

Aplicação da difração de raios X por monocristais na caracterização de insumos farmacêuticos ativos

Jennifer Tavares Jacon Freitas^a, Luan Farinelli Diniz^{a,b} e Renata Diniz^{a,}*

^a Grupo de Cristalografia Química, Departamento de Química, Universidade Federal de Minas Gerais, 31270-901, Belo Horizonte, MG, Brasil.

^b Laboratório de Controle de Qualidade de Medicamentos e Cosméticos, Departamento de Produtos Farmacêuticos, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais, 31270-901, Belo Horizonte, MG, Brasil.

* e-mail: dinizr@qui.ufmg.br

DOI: <https://doi.org/10.30609/jeti.v4i03.13040>

††

Abstract. Single-crystal X-ray diffraction is an especially important technique in the characterization of new crystalline compounds. It allows the description of the lengths and angles of chemical bonds as well as the intermolecular interactions, which are responsible for solid-state stabilization. Thus, it is a technique of great relevance in the identification and characterization of active pharmaceutical ingredients (APIs) since the crystalline arrangement changes can modify the physicochemical properties of the drugs. In this sense, the Hirshfeld surface and fingerprint plots are effective tools in the investigation of qualitative and quantitative analysis of intermolecular interactions. These tools allow to identify the main differences among various crystalline solid forms and can be associated with properties of pharmaceutical interest such as solubility and stability. The investigation, as well as the adequate monitoring and management of crystalline forms in solid-state by X-ray diffraction, are means of ensuring the quality and safety of the medication to be dispensed to the population.

Keywords: X-ray diffraction, pharmaceutical solid forms, polymorphism, supramolecular chemistry.

Resumo. A difração de raios X por monocristais é uma técnica muito importante na caracterização de novos compostos cristalinos, pois permite a descrição dos comprimentos e ângulos de ligações químicas bem como das interações intermoleculares responsáveis pela estabilização no estado sólido. Desta forma, é uma técnica de grande relevância na identificação e caracterização de insumos farmacêuticos ativos (IFAs), pois a modificação do arranjo cristalino das moléculas pode modificar as propriedades físico-químicas dos fármacos. Uma ferramenta eficaz nos estudos tanto do ponto de vista qualitativo quanto quantitativo dessas interações é a superfície de Hirshfeld e os gráficos de impressão digital. Essa ferramenta permite identificar as principais diferenças entre as várias formas sólidas cristalinas e podem ser associadas às propriedades de interesse farmacêutico tais como a solubilidade e a estabilidade. Portanto, a investigação bem como o acompanhamento e gerenciamento adequado das formas cristalinas no estado sólido pela técnica de difração de raios X são meios de assegurar a qualidade e a segurança do medicamento a ser dispensado à população.

Palavras-chave: Difração de raios X, formas sólidas farmacêuticas, polimorfismo, química supramolecular

1. Introdução

1.1. Difração de raios X por monocristal

A cristalografia é a ciência que estuda a teoria e as técnicas com as quais os arranjos atômicos em sistemas cristalinos podem ser descritos. Dentre essas técnicas, as mais utilizadas e precisas na identificação desses arranjos são a difração de raios X e de nêutron. Desta forma, é possível calcular distâncias interatômicas e ângulos de ligação assim como descrever a geometria molecular, como por exemplo, plano formado por um grupo particular de átomos, ângulos entre planos e ângulos de torção em torno de ligações. Outra informação importante que pode ser obtida através dos resultados de difração de raios X são as interações intermoleculares que governam o empacotamento cristalino. Essas interações são importantes pois em conjunto são responsáveis pelas propriedades físico-químicas apresentadas pelos diversos sólidos cristalinos.

A difração dos raios X foi descoberta por Max von Laue em 1912, e a partir de então começaram os primeiros experimentos de determinação estrutural utilizando esta técnica. O experimento é baseado nos processos de espalhamento e difração da radiação. Se o comprimento de onda da luz utilizada for da mesma ordem de grandeza das distâncias entre os centros espalhadores, observam-se os efeitos de difração. Se considerarmos um cristal, é possível obter-se um padrão de difração com o objetivo de se determinar o arranjo

atômico, se for utilizada uma radiação da mesma ordem de grandeza das distâncias interatômicas. Portanto, raios X com comprimento de onda de aproximadamente 1 Å é uma radiação muito útil para a determinação de estruturas cristalinas. Porém para os raios X não há uma lente que recompõe a imagem a partir da radiação difratada, como acontece em microscópios óticos por exemplo, por isso a recomposição da imagem é feita utilizando matemática.

O fenômeno de difração dos raios X por cristais pode ser interpretado como se os átomos que estão ordenados de maneira regular, fossem fendas em uma rede de difração. Os raios X são espalhados preferencialmente pelos elétrons e fornecem um padrão de difração que podemos associar com a distribuição de densidade eletrônica no cristal. O tamanho e a forma dos pontos de difração estão associados ao tamanho e a forma da rede (arranjo cristalino) dos centros espalhadores (elétrons) e a intensidade relativa dos pontos depende da orientação e da natureza dos centros espalhadores. O padrão de difração obtido está relacionado com o recíproco das dimensões dos parâmetros da rede cristalina. Desta forma, teremos informações do arranjo cristalino no sistema recíproco e matematicamente relacionamos com o espaço real.

Em um cristal temos vários elétrons (espalhadores), portanto, a amplitude da onda espalhada por um conjunto de espalhadores é igual à soma das amplitudes de cada espalhador. A expressão para a amplitude da onda espalhada por um par de espalhadores idênticos situados a uma distância r_1 e r_2 de uma origem arbitrária pode ser descrita pela Eq. (1).

$$f_2 = f[\exp(2\pi i \vec{r}_1 \cdot \vec{s}) + \exp(2\pi i \vec{r}_2 \cdot \vec{s})] \quad (1)$$

onde f é a magnitude do vetor de espalhamento para os espalhadores, que é função do ângulo de espalhamento θ em relação ao feixe incidente e do comprimento de onda da radiação incidente (λ); \vec{s} é o vetor de espalhamento, sendo proporcional a $\frac{2 \text{ sen} \theta}{\lambda}$, e a quantidade $2\pi \vec{r} \cdot \vec{s}$ é a diferença de fase da radiação espalhada [1].

Para um arranjo de N espalhadores a amplitude total é dada pela soma das amplitudes das ondas espalhadas por cada espalhador. Para um arranjo com N espalhadores distintos a Eq. (1) torna-se a (2).

$$f_N = F(\vec{s}) = \sum_{j=1}^N [f]_j \cdot \exp(2\pi i \vec{r}_j \cdot \vec{s}) \quad (2)$$

Se este conjunto de espalhadores são os elétrons em um cristal, o termo F é denominado de fator de estrutura, que depende das posições relativas dos átomos; f_j é o fator de espalhamento atômico, que está associado ao poder de espalhamento do átomo e decresce com o aumento do ângulo de difração. Os valores dos fatores de espalhamento atômico foram tabelados por Ibers e Hamilton [2] para os elementos químicos. Posteriormente, cálculos para os fatores de espalhamento atômico que levam em consideração efeitos relativísticos foram apresentados por Coppens e colaboradores [3]. O fator de espalhamento atômico depende da natureza do átomo, da direção de espalhamento, e do comprimento de onda dos raios X utilizados. O valor máximo de f de um átomo é igual ao seu número atômico. Desta forma, pode-se concluir que entre os elementos químicos, o hidrogênio é o espalhador mais pobre, portanto, posições de átomos de hidrogênio encontradas em experimentos de difração de raios X são menos precisas que as dos demais átomos.

A expressão para o cálculo da amplitude da onda espalhada (equação 1) apresenta termos imaginários, relativos à diferença de fase entre a radiação incidente e a espalhada. O vetor resultante, F_{hkl} , pode ser decomposto nos eixos real e imaginário, sendo o termo B_{hkl} a parte imaginária do fator de estrutura (F_{hkl}) e A_{hkl} a sua parte real. Os índices hkl são números inteiros que definem o plano de espalhamento. Para um arranjo de átomos em um cristal estes índices são denominados de índices de Miller.

Os raios X são espalhados principalmente pelos elétrons, portanto, em cristais as espécies espalhadoras de raios X (elétrons) não podem ser consideradas como espalhadores pontuais, mas sim como uma densidade eletrônica ($\rho(\vec{r})$) cuja unidade é expressa em elétrons por volume. Considerando volumes infinitesimais dv , a carga pontual efetiva de elétrons (densidade eletrônica) é dada por ($\rho(\vec{r})dv$). Desta forma a amplitude da onda espalhada por esta quantidade será ($\rho(\vec{r})dv$) vezes a amplitude de um único elétron na mesma posição. Para se obter a amplitude total de uma distribuição eletrônica faz-se uma integral desta quantidade sobre todo o volume do espaço onde a densidade eletrônica não é nula. A amplitude total de espalhamento devido a uma distribuição de densidade eletrônica ($\rho(\vec{r})$), expressa como fração de um elétron pontual na origem, é dado pela Eq. (3).

$$F(s) = \int_V \rho(r) \exp(2\pi i \vec{r} \cdot \vec{s}) dv \quad (3)$$

onde a integração é sobre o volume do espaço em que $(\rho(\vec{r}))$ é não nula. Se esta equação for comparada à expressão da transformada de Fourier (Eq. (4))

$$F(s) = \int_{\nu} f(r) \exp(2\pi i \vec{s} \cdot \vec{r}) d\nu \quad (4)$$

nota-se que $F(s)$ é a transformada de Fourier de $\rho(r)$. O que indica que a transformada inversa também é válida, ou seja, a densidade eletrônica de um cristal pode ser encontrada como uma transformada de Fourier inversa da amplitude da onda espalhada em um experimento de difração de raios X (Eq. (5)).

$$\rho(r) = \int_{\nu^*} F(s) \exp(-2\pi i \vec{s} \cdot \vec{r}) d\nu^* \quad (5)$$

onde a integração é feita sobre o volume do espaço recíproco no qual \vec{s} está definido.

Resolver uma estrutura cristalina é fazer a transformada de Fourier inversa dos fatores de estrutura obtidos experimentalmente. Porém, o que é obtido experimentalmente é a intensidade da radiação espalhada e os ângulos de espalhamento. Mas a intensidade por sua vez é proporcional ao quadrado da amplitude do fator de espalhamento ($I \propto |F|^2$). Experimentalmente a intensidade da radiação espalhada por um cristal é detectada, mas a relação entre as fases das ondas espalhadas é perdida. Este fato é conhecido como o problema das fases. Existem dois métodos para solucionar o problema das fases: o Método de Patterson [4] ou Método do Átomo Pesado e os Métodos Diretos [5]. Atualmente, os Métodos Diretos são amplamente utilizados em determinações estruturais por serem mais abrangentes e apresentarem algoritmos que facilitam a escolha da fase mais provável para um determinado experimento.

O Método de Patterson consiste no cálculo de uma série de Fourier, que é chamada de função de Patterson, diretamente dos dados de intensidade experimentais. O resultado dessa série não pode ser interpretado como o conjunto de posições atômicas, pois não leva em consideração a informação da fase da onda espalhada. Seus resultados são interpretados como uma coleção de vetores de interação com uma origem comum. Inicialmente este método foi desenvolvido para determinação de estruturas contendo muitos átomos leves (N_l) e poucos átomos pesados (N_p). O método consiste inicialmente na separação do fator de estrutura (F) em duas partes: uma delas representa a contribuição dos átomos pesados

$[F_c]$ e a segunda é relativa aos demais átomos $[F_u]$, denominados de átomos leves. Considerando uma direção de espalhamento (hkl) , o fator de estrutura nessa direção ($F(hkl)$) pode ser descrita pela Eq. (6).

$$F_{hkl} = \sum_{c=1}^{N_k} f_c e^{2\pi i(hx_j+ky_j+lz_j)} + \sum_{u=1}^{N_u} f_u e^{2\pi i(hx_u+ky_u+lz_u)}$$

$$F_{hkl} = F_c(hkl) + F_u(hkl) \quad (6)$$

onde f é o fator de espalhamento atômico. Esta decomposição está representada no diagrama da Fig. 1.

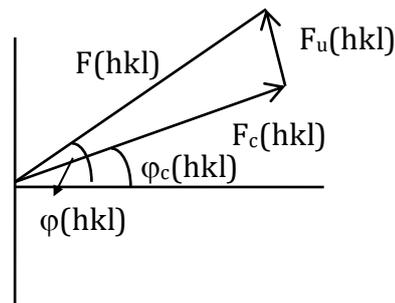


Fig. 1. Estrutura parcial em fase; $F(hkl)$ é o módulo do fator de estrutura observado.

Pode-se observar que a contribuição para o fator de estrutura dos átomos pesados $[F_c(hkl)]$ para o fator de estrutura total $[F(hkl)]$ é muito maior do que a dos átomos leves $[F_u(hkl)]$. Portanto, com o conhecimento da posição dos átomos pesados e assumindo que o fator de estrutura experimental é devido apenas aos átomos pesados, calcula-se a fase. Este valor inicial é utilizado para a obtenção das posições dos átomos leves e então se calcula a nova fase, que leva em consideração a contribuição de todos os átomos presentes na estrutura. Desta forma, quanto maior o poder de espalhamento do átomo pesado, ou seja, quanto maior é o seu número atômico, mais o valor de $F_c(hkl)$ aproxima-se de $F(hkl)$, logo a estrutura é mais bem resolvida.

Nos Métodos Diretos ocorrem a substituição do valor de $|F(hkl)|$ pelo fator de estrutura normalizado $|E(hkl)|$ que é dado pela equação (7).

$$|E_0(hkl)|^2 = \frac{K^2 |F_0(hkl)|}{\varepsilon \sum_{j=1}^N f_j^2} \quad (7)$$

sendo K o fator de escala e ε o parâmetro de ajuste da curva $|F_0(hkl)|^2$ em função de $2\text{sen}\theta$.

A utilização do fator de estrutura normalizado faz com que reflexões de alto ângulo, que apresentam $F_o(hkl)$ pequeno, tenham um valor de $|E|$ mais elevado, o que é muito importante para a utilização dos métodos diretos, uma vez que este método utiliza todas as reflexões para a determinação da fase. O valor de ε depende do sistema cristalino. Este fator faz com que as reflexões de uma certa região da rede recíproca tenham um valor médio de intensidade maior do que o das reflexões de um modo geral. A partir dos dados de fator de estrutura normalizado, faz-se um estudo estatístico de busca pela melhor fase para as reflexões [5]. Uma vez conhecida a fase determina-se com precisão as posições atômicas do composto no cristal e desta forma quanto mais próximo o fator de estrutura calculado (F_c) estiver do observado (F_o) melhor foi a determinação estrutural.

Uma estrutura cristalina é determinada quando houver concordância entre o fator de estrutura calculado pelo modelo proposto e o fator de estrutura observado experimentalmente. Quanto mais correto for o modelo em comparação com a estrutura real, melhor será o refinamento da estrutura. Um dos métodos mais confiáveis de ajuste desse modelo é o método dos mínimos-quadrados não-linear empregado pelo pacote de programa SHELX [6]. O ajuste é controlado com parâmetros estatísticos que correlacionam o fator de estrutura de seu modelo (F_c) com o observado (F_o) no experimento, os quais são: o coeficiente de correlação (R), o coeficiente de correlação ponderado (wR) e o coeficiente da qualidade de ajuste (S), cujas equações estão mostradas nas Eq. (8) a (10). O melhor modelo é aquele que apresentar valores de R e wR menores (em torno de 5 e menores que 15%, respectivamente) e S o mais próximo de 1.

$$R = \frac{\sum |F_o| - |F_c|}{\sum |F_o|} \quad (8)$$

$$wR = \left(\frac{\sum [w(F_o^2 - F_c^2)^2]}{\sum w(F_o^2)^2} \right)^{1/2} \quad (9)$$

$$S = \left\{ \frac{\sum w(F_o^2 - F_c^2)^2}{(n-p)} \right\}^{1/2} \quad (10)$$

1.2. Estudo das interações intermoleculares em sólidos cristalinos

Além do conhecimento de distâncias e ângulos de ligações que podem ser obtidos pela técnica de difração de raios X por monocristais, é possível também investigar interações intermoleculares existentes no sólido cristalino. Esses estudos também são feitos

baseados em parâmetros geométricos que são obtidos a partir dos arranjos das moléculas (ou íons) na rede cristalina, conhecida como química das interações não-covalentes. Esse ramo de pesquisa é denominado de química supramolecular que também é conhecida como a química além da molécula [7, 8]. Vale ressaltar que a química supramolecular não se limita apenas as interações intermoleculares, se estendendo também a outros tipos de ligações não-covalentes como as interações entre sítios metálicos e ligantes orgânicos em compostos de coordenação [9, 10]. Contudo, independente da natureza químico-estrutural do sistema, as interações intermoleculares definem as propriedades do estado sólido. No caso de sólidos cristalinos, o entendimento dessas forças é importante para a compreensão dos sistemas químicos em um nível molecular, bem como para o conhecimento das propriedades físico-químicas.

As interações intermoleculares importantes na estabilização dos sólidos cristalinos são: ligações de hidrogênio, de empacotamento π , interações dipolares e as forças de *van der Waals*. Uma ferramenta eficaz nos estudos tanto do ponto de vista qualitativo quanto quantitativo dessas interações é a superfície de Hirshfeld (SH) [11]. Essa metodologia divide o cristal em regiões e auxilia o estudo das moléculas nos cristais. Essa teoria define uma função peso para cada átomo da molécula, onde $\rho_a^{at}(r)$ é a média esférica da densidade eletrônica de um átomo específico dividida pela soma da densidade de todos os átomos em uma determinada molécula (Eq.(11)).

$$w_a(r) = \rho_a^{at}(r) / \sum_{i \in \text{molécula}} \rho_i^{at}(r) \quad (11)$$

Em um cristal, pode-se definir uma função peso para a molécula na rede cristalina, $w_A(r)$, na qual o numerador é a soma das densidades eletrônicas médias dos átomos na molécula de interesse e o denominador é a soma das densidades eletrônicas dos átomos no cristal, definidos como pró-molécula e pró-cristal, respectivamente (Eq.(12)).

$$w_A(r) = \sum_{i \in \text{molécula}} \rho_i^{at}(r) / \sum_{i \in \text{cristal}} \rho_i^{at}(r) = \rho_{\text{pró-molécula}}(r) / \rho_{\text{pró-cristal}}(r) \quad (12)$$

$w_A(r)$ é uma função contínua que depende da densidade eletrônica dos átomos e da proximidade e identidade dos átomos vizinhos e possui valores variando de 0 a 1, sendo 0 a distâncias longe do núcleo e 1 no núcleo. Nos estudos das interações intermoleculares, o valor de 0,5 para essa função peso garante que a molécula estará totalmente circundada por uma superfície, denominada de superfície de Hirshfeld [12-15].

Essa superfície é característica para as moléculas em um cristal, logo se uma mesma molécula se cristalizar com empacotamentos diferentes, o que é denominado de polimorfismo [16], as SH também serão diferentes. Portanto a utilização da SH e dos gráficos de impressão digital são de grande importância na caracterização das interações intermoleculares em cristais, em especial em formas sólidas farmacêuticas que apresentam o fenômeno de polimorfismo e formação de sais e cocrystalais.

2. Formas sólidas de IFAs

A maioria dos medicamentos disponíveis no mercado é comercializado na forma sólida e de dosagem oral por possuírem maior estabilidade química e microbiológica [17-19]. Os medicamentos geralmente são formulados com os insumos farmacêuticos ativos (IFAs) e substâncias inativas, denominadas excipientes. Os fármacos ou IFAs são substâncias químicas que, quando administradas a um organismo vivo, produzem efeito terapêutico [20]. Mais de 80% dos IFAs são constituídos por moléculas pequenas e orgânicas que podem existir no estado sólido sob várias formas cristalinas [21-25] ou amorfas [22, 23]. As formas cristalinas apresentam periodicidade do seu arranjo cristalino a longo alcance enquanto as formas amorfas não têm estrutura cristalina definida por não possuírem um ordenamento molecular em três dimensões [26].

As formas cristalinas de IFAs também podem ser classificadas como sólidos monocomponentes ou multicomponentes (Fig.2) [27, 28]. Os sólidos monocomponentes contêm apenas a molécula do IFA. Já os multicomponentes, contêm mais de uma molécula na estrutura junto do IFA como hidratos, solvatos, sais e cocrystalais (Fig. 3) [27, 28].

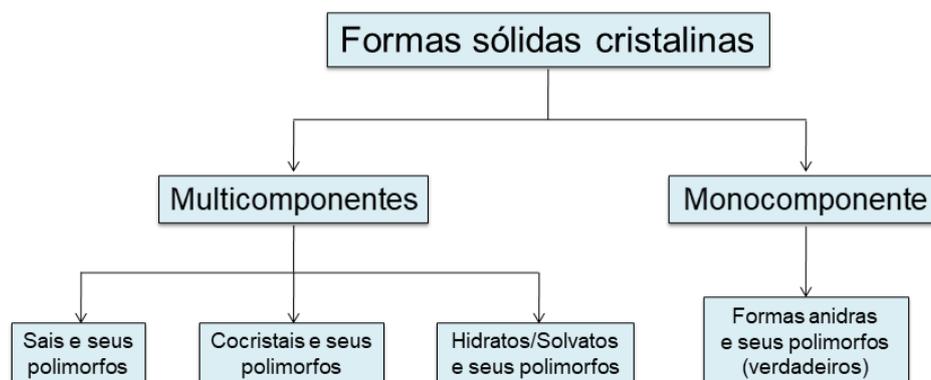


Fig. 2. Classificação das formas sólidas de IFAs.

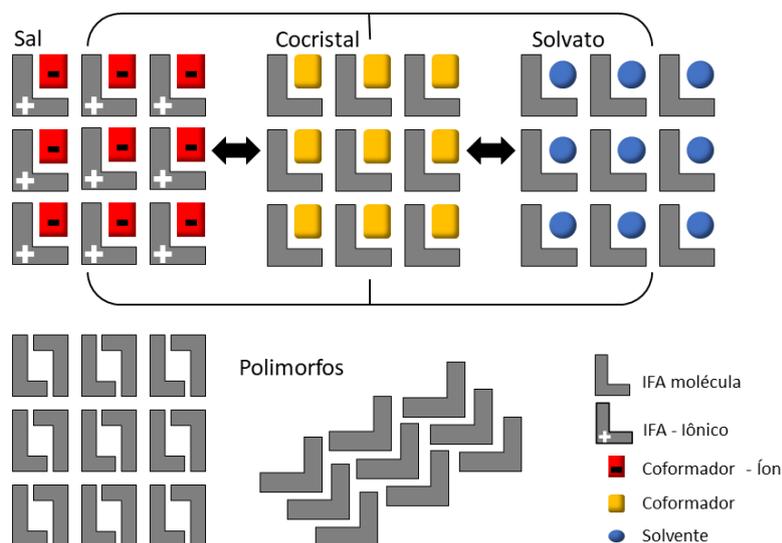


Fig. 3. Representação esquemática das formas sólidas cristalinas de IFAs.

Todavia, as formas cristalinas, sejam elas mono ou multicomponentes, podem exibir o fenômeno do polimorfismo (do termo grego *poly* = muitos, *morphos* = formas). O polimorfismo em fármacos pode ser definido como a capacidade de um composto de mesma fórmula química apresentar-se em mais de uma forma cristalina no estado sólido, exibindo diferentes arranjos e/ou conformações moleculares [26, 28-31].

Essa diversidade de estruturas pode surgir durante a fabricação, o armazenamento e o transporte de um medicamento [32-35]. Os processos que envolvem trituração, moagem, aquecimento, compressão e exposição à solvente, comuns nas etapas de síntese, purificação, cristalização, secagem, fracionamento e armazenamento do fármaco, podem facilitar a conversão termodinâmica entre as formas cristalinas e seus polimorfos [34-37].

Assim dependendo da composição, do empacotamento e da conformação das moléculas nos cristais dos IFAs, as diferentes formas cristalinas podem ser explicadas pelas diferentes interações intermoleculares como ligações de hidrogênio, forças *van der Waals*, ligações de empacotamento π e interações eletrostáticas [18, 23, 31, 38].

Por sua vez, as diferentes interações intermoleculares de um IFA podem resultar em mudanças nas suas propriedades físico-químicas, como por exemplo: a compressibilidade, a dureza, o fluxo de pó (capacidade de escoamento ou fluidez da massa pulverizada de formulações farmacêuticas sólidas), a condutividade, a densidade, a higroscopicidade, o índice de refração, a cor, a morfologia de partículas, a entalpia e entropia, a capacidade

calorífica, as temperaturas de fusão e ebulição, a pressão de vapor, a estabilidade, a solubilidade, a taxa de dissolução, a permeabilidade e a biodisponibilidade [18, 23, 38-40].

3. Polimorfismo e formas multicomponentes hidratadas

O polimorfismo em fármacos pode ser distinguido em polimorfismo conformacional e de empacotamento. No último, moléculas rígidas com conformação idêntica são arranjadas de diferentes formas na rede cristalina. Já no polimorfismo conformacional, moléculas flexíveis podem assumir diferentes conformações dentro da estrutura do cristal [19, 41].

Na área farmacêutica, segundo as agências regulatórias FDA (Food and Drug Administration) e EMA (European Medicines Agency) [42, 43] o termo polimorfismo é utilizado para designar diferentes formas cristalinas de um mesmo IFA incluindo formas amorfas, hidratos e solvatos. Muitas vezes, solvatos e hidratos de um mesmo IFA também são denominados de pseudopolimorfos [34, 44], embora não seja uma definição correta [19, 37, 45, 46]. Assim, solvatos e hidratos são diferentes grupos de estruturas, embora em alguns aspectos se assemelham aos seus polimorfos, dessolvatos/desidratos e anidros correspondentes.

Contudo, o polimorfismo pode influenciar na ação farmacológica do fármaco pois a escolha incorreta da forma utilizada ou uma transição de fase pode alterar a sua biodisponibilidade [32, 47]. Principalmente nos casos de baixa solubilidade aquosa, em que a velocidade de dissolução é o fator limitante para a absorção [48] comprometendo assim a qualidade, a eficácia e a segurança dos medicamentos [35, 38, 42, 47].

Os solvatos são formados quando há variação da estrutura cristalina de um IFA pela inclusão de uma ou mais moléculas de solvente durante o processo de cristalização. Se o solvente incorporado for a água, este é denominado hidrato [42, 43, 49].

Os hidratos têm sido frequentemente escolhidos como IFAs no desenvolvimento de novos medicamentos. A presença de alguns grupos funcionais polares como carbonila, hidroxila ou funcionalidades amino podem aumentar significativamente o número de estruturas hidratadas [25, 50, 51]. Estima-se que aproximadamente um terço dos IFAs existam no estado sólido com diferentes níveis de hidratação [37, 51, 52]. Do ponto de vista farmacêutico, a água é uma substância atóxica, em contraste com a maioria dos outros solventes orgânicos [37]. Em geral, é indesejável usar solvatos para fármacos e produtos farmacêuticos pois a presença de resíduos de solventes orgânicos pode ser tóxica [53].

A presença do solvente na estrutura cristalina influencia no padrão de interações intermoleculares e confere propriedades físico-químicas diferenciadas para a forma sólida [19]. Além de ser pequena, a molécula de água pode interagir no estado sólido como um doador e/ou um receptor de ligação de hidrogênio e quando isso acontece, a água pode desenvolver três importantes funções como: 1) participar diretamente na formação da rede cristalina por meio de ligações de hidrogênio com moléculas do fármaco; 2) como ligantes completando a coordenação em torno de um íon metálico facilitando os arranjos no empacotamento cristalino; 3) preencher o espaço vazio entre as moléculas na cela unitária a partir de interações fracas entre o IFA e moléculas de água como também por meio de interações com outras moléculas adjacentes, ao longo de um eixo, formando canais através do cristal [37, 54, 55].

A estabilidade física dos hidratos no estado sólido é altamente dependente das condições ambientais, pois, durante o processamento ou armazenamento farmacêutico, os IFAs são frequentemente expostos a mudanças de água, umidade e temperatura e, portanto, podem ser convertidos em outras formas cristalinas [37, 56-59]. A desidratação de um fármaco pode gerar a perda da cristalinidade dando origem a uma fase amorfa, transformar-se em uma forma cristalina anidra ou até mesmo em uma fase com menor grau de hidratação [60, 61].

Com relação aos mecanismos de hidratação/desidratação e as mudanças estruturais envolvidas, os hidratos podem ainda ser divididos em estequiométricos e não estequiométricos [62]. Um hidrato estequiométrico é aquele que apresenta um número constante de moléculas de água localizados em canais com estrutura cristalina definida e a desidratação do cristal envolveria um rearranjo das moléculas hospedeiras e possível colapso da estrutura. Já os hidratos não estequiométricos têm um número variável de moléculas de água incorporadas na rede cristalina, geralmente as moléculas de água ocupam os espaços vazios ou formam canais através de interações mais fracas com as moléculas do hospedeiro. Quando comparadas com os hidratos estequiométricos, no processo de desidratação total ou parcial não haveria mudanças significativas na estrutura do cristal [59, 62, 63].

Desta forma, a solubilidade e a estabilidade dos hidratos podem variar significativamente, afetando a biodisponibilidade do medicamento. Hidratos podem ser menos solúveis em água do que suas formas anidras correspondentes [56, 64]. Por outro

lado, eles tendem a apresentar melhor capacidade de compressão e estabilidade frente à temperatura e umidade relativa do que seus anidros homólogos [37]. Por estas razões, muitas vezes a escolha entre as formas anidras e hidratadas de um IFA é um fator crítico no processamento do medicamento [37, 60].

4. Formas multicomponentes: sais e cocristais

Além das formas sólidas constituídas por um único componente, conhecidos como polimorfos verdadeiros, e seus solvatos ou hidratos, que também pertencem a classe de formas sólidas multicomponentes, existe ainda um grupo de sólidos farmacêuticos multicomponentes bem mais heterogêneo, os sais e os cocristais (Figs. 2 e 3). Quando estes sistemas são gerados, um novo padrão de interações intermoleculares no estado sólido é estabelecido.

A inserção de uma nova molécula (comumente chamada de coformador) no cristal, em geral, permite a construção de novos sítios supramoleculares, o que torna os processos de reconhecimento e automontagem molecular em sistemas cristalinos factíveis [65, 66]. Por definição, sítios supramoleculares (Fig. 4) são padrões de interações que se reproduzem ao longo de todo sólido em virtude da capacidade de certos átomos (principalmente oxigênio e nitrogênio) e grupos funcionais derivados (amida, amina, carboxila, hidroxila etc.) interagirem intermolecularmente entre si [67] pelas já citadas: ligações de hidrogênio, forças de *van der Waals*, contatos hidrofóbicos, interações eletrostáticas e interações de empacotamento π . O delicado equilíbrio de todas essas interações entre o fármaco e o coformador no estado sólido é que ocasiona a estabilização e formação desses sistemas multicomponentes [68].

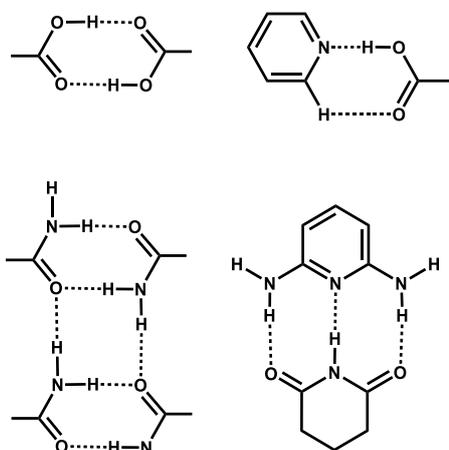


Fig. 4. Sítios supramoleculares observados em formas sólidas multicomponentes.

Com o estabelecimento de novos padrões de interações intermoleculares nos cristais, os sistemas formados adquirem a habilidade de otimizar de uma maneira muito eficiente as principais propriedades físico-químicas dos fármacos. Dessa forma, esta abordagem, que é a base da engenharia de cristais, tornou-se, sobretudo nos últimos anos, parte integral das rotinas farmacêuticas, já que o requisito central de todo fármaco, além da eficácia e segurança, é que a molécula também apresente propriedades físico-químicas que atendam os requisitos mínimos de processabilidade e estabilidade do medicamento [69]. Por fim, é extremamente necessário que as características biofarmacêuticas também sejam adequadas, de forma que o desempenho do medicamento *in vivo* seja satisfatório.

Os sais representam, dentro do universo de formas sólidas, o mais recorrente modo de apresentação de um IFA. Estima-se que aproximadamente 50% de todos os fármacos são comercializados e administrados na forma de sais [21, 40]. Por definição, sais são compostos formados quando a molécula do IFA se encontra carregada positiva ou negativamente e ácidos e bases são adicionados a fim de neutralizá-la. Nesse sentido, diferentes sais, partindo de uma mesma molécula do fármaco, podem ser obtidos, sendo considerados como diferentes IFAs, devido a intercambialidade do contra-íon [70].

Vale ressaltar que a maioria dos fármacos possui grupos ionizáveis na estrutura, sendo, portanto, capazes de formar sais. Contudo, a compreensão das constantes ácidas ou básicas (expressas em função do pKa) das espécies envolvidas precisam ser completamente conhecidas para que se tenha maior chance de sucesso na síntese e cristalização de sais. Nesse sentido, a análise dos valores de pKa do fármaco e do contra-íon configura-se como um importante parâmetro durante a preparação de um sal, sendo requerido uma diferença de pelo menos 3 unidades entre os pKa's da base e do ácido para a formação de um sal [71].

Como consequência direta, as mudanças químicas e estruturais que ocorrem em virtude da formação de um sal permitem melhorar significativamente algumas propriedades físico-químicas do IFA, sobretudo a solubilidade aquosa, pois o processo de formação de cargas das espécies envolvidas leva a um aumento da capacidade de solvatação do composto [40, 72]. Além disso, os sais geralmente aumentam a estabilidade da forma sólida, por formarem empacotamentos cristalinos mais compactos e coesos, evitando problemas de higroscopicidade e aumentando os pontos de fusão e degradação dos compostos [73].

Os cocristais são formas cristalinas multicomponentes constituídas de dois ou mais compostos moleculares e/ou iônicos diferentes em proporções estequiométricas e que se apresentam como sólidos em condições ambientes, sendo um deles o IFA e o outro o coformador e que não se enquadram na classificação de sais ou solvatos [28]. Os coformadores são moléculas orgânicas complementares que realizam interações intermoleculares com os IFAs.

A principal diferença entre sais e cocristais reside no fato de que em formas salinas há necessariamente a transferência de prótons do ácido para a base, enquanto nos cocristais nenhuma transferência de carga ocorre, sendo o composto resultante estabilizado por ligações de hidrogênio e outras interações direcionais não-covalentes de curto alcance.

Nos últimos anos, o número de cocristais de fármacos reportados na literatura cresceu consideravelmente, representando um avanço no campo farmacêutico [74]. O interesse por esses compostos advém da possibilidade de se diversificar o número de formas sólidas cristalinas existentes para um determinado IFA, sem a necessidade de mudanças nos grupos farmacofóricos das moléculas [23]. Em se tratando de compostos com propriedades no estado sólido muitas vezes melhoradas em comparação àquelas observadas para os IFAs puros, os cocristais são constantemente alvo de novas patentes [75].

Em relação às vantagens, a cocrystalização de IFAs pode implicar em melhora significativa da solubilidade, taxa de dissolução, estabilidade e de outras propriedades físico-químicas. O planejamento e a síntese de cocristais, em geral, são feitos para fármacos fracamente ionizáveis ou neutros [23, 72, 76].

Um ponto importante a ser considerado é que os contra-íons (sais) ou os coformadores (cocristais) devem ser adequados para uso farmacêutico e seguros em relação à sua toxicidade [19]. Nesse sentido, o FDA, agência do departamento de saúde e serviços humanos dos Estados Unidos disponibiliza uma lista GRAS (General Recognized as Safe) [77] contendo os nomes dos materiais sólidos recomendados.

Portanto é muito importante para a indústria farmacêutica compreender e controlar não só o fenômeno do polimorfismo como também as diferentes formas sólidas cristalinas dos medicamentos sólidos a fim de evitar anomalias nos medicamentos dispensados à população e, assim assegurar a sua eficácia terapêutica [18, 38].

Nesta vertente, a elucidação estrutural das diferentes formas cristalinas é o primeiro passo para compreender as diferentes propriedades físico-químicas das moléculas dos fármacos. A técnica mais utilizada para a determinação de estruturas cristalinas é a difração de raios X por monocristais.

5. Aplicações da difração de raios X na caracterização de polimorfos e hidratos farmacêuticos

A técnica de difração de raios X por monocristal é utilizada para o entendimento de diferentes propriedades físico-químicas de polimorfos e seus hidratos. Como exemplos, serão discutidos os resultados para os fármacos ritonavir, paracetamol, carbamazepina e fluconazol (Fig.5).

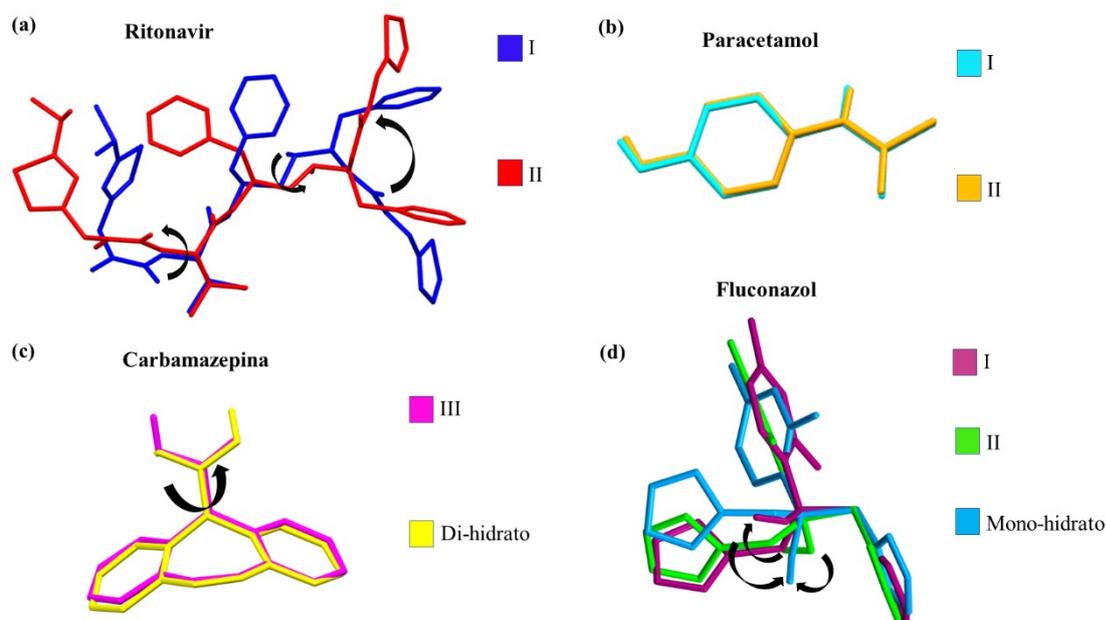


Fig. 5. Comparação das conformações moleculares entre a) os polimorfos I e II de ritonavir, b) I e II de paracetamol, c) polimorfo III e dihidrato de carbamazepina e d) polimorfos I, II e mono-hidrato de fluconazol. As setas indicam as regiões de torção angular.

Um exemplo bastante conhecido do impacto do polimorfismo na indústria farmacêutica é o caso do Norvir[®] (ritonavir), medicamento antirretroviral utilizado no tratamento de pacientes portadores do vírus da imunodeficiência humana (HIV) [44]. Durante o processo de desenvolvimento do ritonavir sob a forma farmacêutica de cápsulas pela Abbott, somente uma forma cristalina era conhecida, o polimorfo I. No entanto em

1998, dois anos após o lançamento do medicamento no mercado na forma farmacêutica de cápsulas, vários lotes não passaram no teste de dissolução devido ao aparecimento de uma nova forma cristalina durante o processo de fabricação. Esta nova forma (denominada posteriormente de polimorfo II) era mais estável e menos solúvel que a o polimorfo I causando uma diminuição da biodisponibilidade do medicamento e consequentemente uma menor eficácia terapêutica [78, 79]. Assim, o medicamento foi retirado do mercado até que a empresa controlasse a fabricação da forma desejada (polimorfo I) [18]. Este evento causou um grande prejuízo financeiro (milhões de dólares) a fabricante Abbott [80].

Com o auxílio da técnica de difração de raios X por monocristal, Bauer e colaboradores [78] conseguiram correlacionar as diferenças estruturais entre os polimorfos I e II com as suas propriedades físico-químicas. As principais diferenças ocorreram devido às mudanças conformacionais da molécula de ritonavir com três eixos de torção (Fig. 5a). A torção do grupo carbamato produz conformação *trans* na forma I e *cis* na forma II. Apesar de ser uma conformação atípica em solução para o grupo carbamato, o arranjo cristalino da forma II é estabilizado por ligações de hidrogênio mais fortes [78].

No polimorfo I, as ligações N-H \cdots O entre o grupo amida de uma molécula se alinham transicionalmente com a mesma amida na próxima molécula para formar uma pilha contínua semelhante, paralela ao eixo cristalográfico *b* (Fig. 6). Essas pilhas são emparelhadas por uma ligação de hidrogênio entre o grupo hidroxila de uma molécula e o anel tiazol de uma segunda molécula (O-H \cdots N) por um eixo parafuso de ordem 2 (Fig. 6) [78]. Já no polimorfo II, há um maior número de ligações de hidrogênio como as interações N-H \cdots O e O \cdots H-N entre os grupos amida de uma molécula com o grupo carbamato de outra molécula formando um empilhamento cabeça-cauda (Fig. 6). Em adição, o grupo hidroxila atua como doador (O-H \cdots O) e receptor de hidrogênio (N-H \cdots O), tornando as ligações de hidrogênio mais fortes. Consequentemente, os cristais da forma II possuem maior energia de estabilização da rede cristalina tornando-os menos propensos à solubilização do que os cristais do polimorfo I.

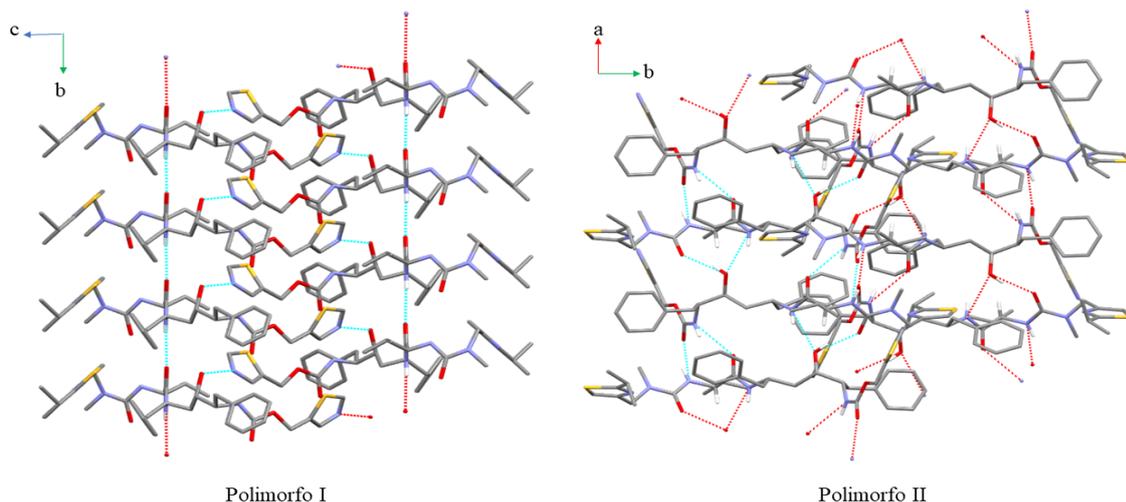


Fig. 6. Comparação do empacotamento cristalino dos polimorfos I e II de ritonavir. Os átomos de hidrogênio que não participam das ligações de hidrogênio foram suprimidos para maior clareza.

Na Fig. 7 está mostrada a superfície de Hirshfeld, na função d_{norm} , para a molécula de ritonavir dos dois polimorfos, bem como os gráficos de impressão digital. Na representação mostrada na Fig. 7, as áreas em vermelho indicam as regiões de interações fortes, onde a distância entre os átomos interagentes é menor do que a soma dos respectivos raios de *van der Waals*, e em azul os contatos mais fracos onde a distância entre os átomos é maior do que a soma dos raios de *van der Waals* [14]. As distâncias normalizadas pelos raios de *van der Waals* descrevem a superfície denominada de d_{norm} . Nos gráficos de impressão digital, os pontos em azul indicam poucas interações com as determinadas distâncias $d_i - d_e$, verde representa quantidades intermediarias e vermelho indicam muitas interações com as distâncias d_i e d_e [81]. Pela análise das superfícies é possível observar que a molécula de ritonavir na forma II está mais compactada do que na forma I. O gráfico de impressão digital da forma II mostra dois picos finos em torno de 1,7 Å ($d_i + d_e$) que representam as ligações de hidrogênio mais fortes observadas nessa forma. Nessa região para a forma I temos pontos dispersos que representam interações de empacotamento do tipo H-H.

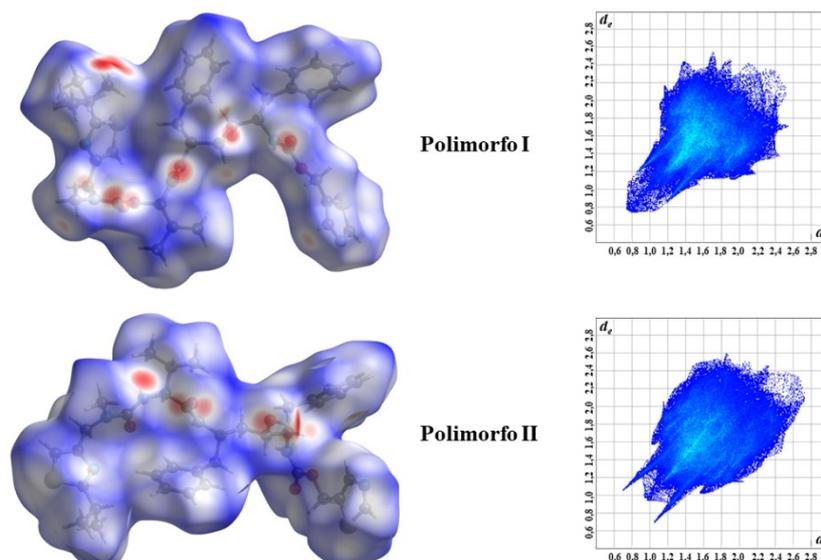


Fig. 7. Superfície de Hirschfeld e gráficos de impressão digital para os polimorfos I e II do ritonavir.

Assim como o ritonavir, o paracetamol ou acetaminofeno pode cristalizar-se em dois polimorfos concomitantemente. O paracetamol é um medicamento analgésico e antitérmico amplamente utilizado no mundo [82-84]. Em solução, exibe dois polimorfos: a forma I (monoclínica) [85-88]; que é a mais estável e disponível comercialmente [84, 85, 89-91] e a forma II (ortorrômbica) [88, 92] que é metaestável [92-94].

A forma II é ligeiramente mais solúvel [84, 95, 96] e apresenta melhor comportamento de compressão (propriedades mecânicas) do que a forma I [88-90, 95]. Contudo, a taxa de dissolução é semelhante para os comprimidos contendo a forma II ou a forma I, assim uma possível transformação não levaria a problemas com a biodisponibilidade [47, 89].

Todavia, a forma II é uma forma elusiva [84, 94, 97] ou seja, difícil de cristalizar [84, 88]. Além do mais, tende a converter rapidamente na forma I durante a compressão e armazenamento [90, 91, 95]. Portanto, para a obtenção e estabilização da forma II é necessário a presença de aditivos como o metacetamol [88, 91, 96, 97] ou realizar cristalização semeada sob baixa agitação e baixas temperaturas (inferiores a 10 °C) [91, 96]. Três outros polimorfos também foram relatados na literatura. A forma III, altamente instável [93] e as formas IV e V [98].

As formas I e II são conhecidas por apresentarem polimorfismo de empacotamento em que as conformações moleculares são iguais, mas os empacotamentos cristalinos são distintos (Fig. 8).

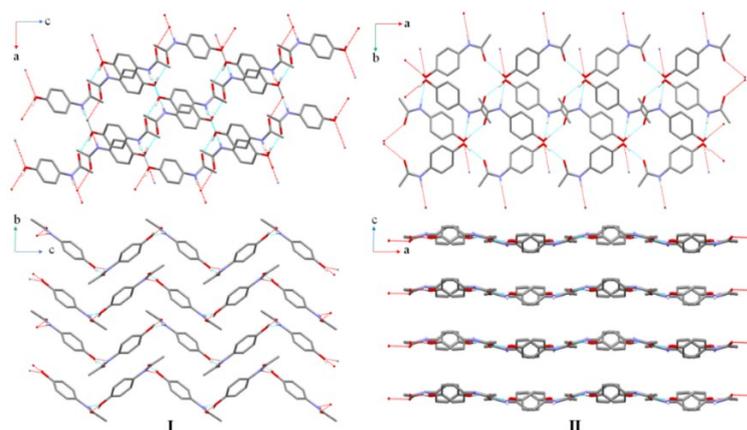


Fig. 8. Empacotamento cristalino dos polimorfos de paracetamol, forma I ao longo dos eixos *b* e *a* e forma II ao longo dos eixos *c* e *b*. Os átomos de hidrogênio que não participam das ligações de hidrogênio foram suprimidos para maior clareza.

No empacotamento cristalino da forma I (Fig. 8), o grupo fenol interage com o grupo amida de uma molécula adjacente formando folhas ao longo do plano *ac* que são também sustentadas por forças de van der Waals [99, 100]. Ao analisar o plano *bc*, estas interações formam um empacotamento em camadas plissadas [100, 101], tornando a estrutura relativamente rígida e conseqüentemente resultando em propriedades de má compressão [101]. Tais interações são fortes devido ao caráter doador e receptor de hidrogênio do grupo OH enquanto o grupo NH é um doador e o grupo CO é um receptor dentro da mesma molécula [100]. Já a forma II, apresenta o mesmo padrão de interações da forma I (Fig. 8, plano *ab*). Contudo, as ligações de hidrogênio O-H...O=C e N-H...O se alinham em cadeia para formar folhas paralelas ao eixo *b*, (Fig. 8) os quais correspondem há planos deslizantes que permitem tanto uma expansão quanto uma deformação ou compressão [99-102]. A Fig. 9 mostra a SH da molécula de paracetamol das duas formas de cristalização.

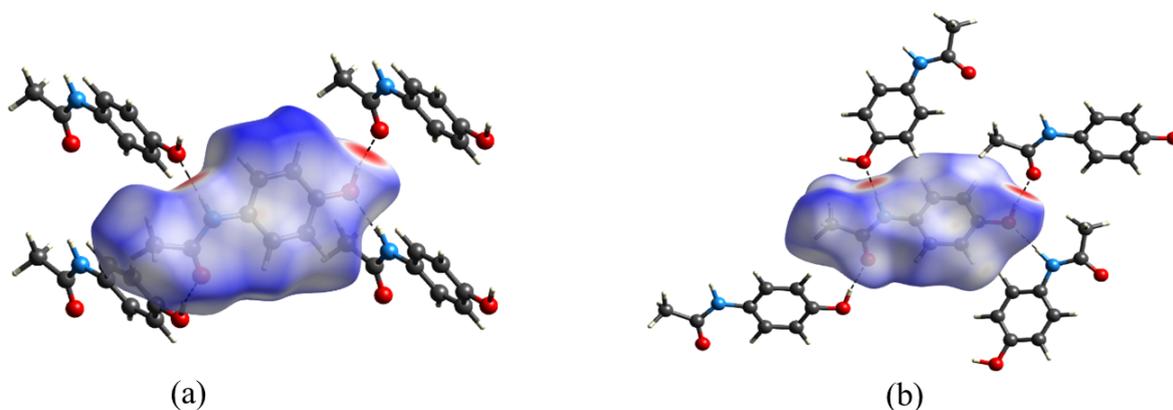


Fig. 9. Superfícies de Hirshfeld para a molécula de paracetamol nas formas a) I e b) II.

Pela Fig. 9 é possível observar as diferenças nas superfícies da molécula nas duas formas de empacotamento. Na Tabela 1 estão descritas algumas propriedades da superfície, mostrando as diferenças entre elas. Pode-se observar que a superfície da forma monoclinica é um pouco maior do que a da forma ortorrômbica, indicando um empacotamento um pouco mais compacto na forma ortorrômbica.

Tabela 1. Propriedades da SH das moléculas de paracetamol nas formas monoclinica e ortorrômbica.

Forma	Volume / Å ³	Área / Å ²	Asfericidade	Globularidade
I	183,45	193,82	0,230	0,806
II	177,27	189,60	0,250	0,805

Na Fig.10 estão os gráficos de impressão digital da molécula de paracetamol, cujas superfícies estão mostradas na Fig. 9. É possível observar que as diferenças moleculares são mais nítidas nos gráficos de impressão digital do que nas SH.

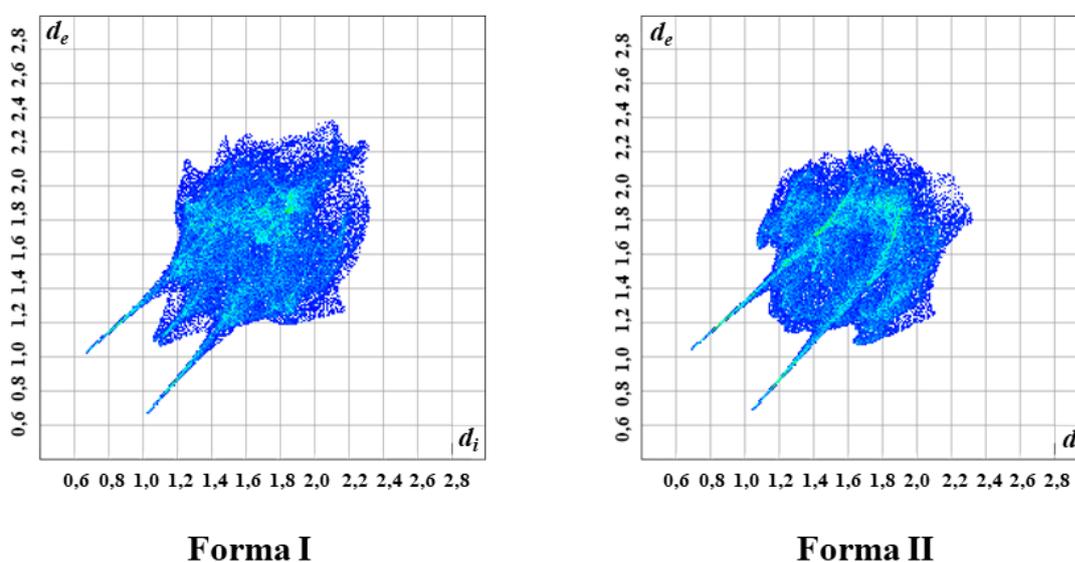


Fig. 10. Gráficos de impressão digital da molécula dos polimorfos do paracetamol.

Os picos finos nos dois gráficos representam as ligações de hidrogênio (NH...O e OH...O) que ocorrem nessas moléculas e representam as interações mais fortes no cristal. Nos dois cristais as interações que ocorrem com mais frequência são as do tipo H...H porém as formas dos gráficos são bem distintas. Outra informação interessante é que a forma II apresenta pontos em torno de 2,4 Å enquanto na forma I esses pontos estão a distâncias menores (~2.2 Å) indicando um melhor empacotamento da forma I.

A carbamazepina é um fármaco anticonvulsivante e estabilizador do humor usado principalmente para tratar epilepsia, transtorno bipolar e neuralgia do trigêmeo [103-105]. Até o momento, há relato na literatura de cinco polimorfos: forma I (triclínica) [103, 106], forma II (trigonal) [107-109], forma III (monoclínica) [106, 110-114], forma IV (monoclínica) [115] e forma V (ortorrômbica) [116]. Como também de um di-hidrato [114, 117-120].

Contudo, o modelo estrutural do di-hidrato da carbamazepina têm sido debatido pela comunidade científica que se divide em uma estrutura cristalina monoclínica com grupo espacial $P2_1/c$ [117-120] e/ou um cristal ortorrômbico com grupo espacial $Cmca$ [114, 120]. Tais discussões foram motivadas pelo grau de desordem do grupo amida e da molécula de água, e de geminação, que podem variar na estrutura do cristal [118-120]. As duas formas hidratadas apresentam superfícies de Hirshfeld muito parecidas e semelhante à da forma III anidra (Fig. 11). Em todas as três formas, as interações mais fortes são as ligações de hidrogênio do tipo $NH\cdots O$.

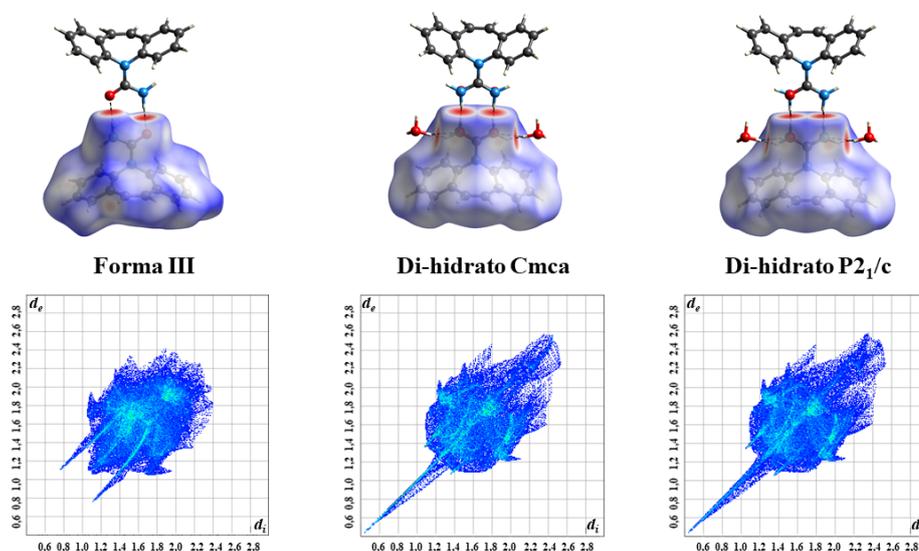


Fig. 11. Superfície de Hirshfeld e gráficos de impressão digital da forma III da carbamazepina e dos dois di-hidratos.

Dentre as formas citadas, o polimorfo III é a forma mais ativa e deve ser utilizado na fabricação dos medicamentos [121, 122] devido a sua maior biodisponibilidade, em comparação com os outros polimorfos [123]. Além disso, é uma forma termodinamicamente estável à temperatura ambiente [121]. Por outro lado, é altamente higroscópica e pode se converter no di-hidrato que é o mais estável em solução aquosa

[121, 124]. Vale ressaltar que os polimorfos I e III constituem um par enantiotrópico, em que a forma I é mais estável em altas temperaturas [103, 107, 125].

De acordo com o Sistema de Classificação Biofarmacêutico, a carbamazepina pertence a classe II, ou seja, apresenta baixa solubilidade aquosa e alta permeabilidade nos tecidos [42]. Portanto, sua absorção é determinada pela taxa de dissolução do fármaco no organismo. Muitos estudos demonstraram alta variabilidade nas taxas de dissolução dos comprimidos de carbamazepina [121, 126-129] os quais foram justificados pela presença de mistura de polimorfos em matérias-primas comerciais [121, 129] ou conversão do polimorfo III ao di-hidrato (forma menos solúvel) afetando criticamente a solubilidade e a biodisponibilidade das preparações farmacêuticas [124, 128].

Por estas razões a carbamazepina é considerada um fármaco-modelo no estudo envolvendo polimorfismo [103, 130] principalmente pelo impacto que diferentes polimorfos ou hidratos causam no perfil de dissolução e biodisponibilidade, levando a um desempenho irregular e falhas clínicas do medicamento [121, 126, 129, 130].

Considerando as interações intermoleculares, a hidratação da carbamazepina não altera fortemente a conformação. Como dito anteriormente, a torção do grupo amida observado para o di-hidrato (Fig. 5c) está relacionado a desordem no modelo estrutural [114]. Ambas as estruturas contêm dímeros de moléculas de carbamazepina relacionadas por meio de um centro de inversão cristalográfico e ligadas por hidrogênio N-H...O em uma conformação de homossínton (Fig. 12) [117-119].

Assim, as diferenças entre o polimorfo III e seu di-hidrato residem apenas no empacotamento das unidades de dímero da carboxamida. Na estrutura cristalina da forma III, as moléculas de carbamazepina são organizadas através de um empilhamento aromático (Fig. 12) estabilizado por interações não covalentes fracas dos tipos C-H...O, empacotamento π , C-H... π e N-H... π entre os anéis de benzeno nas duas diferentes conformações [103, 113]. Devido à questão da desordem observadas nas estruturas di-hidratadas, os gráficos de impressão digital apresentaram um pico fino e com valores muito pequenos de d_i e d_e (Fig. 11) relacionadas com as interações de empacotamento do tipo H-H. Para o gráfico da forma III, observa-se picos finos com distâncias $d_i + d_e$ em torno de 1,9 Å devido às interações do tipo O-H das ligações de hidrogênio N-H...O entre as moléculas da carbamazepina (Fig. 12).

A estrutura do di-hidrato possui em sua unidade assimétrica uma molécula de carbamazepina e duas moléculas de água. Na estabilização da estrutura, os dímeros são empilhados em camadas duplas ao longo do eixo *c* (Fig. 12) por ligações de hidrogênio adicionais N-H···O e O-H···O entre os sítios restantes do grupo amida e as moléculas de água [114, 117, 119]. Assim, todas as partes hidrofílicas da estrutura estão “ensanduichadas” dentro da camada, enquanto as camadas de moléculas de carbamazepina se ligam umas com as outras no cristal pelas partes hidrofóbicas e, portanto, são mantidos apenas por interações de *van der Waals* [114, 118]. Já as moléculas de água ocupam os canais dentro da camada hidrofílica nas direções paralelas ao eixo *c* do cristal (Fig. 12). Cada canal contém quatro cadeias paralelas (e reticuladas) de moléculas de água [118].

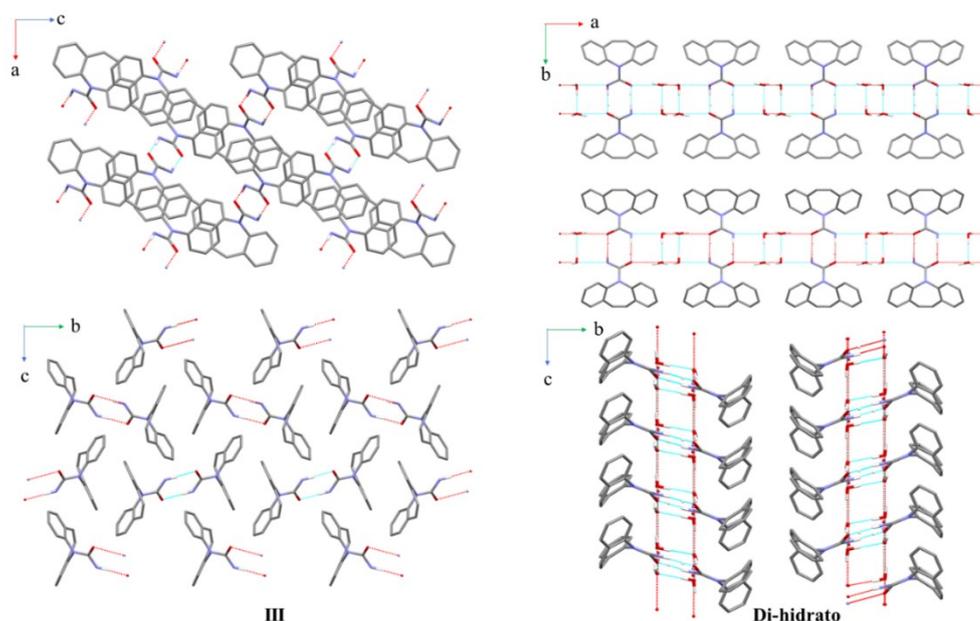


Fig. 12. Visão do padrão de ligação de hidrogênio no empacotamento cristalino da forma III e do di-hidrato (monoclínico P2₁/c) de carbamazepina. Os átomos de hidrogênio que não participam das interações foram suprimidos para maior clareza.

O fluconazol é um agente antifúngico de amplo espectro que é amplamente utilizado na medicina como um dos medicamentos orais de primeira linha para tratamento de infecções superficiais e sistêmicas principalmente candidíase e meningite criptocócica. Além disso, o medicamento é também usado na terapia de acompanhamento para pacientes imunodeficientes, ou seja, pacientes com HIV ou câncer e em pacientes em uso de agentes imunodepressores [131, 132] [133, 134].

Muitos polimorfos de fluconazol como também uma forma mono-hidratada foram relatados na literatura [135-144]. No entanto, há uma discrepância na notação dos mesmos,

pois no banco de dados cristalográficos “Cambridge Structural Database (CSD) [145] contém 5 estruturas descritas: forma II (originalmente descrito como forma III por Caira et al. (2004)) [138] ou forma AH-A [143, 144], formas IV, VI e VII [141] ou AH-B, V ou AH-C [143, 144]. Contudo, de acordo com Surov et al. [146], a análise dos dados evidenciou que o polimorfo V corresponde ao polimorfo I descrito em trabalhos anteriores [135, 136].

Dentre as estruturas citadas, a forma II é a mais solúvel e corresponde ao polimorfo comercializado, enquanto a forma I e o mono-hidrato são mais estáveis [136, 147]. A ordem de solubilidade aquosa encontrada foi $II > I > \text{mono-hidrato}$ [136, 139, 140].

A Fig.13 mostra a superfície de Hirshfeld e os gráficos de impressão digital para as formas I e II assim como da forma mono-hidratada. As superfícies das formas I e II mostram que as interações mais fortes são as ligações de hidrogênio do tipo O-H...N e que para a forma II temos a formação de um dímero, não observado na forma I. A adição da molécula de água na estrutura provocou a ruptura das interações fortes entre as moléculas de fluconazol e observa-se apenas as interações do fármaco com as moléculas de água. Os gráficos de impressão digital mostram que a menor distância ($d_e + d_i$) são ligeiramente maiores na forma II do que nas formas I e mono-hidratada, o que pode estar associada a maior estabilidade dessas duas formas em relação à forma II.

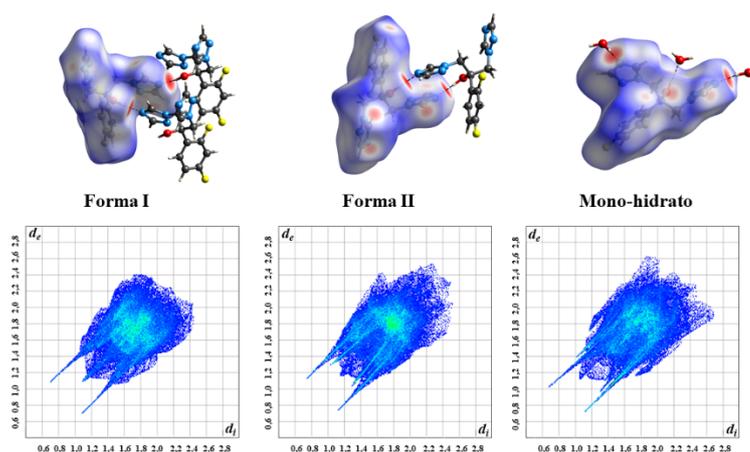


Fig. 13. Superfície de Hirshfeld e gráficos de impressão digital das formas I e II do fluconazol e seu mono-hidrato.

Além da solubilidade, outras propriedades físico-químicas foram alteradas com a variabilidade de estruturas cristalinas exibidas para o fluconazol como: moagem, tamanho

de partícula, morfologia do cristal [143]; pressão [142, 147] e taxa de dissolução intrínseca [136, 140]. Estas foram provocadas por conversão de fases: forma II para I [136], forma II para mono-hidrato [140], mono-hidrato para forma I (desidratação) [135, 136, 144] e, até mesmo mistura de duas [140] ou das três formas [139, 148] após contato com umidade do ambiente, solução aquosa ou armazenadas sob condições de temperatura e umidade controlados.

As mudanças nas propriedades físico-químicas do medicamento são explicadas pelas diferentes características estruturais do fluconazol. A flexibilidade das moléculas (Fig. 5d) tem papel dominante no padrão de ligações de hidrogênio intermoleculares gerando diferentes geometrias no arranjo cristalino [136, 142, 143]. A conformação geral adotada pela molécula do fármaco é aquela em que os três planos do anel são aproximadamente paralelos ao 'eixo central' representado pela ligação C-O havendo variações significativas no seu ângulo de torção (Fig. 5d).

A molécula de fluconazol nas formas I (Fig. 14a) e II (Fig. 14b) formam dímeros. As cadeias infinitas são estabilizadas por ligações de hidrogênio intramoleculares O-H...N ao longo do eixo *a*, envolvendo o grupo hidroxila de uma molécula como doador e o grupo triazol de uma outra molécula centrossimetricamente relacionada como receptor. Adicionalmente na forma I, os dímeros são estabilizados pelo empacotamento π entre anéis triazólicos ao longo do eixo *b* (Fig. 14a – plano *ab*). Tanto na forma I quanto na forma II há interações de hidrogênio fracas C-H...O, C-H...N (formas I e II) e C-H...F (Forma II) responsáveis pela conformação e empacotamento destes polimorfos [138, 141].

O empacotamento cristalino de fluconazol mono-hidratado é apresentado na Fig. 14c. A interação entre o grupo hidroxila com o triazol observado nas formas I e II também ocorre para o mono-hidrato. Neste caso, ambos anéis triazol de cada molécula do fármaco participam das ligações de hidrogênio dando origem as matrizes infinitas ao longo do plano *bc* (Fig. 14c) em que cada molécula de água se liga a três outras moléculas de fluconazol através de uma ligação de hidrogênio O-H...O (fármaco - água) e duas ligações O-H...N (água - fármaco). As moléculas de água estão localizadas em camadas ao longo do eixo *b* (Fig. 14c). Uma análise detalhada do modo de inclusão de moléculas de água mostra que elas ocupam locais isolados [138]. Desse modo, a desidratação não gera o colapso da estrutura. Há apenas uma mudança na conformação molecular do fluconazol através da rotação do grupo OH mantendo similaridade posicional e orientacional no

empacotamento cristalino com as formas I (preferencialmente) e II (Fig. 5d, Fig.14c - plano *cb*; Fig. 14b - plano *ca* e Fig. 14a - plano *ca*) [144].

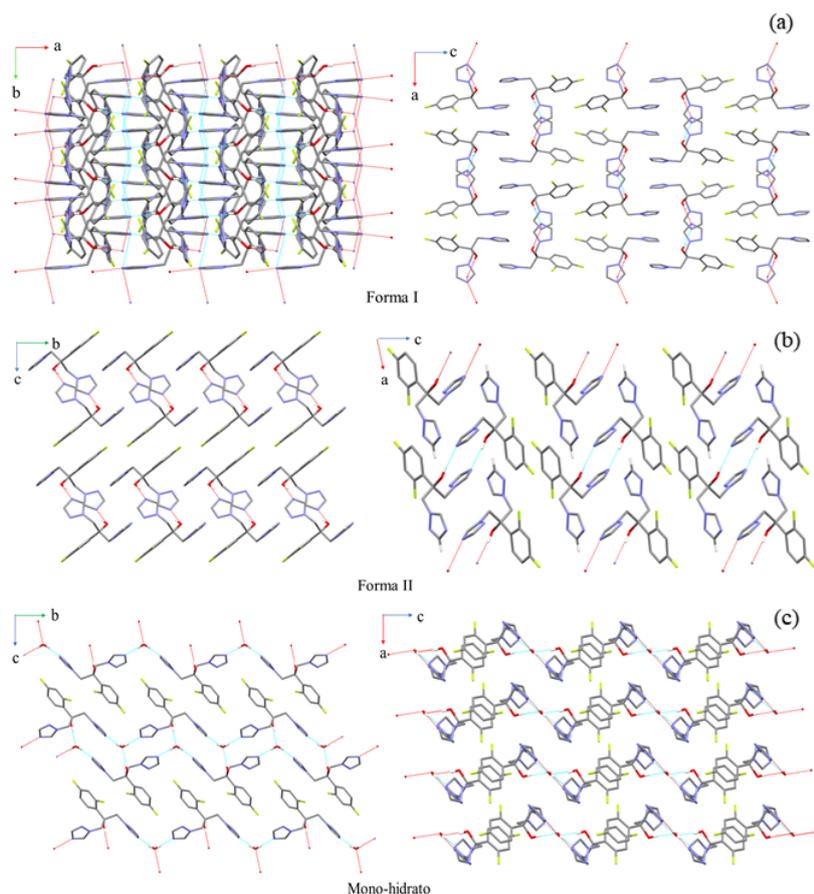


Fig. 14. Empacotamento cristalino comparando o padrão de ligações de hidrogênio de a) forma I, b) forma II e c) mono-hidrato de fluconazol.

6. Aplicações da difração de raios X na otimização das propriedades físico-químicas de IFAs: sais e cocrystalis

Conforme mencionado anteriormente, investigar novas formas sólidas ou projetar uma forma de cristalizá-las pode ser um desafio para a indústria farmacêutica como também uma oportunidade para a área acadêmica [18, 68].

A partir de modificações da configuração das moléculas nos sólidos cristalinos com o auxílio de engenharia de cristais, o composto resultante pode exibir diferentes propriedades físico-químicas em virtude do novo padrão de sinton supramoleculares que surgem com tais mudanças. Dentre essas propriedades, merecem destaque àquelas que apresentam interesse farmacêutico, pois é justamente a partir do aprimoramento ou melhora dessas propriedades que é possível otimizar o desempenho dos fármacos.

Portanto, destacaremos a seguir, a enorme importância e contribuição da difração de raios X por monocristais também na elucidação estrutural de sais e cocrystalis e como os modelos estruturais permitem não só entender como também correlacionar e otimizar os aspectos químico-estruturais dos compostos com as suas respectivas propriedades físico-químicas.

A solubilidade e taxa de dissolução de fármacos são diretamente influenciadas pelo arranjo cristalino. Enquanto a solubilidade é definida como a quantidade máxima de fármaco dissolvida em um meio e temperatura específicos, a dissolução indica como esse processo ocorre em função do tempo [149]. Na literatura, inúmeros trabalhos envolvendo a síntese de novos sais e cocrystalis e que tiveram melhoramento da solubilidade e taxa de dissolução em relação ao fármaco de referência já foram reportados, provando que a engenharia de cristais é uma estratégia eficiente para o aprimoramento dessas propriedades.

Dentre estes estudos, destaca-se aquele que propôs a síntese de novos cocrystalis da entacapona (fármaco utilizado no tratamento da doença de Parkinson) [150]. Com a elucidação das estruturas por difração de raios X por monocristais, foi possível estabelecer quais foram os aspectos estruturais dos novos cocrystalis que foram determinantes para o aumento da solubilidade aquosa da entacapona. Segundo os autores, a formação de ligações de hidrogênio dos tipos $\text{NH}\cdots\text{O}$, $\text{NH}\cdots\text{N}$ e $\text{OH}\cdots\text{O}$ entre o IFA e os coformadores acompanhado pelas mudanças conformacionais da entacapona na estrutura dos cocrystalis foi o que ocasionou o aumento da solubilidade do IFA. Além disso, nota-se ao comparar as estruturas cristalinas que apenas para a entacapona livre (forma triclinica $\text{P}\bar{1}$) houve a formação de dímeros do fármaco (Fig. 15a), o que não ocorreu nas estruturas dos cocrystalis (Fig. 15b, forma monoclinica Pn), uma vez que a inserção dos coformadores no cristal foi capaz de romper com este tipo de configuração.

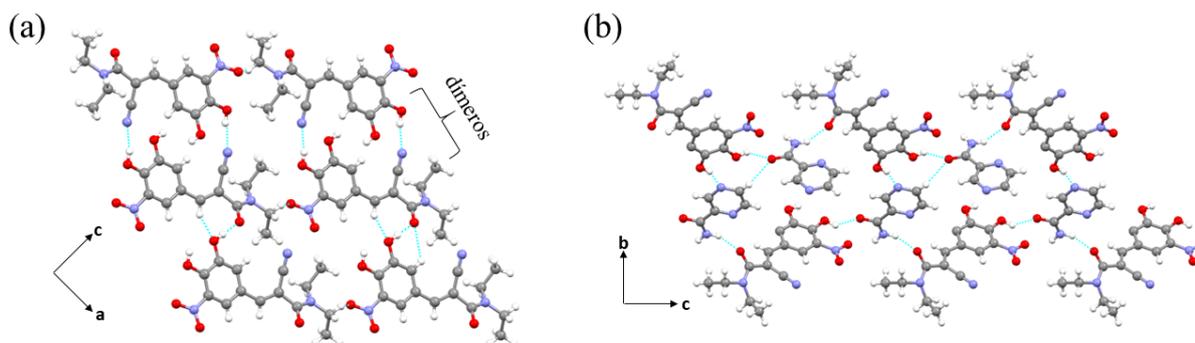


Fig. 15. (a) Dímeros da entacapona na estrutura cristalina do fármaco puro e (b) rede bidimensional do cocrystalis de entacapona com pirazinamida. As ligações de hidrogênio são representadas pelas linhas tracejadas.

A permeabilidade é outro importante parâmetro farmacêutico e se baseia na extensão da absorção intestinal do fármaco no organismo ou pela medida da sua velocidade de transferência através de uma membrana [151]. Recentemente, alguns interessantes relatos na literatura demonstraram que é possível melhorar a permeabilidade de um fármaco por meio de modificações da estrutura cristalina ou cocristalização com outras moléculas.

Um dos casos mais recentes foi o trabalho publicado por Diniz e colaboradores que reportaram um sal e um cocristal do diurético furosemida (fármaco considerado de baixa permeabilidade) [152]. Ambas as formas sólidas apresentaram maior permeabilidade e menor razão de efluxo no ensaio *in vitro* de monocamadas de células Caco-2 em comparação com a forma livre da furosemida. Tais melhorias foram alcançadas pelo fato da furosemida ter sido cocristalizada com coformadores considerados de alta permeabilidade e que atravessam mais rapidamente e eficientemente a membrana biológica.

Como no sal imidazolinio (forma monoclínica $P2_1/c$) e no cocristal com 5-fluorocitosina (forma triclínica $P\bar{1}$) os cristais possuem empacotamentos menos densos (comparados aos polimorfos da furosemida) e interação de uma forma mais eficiente *via* ligações de hidrogênio com a furosemida, a permeação e a razão de efluxo do fármaco puderam ser otimizadas. Na representação das estruturas cristalinas (Fig. 16) nota-se que, de fato, existem diferenças significativas entre estes cristais de furosemida, tanto em densidade quanto em tipo e número de ligações de hidrogênio.

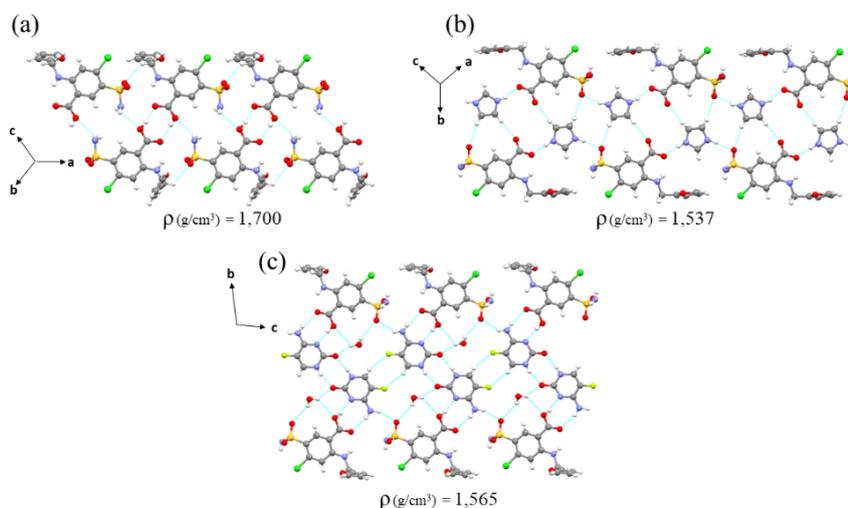


Fig. 16. Estruturas cristalinas: (a) furosemida (forma I), (b) sal imidazolinio de furosemida e cocristal mono-hidratado de furosemida com 5-fluorocitosina. As linhas tracejadas representam as ligações de hidrogênio.

A eficácia terapêutica de um fármaco depende diretamente de sua biodisponibilidade, característica relacionada com a solubilidade e a permeabilidade e que pode ser definida como a velocidade e a extensão com que um fármaco é absorvido, tornando-se disponível no local da ação [153]. Assim, para que a dose biodisponível seja aumentada, é necessário que ambas, solubilidade e permeabilidade do fármaco em questão, sejam maximizadas.

Há inúmeros trabalhos na literatura demonstrando que é possível aumentar a biodisponibilidade de fármacos mediante a síntese de sais e cocristais farmacêuticos. Um trabalho recente envolvendo o tuberculostático etionamida que se cristaliza no sistema monoclinico e grupo espacial Cc, mostrou que a síntese do sal de oxalato de etionamida (forma triclinica $P\bar{1}$) levou a um aumento de aproximadamente duas vezes na biodisponibilidade oral deste IFA em ratos [154].

No caso da etionamida, a melhoria significativa da solubilidade aquosa e taxa de dissolução atingida com a síntese do sal de oxalato (cerca de 25 vezes maior que a etionamida pura) foi apontada como principal justificativa para o aumento da biodisponibilidade oral, uma vez que o processo de absorção deste fármaco é limitado à sua taxa de dissolução no organismo. Ao observar as duas estruturas cristalinas em questão (Fig. 17), percebe-se que para o sal houve a formação de um robusto heterosínton supramolecular iônico entre o ânion carboxilato e o cátion piridinium, cuja estabilização se deu por ligações de hidrogênio dos tipos $NH\cdots O$ e $CH\cdots O$.

Para a etionamida base livre, apenas homosíntons entre os grupos tioamida são observados. Neste caso, a inserção de um espaçador iônico (ânion oxalato) gerou e ao mesmo tempo aumentou as regiões com predomínio de domínios polares no sólido, favorecendo a solubilidade aquosa e a dissolução.

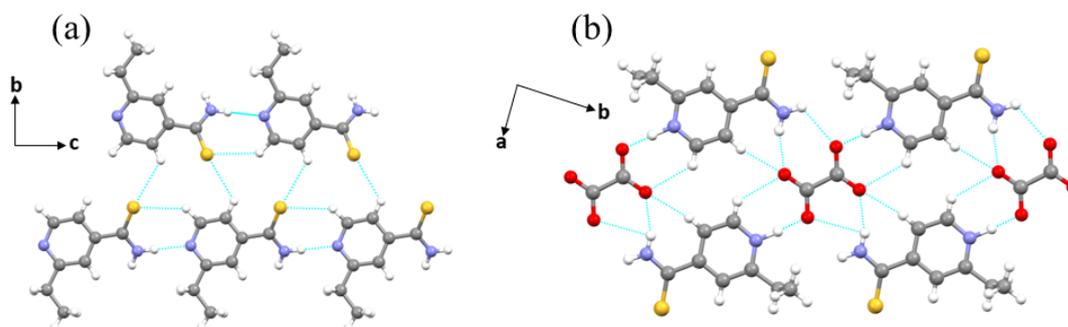


Fig. 17. Estruturas cristalinas estabilizadas por ligações de hidrogênio nos compostos: (a) etionamida e (b) oxalato de etionamida.

Estudos de estabilidade de fármacos são aqueles em que se deseja verificar se as principais características do composto de interesse são preservadas, mediante a manutenção do IFA em condições que acelerem sua degradação [155]. Em muitos casos, a baixa estabilidade de certos IFAs pode ser explicada por meio de seus atributos cristalográficos. Dessa forma, o desenho racional de novas formas sólidas permite otimizar a estabilidade de IFAs considerados instáveis em certas condições (como por exemplo em ambientes úmidos).

Um caso bem interessante envolveu o fármaco antituberculose etambutol que se caracteriza por ser altamente higroscópico [156]. Neste trabalho, os autores provaram que a forma comercial deste IFA, o cloridrato de etambutol, é de fato altamente higroscópica, não podendo permanecer por muito tempo em ambientes úmidos. Estruturalmente, a forma ortorrômbica $P2_12_12_1$ do sal de cloridrato acomoda os cátions de etambutol e os ânions cloreto de uma forma pouco compacta, permitindo que haja espaços entre as moléculas ao longo de todo o cristal (Fig. 18a). Tal atributo contribui na incorporação de moléculas de água no sólido, que rapidamente passa a interagir com os grupos funcionais das espécies, culminando no colapso do cristal.

Em contrapartida, o sal de oxalato de etambutol (forma ortorrômbica $P2_12_12$) exibiu um comportamento oposto, não sendo higroscópico mesmo em atmosferas muito úmidas. A explicação para isso está relacionada a eficiência do empacotamento cristalino deste sal que provou ser altamente compacto e coeso (Fig. 18b), com formação de cadeias de ânions oxalato unidas fortemente entre si por curtas ligações de hidrogênio do tipo $\text{OH}\cdots\text{O}$, o que dificultou a entrada de moléculas de água no cristal.

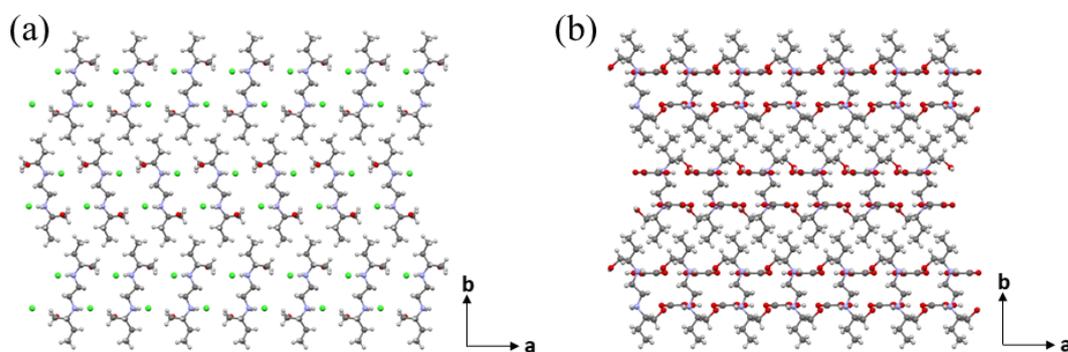


Fig. 18. Empacotamentos cristalinos no plano *ab* dos sais: (a) cloridrato de etambutol e (b) oxalato de etambutol.

7. Conclusões

A utilização das análises pela superfície de Hirshfeld e gráficos de impressão digital fornecem informações quali e quantitativas sobre as interações intermoleculares e podem ajudar na correlação entre estrutura e propriedades físico-químicas de sólidos cristalinos.

A análise estrutural é uma ferramenta importante no processo de fabricação de um medicamento contendo o fármaco no estado sólido, pois permite melhor compreensão de fenômenos importantes, como o polimorfismo, bem como detectar mudanças na composição, empacotamento e conformação das moléculas nos cristais dos IFAs.

A técnica de difração de raios X é essencial para elucidar novos padrões de interações intermoleculares formados em sistemas mono e, principalmente, multicomponentes dos IFAs como os sais e os cocristais os quais adquirem a habilidade de otimizar e melhorar, de uma maneira muito eficiente, diferentes propriedades físico-químicas de interesse farmacêutico sem que as propriedades farmacológicas dos IFAs sejam alteradas.

Portanto, a investigação bem como o acompanhamento e gerenciamento adequado das formas cristalinas no estado sólido pela técnica de difração de raios X são meios de assegurar a qualidade e a segurança do medicamento a ser dispensado à população.

Agradecimentos

Os autores agradecem às agências de fomento CAPES, FAPEMIG e CNPq pelo apoio financeiro e J.T.J.F. e L.F.D. agradecem em especial à CAPES pelas bolsas de pós-doutorado e doutorado, respectivamente.

Referências Bibliográficas

- [1] M.M. Woolfson, *An Introduction to X-ray Crystallography*, 2 ed., Cambridge University Press, Cambridge, 1997.
- [2] D. Moss, *Journal of Applied Crystallography*, **8** 572 (1975).
- [3] Z. Su, P. Coppens, *Acta Crystallographica Section A*, **53** 749-762 (1997).
- [4] A.L. Patterson, *Physical Review*, **46** 372-376 (1934).
- [5] M.F.C. Ladd, R. Palmer, *Structure and determination by X-ray crystallography*, Quarta ed., Kluwer Academic/Plenum Publishers New York, 2003.
- [6] G.M. Sheldrick, *Acta Crystallographica Section A*, **64** 112-122 (2008).
- [7] J.M. Lehn, From Molecular to Supramolecular Chemistry, in: *Supramolecular Chemistry*, 1995, pp. 1-9.
- [8] J.M. Lehn, From Supermolecules to Supramolecular Assemblies, in: *Supramolecular Chemistry*, 1995, pp. 81-87.

- [9] N. Lanigan, X. Wang, *Chemical Communications*, **49** 8133-8144 (2013).
- [10] R. Adam, M. Mon, R. Greco, L.H.G. Kalinke, A. Vidal-Moya, A. Fernandez, R.E.P. Winpenny, A. Doménech-Carbó, A. Leyva-Pérez, D. Armentano, E. Pardo, J. Ferrando-Soria, *Journal of the American Chemical Society*, **141** 10350-10360 (2019).
- [11] F.L. Hirshfeld, *Theoretica chimica acta*, **44** 129-138 (1977).
- [12] J.J. McKinnon, A.S. Mitchell, M.A. Spackman, *Chemistry – A European Journal*, **4** 2136-2141 (1998).
- [13] P.A. Wood, J.J. McKinnon, S. Parsons, E. Pidcock, M.A. Spackman, *CrystEngComm*, **10** 368-376 (2008).
- [14] M.A. Spackman, D. Jayatilaka, *CrystEngComm*, **11** 19-32 (2009).
- [15] J.J. McKinnon, M.A. Spackman, A.S. Mitchell, *Acta Crystallographica Section B*, **60** 627-668 (2004).
- [16] J. Bernstein, *Polymorphism in Molecular Crystals*, Oxford University Press, 2002.
- [17] T. Nunn, J. Williams, *British Journal of Clinical Pharmacology*, **59** 674-676 (2005).
- [18] A.Y. Lee, D. Erdemir, A.S. Myerson, Crystal Polymorphism in Chemical Process Development, in: J.M. Prausnitz (Ed.) Annual Review of Chemical and Biomolecular Engineering, Vol 2, 2011, pp. 259-280.
- [19] L.D. Prado, H.V.A. Rocha, *Revista Virtual De Quimica*, **7** 2080-2112 (2015).
- [20] H.P. Rang, M.M. Dale, J. Ritter, M., R.J. Flower, G. Henderson, *What is Pharmacology. Rang & Dale's pharmacology*, 1 th ed., Churchill Livingstone, Edinburgh, 2011.
- [21] G.P. Stahly, *Crystal Growth & Design*, **7** 1007-1026 (2007).
- [22] K. Chow, H.H.Y. Tong, S. Lum, A.H.L. Chow, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, **97** 2855-2877 (2008).
- [23] N.K. Duggirala, M.L. Perry, O. Almarsson, M.J. Zaworotko, *Chemical Communications*, **52** 640-655 (2016).
- [24] R.F. Service, *Science*, **362** 389-389 (2018).
- [25] J. Loughrey, *Uncovering Hidden Risks in Solid-State API Properties - Pharmaceutical Technology APIs, EXCIPIENTS, AND MANUFACTURING*, 2019.
- [26] H.G. Brittain, *Polymorphism in Pharmaceutical Solids*, 2 ed., Informa Healthcare USA, Inc., New York, USA, 2009.
- [27] S. Aitipamula, R. Banerjee, A.K. Bansal, K. Biradha, M.L. Cheney, A.R. Choudhury, G.R. Desiraju, A.G. Dikundwar, R. Dubey, N. Duggirala, P.P. Ghogale, S. Ghosh, P.K. Goswami, N.R. Goud, R.K.R. Jetti, P. Karpinski, P. Kaushik, D. Kumar, V. Kumar, B. Moulton, A. Mukherjee, G. Mukherjee, A.S. Myerson, V. Puri, A. Ramanan, T. Rajamannar, C.M. Reddy, N. Rodriguez-Hornedo, R.D. Rogers, T.N.G. Row, P. Sanphui, N. Shan, G. Shete, A. Singh, C.Q.C. Sun, J.A. Swift, R. Thaimattam, T.S. Thakur, R.K. Thaper, S.P. Thomas, S. Tothadi, V.R. Vangala, P. Vishweshwar, D.R. Weyna, M.J. Zaworotko, *Crystal Growth & Design*, **12** 4290-4291 (2012).
- [28] E. Grothe, H. Meekes, E. Vlieg, J.H. ter Horst, R. de Gelder, *Crystal Growth & Design*, **16** 3237-3243 (2016).
- [29] J. Haleblan, W. McCrone, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, **58** 911-+ (1969).
- [30] J.P. Brog, C.L. Chanez, A. Crochet, K.M. Fromm, *Rsc Advances*, **3** 16905-16931 (2013).
- [31] A.J. Cruz-Cabeza, S.M. Reutzel-Edens, J. Bernstein, *Chemical Society Reviews*, **44** 8619-8635 (2015).
- [32] Y. Li, P.S. Chow, R.B.H. Tan, *International Journal of Pharmaceutics*, **415** 110-118 (2011).

- [33] N. Chieng, T. Rades, J. Aaltonen, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **55** 618-644 (2011).
- [34] G.L.B. de Araujo, A. Pitaluga, S.G. Antonio, C.d.O.P. Santos, J.d.R. Matos, *Revista de Ciencias Farmaceuticas Basica e Aplicada*, **33** 27-36 (2012).
- [35] A.A.d. Silveira, A.E.T. Pereira, I.S.d. Oliveira, F.S.d. Carvalho, A.G. Khouri, Á.P.S. Souza, *Revista Eletrônica Acervo Saúde*, e791 (2019).
- [36] J.F. BAUER, *Journal of Validation Technology*, **14** 15-23 (2008).
- [37] E. Jurczak, A.H. Mazurek, L. Szeleszczuk, D.M. Pisklak, M. Zielinska-Pisklak, *Pharmaceutics*, **12** (2020).
- [38] R. Censi, P. Di Martino, *Molecules*, **20** 18759-18776 (2015).
- [39] N. Rodriguez-Hornedo, *Molecular Pharmaceutics*, **4** 299-300 (2007).
- [40] A.T.M. Serajuddin, *Advanced Drug Delivery Reviews*, **59** 603-616 (2007).
- [41] S. Datta, D.J.W. Grant, *Nature Reviews Drug Discovery*, **3** 42-57 (2004).
- [42] FDA, in: *U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Center for Drug Evaluation and Research (CDER)*, July 2007, USA (2007).
- [43] EMA, *European Medicines Agency*, (2006).
- [44] J. Aaltonen, M. Alleso, S. Mirza, V. Koradia, K.C. Gordon, J. Rantanen, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, **71** 23-37 (2009).
- [45] J. Bernstein, *Crystal Growth & Design*, **5** 1661-1662 (2005).
- [46] K.R. Seddon, *Crystal Growth & Design*, **4** 1087-1087 (2004).
- [47] O.M.M. Santos, M.E.D. Reis, J.T. Jacon, M.E.D. Lino, J.S. Simoes, A.C. Doriguetto, *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, **50** 1-24 (2014).
- [48] A. Llinas, J.M. Goodman, *Drug Discovery Today*, **13** 198-210 (2008).
- [49] R. Hilfiker, *Polymorphism in the Pharmaceutical Industry* Wiley-VCH, 2006.
- [50] L. Infantes, L. Fabian, W.D.S. Motherwell, *CrystEngComm*, **9** 65-71 (2007).
- [51] F. Tian, H.Y. Qu, A. Zimmermann, T. Munk, A.C. Jorgensen, J. Rantanen, *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, **62** 1534-1546 (2010).
- [52] X.Y. Ma, F. Muller, S.Y. Huang, M. Lowinger, X. Liu, R. Schooler, R.O. Williams, *Pharmaceutics*, **12** (2020).
- [53] K.T. Savjani, A.K. Gajjar, J.K. Savjani, *ISRN Pharmaceutics*, **2012** 195727 (2012).
- [54] A.L. Gillon, N. Feeder, R.J. Davey, R. Storey, *Crystal Growth & Design*, **3** 663-673 (2003).
- [55] S. Jacob, A.B. Nair, P.N. Patil, B.P. Panda, *INTERNATIONAL JOURNAL OF PHARMACEUTICAL SCIENCES AND RESEARCH*, **2** 472-482 (2011).
- [56] R.K. Khankari, D.J.W. Grant, *Thermochimica Acta*, **248** 61-79 (1995).
- [57] S.R. Vippagunta, H.G. Brittain, D.J.W. Grant, *Advanced Drug Delivery Reviews*, **48** 3-26 (2001).
- [58] A.S. Raw, M.S. Furness, D.S. Gill, R.C. Adams, F.O. Holcombe, L.X. Yu, *Advanced Drug Delivery Reviews*, **56** 397-414 (2004).
- [59] D.E. Braun, U.J. Griesser, *Crystal Growth & Design*, **16** 6111-6121 (2016).
- [60] D. Giron, C. Goldbronn, M. Mutz, S. Pfeffer, P. Piechon, P. Schwab, *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, **68** 453-465 (2002).
- [61] G.S. Borghetti, J.P. Carini, S.B. Honorato, A.P. Ayala, J.C.F. Moreira, V.L. Bassani, *Thermochimica Acta*, **539** 109-114 (2012).

- [62] U.J. Griesser, The Importance of Solvates, in: R. Hilfiker (Ed.) Polymorphism in the Pharmaceutical Industry, 2006, pp. 211-233.
- [63] K. Fucke, J.W. Steed, *Water*, **2** 333-350 (2010).
- [64] A.D. Gift, P.E. Luner, L. Luedeman, L.S. Taylor, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, **97** 5198-5211 (2008).
- [65] M.D. Hollingsworth, *Science*, **295** 2410-2413 (2002).
- [66] G.R. Desiraju, *Crystal engineering: the design of organic solids (Materials Science Monographs)*, 1th ed., 1989.
- [67] G.R. Desiraju, *Angewandte Chemie-International Edition in English*, **34** 2311-2327 (1995).
- [68] G.R. Desiraju, *Journal of the American Chemical Society*, **135** 9952-9967 (2013).
- [69] T. Friscic, W. Jones, *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, **62** 1547-1559 (2010).
- [70] G. Davies, *Pharmaceutical Journal*, **266** 322-323 (2001).
- [71] S.L. Childs, G.P. Stahly, A. Park, *Molecular Pharmaceutics*, **4** 323-338 (2007).
- [72] D.P. Elder, R. Holm, H.L. de Diego, *International Journal of Pharmaceutics*, **453** 88-100 (2013).
- [73] W.-Q.T. Tong, G. Whitesell, *Pharmaceutical Development and Technology*, **3** 215-223 (1998).
- [74] X.L. Dai, J.M. Chen, T.B. Lu, *CrystEngComm*, **20** 5292-5316 (2018).
- [75] D.D. Gadade, S.S. Pekamwar, *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, **6** 479-494 (2016).
- [76] M. Karimi-Jafari, L. Padrela, G.M. Walker, D.M. Croker, *Crystal Growth & Design*, **18** 6370-6387 (2018).
- [77] Food, A. Drug, in, (2019).
- [78] J. Bauer, S. Spanton, R. Henry, J. Quick, W. Dziki, W. Porter, J. Morris, *Pharmaceutical Research*, **18** 859-866 (2001).
- [79] S.R. Chemburkar, J. Bauer, K. Deming, H. Spiwek, K. Patel, J. Morris, R. Henry, S. Spanton, W. Dziki, W. Porter, J. Quick, P. Bauer, J. Donaubaue, B.A. Narayanan, M. Soldani, D. Riley, K. McFarland, *Organic Process Research & Development*, **4** 413-417 (2000).
- [80] G. Goldbeck, E. Pidcock, C. Groom, *CCDC - White Paper*, **8** (2011).
- [81] M.A. Spackman, J.J. McKinnon, *CrystEngComm*, **4** 378-392 (2002).
- [82] D.A. Snider, W. Addicks, W. Owens, *Advanced Drug Delivery Reviews*, **56** 391-395 (2004).
- [83] G.G. Graham, M.J. Davies, R.O. Day, A. Mohamudally, K.F. Scott, *Inflammopharmacology*, **21** 201-232 (2013).
- [84] Y.M. Liu, B. Gabriele, R.J. Davey, A.J. Cruz-Cabeza, *Journal of the American Chemical Society*, **142** 6682-6689 (2020).
- [85] M. Haisa, S. Kashino, R. Kawai, H. Maeda, *Acta Crystallographica Section B-Structural Science*, **32** 1283-1285 (1976).
- [86] C.C. Wilson, *Journal of Molecular Structure*, **405** 207-217 (1997).
- [87] D.Y. Naumov, M.A. Vasilchenko, J.A.K. Howard, *Acta Crystallographica Section C*, **54** 653-655 (1998).
- [88] G. Nichols, C.S. Frampton, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, **87** 684-693 (1998).
- [89] P. Di Martino, A.M. Guyot-Hermann, P. Conflant, M. Drache, J.C. Guyot, *International Journal of Pharmaceutics*, **128** 1-8 (1996).
- [90] E. Joiris, P. Di Martino, C. Berneron, A.M. Guyot-Hermann, J.C. Guyot, *Pharmaceutical Research*, **15** 1122-1130 (1998).
- [91] L. Nicoud, F. Licordari, A.S. Myerson, *CrystEngComm*, **21** 2105-2118 (2019).

- [92] M. Haisa, S. Kashino, H. Maeda, *Acta Crystallographica Section B-Structural Science*, **30** 2510-2512 (1974).
- [93] P. DiMartino, P. Conflant, M. Drache, J.P. Huvenne, A.M. GuyotHermann, *Journal of Thermal Analysis*, **48** 447-458 (1997).
- [94] L.H. Thomas, C. Wales, L.H. Zhao, C.C. Wilson, *Crystal Growth & Design*, **11** 1450-1452 (2011).
- [95] E.H. Lee, *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, **9** 163-175 (2014).
- [96] L. Nicoud, F. Licordari, A.S. Myerson, *Crystal Growth & Design*, **18** 7228-7237 (2018).
- [97] L.R. Agnew, D.L. Cruickshank, T. McGlone, C.C. Wilson, *Chemical Communications*, **52** 7368-7371 (2016).
- [98] S.J. Smith, M.M. Bishop, J.M. Montgomery, T.P. Hamilton, Y.K. Vohra, *Journal of Physical Chemistry A*, **118** 6068-6077 (2014).
- [99] J.Y.Y. Heng, D.R. Williams, *Langmuir*, **22** 6905-6909 (2006).
- [100] N. Tsapatsaris, B.A. Kolesov, J. Fischer, E.V. Boldyreva, L. Daemen, J. Eckert, H.N. Bordallo, *Molecular Pharmaceutics*, **11** 1032-1041 (2014).
- [101] T. Beyer, G.M. Day, S.L. Price, *Journal of the American Chemical Society*, **123** 5086-5094 (2001).
- [102] M.J. Turner, S.P. Thomas, M.W. Shi, D. Jayatilaka, M.A. Spackman, *Chemical Communications*, **51** 3735-3738 (2015).
- [103] A.L. Grzesiak, M.D. Lang, K. Kim, A.J. Matzger, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, **92** 2260-2271 (2003).
- [104] K.V. Drozd, A.N. Manin, A.V. Churakov, G.L. Perlovich, *CrystEngComm*, **19** 4273-4286 (2017).
- [105] L.L. Brunton, *As bases farmacológicas da terapêutica de Goodman & Gilman*, 12 ed., McGraw-Hill, Porto Alegre, RS, Brasil, 2012.
- [106] P. Fernandes, K. Shankland, A.J. Florence, N. Shankland, A. Johnston, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, **96** 1192-1202 (2007).
- [107] M.M.J. Lowes, M.R. Cairra, A.P. Lotter, J.G. Vanderwatt, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, **76** 744-752 (1987).
- [108] A.J.C. Cabeza, G.M. Day, W.D.S. Motherwell, W. Jones, *Chemical Communications*, 1600-1602 (2007).
- [109] F.P.A. Fabbiani, L.T. Byrne, J.J. McKinnon, M.A. Spackman, *CrystEngComm*, **9** 728-731 (2007).
- [110] V.L. Himes, A.D. Mighell, W.H. Decamp, *Acta Crystallographica Section B-Structural Science*, **37** 2242-2245 (1981).
- [111] J.P. Reboul, B. Cristau, J.C. Soyfer, J.P. Astier, *Acta Crystallographica Section B-Structural Science*, **37** 1844-1848 (1981).
- [112] J.N. Lisgarten, R.A. Palmer, J.W. Saldanha, *Journal of Crystallographic and Spectroscopic Research*, **19** 641-649 (1989).
- [113] N. El Hassan, A. Ikni, J.M. Gillet, A. Spasojevic-de Bire, N.E. Ghermani, *Crystal Growth & Design*, **13** 2887-2896 (2013).
- [114] I. Sovago, M.J. Gutmann, H.M. Senn, L.H. Thomas, C.C. Wilson, L.J. Farrugia, *Acta Crystallographica Section B-Structural Science Crystal Engineering and Materials*, **72** 39-50 (2016).
- [115] M.D. Lang, J.W. Kampf, A.J. Matzger, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, **91** 1186-1190 (2002).

- [116] J.B. Arlin, L.S. Price, S.L. Price, A.J. Florence, *Chemical Communications*, **47** 7074-7076 (2011).
- [117] G. Reck, G. Dietz, *Crystal Research and Technology*, **21** 1463-1468 (1986).
- [118] R.K. Harris, P.Y. Ghi, H. Puschmann, D.C. Apperley, U.J. Griesser, R.B. Hammond, C.Y. Ma, K.J. Roberts, G.J. Pearce, J.R. Yates, C.J. Pickard, *Organic Process Research & Development*, **9** 902-910 (2005).
- [119] T. Gelbrich, M.B. Hursthouse, *CrystEngComm*, **8** 448-460 (2006).
- [120] A. Kogan, I. Popov, V. Uvarov, S. Cohen, A. Aserin, N. Garti, *Langmuir*, **24** 722-733 (2008).
- [121] S. Sehic, G. Betz, S. Hadzidedic, S.K. El-Arini, H. Leuenberger, *International Journal of Pharmaceutics*, **386** 77-90 (2010).
- [122] USP, in: U.S.P. Convention (Ed.), Rockville, United States of America (2011).
- [123] M.A.L. Pinto, B. Ambrozini, A.P.G. Ferreira, E.T.G. Cavaleiro, *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, **50** 877-884 (2014).
- [124] W.W.L. Young, R. Suryanarayanan, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, **80** 496-500 (1991).
- [125] C. McGregor, M.H. Saunders, G. Buckton, R.D. Saklatvala, *Thermochimica Acta*, **417** 231-237 (2004).
- [126] M.C. Meyer, A.B. Straughn, E.J. Jarvi, G.C. Wood, F.R. Pelsor, V.P. Shah, *Pharmaceutical Research*, **9** 1612-1616 (1992).
- [127] M.C. Meyer, A.B. Straughn, R.M. Mhatre, V.P. Shah, R.L. Williams, L.J. Lesko, *Pharmaceutical Research*, **15** 1787-1791 (1998).
- [128] Y. Kobayashi, S. Ito, S. Itai, K. Yamamoto, *International Journal of Pharmaceutics*, **193** 137-146 (2000).
- [129] F. Flicker, V.A. Eberle, G. Betz, *International Journal of Pharmaceutics*, **410** 99-106 (2011).
- [130] G.P. Tavares, C.C. Pires, J.D.D. Souza, L. Tasso, *SCIENTIA CUM INDUSTRIA (SCI. CUM IND.)*, **4** 161-166 (2016).
- [131] A.J. McLachlan, S.E. Tett, *British Journal of Clinical Pharmacology*, **41** 291-298 (1996).
- [132] S. Sungkanuparph, C. Savetamornkul, W. Pattanapongpaiboon, *Clinical Infectious Diseases*, **64** 967-970 (2017).
- [133] J.C.R. Correa, H.R.N. Salgado, *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, **41** 270-279 (2011).
- [134] K.L. Goa, L.B. Barradell, *Drugs*, **50** 658-690 (1995).
- [135] X.J. Gu, W. Jiang, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, **84** 1438-1441 (1995).
- [136] K.A. Alkhamis, A.A. Obaidat, A.F. Nuseirat, *Pharmaceutical Development and Technology*, **7** 491-503 (2002).
- [137] S.R. Desai, M.M. Shaikh, S.R. Dharwadkar, *Thermochimica Acta*, **399** 81-89 (2003).
- [138] M. Caira, K.A. Alkhamis, R.M. Obaidat, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, **93** 601-611 (2004).
- [139] H.J. Park, M.S. Kim, S. Lee, J.S. Kim, J.S. Woo, J.S. Park, S.J. Hwang, *International Journal of Pharmaceutics*, **328** 152-160 (2007).
- [140] H.J. Park, M.S. Kim, J.S. Kim, W. Cho, J. Park, K.H. Cha, Y.S. Kang, S.J. Hwang, *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, **58** 1243-1247 (2010).
- [141] M. Karanam, S. Dev, A.R. Choudhury, *Crystal Growth & Design*, **12** 240-252 (2012).

- [142] E.A. Gorkovenko, S.E. Kichanov, D.P. Kozlenko, A.V. Belushkin, J. Wasicki, W. Nawrocik, J. Mielcarek, L.S. Dubrovinsky, C. Lathe, B.N. Savenko, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, **104** 4164-4169 (2015).
- [143] P.A. Basford, K.R. Back, M. Cram, R. Docherty, R.J. Davey, A.J. Cruz-Cabeza, *Crystal Growth & Design*, **19** 7193-7205 (2019).
- [144] P.A. Basford, C.A. Cameron, A.J. Cruz-Cabeza, *Crystal Growth & Design*, **20** 6044-6056 (2020).
- [145] I. Bruno, S. Gražulis, J.R. Helliwell, S.N. Kabekkodu, J. Westbrook, in: *Data Science Journal*, pp. 1-17 (2017).
- [146] A.O. Surov, A.P. Voronin, N.A. Vasilev, A.V. Churakov, G.L. Perlovich, *Crystal Growth & Design*, **20** 1218-1228 (2020).
- [147] S.R. Desai, S.R. Dharwadkar, *Acta Poloniae Pharmaceutica*, **66** 115-122 (2009).
- [148] M. Nowak, M. Gajda, P. Baranowski, P. Szymczyk, B. Karolewicz, K.P. Nartowski, *Pharmaceutics*, **12** (2020).
- [149] M. Aulton, *Dissolução e solubilidade: delineamento de formas farmacêuticas*, Artmed, 2005.
- [150] M.K. Bommaka, M.K.C. Mannava, K. Suresh, A. Gunnam, A. Nangia, *Crystal Growth & Design*, **18** 6061-6069 (2018).
- [151] J.E. Gonçalves, J. Souza, S. Storpirtis, *Avaliação da permeabilidade de fármacos empregando culturas celulares.*, Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, Brazil, 2009.
- [152] L.F. Diniz, P.S. Carvalho, S.A.C. Pena, J.E. Goncalves, M.A.C. Souza, J.D. de Souza, L.F.O. Bomfim, C.H.J. Franco, R. Diniz, C. Fernandes, *International Journal of Pharmaceutics*, **587** (2020).
- [153] R. Lobenberg, G.L. Amidon, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, **50** 3-12 (2000).
- [154] M.K.C. Mannava, K. Suresh, A. Nangia, *Crystal Growth & Design*, **16** 1591-1598 (2016).
- [155] K.E.R. Silva, L.D.S. Alves, M.F.R. Soares, R.C.S. Passos, A.R. Faria, P.J. Rolim Neto, *Rev Ciênc Farm Básica Apl.*, **30** 129-135 (2009).
- [156] L.F. Diniz, P.S. Carvalho, C.C. de Melo, J. Ellena, *Crystal Growth & Design*, **17** 2622-2630 (2017).