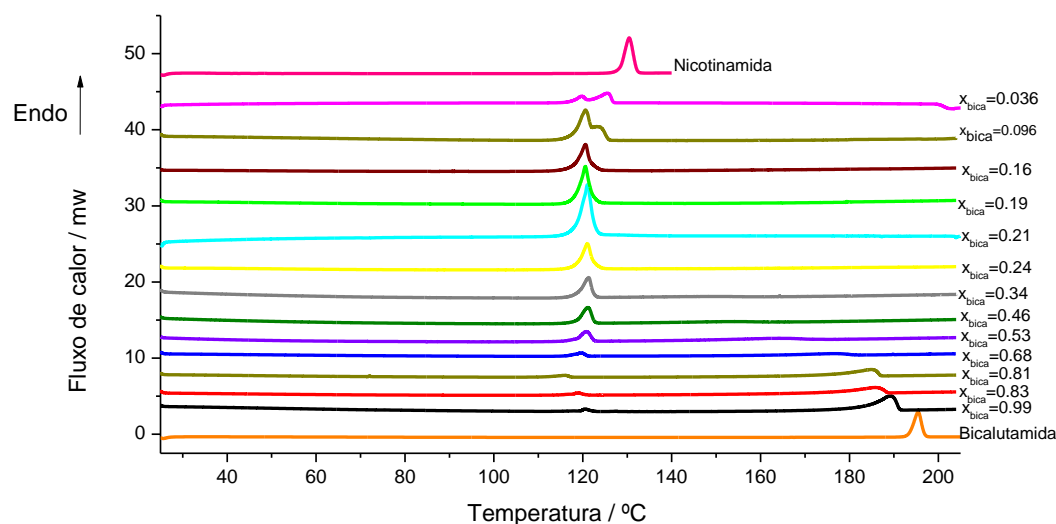


Figura 3.20: Termogramas, DSC, dos compostos puros e das misturas de diferentes proporções de bicalutamida e nicotinamida obtidas por moagem em moinho de bolas sem adição de solvente, $\beta=5^\circ\text{C}/\text{min}$.

Tabela 3.9: Parâmetros termodinâmicos das curvas de DSC das misturas de bicalutamida e nicotinamida com $\beta=5^\circ\text{C}/\text{min}$.

m bicalutamida / mg	m nicotinamida / mg	X bicalutamida	$T_{\text{onset}} / ^\circ\text{C}$	$T_{\text{máx}} / ^\circ\text{C}$	$\Delta H / \text{Jg}^{-1}$
2.3	17.2	0.036	116.2 / 116.6	126.5 / 125.5	
4.6	12.4	0.096	118.4 / 117.8	123.7 / 123.6	
8.7	13.2	0.16	118.8 / 118.4		137.0 / 136.0
9.3	11.4	0.19	118.3 / 118.6		105.0 / 121.6
10.0	1.0	0.21	121.4 / 119.0	129.9 / 130.1	156.6 / 129.0
9.5	8.4	0.24	118.6 / 120.2 ^(a)		122.8 / 135.6 ^(a)
13.4	7.4	0.34	118.8 / 118.0 ^(a)	148.3 / 147.6 ^(a)	80.3 / 59.4 ^(a)
14.4	4.8	0.46	118.6 / 119.6 ^(a)	152.1 / 152.0 ^(a)	66.7 / 74.1 ^(a)
17.1	4.2	0.53	118.4 / 118.1 ^(a)	164.1 / 164.3 ^(a)	47.0 / 44.7 ^(a)
17.5	2.3	0.68	119.5 / 117.7	176.7 / 176.1	51.5 / 24.4
19.6	1.3	0.81	112.5 / 112.1	185.0 / 184.9	10.0 / 10.0
18.4	1.1	0.83	117.7 / 117.5	185.6 / 185.8	12.1 / 11.6
18.6	0.5	0.99	117.0 / 119.6	188.6 / 189.2	3.4 / 2.8

(a) $\beta=10^\circ\text{C}/\text{min}$

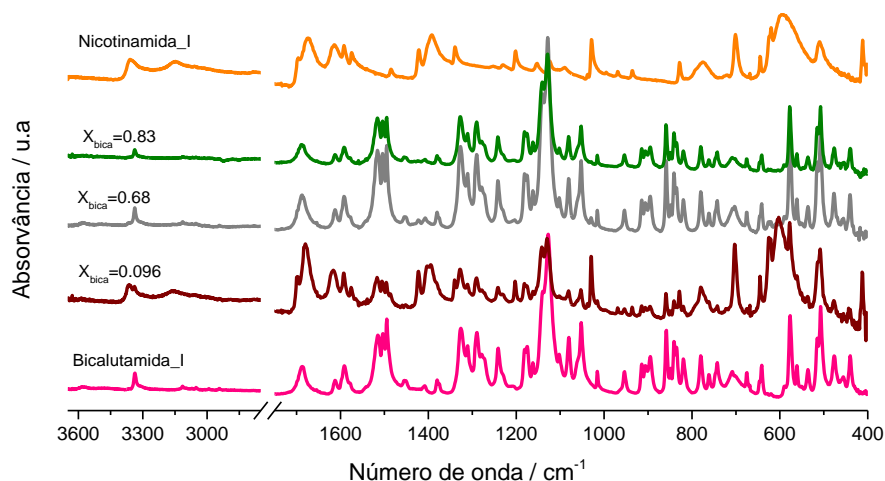


Figura 3.21: Espectros de FTIR-ATR dos compostos de partida e de algumas misturas de bicalutamida e nicotinamida obtidas por moagem em moimho de bolas sem adição de solvente.

Usando os valores obtidos a partir das curvas de DSC das diferentes misturas é possível construir um diagrama de fases sólido-líquido deste sistema, temperatura vs. fração molar, Figura 3.22. A temperatura de *onset* do primeiro pico observado, invariante, foi utilizada para definir o *solidus* e a temperatura do máximo do segundo pico foi tomada como a temperatura *liquidus*.

No diagrama apresentado na Figura 3.22 as curvas a tracejado foram obtidas aplicando a equação 3.1 que é válida se a mistura líquida for ideal. Nesta equação x_i , é a fração molar do componente em excesso, $\Delta_{fus}H_{m,i}^\circ$ e a $T_{fus,i}^\circ$ são a entalpia e a temperatura de fusão desse componente puro, respetivamente. Nos cálculos foram usados os valores que são apresentados na Tabela 3.8. Pode concluir-se que quando há excesso de nicotinamida relativamente à composição do eutético o comportamento é ideal, previsto pela equação 3.1, enquanto que no outro ramo do diagrama, bicalutamida em excesso, o diagrama se afasta ligeiramente do comportamento ideal. A composição eutética deste sistema diz respeito ao ponto onde $x_{bica} \approx 0.15$, ponto invariante a $T = (118.0 \pm 2.1)^\circ\text{C}$.

$$\frac{1}{T} = \frac{R \ln x_i}{\Delta_{fus}H_{m,i}^\circ} + \frac{1}{T_{fus,i}^\circ} \quad \text{Equação 3.1}$$

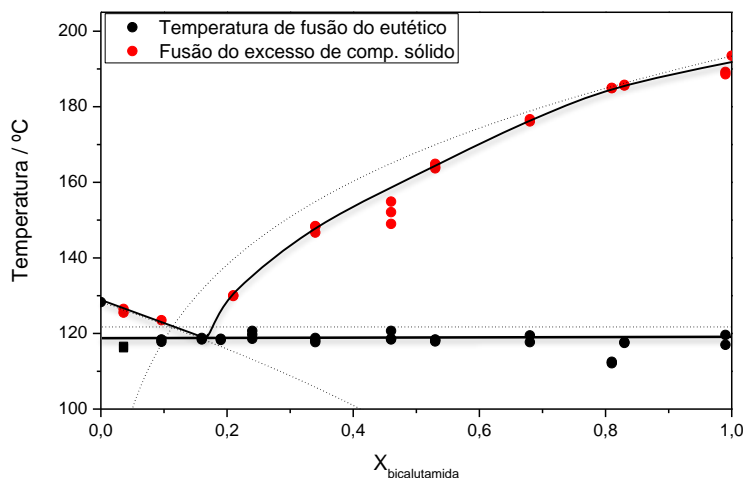


Figura 3.22: Diagrama de fases sólido-líquido do sistema bicalutamida+nicotinamida (curvas a cheio-diagrama experimental; curvas pontilhadas – previsão usando a equação 3.1).

O sistema bicalutamida:nicotinamida dá origem a um diagrama de fases com um comportamento de uma mistura eutética simples. Na composição eutética os dois compostos comportam-se, como se de uma substância pura se tratasse, sendo uma mais valia para a indústria farmacêutica. A mistura eutética permite melhorar a solubilidade de um fármaco modificação física, como referido na secção 1.2.1. Atualmente no mercado são vendidos medicamentos contendo bicalutamida com dosagem de 50 mg e de 150 mg ^[85]. Uma formulação com uma mistura eutética bicalutamida:nicotinamida com capacidade para aumentar a solubilidade através do aumento da área de contacto, implicaria no primeiro caso uma proporção de 50 mg bicalutamida para 80 mg de nicotinamida, e no segundo 150 mg:245 mg, o que é perfeitamente razoável.

Isonicotinamida

A isonicotinamida tem sido usada com sucesso em muitos processos de co-cristalização. A possibilidade de estabelecer sintões heteromoleculares robustos envolvendo o azoto aromático, sem impedimento estérico, é um dos fatores de relevo para a eficácia desta piridina carboxamida como co-formador. No entanto, a investigação de misturas equimolares de isonicotinamida e bicalutamida, preparadas por moagem em moinho de bolas com assistência de solvente, indica que neste caso não ocorre associação, Figuras 3.23 e 3.24.

Analisando as curvas de DSC, Figura 3.23, verifica-se a existência de um pequeno pico endotérmico antes da fusão da mistura equimolar, tal como se verifica no termograma da

isonicotinamida. Complementando estes resultados com os obtidos por FTIR-ATR, Figura 3.24, pode concluir-se que a amostra de partida é uma mistura física de bicalutamida I e isonicotinamida II. O espectro de uma amostra da mistura aquecida até 135°C e depois arrefecida até à temperatura ambiente revela que parte da isonicotinamida comercial, II, se transforma numa outra forma polimórfica I, o que origina o primeiro pico endotérmico observado.

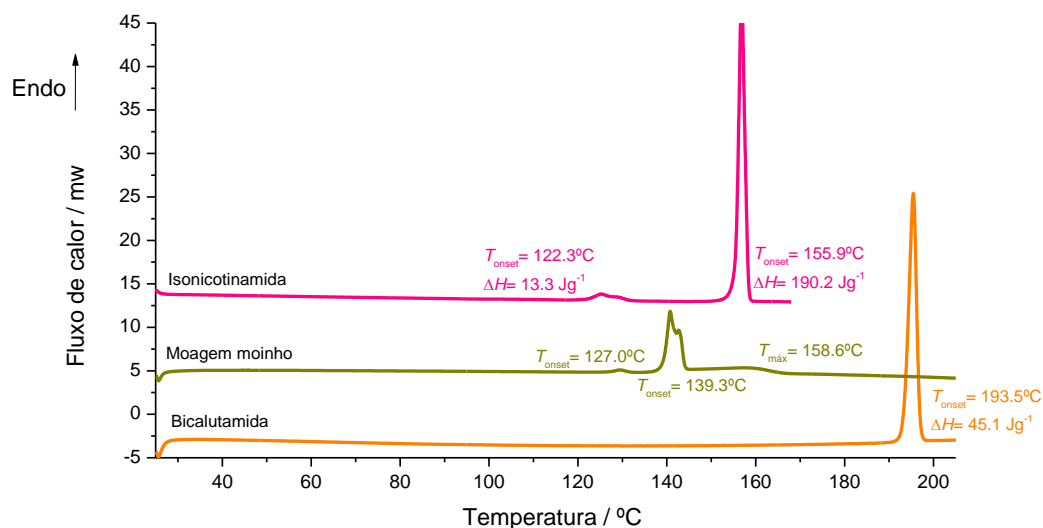


Figura 3.23: Termogramas, DSC, dos compostos puros e da mistura equimolar de bicalutamida e isonicotinamida obtida por moagem em moinho de bolas (condições na Tabela 2.3), $\beta=10^{\circ}\text{C}/\text{min}$.

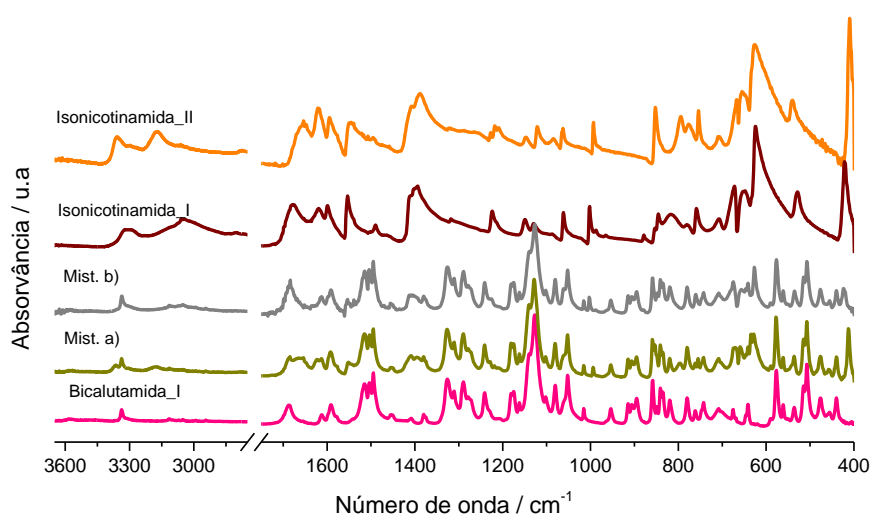


Figura 3.24: Espectros de FTIR-ATR da bicalutamida I, dos polimorfos II e I de isonicotinamida e da mistura equimolar de bicalutamida:isonicotinamida. O polimorfo I de isonicotinamida foi gerado por aquecimento da forma comercial II até 140°C, seguido de arrefecimento. Mist. a) - amostra obtida por moagem; Mist. b) - Amostra a) após aquecimento em DSC até 135°C e arrefecimento até à temperatura ambiente.

Pirazinamida

As misturas equimolares de pirazinamida e bicalutamida preparadas como descrito na Tabela 2.3 são misturas físicas de pirazinamida α e de bicalutamida I, como os espectros de infravermelho apresentados na Figura 3.25 comprovam.

No primeiro aquecimento em DSC verifica-se um pico endotérmico estreito seguido de fusão de excesso de composto, Figura 3.26. Foram realizados ensaios de arrefecimento do fundido e posterior aquecimento, tal como para outros sistemas, uma vez que a associação em co-cristal poderá ser promovida a partir da fase líquida a uma temperatura superior à ambiente. Como nos outros sistemas esse facto não ocorreu, mas os resultados obtidos merecem uma análise adicional. No arrefecimento observa-se um pico exotérmico e no segundo aquecimento verifica-se novamente um pico exotérmico, um pico endotérmico mais largo do que o do primeiro aquecimento seguido, novamente, de fusão de um excesso de composto, Figura 3.26 e Tabela 3.10.

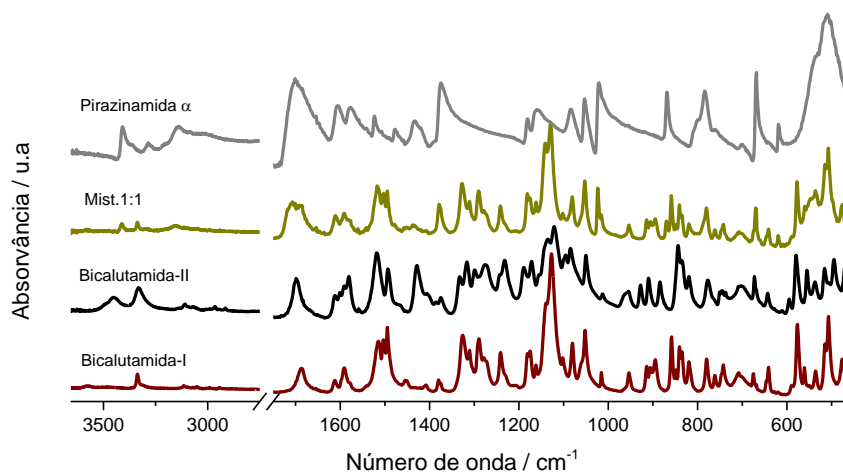


Figura 3.25: Espectros de FTIR-ATR dos compostos de partida e da mistura equimolar de bicalutamida e pirazinamida obtida por moagem em moinho de bolas sem adição de solvente.

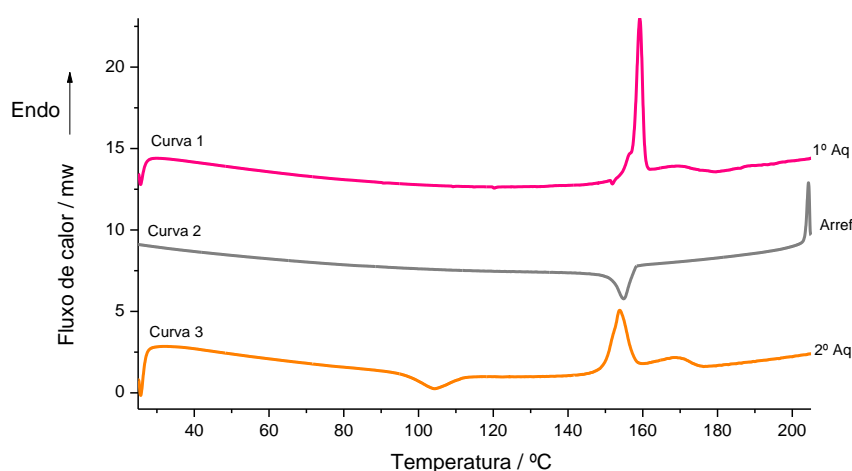


Figura 3.26: Termograma da mistura equimolar de pirazinamida e bicalutamida obtida por moagem em moinho de bolas sem adição de solvente; Programa: aquecimento de 25°C a 205°C, arrefecimento de 205°C a 25°C e aquecimento de 25°C a 205°C, $\beta=10^\circ\text{C}/\text{min}$.

Tabela 3.10: Parâmetros termodinâmicos das curvas de DSC obtidos em vários ensaios realizados sobre a mistura equimolar de bicalutamida e pirazinamida.

Amostra	1º Aquecimento		Arrefecimento	2º Aquecimento	
	$T_{\text{onset}} / ^\circ\text{C}$	$\Delta H / \text{J/g}$		Pico exotérmico	Pico endotérmico
	$T_{\text{onset}} / ^\circ\text{C}$	$T_{\text{onset}} / ^\circ\text{C}$	$\Delta H / \text{J/g}$	$T_{\text{onset}} / ^\circ\text{C}$	$T_{\text{onset}} / ^\circ\text{C}$
1	157.5	157.7	-42.1	97.4	150.6
2	157.3	153.4	-40.2		
3	157.2	158.1	-37.7	96.7	
4	158.1	157.6	-40.1	96.2	151.7
$\bar{x} \pm s$	157.5±0.4	156.7±2.2	-40.0±1.8	96.8±0.6	

Conjugando os resultados obtidos por DSC, Figura 3.26 com os obtidos por FTIR-ATR, Figuras 3.25 e 3.27, pode concluir-se que a mistura de partida, como referimos, contém a forma α de pirazinamida e bicalutamida I. No arrefecimento do fundido, curva 2, Figura 3.26, ocorre cristalização, regenerando a forma α de pirazinamida e a forma amorfa de bicalutamida, espectro a), Figura 3.27. O espectro b), Figura 3.27, é o de uma mistura da forma II de bicalutamida, que se formará no evento exotérmico da curva 3, Figura 3.26, com a forma α de pirazinamida.

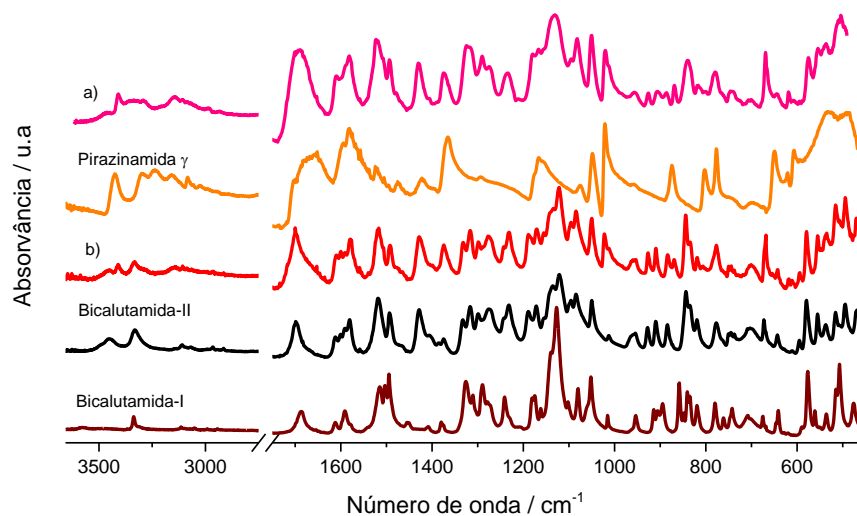


Figura 3.27: Espectros obtidos por FTIR-ATR para os polimorfos γ de pirazinamida, I e II da bicalutamida e da mistura equimolar: a) após o ciclo (1+2) em DSC, Figura 3.26; b) após ciclo (1+2) seguido de aquecimento até 125 °C e arrefecimento até à temperatura ambiente.

Este resultado é interessante tendo em conta que em todos os ensaios descritos na literatura ^[86] a cristalização da pirazinamida fundida conduz sempre à formação da forma γ , metaestável em condições ambiente. A presença de bicalutamida parece potenciar a cristalização do polimorfo α de pirazinamida.

Para avaliar este efeito, foram preparadas misturas de bicalutamida e pirazinamida noutras proporções. Os resultados são apresentados nas Figuras 3.28 e 3.29. Os termogramas, Figura 3.28, confirmam um ponto invariante a $T \approx 157^\circ\text{C}$, fusão de um eutético. Apesar do comportamento em DSC nos processos de arrefecimento do fundido e subsequente aquecimento não diferirem, aparentemente, do comportamento mostrado na Figura 3.26 para a mistura equimolar, os espectros de infravermelho, Figura 3.29, permitem concluir que o resultado desta sequência de procedimentos é uma mistura de pirazinamida γ e bicalutamida II.

Será necessária investigação adicional para compreender o efeito observado na mistura equimolar.

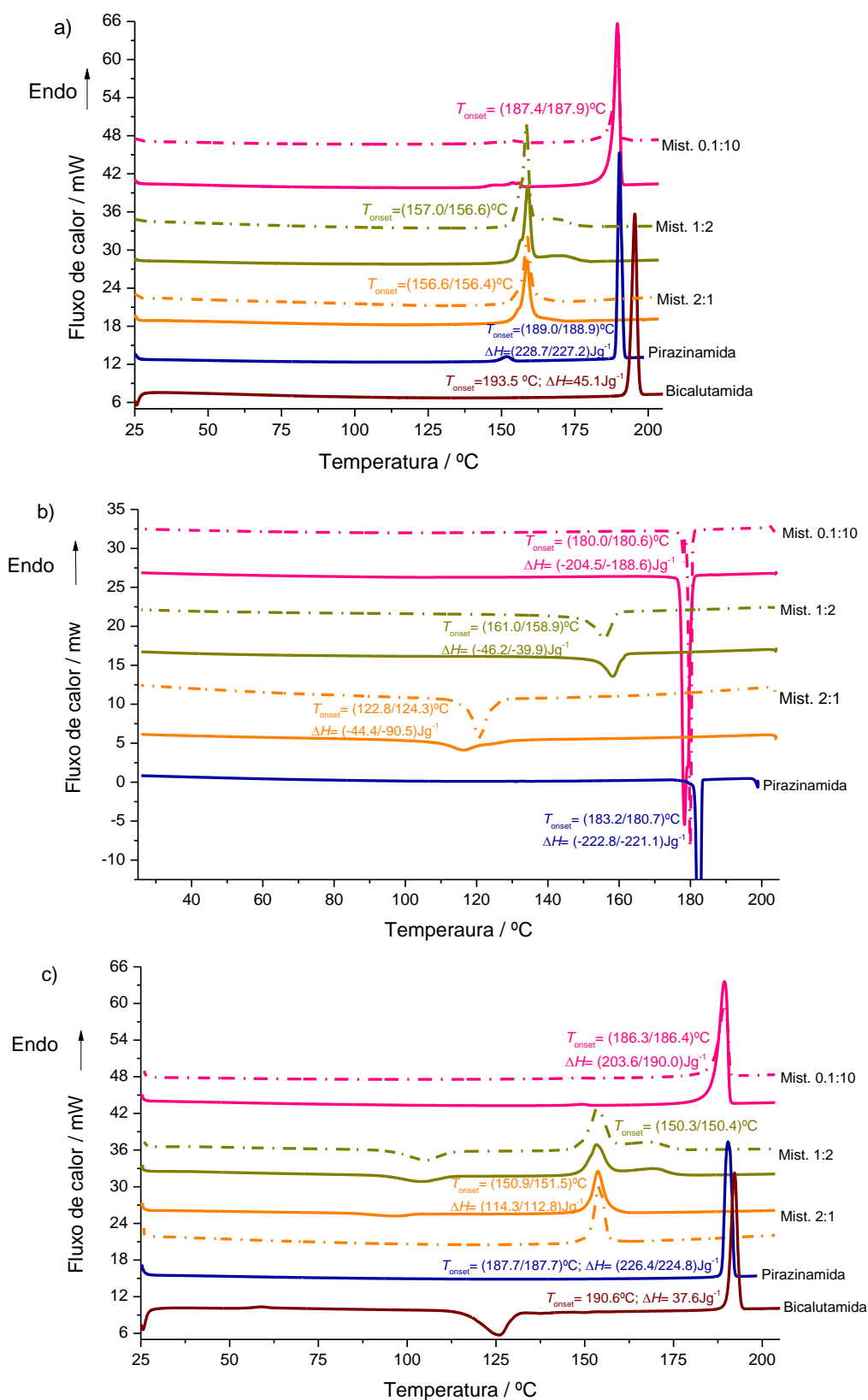


Figura 3.28: Termograma, DSC, das misturas de bicalutamida e pirazinamida de diferentes composições: a) 1^o aquecimento; b) arrefecimento; c) 2^o aquecimento; a representação a tracejado diz respeito a uma réplica da mesma mistura representada a cheio.

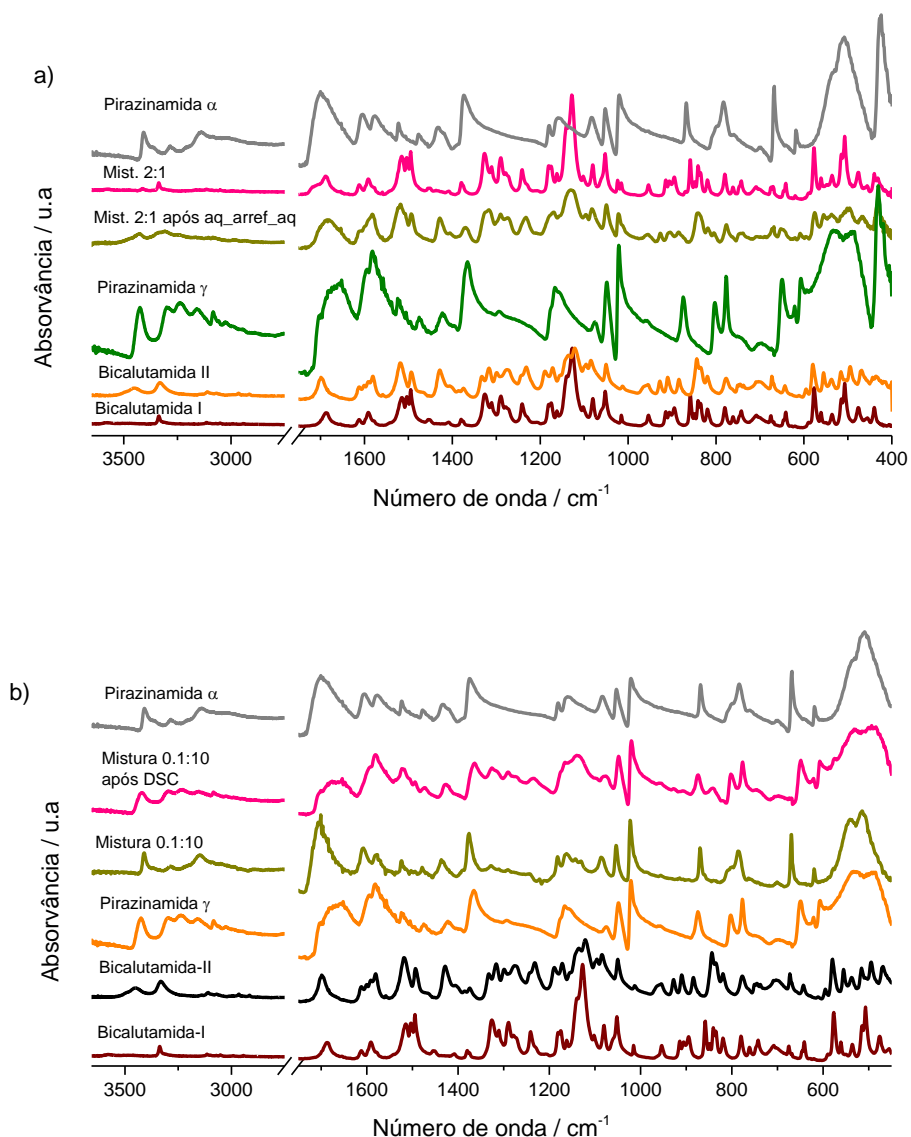
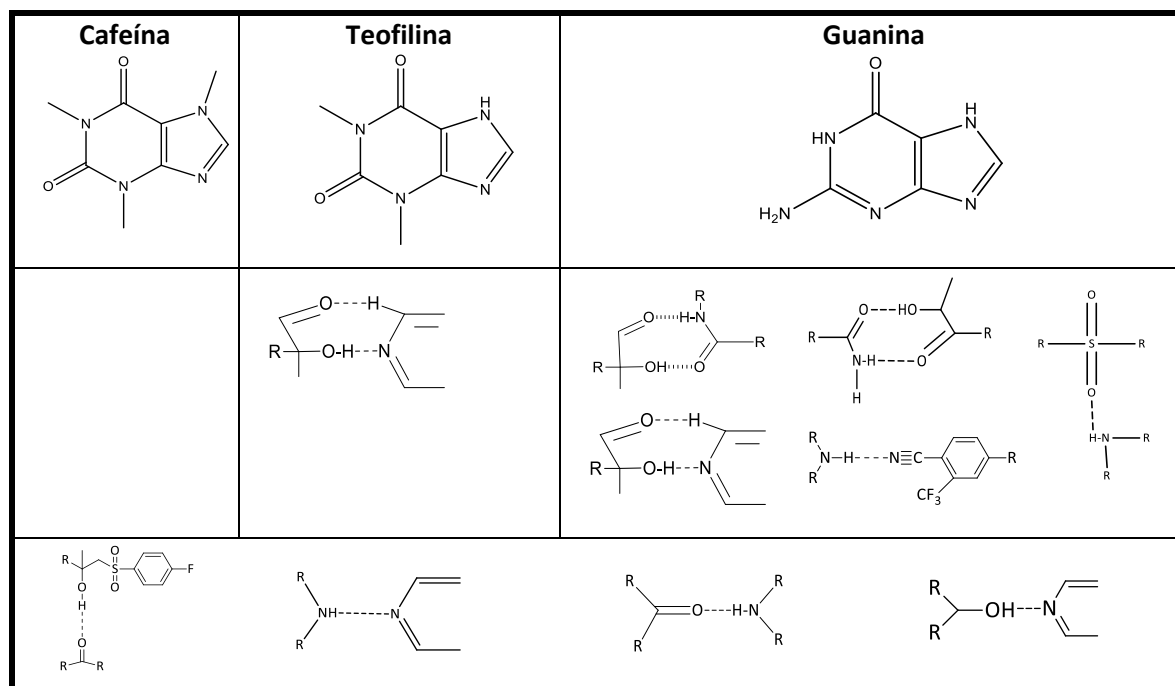


Figura 3.29: Espectros obtidos por FTIR-ATR para os polimorfos α e γ da pirazinamida, I e II da bicalutamida e para a a) mistura 2:1 de bicalutamida+pirazinamida e b) mistura 0.1:10.

3.3.4 Co-formadores: Xantinas e Guanina

Da família das xantinas foram selecionadas como co-formadores a cafeína e a teofilina. Ambas têm interesse no âmbito da aplicação farmacêutica (Apêndice 2) e têm sido usadas, com frequência como co-formadores em processos de co-cristalização. As estruturas químicas, Tabela 3.11, são muito próximas. A guanina foi selecionada por possuir grande semelhança estrutural com as duas xantinas. A Tabela 3.11 ilustra algumas possibilidades de associação entre a bicalutamida e estes co-formadores.

Tabela 3.11: Alguns dos sintões supramoleculares que podem existir na associação entre a bicalutamida e os co-formadores: cafeína, teofilina e guanina.



Foram preparadas misturas equimolares de cada um destes co-formadores com a bicalutamida, mas os resultados obtidos, em todos os casos, nomeadamente os espectros de infravermelho que se apresentam nas Figuras 3.30, 3.32 e 3.34 confirmam que não ocorre formação de co-cristais. As curvas de DSC obtidas apresentam-se nas Figuras 3.31, 3.33 e 3.35.

Uma vez que a guanina se degrada, Figura 3.35, não é possível verificar nenhum evento a altas temperaturas. Com a cafeína foram tentados vários métodos de moagem: sem solvente, com etanol e diferentes tempos e frequências de moagem. Analisando as curvas de DSC, Figura 3.31, verifica-se que a adição de solvente na moagem 15Hz, 30 minutos, curva b, conduz a um pico de fusão mais estreito e a um aumento da entalpia de fusão, que é consistente com o aumento de cristalinidade. Por outro lado, o aumento do tempo de moagem e da frequência parece conduzir à amorfização dado que diminui a entalpia dos picos não se registando qualquer sinal quando se usa uma frequência de 30Hz durante 60 minutos, curva c.

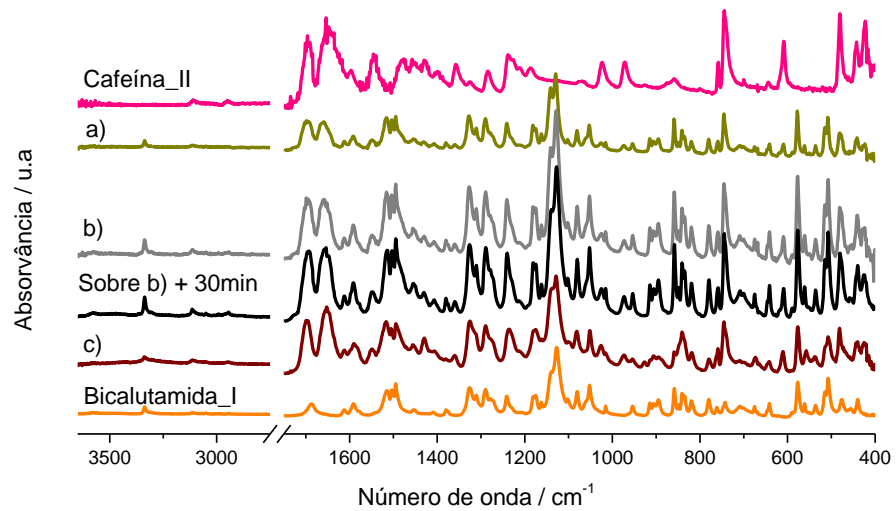


Figura 3.30: Espectros obtidos por FTIR-ATR para as misturas equimolares de bicalutamida e cafeína obtidas por mecanoquímica: a) moagem em moinho de bolas sem adição de solvente; b) moagem em moinho de bolas com adição de 5µL de etanol durante 30 minutos e com 15Hz e c) moagem em moinho de bolas com adição de 5µL durante 60 minutos e com 30Hz.

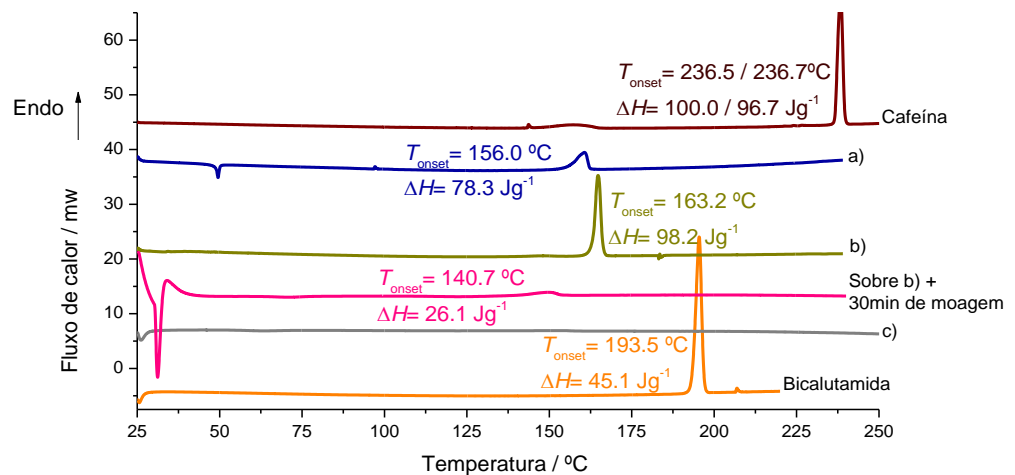


Figura 3.31: Termograma, DSC, das misturas equimolares de bicalutamida e cafeína obtidas por mecanoquímica: a) moagem em moinho de bolas sem adição de solvente; b) moagem em moinho de bolas com adição de 5µL de etanol durante 30 minutos e com 15Hz e c) moagem em moinho de bolas com adição de 5µL durante 60 minutos e com 30Hz; $\beta=10^\circ\text{C}/\text{min}$.

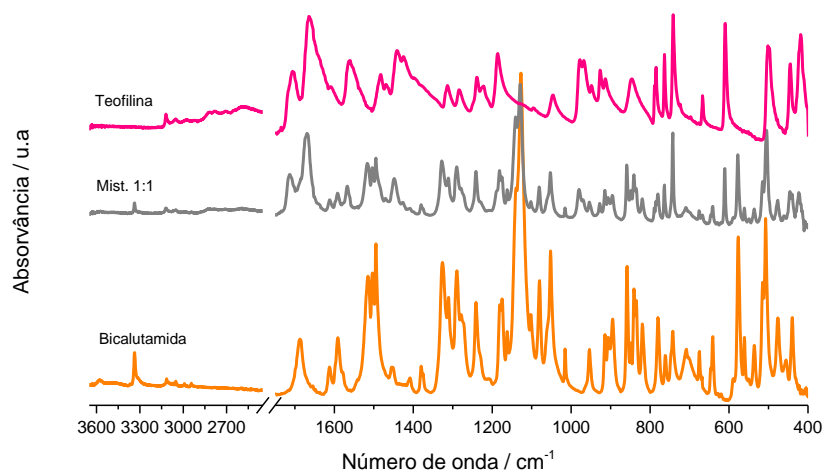


Figura 3.32: Espectros obtidos por FTIR-ATR dos compostos de partida e de uma mistura equimolar de bicalutamida e teofilina obtida por moagem em moinho de bolas com adição de 5 μ L de etanol.

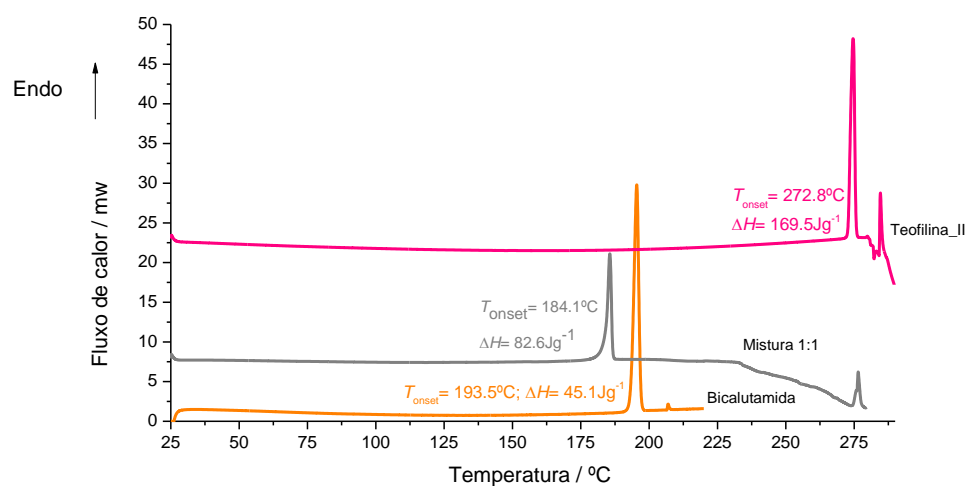


Figura 3.33: Termograma, DSC, da mistura equimolar de bicalutamida e teofilina gerada em moinho de bolas com adição de 5 μ L de etanol, e dos compostos de partida; $\beta=10^\circ\text{C}/\text{min}$.

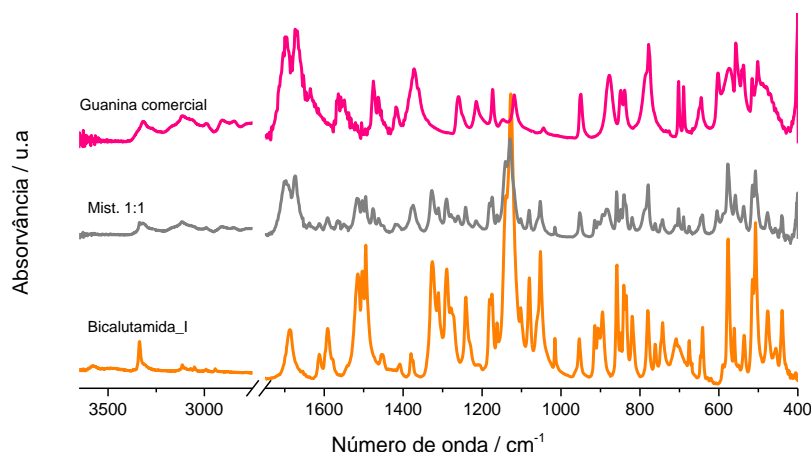


Figura 3.34: Espectros obtidos por FTIR-ATR dos compostos de partida e de uma mistura equimolar de bicalutamida e guanina obtida por moagem em moinho de bolas

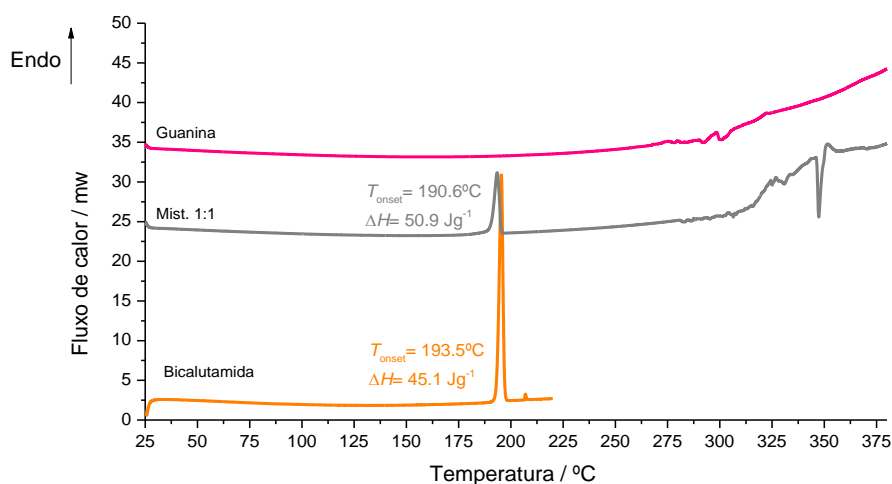


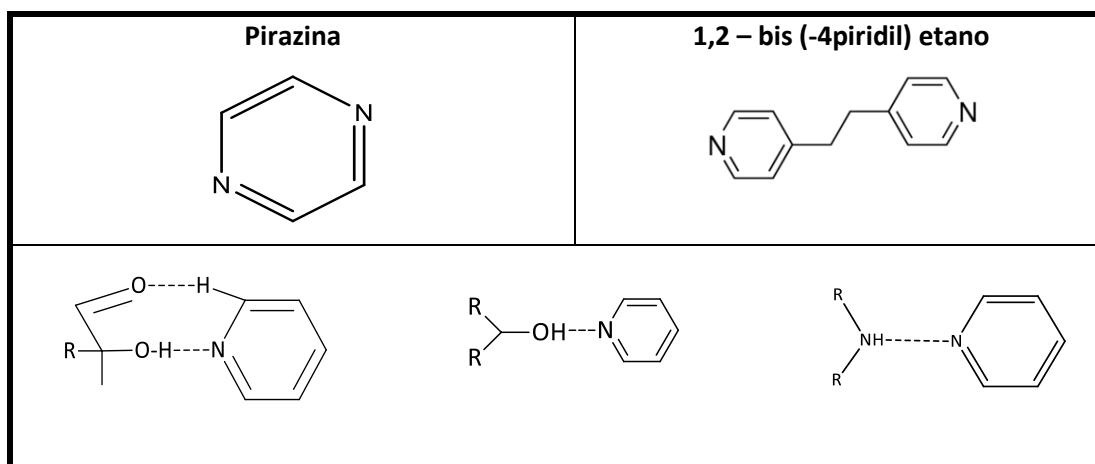
Figura 3.35: Termograma, DSC, dos compostos de partida e da mistura equimolar de bicalutamida e guanina gerada por moagem em moinho de bolas com adição de 5 μL de etanol.

3.3.5 Co-formadores: pirazina e 1,2-bis(4-piridil) etano

A associação da bicalutamida com os co-formadores testados revelou-se ineficaz. A natureza dos heterosintões possíveis e a competição entre sintões pode estar na origem desta observação. Num passo seguinte do trabalho tentou selecionar-se co-formadores o mais parecido possível com os já descritos na literatura nomeadamente a pirazina que é uma molécula aromática heterocíclica pequena e o 1,2-bis(4-piridil) etano que é estruturalmente semelhante ao 1,2-bis(4-piridil) etileno que forma co-cristal com a bicalutamida, mas não é tão

rígida. Em ambos os casos os sintões supramoleculares possíveis são semelhantes e a Tabela 3.12 mostra as possíveis associações da bicalutamida com estes co-formadores.

Tabela 3.12: Possíveis sintões supramoleculares que se podem formar na associação da bicalutamida com os co-formadores: pirazina e 1,2-bis(4-piridil) etano.



A investigação de misturas equimolares de pirazina com bicalutamida, Figuras 3.36 e 3.37, permite concluir que, também com este co-formador, não é possível, nas condições utilizadas, obter co-cristais, apesar dos heterosintões moleculares possíveis serem os mesmos que poderão formar-se com o 4,4'-bipiridil. No entanto, tendo em conta o comportamento da mistura será necessária uma investigação adicional.

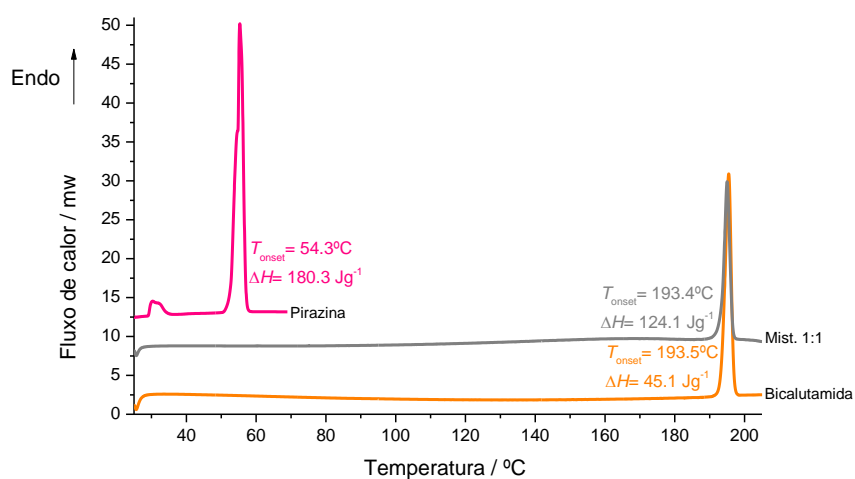


Figura 3.36: Termograma, DSC, da mistura equimolar de bicalutamida:pirazina obtida por moagem em moinho de bolas com adição de 5µL de etanol, (condições na Tabela 2.3); $\beta=10^{\circ}\text{C}/\text{min}$.

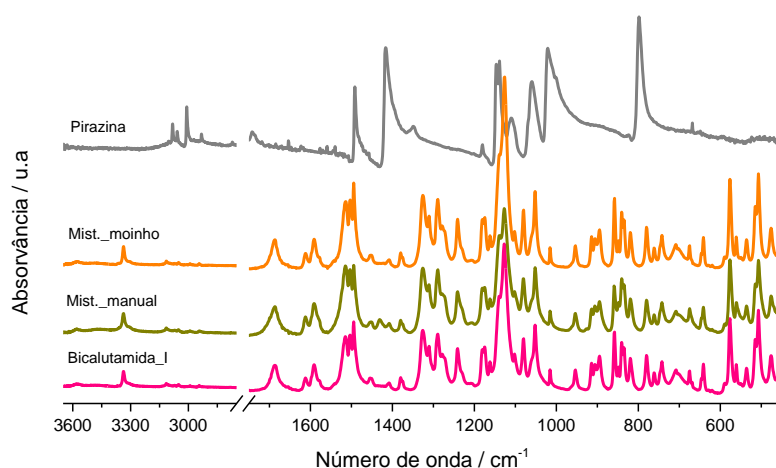


Figura 3.37: Espectros de FTIR-ATR das misturas equimolares de bicalutamida e pirazina obtida por moagem em moinho de bolas com adição de 5µL de etanol, por moagem manual com adição de 10µL de dioxano, e dos compostos de partida.

A investigação de misturas de bicalutamida:1,2-bis (4-piridil) etano foi mais detalhada. O estudo preliminar de uma mistura $x_{\text{bica}}=0.47$, nomeadamente o espectro de infravermelho, permitiu concluir que haveria associação entre os dois compostos com formação de co-cristal. Assim prepararam-se misturas de diferentes composições, Tabela 3.13, fazendo-se uma avaliação inicial por DSC com velocidade de varrimento $\beta=10^\circ\text{C}/\text{min}$, Figura 3.38. A observação de dois pontos invariantes confirma a formação de co-cristal. Realizaram-se varrimentos em DSC a $\beta=5^\circ\text{C}/\text{min}$, Figura 3.39, para todas as misturas, por forma a construir o diagrama de fases binário sólido-líquido para este sistema. O diagrama de fases obtido é apresentado na Figura 3.40. O diagrama evidencia a formação de um co-cristal (3:2) com fusão incongruente, um ponto invariante peritético $T= (137.0 \pm 0.6)^\circ\text{C}$.

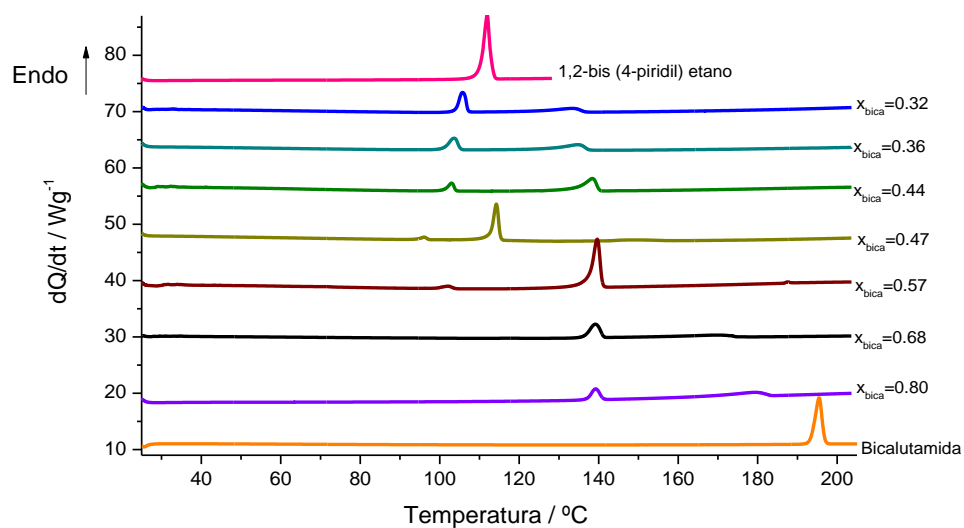


Figura 3.38: Termogramas, DSC, das diferentes misturas de bicalutamida e 1,2-bis (4-piridil) etano obtidas por moagem em moinho de bolas com adição de 5µL de acetona, e dos compostos de partida; $\beta=10^\circ\text{C}/\text{min}$.

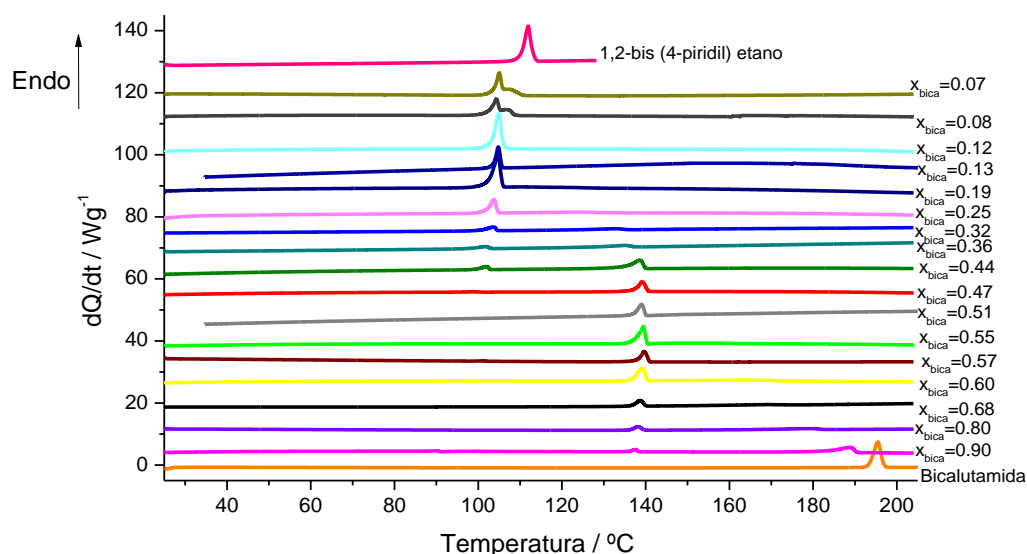


Figura 3.39: Termogramas, DSC, das diferentes misturas de bicalutamida e 1,2-bis (4-piridil) etano obtidas por moagem em moinho de bolas com adição de 5 μ L de acetona, e dos compostos de partida; $\beta=5^{\circ}\text{C}/\text{min}$.

Tabela 3.13: Frações molares das misturas de bicalutamida e 1,2-bis(4-piridil) etano preparadas por moagem com assistência de acetona e parâmetros termodinâmicos das curvas de DSC; $\beta=5^{\circ}\text{C}/\text{min}$.

m bicalutamida / mg	m 1,2-bis(4piridil)etano / mg	X bicalutamida	$T_{\text{onset}} / ^{\circ}\text{C}$	$T_{\text{máx}} / ^{\circ}\text{C}$	$\Delta H / \text{Jg}^{-1}$
		0	110.9		136.9
3.27	17.96	0.07	103.7	107.6	-
3.55	18.16	0.08	102.7	106.7	-
4.79	15.27	0.12	103.3	105.0	121.8
5.02	13.79	0.13	103.7		115.7
7.11	12.70	0.19	102.7	111.3	86.2
10.09	13.12	0.25	102.1	124.2	62.8
10.38	9.27	0.32	100.6/104.1 ^(a)	132.5/133.5 ^(a)	40.5/44.6 ^(a)
10.93	8.47	0.36	98.2/101.1 ^(a)	134.9/134.8 ^(a)	28.6/34.8 ^(a)
15.37	8.39	0.44	99.5/101.2 ^(a)	138.6/138.5 ^(a)	14.2/17.0 ^(a)
13.04	6.28	0.47	96.0	139.2	5.2
13.96	5.80	0.51	137.2	148.4	86.7
15.74	5.60	0.55	137.6	151.1	74.9
14.46	4.64	0.57	138.1/137.5 ^(a)		83.9/77.8 ^(a)
16.26	4.55	0.60	136.8	164.4	55.5
15.37	3.16	0.68	136.8/136.4 ^(a)	168.8/169.7 ^(a)	47.4/44.8 ^(a)
16.01	1.73	0.80	136.4/137.2 ^(a)	180.6/179.1 ^(a)	29.4/30.1 ^(a)
19.39	0.94	0.90	136.1	188.7	9.5
		1	193.5		45.1

(a) $\beta=10^{\circ}\text{C}/\text{min}$

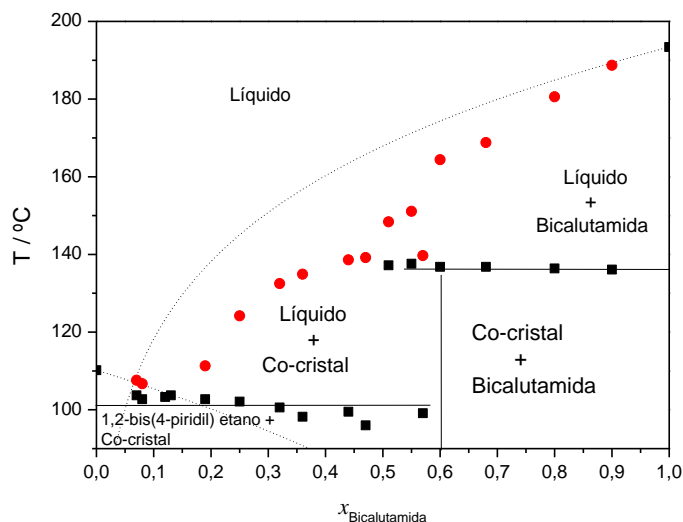


Figura 3.40: Diagrama de fases sólido-líquido do sistema bicalutamida e 1,2-bis(4-piridil) etano. As linhas a tracejado indicam o comportamento previsto pela Equação 3.1 (sistema ideal com diagrama de fases com eutético simples).

Na Figura 3.41 apresenta-se os espectros de FTIR-ATR da mistura 3:2 de bicalutamida:1,2-bis(4-piridil) etano, sendo evidenciado o deslocamento notório de várias bandas relativamente aos compostos de partida, o que confirma a formação de uma nova estrutura cristalina. Os difractogramas de pó apresentados na Figura 3.42, confirmam a formação de uma nova estrutura cristalina, com reflexões em valores de 2θ não observados nos compostos de partida e ausência de reflexões características destes.

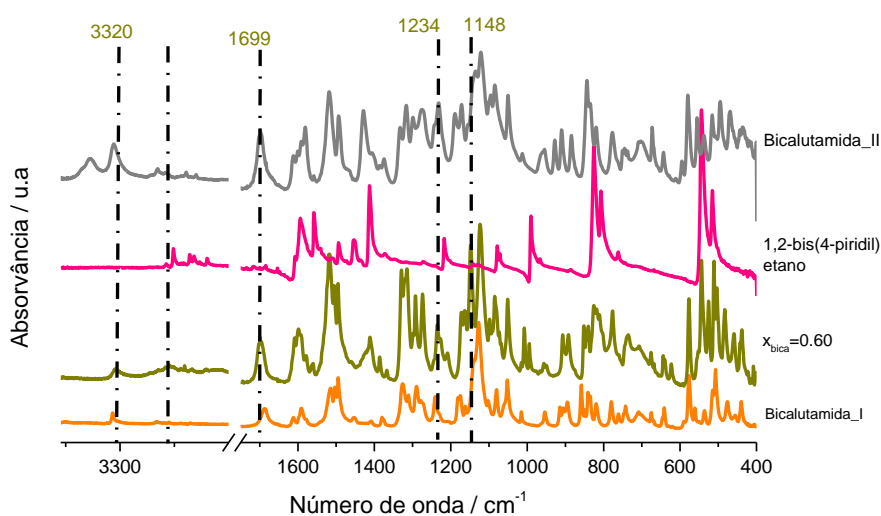


Figura 3.41: Espectros obtidos por FTIR-ATR da mistura 3:2 de bicalutamida:1,2-bis(4-piridil) etano obtida por moagem em moinho de bolas com assistência de 5 μ L de acetona.

Este co-cristal foi também obtido por moagem em moinho de bolas com assistência de etanol.

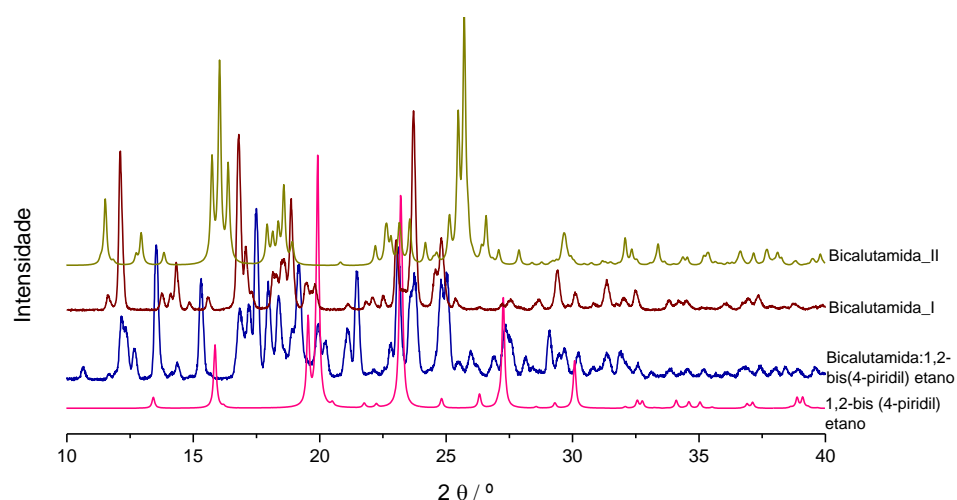


Figura 3.42: Difractograma de raios-X pó da mistura 3:2 de bicalutamida+1,2-bis (4-piridil) etano, co-cristal, da forma polimórfica II da bicalutamida ^[61], da forma polimórfica I e do 1,2-bis(4.piridil)etano ^[87].

Os espectros de infravermelho de misturas de bicalutamida:1,2-bis(4piridil) etano de outras composições, Figura 3.43, apresentam bandas da nova estrutura cristalina e alguns picos que evidenciam excesso de bicalutamida ou de 1,2-bis(4piridil) etano consoante a composição.

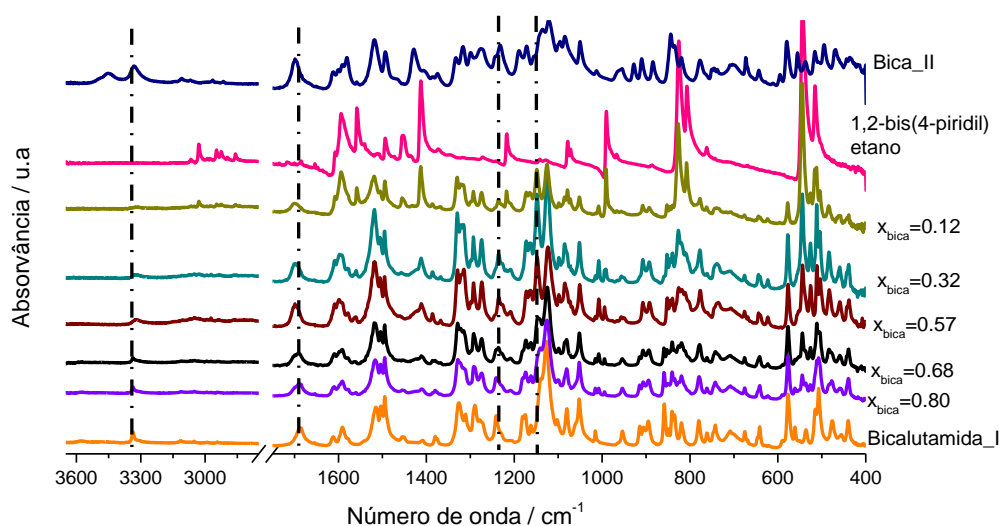


Figura 3.43: Espectros de FTIR-ATR das diferentes misturas dos compostos bicalutamida:1,2-bis (4-piridil) etano obtidos por moagem em moinho de bolas com assistência de 5μL de acetona.

Foi também efetuado o estudo da evolução do espectro de infravermelho do co-cristal, $x_{\text{bica}}=0.60$, num varrimento de aquecimento. Foi preparada uma pastilha de KBr e as Figuras 3.44 e 3.45 ilustram alguns espectros de FTIR obtidos. Como se esperaria para um composto de adição com fusão incongruente, a temperaturas mais elevadas é visível o aparecimento do perfil do espectro da bicalutamida I e as bandas tendem a ficar mais largas, o que confirma a existência de líquido também. No entanto, as temperaturas registadas por este método não são coincidentes com as que se observam por DSC o que poderá resultar da diferença de condições experimentais, neste caso com dispersão de amostra em pastilha de brometo de potássio.

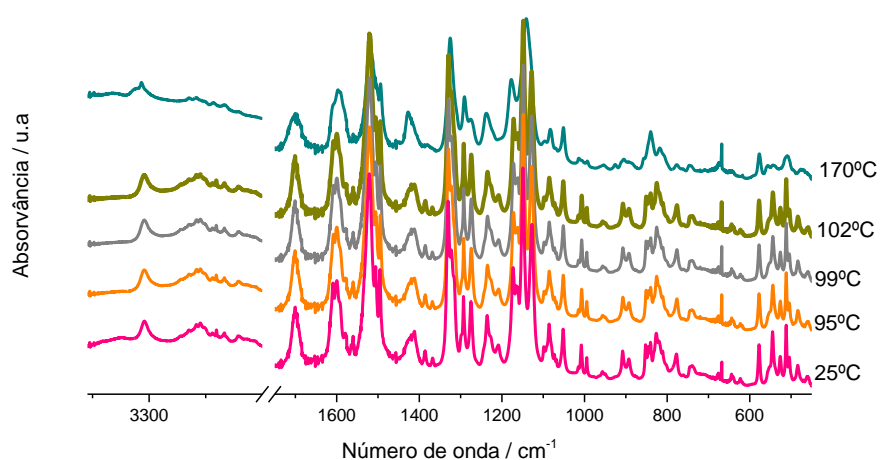


Figura 3.44: Espectros obtidos por FTIR a diferentes temperaturas para a mistura $x_{\text{bica}}=0.60$; resolução: 1 cm^{-1}

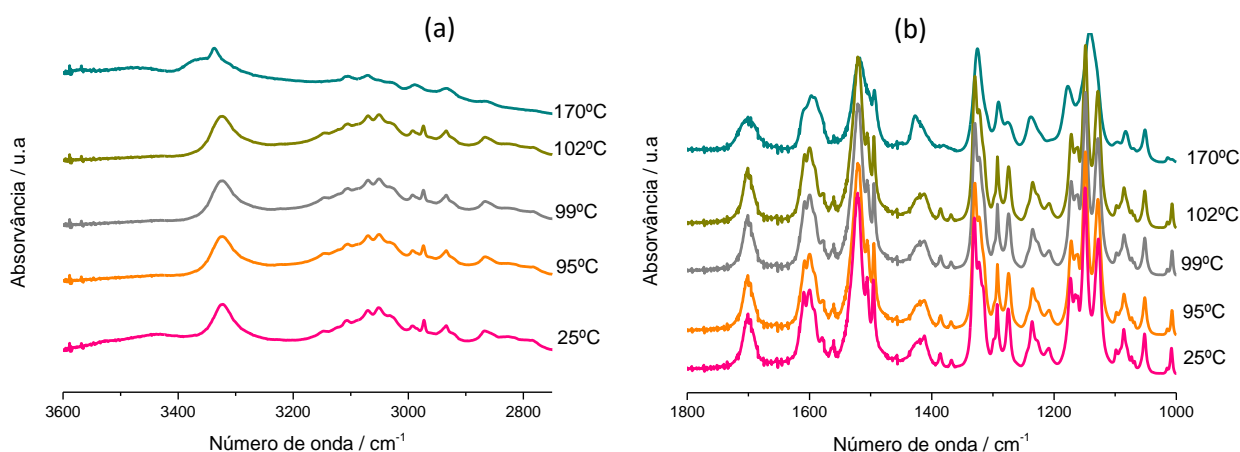


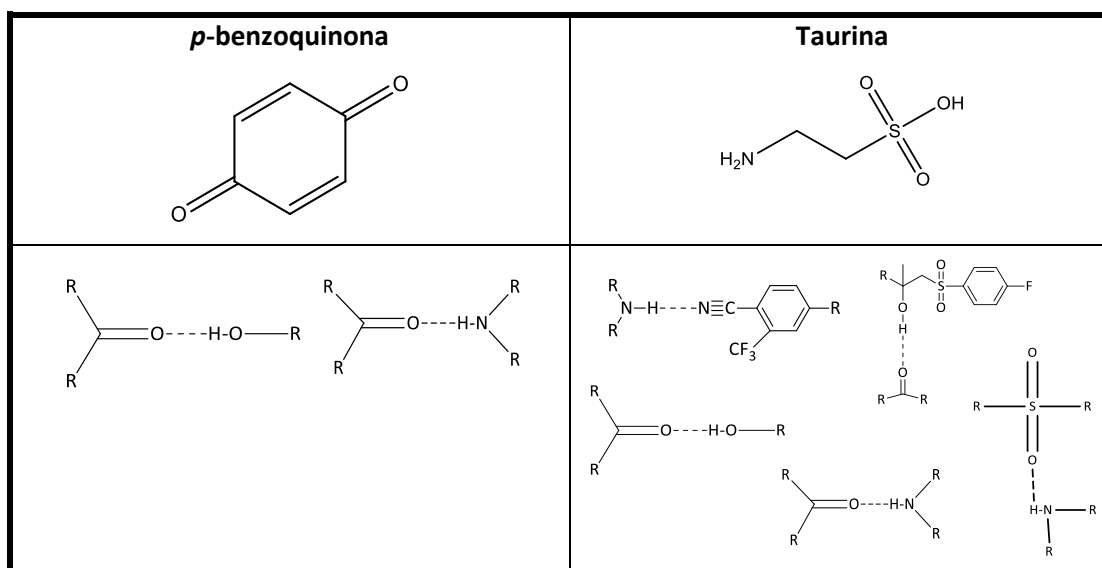
Figura 3.45: Espectros obtidos por FTIR a diferentes temperaturas para a mistura $x_{\text{bica}}=0.60$: a) entre $3600-2750 \text{ cm}^{-1}$; b) entre $1800-1000 \text{ cm}^{-1}$; resolução: 1 cm^{-1}

3.3.6 Co-formadores: taurina e *p*-benzoquinona

Por último tentou-se ainda a associação com a taurina e com a *p*-benzoquinona. Os co-cristais de bicalutamida descritos apresentam ligação com co-formadores, compostos aromáticos heterocíclicos bifuncionais com azotos aromáticos em posições extremas da molécula, nalguns casos em estruturas rígidas (4,4'-bipiridil e 1,2-bis (4-piridil) etileno) e no co-cristal identificado neste trabalho, numa estrutura com alguma flexibilidade. A *p*-benzoquinona foi escolhida por ter também uma estrutura rígida, apresentando em vez de azotos, apenas duplas ligações com oxigénio. No caso da taurina tentou-se associação por ser uma molécula com dois grupos funcionais extremos mas por ser mais flexível.

A Tabela 3.14 ilustra alguns dos possíveis sintões supramoleculares que podem ocorrer entre a bicalutamida e os co-formadores: *p*-benzoquinona e taurina.

Tabela 3.14: Alguns dos sintões supramoleculares possíveis entre a bicalutamida e os co-formadores: *p*-benzoquinona e taurina.



Taurina

Na investigação do sistema bicalutamida:taurina foram testadas misturas de várias proporções e em diferentes condições experimentais: variação do tempo de moagem, do solvente utilizado e ainda das dimensões da vaso de moagem. As Figuras 3.46 e 3.47 e a Tabela 3.15 ilustram os resultados obtidos.

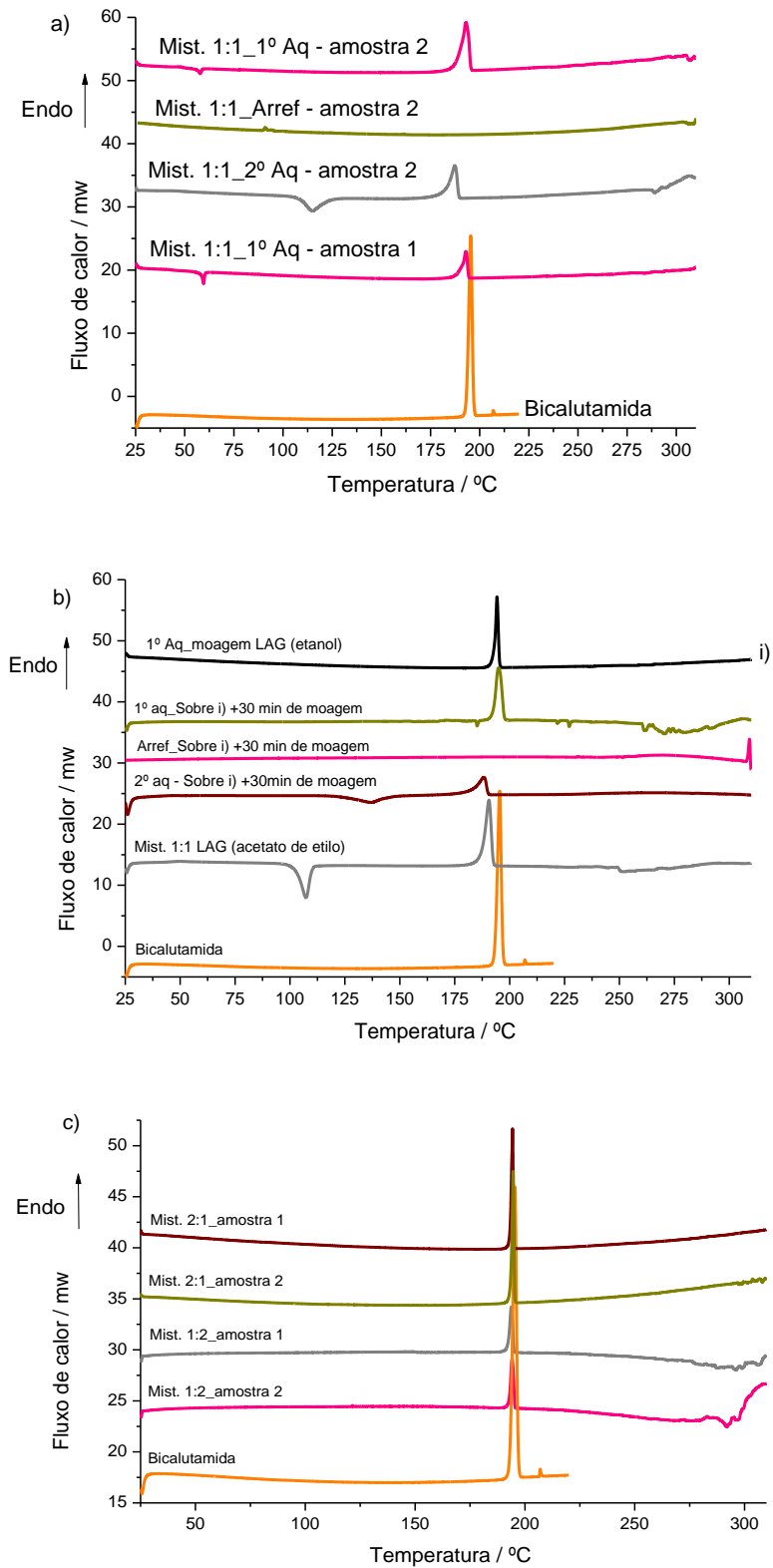


Figura 3.46: Termogramas, DSC, de misturas de bicalutamida e taurina obtidas em diferentes condições a) mistura 1:1, moagem em moinho de bolas sem adição de solvente; b) mistura 1:1, moagem em moinho de bolas com adição de solvente; c) misturas de diferentes proporções, moagem em moinho de bolas com adição de 5µL de etanol.

Resultados e Discussão

Tabela 3.15: Parâmetros termodinâmicos das curvas de DSC de misturas de bicalutamida e taurina, obtidas em diferentes condições: a) mistura 1:1, moagem em moinho de bolas sem adição de solvente; b) mistura 1:1, moagem em moinho de bolas com adição de solvente; c) misturas de diferentes proporções, moagem em moinho de bolas com adição de 5µL de etanol, e vasos de diferentes dimensões.

	1º Aquecimento				2º Aquecimento			
	Pico exotérmico		Pico endotérmico		Pico exotérmico		Pico endotérmico	
	$T_{onset} / ^\circ\text{C}$	$\Delta H / \text{J/g}$	$T_{onset} / ^\circ\text{C}$	$\Delta H / \text{J/g}$	$T_{onset} / ^\circ\text{C}$	$\Delta H / \text{J/g}$	$T_{onset} / ^\circ\text{C}$	$\Delta H / \text{J/g}$
Bicalutamida			193.5	45.1				
a) Mist. 1:1 NG**			190.6/189.9	72.8/73.7	108.8	-43.9	182.7	51.2
b) Mist.1:1 (LAG, etanol)**			193.0	87.8				
b) Mist.1:1 sobre i) +30min**			192.6	86.2	125.6	-35.5	182.5	49.6
b) Mist. 1:1 (LAG, acetato de etilo)**	102.6	-50.9	187.2	72.2				
c) Mist. 1:2 (LAG, etanol)**			192.4/192.9	70.0/75.6				
c) Mist. 2:1 (LAG, etanol)**			193.6/193.2	96.2/72.4				
Mist. 1:1 (LAG, etanol)*			192.5	89.8				
Mist. 1:1 (LAG, etanol)**			193.6	90.5				

* Vaso de 10mL; **Vaso de 1.5mL

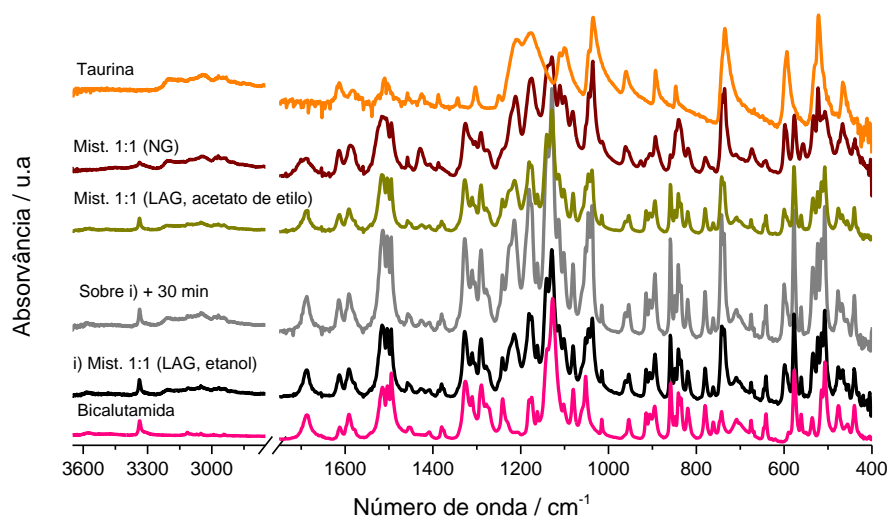


Figura 3.47: Espectros obtidos por FTIR-ATR dos compostos puros e das misturas equimolares de bicalutamida e taurina geradas por moagem em moinho de bolas com e sem adição de solvente.

Os resultados obtidos indicam, mais uma vez, que não há co-cristalização da bicalutamida com esta molécula polifuncional e flexível.

p-Benzoquinona

Analisando os dados obtidos por DSC, Figura 3.48, e por FTIR-ATR, Figura 3.49 pode concluir-se que não ocorre formação de co-cristal. Obtém-se uma mistura física que quando é arrefecida, após a fusão, dá origem a uma mistura física de bicalutamida amorfa com *p*-benzoquinona. No aquecimento subsequente ocorre cristalização numa mistura física da bicalutamida II com *p*-benzoquinona.

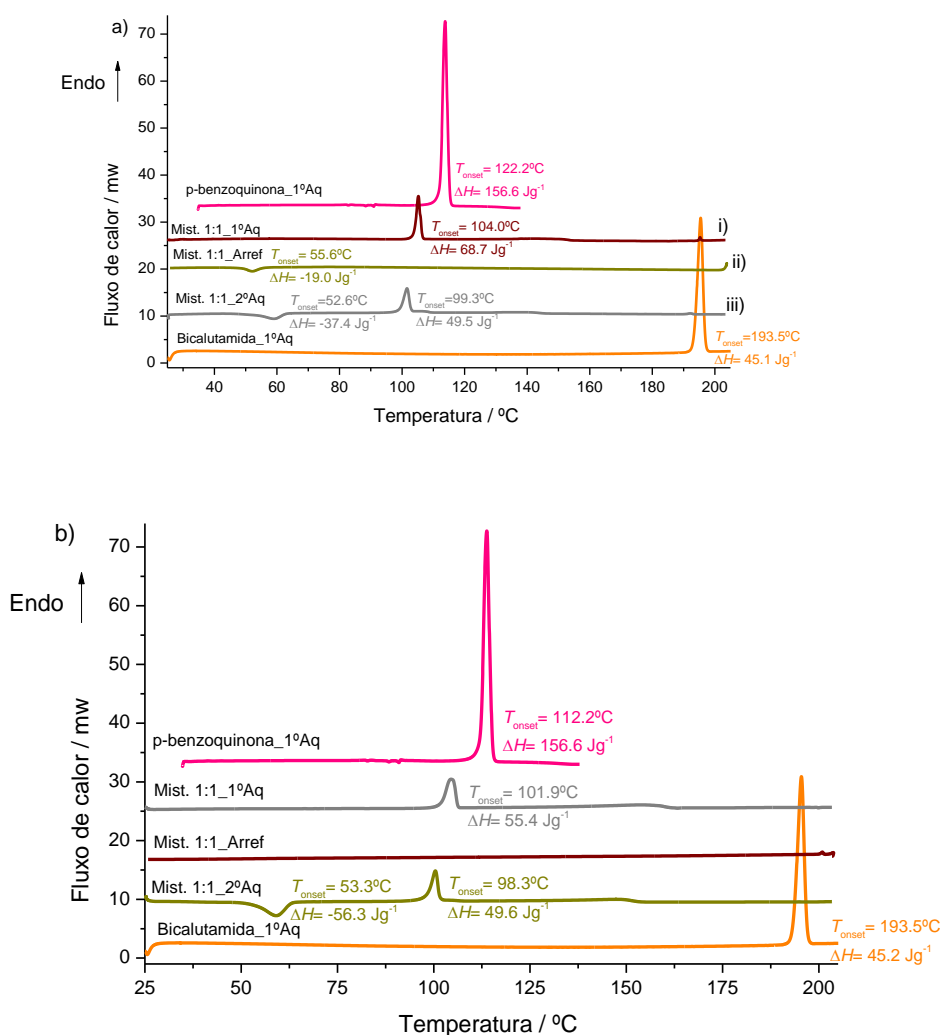


Figura 3.48: Termograma, DSC, da mistura equimolar de bicalutamida e *p*-benzoquinona obtida por moagem em moinho de bolas: a) assistida por 5µL de acetona; b) assistida por 5µL de etanol.

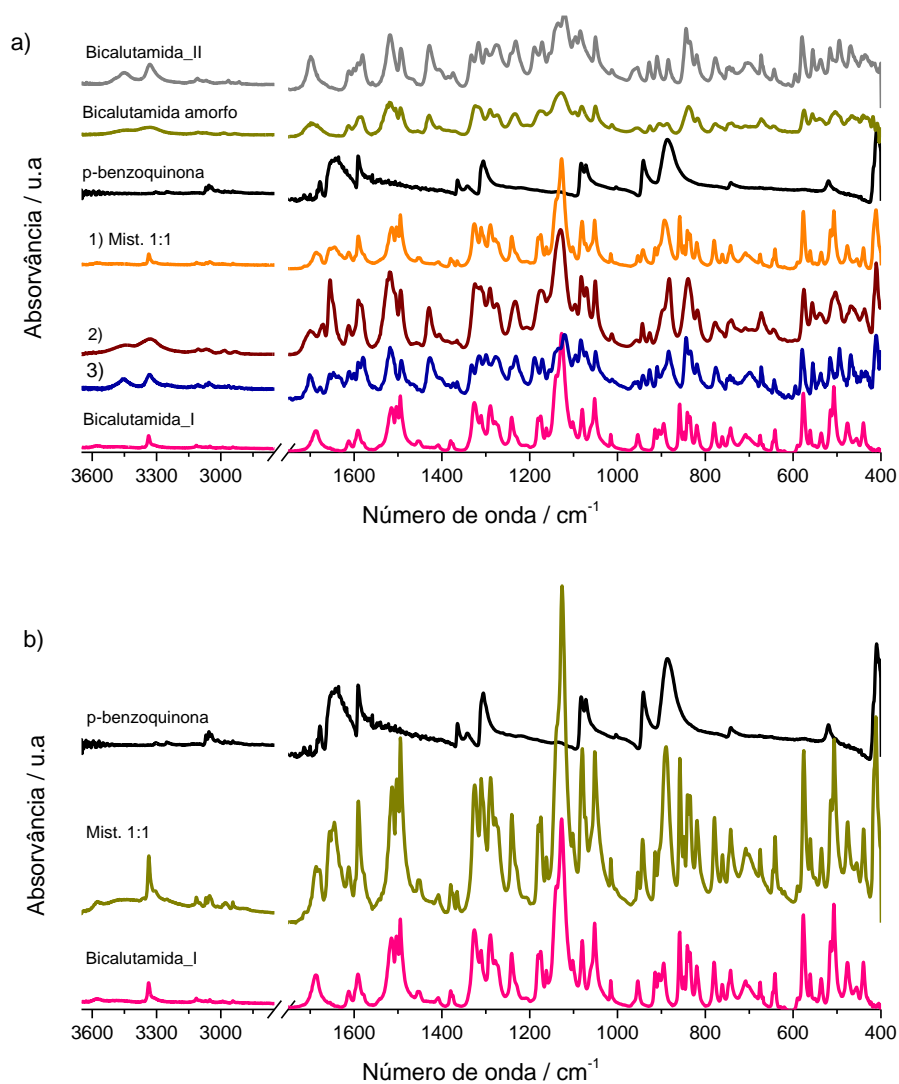


Figura 3.49: Espectros obtidos por FTIR-ATR da mistura equimolar de bicalutamida e *p*-benzoquinona obtida em moagem em moinho de bolas com a) adição de 5 μ L de acetona e após diferentes programas de DSC: 1) mistura de partida, 2) mistura 1) após o ciclo de DSC i)+ii), Figura 3.48, 3) Mistura 1) após o ciclo i)+ii)+iii); b) adição de 5 μ L de etanol.

Capítulo 4

Conclusões

Conclusões

A investigação do efeito do solvente no resultado da cristalização de bicalutamida em solução permitiu concluir que a estrutura presente em solução, quer em acetona, quer em tetra-hidrofurano, deverá favorecer a formação do polimorfo II. Como este é monotrópico relativamente à forma polimórfica I, ocorre evolução para esta última forma, uma vez que é esta que se obtém nos sólidos gerados, o que implica que a barreira cinética para a transformação será baixa.

Tendo em conta a baixa solubilidade aquosa do composto em estudo nesta dissertação, é, de facto, de elevado interesse a pesquisa de novas formas sólidas, nomeadamente co-cristais. No entanto, nem sempre esta pesquisa se torna fácil, como foi possível verificar ao longo deste trabalho, pois a complexidade e flexibilidade da molécula nem sempre permitem a obtenção dos resultados desejados.

Apesar de a engenharia de cristais ser extremamente útil na previsão de sintões moleculares, quando a molécula é extremamente complexa, como é o caso da bicalutamida, a previsão feita anteriormente à realização laboratorial, pode não ser concretizada. Isto porque, a engenharia de cristais não permite prever a competição entre sintões aquando da associação entre as moléculas.

Assim, através de uma pesquisa sistemática de formação de co-cristais pode concluir-se que a bicalutamida não é, de facto, uma molécula de fácil de associação, uma vez que apenas se conseguiu formação de co-cristal com o 1,2-bis(4-piridil) etano, um composto com grande semelhança estrutural com os co-formadores já descritos na literatura (com formação de co-cristais), diferindo apenas na rigidez molecular. Do resultado desta investigação podemos concluir que um co-formador “ideal” será aquele que possuir dois anéis piridina, uma vez que com o co-formador pirazina, com possibilidade de formação do mesmo tipo de sintões, e com a *p*-benzoquinona, que apresenta um anel aromático com duas ligações duplas contendo oxigénio, não se verificou associação com formação de co-cristal. Foram descritos recentemente, por Surov et al.^[88] dois co-cristais de bicalutamida, com os co-formadores benzamida e salicilamida, mais simples do que os investigados neste trabalho. Nestes, a associação supramolecular é feita com os sintões O-H...O e N-H...O e não entre N-H...N_{aromático} e O-H...N_{aromático}. A benzamida apresenta uma estrutura muito semelhante às carboxamidas investigadas nesta dissertação, não possuindo, no entanto, azotos no anel aromático. Tudo aponta para que a associação supramolecular com a benzamida seja possível por não existir competição de sintões.

Neste trabalho, foi identificado um co-cristal (3:2) de bicalutamida e 1,2-bis(4-piridil) etano e várias misturas físicas com potencial interesse em aplicação farmacêutica. A mais promissora é a

Conclusões

mistura nicotinamida:bicalutamida que poderá melhorar a solubilidade aquosa do ativo, um composto que pertence a classe II sistema de classificação biofarmacêutico.

Referências

Referências

- [1] R. Hilfiker, *Polymorphism in the Pharmaceutical Industry*, Germany: Wiley-VCH, 2006.
- [2] S. Morissette, Ö. Almarsson, M. L. Peterson and et al., "High-throughput crystallization: polymorphs, salts, co-crystals and solvates of pharmaceutical solids," *Advanced Drug Delivery Reviews*, vol. 56, pp. 275-300, 2004.
- [3] P. G. Sthaly, "Diversity in Single- and Multiple-Component Crystals. The Search for and Prevalence of Polymorphs and Cocrystals," *Crystal Growth & Design*, vol. 7, pp. 1007-1026, 2007.
- [4] B. Rodríguez-Spong, C. P. Price, A. Jayasankar e et al., "General principles of pharmaceutical solid polymorphism: a supramolecular perspective," *Advanced Drug Delivery Reviews*, vol. 56, pp. 241-274, 2004.
- [5] A. W. Newman e S. R. Bryrn, "Solid-State analysis of the active pharmaceutical ingredient in drug products," *Drug Discovery Today*, vol. 8, pp. 898-905, 2003.
- [6] P. Vishweshwar, J. A. McMahon, J. A. Bis and et al., "Pharmaceutical Co-Crystals," *Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 95, pp. 499-516, 2006.
- [7] T. Vasconcelos, B. Sarmaneto e P. Costa, "Solid dispersions as strategy to improve oral bioavailability of poor water soluble drugs," *Drug Discovery Today*, vol. 12, pp. 1068-1075, 2007.
- [8] R. Censi e P. D. Martino, "Polymorph Impact on the Bioavailability and Stability of Poorly Soluble Drugs," *Molecules*, vol. 20, pp. 18759-18776, 2015.
- [9] "USP 35-NF 30," em *Description and Solubility Table*, United States Pharmacopeial Convention, Inc., 2012.
- [10] G. L. Perlovich e A. N. Manin, "Design of Pharmaceutical Cocrystals for Drug Solubility Improvement," *Russian Journal of General Chemistry*, vol. 84, pp. 407-414, 2014.
- [11] N. J. Babu e A. Nangia, "Solubility Advantage of Amorphous Drugs and Pharmaceutical Cocrystals," *Crystal Growth & Design*, vol. 11, pp. 2662-2679, 2011.
- [12] D. P. Elder, R. Holm e L. D. Heidi, "Use of pharmaceutical salts and cocrystals to address the issue of poor solubility," *International Journal of Pharmaceutics*, vol. 453, pp. 88-100, 2013.
- [13] D. Sharma, M. Soni, S. Kumar e et al., "Solubility Enhancement-Eminent Role in Poorly Soluble Drugs," *Research Journal of Pharmacy and Technology*, vol. 2, pp. 220-224, 2009.

- [14] S. Cherukuvada e A. Nangia, "Eutectics as improved pharmaceutical materials: design, properties and characterization," *Chemical Communications*, vol. 50, pp. 906-923, 2014.
- [15] N. K. Duggirala, M. L. Perry, Ö. Almarsson e et al., "Pharmaceutical cocrystals: along the path to improved medicines," *Chemical Communications*, vol. 52, pp. 640-655, 2016.
- [16] N. Shan e M. J. Zaworotko, "The role of cocrystals in pharmaceutical science," *Drug Discovery Today*, vol. 13, pp. 440-446, 2008.
- [17] N. Schultheiss e A. Newman, "Pharmaceutical Cocrystals and Their Physicochemical Properties," *Crystal Growth & Design*, vol. 9, pp. 2950-2967, 2009.
- [18] A. V. Trask, "An Overview of Pharmaceutical Cocrystals as Intellectual Property," *Molecular Pharmaceutics*, vol. 4, pp. 301-309, 2007.
- [19] P. Atkins e J. Paula, *Físico-Química*, Oitava ed., Rio de Janeiro: LTC, 2008.
- [20] R. Davey e J. Garside, *From Molecules to Crystallizers An Introduction to Crystallization*, United States: Oxford University Press, 2006.
- [21] I. Gana, R. Céolin e I. B. Rietveld, "Bicalutamide polymorphs I and II," *Journal Thermal Analysis and Calorimetry*, vol. 112, pp. 223-228, 2013.
- [22] J. Halebian e W. McCrone, "Pharmaceutical Applications of Polymorphism," *Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 58, pp. 911-929, 1969.
- [23] B. Sarma, J. Chen, H. Hsi e et al., "Solid forms of pharmaceuticals: Polymorphs, salts and cocrystals," *Korean Journal of Chemical Engineering*, vol. 28, pp. 315-322, 2011.
- [24] S. R. Vippagunta, H. G. Brittain e D. J. W. Grant, "Crystalline solids," *Advanced Drug Delivery Reviews*, vol. 48, pp. 3-26, 2001.
- [25] A. Nangia, "Conformational Polymorphism in Organic Crystals," *Accounts of Chemical Research*, vol. 41, pp. 595-604, 2008.
- [26] A. Dey e G. R. Desiraju, "Dimorphs of 4'-amino-4-hydroxy-2'-methylbiphenyl: Assessment of likelihood of polymorphism in flexible molecules," *CrystEngComm*, vol. 8, pp. 477-481, 2006.
- [27] S. Ahn, F. Guo, B. M. Kariuki e et al., "Abundant Polymorphism in a System with Multiple Hydrogen-Bonding Opportunities: Oxalyl Dihydrazide," *Journal of the American Chemical Society*, vol. 128, pp. 8441-8452, 2006.
- [28] S. M. Reutzel-Edens, A. J. Cruz-Cabeza e J. Bernstein, "Facts and fictions about polymorphism," *Chemical Society Reviews*, vol. 44, pp. 8619-8635, 2015.

-
- [29] A. M. R. Gonsalves, M. E. S. Serra e M. Eusébio, *Estereoquímica*, Coimbra: Imprensa da Universidade de Coimbra, 2011.
- [30] D. Mangin, F. Puel e S. Veessler, "Polymorphism in Processes of Crystallization in Solution: A Practical Review," *Organic Process Research & Development*, vol. 13, pp. 1241-1253, 2009.
- [31] S. J. Formosinho e L. G. Arnaut, *Cinética Química: Estrutura molecular e reatividade química*, Coimbra: Imprensa da Universidade de Coimbra, 2003.
- [32] J. Aaltonen, M. Alleso, S. Mirza e et al., "Solid form screening - A review," *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, vol. 71, pp. 23-37, 2009.
- [33] R. J. Davey, S. L. M. Schroeder e J. H. Horst, "Nucleation of Organic Crystals - A Molecular Perspective," *Angewandte Chemie International Edition*, vol. 52, pp. 2-16, 2013.
- [34] D. Guranda e G. Gil'deeva, "Drug Synthesis Methods and Manufacturing Technology," *Pharmaceutical Chemistry Journal*, vol. 44, pp. 254-260, 2010.
- [35] A. Y. Lee, D. Erdemir e A. S. Myerson, "Crystal Polymorphism in Chemical Process Development," *Annual Review of Chemical and Biomolecular Engineering*, vol. 2, pp. 259-280, 2011.
- [36] M. Svärd e A. C. Rasmuson, "m-Hydroxybenzoic Acid: Quantifying Thermodynamic Stability and Influence of Solvent on the Nucleation of a Polymorphic System," *Crystal Growth & Design*, vol. 13, pp. 1140-1152, 2013.
- [37] Faculdade de Engenharia Mecânica, "Capítulo 9: Diagrama de Fases," [Online]. Available: www.fem.unicamp.br/~caram/capitulo9.pdf.
- [38] Y. Wang e A. M. Chen, "Enantioenrichment by Crystallization," *Organic Process Research & Development*, vol. 12, pp. 282-290, 2008.
- [39] M. Cao, A. P. Malanoski, J. W. Schroer e et al., "Solid-fluid equilibrium for organic molecules: understanding the link between molecular structure and phase diagrams," *Fluid Phase Equilibria*, Vol. 228-229, pp. 75-82, 2005.
- [40] X. Dogra, A. Dhyani e D. Juyal, "Solid Dispersion: A review," *International Journal of Pharmaceutial Sciences Letters*, vol. 5, pp. 593-598, 2015.
- [41] R. N. Rai, R. S. B. Reddi e U. S. Rai, "Developments and future directions of phase diagram, physicochemical and optical studies of binary organic complexes," *Progress in Crystal Growth and Characterization of Materials*, vol. 59, pp. 73-111, 2013.
- [42] A. R. West, *Solid State Chemistry and its Applications*, Singapore: 2ª edição, Wiley, 2014.
-

- [43] M. A. White e R. T. Perry, "Melting Behavior in Binary Compounds: Inclusion Compounds as Examples of Congruent vs Incongruent Melting," *Chemistry Materials*, vol. 6, pp. 603-610, 1994.
- [44] H. Yamashita, Y. Hirakura, M. Yuda e et al., "Detection of Cocrystal Formation Based on Binary Phase Diagrams Using Thermal Analysis," *Pharmaceutical Research*, vol. 30, pp. 70-80, 2013.
- [45] L. Rycerz, "Practical remarks concerning phase diagrams determination on the basis of differential scanning calorimetry measurements," *J Therm Anal Calorim*, vol. 113, pp. 231-238, 2013.
- [46] S. Aitipamula, P. S. Chow e R. B. H. Tan, "Polymorphism in cocrystals: a review and assessment of its significance," *CrystEngComm*, vol. 16, pp. 3451-3465, 2014.
- [47] S. Aitipamula, R. Banerjee, A. K. Bansal e et al., "Polymorphs, Salts, and Cocrystals: What's in a Name?," *Crystal Growth & Design*, vol. 12, pp. 2147-2152, 2012.
- [48] E. I. Korotkova e B. Kratochvíl, "Pharmaceutical Cocrystals," *Procedia Chemistry*, vol. 10, pp. 473-476, 2014.
- [49] E. Grothe, H. Meekes, E. Vlieg e et al., "Solvates, Salts, and Cocrystals: A Proposal for a Feasible Classification System," *Crystal Growth & Design*, pp. A-G, 2016.
- [50] J. W. Steed, "The role of co-crystals in pharmaceutical design," *Trends in Pharmacological Sciences*, vol. 34, pp. 185-193, 2013.
- [51] T. Friscic e W. Jones, "Recent Advances in Understanding the Mechanism of Cocrystal Formation via Grinding," *Crystal Growth & Design*, vol. 9, pp. 1621-1637, 2009.
- [52] R. Pepinsky, "Crystal engineering - A new concept in crystallography," *Physical Review*, Vol. 100, pp. 971-971, 1995.
- [53] G. M. J. Schmidt, "Photodimerization in the solid state," *Pure and Applied Chemistry*, vol. 27, pp. 647-678, 1971.
- [54] G. Desiraju, *Crystal Engineering: The design of organic solids*, Amsterdam: Elsevier, 1989.
- [55] J. E. Macor, *Annual Reports in Medicinal Chemistry*, vol. 43, Usa: Academic Press, 2008.
- [56] R. Thakuria, A. Delori, W. Jones e et al., "Pharmaceutical cocrystals and poorly soluble drugs," *International Journal of Pharmaceutics*, vol. 453, pp. 101-125, 2013.
- [57] C. B. Aakeröy e D. J. Salmon, "Building co-crystals with molecular sense and supramolecular sensibility," *CrystEngComm*, vol. 7, pp. 439-448, 2005.

-
- [58] Z. Német, J. Sztatisz e A. Demeter, "Polymorph Transitions of Bicalutamide: A Remarkable Example of Mechanical Activation," *Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 97, pp. 3222-3232, 2008.
- [59] M. B. Ferraro, A. M. Orendt e J. C. Facelli, "Parallel Genetic Algorithms for Crystal Structure Prediction: Successes and Failures in Predicting Bicalutamide Polymorphs," pp. 120-129, 2009.
- [60] D. K. Dhaked, K. Jain, Y. Kasetti e et al., "Conformational polymorphism in bicalutamide: a quantum chemical study," *Structural Chemistry*, vol. 23, pp. 1857-1866, 2012.
- [61] D. R. Vega, G. Polla, A. Martinez e et al., "Conformational polymorphism in bicalutamide," *International Journal of Pharmaceutics*, vol. 328, pp. 112-118, 2007.
- [62] G. L. Perlovich, S. V. Blokhina, N. G. Manin e et al., "Polymorphism and solvatomorphism of bicalutamide - Thermophysical study and solubility," *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, vol. 111, pp. 655-662, 2013.
- [63] T. Shintaku, O. Osaka, T. Katsura and et al., "Crystal of bicalutamide and production method thereof". United States Patent US 2003/0191337 A1, 9 Oct. 2003.
- [64] H. Westheim and R. Jozef, "Bicalutamide forms". Patent WO2004029021 A1, 8 Abr. 2004.
- [65] X. H. Hu e J. M. Gu, "N-[4-Cyano-3-(trifluoromethyl)phenyl]-3-(4-fluorophenylsulfonyl)-2-hydroxy-2-methylpropionamide," *Acta Crystallographica*, vol. 61, pp. 3897-3898, 2005.
- [66] G. R. Desiraju e T. Steiner, *The Weak Hydrogen Bond In Structural Chemistry and Biology*, United States: Oxford University Press, 2001.
- [67] J. A. Bis, P. Vishweshwar, D. Weyna e et al., "Hierarchy of Supramolecular Synthons: Persistent Hydroxyl...Pyridine Hydrogen Bonds in Cocrystals That Contain a Cyano Acceptor," *Molecular Pharmaceutics*, vol. 4, pp. 401-416, 2007.
- [68] J. A. Bis, *Crystal engineering of organic compounds - Graduate Theses and Dissertations*, University of South Florida, 2006.
- [69] F. Ren, Q. Jing, Y. Tang e et al., "Characteristics of Bicalutamide Solid Dispersions and Improvement of the Dissolution," *Drug Development and Industrial Pharmacy*, vol. 32, pp. 967-972, 2006.
- [70] D. Mealey, D. M. Crocker e A. C. Rasmuson, "Crystal nucleation of salicylic acid in organic solvents," *CrystEngComm*, vol. 17, pp. 3961-3973, 2015.
-

- [71] N. Shan, F. Toda e W. Jones, "Mechanochemistry and co-crystal formation: effect of solvent on reaction kinetics," *Chemical Communications*, vol. 20, pp. 2372-2373, 2002.
- [72] W. Jones, W. D. S. Motherwell e A. V. Trask, "Pharmaceutical Cocrytals: An Emerging Approach to Physical Property Enhancement," *Materials Research Society Bulletin*, vol. 31, pp. 875-879, 2006.
- [73] S. Karki, T. Friscic e W. Jones, "Control and interconversion of cocrystal stoichiometry in grinding: stepwise mechanism for the formation of a hydrogen-bonded cocrystal," *CrystEngComm*, vol. 11, pp. 470-481, 2009.
- [74] D. R. Weyna, T. Shattock, P. Vishweshwar e et al., "Synthesis and Structural Characterization of Cocrytals and Pharmaceutical Cocrytals: Mechanochemistry vs Slow Evaporation from Solution," *Crystal Growth & Design*, vol. 9, pp. 1106-1123, 2009.
- [75] D. Giron, "Applications of Thermal Analysis and Coupled Techniques in Pharmaceutical Industry," *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, vol. 68, pp. 335-357, 2002.
- [76] S. C. Mojumdar, M. Sain, R. C. Prasad e et al., "Selected Thermoanalytical Methods and Their Applications from Medicine to Construction," *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, vol. 90, pp. 653-662, 2007.
- [77] D. Giron, "Contribution of thermal methods and related techniques to the rational development of pharmaceuticals-Part 1," *Pharmaceutical Science & Technology Today*, vol. 1, pp. 191-199, 1998.
- [78] S.-D. Clas, C. R. Dalton e B. C. Hancock, "Differential scanning calorimetry: applications in drug development," *Pharmaceutical Science & Technology Today*, vol. 2, pp. 311-320, 1999.
- [79] N. Chieng, T. Rades e J. Aaltonen, "An overview of recent studies on the analysis of pharmaceutical polymorphs," *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, vol. 55, pp. 618-644, 2011.
- [80] E. L. Charsley, C. Stewart, P. A. Barnes e et al., "Development and Applications of Sample Controlled Thermomicroscopy," *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, vol. 72, pp. 1087-1090, 2003.
- [81] A. A. Bunaciu, H. Y. Aboul-Enein e S. Fleschin, "Applications of Fourier Transform Infrared Spectrophotometry in Pharmaceutcial Drugs Analysis," *Applied Spectroscopy Reviews*, vol. 45, pp. 206-219, 2010.

-
- [82] R. Ramberger e A. Burger, "On the polymorphism of pharmaceuticals and other molecular crystals. I," *Mikrochimica Acta*, vol. 2, pp. 259-271, 1979.
- [83] A. L. Rodrigues, "Investigação de Formas Sólidas do Anti-neoplásico Bicalutamida," Universidade de Coimbra, Coimbra, 2015.
- [84] Y. Marcus, *The Properties of Solvents*, England: John Wiley & Sons, 1998.
- [85] Infarmed. [Online]. Available: <http://www.infarmed.pt/portal/page/portal/INFARMED>. [Acedido em 25 Julho 2016].
- [86] R. A. E. Castro, T. M. R. Maria, A. O. L. Évora e et al., "A New Insight into Pyrazinamide Polymorphic Forms and their Thermodynamic Relationships," *Crystal Growth & Design*, vol. 10, pp. 274-282, 2010.
- [87] S. Ide, N. Karacan e Y. Tufan, "Crystal Structure Communications," *Acta Crystallographica, Section C*, vol. 51, p. 2304, 1995.
- [88] A. O. Surov, K. A. Solanko, A. D. Bond e et al., "Cocrystals of the antiandrogenic drug bicalutamide: screening, crystal structures, formation thermodynamics and lattice energies," *CrystEngComm*, vol. 18, pp. 4818-4829, 2016.
- [89] "PubChem: Open Chemistry Data base," [Online]. Available: https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/oxalic_acid#section=Top. [Acedido em 13 Fevereiro 2016].
- [90] I. Nobeli e S. L. Price, "A Non-Empirical Intermolecular Potential for Oxalic Acid Crystal Structures," *The Journal of Physical Chemistry A*, vol. 103, pp. 6448-6457, 1999.
- [91] J. L. Torgesen e J. Strassburger, "Growth of Oxalic Acid Single Crystals from Solution: Solvent Effects on Crystal Habit," *Science*, vol. 146, pp. 53-55, 1964.
- [92] "PubChem: Open Chemistry Data Base," [Online]. Available: https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/fumaric_acid#section=Top. [Acedido em 13 Fevereiro 2016].
- [93] "The Free Dictionary," [Online]. Available: <http://www.thefreedictionary.com/Oxamide>. [Acedido em 13 Fevereiro 2016].
- [94] T. Yan, S. Li, K. Wang e et al., "Pressure-Induced Phase Transition in N-H...O Hydrogen-Bonded Molecular Crystal Oxamide," *The Journal of Physical Chemistry B*, vol. 116, pp. 9796-9802, 2012.
-

- [95] M. Kumar, S. Jaiswal, R. Singh e et al., "Ab initio studies of molecular structures, cofomers and vibrational spectra of heterocyclic organics: I. Nicotinamide and its N-oxide," *Spectrochimica Acta Part A*, vol. 75, pp. 281-292, 2010.
- [96] T. Hino, J. L. Ford e M. W. Powell, "Assessment of nicotinamide polymorphs by differential scanning calorimetry," *Thermochimica Acta*, vol. 374, pp. 85-92, 2001.
- [97] J. Li, S. A. Bourne e M. R. Caira, "New polymorphs of isonicotinamide and nicotinamide," *Chemical Communications*, vol. 47, pp. 1530-1532, 2011.
- [98] K. Eccles, R. Deasy, L. Fábíán e et al., "Expanding the crystal landscape of isonicotinamide: concomitant polymorphism and co-crystallisation," *CrystEngComm*, vol. 13, pp. 6923-6925, 2011.
- [99] A. Caridi, S. Kulkarni e G. Profio, "Template-Induced Nucleation of Isonicotinamide Polymorphs," *Crystal Growth & Design*, vol. 14, pp. 1135-1141, 2014.
- [100] X. Tan, K. Wang, S. Li e et al., "Exploration of the Pyrazinamide Polymorphism at High Pressure," *The Journal of Physical Chemistry B*, vol. 116, pp. 14441-14450, 2012.
- [101] M. Zimic, P. Fuentes, R. H. Gilman e et al., "Pyrazinoic acid efflux rate in Mycobacterium tuberculosis is a better proxy of pyrazinamide resistance," *Tuberculosis*, vol. 92, pp. 84-91, 2012.
- [102] T. Takag, C. Ramachandran, M. Bermejo e et al., "A Provisional Biopharmaceutical Classification of the Top 200 Oral Drug Products in the United States, Great Britain, Spain, and Japan," *Molecular Pharmaceutics*, vol. 3, pp. 631-643, 2006.
- [103] J. Feiteira, Estudo sobre Polimorfismo de Compostos Orgânicos: Ibuprofeno e Carboxamidas, Dissertação de Mestrado, Universidade de Coimbra, 2010.
- [104] J. P. Smit e E. J. Hagen, "Polymorphism in Caffeine Citric Acid Cocrystals," *Journal of Chemical Crystallography*, vol. 45, pp. 128-133, 2015.
- [105] G. W. M. Á. C. E. e. a. Brun, "Crystallization of Caffeine by Supercritical Antisolvent (SAS) Process: Analysis of Process Parameters and Control of Polymorphism," *Crystal Growth & Design*, vol. 12, pp. 1943-1951, 2012.
- [106] E. Dichi, B. Legendre e M. Sghaier, "Physico-chemical characterisation of a new polymorph of caffeine," *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, vol. 115, pp. 1551-1561, 2014.

-
- [107] N. Madusanka, M. D. Eddleston, M. Arhangelskis e et al., "Polymorphs, hydrates and solvates of a co-crystal of caffeine with anthranilic acid," *Acta Crystallographica Section B*, vol. B70, pp. 72-80, 2018.
- [108] A. Hédoux, A. Decroix, Y. Guinet e et al., "Low- and High-Frequency Raman Investigations on Caffeine: Polymorphism, Disorder and Phase Transformation," *The Journal of Physical Chemistry B*, vol. 115, pp. 5746-5753, 2011.
- [109] M. Descamps e A. A. Decroix, "Polymorphism and disorder in caffeine: Dielectric investigation of molecular mobilities," *Journal of Molecular Structure*, vol. 1078, pp. 165-173, 2014.
- [110] E. Suihko, V. Lehto, J. Ketolainen e et al., "Dynamic solid-state and tableting properties of four theophylline forms," *International Journal of Pharmaceutics*, vol. 217, pp. 225-236, 2001.
- [111] P. Szterner, B. Legendre e M. Sghaier, "Thermodynamic properties of polymorphic forms of theophylline. Part I: DSC, TG, X-ray study," *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, vol. 99, pp. 325-335, 2010.
- [112] L. Seton, D. Khamar, I. J. Bradshaw e et al., "Solid State Forms of Theophylline: Presenting a New Anhydrous Polymorph," *Crystal Growth & Design*, vol. 10, pp. 3879-3886, 2010.
- [113] M. D. Eddleston, K. E. Hejczyk, E. G. Bithell e et al., "Determination of the Crystal Structure of a New Polymorph of Theophylline," *Chemistry- A European Journal*, vol. 19, pp. 7883-7888, 2013.
- [114] "PubChem: Open Chemistry Data Base," [Online]. Available: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/guanine#section=Top>. [Acedido em 13 Fevereiro 2016].
- [115] A. Hirsch, D. Gur, I. Polishchuck e et al., "'Guanigma': The Revised Structure of Biogenic Anhydrous Guanine," *Chemistry of Materials*, vol. 27, pp. 8289-8297, 2015.
- [116] "Chapter 1: Syntheses and Reactions of Pyrazine and Quinoxaline," [Online]. Available: studentsrepo.um.edu.my/1991/2/CH_1.pdf.
- [117] S. F. Lush e F. M. Shen, "Supramolecular Architecture of a 1:1 Complex of 5-Aminoisophthalic Acid With 1,2Bis(4pyridyl)ethane," *Journal of Structural Chemistry*, vol. 55, pp. 1527-1532, 2014.
-

- [118] I. K. Song e Y. K. Kang, "Conformational preferences of taurine in the gas phase and in water," *Computational and Theoretical Chemistry*, vol. 1025, pp. 8-15, 2013.
- [119] R. Lin, M. W. Woo, S. Selomulya e et al., "Controlling the Size of Taurine Crystals in the Cooling Crystallization Process," *Industrial & Engineering Chemistry Research*, vol. 52, pp. 13449-13458, 2013.
- [120] E. Y. Bulychev e N. Y. Rubanyak, "Commercial Synthesis of 2-Aminoethanesulfonic Acid (Taurine)," *Pharmaceutical Chemistry Journal*, vol. 46, pp. 740-741, 2013.
- [121] J. Marcinkiewicz e E. Kontny, "Taurine and inflammatory diseases," *Amino Acids*, vol. 46, pp. 7-20, 2014.
- [122] A. Suwanich, J. M. Wyss e S. Roysommuti, "Taurine supplementation in spontaneously hypertensive rats: Advantages and limitations for human applications," *World Journal of Cardiology*, vol. 5, pp. 404-409, 2013.
- [123] N. Xingang, "New 2-aminoethanesulfonic acid crystal forms I and II, which are extremely suitable for being prepared into pharmaceutical dosage form (Chn)". Patent 2012-10143256 (2012 CN-10143256), 10 05 2012.
- [124] PubChem, "PubChem Open Chemistry Data Base," [Online]. Available: <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/4650#section=Top>. [Acedido em 29 Junho 2016].

Apêndices

Apêndice 1

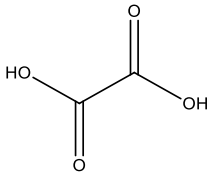
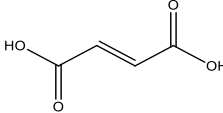
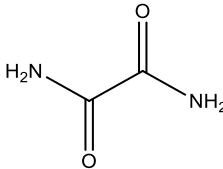
Na preparação das amostras através da cristalização dissolveram-se cerca de 21.52mg de bicalutamida em cada um dos solventes escolhidos, de acordo com a tabela A-1. Para facilitar a solubilização, as amostras foram submetidas a ultra-sons, à temperatura de 25-30°C. Posteriormente filtrou-se a solução para uma caixa de Petri.

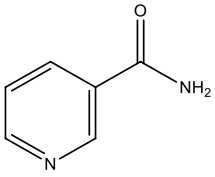
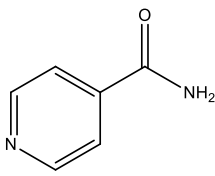
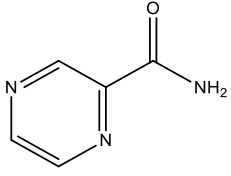
Tabela A.1: Condições usadas na preparação das amostras por cristalização e solvente no relatório “Investigação de Formas Sólidas do Anti-neoplásico Bicalutamida”.^[83]

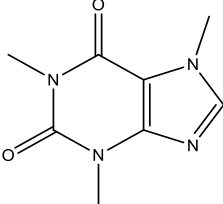
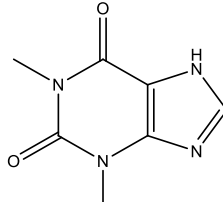
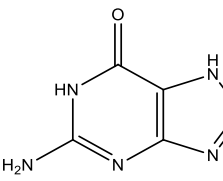
Solvente	Volume / ml
Metanol	4
Etanol	4
Clorofórmio	8
Diclorometano	4
Acetona	4
Tetra-hidrofurano	4
Acetato de etilo	4
Dioxano	4
Tetracloroeto de carbono+acetona	8+2
Água+etanol	0.5+4

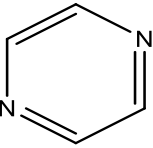
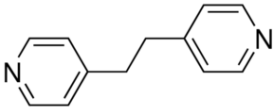
Apêndice 2

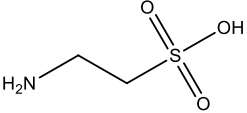
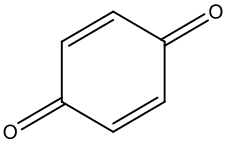
Dados sobre os co-formadores utilizados: aplicações e estado sólido

<p>Ácido oxálico</p>  <chem>O=C(O)C(=O)O</chem>	<p>Descrição: É um ácido dicarboxílico que ocorre em muitas plantas e vegetais, sendo produzido também no organismo pelo metabolismo do ácido glioxílico ou do ácido ascórbico. Não é metabolizado mas é excretado na urina. É utilizado como reagente analítico e agente de redução geral. ^[89]</p> <p>Estado sólido: Possui duas formas polimórficas conhecidas, fase α, com arranjo na célula unitária ortorrômbico e fase II, fase β, com arranjo na célula unitária monoclinico. ^[90, 91]</p>
<p>Ácido fumárico</p>  <chem>O=C(O)/C=C/C(=O)O</chem>	<p>Descrição: É usado para fazer tintas e plásticos, no processamento de alimentos e preservação. O principal risco é como ameaça para o meio ambiente, pelo que devem ser tomadas medidas imediatas para limitar a disseminação para o mesmo. ^[92]</p>
<p>Oxamida</p>  <chem>NC(=O)C(=O)N</chem>	<p>Descrição: É uma diamida derivada do ácido oxálico que se obtém por tratamento do oxalato de etilo com a amónia. ^[93]</p> <p>Estado sólido: São descritas duas formas polimórficas do composto, a forma estável à temperatura ambiente apresenta um arranjo triclinico, sendo possível obter também uma estrutura ortorrômbica que é metaestável e se pode converter espontaneamente na forma triclinica. ^[94]</p>

<p>Nicotinamida</p> 	<p>Descrição: É a forma mais comum da vitamina B3 (niacina) tendo atividade anti-pelagra, isto é atua no sentido de não causar deficiência nutricional causada pela falta de vitamina B3. Também exibe atividades antioxidantes, anti-inflamatórios e anti-cancerígenos. É essencial para muitos aspetos da saúde, incluindo energia metabolismo, crescimento e desenvolvimento, síntese de hormonas e pele saudável, genética, trato digestivo, células do sangue, cérebro e sistema nervoso. No entanto, em doses elevadas pode ser tóxico para algumas pessoas com diabetes, asma, doenças do fígado e úlceras. ^[95]</p> <p>Estado sólido: Na literatura estão descritas cinco formas polimórficas do composto. As formas I, II, III e IV com temperaturas de fusão 126-128°C, 112-117°C, 107-111°C e 101-103°C, respetivamente, sendo a forma I termodinamicamente estável. ^[96]</p> <p>A quinta forma polimórfica foi designada por Nic2, sendo obtida numa tentativa de co-cristalização da nicotinamida com um ativo farmacêutico anti-tuberculose. ^[97]</p>
<p>Isonicotinamida</p> 	<p>Descrição: É um composto muito utilizado em estudos de co-cristalização. Também já foi realizado um estudo em relação ao seu poder anti-inflamatório e na doença Huntington's. ^[98]</p> <p>Estado sólido: Na literatura estão descritas cinco formas polimórficas, sendo as formas I, III, IV e V metaestáveis e a forma II estável à temperatura ambiente. ^[99]</p>
<p>Pirazinamida</p> 	<p>Descrição: É um dos medicamentos essenciais na lista da OMS usado no tratamento tuberculose, uma vez que tem efeito bactericida sobre o <i>Mycobacterium tuberculosis</i>. É um derivado da pirazina que pertence à família das carboxamidas. De acordo com a classificação biofarmacêutica pertence à classe III. ^[100, 101, 102]</p> <p>Estado sólido: É um exemplo raro de uma molécula conformacionalmente rígida com 4 formas polimórficas, nomeadamente α, β, γ, e δ, bem como um possível quinto polimorfo, α', semelhante a α. ^[100, 86] O polimorfo que se obtém comercialmente é a forma α, sendo que, quando se submete a aquecimento, apresenta uma transição sólido-sólido a cerca de 146°C, para a forma γ e a cerca de 188°C ocorre a fusão desta mesma forma. Relativamente à estabilidade relativa entre cada um dos polimorfos, o polimorfo δ é a forma sólida termodinamicamente estável à temperatura ambiente, e o polimorfo γ é a forma cristalina mais estável acima de 145°C. ^[103]</p>

<p>Cafeína</p> 	<p>Descrição: É uma xantina alcaloide de interesse para a indústria agro-alimentar e farmacêutica devido ao seu poder de estimular a sistema nervoso central, pelo que está presente em muitos fármacos, bebidas e plantas, sendo usado como aditivo alimentar seguro. Enquanto que em pequenas doses a ação estimulante é eficaz, quando usado em excesso pode ser prejudicial para a saúde. Deste modo, é usada em pequenas doses em analgésicos e remédios frios e consumido no café, chá e uma variedade de refrigerantes. ^[104, 105, 106]</p> <p>Estado sólido: Na literatura estão descritas três formas polimórficas do composto, um hidrato e numerosos sais, co-cristais e solvatos. A forma polimórfica II ou β é aquela que se obtém comercialmente, sendo a mais estável até cerca de 238°C, onde ocorre a sua fusão. ^[107, 105, 108, 109] A forma III deste composto foi descrita recentemente, sendo obtida por um processo de sublimação a baixa pressão, sem o uso de subprodutos tóxicos e solventes. ^[106]</p>
<p>Teofilina</p> 	<p>Descrição: É uma dimetilxantina com propriedades vasodilatadoras e relaxantes musculares, pelo que é utilizado como broncodilatador no tratamento da asma, em doenças crónicas obstrutivas das vias aéreas e em doenças pulmonares obstrutivas crónicas. ^[110, 111, 112]</p> <p>Estado sólido: Estão descritas seis formas polimórficas do composto. A forma V foi obtida por cristalização a partir de CO₂ supercrítico e também por cristalização a partir de metanol. A forma VI foi descoberta, quando se fazia uma análise por microscopia eletrónica de transmissão e que os cristais não pertenciam a nenhuma das estruturas descritas anteriormente. ^[113]</p>
<p>Guanina</p> 	<p>Descrição: É uma base de purina nitrogenada que é um constituinte de nucleótidos que ocorre em ácidos nucleicos, nomeadamente o DNA. ^[114]</p> <p>Estado sólido: Estão descritas três formas polimórficas, duas delas forma α monoclinica e a forma β também monoclinica obtidas experimentalmente, enquanto a forma γ ortorrômbica, apenas foi prevista teoricamente. ^[115]</p>

<p>Pirazina</p> 	<p>Descrição: É um composto aromático heterocíclico encontrado em muitos produtos naturais, sendo usado como ingrediente aromático em componentes de sabor de ervilhas, café, pimentas e vinhos. Também têm mostrado muito interesse anticancerígeno, bem como atividades anti-tuberculose. ^[116]</p>
<p>1,2-bis(4-piridil) etano</p> 	<p>Descrição: É um componente útil na construção de arquiteturas supramoleculares através da protonação no azoto da piridina que envolve o sintão $N^+-H \cdots O^-$ e através da formação de co-cristal por ligações de hidrogénio $N \cdots H-O$. Cada um dos átomos de azoto atua como um aceitador em ligação de hidrogénio, formando associações lineares. Para além de ligações de hidrogénio podem ocorrer interações não covalentes fracas, tais como empacotamento $\pi - \pi$ e interações $C-H \cdots \pi$. ^[117]</p>

<p>Taurina</p> 	<p>Descrição: Foi descoberta em 1827 por Leopold Gmelin como o principal componente da bílis bovina, de onde recebeu seu nome porque "taurus" significa touro em latim. É o aminoácido livre mais abundante no ser humano e desempenha um papel importante em vários processos biológicos essenciais, tais como a osmorregulação, a estabilização da membrana, a neurotransmissão, modulação de cálcio, a anti-oxidação e podendo também desempenhar um papel importante na inflamação associados com o stress oxidativo. Foi recentemente reconhecida para manter um efeito anti-hipertensivo em ratos. No entanto, os seres humanos têm uma capacidade muito limitada para a sintetizar, sendo em grande parte dependentes de fontes exógenas, levando a uma maior vulnerabilidade a deficiência. Deste modo, a adição de taurina é incentivada na fórmula infantil, suplementos dietéticos e bebidas energéticas. ^[118, 119, 120, 121, 122]</p> <p>Estado sólido: Estão descritas duas formas polimórficas. A forma I é obtida por cristalização em água e a forma II por cristalização numa mistura de solventes orgânicos e água. ^[123]</p>
<p><i>p</i>-benzoquinona</p> 	<p>Descrição: É usada em indústrias de tintas, têxtil, química e de cosméticos. É tóxico, quando a exposição é feita em níveis elevados do composto. ^[124]</p>

