



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE FARMÁCIA, ODONTOLOGIA E ENFERMAGEM
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

YARA SANTIAGO DE OLIVEIRA

DESENHO RACIONAL DE FÁRMACOS SÓLIDOS COM LIMITAÇÕES
FARMACÊUTICAS: CLORIDRATO DE RALOXIFENO E
BENZOILMETRONIDAZOL

FORTALEZA

2019

YARA SANTIAGO DE OLIVEIRA

DESENHO RACIONAL DE FÁRMACOS SÓLIDOS COM LIMITAÇÕES
FARMACÊUTICAS: CLORIDRATO DE RALOXIFENO E
BENZOILMETRONIDAZOL

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Ceará, como parte do requisito para obtenção do título de Doutora em Ciências Farmacêuticas. Área de concentração: Farmácia. Linha de Pesquisa: Biologia para a Saúde.

Orientador: Prof. Dr. Alejandro Pedro Ayala

FORTALEZA

2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

O52d Oliveira, Yara Santiago de.
Desenho Racional de Fármacos Sólidos com Limitações Farmacêuticas : cloridrato de raloxifeno e benzoilmetronidazol / Yara Santiago de Oliveira. – 2019.
120 f. : il. color.

Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Fortaleza, 2019.
Orientação: Prof. Dr. Alejandro Pedro Ayala .

1. desenho racional. 2. cloridrato de raloxifeno. 3. benzoilmetronidazol. I. Título.

CDD 615

YARA SANTIAGO DE OLIVEIRA

DESENHO RACIONAL DE FÁRMACOS SÓLIDOS COM LIMITAÇÕES
FARMACÊUTICAS: CLORIDRATO DE RALOXIFENO E
BENZOILMETRONIDAZOL

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Ceará, como parte do requisito para obtenção do título de Doutora em Ciências Farmacêuticas. Área de concentração: Farmácia. Linha de Pesquisa: Biologia para a Saúde.

Orientador: Prof. Dr. Alejandro Pedro Ayala

Aprovada em: __/__/____

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Alejandro Pedro Ayala (Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Profa. Dra. Luzia Kalyne Almeida Moreira Leal
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Pierre Basílio Almeida Fechine
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Angelo Roncalli Alves e Silva
Universidade de Fortaleza (Unifor)

Profa. Dra. Tamara Gonçalves de Araújo
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Este trabalho é dedicado aos meus pais,
Fatima e Cleudon, pelo amor, incentivo e
exemplo de honestidade e ética.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, pela coragem para enfrentar os desafios que a vida oferece e por mais esta etapa estar sendo concluída.

Aos meus pais, Fatima e Cleudon, pelo amor incondicional que me dedicam, pelo exemplo de determinação, coragem e fé inabaláveis, pelo incentivo e motivação para galgar sempre passos mais elevados nos degraus da vida e nos meandros da alma.

Ao Professor Alejandro Ayala, que orienta seus alunos com excelência, sendo exemplo de profissional. Agradeço por toda a paciência e ensinamentos.

Aos meus colegas do LabCrEs, pelas discussões científicas, risadas e pelas diversas situações que me fizeram uma profissional e pessoa melhor.

Aos meus especiais amigos Silmara e Wendell, por todos os anos que configuram a construção sólida de uma bela amizade, por me ajudarem em todos os momentos, pelos sorrisos e afeto sincero que jamais serão esquecidos.

Às minhas amigas Keilla, Jéssica, Mayra e Ana Georgina, por toda a paciência, carinho e incentivos durante esta trajetória. À Beatriz, pela disponibilidade para ajudar.

À minha amiga de infância Greice Kelly e aos meus amigos de colégio Aduino e Ticiane pelo companheirismo, sorrisos, bom humor e positividade inesgotáveis.

À equipe do CEDEFAR, especialmente ao Professor Luís Carlos, Dr. Mário e Márcia, pela solicitude e disposição em ajudar quando precisei. O meu agradecimento sincero por todos os ensinamentos, por manterem sempre as portas abertas e proporcionar um ambiente em que sempre me senti acolhida.

Às minhas amigas da faculdade Sibelle, Hellen, Talita, Santelma e Cláudia, que no seu dia-a-dia de trabalho, garra e determinação me inspiram a ser o melhor que posso, dentro das minhas possibilidades evolutivas.

Aos professores participantes da banca examinadora pelas valiosas colaborações e sugestões.

Ao programa de pós-graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Ceará, pela oportunidade de adquirir conhecimentos únicos. E ao Maxwilliam e Jéssica, que sempre ajudam aos pós-graduandos com disposição, paciência e sorrisos.

À CAPES, por fornecer a bolsa de doutorado e pela oportunidade do doutorado sanduíche na Irlanda.

Ao professor Michael Zaworotko agradeço pela oportunidade de aprendizagem, e ao grupo de Engenharia de cristais, pela receptividade e ensinamentos. Ao Matteo que me supervisionou. À Alcemira, Pauric e AB por dividirem seus ensinamentos. Aos amigos Amrit, Vivek e Naga, agradeço pelos momentos de descontração, sorrisos e amizade.

Aos meus familiares, amigos e todos aqueles que passaram por mim durante este tempo, o meu muito obrigada pela torcida, apoio, críticas e carinho.

“Crystal growth is a science and an art. The scientists’ role in the crystal growth process is that of an assistant who helps molecules to crystallize. Most molecules, after all, are very good at growing crystals. The scientific challenge is to learn how to intervene in the process in order to improve the final product.”

Etter

RESUMO

O uso dos *synthons* supramoleculares como estratégia para controlar a estrutura cristalina é a chave para o desenvolvimento de novas formas sólidas com propriedades físico-químicas otimizadas *by design*. Contudo, para alcançar este objetivo, é necessário entender as interações intermoleculares no contexto do empacotamento cristalino. Identificar potenciais sítios de ligação de hidrogênio no Ingrediente Farmacêutico Ativo (IFA) e selecionar o coformador correto, que possua grupos capazes de realizar ligações de hidrogênio complementares é o passo inicial para a descoberta de *synthons* supramoleculares com relevância farmacêutica. Neste trabalho os fármacos cloridrato de raloxifeno (RLC) e benzoilmetronidazol (BZMD) foram utilizados, devido a baixa solubilidade dos mesmos em água. O RLC passou por uma triagem mediante seleção de solventes. No que concerne ao BZMD o *synthon* imidazol...hidroxila foi investigado, explorando-se diferentes proporções estequiométricas IFA:coformador. Os métodos empregados para obtenção de novas formas sólidas foram ativação mecanoquímica, evaporação lenta e cristalização por arrefecimento. A difração de raios-X de monocristal foi empregada para elucidação estrutural, enquanto a caracterização foi realizada por difração de raios-X de pó, espectroscopia vibracional e análise térmica. A solubilidade também foi realizada, visando comparar o perfil das novas formas sólidas com a forma comercializada. No que concerne ao RLC quatro clatratos foram obtidos, com acetona, N,N-dimetilformamida, metanol e N,N-dimetilacetamida (solventes convidados). Além disso, o clatrato com N,N-dimetilformamida apresentou polimorfismo (polimorfos α e β). A solubilidade de duas das novas estruturas exibiu melhora da taxa de dissolução em água quando comparadas a forma sólida comercializada. Quanto ao BZMD treze novas formas sólidas (dois sais e onze cocristais) foram produzidos com sucesso, e as estruturas cristalinas foram elucidadas, confirmando a robustez do *synthon* selecionado. Quanto a solubilidade, o sal com o coformador ácido 2,6-dihidroxibenzoico (BZMD2,6DBA) apresentou a melhor solubilidade dentre as novas formas sólidas analisadas, e os cocristais com ácido 3,5-dinitrobenzóico (BZMD3,5DNZ) e ácido 4-metóxi-benzóico (BZMDMAC) tem uma solubilidade menor que a do restante das formas sólidas analisadas. Dessa forma, este trabalho empregou com sucesso o design racional de estruturas, baseado na Engenharia de Cristais.

Palavras-chave: Desenho racional, Cloridrato de raloxifeno, Benzoilmetronidazol.

ABSTRACT

The use of supramolecular synthons as a strategy to control the crystal structure is the key to the development of new solid forms with physicochemical properties optimized by design. However, to achieve this objective, it is necessary to understand intermolecular interactions in the context of crystalline packing. Identifying potential hydrogen bonding sites in the Active Pharmaceutical Ingredient (API) and selecting the correct coformer, which has groups capable of performing complementary hydrogen bonds, is the initial step for the discovery of supramolecular synthons with pharmaceutical relevance. In this work the drugs raloxifene hydrochloride (RLC) and benzoylmetronidazole (BZMD) were used, due to their low solubility in water. RLC was screened by solvent selection. Concerning BZMD, the synthon imidazol ... hydroxyl was investigated, and different stoichiometric IFA: coformer ratios were explored. The methods used to obtain new solid forms were mechanochemical activation, slow evaporation and cooling crystallization. Single-crystal X-ray diffraction was employed for structural elucidation, while characterization was performed by powder X-ray diffraction, vibrational spectroscopy and thermal analysis. The solubility was also performed, aiming to compare the profile of the new solid forms with the commercialized form. Related to RLC four clathrates were obtained with acetone, N, N-dimethylformamide, methanol and N,N-dimethylacetamide (guest solvents). In addition, a clathrate with N, N-dimethylformamide showed polymorphism (α and β polymorphs). The solubility of two of the novel structures exhibited improved dissolution rate in water when compared to the commercially available solid form. Related to BZMD, thirteen new solid forms (two salts and eleven cocrystals) were successfully produced, and the crystalline structures were elucidated, confirming the robustness of the selected synthon. The solubility of the salt with the conformer 2,6-dihydroxybenzoic acid (BZMD2,6DBA) showed the best solubility among the new solid forms analyzed, and the cocrystals with 3,5-dinitrobenzoic acid (BZMD3,5DNZ) and 4-methoxybenzoic acid (BZMDMAC) has a lower solubility than the other solid forms analyzed. Thus, this work successfully employed the rational design of structures, based on Crystal Engineering.

Keywords: Rational design, Raloxifene Hydrochloride, Benzoylmetronidazole.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	– Esquema representativo de formas sólidas cristalinas. Adaptado de Vioglio, Chierotti e Gobetto, 2017.....	19
Figura 2	– <i>Synthon</i> envolvido na formação de dímeros em ácido benzoico obtido através dos softwares ConQuest 1.20 [®] e Mercury 3.10 [®]	25
Figura 3	– Ilustração de (a) <i>homosynthon</i> e (b) <i>heterosynthon</i> supramoleculares obtidos através dos softwares ConQuest 1.20 [®] e Mercury 3.10 [®]	26
Figura 4	– Representação do (a) Moinho de bolas e (b) vasos e bolas de aço inoxidável obtidas do site da Retsch	34
Figura 5	– Representação do processo de evaporação lenta	35
Figura 6	– Representação do processo de evaporação lenta com agulha na tampa do frasco	35
Figura 7	– Representação do processo de difusão por vapor	36
Figura 8	– Representação do processo de cristalização por arrefecimento	37
Figura 9	– Equipamento STA 449 F3 Júpiter obtido através do manual da Netzsch.....	44
Figura 10	– As curvas de termogravimetria (linhas tracejadas) e calorimetria exploratória diferencial (linha sólida) do BZMD (a) matéria-prima, e das formas sólidas (b) BZMD2,6DBA (c) BZMDMAC (d) BZMD3,5DNZ (e) BZMDFMA (f) BZMDSLCL. As curvas foram deslocadas verticalmente para maior clareza.....	100
Figura 11	– Curva de calibração do BZMD	103
Figura 12	– Curvas de (a) BZMDFMA (lilás) e FMA (verde) e (b) BZMD2,6DBA (vermelho) e 2,6DBA (azul), obtidas a partir da varredura realizada em UV/Vis	103
Figura 13	– Solubilidade do BZMD e novas formas sólidas	104

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Propriedades modificadas pela cocristalização.....	23
Tabela 2 – Solventes utilizados na MAS	47

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABN	Ácido 3-aminobenzóico
ACT	Acetona
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ATR	Refletância Total Atenuada
BCS	Sistema de Classificação Biofarmacêutica
BZC	Ácido benzóico
BZMD	Benzoilmetronidazol
BZMDH	Forma monohidratada do Benzoilmetronidazol
CCDC	Cambridge Crystallographic Data Center
CSD	Cambridge Structural Database
2,6DBA	Ácido 2,6-dihidroxibenzóico
3,5DBA	Ácido 3,5-dihidroxibenzóico
3,5DNZ	Ácido 3,5-dinitrobenzóico
DMA	N,N-Dimetilacetamida
DMF	N,N-Dimetilformamida
DSC	Calorimetria Exploratória Diferencial
EMA	European Medicines Agency
ER	Espectroscopia Raman
FDA	Food and Drug Administration
FMA	Ácido fumárico
GRAS	Geralmente Reconhecidos como Seguros
IAC	Ácido isoftálico
IFA	Insumo Farmacêutico Ativo
IR	Espectroscopia de Infravermelho
MAC	Ácido 4-metoxibenzóico
MAS	Moagem assistida por adição de solvente
MOH	Metanol
MS	Moagem à seco
MLC	Ácido maleico
MLN	Ácido malônico
NAF	β -naftol
PXRD	Difração de raios-X de pó

RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
RES	Resorcinol
RLC	Cloridrato de Raloxifeno
SCXRD	Difração de raios-X de Monocristal
SERM	Modulador Seletivo do Receptor de Estrógeno
SLC	Ácido salicílico
SQR	Substância Química de Referência
TEA	Trietanolamina
TG	Termogravimetria

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 - INTRODUÇÃO	16
1.1 O ESTADO SÓLIDO APLICADO AO CAMPO FARMACÊUTICO	18
1.1.1 Estado Sólido.....	18
1.1.2 Formas Sólidas	19
1.1.2.1 Polimorfismo	20
1.1.2.2 Solvato	21
1.1.2.3 Sais	22
1.1.2.4 Cocristais	22
1.2 O DESENHO RACIONAL DE FORMAS SÓLIDAS	24
1.2.1 O <i>Synthon</i> supramolecular dentro da abordagem racional	24
1.2.2 O papel do <i>CSD</i> como ferramenta para o desenho racional	27
1.2.3 O desenho racional aplicado aos fármacos.....	27
1.3 INGREDIENTES FARMACÊUTICOS ATIVOS	29
1.3.1 Cloridrato de Raloxifeno	29
1.3.2 Benzoilmetronidazol.....	30
1.3 OBJETIVOS	32
1.3.1 Geral	32
1.3.2 Específicos.....	32
CAPÍTULO 2 - MÉTODOS EXPERIMENTAIS	33
2.1 Cristalização.....	33
2.1.1 Moagem.....	33
2.1.2 Evaporação Lenta	34
2.1.3 Difusão por Vapor	36
2.1.4 Cristalização por Arrefecimento.....	37
2.2 Técnicas de Triagem, Identificação e Caracterização dos Sólidos Farmacêuticos...37	37
2.2.1 Espectroscopia Vibracional	38
2.2.1.1 Espectroscopia Raman.....	38
2.2.1.2 Espectroscopia de Infravermelho	39
2.2.2 Difração de raios-X	40
2.2.2.1 Difração de raios-X de pó.....	40
2.2.2.2 Difração de raios-X de Monocristal	41
2.2.3 Análise Térmica.....	43
2.2.3.1 Calorimetria Exploratória Diferencial	43
2.2.3.2 Termogravimetria	43

CAPÍTULO 3 - CLATRATOS ISOMÓRFICOS DE CLORIDRATO DE RALOXIFENO	46
3.1 Artigo: “Novel Isomorphic Clathrates of Raloxifene Hydrochloride with Improved Dissolution rate”	48
CAPÍTULO 4 - DESENHO RACIONAL APLICADO AO BENZOILMETRONIDAZOL	70
4.1 Artigo: “The Design of Novel Metronidazole Benzoate Structures: exploring stoichiometric diversity”	72
4.2 Análise do perfil térmico das novas formas sólidas obtidas a partir de BZMD	100
4.3 Solubilidade do Benzoilmetronidazol	102
5 CONCLUSÃO.....	105
REFERÊNCIAS	106
APÊNDICE A - Coformadores selecionados para combinar-se ao BZMD	115
APÊNDICE B – Produção Científica	118

CAPÍTULO 1 - INTRODUÇÃO

O entendimento das interações intermoleculares no contexto do empacotamento cristalino e a habilidade de prever estas interações intermoleculares, usando *synthons* supramoleculares como estratégia para controlar a estrutura cristalina são fatores chave para gerar novas formas sólidas com um conjunto desejável de propriedades físico-químicas (Desiraju, 2010; Corpinot e Bučar, 2019).

A possibilidade de desenhar estruturas racionalmente (Blagden *et al.*, 2007; Babu *et al.*, 2012; Bolla e Nangia, 2016) e melhorar propriedades físico-químicas com farmacocinética adaptada e propriedades mecânicas de compostos farmacêuticos, como solubilidade, estabilidade, fluidez e compressibilidade (Bolla e Nangia, 2016), depende de um caminho que não se restringe à “tentativa e erro”, mas agrega o desenho racional de formas sólidas como parte de um campo conhecido como Engenharia de Cristais (Kavanagh *et al.*, 2018).

O primeiro passo é identificar potenciais sítios de ligação de hidrogênio no Ingrediente Farmacêutico Ativo (IFA) e selecionar o coformador correto que possua grupos capazes de realizar ligações de hidrogênio complementares (Aitipamula *et al.*, 2014). Esta busca inicial é de vital importância para a descoberta de *synthons* supramoleculares com relevância farmacêutica (Kavanagh *et al.*, 2018; Saha e Desiraju, 2018). No caso de solvatos a seleção adequada de solventes é importante, de forma a direcionar a interação solvente-soluto.

A estratégia do desenho racional combina a capacidade de projetar racionalmente moléculas e a modulação das propriedades físico-químicas indesejáveis do fármaco, sem qualquer modificação covalente nas moléculas (Berry e Steed, 2017). De acordo com a disponibilidade de sítios de ligação apresentados no conformador, e considerando o *synthon* proposto e a complementaridade da ligação de hidrogênio como fator principal (Wang *et al.*, 2018), diferentes proporções estequiométricas podem ser exploradas.

Existe a possibilidade de gerar diferentes formas sólidas a partir da combinação IFA: Coformador (Berry e Steed, 2017; Healy *et al.*, 2017; Vioglio *et al.*, 2017; Shaikh *et al.*, 2018). Cocrystal farmacêuticos se consolidaram como nova forma sólida viável com fortes evidências científicas que corroboram seu potencial para fornecer novos medicamentos com propriedades "by design". Além disso, tem sido observado interesse

crecente da indústria farmacêutica em utilizar esses produtos, uma vez que eles são uma realidade no mercado. Assim, podemos citar os cocristsais Suglat[®] (empagliflozina e L-prolina), Steglatro[®] (ertuglifozina e ácido L-piroglutâmico) e Entresto[®] (valsartana e sacubitril) como exemplos de comercialização (Kavanagh *et al.*, 2018). O crescente interesse em usar cocristsais farmacêuticos levou o Food and Drug Administration (FDA) (Fda, 2018) e a European Medicines Agency (EMA) (Ema, 2015) a publicar documentos de posição relacionados a eles. Isso é considerado um marco regulatório, fornecendo orientação para a indústria e expandindo os registros para os cocristsais.

O emprego de princípios de engenharia de cristais pode ser utilizado para selecionar os coformadores adequados. No entanto, outros fatores também influenciam no produto final, como solvente, temperatura e metodologia aplicada (Aitipamula *et al.*, 2014; Sarraguca *et al.*, 2016). Existem alguns métodos que podem ser usados para obter novas formas sólidas, tais como ativação mecanoquímica, evaporação lenta e cristalização por arrefecimento (James *et al.*, 2012; Delori *et al.*, 2013; Do e Friscic, 2017; Douroumis *et al.*, 2017b; Hasa e Jones, 2017), os quais podem ser alinhados com o desenho racional.

Após a obtenção de novas formas sólidas, a triagem, identificação e caracterização são empregadas, com o intuito de manter a qualidade, segurança e eficácia. Neste trabalho foram empregadas técnicas estruturais, tais como difração de raios-X de monocristal (SCXRD), para elucidação estrutural e difração de raios-X de pó, técnicas de espectroscopia vibracional, bem como de análise térmica.

Neste trabalho o cloridrato de raloxifeno e o benzoilmetronidazol, fármacos que pertencem às classes II e IV do sistema classificação biofarmacêutico, apresentam uma baixa solubilidade em água, e empregando o desenho racional a modulação de propriedades físico-químicas e biofarmacêuticas foi possível.

Ressalta-se que não existem estudos prévios descrevendo os resultados apresentados neste trabalho, o que o torna inédito. O presente trabalho é ainda bastante relevante, haja vista a possibilidade de desenhar racionalmente estruturas cristalinas, com a possibilidade de otimizar propriedades que estão intrinsecamente relacionadas a eficácia e ao sucesso terapêutico.

1.1 O ESTADO SÓLIDO APLICADO AO CAMPO FARMACÊUTICO

1.1.1 Estado Sólido

Ingredientes Farmacêuticos Ativos (IFAs) são preferencialmente administrados como sólidos, representando mais de 80% dos medicamentos formulados. Isso se deve à facilidade de manuseio durante o desenvolvimento de medicamentos, sua maior estabilidade físico-química sobre uma solução ou formulação semissólida e maior facilidade de armazenamento (Thakuria e Thakur, 2017; Couillaud *et al.*, 2019).

Os sólidos podem ser amplamente classificados em cristalinos e amorfos com base na presença ou ausência de ordem tridimensional de longo alcance (Thakuria e Thakur, 2017). Desta forma, a cristalografia descreve os modos pelos quais os átomos que formam os cristais estão organizados e como a ordem de longo alcance é produzida. Os sólidos cristalinos são formados por celas unitárias que consistem na unidade estrutural básica de um cristal, sendo este formado por um empilhamento destas celas através de repetições translacionais (Vippagunta *et al.*, 2001; Datta e Grant, 2004), de modo que a menor quantidade de informação necessária para definir uma estrutura cristalina é o tipo da cela unitária, os parâmetros da cela unitária e a posição de todos os átomos na cela unitária (Tilley, 2014).

Ao contrário do que ocorre com os sólidos cristalinos, os sólidos amorfos não contêm ordenação de longo alcance. Os sólidos farmacêuticos amorfos têm atraído a atenção da indústria devido às suas vantagens de biodisponibilidade sobre a contraparte cristalina (Zu *et al.*, 2014; Aucamp *et al.*, 2015; Kanaujia *et al.*, 2015), uma vez que sua energia livre mais alta poderia dar origem a uma melhor solubilidade (Hancock e Zografi, 1997; Hancock e Parks, 2000). A medição e a estimativa da melhoria em relação à solubilidade e biodisponibilidade atingidas utilizando-se a forma amorfa de um fármaco apresenta um significativo desafio, uma vez que o estado amorfo está distante do equilíbrio (Hancock e Parks, 2000). A instabilidade termodinâmica dos materiais amorfos os torna propensos à recristalização, que pode ocorrer durante a fabricação, armazenamento ou administração (Luthra *et al.*, 2012; Laitinen *et al.*, 2014).

Nas próximas seções serão discutidos com mais detalhes alguns sistemas cristalinos possíveis que são de grande importância no cenário farmacêutico.

1.1.2 Formas Sólidas

Como citado no item 1.1.1 os sólidos podem ser classificados em cristalinos e amorfos com base na presença ou ausência de ordem tridimensional de longo alcance (Thakuria e Thakur, 2017), podendo os IFAs existirem em mais de uma forma cristalina estável (Douroumis *et al.*, 2017), que por sua vez podem ser divididas em monocomponentes e multicomponentes (Figura 1).

Em termos de propriedade intelectual, cocrystalis e sais de IFA são consideradas formas sólidas patenteáveis e representam uma oportunidade comercial (Trask, 2007; Berry e Steed, 2017). Além disso, um novo sal ou cocrystal é elegível para uma extensão dos direitos de patente: a aprovação também será mais simples devido à existência de conhecimento prévio proveniente da forma farmacêutica inicial (Vioglio *et al.*, 2017).

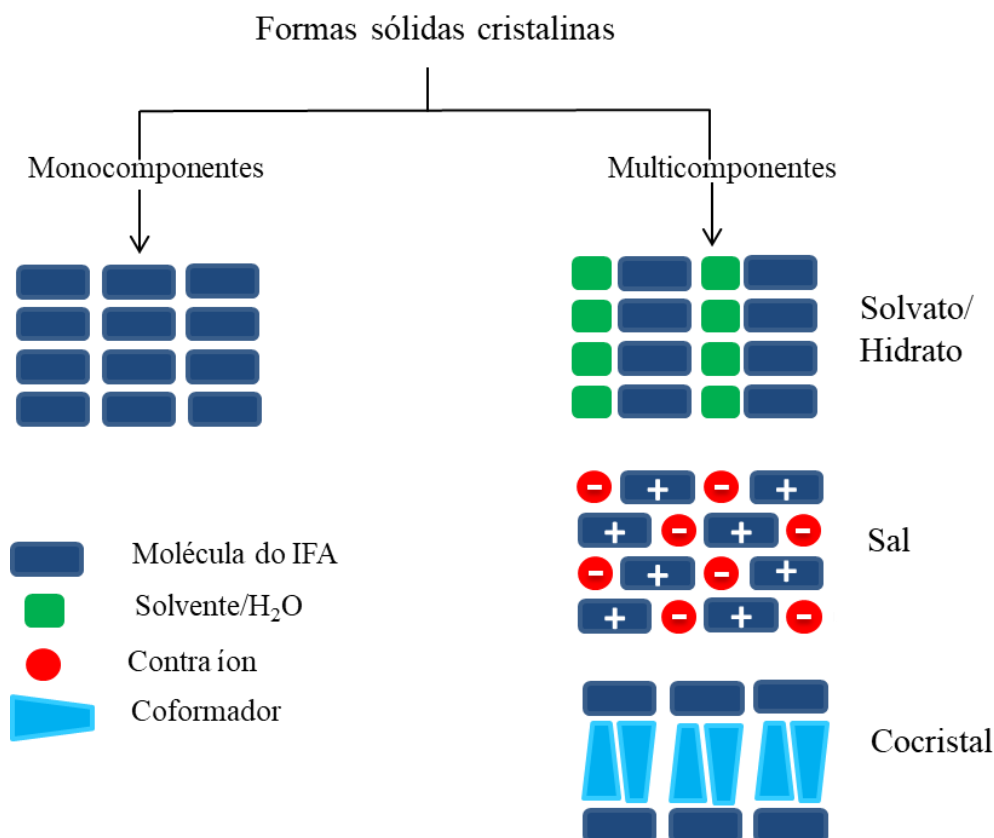


Figura 1 - Esquema representativo de formas sólidas cristalinas. Adaptado de Vioglio, Chierotti e Gobetto, 2017.

As formas sólidas são de grande importância no contexto industrial farmacêutico, particularmente pela capacidade de apresentarem diferentes propriedades físico-químicas e biofarmacêuticas e que, por sua vez, podem ser otimizadas (Couillaud *et al.*, 2019). Estas diferenças se devem ao arranjo molecular no sólido, o que define as

interações entre as moléculas. Logo, a modificação da estrutura cristalina é uma estratégia que pode ser utilizada para melhorar as propriedades no estado sólido de um IFA (Tilley, 2014). Dentre as formas sólidas possíveis de serem obtidas, o polimorfismo, os cocristais, os sais e solvatos serão descritos, visto sua importância para a indústria farmacêutica, além do fato de que as formas sólidas citadas compreendem as obtidas no presente estudo.

1.1.2.1 Polimorfismo

Sólidos cristalinos (monocomponentes e multicomponentes) podem existir como polimorfos (Thakuria e Thakur, 2017; Couillaud *et al.*, 2019). O polimorfismo é a habilidade de uma substância existir em, pelo menos, duas formas cristalinas diferentes, com a mesma composição química, mas diferentes arranjos espaciais (Hilfiker *et al.*, 2006; Aitipamula *et al.*, 2014; Gonnade e Sangtani, 2017). O polimorfismo é um fenômeno bem descrito na literatura (Aitipamula *et al.*, 2014), e o próprio termo, do grego *poli* (vários) e *morfos* (forma), indica a diversidade de um fenômeno, ou objeto.

O polimorfismo é amplamente prevalente em sólidos farmacêuticos. Cerca de 50% dos IFAs conhecidos são polimórficos e estima-se que mais de 50% tenham mais de uma forma polimórfica (Pindelska *et al.*, 2017; Thakuria e Thakur, 2017). Muitas das propriedades físico-químicas de um sólido variam quando a estrutura cristalina deste é alterada, como ponto de fusão, solubilidade, densidade, estabilidade física e química. Portanto, diferentes polimorfos podem apresentar distintas propriedades físico-químicas e tais propriedades são de grande interesse para a indústria farmacêutica, uma vez que podem afetar significativamente a biodisponibilidade dos fármacos (Zhou *et al.*, 2018).

É muito importante investigar todas as fases sólidas de um IFA, seu comportamento de interconversão e suas propriedades físico-químicas para a seleção da forma sólida adequada de um fármaco a ser utilizado em formulações, pois as transições de fase polimórfica em sólidos têm implicações diretas na eficácia terapêutica e estabilidade (Du *et al.*, 2015; Ehiwe *et al.*, 2016; Thakral *et al.*, 2018). Nesse sentido, é importante fornecer evidências do controle da forma polimórfica, desde a obtenção do IFA, passando pela fabricação da forma farmacêutica, até as etapas de biodisponibilidade e estabilidade (Thakuria e Thakur, 2017), o que pode ser proporcionado pela utilização de diferentes técnicas analíticas, como a difração de raios-X de monocristal (SCXRD), difração de raios-X de pó (PXRD), espectroscopia vibracional, análise térmica, estudos de estabilidade e

perfis de solubilidade e dissolução (Bruni *et al.*, 2011; Pindelska *et al.*, 2017), que são ferramentas fundamentais.

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) publicou a Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) N° 57, de 17 de novembro de 2009, que dispõe sobre o registro de Insumos Farmacêuticos Ativos (IFA) e dá outras providências. O item 5 da Resolução traz como requisito as informações técnicas do IFA. Ainda no referido item, a caracterização e o controle de qualidade dos IFAs quanto ao polimorfismo são exigidos, a fim de discriminar as características do polimorfo utilizado e também de outras formas polimórficas relacionadas ao insumo farmacêutico ativo. A inclusão de metodologia analítica adotada e resultados dos testes para determinação dos prováveis polimorfos do insumo também deve ser realizada (Anvisa, 2009; Bezerra, 2017).

1.1.2.2 Solvato

Compostos podem cristalizar juntamente com moléculas de solventes, fazendo, este último, parte da estrutura cristalina, originando os solvatos. Quando a água é o solvente presente na estrutura cristalina, este solvato é denominado hidrato. Segundo Healy (2017) os hidratos e solvatos são adutos moleculares de sólidos cristalinos multicomponentes contendo tanto a molécula hóspede (IFA) como a molécula convidada (água no caso do hidrato ou outros solventes, no que concerne ao solvato) incorporados na estrutura da rede cristalina. A água e outras moléculas de solvente formam ligações de hidrogênio e coordenam as ligações covalentes em uma rede cristalina com IFAs. Moléculas de água têm tanto átomos doadores quanto aceptores, que podem formar ligações de hidrogênio intermoleculares com moléculas hóspedes. Como resultado, os hidratos são o tipo mais comum de compostos orgânicos solvatados (Healy *et al.*, 2017).

Durante o processo industrial de produção de medicamentos podem ocorrer exposições dos compostos a solventes ou vapores de solventes, comumente utilizados com o intuito de purificar ou separar a substância desejada. Entretanto, muitas vezes existe a captura deste(s) solvente(s) de cristalização como parte do sólido por meio de interações fracas ou por meio de captura/absorção pelo cristal em crescimento (Silva, 2010).

É possível a obtenção de solvatos não estequiométricos, com o solvente atuando como um preenchedor de espaços (Silva, 2010). Dentro deste contexto surgem os clatratos, que consistem de duas espécies moleculares organizadas no espaço, em que uma molécula (hospedeiro) aprisiona a outra (convidada) em cavidades, de modo que a molécula

convidada está completamente aprisionada pela molécula hospedeira (Patchkovskii e Tse, 2003; Bouhroum *et al.*, 2010).

1.1.2.3 Sais

Os sais são sistemas multicomponentes, formados quando a molécula de IFA apresenta-se carregada positiva ou negativamente e ácidos ou bases são adicionados a fim de cristalizá-las (Silva, 2010). Sais de fármacos ácidos têm sido comumente feitos com a utilização de sódio (Na^+) como contra-íon, enquanto que para fármacos básicos o cloreto (obtido a partir de ácido clorídrico) é o contra-íon preferido (Vioglio *et al.*, 2017).

A salificação é um procedimento comum na indústria farmacêutica, sendo utilizada por mais de um quarto de século (Berry e Steed, 2017; Vioglio *et al.*, 2017) e historicamente tem sido a primeira escolha para superar os problemas de baixa solubilidade de IFAs, uma vez que se estima que mais de 60% das novas moléculas apresentam baixa solubilidade aquosa. Dessa forma, com o intuito de modular propriedades físico-químicas de um IFA, tais como solubilidade, biodisponibilidade e estabilidade química, essa forma sólida pode ser utilizada. Estas alterações na química do estado sólido de moléculas de fármacos são comuns na indústria farmacêutica, uma vez que permitem a modificação das propriedades físicas de um fármaco, sem alterar a farmacologia do IFA através da modificação de ligações covalentes (Berry e Steed, 2017). Estima-se que mais de 50% dos medicamentos no mercado são vendidos como sais (Malamatari *et al.*, 2017; Surov *et al.*, 2017; Vioglio *et al.*, 2017).

1.1.2.4 Cocristais

A definição de cocrystal está sujeita a um amplo debate a nível químico e legal (Vioglio *et al.*, 2017). No entanto, a maioria dos autores concorda que cocristais são sólidos cristalinos neutros constituídos por, pelo menos, dois componentes sólidos sob condições ambientes, e apresentam uma estequiometria definida (Aitipamula *et al.*, 2014; Shaikh *et al.*, 2018). Os cocristais farmacêuticos são formados, pelo menos, por um fármaco e um coformador (Steed, 2013), com o estabelecimento de um *synthon* supramolecular (Berry e Steed, 2017). Segundo Desiraju (2013), o cocrystal é definido em termos de complexos moleculares, nos quais os cristais multicomponentes formam interações não covalentes específicas entre moléculas distintas (Desiraju, 2013).

No caso de cocrystalis farmacêuticos, os coformadores são substâncias definidas como GRAS (Geralmente Reconhecidas como Seguras) pelo FDA, ou seja, compostos adequados para consumo humano. De certo ponto de vista, a cocrystalização é semelhante à salificação: um grupo doador de ligação de hidrogênio dá origem a uma interação com um grupo aceptor (Vioglio *et al.*, 2017). Contudo, diferentemente dos sais, nos cocrystalis nenhuma transferência de cargas ocorre. Seus componentes interagem por ligações de hidrogênio ou outras interações não covalentes (Aitipamula *et al.*, 2014).

Muitas pesquisas na área farmacêutica estão voltadas para o estudo desta forma sólida e é certo que formulações contendo cocrystalis estão em desenvolvimento em diversas companhias. Os cocrystalis são particularmente atrativos porque podem ser racionalmente desenhados para ter propriedades melhoradas quando comparado às moléculas precursoras (Karimi-Jafari *et al.*, 2018). No contexto farmacêutico, a base da utilidade dos cocrystalis reside nas alterações que eles conferem nas interações intermoleculares no estado cristalino (Berry e Steed, 2017). A tabela 1 traz alguns exemplos de fármacos que tiveram suas propriedades otimizadas após a cocrystalização (Qiao *et al.*, 2011; Shaikh *et al.*, 2018).

Tabela 1 – Propriedades modificadas pela cocrystalização.

Fármaco	Coformador	Propriedades modificadas
Carbamazepina	Sacarina	biodisponibilidade
Meloxicam	Ácidos carboxílicos	taxa de dissolução e absorção oral
Ibuprofeno	teofilina	compressibilidade
Teofilina	nicotinamida	solubilidade
Norfloxacin	isonicotinamida	solubilidade
Cafeína	Galato de metila	Compactação do pó
Aciclovir	Ácido fumárico	solubilidade
Adevofir dipivoxil	Ácido subérico e ácido succinico	estabilidade

Estes sistemas constituem uma alternativa viável particularmente para fármacos pouco solúveis em água que compõem as classes II e IV do Sistema de Classificação Biofarmacêutica (Reddy e Karunakar, 2010), pois oferecem a oportunidade de modular propriedades físico-químicas e mecânicas, tais como ponto de fusão, higroscopicidade,

compressibilidade (Vioglio *et al.*, 2017), além de modificar propriedades biológicas referentes aos fármacos, tais como solubilidade e permeabilidade (Dalpiaz *et al.*, 2017).

O interesse de companhias farmacêuticas bem como a viabilidade de aplicação de estratégias com o intuito de obter novas formas sólidas tem levado o FDA e a ANVISA a elaborar documentos com a finalidade de fornecer uma melhor orientação em termos de regulamentação (Anvisa, 2017a; Fda, 2018). No caso da ANVISA foi lançada a nota técnica Nº 2/2017, intitulada “Registro de medicamentos novos, genéricos e similares contendo solvatos e cocrystalis como insumo farmacêutico ativo”, onde o cocrystal é definido como: “IFAs cristalizados com outras substâncias sólidas e neutras em condições ambientais, inclusive cristalizados com outros IFAs”.

1.2 O DESENHO RACIONAL DE FORMAS SÓLIDAS

O *design* e a síntese de formas sólidas multicomponentes, como cocrystalis, ganharam interesse significativo nos últimos tempos devido à sua aplicabilidade. Em produtos farmacêuticos, os cocrystalis de vários IFAs demonstraram oferecer melhoria de propriedades em comparação com seus medicamentos que utilizam apenas o fármaco isolado (Aitipamula *et al.*, 2014). Portanto, este capítulo traz o desenho racional de fármacos como estratégia fundamental para obtenção de novas formas sólidas.

Antes de falar efetivamente sobre desenho racional faz-se necessário compreender a importância dos *synthons*, bem como o papel da *Cambridge Structural Database (CSD)*, e como ela contribui para que novas formas sólidas sejam obtidas.

1.2.1 O *Synthon* supramolecular dentro da abordagem racional

Com o intuito de compreender o papel e a importância do *synthon* no desenho racional de formas sólidas, inicialmente faz-se necessário esclarecer o que este termo significa. O termo *synthon* foi originalmente introduzido por Corey para descrever as características estruturais de moléculas orgânicas sintéticas, mas foi redefinido por Desiraju (1995) como as menores unidades de uma supramolécula, que podem ser formadas por interações intermoleculares concebíveis. Assim, a formação de estruturas supramoleculares é um processo espontâneo (*self-assembly*) e não um processo em etapas, sendo originado de um mecanismo conhecido como reconhecimento molecular (Etter e Macdonald, 1990; Mukherjee *et al.*, 2013).

A Figura 2 representa a relação entre grupos funcionais formando um *synthon* supramolecular presente na estrutura cristalina do ácido benzoico. A molécula de ácido benzóico, portadora de grupo funcional com átomos doadores e aceptores de elétrons, conectados por estes, forma, desse modo, interações intermoleculares.

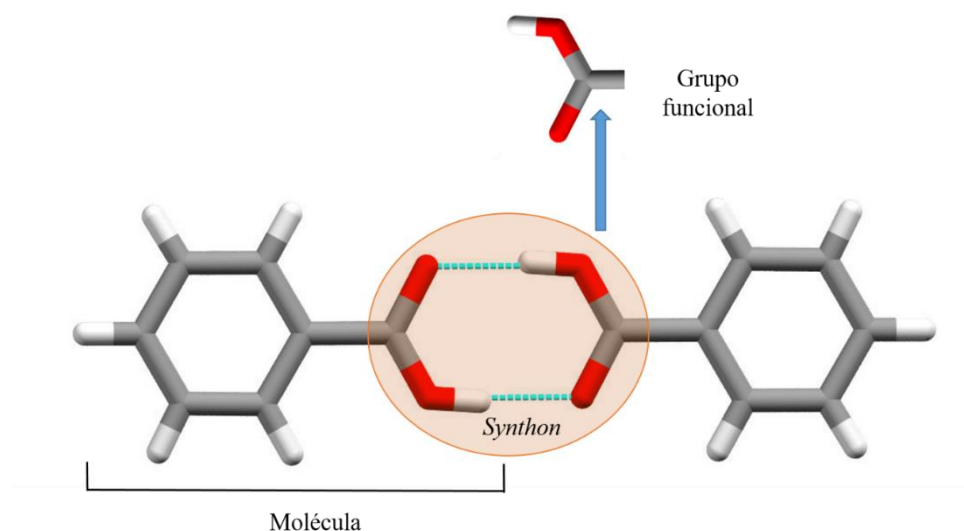


Figura 2 - *Synthon* envolvido na formação de dímeros em ácido benzoico obtido através dos softwares ConQuest 1.20[®] e Mercury 3.10[®].

Devido ao potencial de interações intermoleculares que cada molécula pode exibir por apresentar grupos funcionais capazes de formar estes tipos de interações intermoleculares de hidrogênio quando aplicados a sistemas multicomponentes, o desenho racional requer a identificação destas interações entre os grupos funcionais presentes na estrutura cristalina de um sólido cristalino a ser formado. Desse modo identificam-se os *synthons* supramoleculares formados entre os grupos funcionais da molécula em estudo.

A síntese supramolecular oferece um novo paradigma para o desenho de sólidos moleculares usando a automontagem de diferentes *synthons*, que se mantêm unidos por interações fracas comparadas com os enlaces covalentes, tais como: ligações de hidrogênio e as interações de van der Waals. Associado ao reconhecimento molecular existe uma alta flexibilidade frente a torções que controlam a estabilidade química, dissolução, solubilidade e biocompatibilidade (Desiraju, 2002).

Os *synthons* supramoleculares existem em duas diferentes categorias: os *homosynthons* supramoleculares (Figura 3a) que são formados de grupos funcionais complementares idênticos, e os *heterosynthons* (Figura 3b) por diferentes, mas

complementares grupos funcionais (Almarsson *et al.*, 2012; Duggirala *et al.*, 2016; Malamatarari *et al.*, 2017).

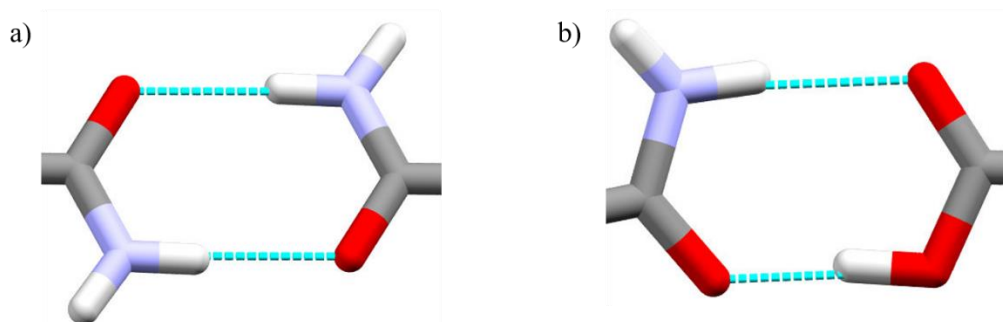


Figura 3 - Ilustração de (a) *homosynthon* e (b) *heterosynthon* supramoleculares obtidos através dos softwares ConQuest 1.20[®] e Mercury 3.10[®].

O primeiro passo para descrever os *synthons* supramoleculares entre os grupos funcionais dos componentes envolvidos na estrutura cristalina é seguir as regras de ligações de hidrogênio indicadas por Etter (Etter, 1990; 1991), levando-se em conta que as estratégias para o desenho de sólidos multicomponentes concentram-se nas consequências organizacionais dessas ligações. Essas regras fornecem informações úteis sobre os padrões preferenciais de conectividade e seletividade para um grupo funcional ou para um conjunto de grupos funcionais; desse modo favorecem os tipos de ligações de hidrogênio energeticamente favoráveis nas associações intermoleculares. A primeira regra foi desenvolvida por Donohue (Donohue, 1952) observando que todos os átomos de hidrogênio ácidos, disponíveis em uma molécula, participaram das ligações de hidrogênio na estrutura cristalina. A segunda regra, complementar à primeira, estabelece que todos os bons aceptores de elétrons são utilizados na ligação de hidrogênio quando existirem doadores disponíveis (Etter, 1982). E a terceira regra afirma que o melhor doador e o melhor aceptor formarão preferencialmente ligações de hidrogênio um com o outro (Etter, 1990).

A notação de Etter, utilizando descritores elementares de *graph-sets* pode ser utilizada para a análise de padrões de ligações de hidrogênio em cristais orgânicos (Berstein, 1990; Rejnhardt, 2019). A notação de um graph set é $G_d^a(r)$, em que "G" é um designador de padrão, "r" é seu grau, "d" denota o número de doadores e "a" o número de aceptores. O designador de padrão tem quatro atribuições diferentes: S, C, R e D, com base no fato de as ligações de hidrogênio serem inter ou intramoleculares. "S" denota uma ligação de hidrogênio intramolecular. Para ligações intermoleculares, "C" refere-se às cadeias infinitas ligadas a hidrogênio, "R" refere-se aos anéis e "D" refere-se aos dímeros não-cíclicos e

outros conjuntos finitos de ligação de hidrogênio. Contudo, a representação de uma interação particular entre duas funcionalidades usando notação *graph set* não fornece informações completas sobre o tipo de aceptores e doadores de ligação de hidrogênio. Por exemplo, um dímero de ácido (*homosynthon*) e o dímero ácido-amida (*heterosynthon*) são representados usando notação *graph set* $R_2^2(8)$, mas a representação não revela se o motivo de ligação de hidrogênio é o resultado da interação entre duas funcionalidades iguais ou diferentes. Esse problema pode ser resolvido usando *synthons* supramoleculares (Etter, 1990; Kavuru, 2012; Corpinot e Bučar, 2019).

1.2.2 O papel do CSD como ferramenta para o desenho racional

A *Cambridge Crystallographic Data Center (CCDC)* foi estabelecida no departamento de química orgânica da Universidade de Cambridge em 1965, e desenvolveu várias ferramentas que permitem pesquisas no CSD (Groom e Allen, 2014; Corpinot e Bučar, 2019), que é um repositório de estruturas cristalinas de compostos orgânicos e organometálicos, contendo mais de 900.000 entradas em 2019. O CSD é uma plataforma de software, que se constitui em ferramenta poderosa, para facilitar a análise estatística dos motivos de empacotamento, proporcionando informação empírica sobre grupos funcionais comuns e como se associam a nível molecular e supramolecular (CCDC, 2009). Esta base de dados permite a identificação da frequência de ocorrência de *synthons* supramoleculares em distintos grupos funcionais já reportados na literatura científica.

O primeiro passo em qualquer experimento de engenharia de cristais é analisar as estruturas cristalinas existentes pelo CSD, e através das informações sobre as possíveis ligações de hidrogênio intermoleculares, parte-se para a análise de frequência de ocorrência destes tipos de interações, auxiliando na identificação de *synthons* robustos e confiáveis e também oferece uma oportunidade para descobrir novos e potenciais *synthons* supramoleculares (Kavuru, 2012).

1.2.3 O desenho racional aplicado aos fármacos

O *design* baseado em ligação de hidrogênio de redes moleculares surgiu como uma ferramenta poderosa na descoberta de formas sólidas, sendo a identificação de interações intermoleculares robustas, a partir dos *synthons*, importantes na montagem supramolecular (Rodriguez-Hornedo, 2007; Corpinot e Bučar, 2019). A complexidade da maioria das moléculas de fármacos requer uma compreensão das interações intermoleculares

em um ambiente de ligações de hidrogênio competitivas. O desenho racional de sólidos moleculares é derivado da compreensão dessas interações intermoleculares que prevalecem nesses sólidos (Desiraju, 2010), visando à obtenção de formas sólidas com propriedades que favoreçam uma função específica, constituindo o campo da Engenharia de Cristais (Desiraju, 2013; Duggirala *et al.*, 2016).

A motivação para criar novas formas sólidas de moléculas de fármacos é consequência do quão importante são essas substâncias para o desempenho de medicamentos administrados por via oral (Duggirala *et al.*, 2016). Novas formas sólidas de IFA têm a capacidade de modificar propriedades físico-químicas, como solubilidade, estabilidade, ponto de fusão, e propriedades mecânicas, tais como fluidez e compressibilidade, bem como propriedades farmacocinéticas, biodisponibilidade e permeabilidade (Bolla e Nangia, 2016; Zhou *et al.*, 2016).

Técnicas rudimentares de tentativa e erro foram tradicionalmente empregadas para a seleção de coformador (Malamatari *et al.*, 2017), mas dentro da proposta *by design* a seleção de coformadores é realizada de forma mais racional, com maior potencial para interações intermoleculares e dessa forma maior probabilidade de formação de formas sólidas (Zhou *et al.*, 2016). Idealmente, os coformadores utilizados devem ser incluídos em uma lista do FDA que compreendem substâncias que são adequadas e aprovadas como geralmente reconhecidas como seguras (GRAS) (Steed, 2013; Surov *et al.*, 2017). A frequência de ocorrência de interações intermoleculares, bem como a identificação de potenciais *synthons* pode ser realizada com auxílio da base de dados *CSD*.

Para o planejamento das interações supramoleculares na estrutura cristalina, fazem-se necessários tipos de ligações de natureza direcional, como as ligações de hidrogênio (Etter, 1982; Aakeröy e Seddon, 1993; Trask e Jones, 2005). Dessa maneira, diferentes tipos de ligações de hidrogênio de intensidades variáveis são empregadas para descrever as interações supramoleculares, considerando-se desde as ligações mais fortes, $O\cdots H-O$ e $O-H\cdots N$, até a mais fraca, como $C-H\cdots Cl$ (Desiraju, 1997).

O emprego da Engenharia de cristais possibilitou, no início de 2015, que a Novartis obtivesse o cocrystal Entresto, utilizado no tratamento da insuficiência cardíaca crônica. O Entresto provou ser um tratamento com um benefício significativo na redução da mortalidade e ainda com tolerância (por parte dos pacientes) semelhante à do enalapril, sendo aprovado pela agência regulatória. A aprovação de um cocrystal farmacêutico, ocorrendo após a orientação do FDA e do documento de reflexão da EMA, estimulou o

interesse da indústria farmacêutica em cocristais como materiais para medicamentos (Bolla e Nangia, 2016; Duggirala *et al.*, 2016).

1.3 INGREDIENTES FARMACÊUTICOS ATIVOS

Esta etapa traz algumas informações gerais, bem como cristalográficas, relativas aos fármacos utilizados neste estudo.

1.3.1 Cloridrato de Raloxifeno

Raloxifeno (2-(4-hydroxyphenyl) -3-((4-[2-(piperidin-1-yl) ethoxy] phenyl) carbonyl)-1-benzothio-phen-6-ol) é um derivado benzotiofeno, geralmente comercializado na forma de sal, como cloridrato de raloxifeno (RLC), que se apresenta como pó amarelo pálido (Fagerholm, 2007). Este fármaco, na dose de 60 mg/dia, está aprovado para o uso na prevenção e tratamento de osteoporose em mulheres na pós-menopausa, e mostrou-se eficaz em aumentar a densidade mineral óssea e reduzir a incidência de fraturas vertebrais. O raloxifeno é classificado como um modulador seletivo do receptor de estrógeno (SERM) de segunda geração, baseado em seu efeito tecido-específico nos órgãos alvo de ação do estrógeno, o que confere ação antirreabsortiva no osso, antiproliferativa na mama e redução do colesterol (Kayath, 1999; Compston *et al.*, 2019; Wilson, 2019; Yedavally-Yellayi *et al.*, 2019).

A osteoporose é resultado do desequilíbrio entre os processos de remodelação e reabsorção óssea, havendo mais destruição pelos osteoclastos do que reposição óssea pelos osteoblastos (Ramalho *et al.*, 2000). Estima-se que mais de 9,9 milhões de americanos tem osteoporose e um adicional de 43,1 milhões tem baixa densidade óssea (Yedavally-Yellayi *et al.*, 2019). No Brasil, há escassez de dados referentes à população acometida pela osteoporose, mas estima-se que aproximadamente 10 milhões de brasileiros sofram com a doença, sendo que 2,4 milhões sofrem fraturas anualmente e destes, cerca de 200 mil morrerão em decorrência direta de suas fraturas. Evidências mostraram que a probabilidade de fratura por fragilidade do quadril, vértebra ou punho em homens brancos após os 50 anos situa-se em torno de 13% (versus 40% em mulheres) (Loures *et al.*, 2017).

O medicamento é administrado por via oral, uma vez que é comercializado na forma farmacêutica de comprimidos. Em comparação com vias alternativas, a oral é considerada a mais segura, conveniente e econômica (Barros e Barros, 2010). No entanto, as desvantagens são: a resposta lenta (em comparação com a via parenteral); a probabilidade de absorção irregular, dependendo de fatores como constituição física, quantidade ou tipo de

alimento presente no trato gastrintestinal; e destruição de certos fármacos pela reação com os ácidos do estômago ou com as enzimas gastrintestinais (Ansel *et al.*, 2013).

O RLC pertence à classe II do Sistema de classificação Biofarmacêutica (BCS), com uma solubilidade aquosa de 627,4 µg/mL (Teeter, Jerold Scott e Meyerhoff, Roger D. , 2002; Trontelj *et al.*, 2005), e uma biodisponibilidade absoluta de 2% (JHA et al., 2011), sendo um exemplo de fármaco com alta atividade farmacológica limitado por pobres propriedades físico-químicas.

1.3.2 Benzoilmetronidazol

O benzoilmetronidazol (BZMD), 2-(2-methyl-5nitro-1H-imidazol-1-yl)ethyl benzoate (Ali *et al.*, 1999), é um éster derivado do metronidazol. Pertence à classe dos derivados nitroimidazóis (Al Khafaji e Al-Bayati, 2017) e é indicado para o tratamento de infecções causadas por uma ampla gama de bactérias anaeróbicas, protozoários e bacteroides, incluindo tricomoníase, amebíase, vaginose e gengivite (Caira, 1993; Bempong *et al.*, 2005). O BZMD apresenta um sabor agradável em comparação ao gosto amargo do metronidazol base, sendo utilizado na forma farmacêutica suspensão oral para a pediatria. Dessa forma, consegue-se produzir uma dispersão líquida palatável para os pacientes, permitindo flexibilidade na administração, sendo particularmente vantajoso para crianças e idosos (Zietsman, 2005).

Segundo a ANVISA o BZMD pertence à classe IV do Sistema de Classificação Biofarmacêutica, por apresentar baixa solubilidade e permeabilidade, o que pode resultar em problemas na absorção e conseqüentemente em sua biodisponibilidade. A faixa de fusão para este IFA é de 98-102°C, e a solubilidade de 0,2 mg/mL (Bempong et al, 2005). A dissolução desta classe de medicamentos geralmente é dependente da natureza ácida ou básica, da solubilidade intrínseca e de fatores associados à formulação (Da Silva *et al.*, 2016).

O Sistema de Classificação Biofarmacêutica (Wu e Benet, 2005) foi desenvolvido para orientar a relação de correlação entre a dissolução do fármaco *in vitro* e a biodisponibilidade *in vivo* (Amidon et al., 1995). Utilizando-se desses dois critérios para caracterizar a absorção oral dos fármacos, a BCS classifica-os em quatro categorias diferentes, de acordo com sua solubilidade e sua permeabilidade. Este sistema constitui-se ainda em uma ferramenta para tomada de decisão no desenvolvimento de medicamentos, baseado em dois fatores primários: solubilidade e permeabilidade. Esses fatores têm se

mostrado cruciais desde o desenho do medicamento até sua bioequivalência, levando em conta a taxa de dissolução (Couillaud *et al.*, 2019).

1.3 OBJETIVOS

1.3.1 Geral

- Aplicar os princípios do desenho racional para obtenção de novas formas sólidas com propriedades físico-químicas e biofarmacêuticas otimizadas a partir dos fármacos cloridrato de raloxifeno e benzoilmetronidazol.

1.3.2 Específicos

Para o cloridrato de raloxifeno

- Obtenção de novas formas sólidas cristalinas a partir de cloridrato de raloxifeno.
- Caracterizar as novas formas sólidas através de técnicas estruturais, espectroscópicas e análise térmica.
- Verificar se a solubilidade das novas formas sólidas em água é melhorada em relação ao seu respectivo IFA.

Para o benzoilmetronidazol

- Obtenção de novas formas sólidas multicomponentes pela combinação de diferentes coformadores contendo grupos hidroxila.
- Explorar diferentes estequiometrias a partir do mesmo *synthon* IFA:Coformador (1:1, 1:2 e 1:3).
- Verificar se a solubilidade das novas formas sólidas em água é melhorada em relação ao seu respectivo IFA.

CAPÍTULO 2 - MÉTODOS EXPERIMENTAIS

Neste capítulo os métodos utilizados para cristalização bem como as técnicas de triagem e caracterização utilizadas serão abordados, a fim de investigar com mais detalhes as formas sólidas farmacêuticas.

2.1 Cristalização

A cristalização é um processo de purificação que produz um produto final cristalino através da nucleação, crescimento de cristais e aglomeração. A nucleação do cristal é a formação de novas entidades cristalinas em uma fase líquida supersaturada e, portanto, em grande parte responsável pela distribuição final do tamanho do cristal (Briuglia *et al.*, 2018). A nucleação primária ocorre em uma solução clara na ausência de material cristalino do seu próprio tipo (Davey *et al.*, 2013). A nucleação secundária, ocorre como um resultado da presença prévia de cristais do mesmo composto em uma solução supersaturada. Assim, no caso de nucleação secundária os cristais de origem servem como catalisadores para a formação de novos cristais (Frawley *et al.*, 2012; Briuglia *et al.*, 2018). A estratégia da utilização de sementes é bem conhecida e frequentemente aplicada para melhorar o controle sobre o tamanho do produto, direcionando o surgimento dos demais cristais. Quando os núcleos vão se agregando e o cristal tomando forma macroscópica, já é a etapa de crescimento (Vippagunta *et al.*, 2001).

Alguns fatores, tais como solventes, temperatura e métodos de cristalização tem influência no produto final (Aitipamula *et al.*, 2014; Sarraguca *et al.*, 2016), podendo dirigir a cristalização. Os métodos de evaporação lenta de solvente (Newman, 2012; Barikah, 2018), moagem de estado sólido (moagem seca e moagem assistida por adição de solvente (Do e Friscic, 2017; Douroumis *et al.*, 2017), cristalização por arrefecimento (Sudha e Srinivasan, 2014) e difusão (Ramon *et al.*, 2012) serão abordados nos tópicos 2.1.1- 2.1.4.

2.1.1 Moagem

A ativação mecanoquímica é uma técnica amplamente usada, que se refere às reações no estado sólido induzidas por energia mecânica transferida à amostra por moagem (Douroumis *et al.*, 2017a). Este procedimento pode ser realizado através da adição de solventes ou na ausência destes (Friscic *et al.*, 2009; James *et al.*, 2012; Ross *et al.*, 2016).

Portanto, é considerada uma metodologia sintética limpa (Delori *et al.*, 2012; Do e Friscic, 2017), uma vez que existe transferência de energia mecânica para a amostra fornecendo transformações sem excesso de solvente, sendo, a técnica de escolha utilizada em química verde (Bryan *et al.*, 2017). É um método mais compatível com o ambiente, oferecendo também outras vantagens sobre métodos mais estabelecidos, como o fato de que o processo não é dependente da temperatura e pode ser realizado a temperatura ambiente, tendo um período de reação relativamente curto (Douroumis *et al.*, 2017).



Figura 4 – Representação do (a) Moinho de bolas (b) vasos e bolas de aço inoxidável obtidas do site da Retsch.

Na execução da técnica é possível utilizar o moinho de bolas (Figura 4a) junto aos acessórios (Figura 4b), bem como proceder à operação manualmente, com ajuda de gral e pistilo. Dois métodos são utilizados na técnica de moagem: moagem a seco (MS) e moagem assistida por adição de solvente (MAS). Na MS os componentes sólidos são submetidos à moagem com tempo e frequência controlada. No caso da MAS, na mistura sólido-sólido são adicionadas gotas de solvente suficientes apenas para umedecer a amostra. O uso de diferentes solventes e/ou estequiometrias nos métodos de moagem poderá conduzir a uma maior variação na produção de formas polimórficas, cocristais, solvatos e hidratos.

2.1.2 Evaporação Lenta

A evaporação lenta (Figura 5) é considerada um método tradicional de cristalização, sendo comumente empregado. Neste método, o sólido ou mistura de sólidos

são adicionados em um frasco em razões estequiométricas e dissolvidos em solvente específico, utilizado para mediar a reação entre os componentes (Newman, 2012; Barikah, 2018).

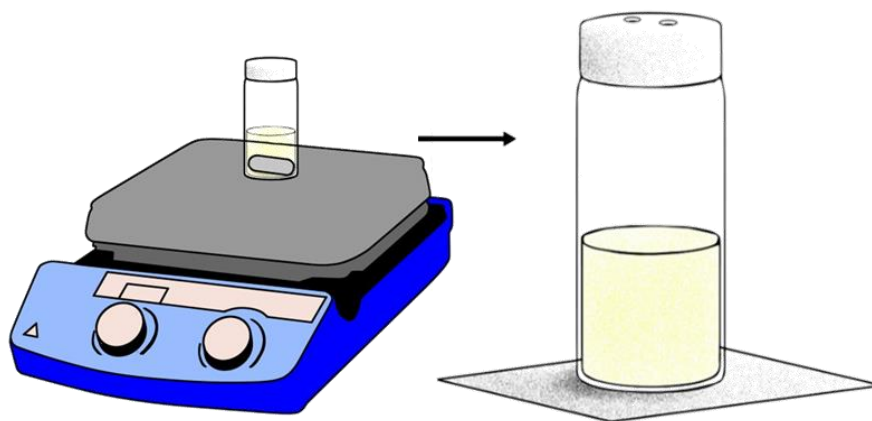


Figura 5 - Representação do processo de evaporação lenta

O conteúdo do frasco pode estar sob agitação constante por tempo determinado, a fim de facilitar a interação molecular entre os sólidos. Em seguida, o frasco é deixado em repouso, com temperatura controlada, até que a evaporação ocorra e os cristais apareçam. Os frascos com os componentes sujeitos a evaporação lenta podem ser mantidos a temperatura ambiente ou em geladeira, de modo a contribuir para identificar formas estáveis (Newman, 2012). A fim de promover uma evaporação mais lenta é possível utilizar uma agulha acoplada a tampa do frasco (Figura 6).

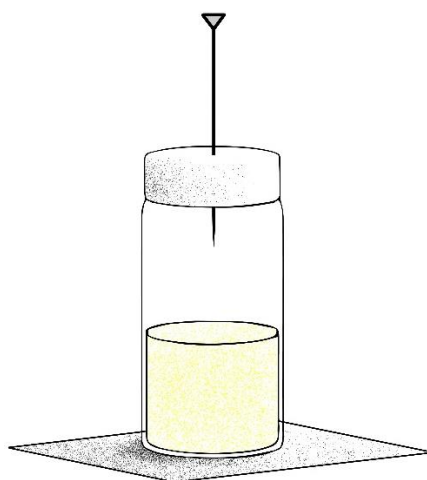


Figura 6 - Representação do processo de evaporação lenta com agulha na tampa do frasco

A principal condição desse método é que os componentes sólidos sejam totalmente solúveis no solvente. Caso contrário, o componente que possui uma solubilidade mais baixa irá precipitar, levando a formação de uma mistura de sólidos do cocrystal e de um dos componentes do cocrystal (fármaco ou coformador), além disso, também tem a possibilidade de falha na formação do cocrystal (Blagden *et al.*, 2007; Barikah, 2018).

2.1.3 Difusão por Vapor

Na difusão de vapor (Figura 7) um frasco aberto contendo a amostra é deixado dentro de outro frasco hermeticamente fechado contendo solvente diferente do utilizado para solubilizar o soluto e mais volátil, gerando difusão do segundo solvente no frasco com a amostra (Hilfiker *et al.*, 2006; Bezerra, 2017).

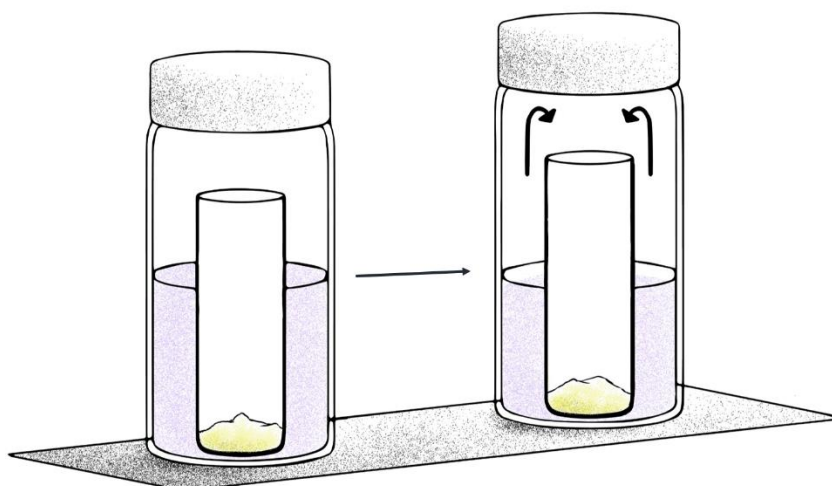


Figura 7 - Representação do processo de difusão por vapor

É possível que ocorra a troca do solvente hóspede, com geração de forma sólida, como ocorreu com os cristais de H.DMSO (9-(2,4,6-trimethylphenyl)-9H-xanthen-9-ol (H) + dimetilsulfóxido (DMSO) de Ramon *et al.* (2012), que foram secos, ligeiramente esmagados e colocados em um frasco fechado onde foram expostos em temperatura ambiente (25 °C) a uma atmosfera saturada em vapores de benzeno. Ao longo do tempo, o composto H.DMSO (H) foi convertido em H.1.5BZ (9-(2,4,6-trimethylphenyl)-9H-xanthen-9-ol (H) + benzeno (BZ) através da troca dos solventes hóspedes. Esse processo foi verificado por análise em DSC (Ramon *et al.*, 2012).

2.1.4 Cristalização por Arrefecimento

No que concerne à técnica de cristalização por arrefecimento (Figura 8), a solução é saturada, aquecida, filtrada e retirada do aquecimento para evaporar lentamente, podendo o resfriamento ser em baixas temperaturas ou temperatura ambiente (Sudha e Srinivasan, 2014).

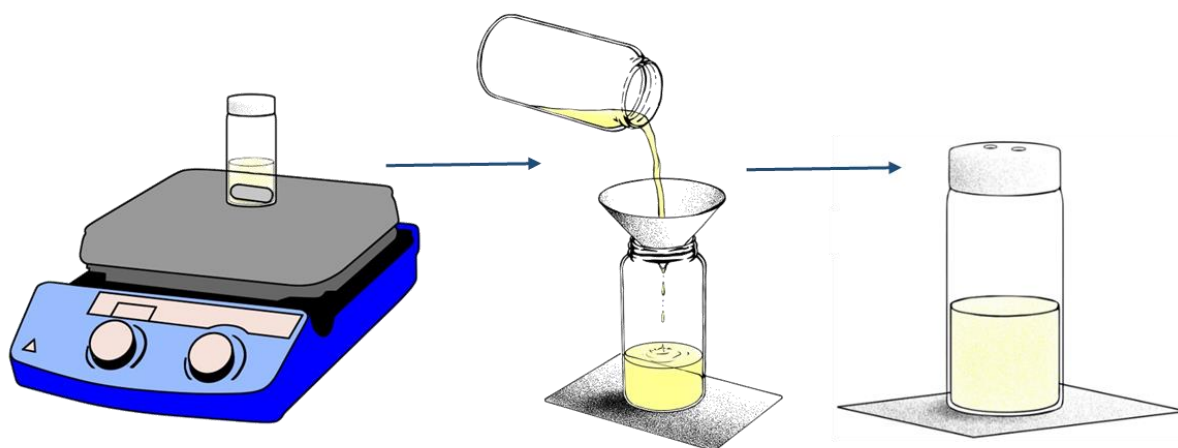


Figura 8 - Representação do processo de cristalização por arrefecimento

A cristalização por arrefecimento pode ser empregada para realizar triagem de polimorfos, com o intuito de verificar qual a forma mais estável e metaestável de IFAs, podendo ocorrer em associação com a metodologia solvente/antissolvente como demonstrado por Karashima e colaboradores (2014), em que foram realizadas combinações de misturas de solventes/anti-solvente, tendo o IFA (mebendazol forma C) sido pesado e disperso em solvente em 55 °C, e as suspensões misturadas com agitação de 300 rpm filtradas, e depois resfriadas lentamente a 5 °C (Karashima *et al.*, 2014). Outro exemplo é o controle da nucleação e separação dos polimorfos do paracetamol, realizado por Sudha e Srinivasan (2014), onde dependendo do nível de supersaturação gerada durante o processo de resfriamento rápido a nucleação de um polimorfo particular ocorre no sistema (Sudha e Srinivasan, 2014).

2.2 Técnicas de Triagem, Identificação e Caracterização dos Sólidos Farmacêuticos

A investigação, bem como a caracterização estrutural de formas sólidas farmacêuticas, requer uma abordagem onde o emprego de vários métodos e técnicas analíticas fornecem informações estruturais, termodinâmicas e farmacêuticas diversificadas,

detalhadas e complementares. Os desafios mais importantes enfrentados pelos pesquisadores no campo farmacêutico dizem respeito à caracterização e quantificação de misturas sólidas, determinação de impurezas e monitoramento *in situ* de processos de cristalização e reações de estado sólido (Pindelska *et al.*, 2017).

2.2.1 Espectroscopia Vibracional

A espectroscopia vibracional é um ramo da espectroscopia molecular, no qual estão situadas as espectroscopias de infravermelho (IR) e Raman (ER). Transições moleculares envolvem mudanças em ambos os estados vibracional e rotacional. Para diferentes cristais, os comprimentos de ligação e ângulos são diferentes e, portanto, os níveis de energia vibracional e rotacional são diferentes. Assim, diferentes cristais têm diferentes espectros vibracionais (Qiao, 2017).

Tanto a espectroscopia de infravermelho quanto a Raman são espectroscopias vibracionais relacionadas com a medição da vibração molecular associada e mudanças de energia rotacional, fornecendo informações complementares (Patel e Mehta, 2010).

Cocristais, sais, polimorfos e solvatos são substâncias sólidas de interesse farmacêutico. Como tal, eles podem ser estudados utilizando-se métodos espectroscópicos de estado sólido dedicados a análise de amostras sólidas (Pindelska *et al.*, 2017).

2.2.1.1 Espectroscopia Raman

A técnica de espalhamento Raman deriva de um processo de dispersão de luz inelástica. É uma técnica de espalhamento de luz e pode ser pensada em sua forma mais simples como um processo onde um fóton de luz interage com uma amostra para produzir radiação dispersa de diferentes comprimentos de onda (Patel e Mehta, 2010).

Nos últimos anos, a espectroscopia Raman está experimentando um aumento no interesse em aplicações farmacêuticas de estado sólido com maior uso tanto na indústria quanto na academia. É um método rápido, não destrutivo, não invasivo, que não requer preparação de amostra e as medições podem ser feitas em ambientes aquosos. Pode ser usado para análises qualitativas e quantitativas com o auxílio de quimiometria (Patel e Mehta, 2010; Healy *et al.*, 2017). Dentre as aplicações da espectroscopia Raman na indústria farmacêutica é possível citar: identificação de polimorfos, monitoramento em tempo real de

processos e detecção de produtos farmacêuticos adulterados ou falsificados (Patel e Mehta, 2010).

Equipamento e preparo da amostra

- O espectrômetro empregado neste trabalho foi o LabRam HR (Jobin Yvon, Horiba) equipado com um dispositivo de carga acoplada (charge coupled device – CCD) resfriada à nitrogênio líquido. Para excitação das amostras é possível utilizar um laser de diodo em um dos seguintes comprimentos de onda: 488, 633 ou 785 nm. O laser pode ser focalizado nas amostras através de lentes objetivas com aumento de 10x, 20x ou 50x.

Nenhum tratamento especial de preparação da amostra é necessário para a medição da espectroscopia Raman e, portanto, a estrutura cristalina da amostra não pode ser alterada durante o processo de preparação da amostra (Qiao, 2017).

2.2.1.2 Espectroscopia de Infravermelho

A espectroscopia de infravermelho é baseada na absorção, reflexão e emissão de luz (Patel e Mehta, 2010). A espectroscopia de infravermelho (IV) de amostras cristalinas fornece um padrão de impressão digital dos materiais cristalinos específicos, mostrando modos de vibração que dependem do ambiente de estado sólido do material. Assim, a análise de cristais, cocrystalais e suas formas polimórficas pela espectroscopia de infravermelho pode revelar mudanças extremas na energia de suas bandas vibracionais (Healy *et al.*, 2017).

Para diferentes cristais, os espectros de infravermelho mostram características diferentes, como a frequência, a forma, posição e a intensidade da banda de adsorção. A espectroscopia de infravermelho é uma maneira simples e rápida de diferenciar variedades de cristais (Qiao, 2017).

Equipamento e preparo da amostra

- As análises foram realizadas em um espectrômetro de transformada de Fourier (VERTEX 70 da Bruker Optics), com detector DTGS, através de um acessório de Refletância Total

Atenuada (FTIR-ATR), sob um cristal de ZnSe. Os espectros foram obtidos na faixa de 4000 a 650 cm^{-1} , com uma média de 128 varreduras e resolução de 2 cm^{-1} .

2.2.2 Difração de raios-X

A difração de raios-X é a maneira mais clássica e confiável de analisar as formas cristalinas. Pode ser usado para distinguir estado cristalino do estado amorfo, para identificar diferentes variedades de cristais, para analisar misturas de compostos, para determinar a estrutura cristalina de um material cristalino, para determinar parâmetros de rede, bem como comparar a diferença entre diferentes formas cristalinas. Os métodos de XRD podem ser divididos em dois tipos: difração de raios-X de pó (PXRD) e difração de raios-X de monocristal (SCXRD). Essas técnicas são de grande importância na caracterização e identificação de sólidos farmacêuticos.

2.2.2.1 Difração de raios-X de pó

A difração de raios-X de pó (PXRD) é um dos métodos mais comuns para o estudo de formas cristalinas (Qiao, 2017; Healy, 2017). O difratograma de pó apresenta os picos de difração da rede cristalina da amostra em distâncias e intensidades específicas. Dados de difração de pó são mais comumente usados na identificação qualitativa de compostos cristalinos, já que cada substância cristalina tem um padrão de pó característico que pode ser usado como um *fingerprint* (Tremayne, 2004; Bezerra, 2017), permitindo comparação por similaridade (padrão x amostra), ou para distinguir polimorfos e certificar a formação de novas formas sólidas (Haleblan e Mccrone, 1969; Storey e Ymén, 2011).

Uma importante aplicação da difração de raios-X de pó em vários campos diz respeito a estudos de mudanças estruturais associado a transições de fase e reações químicas em sólidos. Do ponto de vista prático, experimentos de difração de pó podem ser conduzidos de forma bastante direta para monitorar mudanças estruturais em um sólido em função da variação de condições externas, como temperatura (Harris *et al.*, 2001).

Equipamento e preparo da amostra

Os difratogramas foram obtidos utilizando-se um instrumento convencional D8 Advanced da Bruker AXS, equipado com um goniômetro theta/theta e fonte de radiação

CuK α (0,15419 nm). Este equipamento permite que sejam realizadas medidas com variação de temperatura através do uso de uma câmara Anton Paar, modelo TCU 110. As medidas foram realizadas sob uma tensão de aceleração de 40 kV e corrente de 40 mA, na geometria de Bragg Brentano.

2.2.2.2 Difração de raios-X de Monocristal

A técnica de difração de raios-x de monocristal (SCXRD) é, sem dúvida, a mais importante e poderosa para elucidação de estruturas (HARRIS, 2001), sendo considerada como o "padrão ouro". A técnica SCXRD determina as dimensões da cela unitária e o grupo espacial relacionado. Fornece também informação sobre o arranjo tridimensional completo, posições de átomos e empacotamento de moléculas na cela unitária (Qiao, 2017; Healy, 2017).

O objetivo da determinação da estrutura a partir de dados de difração de monocristal ou pó é estabelecer a distribuição da densidade eletrônica na cela unitária (ou seja, as posições atômicas), e isso requer a extração de informações na forma de intensidades de difração a partir dos dados experimentais. Monocristais e dados de difração de pó contêm, essencialmente, a mesma informação estrutural, mas no primeiro caso as intensidades de difração são distribuídas no espaço tridimensional, no segundo os dados tridimensionais são "comprimidos" em uma dimensão. Como consequência, picos individuais no padrão de difração de pó se sobrepõem e informações sobre as intensidades de difração individuais são obscurecidas. Em termos gerais, um conjunto de dados de um monocristal pode conter milhares de intensidades individuais únicas que podem ser usadas para determinar uma estrutura cristalina, mas mesmo um conjunto de dados de pó de alta resolução pode conter apenas algumas centenas de intensidades, a maioria das quais ainda pode ser parcialmente sobreposta e, portanto, ambígua. É esta severa "perda" de dados que constitui a principal razão para as dificuldades encontradas e as limitações de complexidade e tamanho das estruturas que podem ser determinadas a partir de dados de difração de pó (Tremayne, 2004; Healy *et al.*, 2017).

Equipamento e preparo da amostra

Foram utilizados dois equipamentos, o primeiro foi utilizado com as amostras de RLC e pertence ao grupo de pesquisa em Engenharia de Cristais do Prof. Zaworotko

(Universidade de Limerick, Irlanda), e foi utilizado durante período de estágio sanduíche. O segundo difratômetro de monocristal foi utilizado para elucidação estrutural das novas formas sólidas de BZMD e se encontra no Laboratório de Cristalografia Estrutural, do Departamento de Física da UFC.

- A coleta de dados (graus de liberdade em θ , φ , ω e κ) foi realizada em um difratômetro Bruker-AXS SMART-APEXII-CCD usando radiação monocromada de $\text{MoK}\alpha$ (0,71073 Å). Os dados de intensidade foram coletados a 100 K e 298K. O software Saint v8.34A (Bruker, 2012) foi aplicado para integração e redução de dados. Os parâmetros finais foram obtidos utilizando todas as reflexões. Não foi aplicada correção de absorção. A estrutura foi resolvida usando o Olex 2 (Dolomanov *et al.*, 2009) com o programa de resolução de estruturas ShelXT (Sheldrick, 2015) usando métodos diretos e refinado com o pacote de refinamento ShelXL (Sheldrick, 2008) por método de mínimos quadrados.
- A coleta de dados de difração de raios-X de monocristal (ϕ scans e ω scans com κ e θ offsets) foi realizada em temperatura ambiente em um Bruker-AXS D8 VENTURE equipado com um goniômetro Kappa, detector PHOTON II CPAD, uma fonte INCOATEC I μ S 3.0 $\text{MoK}\alpha$ ($\lambda = 0,71073$ Å). A centralização dos cristais, determinação da cela unitária, o refinamento dos parâmetros e a coleta de dados foram controlados através do programa APEX3 (Bruker, 2012). A integração foi realizada com o uso do SAINT (Bruker, 2016) e as intensidades foram escalonadas e correções de absorção usando SADABS (Bruker, 2001). Usando Olex2 (Dolomanov *et al.*, 2009), a estrutura foi resolvida por fase intrínseca usando SHELXT (Sheldrick, 2015) e refinada por cálculo de mínimos quadrados de matriz completa baseado em F2 para toda a reflexão usando SHELXL (Sheldrick, 2008). Todos os átomos, com exceção dos hidrogênios, foram refinados anisotropicamente. Os programas MERCURY (versão 3.10) (Macrae *et al.*, 2006) e VEGA (Pedretti *et al.*, 2004) foram utilizados para preparar as figuras para publicação e inseridas nessa tese.

Quanto ao preparo da amostra é primordial obter um monocristal de tamanho e qualidade apropriada. Portanto, um passo importante está na seleção do cristal a ser medido, o que é feito com ajuda de um microscópio.

2.2.3 Análise Térmica

A análise térmica é um grupo de técnicas em que uma propriedade da amostra é monitorada em função do tempo ou da temperatura, enquanto a temperatura da amostra, em uma atmosfera específica, é programada (Pindelska *et al.*, 2017).

Diferentes formas cristalinas têm diferentes comportamentos de absorção/liberação de calor durante seu processo de aquecimento/resfriamento (Qiao, 2017). As técnicas de análise térmica têm sido utilizadas na área farmacêutica e proporcionam informações significativas quando utilizadas para caracterizar formas sólidas (Healy *et al.*, 2017). Estas técnicas são particularmente adequadas para o estudo de polimorfismo em fármacos e excipientes, sendo utilizadas como técnicas de rotina para estudos de pré-formulação e no controle de qualidade de matérias-primas e produtos acabados (De Araújo, 2009).

2.2.3.1 Calorimetria Exploratória Diferencial

A Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) é uma das técnicas analíticas pertencente ao grupo de métodos de análise térmica. No DSC a diferença de temperatura entre uma amostra e um material de referência é medida e então plotada em função da temperatura. A ideia por trás de um experimento DSC é aquecer ou resfriar uma amostra e uma substância de referência de acordo com um programa de temperatura definido (Pindelska *et al.*, 2017; Qiao, 2017).

As principais aplicações do DSC incluem definição de transições de fase, incluindo ponto de fusão, determinação de cristalinidade, testes de estabilidade física, impressão digital de material e controle de pureza. O DSC é o método de análise térmica mais utilizado, principalmente devido à sua velocidade, simplicidade e disponibilidade.

A técnica DSC é uma ferramenta poderosa para o rastreamento polimórfico e estuda a estabilidade polimórfica relativa a uma determinada temperatura. Por aquecimento e resfriamento repetidos, é possível determinar se tais transformações são fenômenos enantiotrópicos reversíveis ou eventos monotrópicos irreversíveis (Pindelska *et al.*, 2017).

2.2.3.2 Termogravimetria

A análise por termogravimetria (TG) é uma técnica de análise térmica, onde a variação de massa de uma substância é medida em função da temperatura ou do tempo em atmosfera controlada. A técnica pode caracterizar materiais que apresentam perda ou ganho

de peso devido à decomposição, oxidação e redução (Pindelska *et al.*, 2017; Qiao, 2017). Este método é frequentemente conduzido simultaneamente com outros métodos térmicos.

Métodos termogravimétricos podem ser utilizados no caso de uma avaliação da estabilidade física de cocristais. As medidas de TG fornecem informações valiosas, que podem ser usadas para selecionar materiais para determinadas aplicações de uso final, prever o desempenho do produto e melhorar a qualidade do produto (Pindelska *et al.*, 2017).

Equipamento e preparo da amostra

As medidas foram realizadas em um STA 449 F3 Júpiter (Netzsch) (Figura 9). Um espectrômetro de infravermelho (Bruker 27 Tensor de Fourier) transformado acoplado ao sistema de TG/DSC foi usado para analisar os gases liberados. As medidas foram realizadas em cadinho (porta-amostra) de alumínio, com tampas previamente furadas e após inclusão da amostra tampa e corpo eram selados com auxílio de uma prensa manual, e para referência um cadinho de alumínio vazio e selado da mesma forma que o da amostra. As medidas foram realizadas em atmosfera de nitrogênio com fluxo constante.

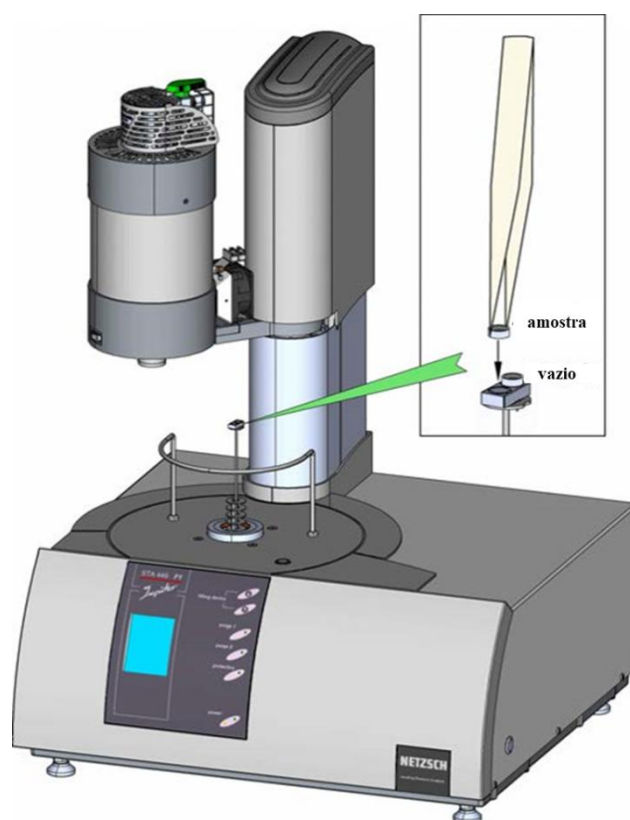


Figura 9 - Equipamento STA 449 F3 Júpiter obtido através do manual da Netzsch.

Muitas técnicas analíticas instrumentais têm sido amplamente utilizadas para a caracterização de cristais em produtos farmacêuticos e elas têm contribuído sobremaneira para os avanços nesse campo. A maioria dos métodos mencionados acima pode refletir apenas uma parte das propriedades físico-químicas de diferentes cristais. Portanto, a combinação de diferentes técnicas analíticas pode fornecer uma compreensão abrangente dos cristais de fármacos. A aplicação destas técnicas é essencial para o desenvolvimento de novos fármacos, *design* de formulações, otimização do processo de produção, controle de qualidade, otimização da condição de armazenamento e compreensão da biodisponibilidade e eficácia (Qiao, 2017).

CAPÍTULO 3 - CLATRATOS ISOMÓRFICOS DE CLORIDRATO DE RALOXIFENO

Raloxifeno (2-(4-hydroxyphenyl) -3-((4-[2-(piperidin-1-yl) ethoxy] phenyl) carbonyl)-1-benzothio-phen-6-ol) é um derivado benzotiofeno, geralmente comercializado na forma de sal, como cloridrato de raloxifeno (RLC), que se apresenta como pó amarelo pálido (Fagerholm, 2007). Este fármaco, na dose de 60 mg/dia, está aprovado para o uso na prevenção e tratamento de osteoporose em mulheres na pós-menopausa, e mostrou-se eficaz em aumentar a densidade mineral óssea e reduzir a incidência de fraturas vertebrais. O raloxifeno é classificado como um modulador seletivo do receptor de estrógeno (SERM) de segunda geração, baseado em seu efeito tecido-específico nos órgãos alvo de ação do estrógeno, o que confere ação antirreabsortiva no osso, antiproliferativa na mama e redução do colesterol (Kayath, 1999; Compston *et al.*, 2019; Wilson, 2019; Yedavally-Yellayi *et al.*, 2019).

A osteoporose é resultado do desequilíbrio entre os processos de remodelação e reabsorção óssea, havendo mais destruição pelos osteoclastos do que reposição óssea pelos osteoblastos (Ramalho *et al.*, 2000). Estima-se que mais de 9,9 milhões de americanos tem osteoporose e um adicional de 43,1 milhões tem baixa densidade óssea (Yedavally-Yellayi *et al.*, 2019). No Brasil, há escassez de dados referentes à população acometida pela osteoporose, mas estima-se que aproximadamente 10 milhões de brasileiros sofram com a doença, sendo que 2,4 milhões sofrem fraturas anualmente e destes, cerca de 200 mil morrerão em decorrência direta de suas fraturas (Loures *et al.*, 2017).

O RLC pertence à classe II do Sistema de classificação Biofarmacêutica (BCS), com uma solubilidade aquosa de 627,4 µg/mL (Teeter e Meyerhoff, 2002; Trontelj *et al.*, 2005), e uma biodisponibilidade absoluta de 2% (JHA *et al.*, 2011), sendo um exemplo de fármaco com alta atividade farmacológica limitado por pobres propriedades físico-químicas.

A realização de uma triagem com o intuito de obter novas formas sólidas foi realizada, utilizando-se inicialmente moagem com adição dos solventes apresentados na Tabela . Desta maneira, novas formas sólidas classificadas como clatratos foram obtidas a partir da moagem do IFA com os solventes N,N-Dimetilformamida, N,N-Dimetilacetamida e Acetona.

Tabela 2 - Solventes utilizados na MAS

Solventes		
Metanol	N,N-Dimetilacetamida	Acetonitrila
Acetona	N,N-Dimetilformamida	Etanol
Álcool isopropílico	Ácido acético	Hexano

Uma das vantagens da técnica de moagem é que podem ser utilizadas apenas algumas gotas de solvente para promover modificações em IFAs, quando processados em determinadas condições de tempo e frequência, sendo considerada uma técnica simples, de fácil execução e ambientalmente amigável (Trask e Jones, 2005).

A fim de obter monocristais a técnica de cristalização por arrefecimento foi executada, e originou um quarto clatrato com o solvente metanol. Além disso, a possibilidade de ocorrer a troca de solventes entre os clatratos obtidos foi verificada pela técnica de difusão. A descrição destas técnicas foi previamente realizada nos itens 2.1.4 e 2.1.3.

Na seção 4.1 o artigo intitulado: “Novel Isomorphic Clathrates of Raloxifene Hydrochloride with Improved Dissolution rate” traz a obtenção de clatratos por diferentes técnicas de cristalização. As estruturas cristalinas foram elucidadas por SCXRD, e análises de PXRD, espectroscopia vibracional e análise térmica (TG/DSC) foram realizadas, bem como solubilidade, para verificar o comportamento dos clatratos.

3.1 Artigo: “Novel Isomorphic Clathrates of Raloxifene Hydrochloride with Improved Dissolution rate”

Novel Isomorphic Clathrates of Raloxifene Hydrochloride with Improved Dissolution rate

Yara Santiago de Oliveira[‡], *Matteo Lusi*[†], *Naga Kiran Duggirala*[†], *Michael John*

Zaworotko[†], *Alejandro Pedro Ayala*^{§*}

[‡] Department of Pharmacy. Federal University of Ceará. Fortaleza, Ceará, Brazil

[†] Department of Chemical and Environmental Science, University of Limerick, Limerick, Ireland

[§] Department of Physics. Federal University of Ceará. Fortaleza, Ceará, Brazil

* To whom correspondence should be addressed.

e-mail: ayala@fisica.ufc.br

Address: Caixa postal 6030, 60.455-970 Fortaleza (CE) Brazil

Phone: +55 85 3366 9009

FAX +55 85 3366 9450

Highlights

- Four clathrates of raloxifene hydrochloride (host) with acetone (ACT), N,N-dimethylformamide (DMF), methanol (MOH) and N,N-dimethylacetamide (DMA) as guest compounds were synthesized and three of these structures were elucidated at low temperature.
- A polymorphic form of the raloxifene-DMF clathrate was identified at room temperature, and the structure was elucidated by single crystal X-ray crystallography.
- The possibility of solvent exchange between the clathrates containing the solvent ACT in an environment with DMF was verified by diffusion.
- Dissolution studies in water revealed two of the novel clathrates exhibited better dissolution profiles compared to the marketed form.

ABSTRACT

Raloxifene Hydrochloride (RLC) is a selective estrogen receptor modulator, used in the treatment of osteoporosis and prevention in breast cancer. The drug belongs to Biopharmaceutical Classification System (BCS) class II, with poor aqueous solubility. In this study, four new clathrates of raloxifene hydrochloride (host) with acetone (ACT), N,N-dimethylformamide (DMF), methanol (MOH) and N,N-dimethylacetamide (DMA) (guest compounds) were prepared by mechanical grinding and cooling crystallization. The crystal structures were elucidated by single crystal X-ray diffractometry (SCXRD) and classified into two types of clathrates (C1 and C2) based on the isomorphism of the new solid forms. Raloxifene-N,N-dimethylformamide shows clathrate polymorphism (polymorphs α and β). All the crystal forms were comprehensively characterized using powder X-ray diffractometry (PXRD), vibrational spectroscopy and thermal analysis. Solvent exchange reactions were conducted for clathrates containing ACT and DMF by solid diffusion method, which revealed that ACT could be replaced by DMF. Among the novel structures, two (RLCACT and RLCDMF) exhibited enhanced dissolution rate in water compared to the marketed solid form.

Keywords: inclusion compound, clathrate, isomorphism, mechanochemical activation, dissolution rate.

1. INTRODUCTION

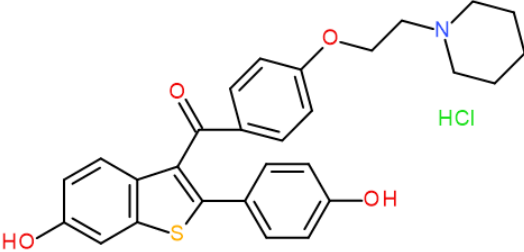
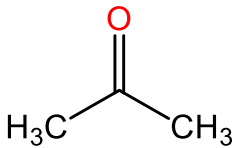
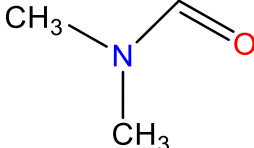
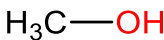
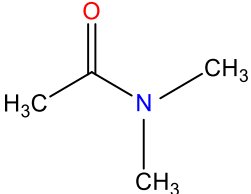
Active pharmaceutical ingredients (APIs), as crystalline solids can exist in various forms, which can be classified in different categories, as salts¹, cocrystals², polymorphs and solvates³. In the last case, the solvent becomes part of the crystalline lattice, and if the solvent is water, can be treated as hydrate. These pharmaceutical forms can contribute to improve physicochemical properties of a drug, as solubility and stability as well as mechanical properties such as compressibility⁴. The large number and commercialization of new solid forms as a reality has led regulatory agencies to create guidelines, and researchers to discuss about the most appropriate classification for them⁵.

Inclusion compounds are a class of non-stoichiometric solvates, which usually consist of two molecular species organized in space, so that one molecule (host) imprisons the other

(guest) in polyhedral cavities⁶. Host molecules can completely (connected to the host network)⁷, or partially (empty spaces) occupy spaces in the host structure, originating cavities or cages⁸. In this sense, once the guest is completely enclosed by the host compound, the structure is known as a clathrate, which is a class of inclusion compounds. Clathrate formation was investigated for several APIs, including cephalexin, cephadrine, cefaclor, cefadroxil⁹ and nitrazepam¹⁰, with the goal of improving the solubility.

Raloxifene Hydrochloride (RLC), showed in Table 1, is an API used in the treatment of osteoporosis and prevention of breast cancer. There is only one crystal structure reported in Cambridge Structural Database (Refcode SAQYIR) by Vega and coworkers^{11,12}. The drug belongs to Biopharmaceutical Classification System (BCS) class II, with low aqueous solubility (627.4 $\mu\text{g/mL}$)^{13,14}. To overcome the solubility issue, many strategies were explored such as the clathrate formation.

Table1: Raloxifene Hydrochloride (Host) and its guest molecules

HOST				
Name Abbreviation	raloxifene hydrochloride RLC			
GUESTS				
Name Abbreviation	acetone ACT	N,N-Dimethylformamide DMF	methanol MOH	N,N-Dimethylacetamide DMA

In this work four new clathrates with raloxifene hydrochloride (the host) were obtained with the guest molecules: acetone (ACT), N,N-dimethylformamide (DMF) and methanol (MOH) (guest compounds). Their structures were elucidated by Single crystal X-ray diffraction (SCXRD). In addition, another structure was inferred, from powder X-ray diffraction (PXRD), containing N,N-dimethylacetamide (DMA) as a guest (Table). Particularly, the clathrate containing N,N-dimethylformamide (DMF) collected at different temperatures exhibited different polymorphs (polymorphs α and β). The clathrates were obtained by grinding and cooling crystallization methods¹⁵⁻²⁰.

In addition to the crystal structures determination, other solid state characterization techniques, such as PXRD, vibrational spectroscopy and thermal analysis, were performed to verify the thermal behavior of the clathrates, as well as to monitor the possibility of exchange solvents between the structures. Dissolution tests were conducted to investigate the solubility modulation of the clathrates compared to commercially available crystalline drug.

2. EXPERIMENTAL SECTION

2.1 Materials

Raloxifene hydrochloride was used as received from Blanver Farmoquimica LTDA (Brazil), and the solvents were purchased from Alpha Aesar and used without further purification.

Three letter codes were given to the solvents and drug. Six letter codes were given for the clathrates and were used throughout the manuscript. The first three letters are related to the raloxifene hydrochloride (RLC) and more three letters were added related to the solvent: N,N-dimethylformamide (RLCDMF), acetone (RLCACT), N,N-dimethylacetamide (RLCDMA) and methanol (RLCMOH), respectively.

2.2 Mechanochemical experiments

Syntheses were performed by manual grinding with 50mg (0.098mmol) of the API with an agate mortar and pestle with addition of small quantities of ACT, DMF and DMA. In addition, the grinding was also carried out in a ball milling system (Retsch, model MM400), using 1.5 ml stainless steel grinding jars with two stainless steel balls 7 mm, as reported by Oliveira and coworkers²¹. A mass of 50 mg was added to the jars with two drops of solvent (equivalent to 40 μ L), and then the grinding was conducted at a rate of 25Hz for 5 minutes. The RLCMOH was not obtained by grinding approach and therefore it was prepared by cooling crystallization.

2.3 Solution Growth of Single Crystals

Cooling crystallization technique was used to growth single crystals, using about 300mg of the API and respectively 5ml of DMF, ACT and MOH in different vials. These

solutions were gently heated and after recrystallized by solvent evaporation method at room temperature.

2.4 Clathrates Characterization

2.4.1 Vibrational spectroscopy

The Raman spectra were obtained by a LabRAM HR (Horiba) spectrometer equipped with a liquid N₂-cooled CCD detector, using 785 nm laser radiation for excitation. the spectrometer was coupled to a Hot-Stage equipment (Linkam), model FTIR600 for temperature control.

2.4.2 X-ray Powder Diffraction

Powder X-ray diffraction patterns (PXRD) were recorded using a D8 Advanced system (Bruker AXS), equipped with a theta/theta goniometer, configured in the Bragg-Brentano geometry. A Cu K_α radiation source and a LynxEye detector were used to irradiate the sample and record the diffracted radiation, respectively. PXRD experiments as a function of temperature were performed in an Anton Paar TTK450 chamber. Samples were scanned between (2θ) 5 and 35° in a step-scan mode (0.01 step size and 5 sec). The heating rate between the measurements was 10 °C/min.

2.4.3 Thermal Analysis

Thermogravimetric analysis (TG) and differential scanning calorimetry (DSC) were performed simultaneously on a Jupiter STA 449 (Netsch) system. An infrared spectrometer (Bruker Alpha) coupled to TG/DSC was used to analyze the gases released. Measurements were obtained from room temperature up to 500 °C using a rate of 5 K.min⁻¹ in a nitrogen atmosphere using a pierced aluminum pan containing 10 mg of sample.

2.4.5 Single Crystal X-ray Diffraction

The Single X-ray diffraction data collection (φ scans and ω scans with κ and θ offsets) were performed on a Bruker-AXS SMART APEXII-CCD diffractometer using graphite-monochromated MoK α radiation (0.71073 Å). Crystal structures were determined at 100 K and the polymorphic form of RLCDMF at 298 K. The software Saint v8.38A was applied for acquisition, indexing, integration and scaling of Bragg reflections. The final cell

parameters were obtained using all reflections. No absorption correction was applied. The structure was solved Using Olex2²², with the ShelXT²³ structure solution program using Direct Methods and refined with the ShelXL²⁴ refinement package using Least Squares minimization.

2.4.6 Solubility assays

The calibration curve was produced using a solution with a known concentration of RLC. From this solution, aliquots of 50, 100, 150, 200 and 250 μL were withdrawn and then diluted with a solution of ethanol and water (1/v:1/v). The later solution was used as blank for UV/Vis measurements, which were recorded between 200 and 500 nm on a Specord 250 (Analytic Jena). The calibration curve was calculated considering the wavelength of maximum absorbance (287 nm). The solubility studies were conducted dissolving 10 mg of each solid form in 20 mL of water, which was kept stirring with a magnetic stir bar at room temperature for 24 h. Aliquots were drawn at regular time intervals (5, 10, 15, 30, 45, 90, 120 and 1440 min) and filtered using 0.45 μm nylon filters. The filtrates were immediately diluted appropriately with a mix of water and ethanol (1:1v/v). The concentration was calculated using the previous determined calibration curve by recording the UV–Vis absorption at 287 nm. The solubility measurements were done in triplicate.

3. RESULTS AND DISCUSSION

3.1 Crystalline structures

The single crystals were obtained by cooling crystallization technique and the new solid forms had their crystalline structures elucidated, allowing to identify the clathrates (Figure 1). In Table 2 the crystallographic data and refinement parameters of the elucidated structures are presented. The hydrogen bonds that help to stabilize the structures are listed in Table 3.

Table 2 - Crystallographic Data of Clathrates

	RLCDMF (100 K)	RLCDMF (298 K)	RLCACT (100 K)	RLCMOH (100 K)
Empirical Formula	$\text{C}_{28}\text{H}_{28}\text{ClNO}_4\text{S}$. $\text{C}_{1.5}\text{H}_{3.5}\text{N}_{0.5}\text{O}_{0.5}$	$\text{C}_{28}\text{H}_{28}\text{ClNO}_4\text{S}$. $\text{C}_{1.8}\text{H}_{1.8}\text{O}_{0.3}$	$\text{C}_{28}\text{H}_{28}\text{ClNO}_4\text{S}$. $\text{C}_{1.5}\text{H}_{1.5}\text{O}_{0.5}$	$\text{C}_{28}\text{H}_{28}\text{ClNO}_4\text{S}$. $\text{C}_{0.5}\text{HO}$
Formula weight	546.57	536.80	537.55	533.04
crystal system	monoclinic	triclinic	monoclinic	monoclinic
space group	<i>C2/c</i>	<i>P1</i>	<i>C2/c</i>	<i>C2/c</i>
<i>a</i> (Å)	20.5596 (16)	9.4006 (11)	29.3239 (17)	29.2987 (14)

b (Å)	9.1933 (7)	11.3094 (13)	11.4522 (6)	11.4624 (5)
c (Å)	28.852 (2)	28.901 (3)	16.4484 (8)	16.4548 (8)
α (°)	90	84.600 (2)	90	90
β (deg)	95.463 (2)	90	97.862 (2)	97.824 (2)
γ (°)	90	65.44	90	90
V /Å ³	5391.6 (7)	2779.62 (5)	5471.8 (5)	5474.6 (4)
Z	8	4	8	8
T /K	100	298	100	100

Table 3 - Hydrogen bonds of the RLC clathrate structures

CLRACT					
Donor-H...Acceptor	D...H(Å)	D...A(Å)	H...A(Å)	D-H...A(°)	Type
O1-H1...Cl1	0.84	2.703(4)	1.87	171	
N1-H1A...Cl1	1.00	2.740(4)	1.78	161	
O2-H2...Cl1	1.90	2.699(4)	1.90	159	
C5-H5...O1	0.95	3.399(4)	2.46	168	intra
C7-H7...Cl1	0.95	3.429(5)	2.78	127	
C22-H22A...O3	0.99	3.366(4)	2.39	169	
C28-H28A...O4	0.99	3.025(4)	2.37	123	intra
CLRDMF					
Donor-H...Acceptor	D...H(Å)	D...A(Å)	H...A(Å)	D-H...A(°)	Type
O1-H1...Cl1	0.84	3.115(3)	2.29	167	
N1-H1A...Cl1	1.00	3.087(4)	2.10	170	
O2-H2...Cl1	0.84	3.085(4)	2.25	174	
C2A-H2AA...O1A	0.98	3.671(11)	2.27	103	intra
C1A-H1AA...O1A	0.95	3.3139(3)	2.02	101	intra
C22-H22A...O1A	0.99	3.213(10)	2.46	132	
C23-H23B...O1	0.99	3.317(5)	2.47	144	intra
C24-H24A...O4	0.99	3.060(6)	2.48	117	intra
C27-H27A...O1	0.99	3.546(6)	2.58	164	intra
C28-H28A...O3	0.99	3.182(6)	2.27	153	intra
CLRMOH					
Donor-H...Acceptor	D...H(Å)	D...A(Å)	H...A(Å)	D-H...A(°)	Type
O1-H1...Cl1	0.84	2.710(4)	1.87	173	
O2-H2...Cl1	0.84	2.700 (4)	1.90	158	
C1A-H1AA...O2A	0.98	2.92 (3)	2.47	108	intra
C5-H5...O1	0.95	3.402 (4)	2.47	169	intra
C7-H7...Cl1	0.95	3.433 (5)	2.78	126	
C22-H22B...O3	0.99	3.362 (4)	2.38	169	
C24-H24A...O4	0.99	3.018 (4)	2.36	123	intra

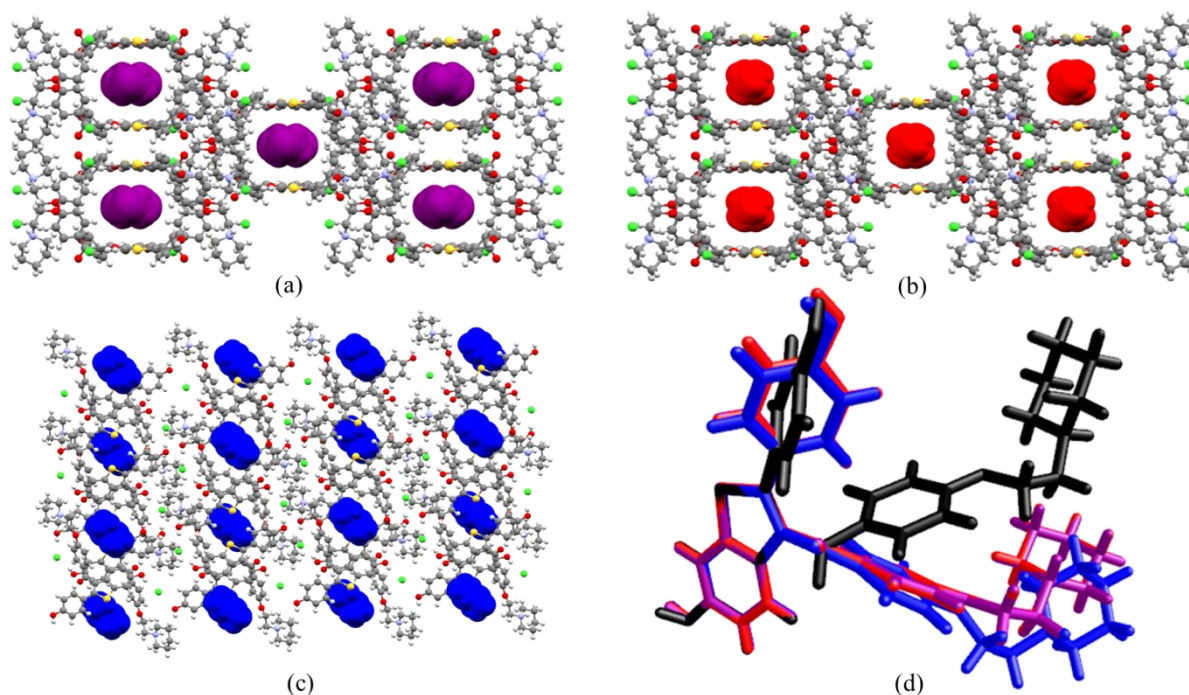


Figure 1 – Clathrate crystalline structures, at 100K, of (a) RLCACT along c axis (b) RLCMOH along c axis (c) RLCDMF along b axis and (d) overlapping of the clathrates and RLC (black).

The crystal packing of the crystalline structures of the three clathrates analyzed at low temperature (100 K) are shown in Figure 1. The clathrates RLCACT and RLCMOH appear to be isomorphic since they exhibited the same packing at low temperature.

Based on our previous understanding, we have categorized the clathrates into two different classes (C1 and C2). According to the categorization, the RLCACT and RLCMOH belongs to C1 and RLCDMF belongs to C2, once it presents a different packing at low temperature.

The structures visualized in Figure 1 are included in the definition of clathrates, since the molecules of raloxifene hydrochloride, joined by intermolecular bonds, form cavities and inside of them the solvents are located and totally trapped by the host compound. It is possible to estimate the volume of these cavities or voids in the crystal structures based on the contact surface. This way, using the software Mercury 3.10[®], the solvents were removed from the cavities and the free space was calculated providing the following results: 10.4% of the unit cell volume or 559.33 Å³; 16.7% or 913.89 Å³; 16.6% or 908.60 Å³ can be occupied by solvents in the RLCDMF, RLCACT and RLCMOH structures, respectively.

The solvent molecules are small compared to the size of the cavities, with 7.7 Å³, 7.4 Å³ and 4.1 Å³ for DMF, ACT and MOH, respectively. The small size facilitates the freely circulation of these molecules inside the cavities and thus make it difficult to establish the

specific position of their atoms, originating a disorder. Besides, only specific solvent molecules got to insert in the cavity originating clathrates, and this could be related to the polarity of these solvents.

It is possible to infer from the overlap of the raloxifene molecules in the clathrates RLCACT and RLCMOH a perfect fit, confirming what had been visualized from the packing. However, when the comparison is performed among the clathrates and RLC it is found that RLC, RLCDMF and RLCACT are not superimposable (Figure 1d), once the plan that contain the phenyl and the piperidine ring as well as the phenol do not completely fit when the benzothiophene ring atoms are fixed, making visible the conformational differences. The piperidine ring adopts a chair conformation, but flipped up and down.

The single crystals had a yellow color and prismatic habit. The three clathrates elucidated crystallize in the monoclinic crystalline system with a $C2/c$ space group, differently from the spatial group of the raw material ($P2_1/c$), whose crystal structure is found in the CSD under the Refcode SAQYIR^{11,12}.

Structures of Family C1 (RLCACT and RLCMOH)

In C1 (Figure 2) the solvent is surrounded by four molecules of the API, originating the cage. Considering that the drug has a benzothiophene and phenyl rings twisted in relation to the carbonyl plane, there is the presence of antiparallel ribbons. This family seems to be isomorphic at low temperature.

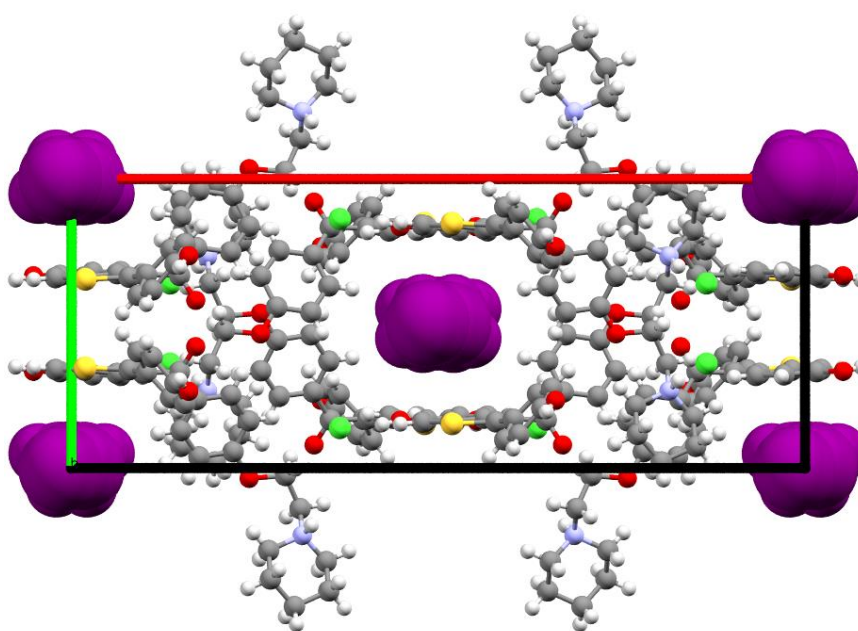


Figure 2 – CLRACT along c axis

The RLC structure (SAQYIR) does not present cavities. In the structures that belongs to family C1 the solvent is retained free in the cavity without interactions establish with the host compound. However, in order to stabilize the structure there are interactions involving the functional groups of the RLC molecule.

The anion chlorine can interact with the nitrogen of the piperidine ring, the oxygen of the carbonyl and the hydroxyl of the phenol groups provided by two molecules of raloxifene establishing the N1-H1A...Cl1 (2.740 Å), O1-H1...Cl1 (2.703 Å) and O2-H2...Cl1 (2.699 Å) interactions, respectively.

Structure of Family C2 (CLRDMF)

In C2 (Figure 3) the cavity is surrounded by three molecules of the API that encloses the solvent along the b axis. In this case, interactions are presented between the CH₂ of the drug and oxygen of the solvent. The hydrogen that establish the contact with the solvent is from CH₂ located near the piperine ring and neighboring to oxygen attached to the phenyl ring (C22-H22A...O1A).

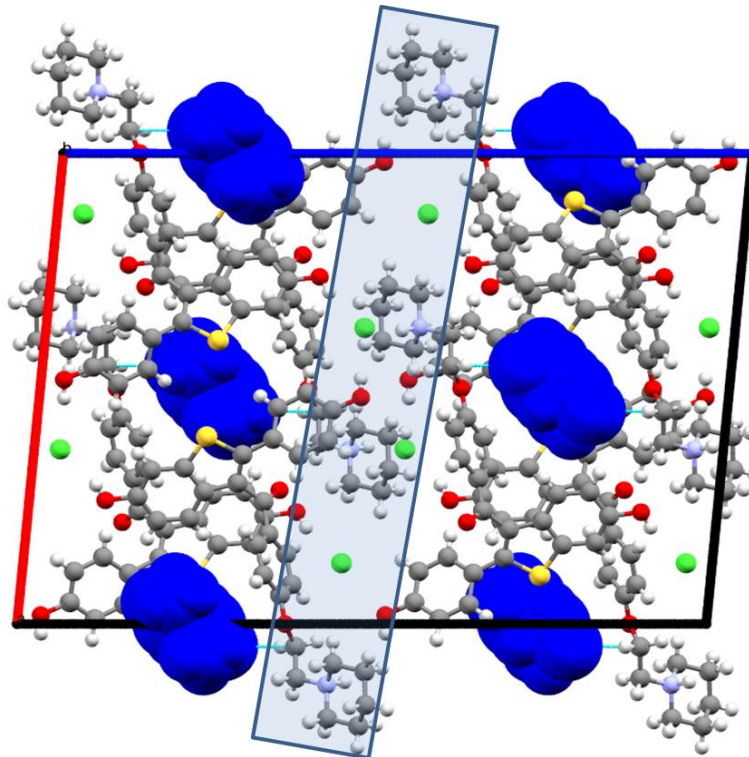


Figure 3 – Clathrate crystalline structures of RLCDMF at 100K along b axis.

Although clathrates are classified in different categories (C1 and C2), there is a commonality with respect to antiparallel ribbons and piperidine ring. In both cases, the piperidine ring, which is part of the drug molecule is aligned in the center of the packing. The hydrogen bonds that stabilize the structure are similar to those in the C1 family, since a chloride anion is multi-hydrogen bond acceptor: one with the nitrogen of the piperidine ring ($N1-H1A \cdots Cl1 - (3.087 (4) \text{ \AA})$), and the other two bonds with the phenol rings provided by different raloxifene molecules ($O1-H1 \cdots Cl1 - (3.115 (3) \text{ \AA}$ and $O2-H2 \cdots Cl1 - (3.085 (4) \text{ \AA})$).

In order to verify the samples obtained by grinding and corroborate with the hypothesis of the isomorphism between RLCACT and RLCMOH (Family C1) the powder x-ray analysis was executed.

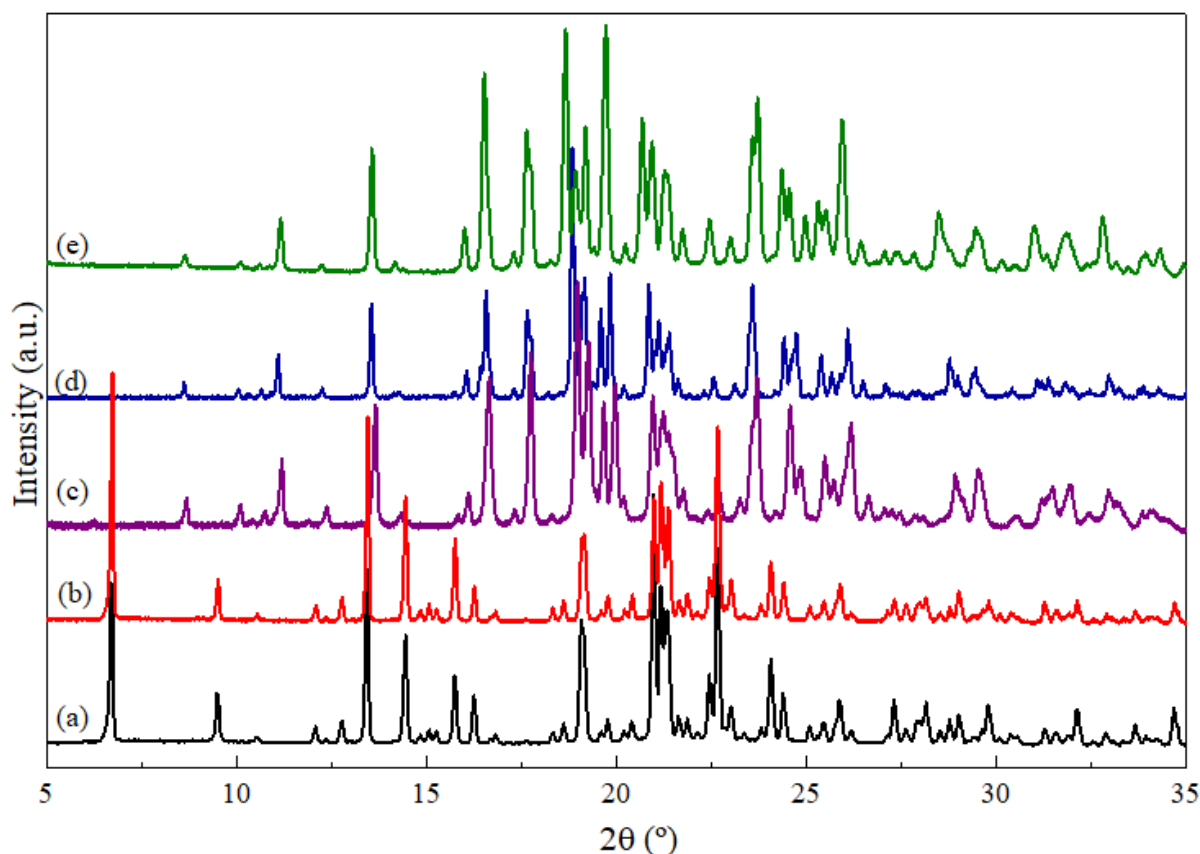


Figure 4 – PXRD of RLC (a) and the clathrates that belongs to Family C1 (b) RLCMOH (c) RLCACT, Family C2 (d) RLCDMF and (e) RLCDMA.

The PXRD of the clathrates presented in Figure 4 were analyzed after mechanochemical grinding method at room temperature. The PXRD of the raw material (Figure 4a) is in excellent agreement with the one reported in the literature²⁵. The remaining diffractograms correspond to the addition of different solvents to the API, and it is notice the

differences between the diffractograms in relation to the raw material pattern, with exception of the RLCMOH (C1 family), once there is no evidence of a new solid form when the grinding technique is applied (Figure 4b). However, it was possible to obtain the RLCMOH with cooling crystallization technique, as previously described. Related to the clathrate CLRACT, also included in C1 family (Figure 4c) noticeable differences were observed, mainly in the range of 17-22° when compared to the raw material, with shifts and appearance of peaks.

The clathrate RLCDMF (Figure 4d) is part of C2 family. However, a relevant observation is that, at room temperature, the experimental diffractogram related to this clathrate is identical to the pattern of RLCACT, that integrates C1 family. This information confirms the isomorphism of these solid forms at room temperature, while at low temperature this similarity is observed between RLCCACT and RLCMOH, suggesting a possible change according to the temperature. Related to RLCDMA, although it does not present an identical diffraction pattern of the other clathrates, it has a very close pattern. Probably the difference is attributed to its crystallinity.

Based on the previous results, provided at room and low temperature, we assume the existence of a dynamics of transformations in the clathrate structures as a function of temperature.

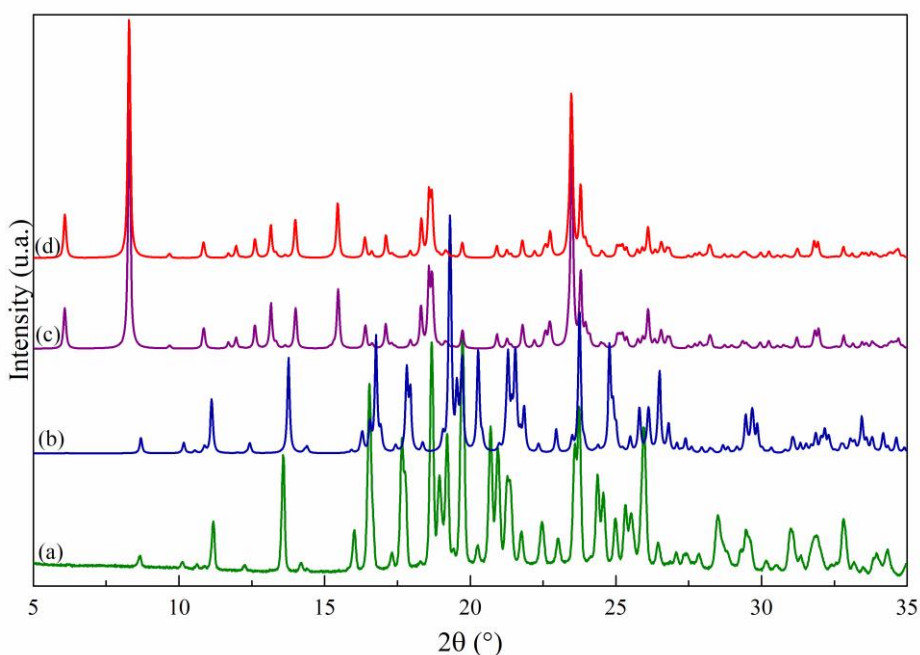


Figure 5 – Experimental PXR D patterns of (a) RLCDMA at room temperature and the calculated patterns of the clathrates at 100 K (b) RLCDMF (c) RLCACT (d) RLCMOH.

A comparison among the calculated clathrates at 100 K with the experimental RLCDMA at room temperature (Figure 5), demonstrates the similarity of the RLCDMA diffractogram (Figure 5a) with the calculated RLCDMF (Figure 5b). The peaks between them became noticeably closer. The same similarity was visualized previously (Figure 4), which allows to classify this clathrate with DMA as a member of C2 family.

The calculated X-ray diffraction shown in Figure 5 is in accordance with the observed from the packing visualized at 100K (Figure 1), allowing to affirm that the structures corresponding to RLCACT and RLCMOH are isomorphic. However, it is necessary to recover a previously exposed data, that, at room temperature, the diffraction patterns of RLCACT and RLCDMF allowed to infer isomorphism. These data lead us to think about the existence of different arrangement of the structures according to the temperature, due to this, a single crystal of RLCDMF was collected at 298K.

The crystallographic data of the crystal collected at 298K (Figure 6b) is presented in Table 1 and based on the difference from that one collected at 100K, coupled with structures that does not present an overlapping, suggesting a polymorphism. The polymorph obtained at 100K was named polymorph α and the one obtained at 298K was denominated polymorph β .

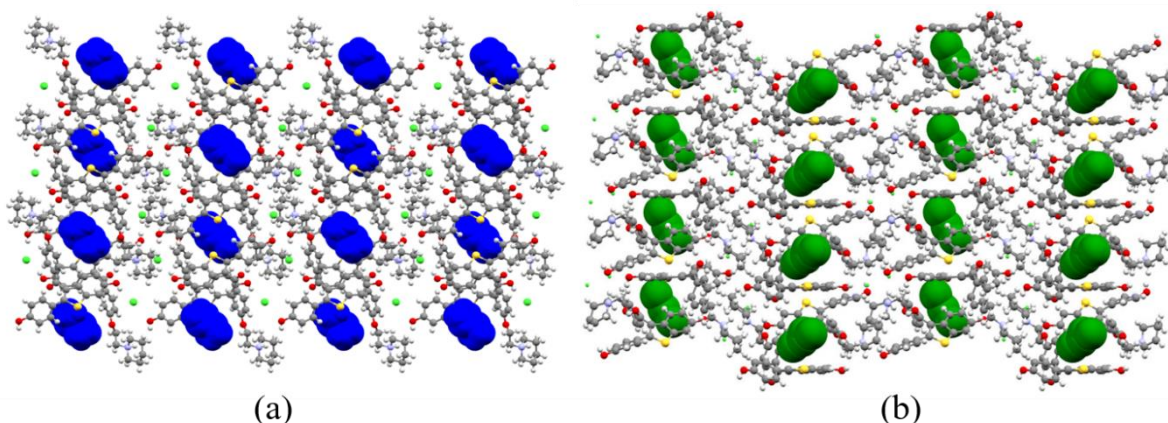


Figure 6 – Clathrate crystalline packing of (a) RLCDMF- α at 100 K and (b) RLCDMF- β at 298 K, along b axis.

3.2 Thermal analysis

Thermal techniques provide significant information and are considered an efficient characterization method³. The DCS and TG analyses were conducted comparing the new solid forms obtained with the raw material (Figure 7). The DSC curve of the raw material (Figure 7a) and the sample processed with acetone (Figure 7b) are already described in the

literature²¹, where RLC shows two endothermic events at 266.0 °C ($\Delta H = 131$ J/g) and 309.5 °C ($\Delta H \sim 170$ J/g). The first event is related to RLC melting point and the second event is associated with the decomposition of the sample, which is characterized by the presence of two peaks (337 °C and 406 °C) in the first derivative of the TG curve, representing a total mass loss of 82% at 500 °C.

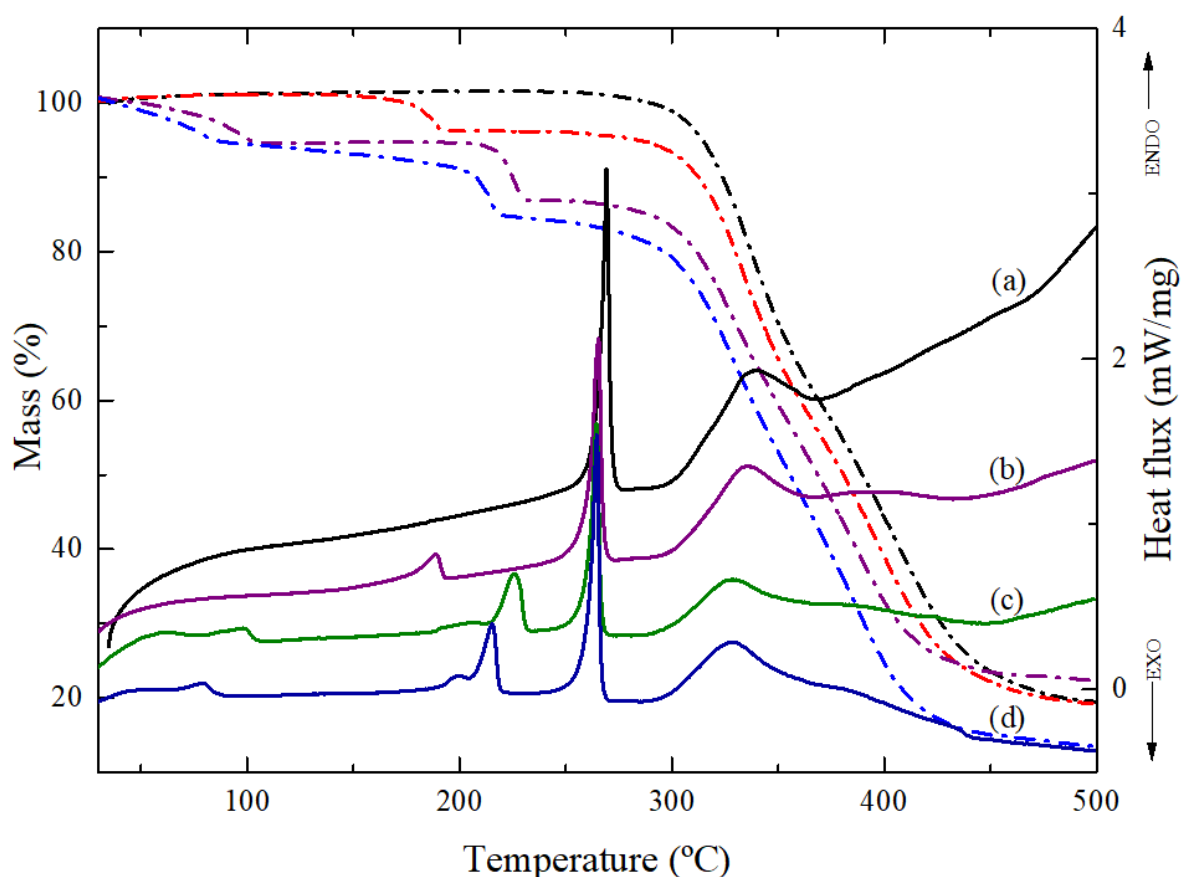


Figure 7 - Thermogravimetry (dashed line) and differential scanning calorimetry (solid line) curves of RLC of the (a) raw material before mechanochemical activation (b) RLCACT (c) RLCDMA (d) RLCDMF. The curves were vertically translated for clarity.

The DSC curve of RLCACT (Figure 7b) shows three well-defined endothermic events, with the first peak ($T_{onset} = 178$ °C, $\Delta H = 23$ J/g) related to 5% mass loss on the TG curve. The second event is an endothermic peak ($T_{onset} = 260$ °C, $\Delta H = 102$ J/g), which is in good agreement with the melting point of the RLC (Figure 7a). Finally, the third endothermic peak ($T_{onset} = 304$ °C, $\Delta H \sim 124$ J/g) is correlated to a fall in mass in the TG curve, associated with the decomposition of the RLC. Since a mass loss occurred at 178 °C, probably associated with the release of acetone, whose identity was confirmed by the analysis of the released gases.

In Figure 7c the TG/DSC curves associated to the sample processed with N, N-Dimethylacetamide are presented. The DSC curve shows six endothermic events, the first two events are not very well defined, with peak ($T_{onset} = 31.2\text{ }^{\circ}\text{C}$) related to a mass loss of approximately 5.5% on the TG curve. The third and fourth events are endothermic ($T_{onset} = 189.6\text{ }^{\circ}\text{C}$, $\Delta H = 4.06\text{ J/g}$, $T_{onset} = 216.7\text{ }^{\circ}\text{C}$, $\Delta H = 35.18\text{ J/g}$), and are related to loss of approximately 8% in the TG curve. The fifth event ($T_{onset} = 260.3\text{ }^{\circ}\text{C}$, $\Delta H = 88\text{ J/g}$) is related to the melting point of the RLC. The sixth endothermic peak ($T_{onset} = 298.6\text{ }^{\circ}\text{C}$) is associated with the decomposition of the RLC. The first mass loss in the TG (5.5%) is associated with two consecutive events in the DSC. Regarding the loss of mass in the TG curve that occurred at $189.6\text{ }^{\circ}\text{C}$, it is associated with the two events in the DSC curve, which probably occurred due to the two successive releases of DMA.

The DSC curve of N,N-Dimethylformamide (Figure 7d) shows six endothermic events, and the first two events are not very well defined, with the first $T_{onset} = 29.9\text{ }^{\circ}\text{C}$, related to a loss of 3.7% of mass in the TG curve. The second and third events are endothermic ($T_{onset} = 188.2\text{ }^{\circ}\text{C}$, $\Delta H = 0.4\text{ J/g}$, $T_{onset} = 211.2\text{ }^{\circ}\text{C}$, $\Delta H = 25.53\text{ J/g}$), and are related to loss of 7 % mass on the TG curve. The fourth event ($T_{onset} = 261\text{ }^{\circ}\text{C}$, $\Delta H = 100.5\text{ J/g}$) relates to the melting point of the CLR. And the fifth endothermic peak ($T_{onset} = 299.6\text{ }^{\circ}\text{C}$, $\Delta H = 358.4\text{ J/g}$) is associated with the decomposition of the RLC. The first mass loss in TG (3.7%) is associated with two consecutive DSC events, and could be related to solvent release. In principle, the hypothesis established is that the solvent could be water, however with the analysis of the IR of gases released it was not possible to associate water bands in order to confirm this hypothesis. Related to the mass loss in the TG curve that occurred at $188.2\text{ }^{\circ}\text{C}$, it is associated with the two events in the DSC curve, which are due to two successive releases of DMF, and the identity of the host molecule is also confirmed by analysis of IR of gases released during the analysis. Notice the similarity between the thermal behavior of RLCDMF and RLCDMA.

The solvents are being released in high temperatures, even the most volatile ones such as acetone, which can be explained by the fact that they are inside the cavities formed by RLC, which represents a barrier to be overcome for solvent release. Thermal analysis has suggested that the new forms could be transformed back into RLC on heating, once there is similarity of the melting point of the samples obtained after the release of solvents and the melting point of the raw material. Regarding the thermal behavior of RLCDMOH, it was not

possible to add this analysis, since the PXRD showed this clathrate is not stable at room temperature.

The PXRD and FT-Raman as function of temperature (Figure 8 and 9, respectively) also show the transformation of the clathrates into RLC. All clathrates follow the same tendency under the same conditions.

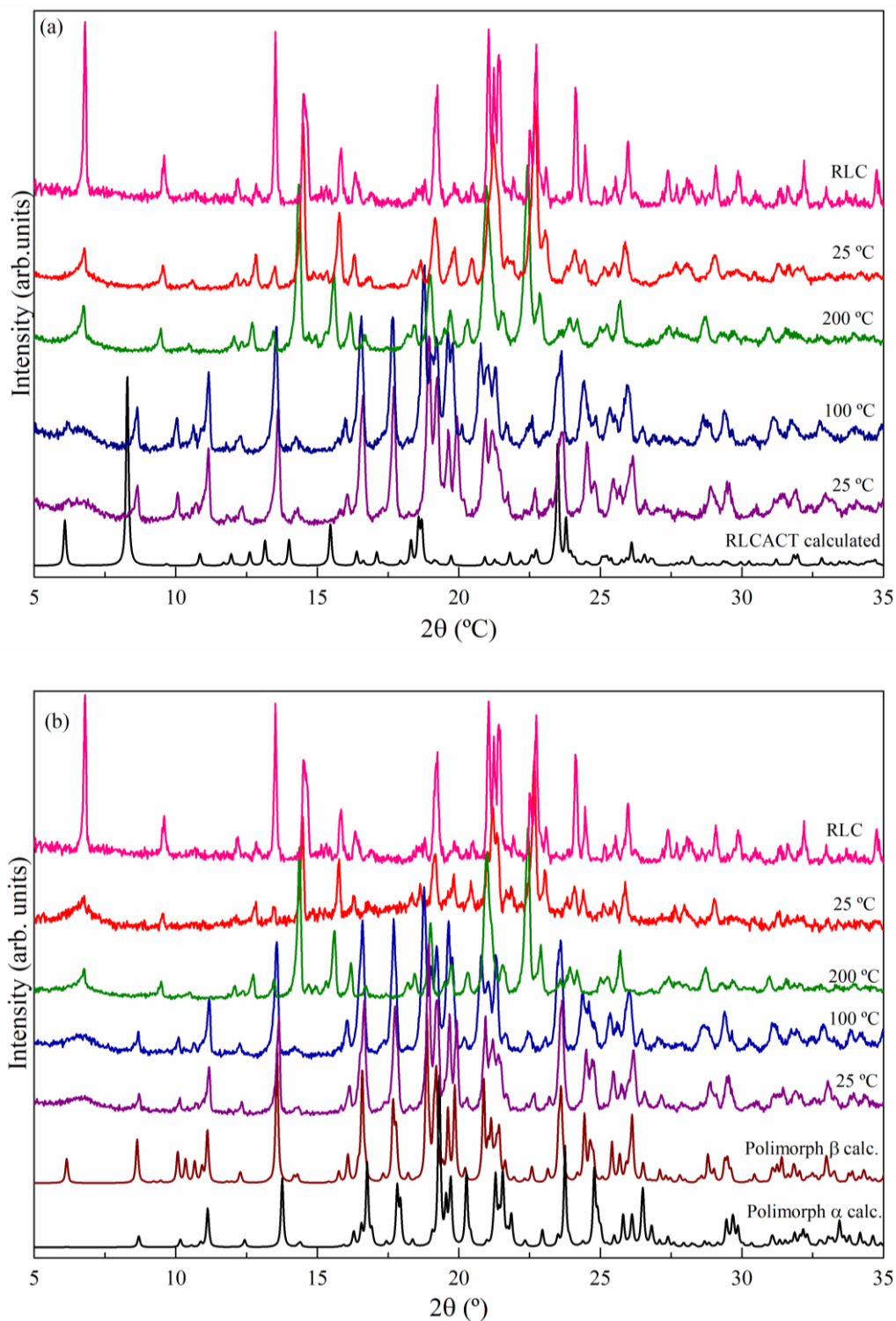


Figure 8 - PXRD recorded sequentially, from bottom to top, as a function of the temperature of (a) RLCACT (b) RLCDMF with polymorphs.

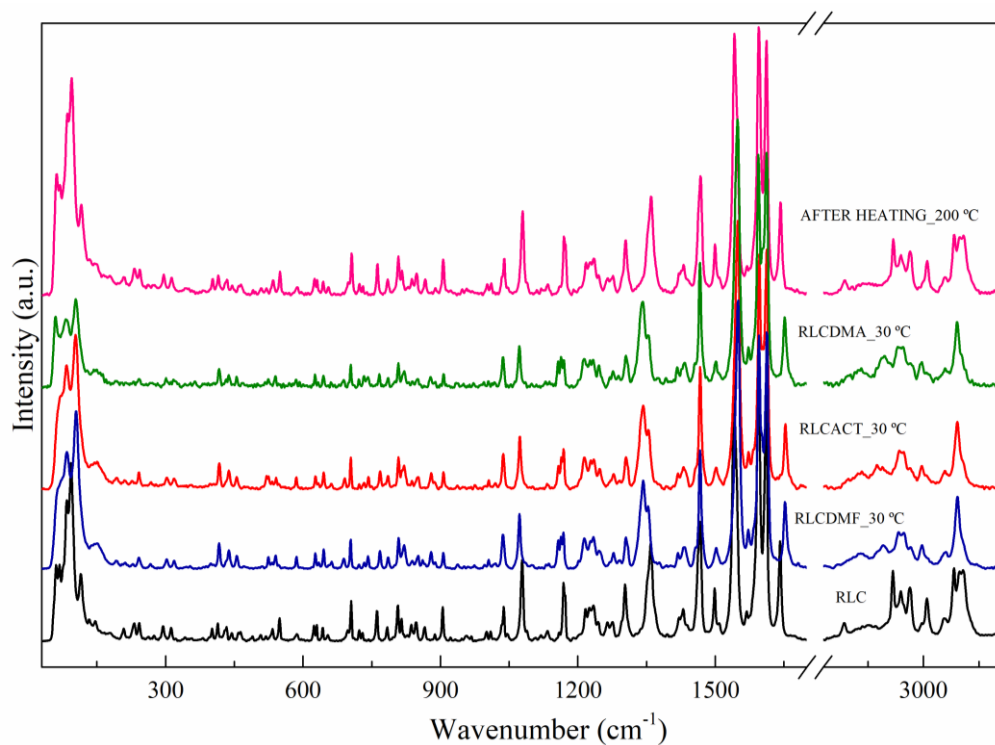


Figure 9 - Raman spectra at room temperature of RLC, RLCACT, RLCDMF, RLCDMA and after heating all the clathrates transform into RLC

In order to verify the solvent exchange capacity between the clathrates RLCACT and RLCDMF, the powder of RLCACT, obtained by mechanochemical grinding method, was submitted to a diffusion process, being kept in an opened vial, which in turn was placed in a closed becker containing the solvent DMF, and after one month the vial was removed. Considering that is not possible to differentiate these clathrates by PXRD, once they present the same powder pattern at room temperature, the thermal analysis was employed with this purpose (Figure 10).

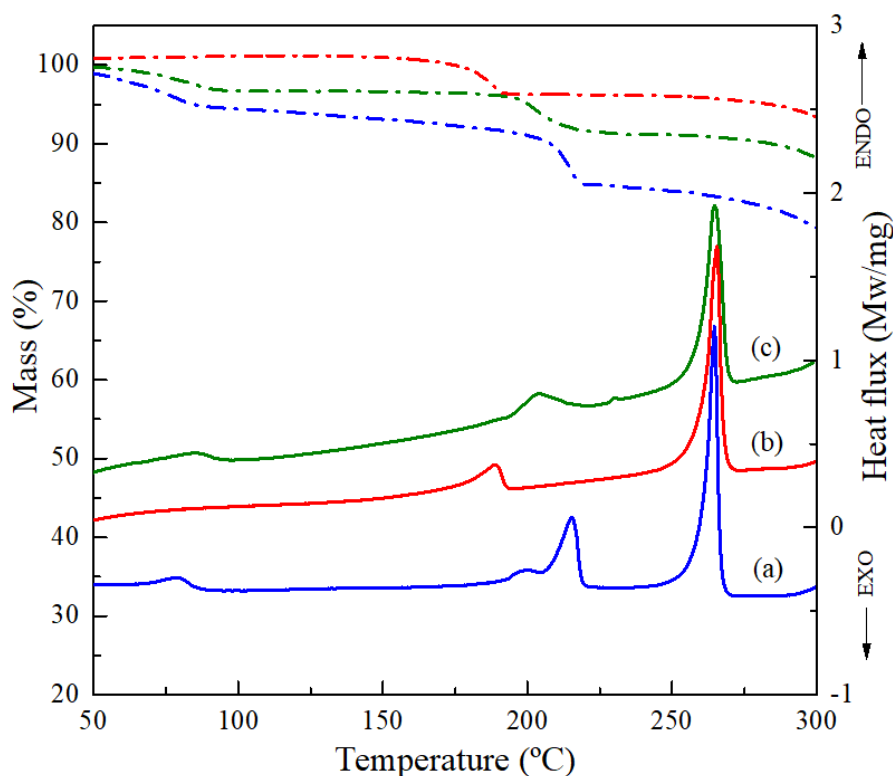


Figure 10 – TG/DSC curves of RLCDMF (a), RLCACT (b) and the product of diffusion (c). The curves were vertically translated for clarity.

Based on the data presented in Figure 10 more details about the dynamic process was observed, being possible to infer that the sample obtained after the diffusion (Figure 10c) demonstrates the same thermal behavior of the RLCDMF. The product of the diffusion also presented three endothermic events, the first two in DSC curve (194,4 °C; $\Delta H = 18,99$ J/g) are related to the release of the solvents in a sequence, once TG has a mass loss (5.03%), and the third is related to the melting point of the raw material (259,7 °C; $\Delta H = 95,8$ J/g). These data allowed to infer that the clathrate RLCACT can exchange its solvent when it is in an environment containing DMF.

3.4 Solubility

Solubility and dissolution rate are important factors that influence the activity of an API ²⁶, once they are correlated with bioavailability ²⁷. These factors need to be considered and evaluated to new solid forms, once there is the probability of an enhancement of them. Other works exhibited drugs with improved solubility after new solid forms were obtained, demonstrating the efficiency and reproducibility of this strategy^{28,29}.

Taking into account that a pharmaceutical solid form can modify the physicochemical properties of an API, such as solubility, the water solubility of the clathrates was evaluated and compared with the raw material (Figure 11).

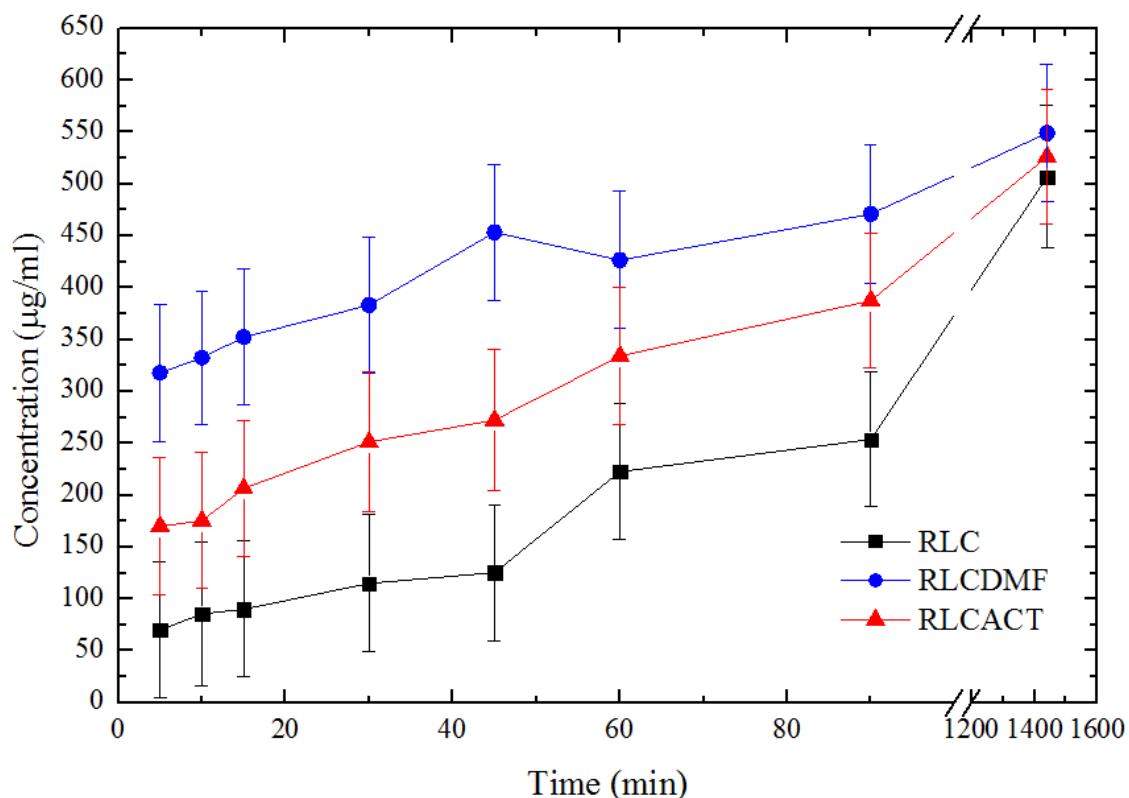


Figure 11 – Dissolution profile of the RLC and its clathrates

Figure 11 shows the comparison of the water dissolution profiles of RLCACT and RLCDMF clathrates related to the raw material. RLCACT and RLCDMF clathrates have better solubility than the raw material, but both dissolve slowly and reach the maximum value after 24h. These dissolution profiles saturate at 530 ± 60 , 550 ± 60 and 510 ± 60 $\mu\text{g} / \text{mL}$, which corroborates well with a previous reported value of 630 ± 130 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ¹⁴. The similarity between the saturation values of clathrates with the raw material suggests the water-mediated conversion of all of them into RLC as previously described in the literature related to RLCACT. This assumption was confirmed by PXRD measurements of the suspended solid after 24 h. The registered standards agree with the RLC standard reported by Vega and coworkers¹². It is observed that the RLCDMF exhibits the highest solubility in front of the profiles presented by RLCACT and RLC, and the clathrate with acetone is slightly more soluble than the raw material.

4. CONCLUSION

In this work grinding, cooling crystallization and diffusion methods were applied successfully to obtain the clathrates of raloxifene hydrochloride, and they were characterized by several experimental techniques, such as PXRD, thermal analysis and vibrational spectroscopy, which were able to clearly identify the clathrates. It was also possible to solve four crystalline structures, with the visualization of the packing, as well as the hydrogen bonds necessary for formation and stabilization of the crystalline arrangement. From the X-ray diffraction, the clathrate containing N,N-dimethylacetamide as a guest was also inferred.

The thermal profile was verified as well as the possibility of solvent exchange by diffusion, with conversion of the clathrate RLCACT into RLCDMF when the first one was inserted in an environment with DMF. The importance of this finding is emphasized in order to guarantee the identity of the clathrate as well as the properties attached to it, as solubility, once a difference in solubility is visualized between different clathrates.

Monitoring by PXRD as a function of temperature and FT-Raman after heating corroborated with thermal analysis, allowing to observe that all clathrates are converted to the crystalline structure of the RLC. In addition, the dissolution profiles of the clathrates analyzed confirm the better solubility in relation to the RLC.

5. AUTHOR INFORMATION

Corresponding Author

*E-mail: ayala@fisica.ufc.br

Notes

The authors declare no competing financial interest.

6. ACKNOWLEDGMENTS

We gratefully acknowledge the support of CNPQ and CAPES.

7. REFERENCES

- (1) Berry, D. J.; Steed, J. W., Pharmaceutical cocrystals, salts and multicomponent systems; intermolecular interactions and property based design. *Advanced drug delivery reviews* **2017**, 117, 3-24.
- (2) Cerreia Vioglio, P.; Chierotti, M. R.; Gobetto, R., Pharmaceutical aspects of salt and cocrystal forms of APIs and characterization challenges. *Advanced drug delivery reviews* **2017**, 117, 86-110.
- (3) Healy, A. M.; Worku, Z. A.; Kumar, D.; Madi, A. M., Pharmaceutical solvates, hydrates and amorphous forms: A special emphasis on cocrystals. *Advanced drug delivery reviews* **2017**, 117, 25-46.

- (4) Bolla, G.; Nangia, A., Pharmaceutical cocrystals: walking the talk. *Chem Commun (Camb)* **2016**, 52, (54), 8342-60.
- (5) Aitipamula, S.; Banerjee, R.; Bansal, A. K.; Biradha, K.; Cheney, M. L.; Choudhury, A. R.; Desiraju, G. R.; Dikundwar, A. G.; Dubey, R.; Duggirala, N.; Ghogale, P. P.; Ghosh, S.; Goswami, P. K.; Goud, N. R.; Jetty, R. R. K. R.; Karpinski, P.; Kaushik, P.; Kumar, D.; Kumar, V.; Moulton, B.; Mukherjee, A.; Mukherjee, G.; Myerson, A. S.; Puri, V.; Ramanan, A.; Rajamannar, T.; Reddy, C. M.; Rodriguez-Hornedo, N.; Rogers, R. D.; Row, T. N. G.; Sanphui, P.; Shan, N.; Shete, G.; Singh, A.; Sun, C. C.; Swift, J. A.; Thaimattam, R.; Thakur, T. S.; Kumar Thaper, R.; Thomas, S. P.; Tothadi, S.; Vangala, V. R.; Variankaval, N.; Vishweshwar, P.; Weyna, D. R.; Zaworotko, M. J., Polymorphs, Salts, and Cocrystals: What's in a Name? *Crystal Growth & Design* **2012**, 12, (5), 2147-2152.
- (6) Bouhroum, A.; Burley, J. C.; Champness, N. R.; Toon, R. C.; Jinks, P. A.; Williams, P. M.; Roberts, C. J., An assessment of beclomethasone dipropionate clathrate formation in a model suspension metered dose inhaler. *International journal of pharmaceutics* **2010**, 391, (1-2), 98-106.
- (7) Peraka, K. S.; Lusi, M.; Bajpai, A.; Zaworotko, M. J., Crystal Engineering Approach to Generate Crystalline Inclusion Compounds in Which 5-Hydroxyisophthalic Acid Serves as a Host. *Crystal Growth & Design* **2017**, 17, (3), 959-962.
- (8) Patchkovskii, S.; Tse, J. S., Thermodynamic stability of hydrogen clathrates. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **2003**, 100, (25), 14645-50.
- (9) Kemperman, G. J.; de Gelder, R.; Dommerholt, F. J.; Raemakers-Franken, P. C.; Klunder, A. J. H.; Zwanenburg, B., Induced fit phenomena in clathrate structures of cephalosporins. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2* **2000**, (7), 1425-1429.
- (10) Bombicz, P.; Forizs, E.; Madarász, J.; Deák, A.; Kálmán, A., Inclusion Compounds containing a drug: structure and thermal stability of the first clathrate of nitrazepam and isothiocyanato ethanol complexes of Co(II) AND Ni(II). *Inorganica Chimica Acta* **2001**, 315, 7.
- (11) Allen, F. H., The Cambridge Structural Database: a quarter of a million crystal structures and rising. *Acta Crystallographica* **2002**, B58, 380 - 388.
- (12) Vega, D.; Fernández, D.; Ellena, J. A., 1-(2-{4-[6-Hydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)benzo[b]thiol-3-ylcarbonyl]-phenoxy}ethyl)piperidinium chloride. *Acta Crystallographica* **2001**, C57, 1092 - 1094.
- (13) Teeter, J. S.; Meyerhoff, R. D., Environmental Fate and Chemistry of Raloxifene Hydrochloride. *Environmental Toxicology and Chemistry* **2002**, 21, (4), 7.
- (14) Trontelj, J.; Vovk, T.; Bogataj, M.; Mrhar, A., HPLC analysis of raloxifene hydrochloride and its application to drug quality control studies. *Pharmacological research* **2005**, 52, (4), 334-9.
- (15) Karimi-Jafari, M.; Padrela, L.; Walker, G. M.; Croker, D. M., Creating Cocrystals: A review of Pharmaceutical Cocrystal Preparation Routes and Applications. *Crystal Growth & Design* **2018**.
- (16) Delori, A.; Friščić, T.; Jones, W., The role of mechanochemistry and supramolecular design in the development of pharmaceutical materials. *CrystEngComm* **2012**, 14, (7), 2350.
- (17) Do, J. L.; Friscic, T., Mechanochemistry: A Force of Synthesis. *ACS central science* **2017**, 3, (1), 13-19.
- (18) Bryan, M. C.; Diorazio, L.; Fei, Z.; Fraunhoffer, K.; Hayler, J.; Hickey, M.; Hughes, S.; Humphreys, L.; Richardson, P.; Schober, M.; Steven, A.; White, T.; Wuyts, S.; Yin, J., Green Chemistry Articles of Interest to the Pharmaceutical Industry. *Organic Process Research & Development* **2017**, 21, (2), 153-164.
- (19) Sudha, C.; Srinivasan, K., Nucleation control and separation of paracetamol polymorphs through swift cooling crystallization process. *Journal of Crystal Growth* **2014**, 401, 248-251.
- (20) Rodrigues, M.; Baptista, B.; Lopes, J. A.; Sarraguca, M. C., Pharmaceutical cocrystallization techniques. Advances and challenges. *International journal of pharmaceutics* **2018**, 547, (1-2), 404-420.
- (21) de Oliveira, Y. S.; Oliveira, A. C.; Ayala, A. P., Mechanochemically induced solid state transformations: The case of raloxifene hydrochloride. *European journal of pharmaceutical sciences : official journal of the European Federation for Pharmaceutical Sciences* **2018**, 114, 146-154.

- (22) Dolomanov, O. V.; Bourhis, L. J.; Gildea, R. J.; Howard, J. A. K.; Puschmann, H., OLEX2 : a complete structure solution, refinement and analysis program. *Journal of Applied Crystallography* **2009**, 42, (2), 339-341.
- (23) Sheldrick, G. M., Crystal structure refinement with SHELXL. *Acta Crystallographica Section C Structural Chemistry* **2015**, 71, (1), 3-8.
- (24) Sheldrick, G. M., A short history of SHELX. *Acta Crystallogr. Sect. A* **2008**, 64, (Pt 1), 112-122.
- (25) Burra, M.; Jukanti, R.; Janga, K. Y.; Sunkavalli, S.; Velpula, A.; Ampati, S.; Jayaveera, K. N., Enhanced intestinal absorption and bioavailability of raloxifene hydrochloride via lyophilized solid lipid nanoparticles. *Advanced Powder Technology* **2013**, 24, (1), 393-402.
- (26) Thakuria, R.; Delori, A.; Jones, W.; Lipert, M. P.; Roy, L.; Rodriguez-Hornedo, N., Pharmaceutical cocrystals and poorly soluble drugs. *International journal of pharmaceutics* **2013**, 453, (1), 101-25.
- (27) Dalpiaz, A.; Pavan, B.; Ferretti, V., Can pharmaceutical co-crystals provide an opportunity to modify the biological properties of drugs? *Drug Discov Today* **2017**, 22, (8), 1134-1138.
- (28) Sowa, M.; Ślepokura, K.; Matczak-Jon, E., Solid-state characterization and solubility of a genistein–caffeine cocrystal. *Journal of Molecular Structure* **2014**, 1076, 80-88.
- (29) Sun, X.; Yin, Q.; Ding, S.; Shen, Z.; Bao, Y.; Gong, J.; Hou, B.; Hao, H.; Wang, Y.; Wang, J.; Xie, C., (Solid + liquid) phase diagram for (indomethacin + nicotinamide)-methanol or methanol/ethyl acetate mixture and solubility behavior of 1:1 (indomethacin + nicotinamide) co-crystal at T=(298.15 and 313.15) K. *The Journal of Chemical Thermodynamics* **2015**, 85, 171-177.

CAPÍTULO 4 - DESENHO RACIONAL APLICADO AO BENZOILMETRONIDAZOL

O benzoilmetronidazol (BZMD), 2-(2-methyl-5nitro-1H-imidazol-1-yl)ethyl benzoate (Ali *et al.*, 1999), é um éster derivado do metronidazol. Pertence à classe dos derivados nitroimidazóis (Al Khafaji e Al-Bayati, 2017) e é indicado para o tratamento de infecções causadas por uma ampla gama de bactérias anaeróbicas, protozoários e bacteroides, incluindo tricomoníase, amebíase, vaginose e gengivite (Caira, 1993; Bempong *et al.*, 2005). O BZMD apresenta um sabor agradável em comparação ao gosto amargo do metronidazol base, sendo utilizado na forma farmacêutica suspensão oral para a pediatria. Dessa forma, consegue-se produzir uma dispersão líquida palatável para os pacientes, permitindo flexibilidade na administração, sendo particularmente vantajoso para crianças e idosos (Zietsman, 2005).

Segundo a ANVISA o BZMD pertence à classe IV do Sistema de Classificação Biofarmacêutica, por apresentar baixa solubilidade e permeabilidade, o que pode resultar em problemas na absorção e conseqüentemente em sua biodisponibilidade. A faixa de fusão para este IFA é de 99-102°C, e a solubilidade de 0,2 mg/mL (Bempong *et al.*, 2005). A dissolução desta classe de medicamentos geralmente é dependente da natureza ácida ou básica, da solubilidade intrínseca e de fatores associados à formulação (Da Silva *et al.*, 2016).

O desenho racional baseado na Engenharia de cristais foi aplicado ao fármaco benzoilmetronidazol. A frequência do *synthon* imidazol··hidroxila foi investigada a partir da base de dados *CSD*. Dessa forma, dentre os coformadores disponíveis no laboratório, aqueles que dispunham de, pelo menos, uma hidroxila foram selecionados e combinados ao fármaco.

As condições de cristalização envolveram a aplicação da metodologia de evaporação lenta, utilizando-se etanol como solvente. Os coformadores relacionados no apêndice A foram empregados nas proporções estequiométricas de 1:1, 1:2 e 1:3, considerando o número de hidroxilas disponíveis.

A partir do emprego do desenho racional, 13 novas formas sólidas foram obtidas, e o artigo intitulado “The Design of Novel Metronidazole Benzoate Structures: exploring stoichiometric diversity” apresenta a trajetória para a obtenção dessas formas sólidas bem como comprova a robustez do *synthon* escolhido. De modo a proceder uma

melhor investigação sobre as novas formas sólidas resultados referentes ao comportamento térmico e solubilidade das novas formas sólidas serão exibidos após o artigo.

4.1 Artigo: “The Design of Novel Metronidazole Benzoate Structures: exploring stoichiometric diversity”

The Design of Novel Metronidazole Benzoate Structures: exploring stoichiometric diversity

Yara Santiago de Oliveira^a, Wendell Saraiva Costa^a, Poliana Ferreira Borges^b, Maria Silmara Alves de Santana^c and Alejandro Pedro Ayala^{c*}

^aDepartment of Pharmacy, Federal University of Ceará, Fortaleza, Ceará, Brazil

^bDepartment of Chemical Engineering, Federal University of Ceará, Fortaleza, Ceará, Brazil

^cDepartment of Physics, Federal University of Ceará, Fortaleza, Ceará, Brazil

Correspondence email: ayala@fisica.ufc.br

Synopsis – The imidazole··hydroxyl synthon was explored by combining benzoylmetronidazole with several coformers containing phenol and carboxylic acid groups. Based on a rational design strategy two salts and eleven cocrystals were obtained, with predefined stoichiometries (1:1, 2:1 and 3:1).

Abstract The use of supramolecular synthons as a strategy to control the crystal structure is a key factor to develop new solid forms with physicochemical properties optimized by design. However, to achieve this objective, it is necessary to understand the intermolecular interactions in the context of crystal packing. The feasibility of a given synthon depends on its flexibility to combine the drug with a variety of coformers. In this work, the imidazole··hydroxyl synthon is investigated using as target molecule benzoylmetronidazole (BZMD), whose the imidazole group seems to be a suitable acceptor for hydrogen bonds. Thus, coformers with carboxylic acids and phenol groups were chosen. According to the availability of binding sites presented in the coformer, and considering the proposed synthon and the hydrogen bond complementarity as major factors different drug:coformer stoichiometric ratios were explored (1:1, 2:1 and 3:1). Thirteen new solid forms (two salts and eleven cocrystals) were produced, and their crystalline structures elucidated, confirming the robustness of the selected synthon.

Keywords: Metronidazole benzoate; Crystal Engineering; Cocrystal; Salt.

1. Introduction

The understanding of the intermolecular interactions in the context of crystal packing and the ability to predict them using supramolecular synthons as a strategy to control the crystal structure are key factors to generate new solid forms with a desired set of physicochemical properties (Corpinot & Bučar, 2018, DESIRAJU, 2010). This research area

was rapidly developed due to the possibility of rationally design structures of pharmaceuticals compounds (Babu *et al.*, 2012, Blagden *et al.*, 2007, Bolla & Nangia, 2016), improving their physicochemical properties with tailored pharmacokinetics and mechanical properties, such as solubility, stability, flowability and compressibility (Bolla & Nangia, 2016). Further advances have confirmed that the path for the development of a new form depends on clear steps, which are no longer based only on serendipity, but in the rational design of solid forms as part of a field known as Crystal Engineering (Kavanagh *et al.*, 2018).

The adopted strategy combines the ability to rationally design supramolecular structures and the modulation of the undesired physicochemical properties of the drug without any covalent modification in the molecules (Berry & Steed, 2017). According to the availability of binding sites presented in the coformer, and considering the proposed synthon and the hydrogen bond complementarity as major factors (Wang *et al.*, 2018). Thus, the first step on the development path is to identify and select potential hydrogen bonding sites in the Active Pharmaceutical Ingredient (API) and to propose right coformers with complementary groups (synthons) (Aitipamula *et al.*, 2014). The initial prospection is vitally important for discovering supramolecular synthons with pharmaceutical relevancy (Kavanagh *et al.*, 2018, Subhankar & Desiraju, 2018).

The possibility to generate different solid forms from the API:coformer combination (Berry & Steed, 2017, Vioglio *et al.*, 2017, Healy *et al.*, 2017, Shaikh *et al.*, 2018) have consolidated the drug development based on pharmaceutical cocrystals, since there are strong scientific evidences corroborating their potential to provide viable candidates for solid formulations having "by design" properties. Furthermore, a growing interest of the pharmaceutical industry to use these products have been observed, once they are a reality on the market. Thus, we can mention the cocrystals Suglat® (ipragliflozin and L-proline), Steglatro® (ertugliflozin and L-pyroglutamic acid) and Entresto® (valsartan and sacubitril) as successful examples of commercialization (Kavanagh *et al.*, 2018). The growing interest in using pharmaceutical cocrystals have led the US Food and Drug Administration (FDA, 2018) and the European Medicines Agency (EMA) (EMA, 2015) to publish position papers related to them. This is considered a regulatory framework, providing guidance to industry and expand the records for cocrystals.

The target molecule used in this work in order to apply these principles was benzoylmetronidazole (BZMD) (Figure 1), also known as metronidazole benzoate. This

drug is indicated for the treatment of infections caused by a wide range of anaerobic, protozoan and bacteroid bacteria, including trichomoniasis, amebiasis, vaginosis and gingivitis (Bempong *et al.*, 2005, Caira *et al.*, 1993). Hoelgaard and Møller (Hoelgaard & Møller, 1983) reported two anhydrous (anhydrates I and II) and one monohydrate (BZMDH) forms of BZMD, but just the monohydrate and the commercial anhydrous forms have the crystallographic structure elucidated (Caira *et al.*, 1993). However, no one of these structures is reported in the Cambridge Structural Database (CSD). BZMD anhydrate I crystallizes as blocks or elongated prisms, while the monohydrate form has hexagonally shaped prisms. Both anhydrous BZMD crystallizes in triclinic systems, belonging to the space group $P\bar{1}$ but differing in the crystal packing and BZMD conformation. The crystalline structure of anhydrate I is mainly determined by $\text{CH}\cdots\pi$ interactions and weak hydrogen bonds, among them it is relevant to emphasize the role of the nitrogen of the imidazole group as an acceptor. This fact is evident in the monohydrated form, as the simplest multicomponent BZMD structure, where water molecules act as a bridge through $\text{O}_w\text{H}\cdots\text{N}$ and $\text{O}_w\text{H}\cdots\text{O}$ bonds (Caira *et al.*, 1993). Based on these structures, the imidazole group seems to be a suitable acceptor for hydrogen bonds with cofomers containing hydroxyl groups. Thus, we decided to explore this synthon by choosing cofomers with carboxylic acids and phenol groups.

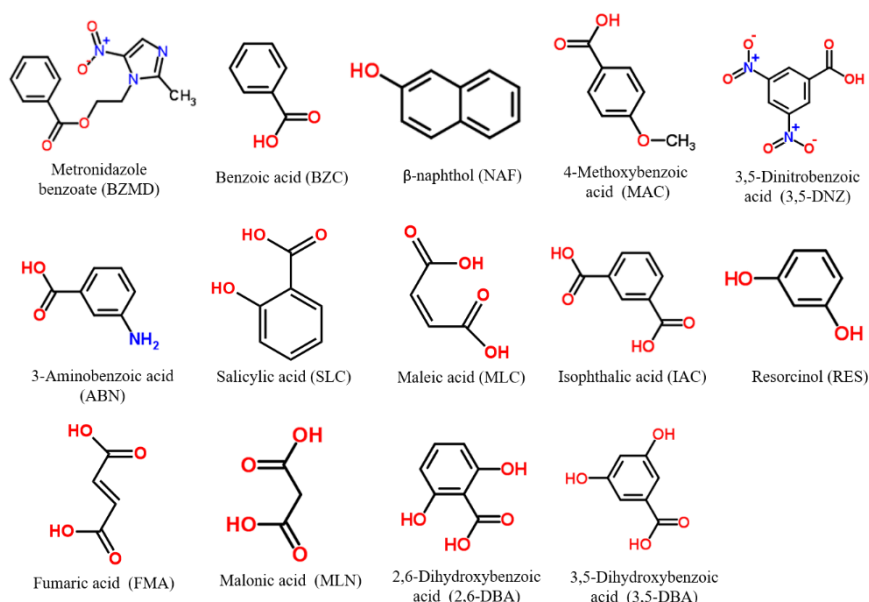


Figure 1 - Metronidazole Benzoate, Cocrystal and Salt Formers and Their Corresponding Abbreviations

Additional factors, such as solvent, temperature and methodology, have also influence in the final product (Aitipamula *et al.*, 2014, Sarraguca *et al.*, 2016). Several methods can be

used in order to obtain new solid forms (Delori *et al.*, 2012, Do & Friscic, 2017, Douroumis *et al.*, 2017, Hasa & Jones, 2017, James *et al.*, 2012). In this study, the rational design provided by crystal engineering was aligned to the traditional solvent evaporation methodology (Barikah, 2018), which has been successfully applied with a large number of APIs (Diniz *et al.*, 2018, Sarkar & Rohani, 2015, Shayanfar & Jouyban, 2014, Shayanfar *et al.*, 2014). Following this strategy, thirteen new solid forms (two salts and eleven cocrystals) were successfully obtained employing the crystal engineering principles by selecting suitable cofomers.

2. Experimental Section

2.1 Materials

Metronidazole benzoate was used as received from Brazilian Pharmacopeia (Brazil), and the solvent was purchased from Vetec and used without further purification.

2.2 Solution Growth of Single Crystals

Slow evaporation method (Barikah, 2018) was used to growth single crystals, using about 15mg of metronidazole benzoate and 2 mL of ethanol as solvent in a vial. The vial was left stirring on a hot plate. Then, the solvent was allowed to evaporate at room temperature.

Seven letter codes were given for the salts and cocrystals obtained, and they were used throughout this manuscript. The first four letters are related to the drug benzoylmetronidazole (BZMD) and more three letters were added related to the cofomer: benzoic acid (BZMDBZC), β -naphthol (BZMDNAF), 4-methoxybenzoic acid (BZMDMAC), 3,5-dinitrobenzoic acid (BZMD3,5DNZ), 3-aminobenzoic acid (BZMDABN), salicylic acid (BZMDSLCL), maleic acid (BZMDMLC), isophthalic acid (BZMDIAC), resorcinol (BZMDRES), fumaric acid (BZMDFMA), malonic acid (BZMDMLN), 2,6-dihydroxybenzoic acid (BZMD2,6DBA) and 3,5-dihydroxybenzoic acid (BZMD3,5DBA), respectively.

2.3 Single Crystal X-ray Diffraction

Single-crystal X-ray diffraction data collection (ϕ scans and ω scans with κ and θ offsets) were performed at room temperature on a Bruker-AXS D8 VENTURE equipped with a Kappa goniometer, PHOTON II CPAD detector, a MoK α INCOATEC I μ S 3.0

microfocus source ($\lambda = 0.71073 \text{ \AA}$). The crystal centring, unit cell determination, refinement of the cell parameters and data collection was controlled through the program APEX3 (Bruker, 2012). The frame integration was performed using SAINT (Bruker, 2016) and the intensities were scaled and absorption corrected using SADABS (Bruker, 2001). Using Olex2 (Dolomanov *et al.*, 2009), the structure was solved by intrinsic phasing using SHELXT (Sheldrick, 2015) and refined by full-matrix least-squares calculation based on F^2 for all reflection using SHELXL (Sheldrick, 2007). All non-hydrogen atoms were refined anisotropically. Hydrogen atom positions were calculated geometrically and refined using the riding model. The programs MERCURY (version 3.10) (Macrae, 2006) and VEGA (Pedretti *et al.*, 2004) were used to prepare the artwork representations for publication. The crystallographic information files of the structures BZMD2,6DBA, BZMD3,5DBA, BZMD3,5DNZ, BZMDABN, BZDBZC, BZMDFMA, BZMDIAC, BZMDMAC, BZMDMLC, BZDMLN, BZDNAF, BZMDRES and BZMDSLCL were deposited in the Cambridge Structural Data Base (Groom & Allen, 2013), respectively under the codes 1890421-1890433. Copies of the data can be obtained, free of charge, via www.ccdc.cam.ac.uk. All the crystallographic data and refinement parameters of the novel solid forms are given in Table 1.

3. Results

3.1 Structures

Currently the Cambridge Structural Database (CSD) (Groom & Allen, 2013) contains over 900,000 entries, considering small-molecule organic and metal-organic crystal structures. In a general search performed on this database the synthon $\text{Im}\cdots\text{H}\cdots\text{OC}$ produces 1554 hits, whereas $\text{Im}\cdots\text{carboxylic}$ and $\text{Im}\cdots\text{phenol}$ were found in 714 and 187 structures, respectively. Thus, the prevalence of the synthons relating the imidazole group to carboxylic and phenol moieties are, respectively, 50 and 10 %, confirming that they can be used as markers in the coformer selection. Based on that, this work is following the pre-established sequence depicted in the introduction, where the first step was the selection of suitable coformers having complementarity hydrogen bonds with the API through the proposed Imidazole \cdots Hydroxyl synthon ($\text{Im}\cdots\text{H}\cdots\text{O}$). A large number of coformers containing carboxylic acids and phenols functional groups were tested, but, despite evidences of the formation of new solid forms, just those with elucidated crystalline structures are reported in this contribution (Figure 1).

Table 1 Crystallographic Data and Structure Refinement Parameters for the BZMD Structures.

	BZMBZC	BZMDNAF	BZMDMAC
Empirical Formula	C ₂₀ H ₁₉ N ₃ O ₆	C ₂₃ H ₂₁ N ₃ O ₅	C ₂₁ H ₂₁ N ₃ O ₇
Formula weight	397.38	419.43	427.41
Temperature/K	302.62	273.15	273.15
Crystal system	Monoclinic	Monoclinic	Triclinic
space group	P2 ₁ /n	P2 ₁ /c	P-1
a (Å)	13.5892(11)	8.5105(8)	9.1309 (4)
b (Å)	9.0341(7)	22.387 (2)	11.1274 (4)
c (Å)	16.6112(13)	11.7752 (11)	11.8538 (5)
α (deg)	90	90	107.3650 (10)
β (deg)	108.620(3)	108.664 (6)	103.2700 (10)
γ (deg)	90	90	110.0910 (10)
V /Å ³	1932.6(3)	2125.4(3)	1002.73 (7)
Z	4	4	2
Pcalc g/cm ³	1.366	1.311	1.416
μ/mm ⁻¹	0.103	0.775	0.108
F(000)	832.0	880.0	448.0
crystal size/mm ³	0.9x0.256x0.134	0.418x0.089x0.067	0.734x0.487x0.212
Radiation	MoKα (λ=0.71073)	CuKα (λ=1.54178)	MoKα (λ=0.71073)
2θ range for data collection/°	5.176 to 61.128	7.898 to 136.666	7.11 to 55.022
Index ranges	-19≤h≤19, -12≤k≤12, -23≤l≤23	-10≤h≤10, -26≤k≤26, -14≤l≤13	-11≤h≤11, -14≤k≤14, -15≤l≤15
Reflections collected	36981	39131	32021
Independent reflections	5911 [Rint=0.1140, Rsigma=0.0831]	3884[Rint=0.0839, Rsigma=0.0469]	4583[Rint=0.0632, Rsigma=0.0493]
Data/restraints/parameters	5911/0/267	3884/0/282	4583/0/283
Goodness-on-fit on F ²	1.024	1.074	1.043
Final R indexes [I ≥ 2σ(I)]	R ₁ =0.0600, wR ₂ =0.1435	R ₁ =0.0641, wR ₂ =0.1648	R ₁ =0.0590, wR ₂ =0.1512
Final R indexes [all data]	R ₁ =0.1544, wR ₂ =0.2072	R ₁ =0.0858, wR ₂ =0.2037	R ₁ =0.0694, wR ₂ =0.1647
Largest diff. peak/hole/e Å ⁻³	0.20/-0.20	0.27/-0.32	0.76/-0.24
	BZMD3,5DNZ	BZMDABN	BZMDSLCL
Empirical Formula	C ₂₀ H ₁₇ N ₅ O ₁₀	C ₂₀ H ₂₀ N ₄ O ₆	C ₂₀ H ₁₉ N ₃ O ₇
Formula weight	487.39	412.40	413.38
Temperature/K	273.15	273.15	301.34
Crystal system	Monoclinic	Triclinic	Monoclinic
space group	P2 ₁ /c	P-1	P2 ₁ /c
a (Å)	21.0988 (13)	7.9316 (7)	9.5055 (6)
b (Å)	8.4322 (5)	11.9585 (12)	31.2239 (19)
c (Å)	12.0341 (8)	12.1978 (12)	6.8578 (4)
α (deg)	90	76.362 (3)	90
β (deg)	99.505 (2)	78.927 (3)	102.628 (2)
γ (deg)	90	79.583 (3)	90
V /Å ³	2111.6 (2)	1092.21 (18)	1986.2 (2)
Z	4	2	4
Pcalc g/cm ³	1.533	1.254	1.382
μ/mm ⁻¹	0.126	0.094	0.106
F(000)	1008.0	432.0	864.0
crystal size/mm ³	0.456x0.398x0.064	0.914x0.089x0.048	0.678x0.244x0.16
Radiation	MoKα (λ=0.71073)	MoKα (λ=0.71073)	MoKα (λ=0.71073)
2θ range for data collection/°	5.212 to 54.988	5.288 to 54.97	5.884 to 55.016
Index ranges	-27≤h≤27, -10≤k≤10	-10≤h≤10, -15≤k≤15, -	-12≤h≤12, -40≤k≤40,

	-15≤l≤15	15≤l≤15	-8≤l≤8
Reflections collected	71257	38219	69959
Independent reflections	4794 [Rint=0.1085, Rsigma=0.0433]	5008[Rint=0.0898, Rsigma=0.0532]	4553[Rint=0.0348, Rsigma=0.0177]
Data/restraints/parameters	4794/0/318	5008/0/274	4553/0/277
Goodness-on-fit on F ²	1.122	1.0007	1.048
Final R indexes [I ≥ 2σ(I)]	R ₁ =0.0594, wR ₂ =0.1566	R ₁ =0.0547,wR ₂ =0.1387	R ₁ =0.0429, wR ₂ =0.1111
Final R indexes [all data]	R ₁ =0.0938,wR ₂ =0.1922	R ₁ =0.1045,wR ₂ =0.1702	R ₁ =0.0496, wR ₂ =0.1182
Largest diff. peak/hole/e Å ⁻³	0.23/-0.25	0.25/-0.20	0.16/-0.20
	BZMDMLC	BZMDIAC	BZMDRES
Empirical Formula	C ₁₇ H ₁₇ N ₃ O ₈	C ₂₁ H ₁₉ N ₃ O ₈	C ₃₂ H ₃₂ N ₆ O ₁₀
Formula weight	391.33	441.39	660.63
Temperature/K	302.34	304.0	273.15
Crystal system	Monoclinic	Monoclinic	Orthorhombic
space group	<i>C2/c</i>	<i>P2₁/c</i>	<i>Pbca</i>
<i>a</i> (Å)	43.130 (3)	8.8300 (3)	26.3413 (14)
<i>b</i> (Å)	5.7944 (4)	33.7182 (10)	7.1564 (4)
<i>c</i> (Å)	15.2645 (11)	7.3199 (2)	33.8070 (17)
α (deg)	90	90	90
β (deg)	109.600 (3)	107.8780 (10)	90
γ (deg)	90	90	90
V /Å ³	3593.7 (5)	2074.13	6372.9 (6)
Z	8	4	8
Pcalc g/cm ³	1.447	1.414	1.377
μ/mm ⁻¹	0.117	0.110	0.104
F(000)	1632.0	920.0	2768.0
crystal size/mm ³	0.571x0.231x0.05	0.954x0.3x0.11	0.062x0.138x0.338
Radiation	MoKα (λ=0.71073)	MoKα (λ=0.71073)	MoKα (λ=0.71073)
2θ range for data collection/°	5.338 to 55.024	5.972 to 61.04	5.228 to 54.95
Index ranges	-56≤h≤49, -7≤k≤7, - 19≤l≤19	-12≤h≤12, -48≤k≤48 -10≤l≤10	-34≤h≤31, -9≤k≤8, -43≤l≤42
Reflections collected	20803	38842	71854
Independent reflections	4130[Rint=0.0894, Rsigma=0.0690]	6344 [Rint=0.0365, Rsigma=0.0260]	7289[Rint=0.1572, Rsigma=0.0755]
Data/restraints/parameters	4130/0/255	6344/0/295	7289/0/437
Goodness-on-fit on F ²	1.018	1.049	1.014
Final R indexes [I ≥ 2σ(I)]	R ₁ =0.0587,wR ₂ =0.1290	R ₁ =0.0511, wR ₂ =0.1353	R ₁ =0.0588, wR ₂ =0.1312
Final R indexes [all data]	R ₁ =0.1270,wR ₂ =0.1602	R ₁ =0.0678,wR ₂ =0.1484	R ₁ =0.1590, wR ₂ =0.1841
Largest diff. peak/hole/e Å ⁻³	0.20/-0.27	0.21/-0.21	0.18/-0.25
	BZMDFMA	BZMDMLN	BZMD2,6DBA
Empirical Formula	C ₁₅ H ₁₅ N ₃ O ₆	C ₂₉ H ₃₀ N ₆ O ₁₂	C ₂₀ H ₁₉ N ₃ O ₈
Formula weight	333.30	654.59	429.38
Temperature/K	273.15	134.3	301.07
Crystal system	Monoclinic	Orthorhombic	Monoclinic
space group	<i>P2₁/c</i>	<i>Pbcn</i>	<i>P2₁/n</i>
<i>a</i> (Å)	9.0358 (5)	26.173 (2)	8.2443(4)
<i>b</i> (Å)	26.6419 (14)	7.2534 (6)	15.9009(7)
<i>c</i> (Å)	6.8796 (3)	16.6264 (15)	15.4526(8)
α (deg)	90	90	90
β (deg)	102.419 (2)	90	102.454(2)
γ (deg)	90	90	90

V /Å ³	1617.38 (14)	3156.4 (5)	1978.04(17)
Z	4	4	4
Pcalc g/cm ³	1.369	1.377	1.442
μ/mm ⁻¹	0.108	0.109	0.113
F(000)	696.0	1368.0	896.0
crystal size/mm ³	0.632x0.172x0.168	0.284x0.154x0.114	0.834x0.665x0.274
Radiation	MoKα (λ=0.71073)	MoKα (λ=0.71073)	MoKα (λ=0.71073)
2Θ range for data collection/°	5.538 to 55.056	5.142 to 54.95	5.672 to 55.078
Index ranges	-11≤h≤11, -34≤k≤34, -8≤l≤8	-33≤h≤33, -9≤k≤9, -21≤l≤21	-10≤h≤10, -20≤k≤20, -20≤l≤19
Reflections collected	46849	57582	27670
Independent reflections	3705[Rint=0.0658, Rsigma=0.0313]	3619[Rint=0.1202, Rsigma=0.0339]	4344[Rint=0.0757, Rsigma=0.0603]
Data/restraints/parameters	3705/0/219	3619/0/243	4344/0/283
Goodness-on-fit on F ²	1.044	1.015	1.104
Final R indexes [I ≥ 2σ(I)]	R ₁ =0.0542, wR ₂ =0.1330	R ₁ =0.0739, wR ₂ =0.1942	R ₁ =0.0711, wR ₂ =0.1726
Final R indexes [all data]	R ₁ =0.0783, wR ₂ =0.1544	R ₁ =0.1585, wR ₂ =0.2646	R ₁ =0.0870, wR ₂ =0.1912
Largest diff. peak/hole/e Å ⁻³	0.37/-0.32	0.32/-0.24	0.38/-0.32

BZMD3,5DBA

Empirical Formula	C ₄₆ H ₄₅ N ₉ O ₁₆
Formula weight	979.91
Temperature/K	273.15
Crystal system	Monoclinic
space group	<i>P</i> 2 ₁ / <i>n</i>
<i>a</i> (Å)	7.1481 (2)
<i>b</i> (Å)	36.7892 (8)
<i>c</i> (Å)	18.0584 (4)
α (deg)	90
β (deg)	100.4510 (10)
γ (deg)	90
V /Å ³	4670.1 (2)
Z	4
Pcalc g/cm ³	1.394
μ/mm ⁻¹	0.907
F(000)	2048.0
crystal size/mm ³	0.284x0.141x0.058
Radiation	CuKα (λ=1.54178)
2Θ range for data collection/°	5.526 to 137.306
Index ranges	-7≤h≤7, -44≤k≤44 -21≤l≤21
Reflections collected	56516
Independent reflections	8547 [Rint=0.0581, Rsigma=0.0362]
Data/restraints/parameters	8547/0/646
Goodness-on-fit on F ²	1.064
Final R indexes [I ≥ 2σ(I)]	R ₁ =0.0575, wR ₂ =0.1439
Final R indexes [all data]	R ₁ =0.0931,wR ₂ =0.1878
Largest diff. peak/hole/e Å ⁻³	0.23/-0.27

Table 2 Hydrogen bonds of the BZMD structures

BZMDBZC					
Donor-H...Acceptor	Type	D...H(Å)	H...A(Å)	D...A(Å)	D-H...A(°)
O1A--H1A..N2	Intra	0.99(3)	1.67(3)	2.641(3)	169(4)
C5--H5B..O2		0.97	2.28	2.908(4)	122
C5--H5B..O1		0.97	2.5	3.285(3)	138'
C12--H12..O2A		0.93	2.45	3.333(4)	158
C4--H4C..O2A		0.96	2.51	3.463(3)	171
BZMDNAF					
Donor-H...Acceptor	Type	D...H(Å)	H...A(Å)	D...A(Å)	D-H...A(°)
O1A--H1A..N2	Intra	0.82	2	2.793(3)	164
C5--H5B..O2		0.97	2.46	2.854(3)	104
C6--H6A..O2		0.97	2.49	3.069(3)	118
C9A--H9A..O4		0.93	2.54	3.398(4)	154
BZMDMAC					
Donor-H...Acceptor	Type	D...H(Å)	H...A(Å)	D...A(Å)	D-H...A(°)
O1A--H1A..N2	Intra	0.82	1.93	2.719(3)	162
C13--H13..O3		0.93	2.43	2.740(3)	100
C5--H5A..O2		0.97	2.37	2.856(2)	111
C5--H5B..O4		0.97	2.59	3.090(3)	112
C4--H4B..O2A		0.96	2.53	3.462(3)	164
BZMD3,5DNZ					
Donor-H...Acceptor	Type	D...H(Å)	H...A(Å)	D...A(Å)	D-H...A(°)
O5A--H5AA..N2	Intra	0.82	1.83	2.637(3)	167
C5--H5B..O2		0.97	2.36	2.843(4)	110
C5--H5B..O4		0.97	2.47	3.191(4)	131'
C5--H5A..O1		0.97	2.53	3.350(5)	142
C4A--H4AA..O1A		0.93	2.58	3.438(3)	154
BZMDABN					
Donor-H...Acceptor	Type	D...H(Å)	H...A(Å)	D...A(Å)	D-H...A(°)
O1A--H1A..N2	Intra	0.82	1.89	2.697(3)	168
C5--H5B..O2		0.97	2.44	2.847(3)	105
N1A--H1AA..O2A	Intra	0.87	2.35	3.070(3)	140
C6--H6A..O2		0.97	2.5	3.085(3)	119
N1A--H1AB..O4		0.87	2.35	3.142(3)	151
C6--H6B..O2		0.97	2.5	3.223(3)	131
BZMDSLC					
Donor-H...Acceptor	Type	D...H(Å)	H...A(Å)	D...A(Å)	D-H...A(°)
O3A--H3A..O2A	Intra	0.82	1.9	2.6215(18)	145
O1A--H1A..N2		0.89(2)	1.78(2)	2.6606(18)	172.3(18)
C7A--H7A..O1A	Intra	0.93	2.4	2.721(2)	100
C5--H5A..O2		0.97	2.46	2.8282(19)	102
C6--H6B..O2		0.97	2.43	3.0064(19)	118
C4A--H4AA..O1		0.93	2.43	3.270(2)	151
C2--H2..O3A		0.93	2.55	3.4506(19)	163
C10--H10..O2		0.93	2.58	3.486(2)	164
BZMDMLC					
Donor-H...Acceptor	Type	D...H(Å)	H...A(Å)	D...A(Å)	D-H...A(°)
O3A--H3A..O2A	Intra	0.82	1.63	2.429(3)	162
N2--H2..O1A		0.86	1.8	2.647(3)	169
C6--H6A..O4		0.97	2.34	2.689(3)	100

C13--H13..O3	Intra	0.93	2.42	2.728(3)	100
C5--H5A..O2	Intra	0.97	2.25	2.926(3)	126
C5--H5A..O4		0.97	2.47	3.142(3)	127'
C4--H4A..O3A		0.96	2.56	3.303(4)	134
C2--H2A..O4A		0.93	2.6	3.345(3)	138
C4--H4B..O2A		0.96	2.51	3.378(4)	150
BZMDIAC					
Donor-H...Acceptor	Type	D...H(Å)	H...A(Å)	D...A(Å)	D-H...A(°)
O3A--H3A..O4A			1.82	2.6375(18)	173
O1A--H1A..N2		0.82	1.79(3)	2.7207(18)	174(2)
C9--H9..O3	Intra	0.94(2)	2.42	2.729(2)	100
C5--H5B..O2	Intra	0.93	2.38	2.846(2)	109
C2--H2..O2A		0.97	2.58	3.111(2)	117
C5--H5A..O1		0.93	2.58	3.420(2)	145
C4A--H4AA..O3A		0.97	2.58	3.462(2)	159
BZMDRES					
Donor-H...Acceptor	Type	D...H(Å)	H...A(Å)	D...A(Å)	D-H...A(°)
C13B--H13B..O3B	Intra		2.41	2.728(3)	100
C9--H9..O3	Intra	0.93	2.42	2.731(3)	100
O1A--H1A..N2		0.93	1.98	2.760(3)	159
O2A--H2A..N2B		0.82	1.98	2.763(3)	159
C5--H5B..O2	Intra	0.82	2.38	2.813(5)	107
C5B--H5BA..O2B	Intra	0.97	2.47	2.864(5)	104
C6--H6A..O2	Intra	0.97	2.57	3.086(4)	113
C6B--H6BB..O2B	Intra	0.97	2.5	3.100(5)	120
C11--H11..O1B		0.93	2.58	3.251(5)	129
C3--H3..O1A		0.97	2.49	3.326(4)	149
BZMDFMA					
Donor-H...Acceptor	Type	D...H(Å)	H...A(Å)	D...A(Å)	D-H...A(°)
O(1A)--H(1A)..N(2)			1.84	2.655(3)	172
C(2A)--H(2A)..O(1A)	Intra	0.82	2.41	2.745(3)	101
C(5)--H(5A)..O(2)	Intra	0.93	2.39	2.831(3)	107
C(2A)--H(2A)..O(1)		0.97	2.45	3.286(3)	149
C(4)--H(4A)..O(2A)		0.93	2.58	3.440(3)	149
C(2)--H(2)..O(2A)		0.96	2.57	3.496(3)	176
BZMDMLN					
Donor-H...Acceptor	Type	D...H(Å)	H...A(Å)	D...A(Å)	D-H...A(°)
O1A--H1A..N2			1.88	2.720(14)	177
O1A'--H1A'..N2		0.84	1.95	2.733(13)	154
C5--H5A..O2	Intra	0.84	2.43	2.823(6)	103
C6--H6B..O2	Intra	0.99	2.41	3.023(6)	120
C2A--H2AA..O1		0.99	2.27	3.251(6)	172
C2A--H2AB..O1		0.99	2.27	3.251(6)	172
C2--H2..O2A		0.99	2.39	3.338(11)	177
BZMD2,6DBA					
Donor-H...Acceptor	Type	D...H(Å)	H...A(Å)	D...A(Å)	D-H...A(°)
O2A--H2AA..O3A	Intra		1.79	2.518(3)	148
N2--H2..O4A		0.82	1.72	2.570(2)	168'
O1A--H1A..O4A	Intra	0.86	1.87	2.591(2)	145'
C5--H5B..O2	Intra	0.82	2.41	2.808(3)	104
C6--H6A..O2	Intra	0.97	2.51	3.037(3)	114
O1A--H1A..O1		0.97	2.56	3.071(3)	122

N2--H2..O3A		0.86	2.57	3.128(3)	124
C6--H6B..O4		0.97	2.45	3.307(3)	147
C5A--H5AA..N2		0.93	2.6	3.484(3)	159
BZMD3,5DBA					
Donor-H...Acceptor	Type	D...H(Å)	H...A(Å)	D...A(Å)	D-H...A(°)
O1C--H1C..N2			1.9	2.716(3)	175
O3C--H3C..N2B		0.82	1.94	2.752(3)	170
O4C--H4CA..N2A		0.82	1.96	2.766(3)	170
C5--H5A..O2	Intra	0.82	2.43	2.828(4)	104
C5B--H5BB..O2B	Intra	0.97	2.42	2.829(4)	105
C5A--H5AA..O2A	Intra	0.97	2.52	2.881(4)	102
C6--H6B..O2	Intra	0.97	2.49	3.075(4)	119
C6B--H6BA..O2B	Intra	0.97	2.5	3.076(4)	118
C6A--H6AB..O2A	Intra	0.97	2.49	3.092(4)	120
C6A--H6AA..O4A		0.97	2.4	3.208(4)	141
C11--H11..O2		0.93	2.56	3.242(8)	131
C2B--H2B..O4C		0.93	2.49	3.288(4)	144
C6A--H6AB..O2C		0.97	2.59	3.305(4)	131

3.1.1 Single donor cofomers

According to the statistical analysis of the compatible molecular functional groups related to the chosen bonding site of the API, the synthon $\text{Im}\cdots\text{H}\cdots\text{O}$ was considered suitable. Thus, in order to verify the previous proposal, cofomers with a single hydroxyl donor were selected. Multicomponent structures with 1:1 stoichiometry were successfully produced with BZC, NAF, MAC, 3,5DNZ and ABN. The corresponding crystalline structures are presented in Figure 2 and Figure 3, which can be classified as cocrystals considering the usual definition for this supramolecular organization (Aitipamula *et al.*, 2014, Dalpiaz *et al.*, 2017). These results demonstrate the practical feasibility of the proposed synthon, but it is also interesting to discuss the main features of the crystal packing of each cocrystal. All the interactions that help to stabilize the novel structures are listed in Table 2.

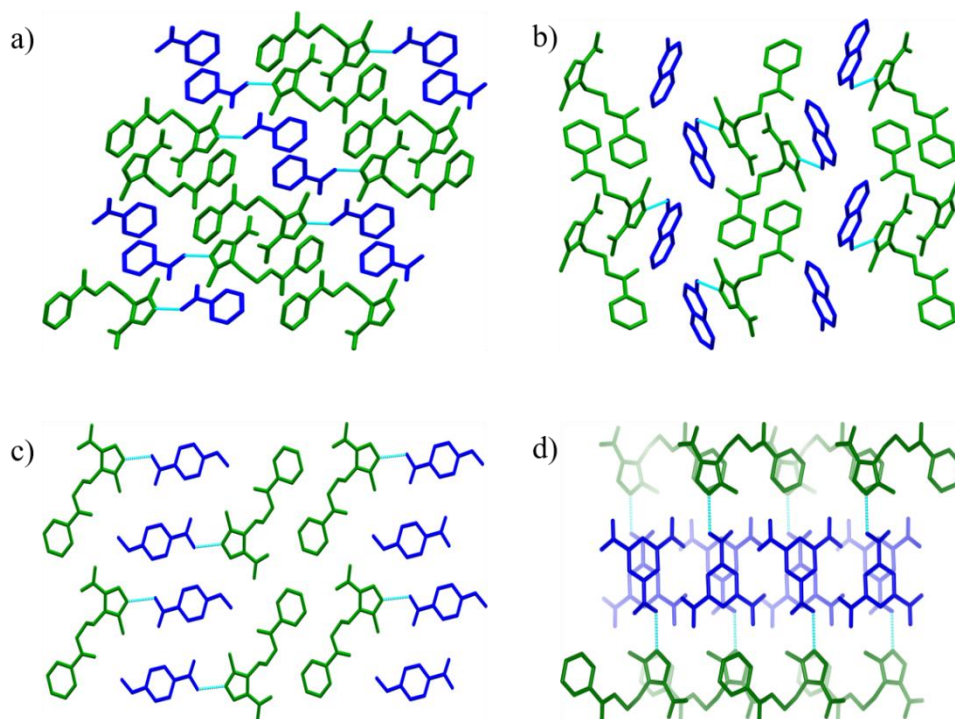


Figure 2 – Projection of the crystal packing of (a) BZMDBZC (b-axis), (b) BZMDNAF (a-axis), (c) BZMDMAC ((120) plane) and (d) BZMD3,5DNZ (b-axis).

Let's start considering a simple carboxylic acid (BZC) and phenol (NAF) with one hydroxyl group each. The crystal packing presented in Figure 2 evidenced that the main intermolecular interaction in these structures is the imidazole-hydroxyl synthon. The shape of the assembled molecules give to us a better understanding about the long-range order (Corpinot & Bučar, 2018). In the case of BZMDBZC, the Im \cdots HO bond is the stronger one (2.641(3) Å), but a weaker interaction involving the BZMD methyl group and the carbonyl from the carboxylic moiety (2.908(4) Å) defines a $R_2^2(8)$ ring structure as the main synthon. BZMD and BZC form intercalated columns around the screw axis laterally linked by the previously described synthon (Figure 2a). The Im \cdots HO bond is also the main interaction (2.788(6) Å) linking BZMD to the NAF cofomer. In BZMDNAF, planes of BZMD dimers, defined by a C6H \cdots O2 homosynthon (3.324(5) Å), are intercalated with planes of NAF molecules (Figure 2b).

Cocrystals with 1:1 stoichiometry were also obtained with the carboxylic acids MAC and 3,5DNZ. In both cases, API and cofomer are forming the same $R_2^2(8)$ synthon observed in BZMDBZC, with similar donor-acceptor distances in the Im \cdots HO (MAC:2.718(3) Å and 3,5DNZ: 2.856(2) Å) and carbonyl-methyl (MAC:2.638(3) Å and 3,5DNZ: 2.843(4) Å) bonds. Regarding to the crystal packing, BZMD-MAC dimers lie in the (120) plane as shown Figure 2c, those planes are stacked by π - π interactions between the imidazole and

phenyl rings from MAC (3.6910(12) Å) and BZMD (4.0761(15) Å). In BZMD3,5DNZ, API and coformer are also organized in layers (Figure 2d) along the a-axis, where the 3,5DNZ molecules are flipped consecutively up and down along the c-axis as a consequence of the glide plane.

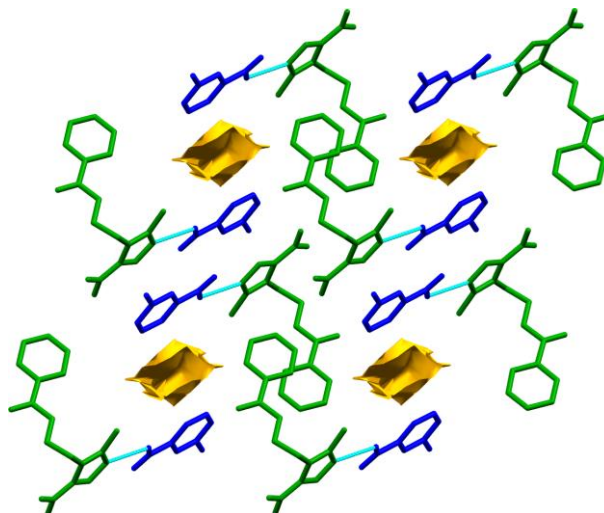


Figure 3 - Projection of the crystal packing of BZMDABN (a-axis) showing the solvent accessible voids (yellow)

Figure 3 shows the crystalline structure of BZMDABN, which is also defined as a carboxylic acid coformer. Differently to the packing observed with other coformers and the same donor moiety, the $\text{Im}\cdots\text{HO}$ bond can be identified (2.735(4) Å), but the $R_2^2(8)$ synthon is not observed. This is not the only interesting feature in BZMDABN, since empty channels running along the a-axis are formed. This cavity is formed by four molecules (two APIs and two coformers), and a solvent/guest molecule could be present, characterizing an inclusion compound (Peraka *et al.*, 2017). Some residual charges were identified during the structure resolution, which could be associated with a non-stoichiometric disordered residual solvent. However, the low concentration of the solvent hindered the determination of a reliable model. The SQUEEZE method implemented in Platon (Spek, 2015) was applied to treat the disordered solvent, confirming the existence of voids with a volume of 146 Å³ and 21 electrons suggesting the presence of disorder ethanol, as expected considering the crystal growing method.

3.1.2 Dual donor coformers

It was proved the success of the strategy employed by the established hydrogen bonds, comprising the proposed synthon. Using the same rational design, we proposed combine the API with chosen coformers containing two binding sites, in order to explore the generation

of solid forms with 2:1 stoichiometry. In this sense, carboxylic acids and phenols with two hydroxyl groups were selected. Figure 4 and 5 show the crystal packing of the new structures.

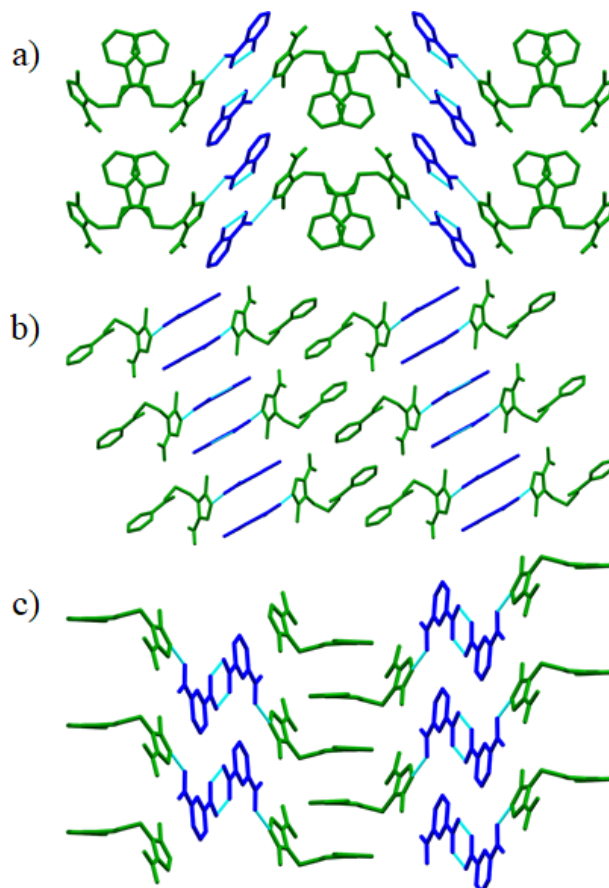


Figure 4 - Projection of the crystal packing of (a) BZMDSLAC (c-axis), (b) BZMDMLC (b-axis) and (c) BZMDIAC (c-axis).

Figure 4 shows the crystal packing of the multicomponent forms obtained using SLC, IAC and MLC. BZMDSLAC and BZMDIAC are cocrystals, whereas BZMDMLC is a salt. Despite the fact, these cofomers have two hydroxyl groups, all of them crystallize with a 1:1 stoichiometry. In order to understand the reasons that lead to the failure of the crystal design strategy, it is important to discuss in details the crystal packing of these forms.

The projection of the BZMDSLAC structure along the a-axis shows API and cofomer intercalated columns resembling previously discussed cocrystals (Figure 4a). The hydroxyl group of the carboxylic acid is involved in the $\text{Im}\cdots\text{HO}$ bond ($2.661(18)$ Å), but the second OH group of SLC does not exhibit the expected supramolecular synthon because it is forming an intramolecular hydrogen bond with the carbonyl group. A similar result was obtained in the BZMDMLC salt (Figure 4b). Even considering the charge transfer from one

of the carboxylic groups of MLC, the same binding site acts as the main intermolecular interaction forming an $\text{Im}^+\cdots\text{O}$ bond (2.647(3) Å). As in BZMDSL, the second carboxylic group, which is still protonated, is linked to the first carbonyl group by an intramolecular bond hindering the formation of the target hydrogen bond. A common factor in SLC and MLC is that both carbonyl groups are close enough to form intramolecular hydrogen bonds, which is more favorable than the $\text{Im}\cdots\text{HO}$ synthon.

The IAC cofomers seems to be a good candidate to avoid the previous problem, because the hydroxyl groups cannot form an intramolecular bond. However, a 1:1 cocrystal was obtained, where one of the hydroxyl groups forms the $\text{Im}\cdots\text{HO}$ bond (2.7207(18) Å), but the second OH is in a hydrogen bond with another IAC molecule ($\text{OH}\cdots\text{O}$: 2.6375(18) Å). The strongly linked IAC dimers are bonded to BZMD forming intercalated antiparallel ribbons and defining the long range ordering of the BZMDIAC cocrystal. IAC molecules are linked by a carboxylic acid homosynthon forming a $R_2^2(8)$ ring, which is quite prevalent in carboxylic acids. Thus, it is not surprising to observe this kind of synthon in carboxylic acids, but differently to the highly probable intramolecular bonds in SLC and MLC, it is not possible to predict them. Thus, from the point of view of the crystal design, in order to obtain higher stoichiometric ratios, the main strategy should be to avoid cofomers prone to have the selected binding sites involved in intramolecular interactions.

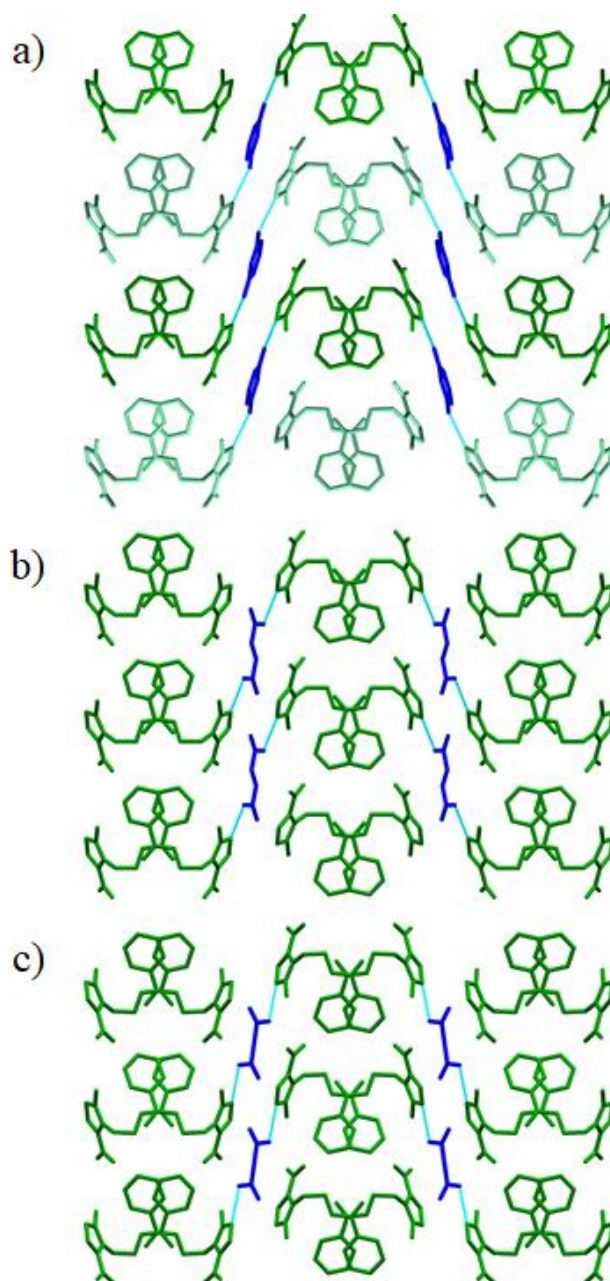


Figure 5 - Projection of the crystal packing of (a) BZMDRES (b-axis), (b) BZMDFMA (c-axis) and (c) BZMDMLN (c-axis).

Based on the previous results, a phenol (RES) and two carboxylic acids (FMA and MLN) were tested. Figure 5 shows the crystal packing observed in these new solid forms, which are cocrystals with 2:1 stoichiometry. Let's consider first RES, this coformer fulfill the requirements of our crystal design strategy, that is, multiple separated hydroxyl groups not forming intramolecular hydrogen bonds. Thus, the two donor sites are linked to non-equivalent BZMD molecules by $\text{Im}\cdots\text{HO}$ bond (2.765(4) and 2.761(3) Å), giving rise to the packing of intercalated columns observed in several of the reported structures (Figure 5a).

After observing the hindrance of the second hydroxyl group in MLC due to the intramolecular interaction, a natural coformer candidate is its *trans* isomer FMA. A BZMDFMA cocrystal was obtained with an $Z'=0.5$. This is because the FMA molecule lies on an inversion center and half of it is in the asymmetric unit. As a consequence, the cocrystal stoichiometry is 2:1, as expected from our crystal design strategy. Thus, the FMA coformer links two equivalent BZMD by the proposed synthon (2.655(3) Å) in the same crystal observed in BZMDRES (Figure 5b). The last coformer of this group is MLN, whose cocrystal is highly similar to BZMDFMA. With $Z'=0.5$, MLN lies in a two-fold axis and is bonded to equivalent BZMD molecules by a $\text{Im}\cdots\text{HO}$ bond (2.720(14) Å), giving rise to the same crystal packing.

3.1.3 Triple donor coformers

Considering the success of our crystal design strategy to produce 2:1 cocrystals, the following step was to test coformers with three hydroxyl groups in order to reach the 3:1 stoichiometry. Thus, new multi-component forms were crystallized using 2,6DBA and 3,5DBA (Figure 6).

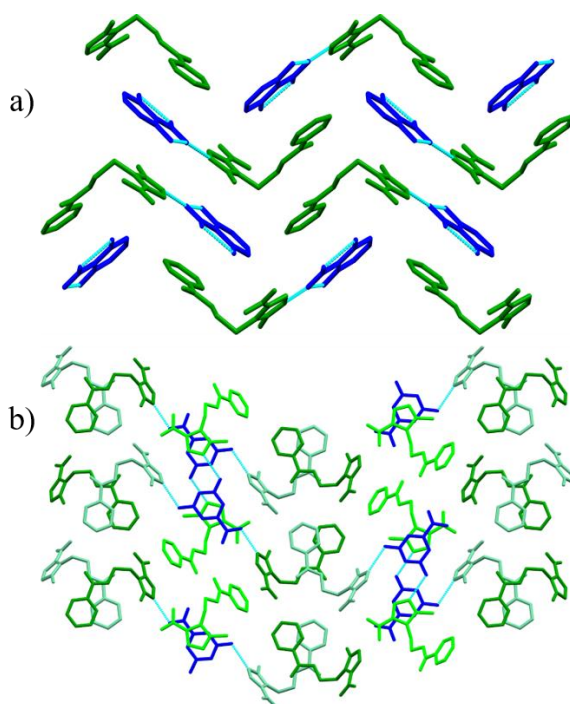


Figure 6 - Packing of the salt (a) BZMD:2,6DBA and the cocrystal (b) BZMD:3,5DBA along a axis

The BZMD2,6DBA (Figure 6a) was classified as a salt having three binding sites, one of them forming an intermolecular bond involving the projected synthon (2.570(2) Å). The remaining hydroxyl groups are beside the carbonyl moiety and, as it may be expected from

the previous results, they form intramolecular hydrogen bonds blocking the Im \cdots HO interactions. The crystalline packing was based on the alternation between the coformer and API molecules in a zig zag pattern. Due to the higher affinity for intramolecular interactions in the coformer, the BZMD2,6DBA stoichiometry is 1:1, despite the availability of three binding sites.

Accordingly to our proposal, the asymmetric unit of BZMD3,5DBA (Figure 6b) consists of 3 molecules of BZMD and 1 molecule of 3,5DBA, with the hydroxyl groups actively participating in the proposed intermolecular hydrogen bonds, confirming a 3:1 stoichiometry purely based on the Im \cdots HO synthon (2.727(6), 2.776(6) and 2.795(6) Å). The crystal packing resembles those 2:1 structures (Figure 5), but the third BZMD molecule is intercalated in the coformer column. The last coformer combines several of the main concepts addressed in our crystal design strategy. First, the Im \cdots HO bond is a reliable synthon for supramolecular structures, where the hydroxyl group can be provided by molecules containing phenols and/or carboxylic groups. Several binding sites can be used to reach higher API:coformer stoichiometries, but intramolecular hydrogen bonds and/or coformer dimers could limit the available coformers. The first problem can be addressed by selecting appropriate molecular structures, whereas the competition between coformer homosynthons and Im \cdots HO bonds should be solved by serendipity.

4. Discussion

After presenting several new solid forms of BZMD, it is interesting to perform a comparative analysis between these structures. As a starting point, let's consider the molecular conformation of the API molecule. Comparing the observed BZMD molecular conformations (Figure 7), it may be concluded that the main changes are related to the orientation among the phenyl, ethyl formate and imidazole groups. Table 3 list the main dihedral angles of the BZMD molecule from all the structures reported in this contribution. By overlapping the ethyl formate groups, it is possible to notice that the structures mainly differ by rotations of the imidazole and phenyl groups. In particular, the phenyl group is always slightly out of the plane of the ethyl formate chain ($|\text{O3C7C8C13}| < 20^\circ$). This conformational flexibility does not seem to be determinant for the crystal packing, but a mechanism to optimize API-API interactions in BZMD columns (see, for example, Figure 5). Considering the imidazole group and following the numbering of Table 3, the set of crystalline structures 3 to 15 (Figure 7a) exhibit a continuous change in the dihedral angles

associated with the orientation of this moiety (C1N1C5C6). Notice that BZMDH can be included in this set but not BZMD, showing that this conformation is favorable for the crystal packing of multicomponent forms. The largest dihedral angle associated with the orientation of the imidazole ring (C1N1C5C6) corresponds to BZMDSL (111°) and the smaller to BZMDIAC (99.8°). It is also interesting to observe that all the nonequivalent molecules of the higher stoichiometry forms (BZMDRES and BZMD3,5DBA) lie between these limits. Finally, BZMD and three cocrystals (16, 17 and 18) differ considerably from the previous set and need to be considered separately shown in Figure 7b, where BZMDSL (3) was included as a reference. The main feature of this set is the flipping of the methyl-nitroimidazole group compared with BZMDSL. Besides of that they have bigger rotations of the imidazole group, which also induce additional torsion in the ethyl formate chain (N1C5C6O3 and C7O3C6C5).

Table 3: Selected dihedral angles (°) of the BZMD molecule in single and multicomponent solid forms. The θ column lists the angles between the planes defined by the imidazole and phenyl/carboxylic groups.

	C1N1C5C6	N1C5C6O3	C7O3C6C5	C6O3C7C8	O3C7C8C13	θ
1 BZMD	104.1	-63.9	-94.9	178.6	-10.6	-
2 BZMDH	100.9	-66.4	-178.4	179.5	-6.3	-
3 SLC	111.0	-70.2	-170.9	177.4	7.3	3.8
4 3,5DBA	109.9	-67.1	-169.7	-168.9	-11.9	7.2
5 RES	107.4	-60.0	-174.3	-172.1	7.2	30.4
6 NAF	105.8	-69.2	170.8	179.2	7.7	7.1
7 3,5DBA	105.1	-63.1	-159.1	179.2	7.8	85.1
8 RES	104.8	-70.4	-169.3	175.3	3.1	31.6
9 3,5DBA	104.2	-63.58	-171.5	-178.6	17.8	88.9
10 ABN	103.7	-62.5	178.6	-179.1	-3.1	12.8
11 MLN	103.4	-61.7	-173.3	-173.0	7.6	14.9
12 FMA	103.4	-70.4	-169.7	175.7	3.8	21.9
13 2,6DBA	102.3	-73.4	-177.2	178.5	3.1	5.5
14 3,5DNZ	99.8	-65.6	-174.1	-178.0	20.1	75.5
15 IAC	99.8	-65.7	-168.6	177.1	4.4	19.8
16 MAC	94.6	-170.9	81.6	171.2	-10.5	5.4
17 BZC	-83.0	-62.7	159.2	-178.1	-11.2	15.4
18 MLC	-72.9	-66.4	97.9	170.3	-14.9	59.8

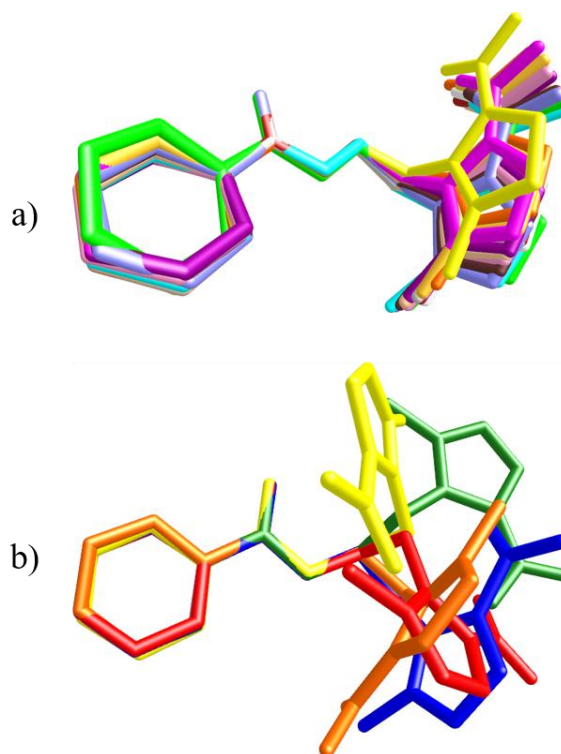


Figure 7 – Comparison of the observed BZMD molecular conformations overlapping the ethyl groups numbered according Table 1. (a) Crystalline structures 2-15. (b) 1 (red), 3 (blue), 16 (green), 17 (orange) and 18 (yellow).

The conformation changes of the BZMD molecules are directly related to the backbone of the supramolecular structure defined by the API. In the results section, several structures have been described as formed by BZMD columns/layers with intercalated cofomers. The key interactions on this packing is the π -stacking of the BZMD molecules (See Table 4) (Martinez & Iverson, 2012). Two kind of $\pi\cdots\pi$ bonds between BZMD molecules were observed in cocrystal/salts: imidazole-phenyl and phenyl-phenyl, just BZMDH exhibit an imidazole-imidazole bond. Despite the involved rings, all these $\pi\cdots\pi$ bonds can be classified as approximately parallel ($\alpha < 20^\circ$), but not face-centered (offset > 1.3 Å). Representative interactions are shown in Figure 8 evidenced by the BZMD Hirshfeld surface mapped with the shape index, which exhibit a red- and blue triangles on the same region, shows that it corresponds to $\pi\cdots\pi$ interactions (McKinnon *et al.*, 2004, Spackman & Jayatilaka, 2009). Imidazole-phenyl bonds are observed with the BZC, MAC and DNZ cofomers (Figure 2), but, in BZMDBZC and BZMDMAC, the API forms dimers intercalated with cofomers. π -stacking columns are present in BZMDDNZ, which resemble the columns in Figure 5 defined by phenyl-phenyl bonds. In fact, the stacking of the phenyl rings is the most prevalent backbone in the BZMD multicomponent forms, being observed with the cofomers SLC, MLC, IAC (Figure 4), RES, FMA, MLN (Figure 5) and 3,5DBA

(Figure 6). The π -stacking is also evident in the alternative projection shown in Figure 4 for MLC and IAC. In the remaining structures, BZMDABN, BZMDNAF and BZMD2,6DBA, the aromatic rings of the cofomers determine the supramolecular organization by API-coformer bonds. This kind of bonds are also observed in several of the previously described structures, but the API-API bond plays a key role in the crystal packing (Table 4). It is also interesting to notice that the molecular conformation of the Figure 7a really favors the π -stacking and, consequently, multicomponent BZMD forms.

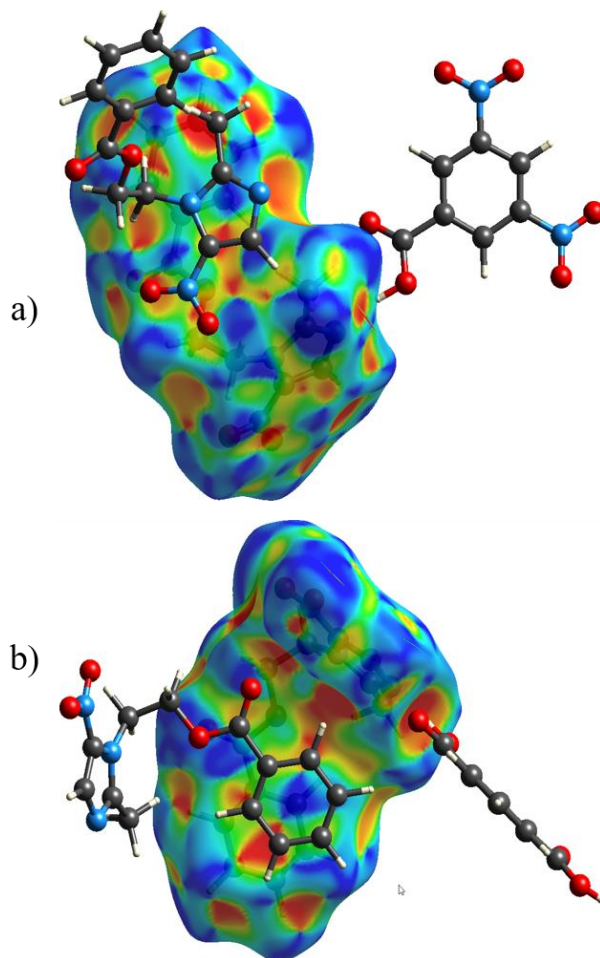


Figure 8 – Hirshfeld surfaces mapped with the shape index of (a) BZMDBZC and (b) BZMDIAC showing the π -stacking of the BZMD columns.

Table 4 - Selected π - π interactions

Code	Cg1	Cg2	Cg-Cg (Å)	α (°)	β (°)	γ (°)	Slippage (Å)
BZH	Imid	Imid	3.3781(12)	0.00(12)	13.7	13.7	0.799
	Phen	Phen	3.9124(14)	0.00(11)	28.7	28.7	1.879
ABN	Imid	COF	3.6665(16)	3.75(13)	24.9	22.8	1.543
	COF	Imid	3.6666(16)	3.75(13)	22.8	24.9	1.423
	Phen	Phen	4.0387(17)	0.00(13)	32.9	32.9	2.193
2,6DBA	COF	Phen	4.0419(15)	5.34(12)	24.9	28.9	1.705

	Phen	COF	4.0420(15)	5.34(12)	28.9	24.9	1.952
NAF	Imid	COF	3.638(3)	7.1(3)	23.7	21	1.465
	COF	Imid	3.638(3)	7.1(3)	21	23.7	1.303
	COF	Imid	3.650(3)	7.1(2)	21.7	17.7	1.347
	Imid	COF	3.650(3)	7.1(2)	17.7	21.7	1.111
	COF	Imid	4.047(3)	7.2(3)	33.2	26.4	2.218
	Imid	COF	4.047(3)	7.2(3)	26.4	33.2	1.802
	BZC	Imid	Phen	3.9463(16)	6.02(13)	25.4	31
Phen		Imid	3.9463(16)	6.02(13)	31	25.4	2.033
3,5DNZ	Imid	Phen	3.8900(18)	15.92(16)	32.2	28.2	2.076
	Phen	Imid	3.8900(18)	15.92(16)	28.2	32.2	1.836
	COF	COF	4.5427(15)	47.39(12)	32.1	31.5	
	COF	COF	4.5428(15)	47.39(12)	31.5	32.1	
	Imid	Phen	4.5797(18)	15.92(16)	34.8	25.3	2.612
	Phen	Imid	4.5797(18)	15.92(16)	25.3	34.8	1.955
MAC	Imid	COF	3.6910(12)	6.43(11)	23.7	17.8	1.486
	COF	Imid	3.6911(12)	6.43(11)	17.8	23.7	1.128
	COF	Phen	4.0759(14)	9.95(12)	21	28.8	1.46
	Phen	COF	4.0759(14)	9.95(12)	28.8	21	1.961
	Imid	Phen	4.3230(15)	16.34(13)	29.2	19.9	2.109
	Phen	Imid	4.3230(15)	16.34(13)	19.9	29.2	1.474
3,5DBA	COF	Imid2	3.688(7)	7.11(18)	22.1	15.9	1.387
	Imid2	COF	3.688(7)	7.11(18)	15.9	22.1	1.01
	COF	Imid2	3.736(7)	7.11(18)	26.3	22.3	1.654
	Imid2	COF	3.736(7)	7.11(18)	22.3	26.3	1.419
	Imid1	Phen2	3.844(8)	3.5(2)	29.4	25.9	1.887
	Phen2	Imid1	3.844(8)	3.5(2)	25.9	29.4	1.68
	Phen1	Phen2	4.123(9)	18.0(3)	19.1	37.1	1.348
	Phen2	Phen1	4.123(9)	18.0(3)	37.1	19.1	2.485
	Phen1	Phen2	4.294(9)	18.0(3)	44.3	28.5	3.002
	Phen2	Phen1	4.294(9)	18.0(3)	28.5	44.3	2.048
FMA	Phen	Phen	4.0001(14)	6.34(11)	28.6	34.7	1.914
	Phen	Phen	4.0002(14)	6.34(11)	34.7	28.6	2.28
IAC	COF	Imid	3.8502(9)	16.55(8)	31.1	15.2	1.987
	Imid	COF	3.8502(9)	16.55(8)	15.2	31.1	1.007
	Phen	Phen	4.0148(11)	4.77(10)	31.6	27.7	2.105
	Phen	Phen	4.0149(11)	4.77(10)	27.7	31.6	1.864
MLC	Phen	Phen	4.1494(17)	0.00(14)	37.4	37.4	2.518
MLN	Phen	Phen	4.152(3)	9.9(2)	38.1	29.4	2.562
MLN	Phen	Phen	4.152(3)	9.9(2)	29.4	38.1	2.04
RES	COF	Imid1	4.0208(18)	17.88(15)	39	22.4	2.53
	Imid1	COF	4.0210(18)	17.88(15)	22.4	39	1.533
	Phen2	Phen2	4.041(2)	8.28(17)	29.6	36.6	1.994
	Phen2	Phen2	4.041(2)	8.28(17)	36.6	29.6	2.41
	Phen1	Phen1	4.071(2)	4.56(17)	34.3	30.2	2.294
	Phen1	Phen1	4.071(2)	4.56(17)	30.2	34.3	2.05
SLC	COF	COF	3.5952(9)	0.02(7)	12	12	0.746
	COF	Imid	3.6280(9)	5.22(7)	19.9	21.3	1.235

Imid	COF	3.6280(9)	5.22(7)	21.3	19.9	1.315
Phen	Phen	4.0737(10)	11.25(8)	38.7	27.7	2.549
Phen	Phen	4.0737(10)	11.25(8)	27.7	38.7	1.891

Table 5 - Calculated ΔpK_a between BZMD and coformers.

Code	pKa (API)	pKa (Coformer)	ΔpK_a	Novel form
BZMDSL		2.97	-0.42	Cocrystal
BZMDFMA		3.02	-0.47	Cocrystal
BZMDMLN		2.85	-0.30	Cocrystal
BZMD3,5DNZ		2.77	-0.22	Cocrystal
BZMD2,6DBA		2.77	-0.22	Salt
BZMD3,5DBA		4.04	-1.49	Cocrystal
BZMDMAC	2.55	4.47	-1.92	Cocrystal
BZMDABN		3.11	-0.56	Cocrystal (Solvate)
BZMDRES		9.15	-6.60	Cocrystal
BZMDNAF		9.51	-6.96	Cocrystal
BZMDMLC		1.83	0.72	Salt
BZMDIAC		3.70	-1.15	Cocrystal
BZMDBZC		4.20	-1.65	Cocrystal

Regarding to the API-coformer main synthon, the first point to be considered is the charge transfer between these molecules. According to the pKa rule, based on the probability of proton transference between the components in a reaction, a cocrystal is expected for $\Delta pK_a < 0$ and a salt for $\Delta pK_a > 3$ (Delori *et al.*, 2013). Considering this rule, twelve of the conformers should give rise to cocrystals, once the differences between the pKa of the drug and conformer are negative values (see Table 5). The remaining coformer (MLC), despite having a positive ΔpK_a (0.72), lies in the range where cocrystals or salts could be obtained. Considering the obtained results, from the thirteen determined structures, there are two salts: BZMDMLC and BZMD2,6DBA. The former is not surprising due to the ΔpK_a value, but the latter has a negative value (-0.22) and should be a cocrystal. Although being widely used in the design of new multicomponent structures, the pKa rule is just a prediction tool (Cruz-Cabeza, 2012, Delori *et al.*, 2013). From the point of view of the proper classification of multicomponent forms as cocrystals or salts other markers can be used. Based on the proposed synthon, the determined structures were compared with the search performed in the CSD for the Im...carboxylic and Im...phenol synthons. The hits related to the carboxylic were processed calculating the difference (ΔCO) between the two CO bonds. It is well known that ΔCO lower than $\sim 0.03 \text{ \AA}$ indicate that carboxylic group is

deprotonated. The analysis of the Im⋯carboxylic hits agrees with this rule as two distributions are observed (Figure 9a), which are centered around $\Delta\text{CO}\sim 0.105\text{ \AA}$ and $\sim 0.0\text{ \AA}$, being related to protonated and deprotonated carboxylic groups, respectively. Comparing this distribution with the BZMD salts/cocrystals, one may conclude that all the ΔCO cocrystals lie in the expected region. In the case of the salts, the lower hit ($\Delta\text{CO}=0.016\text{ \AA}$) corresponds to BZMDMLC in good agreement with the salt character predicted by the ΔpK_a rule. Just above this hit, there is the one from BZMD2,6DBA ($\Delta\text{CO}=0.0354\text{ \AA}$), which fails to follow the ΔpK_a rule, but lies around the upper limit of the deprotonated region in the ΔCO plot, confirming that this multicomponent form was correctly classified as a salt. In the case of the Im⋯phenol synthon, in Figure 9b the statistical distribution of CO distances is shown. They are mainly distributed around two maxima at 1.25 and 1.36 \AA , which are related to deprotonated and protonated hydroxyl groups, respectively. As expected, the CO distances of the BZMD cocrystals based on phenols are in the range of the protonated hydroxyl, confirming the previous classification.

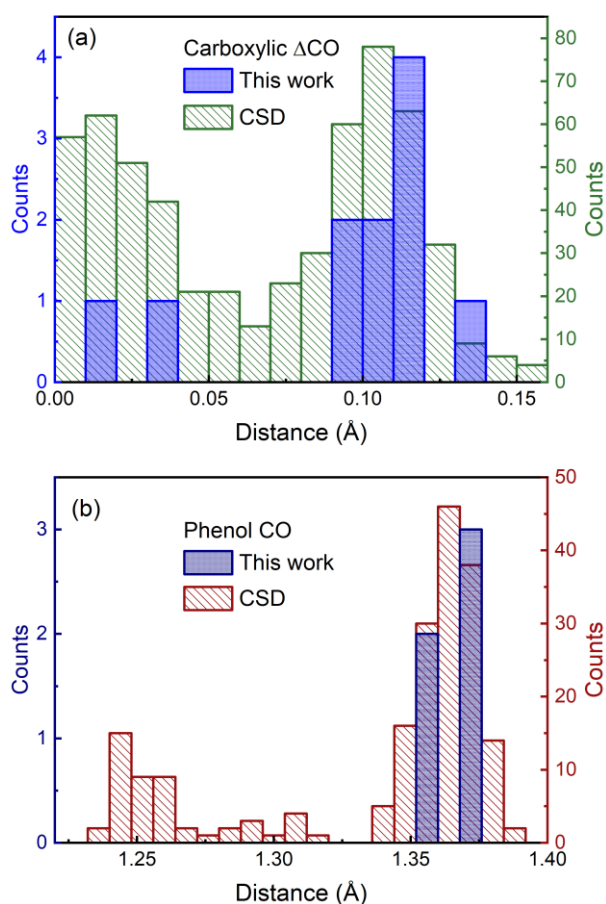


Figure 9 – (a) Distribution of the difference between de CO distances of the carboxylic group. (b) Distribution of the CO distances of the phenol groups.

The previous results clearly confirm the reliability of the Im···carboxylic and Im···phenol synthons as a crystal design strategy to produce multicomponent forms with variable stoichiometry. Comparing the crystalline structures, three synthon geometry were identified, the Im···phenol was observed with the coformers RES, NAF and 3,5DBA. On the other hand, the simple Im···carboxylic, with and without charge transfer, is present in forms containing ABN, IAC, FMA, MLC, MLN, SLC, 2,6DBA and 3,5DBA. A third synthon derived from the later forms a $R_2^2(8)$ ring including the methyl moiety of the methyl-nitroimidazole group. BZC and MAC use the last synthon to stabilize their crystalline structures. These synthons can also be analyzed by comparing the acceptor-donor distances of the structures reported in this work with those in the CSD. Figure 10 shows the histograms of the N···O distances when carboxylic or phenol groups are considered. Both synthons have well-defined distributions spanning approximately the same value range, being the one related to the phenol group a little wider. The acceptor-donor distances calculated from the BZMD new forms lie within the general distribution ranges, despite the fact, the phenol-based cocrystals exhibit distances a slightly higher than the distribution maxima. Another interesting parameter is the angle (θ) between the plane containing the imidazole ring and either the one defined by the phenyl or carboxylic groups. Despite which is the synthon, there is no clear relationship among the angles listed in Table 3, showing that the proposed synthon is not restricting the relative orientation of API and coformer, giving the new forms plenty of flexibility to optimize the supramolecular organization.

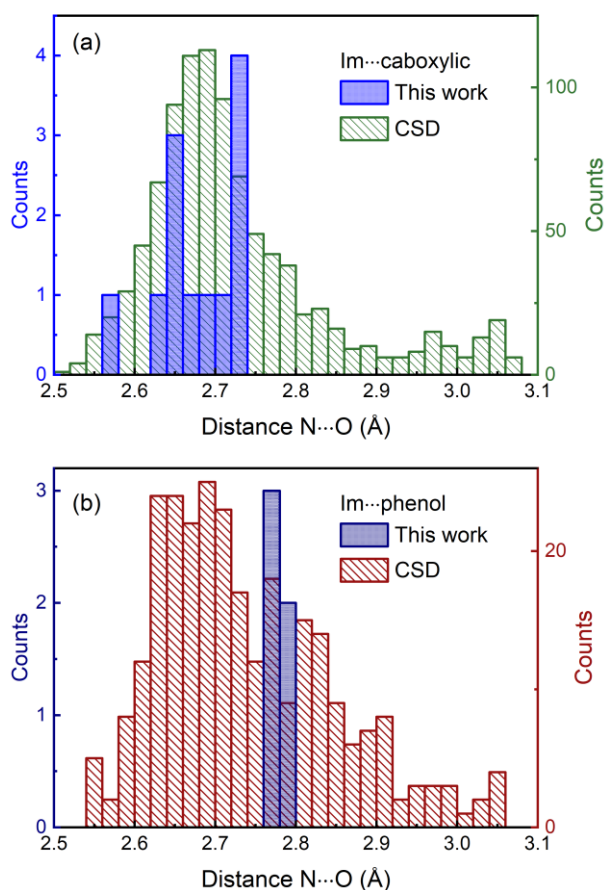


Figure 10 – Comparison of the distribution of the acceptor-donor distances of the synthons based on (a) carboxylic and (b) phenol groups.

5. Conclusion

This work has the aim to rationally design multicomponent forms of BZMD. To achieve this goal, a target supramolecular synthon was selected on the basis of the BZMD molecular structure and a statistical analysis of the Cambridge Structural Database. Thus, the imidazole group of BZMD seems to be a suitable acceptor for hydrogen bonds with conformers containing hydroxyl groups. In order to explore different stoichiometries ratio from the same synthon (1:1, 2:1 and 3:1), we choose conformers with carboxylic acids and phenol groups, based on the available binding sites. This strategy generated thirteen new solid forms (two salts and eleven cocrystals). At first, cofomers with a single hydroxyl donor (BZC, NAF, MAC, 3,5DNZ and ABN) were selected and multicomponent structures with 1:1 stoichiometry were produced, proving the proposed strategy was successful. Cofomers containing two binding sites were tested in order to explore solid forms with 2:1 stoichiometry. In this sense, carboxylic acids and phenols with donor groups were selected, but, despite the fact, these cofomers have two hydroxyl groups, several of them crystallize

with a 1:1 stoichiometry. It was observed that two effects could limit the synthon formation. In coformers with close hydroxyl groups (SLC and MLC) intramolecular hydrogen bonds are more favorable than the Im \cdots HO synthon. Furthermore, coformer homosynthons (IAC) could also reduce the number of active sites to link with the API. Based on these observations, the molecular geometry of the coformer was chosen in order to avoid intramolecular hydrogen bonds and three cocrystals with 2:1 were produced (RES, FMA and MLN). The next step was to test coformers with three hydroxyl groups in order to reach the 3:1 stoichiometry. Thus, new multi-component forms were crystallized using 2,6DBA and 3,5DBA. The former has intramolecular hydrogen bonds limiting the stoichiometry to 1:1, but a 3:1 ratio was achieved with 3,5DBA combining carboxylic and phenol synthons. When compared with other hits in the CSD, the intermolecular parameters of the Im \cdots HO synthon in the BZMD cocrystals/salts are similar, showing that there is a robust synthon. In addition, the lack of a geometrical constrain in the relative orientation of the API and coformer provide additional flexibility to the selected interaction, confirming that Im \cdots HO is a trustworthy synthon to be used in a crystal design strategy.

Acknowledgements This study was financed in part by the Brazilian agencies CAPES (Finance Code 001), FUNCAP (PPSUS and PRONEX PR2-0101-00006.01.00/15) and CNPq.

References

- Aitipamula, S., Chow, P. S. & Tan, R. B. H. (2014). *CrystEngComm* **16**, 3451-3465.
- Babu, N. J., Sanphui, P. & Nangia, A. (2012). *Chem Asian J* **7**, 2274-2285.
- Barikah, K. Z. (2018). *Systematic Reviews in Pharmacy* **9**, 79-82.
- Bempong, D. K., Manning, R. G., Mirza, T. & Bhattacharyya, L. (2005). *J Pharm Biomed Anal* **38**, 776-780.
- Berry, D. J. & Steed, J. W. (2017). *Adv Drug Deliv Rev* **117**, 3-24.
- Blagden, N., de Matas, M., Gavan, P. T. & York, P. (2007). *Adv Drug Deliv Rev* **59**, 617-630.
- Bolla, G. & Nangia, A. (2016). *Chem Commun (Camb)* **52**, 8342-8360.
- Bruker (2016). Saint, version 8.38A. Bruker AXS Inc., Madison, Wisconsin, USA.
- Bruker (2001). SADABS. Bruker AXS Inc., Madison, Wisconsin, USA.
- Bruker (2012). APEX 3. Bruker AXS Inc., Madison, Wisconsin, USA.
- Caira, M. R., Nassimbeni, L. R. & van O. B. (1993). *Journal of Pharmaceutical Sciences* **82**, 1006-1009.
- Corpinot, M. K. & Bučar, D.-K. (2018). *Crystal Growth & Design*. DOI: 10.1021/acs.cgd.8b00972.
- Cruz-Cabeza, A. J. (2012). *CrystEngComm* **14**, 6362-6365.
- Dalpia, A., Pavan, B. & Ferretti, V. (2017). *Drug Discov Today* **22**, 1134-1138.
- Delori, A., Friščić, T. & Jones, W. (2012). *CrystEngComm* **14**, 2350-2362.
- Delori, A., Galek, P. T. A., Pidcock, E., Patni, M. & Jones, W. (2013). *CrystEngComm* **15**, 2916-2928.
- Desiraju, G. R. (2010). *J. Chem. Sci.* **122**, 667-675.
- Diniz, L. F., Souza, M. S., Carvalho Jr., P. S., da Silva, C. C. P., D'Vries, R. F. & Ellena, J. (2018). *Journal of Molecular Structure* **1153**, 58-68.
- Do, J. L. & Friscic, T. (2017). *ACS Cent Sci* **3**, 13-19.
- Dolomanov, O. V., Bourhis, L. J., Gildea, R. J., Howard, J. A. K. & Puschmann, H. (2009). *Journal of Applied Crystallography* **42**, 339-341.
- Douroumis, D., Ross, S. A. & Nokhodchi, A. (2017). *Adv Drug Deliv Rev* **117**, 178-195.
- EMA (2015). *Reflection Paper on the Use of Cocrystals of Active Substances in Medicinal Products*. EMA.
- FDA (2018). *Guidance for Industry – Regulatory Classification of Pharmaceutical Cocrystals*. FDA.
- Groom, C. R. & Allen, F. H. (2013). *Angew Chem Int. Ed.* **52**, 2-12.
- Hasa, D. & Jones, W. (2017). *Adv Drug Deliv Rev* **117**, 147-161.
- Healy, A. M., Worku, Z. A., Kumar, D. & Madi, A. M. (2017). *Adv Drug Deliv Rev* **117**, 25-46.
- Hoelgaard, A. & Møller, N. (1983). *International Journal of Pharmaceutics* **15**, 213-221.

- James, S. L., Adams, C. J., Bolm, C., Braga, D., Collier, P., Friscic, T., Grepioni, F., Harris, K. D., Hyett, G., Jones, W., Krebs, A., Mack, J., Maini, L., Orpen, A. G., Parkin, I. P., Shearouse, W. C., Steed, J. W. & Waddell, D. C. (2012). *Chem Soc Rev* **41**, 413-447.
- Kavanagh, O. N., Croker, D. M., Walker, G. M. & Zaworotko, M. J. (2018). *Drug Discov Today*.
<https://doi.org/10.1016/j.drudis.2018.11.023>
- Macrae, C. F., Edgington, P. R., McCabe, P., Pidcock, E., Shields, G. P., Taylor, R., Towler, M., van de Streek, J. (2006). *Journal of Applied Crystallography*, **39**, 453-457.
- Martinez, C. R. & Iverson, B. L. (2012). *Chemical Science* **3**, 2191-2201.
- McKinnon, J. J., Spackman, M. A. & Mitchell, A. S. (2004). *Acta Crystallogr. B*, **60**, 627-668.
- Pedretti, A., Villa, L. & Vistoli, G. (2004). *Journal of Computer-Aided Molecular Design* **18**, 167-173.
- Peraka, K. S., Lusi, M., Bajpai, A. & Zaworotko, M. J. (2017). **17**, 959-962.
- Subhankar, S. & Desiraju, G. R. (2018). *J Am Chem Soc* **140**, 6361-6373.
- Sarkar, A. & Rohani, S. (2015). *J Pharm Sci* **104**, 98-105.
- Sarraguca, M. C., Paisana, M., Pinto, J. & Lopes, J. A. (2016). *Eur J Pharm Sci* **90**, 76-84.
- Shaikh, R., Singh, R., Walker, G. M. & Croker, D. M. (2018). *Trends Pharmacol Sci* **39**, 1033-1048.
- Shayanfar, A. & Jouyban, A. (2014). *Powder Technology* **262**, 242-248.
- Shayanfar, A., Velaga, S. & Jouyban, A. (2014). *Fluid Phase Equilibria* **363**, 97-105.
- Sheldrick, G. M. (2008). *Acta Crystallographica Section A* **64**, 112-122.
- Sheldrick, G. M. (2015). *Acta Cryst. A* **71**, 3-8.
- Spackman, M. A. & Jayatilaka, D. (2009). *CrystEngComm* **11**, 19-32.
- Spek, A. L. (2015). *Acta Crystallographica Section C* **71**, 9-18.
- Vioglio, P. C., Chierotti, M. R. & Gobetto, R. (2017). *Adv Drug Deliv Rev* **117**, 86-110.
- Wang, T., Stevens, J. S., Vetter, T., Whitehead, G. F. S., Vitorica-Yrezabal, I. J., Hao, H. & Cruz-Cabeza, A. J. (2018). *Crystal Growth & Design* **18**, 6973-6983.

4.2 Análise do perfil térmico das novas formas sólidas obtidas a partir de BZMD

Com o intuito de fornecer informações que complementem o estudo sobre as novas formas sólidas, o comportamento térmico foi avaliado, sendo utilizado o equipamento STA 449 F3 (DSC/TG simultâneo). Dessa forma, o perfil térmico de algumas das novas formas sólidas apresentado na Figura 10 foi analisado a uma taxa de aquecimento $5\text{K}\cdot\text{min}^{-1}$. As curvas DSC/TG dos coformadores não foram acrescentadas. Contudo, o ponto de fusão referente a cada coformador é representado pelos triângulos constantes em cada uma das curvas relativas aos cocrystalis.

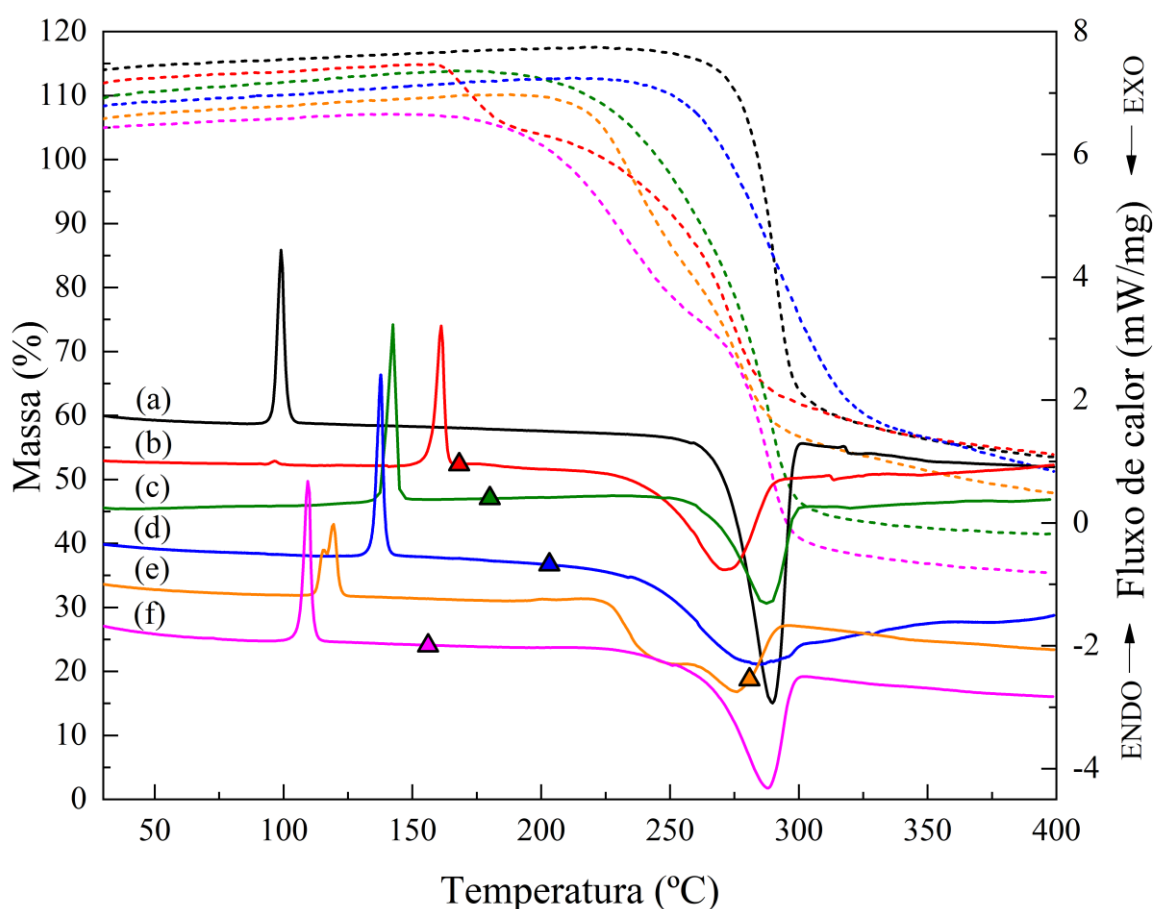


Figura 10 - As curvas de termogravimetria (linhas tracejadas) e calorimetria exploratória diferencial (linha sólida) do BZMD (a) matéria-prima, e das formas sólidas (b) BZMD2,6DBA (c) BZMDMAC (d) BZMD3,5DNZ (e) BZMDFMA (f) BZMDSLCL. O ponto de fusão dos coformadores está representado pelos triângulos nas curvas de DSC. As curvas foram deslocadas verticalmente para maior clareza.

A curva DSC do BZMD (Figura 10a) exibe dois eventos bem definidos, sendo o primeiro evento endotérmico relacionado ao ponto de fusão do fármaco, com *onset* de 96,1 °C (ΔH : 102,2 J/g). Esse dado pode ser correlacionado com a literatura, em que o ponto de fusão é registrado entre 99 – 102 °C (Hoelgaard e Moller, 1983). Após o ponto de fusão existe um pico exotérmico que relaciona-se à queda brusca de massa na curva TG, sendo esse um evento de decomposição, com *onset* de 272,5 °C (ΔH : 832,6 J/g).

Quanto ao perfil do sal BZMD:2,6DBA (Figura 10b) três eventos podem ser observados na curva DSC, dois endotérmicos e um exotérmico. O primeiro evento com *onset* 94 °C (ΔH : 1,64 J/g) é discreto e pode ser referente à pequenas quantidades da matéria-prima presentes na amostra, haja vista a proximidade do *onset* deste evento ao *onset* do ponto de fusão do fármaco (96,1 °C). O segundo evento com *onset* 157,4 °C (ΔH : 114,9 J/g) é associado ao ponto de fusão do sal, e o terceiro evento diz respeito a decomposição com *onset* 246,6 °C (ΔH : -549,7 J/g). Este último evento é relacionado a curva TG por duas perdas de massa consecutivas. No que concerne ao coformador 2,6DBA o ponto de fusão tem *onset* de 168,2 °C, podendo-se observar diferença entre os pontos de fusão dos materiais de partida se comparados ao sal obtido.

O cocrystal BZMDMAC (Figura 10c) apresenta dois eventos na curva DSC, o primeiro evento é endotérmico com *onset* 138,8 °C (ΔH : 134,3 J/g) relativo a fusão, e o segundo evento é exotérmico com *onset* 266,8 °C (ΔH : -396,4 J/g), que é acompanhado por uma queda brusca de massa no TG, que pode ser relacionada a decomposição. O ponto de fusão do coformador MAC tem *onset* de 180,1 °C. O ponto de fusão do cocrystal BZMDMAC está em concordância com estudos que buscaram analisar o ponto de fusão de cocrystal comparando-os com o ponto de fusão de seus precursores, os quais mostram que, em mais da metade dos casos, o cocrystal apresenta ponto de fusão intermediário entre IFA e coformador (Karagianni *et al.*, 2018).

A curva DSC do cocrystal BZMD3,5DNZ (Figura 10d) apresenta dois eventos (um endotérmico e um exotérmico). O primeiro é referente ao ponto de fusão do cocrystal com *onset* 134,6 °C (ΔH : 118,1 J/g), já o segundo evento com *onset* 253 °C (ΔH : -347,8 J/g) é seguido de uma queda brusca de massa, o que caracteriza a decomposição. O ponto de fusão do coformador 3,5DNZ tem *onset* 203,2 °C. O resultado encontrado para o ponto de fusão, onde o perfil térmico da nova forma sólida difere do IFA e do coformador, sugerem a obtenção do cocrystal.

Analisando o comportamento térmico do cocrystal BZMDFMA (Figura 10e), o primeiro evento (endotérmico) parece ocorrer de modo irregular, com picos eclipsados. Entretanto, esse pico com *onset* 112,9 °C (71,78 J/g) está associado à fusão. O segundo evento (exotérmico) ocorre com *onset* 227,6 °C (-602,4 J/g) claramente está associado à decomposição, com perda de massa correspondente a 61,98 % da massa inicial. O coformador apresenta ponto de fusão 212,9 °C. O ponto de fusão desta nova forma sólida também se apresentou intermediário entre IFA e coformador.

Em seguida, ao analisar o comportamento térmico do cocrystal BZMDSL (Figura 10f), percebe-se semelhança com o comportamento térmico do IFA, haja vista a presença de dois picos na curva DSC para o cocrystal (um exotérmico e um endotérmico). No entanto, o ponto de fusão para o cocrystal 106,5°C (103,9 J/g) é levemente maior que o da matéria-prima e menor que o do coformador. O cocrystal também decompõe mais cedo se comparado ao BZMD.

4.3 Solubilidade do Benzoilmetronidazol

Uma análise biofarmacêutica de suma importância é a solubilidade, pois uma baixa solubilidade leva a uma baixa biodisponibilidade, que pode resultar na falha terapêutica. Assim, se um fármaco exibe uma solubilidade muito baixa em água e/ou a sua taxa de dissolução no local de administração é muito baixa, apenas pequenas quantidades de fármaco ficam disponíveis para difusão. Isso pode levar a concentrações insuficientes de fármaco no local de ação e falha do tratamento (Siepmann e Siepmann, 2013; Abuzar *et al.*, 2018). Nesse sentido, é interessante verificar o comportamento das formas sólidas de BZMD obtidas e compará-lo a forma comercializada.

O procedimento inicial para análise da solubilidade foi obter uma curva de calibração. Esta curva foi produzida utilizando-se uma solução de concentração conhecida de BZMD. A partir desta solução alíquotas 50, 100, 150, 200 e 250 µL foram retiradas e então diluídas com uma solução de etanol e água (1/v:1/v). Esta última solução foi usada como branco para as medidas em UV/Vis, as quais foram registradas entre 200 e 500 nm em um Specord 250 (Analytic Jena).

Na curva de calibração (Figura 11) foi considerado o comprimento de onda de máxima absorvância (316 nm). As medidas de solubilidade foram realizadas em triplicata. O valor de R^2 foi 0,9987, e, portanto, está de acordo com o estabelecido na RDC Nº 166, de 24 de julho de 2017 (Anvisa, 2017b).

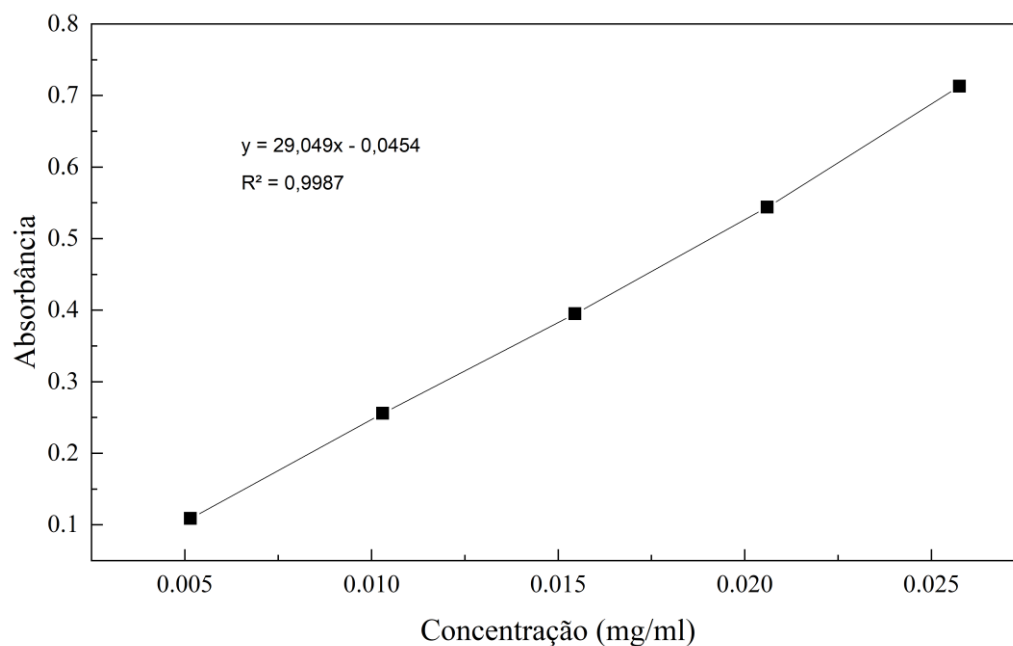


Figura 11 - Curva de calibração do BZMD

Os estudos de solubilidade foram conduzidos dissolvendo-se aproximadamente 10 mg de cada forma sólida em 20 mL de água, os quais foram mantidos com agitação de uma barra magnética. Foram retiradas alíquotas em intervalos de tempo regulares (5, 10, 15, 30, 45, 90 e 120 min) que foram filtradas usando filtros de 0,45 μm . Os filtrados foram imediatamente diluídos apropriadamente com uma mistura de água e etanol (1:1v/v) e a concentração foi calculada usando a curva de calibração registrada por UV/Vis.

No que concerne à análise de solubilidade para os sólidos multicomponentes as curvas obtidas a partir do espectrofotômetro precisam ser cuidadosamente analisadas, a fim de verificar o comprimento de onda máximo para cada forma sólida em que a interferência do coformador seja mínima, como exemplificado na Figura 12.

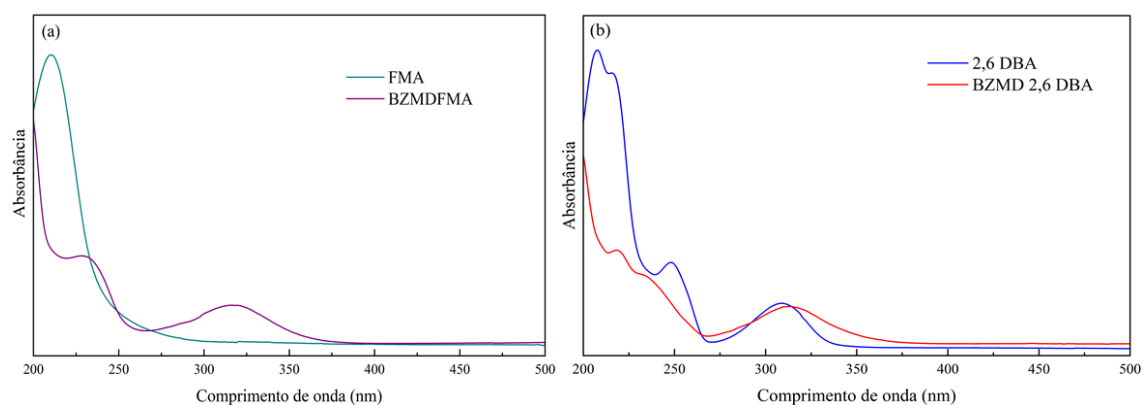


Figura 12 - Curvas de (a) BZMDFMA (lilás) e FMA (verde) e (b) BZMD2,6DBA (vermelho) e 2,6DBA (azul), obtidas a partir da varredura realizada em UV/Vis.

Sobrepondo-se as curvas do cocristal BZMDFMA com a do coformador FMA (Figura 12a), verifica-se que a curva do coformador não apresenta absorção após 270 nm. Desse modo, o coformador não interfere na escolha do comprimento de onda do cocristal, que foi de 316 nm (correspondente ao comprimento de absorbância máxima do fármaco). No entanto, ao sobrepor a curva do sal BZMD2,6DBA e do coformador 2,6DBA (Figura 12b), observa-se que a curva do coformador interfere na verificação do comprimento de onda do sal. Neste caso, o comprimento de onda de máxima absorbância (316 nm) não foi utilizado, uma vez que o coformador ainda apresenta absorção. Deste modo, o comprimento utilizado foi de 345 nm, onde a interferência do coformador já não ocorre.

A partir desta análise as curvas de solubilidade de algumas das novas formas sólidas obtidas foi plotada, como pode ser visualizado na Figura 13.

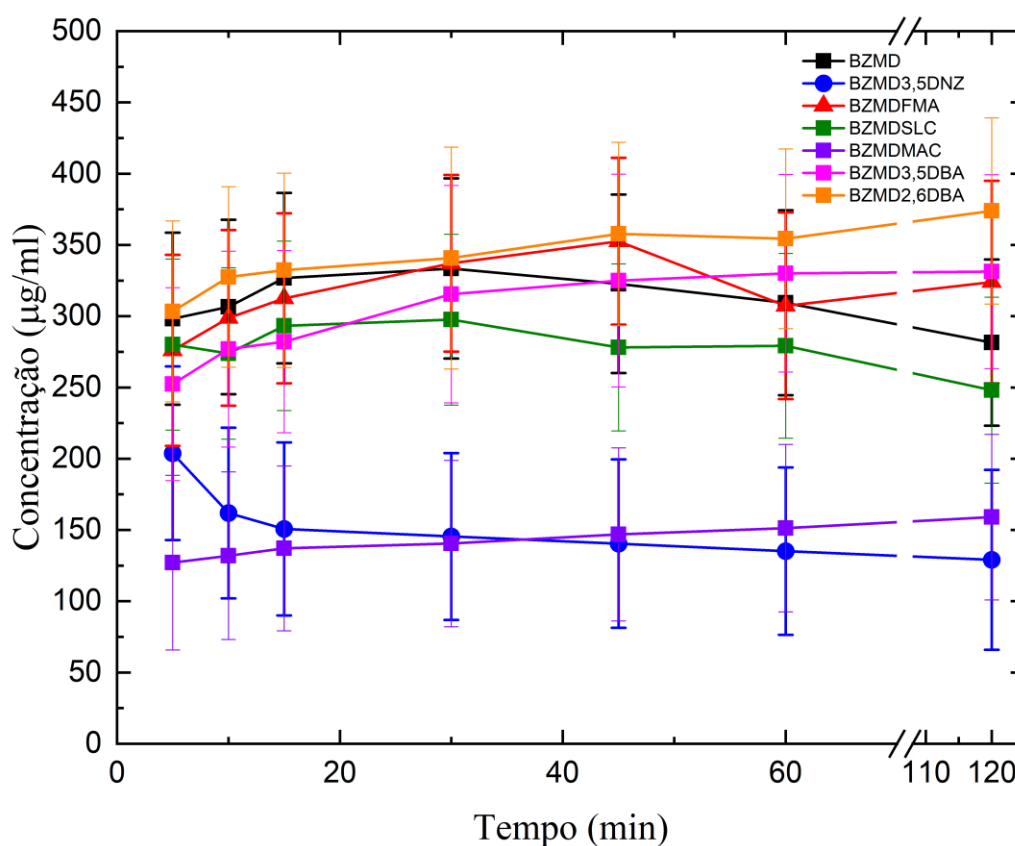


Figura 13 – Solubilidade do BZMD e novas formas sólidas

Analisando-se as curvas de solubilidade verifica-se que a matéria-prima tem uma solubilidade inicial em torno de 300 µg/mL, que vai aumentando ao longo do tempo e começa a decair a partir de 45 minutos. A tendência desta curva parece ser alcançar uma

solubilidade condizente com a vista na literatura, que é de 200 µg/mL (Bempong *et al.*, 2005). A curva BZMDSLCL tem um comportamento semelhante ao da matéria-prima.

O sal BZMD2,6DBA apresenta a melhor solubilidade dentre as novas formas sólidas analisadas. Os cocristais BZMD3,5DNZ e BZMDMAC tem uma solubilidade menor que a do restante das formas sólidas analisadas. O cocrystal BZMDMAC parece particularmente interessante para formulações com liberação controlada, pois a liberação do ativo é praticamente constante ao longo do tempo. As vantagens da liberação controlada incluem reduzir as frequências de dosagem, o que acarreta uma maior conveniência em relação a posologia e aceitação do paciente em relação à terapia (Chen *et al.*, 2019).

5 CONCLUSÃO

Neste trabalho, dezoito novas estruturas foram obtidas de maneira inédita, sendo 1 polimorfo, 2 sais, 11 cocristais e 4 clatratos. No que concerne ao RLC às metodologias de moagem, cristalização por arrefecimento e difusão foram aplicadas para obtenção de clatratos de RLC (hospedeiro) com diferentes solventes (convidados/hóspedes), a saber: metanol, N,N-Dimetilacetamida, N,N-Dimetilformamida e acetona, com caracterização por PXRD e análise térmica. Três das quatro estruturas foram elucidadas por SCXRD e uma foi inferida por PXRD.

Com relação as novas formas sólidas de BZMD a estratégia de projetar racionalmente formas multicomponentes foi executada com sucesso, a partir de um *synthon* supramolecular estabelecido entre o grupo imidazol do BZMD e coformadores contendo grupos hidroxila, o qual se confirmou robusto. Nesse sentido, diferentes razões estequiométricas do mesmo *synthon* (1: 1, 2: 1 e 3: 1) foram exploradas, com seleção de coformadores com ácidos carboxílicos e grupos fenólicos, com base nos sítios de ligação disponíveis. Esta estratégia conduziu a obtenção treze novas formas sólidas (dois sais e onze cocristais).

Dessa forma, a estratégia de desenho racional foi empregada com sucesso para os fármacos cloridrato de raloxifeno e benzoilmetronidazol, permitindo a obtenção de novas formas sólidas, com conhecimento mais aprofundado com relação as propriedades físico-químicas destas novas estruturas e propriedades biofarmacêuticas promissoras.

REFERÊNCIAS

- AAKERÖY, C. B.; SEDDON, K. R. The hydrogen bond and crystal engineering. **Chem. Soc. Rev.**, v. 22, n. 6, p. 397-407, 1993.
- ABUZAR, S. M. et al. Enhancing the solubility and bioavailability of poorly water-soluble drugs using supercritical antisolvent (SAS) process. **Int J Pharm**, v. 538, n. 1-2, p. 1-13, Mar 1 2018.
- AITIPAMULA, S.; CHOW, P. S.; TAN, R. B. H. Polymorphism in cocrystals: a review and assessment of its significance. **CrystEngComm**, v. 16, n. 17, p. 3451, 2014.
- AL KHAFAJI, I. H. M.; AL-BAYATI, Y. K. Synthesis of New Selective Electrodes for the Determination of Metronidazole Benzoate (MNZB) Based on a Molecularly Imprinted Polymer Combined With Poly Vinyl Chloride. **International Journal of ChemTech Research**, v. 10, n. 3, p. 10, 2017.
- ALI, M. S.; CHAUDHARY, R. S.; TAKIEDDI, M. A. Simultaneous Determination of Metronidazole Benzoate, Methylparaben, and Propylparaben by High-Performance Liquid Chromatography. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 25, n. 10, p. 6, 1999.
- ALMARSSON, Ö.; PETERSON, MATTHEW L.; ZAWOROTKO, M. The A to Z of pharmaceutical cocrystals_ a decade of fast-moving new science and patents. **Pharm. Pat. Analyst**, v. 1, n. 3, p. 15, 2012.
- AMIDON, G. L. et al. A theoretical basis for a biopharmaceutic drug classification: The Correlation of in vitro drug product dissolution and in vivo bioavailability. **Pharmaceutical research**, v. 12, n. 3, p. 8, 1995.
- ANVISA. RDC Nº 57, de 17 de novembro DE 2009. Dispõe sobre o registro de insumos farmacêuticos ativos (IFA) e dá outras providências. 2009.
- ANVISA. Nota Técnica 02/2017 - Registro de medicamentos novos, genéricos e similares contendo solvatos e cocrystalis como insumo farmacêutico ativo. 2017a.
- ANVISA. RDC Nº 166, de 24 DE julho de 2017 - Dispõe sobre a validação de métodos analíticos e dá outras providências. 2017b.
- AUCAMP, M. et al. Amorphous azithromycin with improved aqueous solubility and intestinal membrane permeability. **Drug Dev Ind Pharm**, v. 41, n. 7, p. 1100-8, 2015.
- BABU, N. J.; SANPHUI, P.; NANGIA, A. Crystal engineering of stable temozolomide cocrystals. **Chem Asian J**, v. 7, n. 10, p. 2274-85, Oct 2012.
- BANIK, M. et al. Cocrystal and Salt Forms of Furosemide: Solubility and Diffusion Variations. **Crystal Growth & Design**, v. 16, n. 9, p. 5418-5428, 2016.
- BARIKAH, K. Z. A. Traditional and Novel Methods for Cocrystal Formation: A Mini Review. **Systematic Reviews in Pharmacy**, v. 9, n. 1, p. 79-82, 2018.
- BELOBORODOVA, A. A. et al. First Evidence of Polymorphism in Furosemide Solvates. **Crystal Growth & Design**, v. 17, n. 5, p. 2333-2341, 2017.

BEMPONG, D. K. et al. A stability-indicating HPLC assay for metronidazole benzoate. **J Pharm Biomed Anal**, v. 38, n. 4, p. 776-80, Jul 15 2005.

BERRY, D. J.; STEED, J. W. Pharmaceutical cocrystals, salts and multicomponent systems; intermolecular interactions and property based design. **Adv Drug Deliv Rev**, v. 117, p. 3-24, Aug 1 2017.

BEZERRA, B. P. **Engenharia de Cristais Aplicada nos Fármacos Nitroimidazólicos: Secnidazol e Benznidazol**. 2017. 147 Farmácia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza-Ceará.

BLAGDEN, N. et al. Crystal engineering of active pharmaceutical ingredients to improve solubility and dissolution rates. **Adv Drug Deliv Rev**, v. 59, n. 7, p. 617-30, Jul 30 2007.

BOLLA, G.; NANGIA, A. Pharmaceutical cocrystals: walking the talk. **Chem Commun (Camb)**, v. 52, n. 54, p. 8342-60, Jun 28 2016.

BOUHROUM, A. et al. An assessment of beclomethasone dipropionate clathrate formation in a model suspension metered dose inhaler. **Int J Pharm**, v. 391, n. 1-2, p. 98-106, May 31 2010.

BRIUGLIA, M. L.; SEFCIK, J.; TER HORST, J. H. Measuring Secondary Nucleation through Single Crystal Seeding. **Crystal Growth & Design**, v. 19, n. 1, p. 421-429, 2018.

BRUKER. SADABS. Bruker AXS Inc.,Madison, Wiscosin, USA., 2001.

BRUKER. APEX 3. Bruker AXS Inc.,Madison, Wiscosin, USA., 2012.

BRUKER. Saint, version 8.38A. Bruker AXS Inc.,Madison, Wiscosin, USA. 2016.

BRUNI, G. et al. Thermal, spectroscopic, and ab initio structural characterization of carprofen polymorphs. **J Pharm Sci**, v. 100, n. 6, p. 2321-32, Jun 2011.

BRYAN, M. C. et al. Green Chemistry Articles of Interest to the Pharmaceutical Industry. **Organic Process Research & Development**, v. 21, n. 2, p. 153-164, 2017.

BUNDGAARD, H.; NORGAARD, T.; NIELSEN, N. M. Photodegradation and hydrolysis of furosemide and furosemide esters in aqueous solutions. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 42, p. 8, 1988.

CAIRA. X-ray Structural Characterization of Anhydrous Metronidazole Benzoate and Metronidazole Benzoate Monohydrate. **American Pharmaceutical Association**, v. 82, n. 10, p. 4, 1993.

CHEN, Z. et al. Sustained and controlled release of herbal medicines: The concept of synchronized release. **Int J Pharm**, v. 560, p. 116-125, Feb 10 2019.

COMPSTON, J. E.; MCCLUNG, M. R.; LESLIE, W. D. Osteoporosis. **The Lancet**, v. 393, n. 10169, p. 364-376, 2019.

CORPINOT, M. K.; BUČAR, D.-K. A Practical Guide to the Design of Molecular Crystals. **Crystal Growth & Design**, 2019.

- COUILLAUD, B. M. et al. State of the Art of Pharmaceutical Solid Forms: from Crystal Property Issues to Nanocrystals Formulation. **ChemMedChem**, v. 14, n. 1, p. 8-23, Jan 8 2019.
- DA SILVA, A. S. et al. Discriminative Dissolution Method for Benzoyl Metronidazole Oral Suspension. **AAPS PharmSciTech**, v. 17, n. 3, p. 778-86, Jun 2016.
- DALPIAZ, A.; PAVAN, B.; FERRETTI, V. Can pharmaceutical co-crystals provide an opportunity to modify the biological properties of drugs? **Drug Discov Today**, v. 22, n. 8, p. 1134-1138, Aug 2017.
- DATTA, S.; GRANT, D. J. Crystal structures of drugs: advances in determination, prediction and engineering. **Nat Rev Drug Discov**, v. 3, n. 1, p. 42-57, Jan 2004.
- DAVEY, R. J.; SCHROEDER, S. L.; TER HORST, J. H. Nucleation of organic crystals--a molecular perspective. **Angew Chem Int Ed Engl**, v. 52, n. 8, p. 2166-79, Feb 18 2013.
- DE ARAÚJO, G. L. B. **Caracterização no estado sólido dos polimorfos de tibolona**. 2009. 202 Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- DE ZORDI, N. et al. Applications of supercritical fluids to enhance the dissolution behaviors of Furosemide by generation of microparticles and solid dispersions. **Eur J Pharm Biopharm**, v. 81, n. 1, p. 131-41, May 2012.
- DELORI, A.; FRIŠČIĆ, T.; JONES, W. The role of mechanochemistry and supramolecular design in the development of pharmaceutical materials. **CrystEngComm**, v. 14, n. 7, p. 2350, 2012.
- DELORI, A. et al. Knowledge-based hydrogen bond prediction and the synthesis of salts and cocrystals of the anti-malarial drug pyrimethamine with various drug and GRAS molecules. **CrystEngComm**, v. 15, n. 15, p. 2916, 2013.
- DESIRAJU, G. R. Designer crystals: intermolecular interactions, network structures and supramolecular synthons. **Chem commun** 1997.
- DESIRAJU. Hydrogen Bridges in Crystal Engineering: Interactions without Borders. **Acc. Chem. Res.**, v. 35, p. 9, 2002.
- DESIRAJU, G. R. Crystal engineering: A brief overview. **J. Chem. Sci.**, v. 122, n. 5, p. 8, 2010.
- DESIRAJU, G. R. Crystal engineering: from molecule to crystal. **J Am Chem Soc**, v. 135, n. 27, p. 9952-67, Jul 10 2013.
- DO, J. L.; FRISCIC, T. Mechanochemistry: A Force of Synthesis. **ACS Cent Sci**, v. 3, n. 1, p. 13-19, Jan 25 2017.
- DOHERTY, C.; YORK, P. Frusemide crystal forms; solid state and physicochemical analyses. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 47, p. 15, 1988.
- DOLOMANOV, O. V. et al. OLEX2: a complete structure solution, refinement and analysis program. **Journal of Applied Crystallography**, v. 42, n. 2, p. 339-341, 2009.
- DONOHUE, J. The Hydrogen Bond in Organic Crystals. **J. Phys. Chem**, v. 56, n. 4, p. 8, 1952.

DOUROUMIS, D.; ROSS, S. A.; NOKHODCHI, A. Advanced methodologies for cocrystal synthesis. **Adv Drug Deliv Rev**, Jul 13 2017a.

DU, Y. et al. Vibrational spectroscopic study of polymorphism and polymorphic transformation of the anti-viral drug lamivudine. **Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc**, v. 137, p. 1158-63, Feb 25 2015.

DUGGIRALA, N. K. et al. Pharmaceutical cocrystals: along the path to improved medicines. **Chem Commun (Camb)**, v. 52, n. 4, p. 640-55, Jan 14 2016. ISSN 1364-548X (Electronic) 1359-7345 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26565650> >.

EHIWE, T. O. et al. Monitoring real time polymorphic transformation of sulfanilamide by diffuse reflectance visible spectroscopy. **J Pharm Anal**, v. 6, n. 3, p. 179-183, Jun 2016.

EMA. Reflection Paper on the Use of Cocrystals of Active Substances in Medicinal Products. 2015.

ETTER, M. C. A New Role for Hydrogen-Bond Acceptors in Influencing Packing Patterns of Carboxylic Acids and Amides. **J. Am. Chem. SOC**, v. 104, p. 2, 1982.

ETTER, M. C. Encoding and decoding hydrogen-bond patterns of organic compounds. **Acc. Chem. Res.**, v. 23, p. 7, 1990.

ETTER. Hydrogen Bonds as Design Elements in Organic Chemistry. **The Journal of Physical Chemistry**, v. 95, n. 12, p. 10, 1991.

ETTER, M. C.; MACDONALD, J. Graph-Set Analysis of Hydrogen-Bond Patterns in Organic Crystals. **Acta Cryst.**, v. B46, p. 6, 1990.

FAGERHOLM, U. Evaluation and suggested improvements of the Biopharmaceutics Classification System (BCS). **J Pharm Pharmacol**, v. 59, n. 6, p. 751-7, Jun 2007.

FDA. Guidance for Industry – Regulatory Classification of Pharmaceutical Co- Crystals. 2018.

FRAWLEY, P. J. et al. The effects of supersaturation, temperature, agitation and seed surface area on the secondary nucleation of paracetamol in ethanol solutions. **Chemical Engineering Science**, v. 75, p. 183-197, 2012.

FRISCIC, T. et al. The role of solvent in mechanochemical and sonochemical cocrystal formation: a solubility-based approach for predicting cocrystallisation outcome. **CrystEngComm**, v. 11, p. 9, 2009.

GONNADE, R. G.; SANGTANI, E. Polymorphs and Cocrystals: A Comparative Analysis. **Journal of the Indian Institute of Science**, v. 97, n. 2, p. 193-226, 2017.

GROOM, C. R.; ALLEN, F. H. The Cambridge Structural Database in retrospect and prospect. **Angew Chem Int Ed Engl**, v. 53, n. 3, p. 662-71, Jan 13 2014.

HALEBLIAN, J.; MCCRONE, W. Pharmaceutical Applications of Polymorphism. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 58, n. 8, p. 19, 1969.

HANCOCK, B. C.; PARKS, M. What is the True Solubility Advantage for Amorphous Pharmaceuticals? **Pharmaceutical Research**, v. 17, n. 4, p. 7, 2000.

HANCOCK, B. C.; ZOGRAFI, G. Characteristics and Significance of the Amorphous State in Pharmaceutical Systems. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 89, n. 1, p. 12, 1997.

HARRIS, K. D. M.; TREMAYNE, M.; KARIUKI, B. M. Contemporary Advances in the Use of Powder X-ray Diffraction for Structure Determination **Angew Chem Int Ed**, v. 40, p. 25, 2001.

HARRISS, B. I. et al. Furosemide Cocrystals: Structures, Hydrogen Bonding, and Implications for Properties. **Crystal Growth & Design**, v. 14, n. 2, p. 783-791, 2013.

HASA, D.; JONES, W. Screening for new pharmaceutical solid forms using mechanochemistry: A practical guide. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 117, p. 147-161, 2017.

HEALY, A. M. et al. Pharmaceutical solvates, hydrates and amorphous forms: A special emphasis on cocrystals. **Adv Drug Deliv Rev**, v. 117, p. 25-46, Aug 1 2017.

HILFIKER, R.; BLATTER, F.; VONRAUMER, M. **Polymorphism in the Pharmaceutical Industry**. Weinheim, Germany: 2006.

HOELGAARD, A.; MOLLER, N. Hydrate formation of metronidazole benzoate in aqueous suspensions. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 15, p. 9, 1983.

JAMES, S. L. et al. Mechanochemistry: opportunities for new and cleaner synthesis. **Chem Soc Rev**, v. 41, n. 1, p. 413-47, Jan 7 2012.

KANAUJIA, P. et al. Amorphous formulations for dissolution and bioavailability enhancement of poorly soluble APIs. **Powder Technology**, v. 285, p. 2-15, 2015.

KARAGIANNI, A.; MALAMATARI, M.; KACHRIMANIS, K. Pharmaceutical Cocrystals: New Solid Phase Modification Approaches for the Formulation of APIs. **Pharmaceutics**, v. 10, n. 1, Jan 25 2018.

KARASHIMA, M. et al. Rational polymorph screening based on slow cooling crystallization of poorly soluble mebendazole. **Journal of Crystal Growth**, v. 390, p. 30-37, 2014. ISSN 00220248.

KARIMI-JAFARI, M. et al. Creating Cocrystals: A Review of Pharmaceutical Cocrystal Preparation Routes and Applications. **Crystal Growth & Design**, v. 18, n. 10, p. 6370-6387, 2018.

KAVANAGH, O. N. et al. Pharmaceutical cocrystals: from serendipity to design to application. **Drug Discov Today**, Dec 3 2018.

KAVURU, P. **Hierarchy of Supramolecular Synthons in the of Design Multi-Component Crystals**. 2012. 212 (Dissertação). Department of Chemistry, University of South Florida

KAYATH, M. J. Raloxifeno e Osteoporose: Revisão de Um Novo Modulador Seletivo do Receptor de Estrógeno. **Arq Bras. Endocrinol Metab** v. 43, n. 6, p. 9, 1999.

KERR, H. E. et al. A furosemide – isonicotinamide cocrystal: An investigation of properties and extensive structural disorder. **CrystEngComm**, v. 17, p. 8, 2015.

- LAITINEN, R. et al. Amino acids as co-amorphous excipients for simvastatin and glibenclamide: physical properties and stability. **Mol Pharm**, v. 11, n. 7, p. 2381-9, Jul 7 2014.
- LOURES, M. A. R. et al. Diretrizes da Sociedade Brasileira de Reumatologia para diagnóstico e tratamento da osteoporose em homens. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v. 57, p. 497-514, 2017.
- LUTHRA, S. A. et al. Chemical stability of amorphous materials: specific and general media effects in the role of water in the degradation of freeze-dried zoniporide. **J Pharm Sci**, v. 101, n. 9, p. 3110-23, Sep 2012.
- MACRAE, C. F. et al. Mercury: visualization and analysis of crystal structures. **Journal of Applied Crystallography**, v. 39, n. 3, p. 453-457, 2006.
- MALAMATARI, M. et al. Experimental cocrystal screening and solution based scale-up cocrystallization methods. **Adv Drug Deliv Rev**, v. 117, p. 162-177, Aug 1 2017.
- MATSUDA, Y.; TATSUMI, E. Physicochemical characterization of furosemide modifications. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 60, p. 16, 1190.
- MINKOV, V. S. et al. Furosemide Solvates: Can They Serve As Precursors to Different Polymorphs of Furosemide? **Crystal Growth & Design**, v. 14, n. 2, p. 513-522, 2014. 1528-7505.
- MUKHERJEE, A. et al. Synthon identification in co-crystals and polymorphs with IR spectroscopy. Primary amides as a case study. **CrystEngComm**, v. 15, n. 23, p. 4640, 2013.
- NEWMAN, A. Specialized Solid Form Screening Techniques. **Organic Process Research & Development**, v. 17, n. 3, p. 457-471, 2012.
- PATCHKOVSKII, S.; TSE, J. S. Thermodynamic stability of hydrogen clathrates. **PNAS**, v. 100, n. 25, p. 7, 2003.
- PATEL, B. D.; MEHTA, P. J. An overview: Application of Raman Spectroscopy in Pharmaceutical Field. **Current Pharmaceutical Analysis**, v. 6, p. 11, 2010.
- PEDRETTI, A.; VILLA, L.; VISTOLI, G. VEGA – An open platform to develop chemo-bio-informatics applications, using plug-in architecture and script programming. **Journal of Computer-Aided Molecular Design**, v. 18, p. 6, 2004.
- PINDELSKA, E.; SOKAL, A.; KOLODZIEJSKI, W. Pharmaceutical cocrystals, salts and polymorphs: Advanced characterization techniques. **Adv Drug Deliv Rev**, v. 117, p. 111-146, Aug 1 2017.
- QIAO, N. et al. Pharmaceutical cocrystals: an overview. **Int J Pharm**, v. 419, n. 1-2, p. 1-11, Oct 31 2011.
- RAMALHO, A. C. R. et al. Por Que Estrógeno e Raloxifeno Melhoram a Densidade Mineral Óssea? Mecanismo de Ação do Estrógeno e de Um Modulador Seletivo do Receptor de Estrógeno (SERM) no Osso. **Arq Bras Endocrinol Metab**, v. 44, n. 6, 2000.

RAMON, G.; NASSIMBENI, L. R.; TALJAARD, J. H. Guest Controlled Packing in Inclusion Compounds. **Journal of Chemical Crystallography**, v. 42, n. 10, p. 1014-1021, 2012.

REDDY, B. B. K.; KARUNAKAR, A. Biopharmaceutics Classification System: A Regulatory Approach. **Dissolution Technologies**, p. 7, 2010.

RODRIGUEZ-HORNEDO, N. Cocrystals: Molecular Design of Pharmaceutical Materials. **Molecular Pharmaceutics**, 2007.

ROSS, S. A.; LAMPROU, D. A.; DOUROUMIS, D. Engineering and manufacturing of pharmaceutical co-crystals: a review of solvent-free manufacturing technologies. **Chem Commun (Camb)**, v. 52, n. 57, p. 8772-86, Jul 07 2016.

SAHA, S.; DESIRAJU, G. R. Acid...Amide Supramolecular Synthons in Cocrystals: From Spectroscopic Detection to Property Engineering. **J Am Chem Soc**, v. 140, n. 20, p. 6361-6373, May 23 2018.

SANGTANI, E. et al. Furosemide Cocrystals with Pyridines: An Interesting Case of Colour Cocrystal Polymorphism. **Crystal Growth & Design**, v. 15, p. 15, 2015.

SARRAGUCA, M. C. et al. Real-time monitoring of cocrystallization processes by solvent evaporation: A near infrared study. **Eur J Pharm Sci**, v. 90, p. 76-84, Jul 30 2016.

SHAIKH, R. et al. Pharmaceutical Cocrystal Drug Products: An Outlook on Product Development. **Trends Pharmacol Sci**, v. 39, n. 12, p. 1033-1048, Dec 2018.

SHELDRICK, G. M. A short history of SHELX. **Acta Crystallogr A**, v. 64, n. Pt 1, p. 112-22, Jan 2008.

SHELDRICK, G. M. Crystal structure refinement with SHELXL. **Acta Crystallogr C Struct Chem**, v. 71, n. Pt 1, p. 3-8, Jan 2015.

SIEPMANN, J.; SIEPMANN, F. Mathematical modeling of drug dissolution. **Int J Pharm**, v. 453, n. 1, p. 12-24, Aug 30 2013.

SILVA, C. C. P. **Caracterização de estado sólido de insumos farmacêuticos ativos: clorpropamida, nevirapina e dietilcarbamazina**. 2010. 187 (Mestrado). Física, Universidade de São Paulo

SILVA, C. C. P. **Caracterização de estado sólido de insumos farmacêuticos ativos: clorpropamida, nevirapina e dietilcarbamazina**. 2010. 185 (Dissertação). Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos.

SILVA, C. C. P. et al. The Continuum in 5-Fluorocytosine. Toward Salt Formation. **Crystal Growth & Design**, v. 13, n. 10, p. 4315-4322, 2013.

SRIRAMBHATLA, V. K. et al. A robust two-dimensional hydrogen-bonded network for the predictable assembly of ternary co-crystals of furosemide. **CrystEngComm**, v. 16, n. 43, p. 9979-9982, 2014.

STEED, J. W. The role of co-crystals in pharmaceutical design. **Trends Pharmacol Sci**, v. 34, n. 3, p. 185-93, Mar 2013.

STEPANOV, D.; MISHNEV, A. Multicomponent pharmaceutical cocrystals: furosemide and pentoxifylline. **Acta Crystallogr C**, v. 68, n. Pt 12, p. o488-91, Dec 2012.

STOREY, R. A.; YMÉN, I. **Solide State Characterization of Pharmaceuticals**. 2011.

SUDHA, C.; SRINIVASAN, K. Nucleation control and separation of paracetamol polymorphs through swift cooling crystallization process. **Journal of Crystal Growth**, v. 401, p. 248-251, 2014.

SUROV, A. O. et al. Cocrystal formation, crystal structure, solubility and permeability studies for novel 1,2,4-thiadiazole derivative as a potent neuroprotector. **Eur J Pharm Sci**, v. 109, p. 31-39, Nov 15 2017.

TEETER, J. S.; MEYERHOFF, R. D. Environmental Fate and Chemistry of Raloxifene Hydrochloride. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 21, n. 4, p. 8, 2002.

THAKRAL, N. K. et al. Applications of Powder X-Ray Diffraction in Small Molecule Pharmaceuticals: Achievements and Aspirations. **J Pharm Sci**, v. 107, n. 12, p. 2969-2982, Dec 2018.

THAKURIA, R.; THAKUR, T. S. Crystal Polymorphism in Pharmaceutical Science. p. 283-309, 2017.

THORAT, S. H. et al. Drug-Drug Molecular Salt Hydrate of an Anticancer Drug Gefitinib and a Loop Diuretic Drug Furosemide: An Alternative for Multidrug Treatment. **J Pharm Sci**, v. 104, n. 12, p. 4207-4216, Dec 2015.

TILLEY, R. J. D. **Cristalografia: cristais e estruturas cristalinas**. 1ª Ed. São Paulo: Oficina de Textos, 2014. ISBN 978-85-7975-154-7.

TRASK, A. V. An Overview of Pharmaceutical Cocrystals as Intellectual Property. **Molecular Pharmaceutics**, v. 4, n. 3, p. 8, 2007.

TRASK, A. V.; JONES, W. Crystal Engineering of Organic Cocrystals by the Solid-State Grinding Approach. v. 254, p. 41-70, 2005.

TREMAYNE, M. The impact of powder diffraction on the structural characterization of organic crystalline materials. **Phil. Trans. R. Soc. Lond. A**, v. 362, p. 17, 2004.

TRONTELI, J. et al. HPLC analysis of raloxifene hydrochloride and its application to drug quality control studies. **Pharmacol Res**, v. 52, n. 4, p. 334-9, Oct 2005.

UETO, T. et al. Polymorphs and a Hydrate of Furosemide–Nicotinamide 1:1 Cocrystal. **Crystal Growth & Design**, v. 12, n. 1, p. 485-494, 2011.

VARGAS, F. et al. Photodegradation and phototoxicity studies of furosemide. Involvement of singlet oxygen in the photoinduced hemolysis and lipid peroxidation. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 42, p. 6, 1998.

VIOGLIO, P. C.; CHIEROTTI, M. R.; GOBETTO, R. Pharmaceutical aspects of salt and cocrystal forms of APIs and characterization challenges. **Adv Drug Deliv Rev**, v. 117, p. 86-110, Aug 1 2017.

VIPPAGUNTA, S. R.; BRITAIN, H. G.; GRANT, D. J. W. Crystalline solids. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 48, p. 24, 2001.

WANG, T. et al. Salts, Cocrystals, and Ionic Cocrystals of a "Simple" Tautomeric Compound. **Crystal Growth & Design**, v. 18, n. 11, p. 6973-6983, 2018.

WILSON, D. J. Osteoporosis and sport. **Eur J Radiol**, v. 110, p. 169-174, Jan 2019.

WU, C.-Y.; BENET, L. Z. Predicting Drug Disposition via Application of BCS: Transport/Absorption/Elimination Interplay and Development of a Biopharmaceutics Drug Disposition Classification System. **Pharmaceutical Research**, v. 22, n. 1, p. 11-23, 2005.

YEDAVALLY-YELLAYI, S.; HO, A. M.; PATALINGHUG, E. M. Update on Osteoporosis. **Prim Care**, v. 46, n. 1, p. 175-190, Mar 2019.

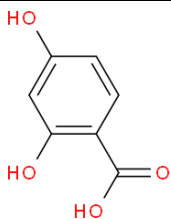
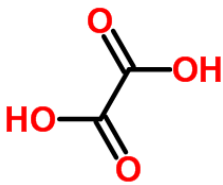
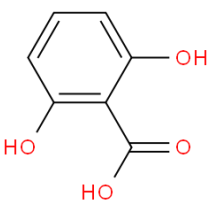
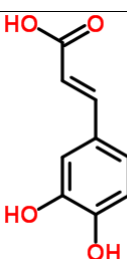
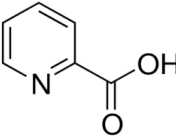
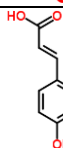
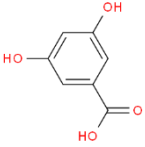
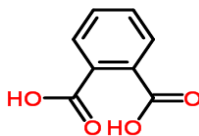
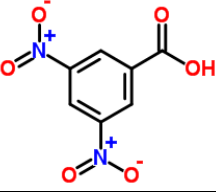
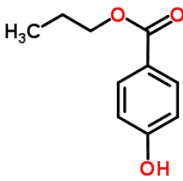
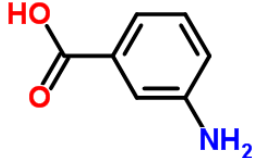
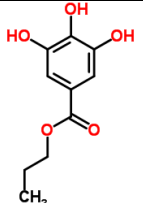
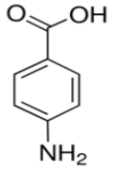
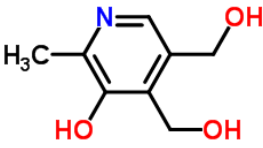
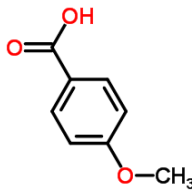
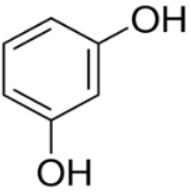
ZHOU, L. et al. Co-crystal formation based on structural matching. **Eur J Pharm Sci**, v. 88, p. 191-201, Jun 10 2016.

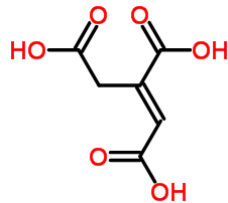
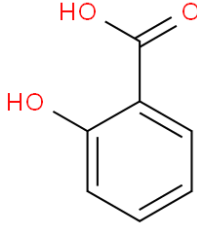
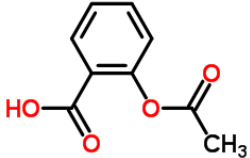
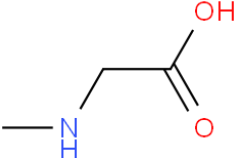
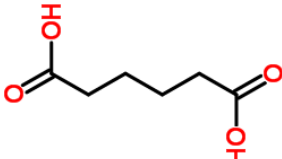
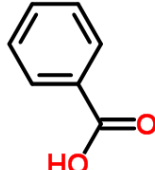
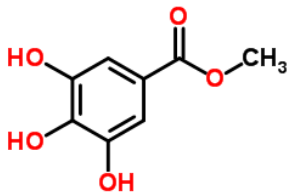
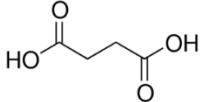
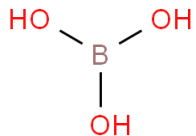
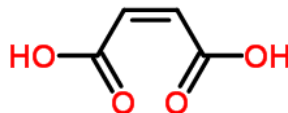
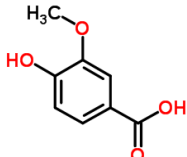
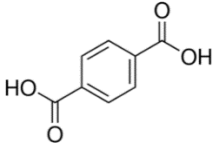
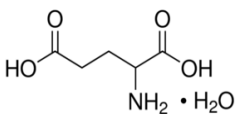
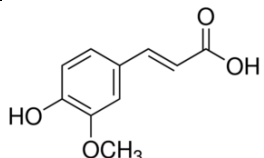
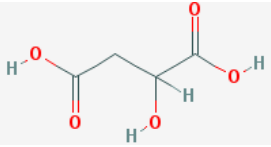
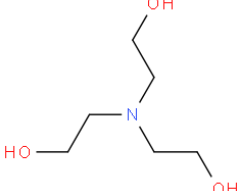
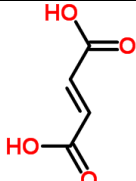
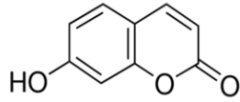
ZHOU, Y. et al. The Effects of Polymorphism on Physicochemical Properties and Pharmacodynamics of Solid Drugs. **Current Pharmaceutical Design**, v. 24, n. 21, p. 8, 2018.

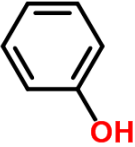
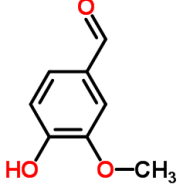
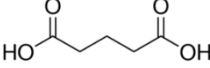
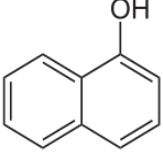
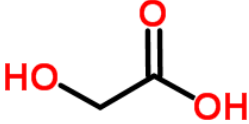
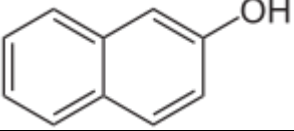
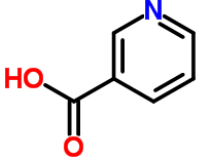
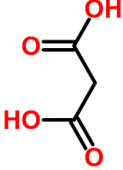
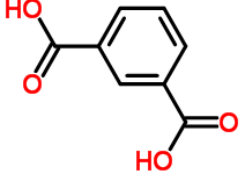
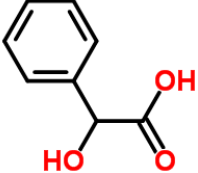
ZIETSMAN, S. L. **An Investigation into the Development of a Stable Aqueous Suspension of Metronidazole Benzoate for oral use**. 2005. 342 Faculty of Health Sciences, Nelson Mandela Metropolitan University

ZU, Y. et al. Preparation and characterization of amorphous amphotericin B nanoparticles for oral administration through liquid antisolvent precipitation. **Eur J Pharm Sci**, v. 53, p. 109-17, Mar 12 2014.

APÊNDICE A - Coformadores selecionados para combinar-se ao BZMD

Coformador	Estrutura	Coformador	Estrutura
2,4-Dihydroxybenzoic acid (2,4DBA)		Oxalic acid (OXA)	
2,6-Dihydroxybenzoic acid (2,6DBA)		Caffeic acid (CFA)	
2-picolinic (PCL)		p-Coumaric acid (CMC)	
3,5-Dihydroxybenzoic acid (3,5DBA)		Phthalic acid (PAC)	
3,5-Dinitrobenzoic acid (3,5DNZ)		Propyl 4-hydroxybenzoate (PHY)	
3-Aminobenzoic acid (ABN)		Propyl gallate (PGA)	
4-Aminobenzoic acid (ABA)		Pyridoxine (PYD)	
4-Meoxybenzoic acid (MAC)		Resorcinol (RES)	

Trans-Acoticnic acid (TAT)		Salicylic acid (SLC)	
Acetylsalicylic acid (AAS)		Sarcosine (SAR)	
Adipic acid (APA)		Benzoic acid (BZC)	
Methyl 3,4,5-trihydroxybenzoate (3,4,5 MTB)		Succinic acid (SAC)	
Boric acid (BAC)		Maleic acid (MLC)	
Vanillic acid (VAC)		Terephthalic acid (TAC)	
DL-Glutamic acid monohydrate (GAC)		Trans-Ferulic acid (TFA)	
DL-Malic acid (MAL)		Triethanolamine (TEA)	
Fumaric acid (FMA)		Umbelliferone (UBF)	

Phenol (PHN)		Vanillin (VNL)	
Glutaric acid (GLT)		α -Naftol ()	
Glycolic acid (GLY)		β -Naftol (NAF)	
Nicotinic acid (NAC)		Malonic acid (MLN)	
Isophthalic acid (IAC)		Mandelic acid (MAN)	

APÊNDICE B – Produção Científica**Artigos Publicados**

1. Bezerra, B. P.; Fonseca, J. C.; Oliveira, Y. S.; Santana, M. S. A.; Silva, K. F.; Araújo, B. S.; Ayala, A. P. Phase transitions in secnidazole: thermal stability and polymorphism studied by X-ray powder diffraction, thermal analysis and vibrational spectroscopy. **Vibrational Spectroscopy**, v.86, p.90-96, 2016.
2. Fonseca, J. C.; Oliveira, Y. S.; Bezerra, B. P.; Ellena, J.; Honda, N. K.; Silva, C. V. N. S.; Santos, N. P. S.; Santos-Magalhães, N. S.; Ayala, A. P. Diffractaic acid: crystalline structure and physicochemical characterization. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v.165, p.26-32, 2016.
3. Honorato, S. B.; Silva, C. C. P.; Oliveira, Y. S.; Mendonça, J. S.; Boechat, N.; Ellena, J.; Ayala, A. P. On the thermal stability of the Diethylcarbamazine-Fortified Table Salt used in the control of Lymphatic Filariasis. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.105, n.8, p.2437-2443, 2016.
4. Nogueira, L. P. P.; Oliveira, Y. S.; Fonseca, J. C.; Costa, W. S.; Raffin, F. N.; Ellena, J., Ayala, A. P. Crystalline structure of the marketed form of Rifampicin: a case of conformational and charge transfer polymorphism. **Journal of Molecular Structure**, v.1155, p.260-266, 2018.
5. Oliveira, Y. S.; Oliveira, A. C.; Ayala, A. P. Mechanochemically induced solid state transformations: the case of raloxifene hydrochloride. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.114, p.146-154, 2018.
6. Bongioanni, A.; Araújo, B. S.; Oliveira, Y. S.; Longhi, M. R.; Ayala, A. P.; Garnero, C. Improving properties of albendazole desmotropes by supramolecular systems with maltodextrin and glutamine acid. **AAPS PharmSciTec**, v.19, n.3, p. 1468-1476, 2018.
7. Miranda, J. A.; Garnero, C.; Chattah, A. K.; Oliveira, Y. S.; Ayala, A. P.; Longhi, M. R. Furosemide:Triethanolamine salt as a strategy to improve the biopharmaceutical properties and photostability of the drug. **Crystal Growth & Design**, 2019. DOI: 10.1021/acs.cgd.8b01556.

Artigos Submetidos

8. Oliveira, Y. S.; Costa, W. S.; Borges, P. F.; Santana, M. S. A.; Ayala, A. P. The Design of Novel Metronidazole Benzoate Structures: exploring stoichiometric diversity. **Acta Crystallographica C**, 2019.
9. Costa, W. S.; Oliveira, Y. S.; Borges, P. F.; Ayala, A. P. The polymorphic interconversions of Metronidazole Benzoate cocrystals. **Crystal Growth & Design**, 2019.
10. Damasceno, M. B. M. V.; Ayala, A. P.; Mendes, F. R. S.; Oliveira, Y. S.; Torres, A. K.; Campos, A.; Santos, S.; Silva, A. R. A. The effect of chitosan demineralization on nanoparticle preparation with Follicle-stimulating hormone by ionotropic gelation. **Current Pharmaceutical Design**, 2019.
11. Santana, M. S. A.; Oliveira, Y. S.; Fonseca, J. C.; Ferreira, W. C.; Neto, V. S.; Ayala, A. P. Stability of Ceftazidime Pentahydrate investigated by Thermal Analysis Techniques. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, 2019.