



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

WENDELL SARAIVA COSTA

POLIMORFISMO EM COCRISTAIS DE BENZOILMETRONIDAZOL

FORTALEZA

2019

WENDELL SARAIVA COSTA

POLIMORFISMO EM COCRISTAIS DE BENZOILMETRONIDAZOL

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre 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)

C876p

Costa, Wendell Saraiva.

Polimorfismo em cocristais de benzoilmetronidazol / Wendell Saraiva Costa. – 2019.

62 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – 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. Benzoilmetronidazol. 2. Cocristais. 3. Polimorfismo. I. Título.

CDD 615

WENDELL SARAIVA COSTA

POLIMORFISMO EM COCRISTAIS DE BENZOILMETRONIDAZOL

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas. Área de concentração: Farmácia. Linha de pesquisa: Biologia para a Saúde.

Aprovada em: __/__/____.

BANCA EXAMINADORA

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

Prof. Dr. Paulo de Tarso Cavalcante Freire
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Roberto Nicolete
Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ)

A Deus.

Aos meus pais, Israelina e Francisco.

Aos meus irmãos, Ricelly e Vandemberg.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida e por me dotar de capacidades física e intelectuais para concluir este trabalho.

Ao Prof. Dr. Alejandro Pedro Ayala, por ter aceitado me orientar, por todos os ensinamentos e sobretudo pela paciência em ensinar um pouco de física para nós, farmacêuticos.

Aos meus pais, Israelina e Francisco, pelo amor que sempre me dedicaram, pelo exemplo que foram para mim e por todos os esforços realizados em prol da minha educação e formação.

Aos meus irmãos, Ricelly e Vandemberg, por terem me ajudado e apoiado nos momentos que mais precisei, generosamente, sem pedir nada em troca.

Ao Felipe, por ter dividido comigo as alegrias e tristezas da pós-graduação, por ter sido o melhor companheiro que alguém podia ter ao longo de tantos anos, por toda sua paciência comigo e pelo carinho e afeto que me deu nos momentos mais difíceis.

À Yara, por ter me apresentado o LabCrEs, por ter sido uma amiga-irmã desde a graduação, por me fazer olhar as coisas de forma mais positiva e pela ajuda constante.

Aos amigos do LabCrEs, por todos os momentos e experiências compartilhadas, pelas discussões científicas (ou não), por toda a paciência para me ensinar/ajudar e por tornar os dias mais divertidos.

À Beatriz, pelas contribuições na qualificação e a disposição para ajudar, inclusive emprestando seu notebook.

À Silmara, por toda a ajuda com os equipamentos e com as análises e também pela amizade.

Aos meus venezuelanos favoritos, Juan e Mayra, pela força e coragem que sempre me deram, pelos momentos de descontração juntos e também de trabalho nos fins de semana.

Aos amigos da graduação, em especial Clarissa e Érika, por quem tenho grande carinho e também muitas saudades.

Aos amigos da pós-graduação, especialmente ao Elias, por compartilharmos a experiência do mestrado e nos ajudarmos sempre que possível, além é claro dos momentos lúdicos.

Ao Maxwilliam, secretário do PPGCF, por toda a disponibilidade, paciência e presteza sempre.

Aos “Legais da cultura”, aos “Sukitas”, aos “Pokefriends” e a todos os demais amigos pelo apoio, pela amizade de sempre, pelos momentos juntos e por torarem essa jornada mais divertida.

Aos professores Dr. Roberto Nicolete e Dr. Paulo de Tarso por terem aceitado fazer parte da banca de dissertação.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, por ter me dado a oportunidade de retornar à academia, pela experiência proporcionada e pelo aprendizado adquirido com seus professores integrantes.

À CAPES, à Funcap e ao CNPq, pelo apoio financeiro concedido que possibilitou a realização deste trabalho.

“Por vezes sentimos que aquilo que fazemos não é senão uma gota de água no mar. Mas o mar seria menor se lhe faltasse uma gota.” Madre Teresa de Calcutá

RESUMO

Benzoilmetronidazol (BZMD) é um éster derivado do metronidazol com propriedades antibacterianas e antiprotozoárias, sendo efetivo no tratamento de tricomoníase, balantidíase, gengivites ulcerativas e de algumas bactérias anaeróbias. Pertence à classe IV do Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB), devido sua baixa solubilidade e permeabilidade. Os cocristais são uma alternativa viável particularmente para fármacos pouco solúveis em água que compõem as classes II e IV do SCB, pois oferecem a oportunidade de modular propriedades físico-químicas, modificando positivamente propriedades biológicas referentes a esses fármacos. Sólidos cristalinos sabidamente podem existir em múltiplas formas, como polimorfos. Cocristais, sólidos multicomponentes, também podem exibir este fenômeno, originando os polimorfos de cocristais, que podem exibir propriedades físico-químicas diferenciadas. O presente trabalho teve por objetivo produzir cocristais a partir de BZMD, utilizando o método de evaporação lenta e ainda caracterizá-los por técnicas estruturais, vibracionais e térmicas. Dois cocristais com duas formas polimórficas cada foram obtidos a partir do BZMD e dos coformadores ácido salicílico (SLC) e ácido fumárico (FMA). As estruturas foram elucidadas com sucesso utilizando-se difração de raios-X de monocristal (DRXM). Além disso, difração de raios-X de pó (DRXP), microscopia óptica (MO), espectroscopia de infravermelho (IV) e análise térmica (AT) foram realizadas para obtenção de máxima informação quanto às estruturas e para compreender a dinâmica de interconversão entre as formas polimórficas dos cocristais. Os cocristais de BZMDSLCL apresentaram polimorfismo de *synthon*, conformacional e de empacotamento, estando relacionados enantiotropicamente. Por outro lado, os cocristais de BZMDFMA foram classificados como polimorfos de *synthon* e conformacionais. O método utilizado mostrou-se eficiente na produção de cocristais de BZMD. As diferenças estruturais e o comportamento termodinâmico das novas estruturas foram compreendidos com o auxílio das técnicas utilizadas. A obtenção de novas formas sólidas a partir de fármacos, bem como sua elucidação e caracterização, é o passo inicial para a obtenção de novos medicamentos.

Palavras-chave: benzoilmetronidazol, cocristais, polimorfismo.

ABSTRACT

Benzoylmetronidazole (BZMD) is an ester derived from metronidazole with antibacterial and antiprotozoal properties, being effective in the treatment of trichomoniasis, balantidiasis, ulcerative gingivitis and some anaerobic bacteria. It belongs to Class IV of the Biopharmaceutical Classification System (BCS), due to its low solubility and permeability. Cocrystals are a feasible alternative particularly for poorly water-soluble drugs that belong to the classes II and IV of BCS, since they offer the opportunity to modulate physicochemical properties, positively modifying biological properties related to these drugs. It is known that crystalline solids can exist in multiple forms, such as polymorphs. Cocrystals, as multicomponent solids, can exhibit this phenomenon, originating polymorphs of cocrystals, which may exhibit different physicochemical properties. This work aimed to produce cocrystals from BZMD using slow evaporation methodology and characterized them by structural, vibrational and thermal techniques. Two polymorphs with two polymorphic forms each were obtained from the BZMD and the cofomers salicylic acid (SLC) and fumaric acid (FMA). The structures were successfully elucidated using single-crystal X-ray diffraction (SCXRD). In addition, X-ray powder diffraction (XRPD), optical microscopy (OM), infrared spectroscopy (IR) and thermal analysis were performed in order to obtain maximum information about the structures and to understand the dynamics of interconversion between the polymorphic forms of the cocrystals. The BZMDSLc cocrystals presented synthon, conformational and packing polymorphism, enantiotropically related. On the other hand, the BZMDFMA cocrystals were classified as synthon and conformational polymorphs. The methodology used proved to be efficient in the obtainment of BZMD cocrystals. The structural differences and the thermodynamic behavior of the new structures were investigated with the aid of the analytical techniques used. The obtaining of new solid forms from drugs, as well as their elucidation and characterization is the initial step to obtain new drugs.

Keywords: benzoylmetronidazole, cocrystals, polymorphism.

LISTA DE FIGURAS I

Figura 1 – Representação esquemática da estrutura molecular do benzoilmetronidazol	16
Figura 2 – Figura esquemática mostrando diferentes formas sólidas possíveis para um IFA	21
Figura 3 – Representação esquemática de um sistema polimórfico	22
Figura 4 – Representação de (a) <i>homosynthon</i> e (b) <i>heterosynthon</i> supramoleculares	23
Figura 5 – Representação esquemática de polimorfos de cocristais	25

LISTA DE FIGURAS II

Figura 1 – Metronidazole Benzoate and the cocrystal formers	31
Figura 2 – ORTEP representation of the asymmetric unit of BZMDSLCL cocrystals	35
Figura 3 – Crystalline habits of polymorphs of cocrystals BZMDSLCL. (a) form I (b) form II	36
Figura 4 – Overlap of the BZMD molecules from BZMDSLCL polymorph I (red) and II (green)	36
Figura 5 – Crystal packing of polymorphs BZMDSLCL along c-axis. (a) form I (b) form II	37
Figura 6 – Hirshfeld surfaces and 2D-fingerprints of the BZMD molecules in the polymorphs I and II of BZMDSLCL	38
Figura 7 – ORTEP representation of the asymmetric unit of BZMDFMA cocrystals	39
Figura 8 – Crystalline habits of polymorphs of cocrystals BZMDFMA. (a) form I (b) form II	40
Figura 9 – Overlap of the BZMD molecules from BZMDFMA polymorph I (blue) and II (orange)	40
Figura 10 – Crystal packing of polymorphs BZMDFMA. (a) form I (along c-axis) (b) form II (along a-axis)	41
Figura 11 – Hirshfeld surfaces and 2D-fingerprints of the BZMD molecules in the polymorphs I and II of BZMDFMA	42
Figura 12 – Differential scanning calorimetry curves of BZMDSLCL-I (a) and (b) and BZMDSLCL-II (c) and (d), at 1 °C. min ⁻¹ . The curves were vertically translated for clarity	43
Figura 13 – X-ray powder diffraction patterns of (a) BZMDSLCL-I, after (30 – 130 – 30 – 90 – 30 °C) cycles in DSC (b) BZMDSLCL-I, after (30 – 130 – 30 °C) cycles in DSC (c) BZMDSLCL-I before DSC cycles (experimental), (d) BZMDSLCL-I, (e) BZMDSLCL-II, (f) SLC and (g) BZMD (all calculated) ...	44

Figura 14 – Differential scanning calorimetry curves of (a) BZMDFMA-I (b) BZMDFMA-II (both on the first heating) and (c) BZMDFMA-I and (d) BZMDFMA-II (both on the second heating), at 1 °C. min ⁻¹ . The curves were vertically translated for clarity	45
Figura 15 – X-ray powder diffraction patterns of (a) BZMDFMA-I, after (30 – 130 – 30 – 100 – 30 °C) cycles in DSC (b) BZMDFMA-I, after (30 – 130 – 30 °C) cycles in DSC (c) BZMDFMA-II after (30 – 130 – 30 °C) DSC cycles (experimental), (d) BZMDFMA-I, (e) BZMDFMA-II, (f) FMA and (g) BZMD (all calculated)	46
Figura S1 – Synthons and graph sets of polymorphs I and II of BZMDSLCLC	52
Figura S2 – Synthons and graph sets of polymorphs I and II of BZMDFMA	53
Figura 16 – Espectros de Infravermelho (FT-IR) do BZMD (preto), BZMDSLCLC-I (vermelho), BZMDSLCLC-II (verde) e SLC (azul)	54
Figura 17 – Espectros de Infravermelho (FT-IR) do BZMD (preto), BZMDFMA-I (azul), BZMDFMA-II (laranja) e FMA (rosa)	55

LISTA DE TABELAS I

Tabela 1 – Dados cristalográficos das formas cristalinas reportadas para BZMD	19
---	----

LISTA DE TABELAS II

Tabela S1 – Crystal data and refinement parameters of BZMDSL C polymorphs I and II	50
Tabela S2 – Hydrogen-bonds of polymorphs I and II of BZMDSL C	50
Tabela S3 – Crystal data and refinement parameters of BZMDFMA polymorphs I and II	51
Tabela S4 – Hydrogen-bonds of polymorphs I and II of BZMDFMA	51

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
BZMD	Benzoilmetronidazol
DRXM	Difração de raios-x de monocristal
DRXP	Difração de raios-x de pó
DSC	Calorimetria Exploratória Diferencial
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
FMA	Ácido fumárico
IFA	Ingredientes Farmacêuticos Ativos
IR	Infravermelho
MO	Microscopia óptica
SCB	Sistema de Classificação Biofarmacêutica
SLC	Ácido salicílico
SQR	Substância química de referência
TG	Termogravimetria

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA	16
2 OBJETIVOS	18
2.1 Objetivo Geral	18
2.2 Objetivos Específicos	18
3 REFERENCIAL TEÓRICO	19
3.1 Benzoilmetronidazol	19
3.2 Formas sólidas e suas aplicações no campo farmacêutico	20
3.3 Polimorfismo de fármacos	22
3.4 Cocristais farmacêuticos	23
3.5 Polimorfismo de cocristais	24
3.6 Métodos de Cocrystalização	25
4 METODOLOGIA	27
4.1 Matéria-prima e reagentes	27
4.2 Síntese dos cocristais	27
4.3 Caracterização das estruturas cristalinas	27
4.3.1 Microscopia óptica	27
4.3.2 Espectroscopia Vibracional	28
4.3.4 Difração de raios-X de Monocristal	28
4.3.5 Análise Térmica	28
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
5.1 Manuscrito “The polymorphic interconversions of Metronidazole Benzoate cocrystals”	29
5.2 Análise Vibracional	54
5.2.1 Polimorfos de cocristais de BZMDSL C	54
5.2.1 Polimorfos de cocristais de BZMDFMA	55
6 CONCLUSÕES GERAIS	56
REFERÊNCIAS	57
APÊNDICE A – Lista de agentes coformadores utilizados	61
APÊNDICE B - Crystalline structure of the marketed form of Rifampicin: a case of conformational and charge transfer polymorphism	62

1 INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

Benzoilmetronidazol (BZMD), representado na Figura 1, é um éster derivado do metronidazol e seu nome químico é 1-Benzoato de 2-metil-5-nitro-1H-imidazol-1-etanol (ALI; CHAUDHARY; TAKIEDDIN, 1999; BRASIL, 2010). Pertence à classe dos derivados nitroimidazóis com propriedades antibacterianas e antiprotozoárias, sendo efetivo no tratamento de tricomoníase, balantidíase, gengivites ulcerativas e de algumas bactérias anaeróbias (AL KHAFABI e AL-BAYATI, 2017).

O Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB) classifica os fármacos em quatro classes, levando em consideração sua solubilidade e sua permeabilidade. Devido à baixa solubilidade em água ($0,2 \text{ mg.mL}^{-1}$) e à baixa permeabilidade, o BZMD pertence à classe IV. Uma vez que possui características físico-químicas desfavoráveis, o BZMD apresenta potenciais problemas farmacocinéticos.

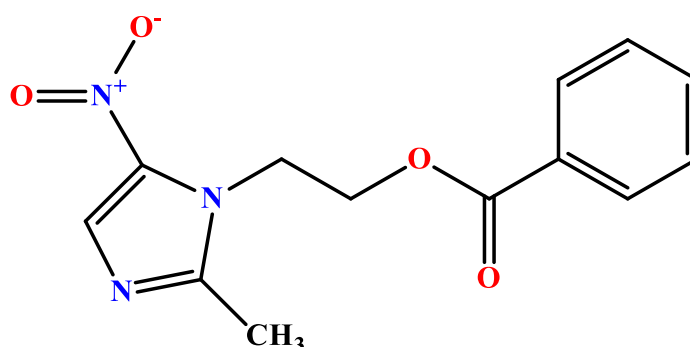


Figura 1 - Representação esquemática da estrutura molecular do benzoilmetronidazol.

Nas últimas décadas, diversas estratégias têm sido utilizadas pela indústria farmacêutica a fim de contornar o problema da baixa solubilidade, uma vez que é um fator determinante para a liberação e absorção de um fármaco, com extrema importância para a sua biodisponibilidade (AUNGST, 2017). As estratégias incluem a redução do tamanho das partículas, o uso de sais, a triagem de polimorfos, a obtenção de cocristais, solvatos, hidratos ou ainda a obtenção de sólidos amorfos (WILLIAMS *et al.*, 2013).

Os cocristais são uma alternativa viável particularmente para fármacos pouco solúveis em água que compõem as classes II e IV do sistema de classificação biofarmacêutica (CHAVDA; PATEL; ANAND, 2010), pois oferecem a oportunidade de modular propriedades físico-químicas, modificando positivamente propriedades biológicas referentes aos fármacos,

tais como solubilidade e permeabilidade, com reflexos em termos de biodisponibilidade (DALPIAZ; PAVAN; FERRETTI, 2017).

Sólidos multicomponentes, como os cocrystalis, também são conhecidos por exibirem polimorfismo, o que pode afetar sua região de estabilidade (AITIPAMULA; CHOW; TAN, 2014). Transições de fase polimórfica em sólidos têm implicações diretas na eficácia terapêutica e estabilidade de medicamentos (EHIWE *et al.*, 2016). É importante investigar rigorosamente todas as formas polimórficas de um IFA, seu comportamento de interconversão e suas propriedades físico-químicas para a seleção da forma sólida adequada para um fármaco (THAKURIA; THAKUR, 2017), pois a alteração do polimorfo pode afetar as propriedades do volume, higroscopicidade e taxa de dissolução (DU *et al.*, 2015; THAKRAL *et al.*, 2018).

A proposta deste trabalho é estudar a existência de polimorfismo em cocrystalis obtidos a partir do Benzoilmetronidazol. Dentre os motivos pelos quais o BZMD foi o fármaco escolhido para este estudo, podemos citar sua estrutura que, composta por grupo éster, grupo nitro e anel imidazol, o torna um forte candidato à obtenção de cocrystalis e, possivelmente, formas polimórficas desses cocrystalis. Outro motivo reside no fato de que nenhum cocrystal havia sido reportado na literatura para este fármaco, até o presente estudo. Dessa forma, a obtenção e o entendimento de novos cocrystalis e seus polimorfos, considerando as deficiências físico químicas dessa molécula (classe IV do SCB), trazem significativas contribuições.

Para uma melhor compreensão das estruturas, técnicas de caracterização como microscopia óptica (MO), difração de raios-x de pó (DRXP) e de monocristal (DRXM), espectroscopia infravermelho (IR) e análise térmica foram empregadas.

A obtenção de novas formas sólidas a partir de fármacos, bem como sua elucidação e caracterização, é o passo inicial para a obtenção de novos medicamentos. Pesquisas que visem mensurar solubilidade, dissolução, biodisponibilidade e eficácia são essenciais para a continuidade do processo.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Estudar o polimorfismo em cocristais de benzoilmetronidazol.

2.2 Objetivos Específicos

- Produzir cocristais a partir do benzoilmetronidazol.
- Caracterizar os cocristais através de técnicas estruturais, espectroscópicas, microscopia e de análise térmica.
- Estudar as relações entre os polimorfos de cocristais obtidos.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Benzoilmetronidazol

Benzoilmetronidazol (BZMD) é um éster derivado do metronidazol e seu nome químico é 1-benzoato de 2-metil-5-nitro-1*H*-imidazol-1-etanol (ALI; CHAUDHARY; TAKIEDDIN, 1999; BRASIL, 2010). Pertence à classe dos derivados nitroimidazóis com propriedades antibacterianas e antiprotozoárias, sendo efetivo no tratamento de tricomoníase, balantidíase, gengivites ulcerativas e de algumas bactérias anaeróbias (AL KHAFAJI e AL-BAYATI, 2017). O uso veterinário deste fármaco também é reportado na literatura para o tratamento de giardíase em cães e gatos (SCORZA e LAPPIN, 2004).

Suspensões de benzoilmetronidazol são mais usadas quando comparadas as de metronidazol (base livre), sobretudo em formulações pediátricas. Isso se deve ao sabor mais aceitável do BZMD quando comparado ao sabor amargo do metronidazol (BEMPONG *et al.*, 2005). Algumas informações gerais sobre o BZMD, bem como algumas propriedades físicas descritas por Bempong e colaboradores (2005), Caira, Nassimbeni e Van Oudtshoorn (1993) e Da Silva e colaboradores (2016), foram sintetizadas no Quadro 1.

Quadro 1 – Informações gerais e propriedades físicas do benzoilmetronidazol.

Informações gerais	
Fórmula estrutural	$C_{13}H_{13}N_3O_4$
Peso molecular	275,26 g.mol ⁻¹
Solubilidade em meios biorrelevantes (37 °C)	0,2 mg.mL ⁻¹ (água) 0,4 mg.mL ⁻¹ (HCL 0,01M) 0,2 mg.mL ⁻¹ (tampão fosfato, pH 6,8)
Ponto de fusão	99 – 102 °C
Biodisponibilidade	Aproximadamente 80%

O Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB) classifica os fármacos em quatro classes, levando em consideração sua solubilidade e sua permeabilidade. Devido à baixa solubilidade em água e à baixa permeabilidade, o BZMD pertence à classe IV. 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).

Em relação à forma cristalina, o BZMD pode existir nas formas anidras e monoidratada, com solubilidade e propriedades diferentes. Há relatos de polimorfos da forma anidra, porém não há registros a respeito da forma amorfa (CAIRA; NASSIMBENI; VAN OUDTSHOORN, 1993; (DA SILVA, 2014). Apesar dessas formas cristalinas estarem presentes na literatura, nenhuma figura no banco de dados *Cambridge Structural Database* (CSD). Os parâmetros cristalográficos para as estruturas de BZMD, nas formas anidra e monoidratada, determinadas por Caira, Nassimbeni e Van Oudtshoorn (1993) podem ser visualizados na Tabela 1.

Tabela 1 – Dados cristalográficos das formas cristalinas reportadas para BZMD.

Parâmetros	BZMD anidro	BZMD monoidratado
Fórmula molecular	C ₁₃ H ₁₃ N ₃ O ₄	C ₁₃ H ₁₃ N ₃ O ₄ ·H ₂ O
Peso molecular (mg.mol ⁻¹)	275,26	293,28
Grupo espacial	P $\bar{1}$	P $\bar{1}$
Cela unitária	$a = 6,649(2) \text{ \AA}$ $b = 8,666(1) \text{ \AA}$ $c = 11,940(3) \text{ \AA}$ $\alpha = 76,70(2)^\circ$ $\beta = 76,72(2)^\circ$ $\gamma = 87,56(2)^\circ$	$a = 7,544(1) \text{ \AA}$ $b = 7,990(1) \text{ \AA}$ $c = 12,329(4) \text{ \AA}$ $\alpha = 94,33(2)^\circ$ $\beta = 97,40(2)^\circ$ $\gamma = 101,36(1)^\circ$
Volume (Å ³)	651,6(3)	718,6(3)
Z	2	2

Fonte: Adaptação de Caira, Nassimbeni e Van Oudtshoorn (1993).

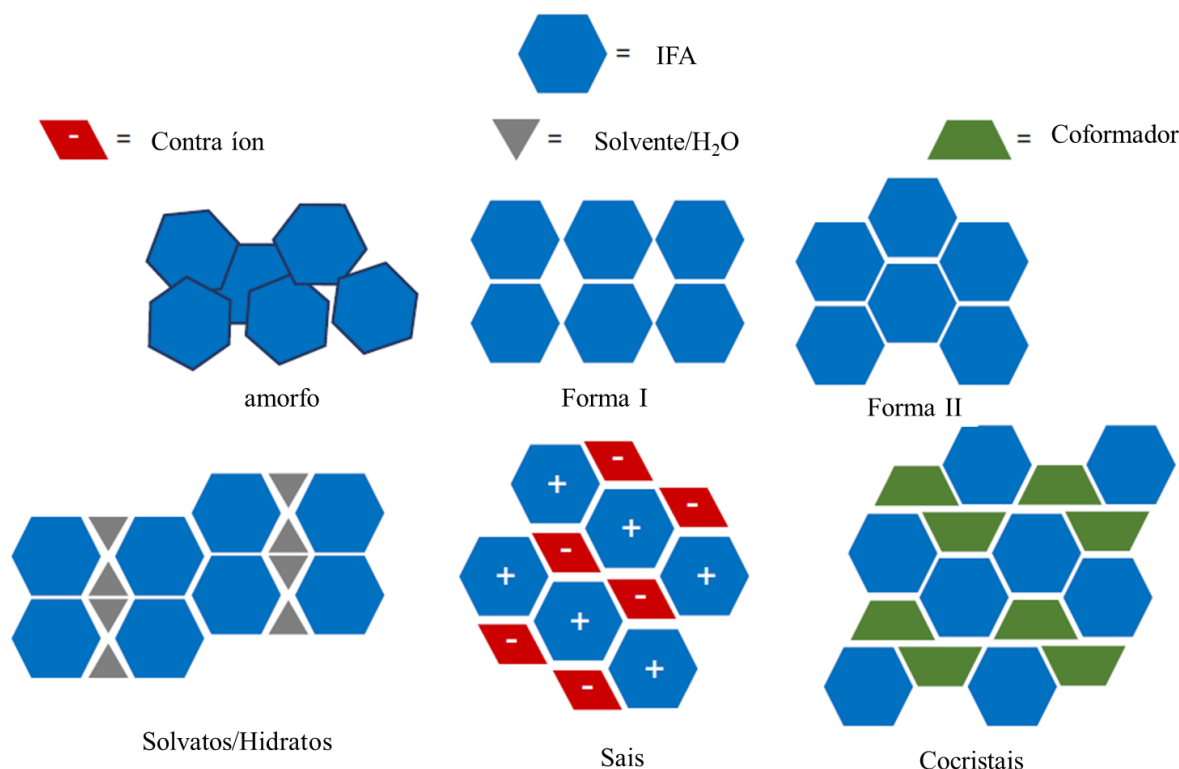
3.2 Formas sólidas e suas aplicações no campo farmacêutico

De acordo com Couillaud e colaboradores (2018), mais de 80% dos medicamentos encontram-se no estado sólido por razões como uma maior estabilidade da formulação e uma maior facilidade de armazenamento e manuseio durante o processo de desenvolvimento de medicamentos.

Na maioria dos casos, os sólidos farmacêuticos apresentam propriedades como ponto de fusão elevado e baixa solubilidade. Portanto, a solubilidade dos fármacos é um dos principais desafios para as pesquisas na indústria farmacêutica, uma vez que se precisa garantir a eficiência terapêutica, reduzir a toxicidade e otimizar o custo de produção (COUILLAUD *et al.*, 2018).

Ingredientes Farmacêuticos Ativos (IFAs) podem existir em mais de uma forma cristalina estável, ou em uma forma instável amorfa (Figura 2) (DOUROUMIS e NOKHODCHI, 2017). A aplicação de estratégias com o intuito de obter novas formas sólidas tem se mostrado uma alternativa viável no contexto farmacêutico e esse interesse tem levado a agência americana FDA (*Food and Drug Administration*) e a ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) a elaborar documentos com a finalidade de fornecer uma melhor orientação em termos de regulamentação (BRASIL, 2017; FDA, 2018).

Figura 2 – Figura esquemática mostrando diferentes formas sólidas possíveis para um IFA.



Fonte: Adaptado de Vioglio, Chierotti e Gobetto (2017).

Recentemente, novas estratégias baseadas na reformulação têm sido utilizadas para melhorar a eficácia desses fármacos, os quais não possuem perfil farmacocinético e biodistribuição adequados. Usualmente, estes métodos seguem diferentes filosofias, já que a

dissolução de uma molécula requer a modificação da fase sólida para reduzir sua energia da rede cristalina ou a modificação da estrutura molecular e/ou cristalina para enfraquecer as ligações de hidrogênio intermoleculares (AUNGST, 2017).

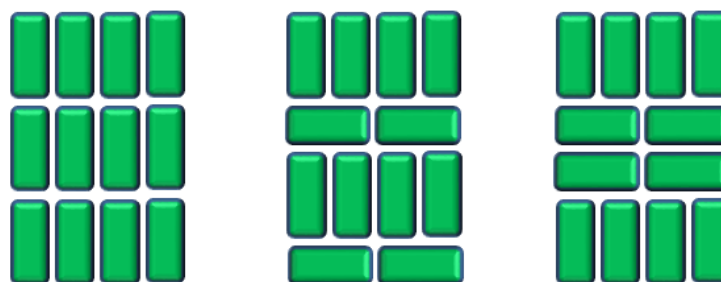
As estratégias para melhorar e maximizar a velocidade de dissolução, contempladas pelo estado sólido, incluem a redução do tamanho das partículas, o uso de sais, a triagem de polimorfos, a obtenção de cocristais, solvatos, hidratos ou ainda de sólidos amorfos (WILLIAMS *et al.*, 2013). Embora estas técnicas tenham se mostrado eficazes para aumentar a biodisponibilidade oral, o sucesso das mesmas é às vezes dependente da natureza físico-química específica das moléculas alvo (AL-KASSAS; BANSAL; SHAW, 2017).

Muito embora cada uma das formas estudadas pelo estado sólido possa modificar as propriedades físicas dos IFAs e oferecer benefícios, os polimorfos e os cocristais receberão uma ênfase especial, uma vez que as novas formas sólidas obtidas no presente estudo estão compreendidas nestas categorias.

3.3 Polimorfismo de fármacos

O polimorfismo é a habilidade de uma substância existir em, pelo menos, duas formas cristalinas diferentes, com a mesma constituição química, mas diferentes arranjos espaciais (HILFIKER, 2006). Outros autores definem como o resultado da competição entre as interações energeticamente similares que existem durante o crescimento de cristais que geram diferentes *synthons* supramoleculares (GONNADE e SANGTANI, 2017). A representação esquemática de um sistema polimórfico, com três formas polimórficas, pode ser vista na figura 3.

Figura 3 – Representação esquemática de um sistema polimórfico.



Diferentes polimorfos podem apresentar diferentes propriedades físico-químicas, tais como ponto de fusão, taxa de dissolução e solubilidade. Essas propriedades são de grande

interesse para a indústria farmacêutica, uma vez que podem afetar significativamente a biodisponibilidade e o tempo de meia-vida dos fármacos (ZHOU *et al.*, 2018).

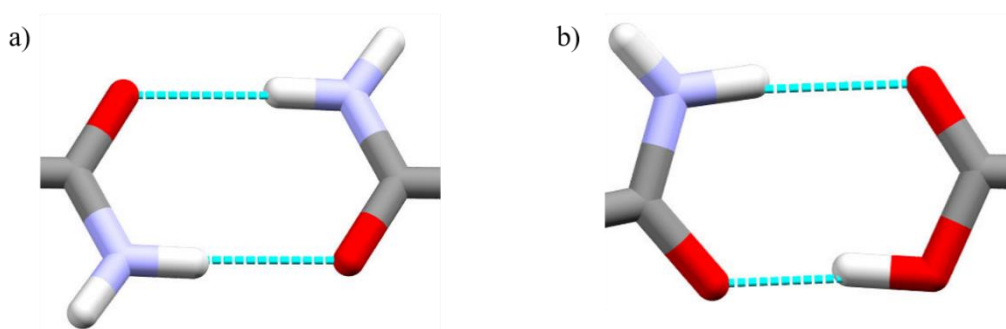
As transformações polimórficas são de considerável interesse, especialmente no que concerne a fármacos, uma vez que transformações inesperadas entre diferentes polimorfos de um mesmo fármaco podem ocorrer durante o processamento ou armazenamento, podendo ocasionar falhas no produto final (DOUROUMIS; NOKHODCHI, 2017; GAO *et al.*, 2017).

Diversos fármacos têm sido alvo de pesquisas e de triagem de polimorfos. Dentre os fármacos que exibem polimorfismo, pode-se citar casos clássicos como o do anticonvulsivante carbamazepina, com cinco polimorfos da sua forma anidra conhecidos (HARRIS *et al.*, 2005), ou ainda dos anti-inflamatório indometacina (VAN DUONG *et al.*, 2018) e ácido mefenâmico (ABBAS; OSWALD; PULHAM, 2017), do antiulceroso famotidina (LIN, 2014), entre tantos outros.

3.4 Cocristais farmacêuticos

Cocristais são sólidos cristalinos neutros constituídos por dois ou mais componentes geralmente em quantidades estequiométricas (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).

Figura 4 – Representação de (a) *homosynthon* e (b) *heterosynthon* supramoleculares.



Fonte: ConQuest 1.20 e Mercury 3.10[®]

Os *synthons* supramoleculares são formados por grupos ou porções das moléculas que são responsáveis pelo reconhecimento supramolecular e pelo estabelecimento de interações fracas, como as ligações de hidrogênio. O estudo dos *synthons* supramoleculares é bastante útil, pois permite uma certa previsibilidade na obtenção de novas estruturas cristalinas *by design*.

(DESIRAJU, 1995; DESIRAJU, 2010). A depender da composição dos grupos envolvidos no reconhecimento supramolecular, os *synthons* podem ser classificados como *homosynthons*, quando é composto por grupos funcionais complementares idênticos, ou *heterosynthons*, formado por grupos funcionais diferentes, mas ainda assim complementares (ALMARSSON; PETERSON; ZAWOROTKO, 2012) (Figura 4).

Nos últimos anos, o interesse por cocristais farmacêuticos tem aumentado significativamente. Eles são particularmente atrativos porque são projetados (*by design*) para ter propriedades melhoradas quando comparado às moléculas precursoras (KARIMI-JAFARI *et al.*, 2018). Gonnade e Sangtani (2017) fizeram uma listagem com mais de 30 fármacos que possuem a estrutura de seus cocristais depositadas na base de dados de Cambridge (CSD), entretanto o número total encontrado na literatura é ainda maior.

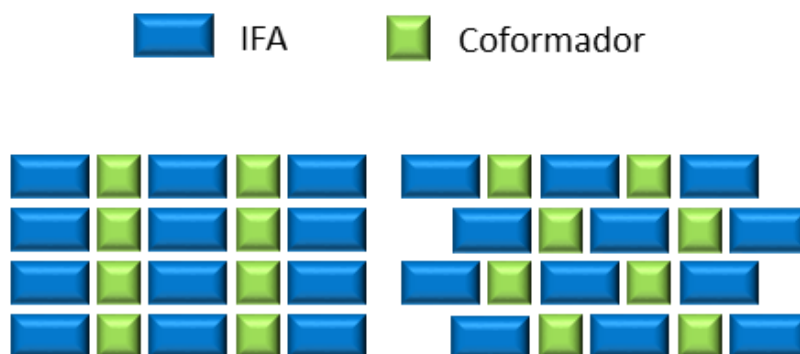
Os cocristais são uma alternativa viável particularmente para fármacos pouco solúveis em água que compõem as classes II e IV do sistema de classificação biofarmacêutica (CHAVDA; PATEL; ANAND, 2010), pois oferecem a oportunidade de modular propriedades físico-químicas, modificando positivamente propriedades biológicas referentes aos fármacos, tais como solubilidade e permeabilidade, com reflexos em termos de biodisponibilidade (DALPIAZ; PAVAN; FERRETTI, 2017).

3.5 Polimorfismo de cocristais

Durante o desenvolvimento de cocristais, eventuais formas polimórficas desses cocristais podem existir. Por esse motivo, esforços são feitos no sentido de identificar e caracterizar estas formas, uma vez que podem apresentar diferentes propriedades físico-químicas entre si (KARAGIANNI; MALAMATARI; KACHRIMANIS, 2018).

Tradicionalmente o polimorfismo era um fenômeno observado em sólidos monocomponentes e raramente visto nos sólidos multicomponentes (como cocristais), sendo sugerido inclusive que a cocrystalização era usada para “prevenir” o polimorfismo. Entretanto, diversos polimorfos de cocristais podem ser encontrados na base de dados de Cambridge (CSD) (KARAGIANNI; MALAMATARI; KACHRIMANIS, 2018). Para citar um exemplo recente, Prohens e colaboradores (2016) conseguiram obter nove novos cocristais a partir do antidepressivo agomelatina. Dentre as novas estruturas, duas delas apresentavam polimorfismo. A representação esquemática de polimorfos, desta vez em cocristais (sólidos multicomponentes), pode ser vista na figura 5.

Figura 5 – Representação esquemática de polimorfos de cocristais.



Fonte: Adaptado de Aitipamula, Chow e Tan (2014).

Os polimorfos de cocristais podem ser divididos em quatro diferentes tipos: polimorfismo de *synthon*, conformacional, empacotamento e tautomérico. É importante saber que um sistema polimórfico pode pertencer a uma ou mais diferentes classes. Polimorfos que diferem nos motivos ou nos *synthons* de ligações de hidrogênio primárias podem ser classificados como polimorfos de *synthons*. Moléculas que têm a capacidade de formar múltiplas ligações de hidrogênio parecem ser mais propensas a exibir polimorfismo de *synthon*. (AITIPAMULA; CHOW; TAN, 2014). No polimorfismo conformacional de cocristais existe a ocorrência de diferentes conformações moleculares em diferentes polimorfos. Em geral, moléculas flexíveis com vários graus de liberdade de torção e de baixa energia são mais propensas ao este tipo de polimorfismo. (AITIPAMULA; CHOW; TAN, 2014). Já os de empacotamento diferem quanto ao empacotamento cristalino tridimensional, sendo mais comum para moléculas totalmente rígidas ou moléculas com fraca flexibilidade conformacional (AITIPAMULA; CHOW; TAN, 2014). Finalmente, os tautoméricos ocorrem quando diferentes tautômeros de um composto cristalizam em diferentes formas cristalinas, uma vez que tautômeros que interconvertem entre si em solução ou por fusão são considerados o mesmo composto químico (AITIPAMULA; CHOW; TAN, 2014).

3.6 Métodos de Cocrystalização

As formas sólidas mencionadas na seção 3.2 (solvatos, hidratos, sais, polimorfos e cocristais) podem ser obtidas por uma grande variedade de métodos. Dependendo do método utilizado, a obtenção de uma determinada forma sólida pode ser mais favorecida em detrimento de outra (EL-YAFI; EL-ZEIN, 2015).

Para a obtenção de cocristais, particularmente, os métodos clássicos de evaporação lenta, *slurry* e moagem (com ou sem adição de solventes) são amplamente utilizados. Além destes, métodos de cristalização por fusão, *spray drying*, ou ainda os que usam tecnologia de fluidos supercríticos e irradiação a laser têm sido as últimas tendências (BARIKAH, 2018).

A evaporação lenta é o método mais usado para a obtenção de cocristais, sendo o método utilizado no presente estudo. Neste método, o IFA e o agente coformador, em quantidades estequiométricas, são dissolvidos em solvente (ou mistura de solventes) específicos sob agitação constante, a fim de favorecer a interação entre as moléculas presentes no sistema. Após essa etapa, a evaporação do solvente, se obtiver sucesso, levará à cristalização. A principal condição para este método é que ambos, IFA e coformador, sejam solúveis no solvente de escolha. Caso contrário, o menos solúvel irá precipitar, levando à formação de uma mistura sólida com os cocristais formados, ou até mesmo haverá insucesso na formação dos cocristais (BARIKAH, 2018).

4 METODOLOGIA

4.1 Matéria-prima e reagentes

O benzoilmetronidazol utilizado trata-se de uma substância química de referência (SQR) da Farmacopéia Brasileira, cedido pelo Centro de Desenvolvimento e Ensaios Farmacêuticos (CEDEFAR). Os agentes coformadores utilizados foram adquiridos da Sigma-Aldrich e Vetec e os solventes eram de grau analítico, que pertenciam a esta última marca.

4.2 Síntese dos cocristais

O método de crescimento empregado foi a evaporação lenta, utilizando-se as proporções de 1:1 e 1:2 (fármaco:coformador) nos ensaios. Nesse método, fármaco e coformador foram completamente dissolvidos em solvente adequado (etanol) após agitação e, posteriormente, os frascos foram mantidos à temperatura ambiente até a completa evaporação do solvente. O solvente de escolha foi o etanol, uma vez que o fármaco e IFA apresentam alta solubilidade neste solvente.

Os cocristais obtidos serão nomeadas de acordo com um código, onde as quatro primeiras letras serão compostas pelo fármaco benzoilmetronidazol (BZMD), e as três letras subsequentes dizem respeito ao coformador.

4.3 Caracterização das estruturas cristalinas

Os cocristais obtidos foram caracterizados utilizando-se as técnicas que seguem: microscopia óptica (MO), espectroscopia vibracional (Infravermelho), difração de raios-x de monocristal (DRXM), difração de raios-x de pó (DRXP) e análise térmica (DSC/TG).

4.3.1 Microscopia óptica

Os cristais foram colocados em uma lâmina e examinados com um microscópio óptico Leica (Modelo DM, 2500P) acoplado a uma câmera Q Imaging (modelo fast 1394), onde foi possível verificar o hábito cristalino. O software Q capture foi utilizado para a captura das imagens.

4.3.2 Espectroscopia Vibracional

Para caracterizar dos cocristais utilizaram-se espectros de infravermelho médio, sendo as análises 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.

4.3.4 Difração de raios-X de Monocristal

Foram selecionados monocristais para a cristalografia utilizando-se um microscópio óptico. As medidas foram realizadas, em temperatura ambiente, em difratômetro Bruker D8 Venture equipado com fonte monocromática de Mo K α ($\lambda = 0.71073 \text{ \AA}$) e um detector Photon II Kappa CMOS. As imagens obtidas foram integradas com o pacote do software Bruker SAINT (v8.34A). Os dados foram corrigidos por absorção usando o método “Multi-Scan”. As estruturas foram resolvidas usando a interface Olex2, integrado ao *software* ShelXT 3 (usado para resolução) e refinadas com o pacote ShelXL 4. Olex2 foi usado também para gerar os CIFs (*Crystallographic Information Files*) das estruturas.

A difração de raios-x de pó foi realizada utilizando-se o difratômetro de monocristal, à temperatura ambiente, equipado com fonte monocromática de Cu K α ($\lambda = 1.54178 \text{ \AA}$) e um detector Photon II Kappa CMOS. As leituras foram feitas com o ângulo 2θ variando entre 5° e 50° com a posterior integração dos anéis de Debye.

4.3.5 Análise Térmica

As curvas DSC foram registrados com um equipamento Netzsch Maia 200 F3. As amostras (5 mg) foram colocadas em cadinhos de alumínio com tampas perfuradas, enquanto um cadinho vazio, com mesmo tratamento, foi utilizado como referência. Diversos ciclos de resfriamento/aquecimento, em diversas faixas de temperatura, foram analisados com taxas de $1 \text{ K}\cdot\text{min}^{-1}$. Os sensores e os cadinhos foram mantidos sob um constante fluxo de nitrogênio.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Este capítulo será apresentado em duas seções. A primeira seção contém o manuscrito “*The polymorphic interconversions of Metronidazole Benzoate Cocrystals*” submetido ao *Journal Crystal Growth & Design*. O artigo reporta dados inéditos sobre a elucidação estrutural de quatro polimorfos de cocristais, a saber: BZMDSL-C-I, BZMDSL-C-II, BZMDFMA-I e BZMDFMA-II. O artigo contém ainda a investigação do comportamento térmico dos polimorfos de cocristais, concluindo-se o estabelecimento de uma relação enantiotrópica tanto nos polimorfos BZMDSL-C quanto nos BZMDFMA. A segunda seção contém resultados de análise vibracional, não incluídos no manuscrito supracitado, para os polimorfos em estudo.

5.1 Manuscrito “The polymorphic interconversions of Metronidazole Benzoate cocrystals”

The polymorphic interconversions of Metronidazole Benzoate cocrystals

Wendell Saraiva Costa[‡], Yara Santiago de Oliveira[‡], Poliana Ferreira Borges[†], Alejandro Pedro Ayala^{§}*

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

[†] Department of Chemical Engineering. Federal University of Ceará. Fortaleza, Ceará, Brazil.

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

ABSTRACT

Active Pharmaceutical Ingredients (APIs) are solids that can be classified into crystalline and amorphous based on the presence or absence of long-range order. Crystalline solids are known to exist in multiple forms as polymorphs, and cocrystals also known to exhibit this phenomenon. Polymorphic forms can show differences in their physicochemical as well as biological properties, such as bulk properties, hygroscopicity and dissolution rate. Therefore, analytical techniques can be employed in order to investigate and identify with accuracy the suitable form used in pharmaceutical formulations, providing full characterization and

monitoring the interconversion behavior between the existing forms. This work reports two cocrystals with two polymorphs each obtained from the Benzoylmetronidazole (BZMD) and the cofomers salicylic acid (SLC) and fumaric acid (FMA). The structures were successfully elucidated using Single crystal X-ray diffraction (SCXRD) and in addition, powder X-ray diffraction (PXRD) and Optical Microscopy (OM) were performed in order to obtain maximum information regarding the structures as well as thermal analysis to understand the interconversion dynamics between the polymorphic forms of the cocrystals.

Keywords: metronidazole benzoate, cocrystal, polymorphism.

* To whom correspondence should be addressed.

e-mail: ayala@fisica.ufc.br

Phone: +55 85 3366 9009

FAX +55 85 3366 9450

1. INTRODUCTION

Active Pharmaceutical Ingredients (APIs) are preferably administered as solids, representing 80% of the formulated drugs. This is due to the ease of handling, their higher physicochemical stability over a solution or semisolid formulation, which contributes with storage facility. Solids can be classified into crystalline and amorphous based on the presence or absence of long-range order. Crystalline solids (both single and multicomponent) are known to exist in multiple forms. These forms have the same chemical composition but different molecular arrangements in the crystal lattice and are known as polymorphs¹, which show variations in their physicochemical as well as biological properties^{2, 3}. The definition of polymorphism is well established in the literature⁴⁻⁸.

It should be noted that multicomponent solids, such as cocrystals, are also known to exhibit polymorphism, which may affect their region of stability⁴. Polymorphic phase transitions in solids have direct implications on the therapeutic effectiveness and stability of drug products⁹. There are numerous factors that can induce a phase transition in solids such as temperature, pressure, humidity, particle size, impurities, and crystal defects. The most

commonly observed solid-solid transitions include the transformations between crystalline and amorphous phases and between polymorphs^{6, 10}.

It is important to rigorously investigate all the polymorphic forms of an API, their interconversion behavior, and their physicochemical properties for the selection of the suitable solid form for a drug product¹⁰, because changing the polymorph can affect bulk properties, hygroscopicity and dissolution rate^{11, 12}. In this sense, it is imperative to provide evidences of the control of the ideal polymorphic form, proving its quality, safety and performance through the use of different analytical techniques, such as single crystal X-ray diffraction (SCXRD), powder X-ray diffraction (PXRD), vibrational spectroscopy, thermal analysis, stability studies, solubility and dissolution profiles^{2, 13}. According Aitipamula and coworkers the polymorphs of cocrystals are divided into four types: synthon, conformational, packing and tautomeric polymorphs⁴.

Polymorphism is widely prevalent in pharmaceutical solids. About 50% of known drug compounds are known to be polymorphic¹⁰, and over 50% are estimated to have more than one polymorphic form¹³. An analysis on the Cambridge Structural Database (CSD) showed the prevalence of crystal polymorphism among structurally characterized materials. These structures were classified into subclasses, including the one containing the cocrystals. It was verified that, as a percentage, polymorphic entries are decreasing temporally within the CSD, with the notable exception of cocrystals, that appear to be the most likely crystal type to show polymorphism¹⁴.

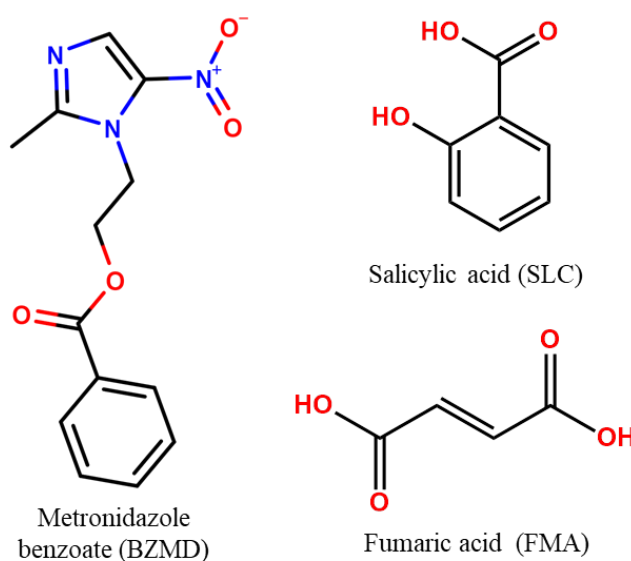


Figure 1 - Metronidazole Benzoate and the Cocrystal Formers.

The crystal kinetic nucleation, molecular recognition and crystal growth are fundamental steps to understand how to produce different polymorphs and to elaborate rational strategies to direct the crystallization in a selective manner^{6,8}. A range of crystallization methods can be used to screen and obtain polymorphic forms, such as mecanochemistry¹⁵⁻¹⁷, sublimation, melt crystallization, vapor diffusion, supercritical fluid methods, antisolvent addition and slurry^{4, 18}. In the present study the solvent evaporation method¹⁹ was employed in order to obtain the samples.

In this work, two cocrystal with two polymorphs each were obtained from Benzoylmetronidazole (BZMD) and the cofomers salicylic acid (SLC) and fumaric acid (FMA) (Figure 1). The drug belongs to the class of the nitroimidazole derivatives with antibacterial and antiprotozoal activity, being effective in the treatment of trichomoniasis, amebiasis, vaginosis and gingivitis²⁰⁻²². Studies involving polymorphism of cocrystals have been reported²³⁻²⁵, and has contributed to clarify the different structural and thermal profiles, the mechanism of obtainment as well as the properties that change with the different polymorphic phases.

Thermal analysis was performed to understand the interconversion dynamics between the polymorphic forms of the cocrystals, since this technique covers a wide range of characterization data, which includes the melting point, determination of crystallinity and physical stability test, which are especially crucial for polymorphs^{7, 13}. In addition, the characterization was performed using Single Crystal X-ray diffraction, optical microscopy (OM) and powder X-ray diffraction, in order to obtain the maximum information regarding the structures.

2. EXPERIMENTAL SECTION

2.1 Materials

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

2.2 Solution Growth of Single Crystals

Slow evaporation technique, at room temperature, was used to growth single crystals, using about 15mg of metronidazole benzoate. The ratio between the API and the cofomers was 1:1. The synthesis used about 2 mL of ethanol as solvent.

Seven letter codes were given to the polymorphs of cocrystals. The structures were identified according to the API (four initial letters) and the coformer (three letters), as well as a roman numeral, allowing to identify the correspondent polymorph: BZMDSL-C-I, BZMDSL-C-II, BZMDFMA-I and BZMDFMA-II. This code is used throughout this manuscript.

2.3 Structures Characterization

2.3.1 Optical Microscopy

The crystals were examined in a slide with a Leica polarized optical microscope (Model DM, 2500P) coupled to a Q Imaging camera (fast 1394 model), where it was possible to see its crystalline habits. The Q capture software was used to capture the images.

2.3.2 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 APEX3²⁶. The frame integration was performed using SAINT²⁷ and the intensities were scaled and absorption corrected using SADABS²⁸. Using Olex2²⁹, the structure was solved by intrinsic phasing using SHELXT³⁰ and refined by full-matrix least-squares calculation based on F^2 for all reflection using SHELXL³¹. 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)³² and VEGA³³ were used to prepare the artwork representations for publication. The crystallographic information files of the structures of the structures BZMDSL-C-I, BZMDSL-C-II, BZMDFMA-I and BZMDFMA-II were deposited in the Cambridge Structural Data Base³⁴, respectively, under the codes 1890433, 1892488, 1890421 and 1892489. 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 structures are given in Table S1 (Supporting information).

2.3.3 X-ray Powder Diffraction

X-ray powder diffraction (XPRD) was performed at room temperature using a Bruker-AXS D8 VENTURE diffractometer, equipped with monochromatic Cu K α ($\lambda = 1.54178 \text{ \AA}$) and

a Photon II Kappa CMOS detector. The measurements were made with the angle 2θ varying between 5° and 50° with the subsequent integration of the Debye rings.

2.3.4 Thermal Analysis

Differential scanning calorimetry (DSC) analysis was performed on a Netzsch Maia 200 F3. Measurements were obtained from several cooling and heating cycles in various temperature ranges at rates of $1 \text{ K}\cdot\text{min}^{-1}$ in a nitrogen atmosphere using a pierced aluminum pan containing 5 mg of sample. An empty aluminum pan with the same treatment was used as reference. The sensors and the crucibles were kept under a constant flow of nitrogen during the experiment.

3. RESULTS AND DISCUSSION

3.1 Structural analysis of BZMDSL C polymorphs

Two polymorphs of cocrystals were obtained from BZMD and SLC and their structures were elucidated from single-crystal X-ray diffraction. Both polymorphs (I and II) crystallize in the monoclinic $P2_1/c$ space group. Polymorph I has the following lattice parameters: $a = 9.5055$ (6) Å, $b = 31.2239$ (19) Å, $c = 6.8578$ (4) Å, $\beta = 102.628$ (2) °. On the other hand, polymorph II has the following lattice parameters: $a = 10.645$ (3) Å, $b = 21.957$ (8) Å, $c = 8.674$ (3) Å, $\beta = 91.131$ (11) °. Table S1 shows the crystallographic data and the refinement parameters of the two polymorphs of cocrystals. The cocrystals have an 1:1 stoichiometric ratio and the asymmetric unit contains one molecule of BZMD and one of SLC (Figure 2). In both polymorphs, the hydroxyl group of the carboxylic acid is involved in the $\text{Im}\cdots\text{HO}$ bond (I: 2.661(18) Å and II: 2.632(4) Å), establishing the main synthon, while the second OH group does not exhibit the supramolecular synthon because it is forming an intramolecular hydrogen bond with the carbonyl group by $\text{O3A-H3A}\cdots\text{O2A}$ bond (I: 2.622(18) Å and II: 2.588(4) Å). Comparing the morphology and crystalline habit, there are differences between form I and II. Polymorph I clearly grows as prisms, whereas polymorph II grows as blocks (Figure 3). The habit describes the external structure of a crystal and the crystallization technique has influence in this crystal property^{35, 36}.

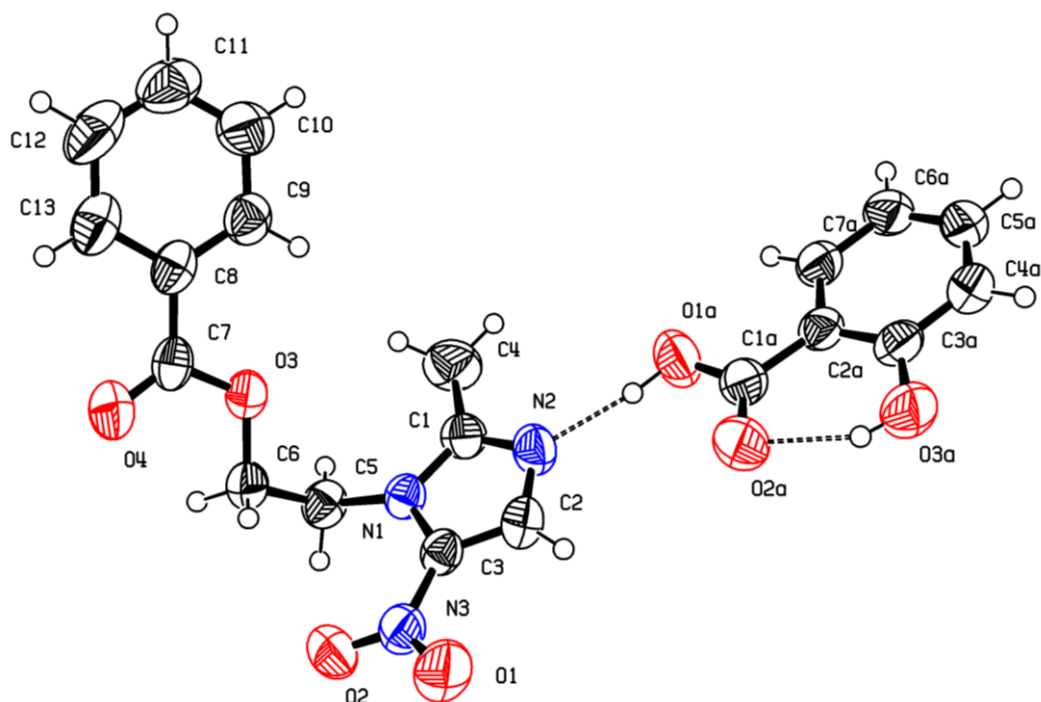


Figure 2 - ORTEP representation of the asymmetric unit of BZMDSLc cocrystal.

Although the polymorphs have a similar asymmetric unit, with the same main synthon, small conformational differences can be observed. Regarding to the overlap of the BZMD molecules from polymorph I (red) and II (green) it is possible to see they are not superimposable (Figure 3). Once the benzene ring is fixed, the dihedral angle around the C5 C6 bond exhibits a moderate flexibility resulting in a conformational change in the orientation of the nitroimidazole ring. The intramolecular interactions of both polymorphs, shown in Table S2, stabilize the API and coformer molecules. The O3A–H3A···O2A bond, common to the two polymorphic forms, is a strong intramolecular interaction that can be usually found in the SLC molecule (*S*(6) graph set)^{37, 38}. Regarding to BZMD, C5–H5A···O2 (I:2.8282(19) Å and II:2.864(4) Å) and C6–H6B···O2 (I:3.0064(19) Å and II:3.078(4) Å) bonds are slightly shorter in the polymorph I contributing to increase the dihedral angle around the C5C6 bond (I: 70.2° and II: 60.3°) and defining the conformational differences observed in Figure 3, once they both links the nitro group of the nitroimidazole ring with the aliphatic chain.

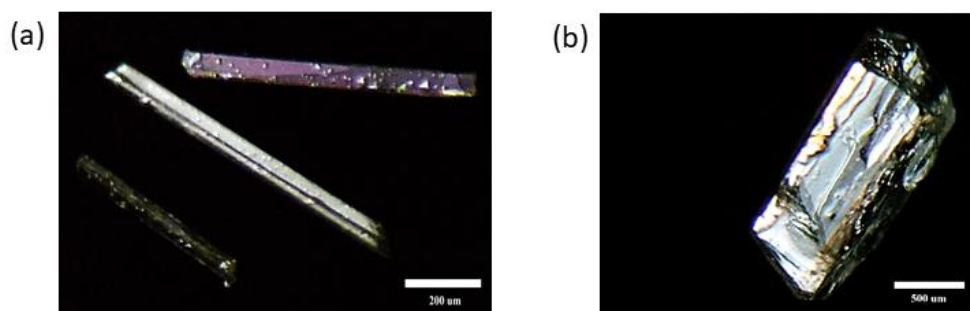


Figure 3 - Crystalline habits of polymorphs of cocrystals BZMDSL. a) form I b) form II.



Figure 4 - Overlap of the BZMD molecules from BZMDSL polymorph I (red) and II (green).

The intermolecular hydrogen bonds found in the polymorphs I and II are shown in Table S2 and they determine the crystal packing of these structures. It is important to remark that the nitroimidazole ring is responsible for the main intermolecular interactions and it defines the space orientation of the BZMD and SLC molecules. Figure 5 shows the crystal packing of the polymorphic forms of BZMDSL along the *c*-axis. Regarding to the form I (Figure 5a), the nitrogen (N2) from the nitroimidazole ring has a strong interaction with the hydroxyl group (O1AH1A) from the carboxyl group of the SLC, defining the main synthon, as stated. At the same time, two important interactions occur between the nitroimidazole of BZMD and the benzene ring of a SLC molecule different from that involved in the main synthon. The hydrogen bonds C4A–H4AA···O1 and C2–H2···O3A form a $R_2^2(9)$ synthon, which defines the antiparallel orientation of the SLC molecules giving rise to another supramolecular structure $R_4^4(18)$ (Figure S1). It is interesting to observe that these two bonds are parallels, facilitating the polymorph I packing.

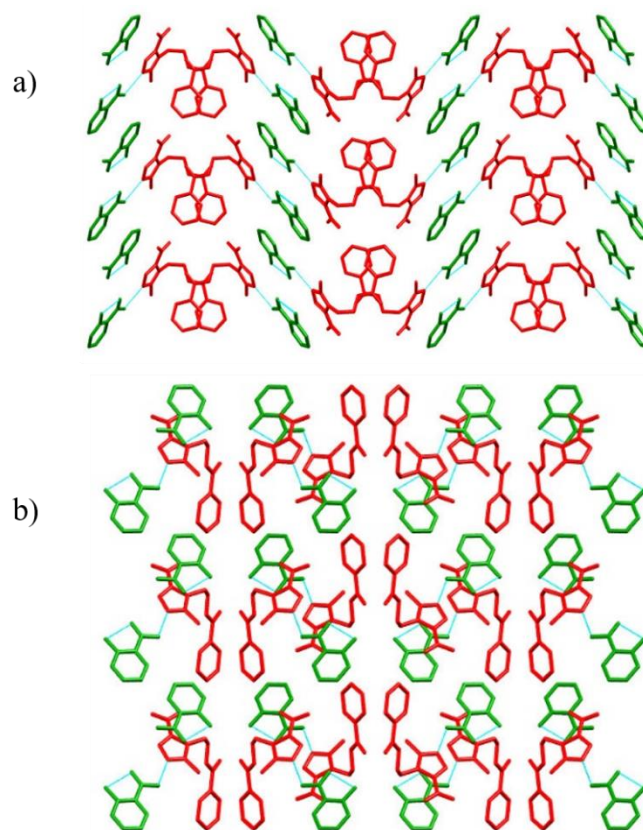


Figure 5 - Crystal packing of polymorphs BZMDSLc along c-axis. a) form I b) form II.

Concerning to the intermolecular hydrogen bonds from polymorph II, only the main synthon (O1A–H1A \cdots N2) is a bond in common with the form I. A new set of other hydrogen bonds shown in Table S2 can explain the packing differences from the polymorph I. The SLC is linked to a second BZMD molecule through two bonds O3A–H3A \cdots O4 and C6–H6B \cdots O2A forming a ring defined by the graph set $R_2^2(11)$. The three molecules, with the help of the C9–H9 \cdots O1 bond, give rise to a bigger $R_3^3(16)$ supramolecular structure (Figure S1).

Despite the complex hydrogen bonds pattern, Figure 5a suggests that BZMD molecules are packed by a π - π stacking along the c-axis, forming antiparallel planes intercalated with planes of SLC. By calculating the Hirshfeld surface (HS) and fingerprint plots using the software Crystal Explorer³⁹, it is possible to get a better understanding of the interactions involving the aromatic rings. Figure 6 presents the Hirshfeld surfaces, mapped with the shape index, and the 2D-fingerprints of the BZMD molecule in both polymorphs of BZMDSLc. These surfaces are very useful to identify intermolecular interactions^{40, 41}. For example, the sharp spikes in the 2D-fingerprint, labeled **1** and **2**, correspond to the complementary hydrogen-bonds described previously. Notice that the complement of **1** is not in this fingerprint because it is associated to the main synthon with the counterpart in the coformer. The ‘wings’

in the fingerprint (③) of form I are characteristic of $\text{CH}\cdots\pi$ bonds, evidenced by the red depressions over the imidazole in the HS, and is associated to $\text{C13H13}\cdots\pi(\text{Imidazole})$. This interaction contributes to the π - π stacking of the benzene rings, which can be identified in the HS by the red and blue triangles in a ‘bow tie’ pattern over the rings (④). Notice that, both the $\text{CH}\cdots\pi$ and the benzene stacking disappear in the polymorph II, but they are replaced by a SLC-imidazole-imidazole-SLC stacking evidenced by the ‘bow tie’ pattern over the imidazole ring.

As stated, BZMD suffers small conformational differences between the BZMDSL C polymorphs, but it is not main factor differentiating these forms. On the other hand, the disassemble of the benzene ring stacking in favors one based on SLC and imidazole, clearly characterize “packing polymorphs” according Aitipamula and coworkers classification⁴. Even though the API-coformer synthon remains unaltered between the reported forms, all the other synthons defining the intermolecular interactions change between forms I and II, consequently, a “synthon polymorphism” can be also ascribed to the BZMDSL C system.

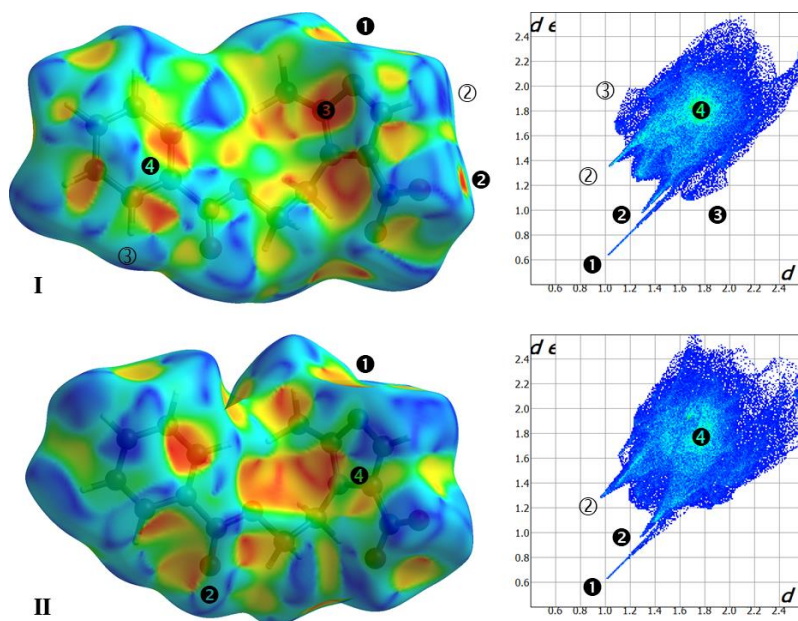


Figure 6 - Hirshfeld surfaces and 2D-fingerprints of the BZMD molecules in the polymorphs I and II of BZMDSL C.

3.2 Structural analysis of BZMDFMA polymorphs

Another pair of polymorphs of cocrystals were obtained from BZMD and FMA.

Polymorph I crystallizes in the monoclinic $P2_1/c$ space group, whereas polymorph II crystallizes in the orthorhombic $Pbca$ space group. Polymorph I has the following lattice parameters: $a = 9.0358(5) \text{ \AA}$, $b = 26.6419(14) \text{ \AA}$, $c = 6.8796(3) \text{ \AA}$, $\beta = 102.419(2)^\circ$. The lattice parameters of polymorph II are: $a = 7.2928(5) \text{ \AA}$, $b = 17.0257(9) \text{ \AA}$, $c = 25.6078(16) \text{ \AA}$. Table S3 shows the crystallographic data and the refinement parameters of the two polymorphs.

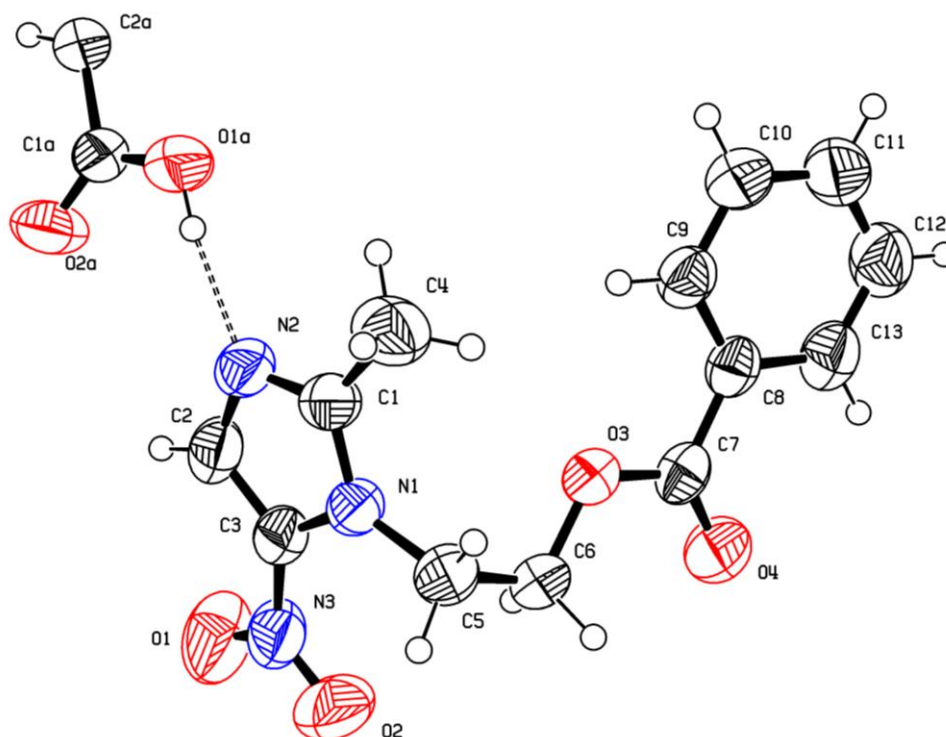


Figure 7 - ORTEP representation of the asymmetric unit of BZMDFMA cocrystals.

The asymmetric unit contains one molecule of BZMD and half FMA molecule, once the FMA molecule lies on an inversion center and half of it is in the asymmetric unit (Figure 7). As a consequence, the BZMDFAM cocrystals have a stoichiometric ratio of 2:1 (API:coformer). The strongest intermolecular bond between the API and the coformer is $O1A-H1A \cdots N2$ (I: $2.655(3) \text{ \AA}$ and II: $2.661(3) \text{ \AA}$), featuring the main synthon. The polymorphs present different morphology and crystalline habits. Polymorph I grows as prisms whereas polymorph II grows as blocks (Figure 8). It is important to consider that different crystal faces of the API can exhibit different surface chemistry that associated to crystal size can lead to different physicochemical and biopharmaceutical properties⁴².

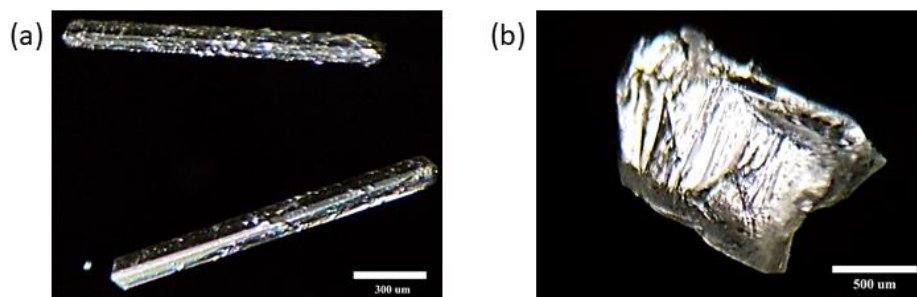


Figure 8 - Crystalline habits of polymorphs of cocrystals BZMDFMA. a) form I b) form II.

Similar to the previous polymorphism case, conformational differences can be observed comparing the BZMDFMA polymorphs. An overlap of the BZMD molecules from polymorph I (blue) and II (orange) was made by fixing their benzene rings (Figure 9). One more time, the nitroimidazole ring exhibits a different orientation and the molecules could not be superimposed. These changes are possible due to the flexibility of the molecule, in special around the C5C6 dihedral angle, and to the intramolecular interactions actuating on both polymorphs. The table S4 shows the hydrogen bonds from BZMDFMA-I and BZMDFMA-II that stabilize the API and coformer molecules. An interaction between a hydrogen from the aliphatic chain and the oxygen from the nitro group of BZMD ($C5-H5A \cdots O2$: 2.831(3) Å and 2.851(4) Å) is an intramolecular bond in common to both polymorphs. However, polymorph I presents an important FMA intramolecular bond between a hydrogen from the chain and the oxygen involved in the main synthon ($C2A-H2A \cdots O1A$: 2.745(3) Å) that was not found in polymorph II. On the other hand, polymorph II shows another BZMD intramolecular bond between a hydrogen from the benzene ring and the oxygen from the ester group ($C9-H9 \cdots O3$: 2.729(5) Å), not shown on the form I.

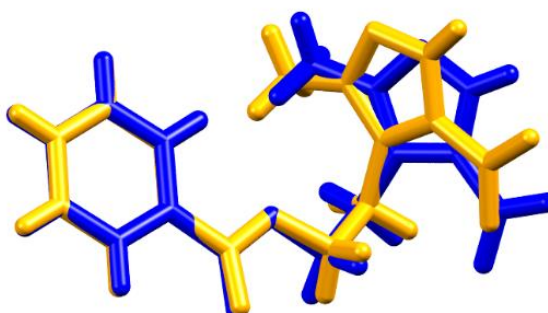


Figure 9 - Overlap of the BZMD molecules from BZMDFMA polymorph I (blue) and II (orange).

The intermolecular hydrogen bonds from BZMDFMA polymorphs are in Table S4. A

hydrogen from the carboxyl group of FMA linked to the nitrogen from the BZMD nitroimidazole ring ($O1A-H1A\cdots N2$) is a bond in common for both polymorphs and characterize the main synthon. Another important intermolecular bond found in both polymorphs occurs between a hydrogen from the BZMD nitroimidazole ring and the carbonyl of the FMA molecule ($C2-H2\cdots O2A$). This bond is combined with $C2A-H2A\cdots O1$ to form a $R_2^2(9)$ synthon in form I, but this ring is not observed in form II (Figure S2). The columns of FMA molecules shown in the crystal packing of both polymorphs (Figure 10) are defined by these bonds, since the FMA molecule interact with a BZMD molecule different from that involved in its main synthon. The polymorph I has another intermolecular bond ($C4-H4A\cdots O2A$), not found in polymorph II, linking BZMD to a second FMA molecule and contributing to define their relative orientation.

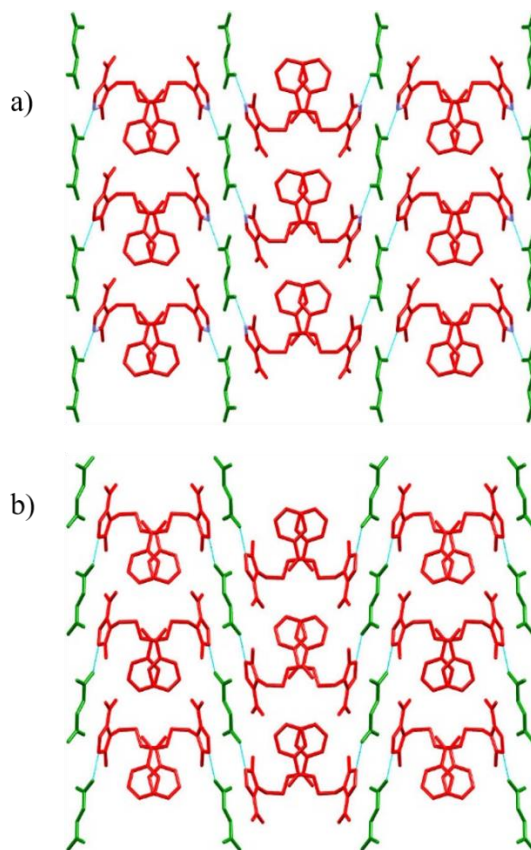


Figure 10 - Crystal packing of polymorphs BZMDFMA: a) form I (along c-axis) b) form II (along a-axis).

Regarding to the crystal packing of both polymorphs (Figure 10) it is possible to see columns formed by the molecules, perpendicularly to the c-axis and to the a-axis, respectively, to the polymorph I and II. They are organized as antiparallel BZMD molecules separated by

columns of FMA molecules. It is interesting that both polymorphs adopt the same packing even with different intermolecular interactions between the components. Only a little difference in the orientation of the FMA molecules can be observed in this case. Considering again the HS and 2D-fingerprints (Figure 11), it is possible to observe that the π - π stacking of the benzene rings is preserved in both polymorphs (④), but a C13H13- π (imidazole) interaction (⑤) is only characteristic of form I. Thus, the structural changes in between the BZMDFMA polymorphs are subtle when compared with those of BZMDSLC, having contributions of conformational, packing and synthon polymorphism.

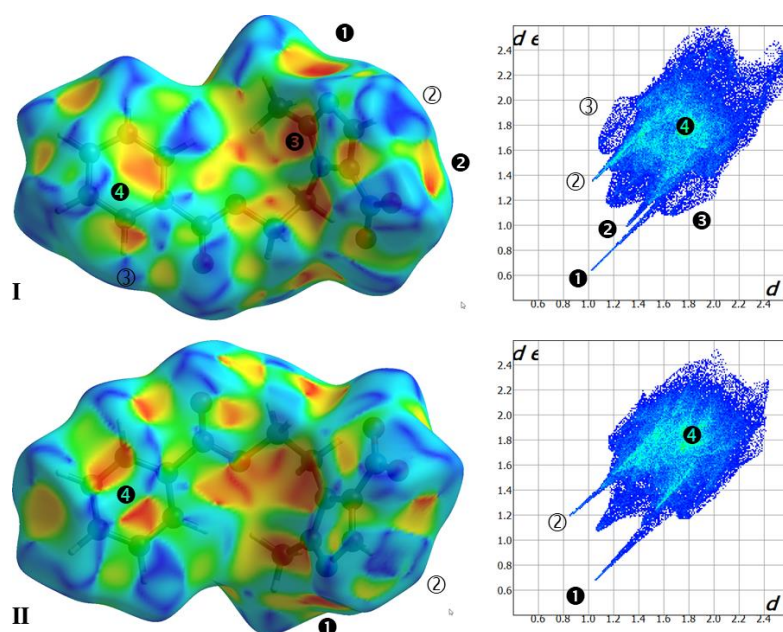


Figure 11 - Hirshfeld surfaces and 2D-fingerprints of the BZMD molecules in the polymorphs I and II of BZMDFMA.

3.2 Thermal analysis of BZMDSLC

In order to obtain a better characterization and understanding of the BZMDSLC cocrystals thermal behavior, the DSC technique was used. From this analysis, subtle events, having associated low energy values, could be observed. Several measurements from both polymorphs were performed under heating and cooling conditions, with different temperature ranges at a rate of $1\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$. The DSC curves for both polymorphs are shown in Figure 12.

Polymorph I (red) melts at about $109.3\text{ }^{\circ}\text{C}$, as the single endothermic peak, shown in Figure 12a. Polymorph II (green) also presents an endothermic peak (onset = $116.0\text{ }^{\circ}\text{C}$) featuring its melting point (Figure 12c). In general, the form which has the highest melting

temperature is the most stable form in a polymorphic system⁴³. Thus, form II is the most stable BZMDSLCL form. However, BZMDSLCL-I presents sometimes a different behavior. Figure 12b shows that polymorph I melting (with onset at 109.0 °C) is followed by an exothermic and then an endothermic event (onset = 116.0 °C), which is clearly associated to its recrystallization in form II followed by the form II melting. Besides, Figure 12d shows polymorph II behavior after its previous melting and recrystallization. It is possible to see that it presents an endothermic event (with onset at 70.5 °C), associated to its conversion to the form I once the endothermic peak shown later (onset = 108.2 °C) agrees with the polymorph I melting. It is noted that every well-defined phase under specified conditions is characterized by a set of distinct values for its thermodynamic state functions⁶.

It is interesting to point out that BZMDSLCL cocrystals were also obtained by melting. After submitting a mixture of the API and coformer (in a 1:1 stoichiometry ratio) to heating/cooling cycles up to 130 °C, it was obtained the same cocrystal than the one resulting from the slow evaporation technique.

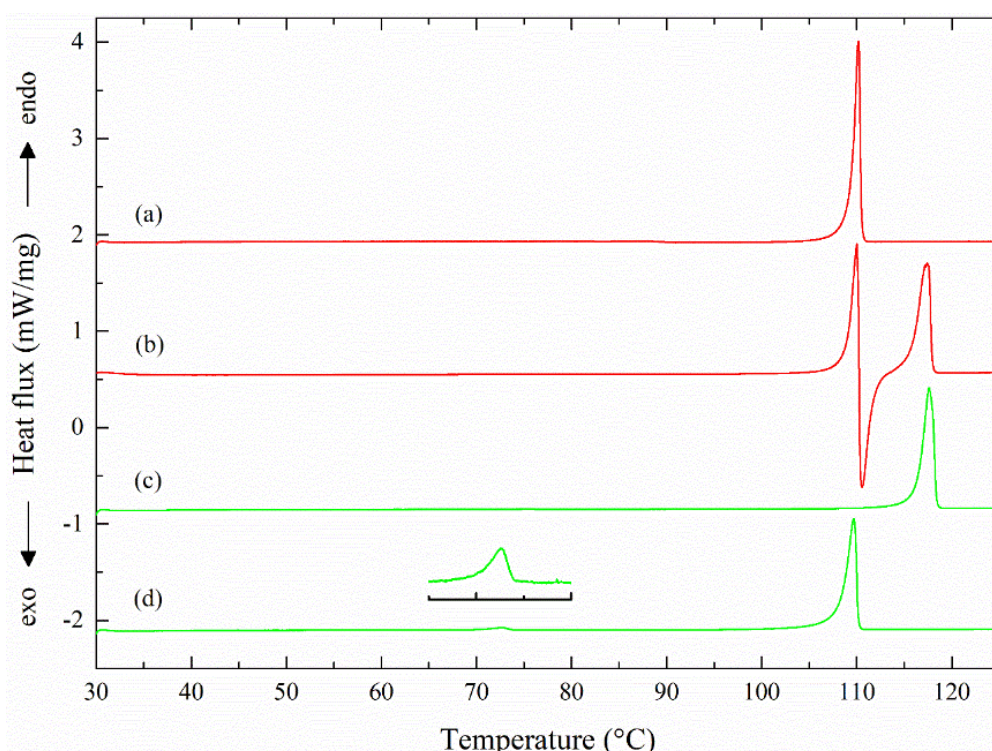


Figure 12 – Differential scanning calorimetry curves of BZMDSLCL-I (a) and (b) and BZMDSLCL-II (c) and (d), at 1 °C. min⁻¹. The curves were vertically translated for clarity.

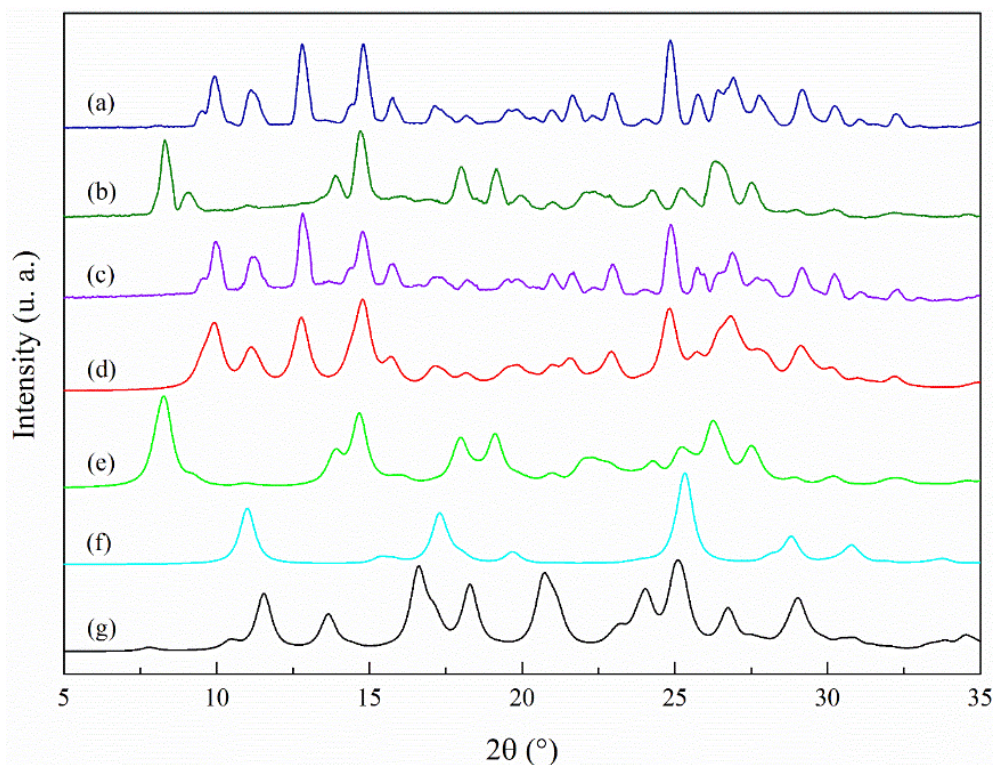


Figure 13 – X-ray powder diffraction patterns of a) BZMDSLC-I, after (30 – 130 – 30 – 90 – 30 °C) cycles in DSC b) BZMDSLC-I, after (30 – 130 – 30 °C) cycles in DSC c) BZMDSLC-I before DSC cycles (experimental), d) BZMDSLC-I, e) BZMDSLC-II, f) SLC and g) BZMD (all calculated).

The BZMDSLC-I sample before and after the heating/cooling cycles in the DSC experiment was monitored by PXRD at room temperature in order to evaluate the polymorphic transitions. The experimental patterns were compared with the calculated ones of BZMD, SLC and of the forms I and II of the cocrystals (Figure 13). The pattern obtained from polymorph I before the DSC cycles (Figure 13c) agrees with the calculated one related to this form (Figure 13d) proving it was a homogeneous sample. After heating and cooling cycles (30 – 130 – 30 °C) in DSC, the initial sample became polymorph II, since its diffractogram (Figure 13b) agrees with the calculated one of form II (Figure 13e). This result corroborates with the ones shown in the thermal analysis (Figure 12b) and confirm that polymorph II is the most stable form. Finally, the Figure 13a shows the diffractogram from polymorph I after other heating and cooling cycles (30 – 130 – 30 – 90 – 30 °C) in DSC. This pattern has a high agreement with the one related to form I (Figure 13d), confirming that polymorph II converts to polymorph I in temperatures below its melting. However, this conversion seems to be irreversible, once the patterns were recorded at room temperature.

Burger & Ramberger have established some empirical rules that allow to estimate the

relationship of thermodynamic stability of polymorphic forms⁴⁴. In the context of DSC measurements, the transition heat rule states that the phase transition between two enantiotropic polymorphs should be endothermic. Since the endothermic event marks the conversion from the form II to form I, they are enantiotropically related. It is known that enantiotropically polymorphic transitions are thermodynamically reversible. Despite of this, the endothermic event about 70.5 °C (Figure 12d) seems to be irreversible. However, in the practical investigation both behavior may be observed⁴⁵.

Thermal Analysis of BZMDFMA

DSC analysis were also performed for a better understanding of the BZMDFMA polymorphs thermal dynamics, with cycles of heating and cooling under a rate of 1 °C.min⁻¹. The DSC curves from both BZMDFMA polymorphs are shown in Figure 14.

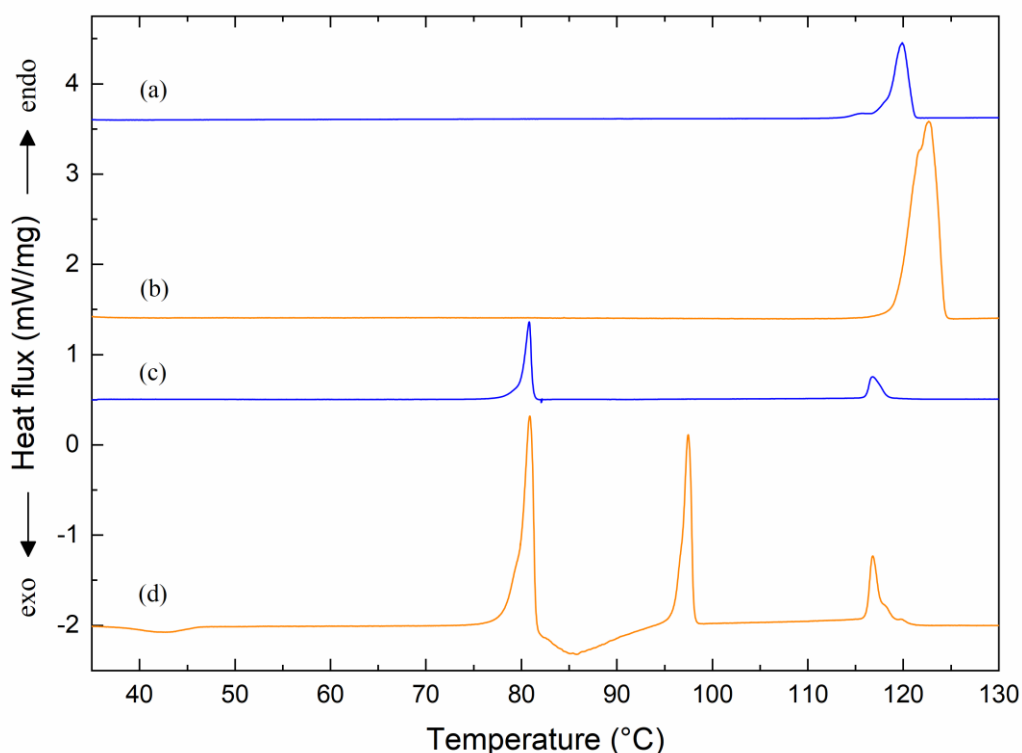


Figure 14 – Differential scanning calorimetry curves of (a) BZMDFMA-I (b) BZMDFMA-II (both on the first heating) and (c) BZMDFMA-I and (d) BZMDFMA-II (both on the second heating), at 1 °C. min⁻¹. The curves were vertically translated for clarity.

Polymorph I (blue) exhibits an endothermic peak (with onset at 118.3 °C) indicating its melting (Figure 14a). Polymorph II (orange) also presents an endothermic peak (onset = 120.4

°C) associated to its melting (Figure 14b). Since the melting temperature associated to the polymorphs are close, it is difficult to predict which form is the most stable. Figure 14c shows the polymorph I behavior after its previous melting and recrystallization (second heating). This time, two endothermic peaks are shown. The first (onset = 79.8 °C) could be associated to a solid-solid transitions whereas the second (with onset at 116.1 °C) seems to be related to the form I melting point. Notice that the area of the form I melting is smaller in the second heating. The polymorph II thermal behavior in the second heating (Figure 14d) seems to be a little more complex. First, an exothermic peak appears (with onset 38.2 °C), probably still associated to its recrystallization. Then is possible to see an endothermic peak (onset = 79.6 °C), very similar to that one exhibited in the previous DSC curve, followed by an exothermic event and then another endothermic (onset = 96.6 °C). The exothermic event indicates the sample recrystallization whereas the endothermic correspond to the BZMD melting⁴⁶. The final peak shown in figure 12d (with onset 116.2 °C) also seems to corresponding to the form I melting point. These results suggest that polymorph II crystallizes as a mixture of polymorph II and other unknown compounds.

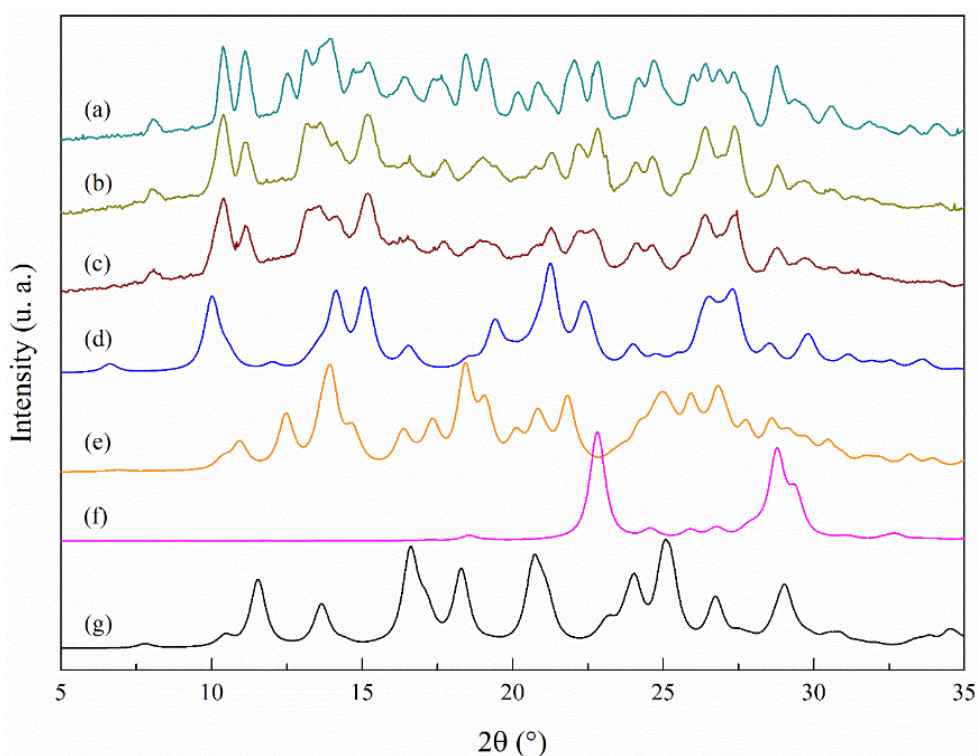


Figure 15 – X-ray powder diffraction patterns of a) BZMDFMA-I, after (30 – 130 – 30 – 100 – 30 °C) cycles in DSC b) BZMDFMA-I, after (30 – 130 – 30 °C) cycles in DSC c) BZMDFMA-II after (30 – 130 – 30 °C) DSC cycles (experimental), d) BZMDFMA-I, e) BZMDFMA-II, f) FMA and g) BZMD (all calculated).

The resulting BZMDFMA-I and BZMDFMA-II samples, after heating and cooling cycles in DSC, were evaluated by PXRD at room temperature in order to compare with the DSC results. The experimental diffractograms were compared with the calculated ones of BZMD, FMA and of the forms I and II of the cocrystals (Figure 15). Regarding the diffractograms, it is possible to verify that the DSC resulting material of the polymorphic forms I and II have identical patterns (Figure 15b and c, respectively), but different from the diffractograms of the original forms I and II (Figure 15d and e, respectively). They conserve some peaks from polymorph I and II, as well as some from the coformer, suggesting a mixture of compounds. Furthermore, Figure 15a shows the diffractogram from BZMDFMA-I, after a second heating in DSC (30 – 130 – 30 – 100 –30 °C) and it is also possible to see a mixture of compounds. Considering these results, one may infer that BZMDFMA partially recrystallizes as a cocrystal, but predominantly a mixture of the API, coformer and some unknown compounds is obtained.

4. CONCLUSION

Two cocrystals with two polymorphs each were obtained from the BZMD and the coformers salicylic acid and fumaric acid. The structures were successfully elucidated using single crystal X-ray diffraction, revealing differences in the crystal packing, conformation and synthons. Thus, these polymorphs cannot be classified as a single class according the Aitipamula and coworkers definitions⁴. The interconversion between the polymorphs was verified by the thermal analysis associated to x-ray powder diffraction technique. BZMDSLCL seems to be very stable, since it is also obtained by recrystallization from the melt. The two polymorphic forms seem to be enantiotropically related. On the other hand, the BZMDFMA polymorphs are not completely recovered after melting the sample. Thus, our results support the hypothesis that cocrystals are highly prone to exhibit polymorphism.

5. AUTHOR INFORMATION

Corresponding Author

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

Notes

The authors declare no competing financial interest.

6. ACKNOWLEDGMENTS

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.

7. REFERENCES

- (1) Guo, N.; Hou, B.; Wang, N.; Xiao, Y.; Huang, J.; Guo, Y.; Zong, S.; Hao, H., In Situ Monitoring and Modeling of the Solution-Mediated Polymorphic Transformation of Rifampicin: From Form II to Form I. *J Pharm Sci* **2018**, 107, (1), 344-352.
- (2) Bruni, G.; Gozzo, F.; Capsoni, D.; Bini, M.; Macchi, P.; Simoncic, P.; Berbenni, V.; Milanese, C.; Girella, A.; Ferrari, S.; Marini, A., Thermal, spectroscopic, and ab initio structural characterization of carprofen polymorphs. *J Pharm Sci* **2011**, 100, (6), 2321-32.
- (3) 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.
- (4) Aitipamula, S.; Chow, P. S.; Tan, R. B. H., Polymorphism in cocrystals: a review and assessment of its significance. *CrystEngComm* **2014**, 16, (17), 3451.
- (5) Bernstein, J., *Polymorphism in Molecular Crystals*. ed.; Oxford University Press: 2002.
- (6) Cairra, M. R., Polymorphs of Molecular Crystals. **2017**, 127-160.
- (7) Hilfiker, R., *Polymorphism: in the Pharmaceutical Industry*. ed.; Wiley-VCH: Weinheim: 2006; p 414.
- (8) Jayant, V.; Das, D., Temperature induced reversible polymorphic phase transformations in a bis-hydrazone compound. *Journal of Molecular Structure* **2018**, 1155, 628-633.
- (9) Ehiwe, T. O.; Alexander, B. D.; Mitchell, J. C.; Snowden, M. J.; Waters, L. J., Monitoring real time polymorphic transformation of sulfanilamide by diffuse reflectance visible spectroscopy. *J Pharm Anal* **2016**, 6, (3), 179-183.
- (10) Thakuria, R.; Thakur, T. S., Crystal Polymorphism in Pharmaceutical Science. **2017**, 283-309.
- (11) Du, Y.; Zhang, H.; Xue, J.; Tang, W.; Fang, H.; Zhang, Q.; Li, Y.; Hong, Z., Vibrational spectroscopic study of polymorphism and polymorphic transformation of the anti-viral drug lamivudine. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc* **2015**, 137, 1158-63.
- (12) Thakral, N. K.; Zanon, R. L.; Kelly, R. C.; Thakral, S., Applications of Powder X-Ray Diffraction in Small Molecule Pharmaceuticals: Achievements and Aspirations. *J Pharm Sci* **2018**, 107, (12), 2969-2982.
- (13) Pindelska, E.; Sokal, A.; Kolodziejcki, W., Pharmaceutical cocrystals, salts and polymorphs: Advanced characterization techniques. *Adv Drug Deliv Rev* **2017**, 117, 111-146.
- (14) Kersten, K.; Kaur, R.; Matzger, A., Survey and analysis of crystal polymorphism in organic structures. *IUCrJ* **2018**, 5, (Pt 2), 124-129.
- (15) Delori, A.; Friščić, T.; Jones, W., The role of mechanochemistry and supramolecular design in the development of pharmaceutical materials. *CrystEngComm* **2012**, 14, (7), 2350.
- (16) Do, J. L.; Friscic, T., Mechanochemistry: A Force of Synthesis. *ACS Cent Sci* **2017**, 3, (1), 13-19.
- (17) Douroumis, D.; Ross, S. A.; Nokhodchi, A., Advanced methodologies for cocrystal synthesis. *Adv Drug Deliv Rev* **2017**, 117, 178-195.
- (18) Malamataris, M.; Ross, S. A.; Douroumis, D.; Velaga, S. P., Experimental cocrystal screening and solution based scale-up cocrystallization methods. *Adv Drug Deliv Rev* **2017**, 117, 162-177.
- (19) Barikah, K. Z. a., Traditional and Novel Methods for Cocrystal Formation: A Mini Review. *Systematic Reviews in Pharmacy* **2018**, 9, (1), 79-82.
- (20) 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* **2017**, 10, (3), 10.
- (21) Bempong, D. K.; Manning, R. G.; Mirza, T.; Bhattacharyya, L., A stability-indicating HPLC assay for metronidazole benzoate. *J Pharm Biomed Anal* **2005**, 38, (4), 776-80.
- (22) Cairra, M. R.; Nassimbeni, L. R.; Oudtshoorn, B. V., X-ray Structural Characterization of Anhydrous Metronidazole Benzoate and Metronidazole Benzoate Monohydrate. *Journal of Pharmaceutical Sciences* **1993**, 82, (10).

- (23) Grossjohann, C.; Serrano, D. R.; Paluch, K. J.; O'Connell, P.; Vella-Zarb, L.; Manesiotis, P.; McCabe, T.; Tajber, L.; Corrigan, O. I.; Healy, A. M., Polymorphism in sulfadimidine/4-aminosalicylic acid cocrystals: solid-state characterization and physicochemical properties. *J Pharm Sci* **2015**, 104, (4), 1385-98.
- (24) Limwikrant, W.; Nagai, A.; Hagiwara, Y.; Higashi, K.; Yamamoto, K.; Moribe, K., Formation mechanism of a new carbamazepine/malonic acid cocrystal polymorph. *Int J Pharm* **2012**, 431, (1-2), 237-40.
- (25) Sokal, A.; Pindelska, E.; Szeleszczuk, L.; Kolodziejski, W., Pharmaceutical properties of two ethenzamide-gentic acid cocrystal polymorphs: Drug release profiles, spectroscopic studies and theoretical calculations. *Int J Pharm* **2017**, 522, (1-2), 80-89.
- (26) Bruker, APEX 3. *Bruker AXS Inc., Madison, Wisconsin, USA* **2012**.
- (27) Bruker, SAINT. *Bruker AXS Inc., Madison, Wisconsin, USA* **2016**.
- (28) Bruker, SADABS. *Bruker AXS Inc., Madison, Wisconsin, USA* **2001**.
- (29) 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.
- (30) Sheldrick, G. M., Crystal structure refinement with SHELXL. *Acta Crystallogr C Struct Chem* **2015**, 71, (Pt 1), 3-8.
- (31) Sheldrick, G. M., A short history of SHELX. *Acta Crystallogr A* **2008**, 64, (Pt 1), 112-22.
- (32) Macrae, C. F.; Edgington, P. R.; McCabe, P.; Pidcock, E.; Shields, G. P.; Taylor, R.; Towler, M.; van de Streek, J., Mercury: visualization and analysis of crystal structures. *Journal of Applied Crystallography* **2006**, 39, (3), 453-457.
- (33) 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* **2004**, 18, 7.
- (34) Groom, C. R.; Allen, F. H., The Cambridge Structural Database in retrospect and prospect. *Angew Chem Int Ed Engl* **2014**, 53, (3), 662-71.
- (35) Benmessaoud, I.; Koutchoukali, O.; Bouhelassa, M.; Nouar, A.; Veesler, S., Solvent screening and crystal habit of metformin hydrochloride. *Journal of Crystal Growth* **2016**, 451, 42-51.
- (36) Maghsoodi, M., Role of solvents in improvement of dissolution rate of drugs: crystal habit and crystal agglomeration. *Adv Pharm Bull* **2015**, 5, (1), 13-8.
- (37) Etter, M. C., Encoding and decoding hydrogen-bond patterns of organic compounds. *Accounts of Chemical Research* **1990**, 23, (4), 120-126.
- (38) Etter, M. C.; MacDonald, J. C.; Bernstein, J., Graph-set analysis of hydrogen-bond patterns in organic crystals. *Acta Crystallographica Section B Structural Science* **1990**, 46, (2), 256-262.
- (39) Parwani, A. V., Expression of Glypican 3 in Ovarian and Extragonadal Germ Cell Tumors. *Yearbook of Pathology and Laboratory Medicine* **2009**, 2009, 93-95.
- (40) McKinnon, J. J.; Spackman, M. a.; Mitchell, A. S., *Novel tools for visualizing and exploring intermolecular interactions in molecular crystals*. ed.; 2004; Vol. 60, p 627-68.
- (41) Spackman, M. a.; Jayatilaka, D., Hirshfeld surface analysis. *CrystEngComm* **2009**, 11, (1), 19-19.
- (42) Hooper, D.; Clarke, F. C.; Docherty, R.; Mitchell, J. C.; Snowden, M. J., Effects of crystal habit on the sticking propensity of ibuprofen-A case study. *Int J Pharm* **2017**, 531, (1), 266-275.
- (43) Kawakami, K., Pharmaceutical Applications of Thermal Analysis. **2018**, 6, 613-641.
- (44) Burger, A.; Ramberger, R., On the polymorphism of pharmaceuticals and other molecular crystals II. *Mikrochimica Acta* **1979**, 43.
- (45) Kawakami, K., Reversibility of enantiotropically related polymorphic transformations from a practical viewpoint: thermal analysis of kinetically reversible/irreversible polymorphic transformations. *J Pharm Sci* **2007**, 96, (5), 982-9.
- (46) Hoelgaard, A.; Moller, N., Hydrate formation of metronidazole benzoate in aqueous suspensions. *International Journal of Pharmaceutics* **1983**, 15, 8.

Supporting Information

Table S1. Crystal data and refinement parameters of BZMDSL C polymorphs I and II.

Parameter	Polymorph I	Polymorph II
Empirical formula	C ₂₀ H ₁₉ N ₃ O ₇	C ₂₀ H ₁₉ N ₃ O ₇
Formula weight	413.38	413.38
Temperature/K	301.34	295.85
Crystal system	Monoclinic	Monoclinic
Space group	P2 ₁ /c	P2 ₁ /c
a/Å	9.5055 (6)	10.645 (3)
b/Å	31.2239 (19)	21.957 (8)
c/Å	6.8578 (4)	8.674 (3)
β/°	102.628 (2)	91.131 (11)
Volume/Å ³	1986.2 (2)	2027.0 (12)
Z	4	4
ρ _{calc} /cm ³	1.382	1.355
μ/mm ⁻¹	0.106	0.104
F (000)	864.0	864.0
Crystal size/mm ³	0.678 × 0.244 × 0.16	0.285 × 0.181 × 0.08
Radiation	MoKα (λ = 0.71073)	MoKα (λ = 0.71073)
2θ range for data collection/°	5.884 to 55.016	5.05 to 52.034
Index ranges	-12 ≤ h ≤ 12, -40 ≤ k ≤ 40, -8 ≤ l ≤ 8	-13 ≤ h ≤ 12, -27 ≤ k ≤ 27, -10 ≤ l ≤ 10
Reflections collected	69959	16752
Independent reflections	4553 [R _{int} = 0.0348]	3980 [R _{int} = 0.1226]
Data/restraints/parameters	4553/0/277	3980/0/274
Goodness-of-fit on F ²	1.048	1.001
Final R indexes [I ≥ 2σ (I)]	R ₁ = 0.0429, wR ₂ = 0.1111	R ₁ = 0.0634, wR ₂ = 0.1191
Final R indexes [all data]	R ₁ = 0.0496, wR ₂ = 0.1182	R ₁ = 0.1677, wR ₂ = 0.1633
Largest diff. peak/hole / e Å ⁻³	0.16/-0.20	0.17/-0.24

Table S2. Hydrogen-bonds of polymorphs I and II of BZMDSL C.

BZMDSL C-I					
Donor – H ... Acceptor	D – H (Å)	H ... A (Å)	D ... A (Å)	D – H ... A (°)	Type
O1A–H1A...N2	0.89	1.85	2.6610 (18)	170	
C4A–H4AA...O1	0.93	2.43	3.270 (2)	151	
C2–H2...O3A	0.93	2.55	3.4504 (19)	163	
C10–H10...O2	0.93	2.58	3.486 (2)	164	
O3A–H3A...O2A	0.82	1.90	2.6218(18)	145	Intra
C7A–H7A...O1A	0.93	2.40	2.721 (2)	100	Intra
C5–H5A...O2	0.97	2.46	2.8282 (2)	102	Intra
C6–H6B...O2	0.97	2.43	3.0062(19)	118	Intra
BZMDSL C-II					
Donor – H ... Acceptor	D – H (Å)	H ... A (Å)	D ... A (Å)	D – H ... A (°)	Type
O1A–H1A...N2	0.82	1.82	2.632 (4)	170	
O3A–H3A...O4	0.82	2.60	3.171 (4)	128	
C5–H5B...O4	0.97	2.36	3.251 (4)	152	
C6–H6B...O2A	0.97	2.40	3.206 (4)	140	
C9–H9...O1	0.93	2.58	3.288 (5)	134	
O3A–H3A...O2A	0.82	1.87	2.588 (4)	145	Intra
C5–H5A...O2	0.97	2.50	2.864 (4)	102	Intra
C6–H6B...O2	0.97	2.46	3.078 (4)	121	Intra

Table S3. Crystal data and refinement parameters of BZMDFMA polymorphs I and II.

Parameter	Polymorph I	Polymorph II
Empirical formula	C ₁₅ H ₁₅ N ₃ O ₆	C ₁₅ H ₁₅ N ₃ O ₆
Formula weight	333.30	333.30
Temperature/K	273.15	273.15
Crystal system	Monoclinic	Orthorhombic
Space group	P2 ₁ /c	Pbca
a/Å	9.0358 (5)	7.2928 (5)
b/Å	26.6419 (14)	17.0257 (9)
c/Å	6.8796 (3)	25.6078 (16)
β/°	102.419 (2)	
Volume/Å ³	1617.38 (14)	3179.6 (3)
Z	4	4
ρ _{calc} /cm ³	1.369	1.393
μ/mm ⁻¹	0.108	0.110
F (000)	696.0	1392.0
Crystal size/mm ³	0.632 × 0.172 × 0.168	0.228 × 0.198 × 0.105
Radiation	MoKα (λ = 0.71073)	MoKα (λ = 0.71073)
2θ range for data collection/°	5.538 to 55.056	5.042 to 54.19
Index ranges	-11 ≤ h ≤ 11, -34 ≤ k ≤ 34, -8 ≤ l ≤ 8	-9 ≤ h ≤ 9, -21 ≤ k ≤ 21, -32 ≤ l ≤ 32
Reflections collected	46849	60358
Independent reflections	3705 [R _{int} = 0.0658]	3511 [R _{int} = 0.1521]
Data/restraints/parameters	3705/0/219	3511/0/218
Goodness-of-fit on F ²	1.044	1.007
Final R indexes [I ≥ 2σ (I)]	R ₁ = 0.0542, wR ₂ = 0.1330	R ₁ = 0.0575, wR ₂ = 0.1285
Final R indexes [all data]	R ₁ = 0.0783, wR ₂ = 0.1544	R ₁ = 0.1387, wR ₂ = 0.1771
Largest diff. peak/hole / e Å ⁻³	0.37/-0.32	0.20/-0.30

Table S4. Hydrogen-bonds of polymorphs I and II of BZMDFMA.

BZMDFMA-I					
Donor – H ... Acceptor	D – H (Å)	H ... A (Å)	D ... A (Å)	D – H ... A (°)	Type
O1A–H1A...N2	0.82	1.84	2.655 (3)	172	
C2A–H2A...O1	0.93	2.45	3.286 (3)	149	
C4–H4A...O2A	0.96	2.58	3.440 (3)	149	
C2–H2...O2A	0.93	2.57	3.496 (3)	176	
C2A–H2A...O1A	0.93	2.41	2.745 (3)	101	Intra
C5–H5A...O2	0.97	2.39	2.831 (3)	107	Intra
BZMDFMA-II					
Donor – H ... Acceptor	D – H (Å)	H ... A (Å)	D ... A (Å)	D – H ... A (°)	Type
O1A–H1A...N2	0.82	1.89	2.661 (3)	156	
C2–H2...O2A	0.93	2.20	3.101 (5)	163	
C9–H9...O3	0.93	2.41	2.729 (5)	100	Intra
C5–H5A...O2	0.97	2.39	2.851 (4)	108	Intra

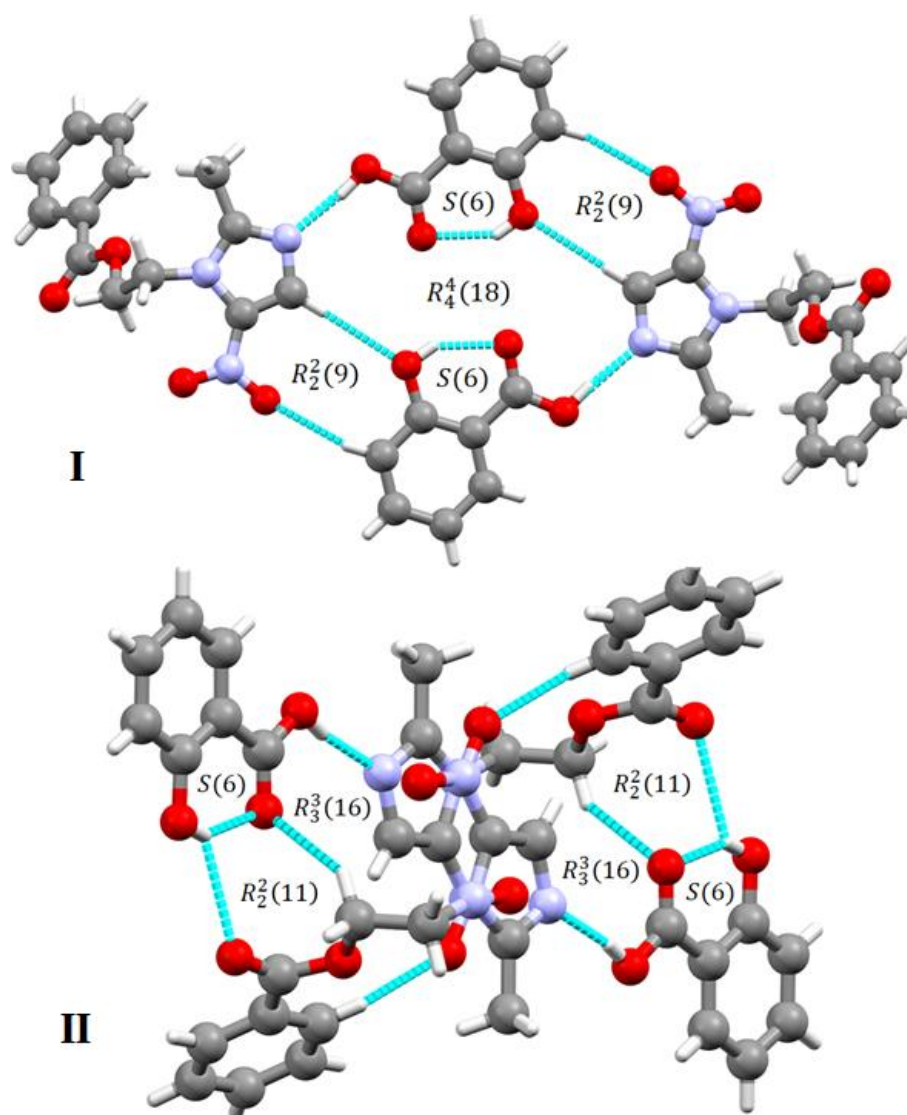


Figure S1. Synthons and graph sets of polymorphs I and II of BZMDSL.

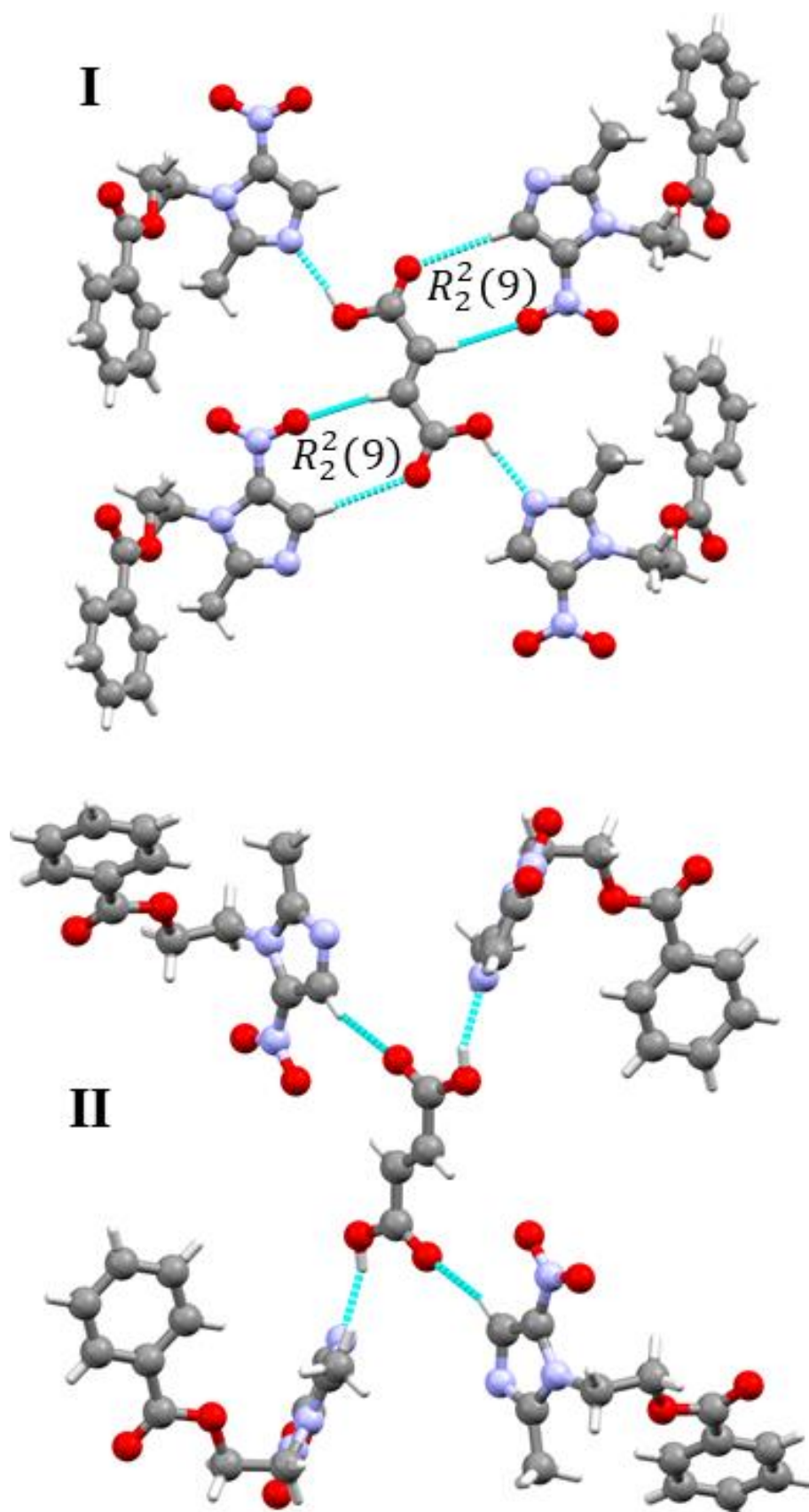


Figure S2. Synthons and graph sets of polymorphs I and II of BZMDFMA.

5.2 Análise Vibracional

5.2.1 Polimorfos de cocristais de BZMDSLCL

Análises de espectroscopia em infravermelho foram realizadas a fim de comparar os espectros relacionados ao Ingrediente Farmacêutico Ativo e ao coformador aos espectros dos seus polimorfos de cocristais. Esta técnica de caracterização permite uma melhor compreensão sobre a dinâmica de vibrações associadas às transformações moleculares (Figura 16).

Dabhi e Sheth (2015) descrevem, em seus trabalhos, as bandas que caracterizam o benzoilmetronidazol. As bandas em 1598 cm^{-1} , 1583 cm^{-1} , 1464 cm^{-1} , 1451 cm^{-1} e 707 cm^{-1} indicam a presença do anel aromático. O grupo éster é caracterizado pela banda de forte absorção do grupo carbonil C=O, com estiramento em 1715 cm^{-1} , e a banda controle de ligação simples C-O com vibrações a 1186 cm^{-1} . O éster benzoato é caracterizado pelas bandas do grupo C-O a 1274 cm^{-1} , 1259 cm^{-1} , 1115 cm^{-1} e 1094 cm^{-1} . O estiramento das ligações C-N aromáticas é indicado por bandas de absorção a 1355 cm^{-1} e as ligações C-N alifáticas apresentam bandas de 1069 cm^{-1} e 1028 cm^{-1} . As bandas de 1522 cm^{-1} e 1364 cm^{-1} indicam a presença do grupo nitro (DABHI e SHETH, 2015).

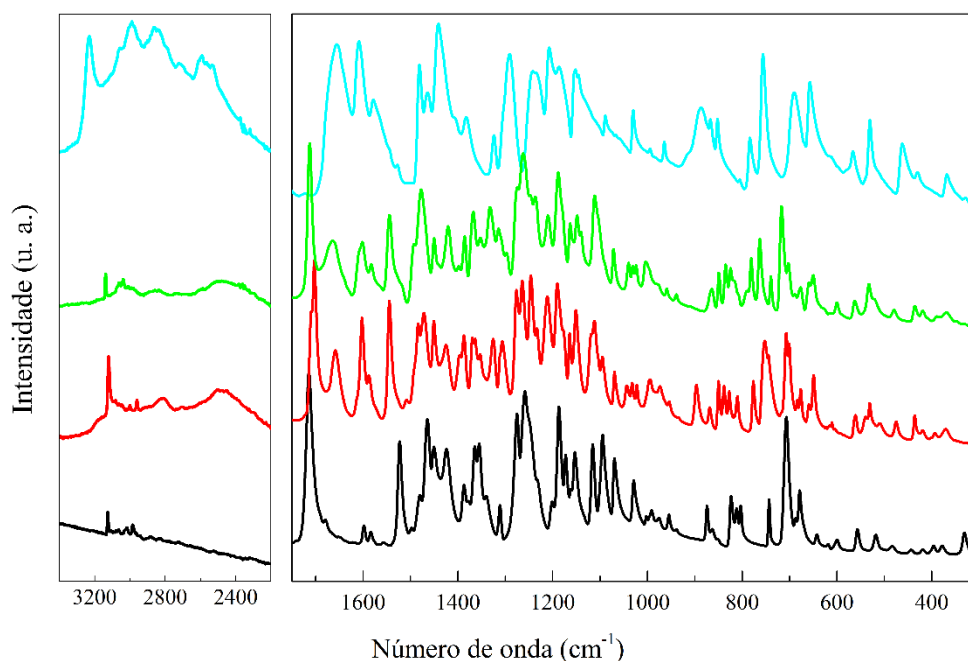


Figura 16 - Espectros de Infravermelho (FT-IR) do BZMD (preto), BZMDSLCL-I (vermelho), BZMDSLCL-II (verde) e SLC (azul).

As bandas citadas acima podem ser encontradas no espectro relativo ao BZMD (preto), bem como nos polimorfos dos cocristais. Alguns pequenos deslocamentos podem ser

vistos, como a banda em 1715 cm^{-1} , que se encontra em 1703 cm^{-1} no polímero I, e a banda em 1522 cm^{-1} , que aparece em 1545 cm^{-1} em ambos os polímeros. Essas diferenças podem ser justificadas, uma vez que o grupo nitro e o grupo carbonila do fármaco estão envolvidos em ligações com o coformador. As bandas encontradas em torno de 1660 cm^{-1} estão presentes nos dois cocristais e no ácido salicílico, porém ausentes no BZMD.

5.2.1 Polímeros de cocristais de BZMDFMA

Assim como na seção anterior, análises em infravermelho foram realizadas a fim de comparar os espectros relacionados ao IFA e coformador às formas polimórficas dos cocristais. Os espectros do BZMD, FMA e dos dois cocristais podem ser visualizados na Figura 17.

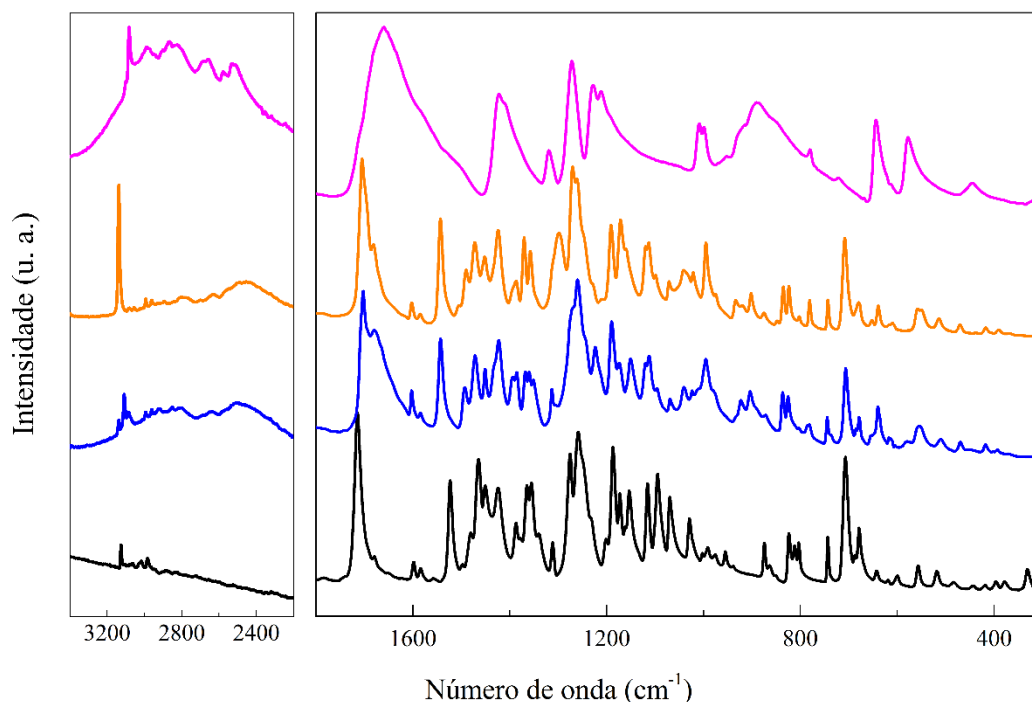


Figura 17 – Espectros de Infravermelho (FT-IR) do BZMD (preto), BZMDFMA-I (azul), BZMDFMA-II (laranja) e FMA (rosa).

As bandas que caracterizam o benzoilmetronidazol foram previamente descritas e, a exemplo do que ocorreu anteriormente, também puderam ser observadas nos espectros referentes aos polímeros de cocristais BZMDFMA-I e BZMDFMA-II.

Alguns pequenos deslocamentos podem ser vistos, como a banda em 1523 cm^{-1} , que se encontra em 1543 cm^{-1} em ambos os polímeros e podem ser justificados pelas interações entre o grupo nitro e o coformador. Além disso, as bandas encontradas entre 900 e 940 cm^{-1} estão presentes nos dois cocristais e no ácido salicílico, porém ausentes no BZMD.

6 CONCLUSÕES GERAIS

Quatro polimorfos de cocristais foram obtidos a partir do BZMD e dos coformadores ácido salicílico e ácido fumárico utilizando-se o método de evaporação lenta. Paralelamente os cocristais de BZMDSLCL foram obtidos também por fusão.

As estruturas reportadas foram elucidadas com sucesso utilizando-se difração de raios-X por monocristais, revelando todos os dados cristalográficos e parâmetros de refinamento, que são uma impressão digital destes compostos. Verificaram-se diferenças entre os hábitos cristalinos, onde em geral, as formas I dos dois polimorfos são apresentados como um prisma e as formas II são apresentadas como blocos.

Análises estruturais nos permitiram inferir que as formas de BZMDSLCL apresentaram um polimorfismo de *synthon*, conformacional e de empacotamento, enquanto as formas de BZMDFMA possuem polimorfismo de *synthon* e conformacional, de acordo com a classificação de Aitipamula e colaboradores.

A interconversão entre os polimorfos foi verificada com a análise térmica associada à técnica de difração de raios x em pó. O sistema BZMDSLCL consiste em duas formas polimórficas relacionadas entre si de maneira enantiotrópica. A relação entre as formas polimórficas de BZMDFMA não pode ser determinada, uma vez que as amostras recristalizam como misturas de componentes.

A espectroscopia de infravermelho mostrou espectros bastante similares para os respectivos pares de polimorfos, uma vez que as diferenças estruturais e de interações envolvidas são, de certa forma, sutis.

O estudo ainda confirmou a capacidade de cocristais apresentarem polimorfismo, como já relatado na literatura.

REFERÊNCIAS

- ABBAS, N.; OSWALD, I.; PULHAM, C. Accessing Mefenamic Acid Form II through High-Pressure Recrystallisation. **Pharmaceutics**, v. 9, n. 4, p. 16, 16 maio 2017.
- 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. 3451–3465, 2014.
- AL-KASSAS, R.; BANSAL, M.; SHAW, J. Nanosizing techniques for improving bioavailability of drugs. **Journal of Controlled Release**, v. 260, p. 202–212, ago. 2017.
- 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. 552–561, 2017.
- ALI, M. S.; CHAUDHARY, R. S.; TAKIEDDIN, 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. 1143–1147, 10 jan. 1999.
- ALMARSSON, Ö.; PETERSON, M. L.; ZAWOROTKO, M. The A to Z of pharmaceutical cocrystals: a decade of fast-moving new science and patents. **Pharmaceutical Patent Analyst**, v. 1, n. 3, p. 313–327, jul. 2012.
- AUNGST, B. J. Optimizing Oral Bioavailability in Drug Discovery: An Overview of Design and Testing Strategies and Formulation Options. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 106, n. 4, p. 921–929, abr. 2017.
- BARIKAH, K. Z. Traditional and Novel Methods for Cocrystal Formation: A Mini Review. **Systematic Reviews in Pharmacy**, v. 9, n. 1, p. 79–82, 31 jul. 2018.
- BEMPONG, D. K. et al. A stability-indicating HPLC assay for metronidazole benzoate. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 38, n. 4, p. 776–780, jul. 2005.
- BERRY, D. J.; STEED, J. W. Pharmaceutical cocrystals, salts and multicomponent systems; intermolecular interactions and property based design. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 117, p. 3–24, ago. 2017.
- BRASIL. **Farmacopeia Brasileira, volume 2**. 5. ed. Brasília: Anvisa, 2010. v. 2
- BRASIL. ANVISA. **NOTA TÉCNICA nº 02 de 03 de fevereiro de 2017. Registro de medicamentos novos, genéricos e similares contendo solvatos e cocristais como insumo farmacêutico ativo**. Brasília. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/documents/33836/349757/NOTA+TÉCNICA+02+2017+-+Registro+de+medicamentos+novos%2C+genéricos+e+similares+contendo+solvatos+e+cocristais+como+insumo+farmacêutico+ativo/0dcff85e-5ce9-4639-b312-3d36d5425237>>. Acesso em: 14 dez. 2018.

CAIRA, M. R.; NASSIMBENI, L. R.; VAN OUDTSHOORN, B. X-ray Structural Characterization of Anhydrous Metronidazole Benzoate and Metronidazole Benzoate Monohydrate. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 82, n. 10, p. 1006–1009, 1993.

CERREIA VIOGLIO, P.; CHIEROTTI, M. R.; GOBETTO, R. Pharmaceutical aspects of salt and cocrystal forms of APIs and characterization challenges. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 117, p. 86–110, ago. 2017.

CHAVDA, H.; PATEL, C.; ANAND, I. Biopharmaceutics classification system. **Systematic Reviews in Pharmacy**, v. 1, n. 1, p. 62, 2010.

COUILLAUD, M. B. et al. State of the Art of Pharmaceutical Solid Forms from Crystal Property Issues to Nanocrystals Formulation. **ChemMedChem**, 20 nov. 2018.

DA SILVA, A. S. **Desenvolvimento e Validação de Método de Dissolução de Suspensões de Benzoilmetronidazol e Perfil de Dissolução**. [s.l.] Fundação Universidade Federal do Pampa, 2014.

DA SILVA, A. S. et al. Discriminative Dissolution Method for Benzoyl Metronidazole Oral Suspension. **AAPS PharmSciTech**, v. 17, n. 3, p. 778–786, 8 jun. 2016.

DABHI, M.; SHETH, N. Formulation Development of Nanoparticulate Periodontal Drug Delivery System of Metronidazole Benzoate with Combination Processing Method by Using Design of Experiment. **Micro and Nanosystems**, v. 7, n. 1, p. 13–22, 29 jul. 2015.

DALPIAZ, A.; PAVAN, B.; FERRETTI, V. Can pharmaceutical co-crystals provide an opportunity to modify the biological properties of drugs? **Drug Discovery Today**, v. 22, n. 8, p. 1134–1138, ago. 2017.

DESIRAJU, G. R. Supramolecular Synthons in Crystal Engineering—A New Organic Synthesis. **Angewandte Chemie International Edition in English**, v. 34, n. 21, p. 2311–2327, 17 nov. 1995.

DESIRAJU, G. R. Crystal engineering: A brief overview. **Journal of Chemical Sciences**, v. 122, n. 5, p. 667–675, 16 set. 2010.

DOUROUMIS, D.; NOKHODCHI, A. Preface: Engineering of pharmaceutical cocrystals, salts and polymorphs: Advances and Challenges. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 117, p. 1–2, ago. 2017.

DU, Y. et al. Vibrational spectroscopic study of polymorphism and polymorphic transformation of the anti-viral drug lamivudine. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 137, p. 1158–1163, fev. 2015.

EHIWE, T. O. et al. Monitoring real time polymorphic transformation of sulfanilamide by diffuse reflectance visible spectroscopy. **Journal of Pharmaceutical Analysis**, v. 6, n. 3, p. 179–183, jun. 2016.

EL-ZHRY EL-YAFI, A. K.; EL-ZEIN, H. Technical crystallization for application in pharmaceutical material engineering: Review article. **Asian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 10, n. 4, p. 283–291, jul. 2015.

FDA. **Regulatory Classification of Pharmaceutical Co-Crystals Guidance for Industry**. Disponível em: <<https://www.fda.gov/downloads/drugs/guidances/ucm281764.pdf>>. Acesso em: 12 dez. 2018.

GAO, Z. et al. Recent Developments in the Crystallization Process: Toward the Pharmaceutical Industry. **Engineering**, v. 3, n. 3, p. 343–353, jun. 2017.

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, 6 jun. 2017.

HARRIS, R. K. et al. Structural Studies of the Polymorphs of Carbamazepine, Its Dihydrate, and Two Solvates. **Organic Process Research & Development**, v. 9, n. 6, p. 902–910, nov. 2005.

HILFIKER, R. **Polymorphism in the Pharmaceutical Industry**. Weinheim: WILEY-VCH, 2006.

KARAGIANNI, A.; MALAMATARI, M.; KACHRIMANIS, K. Pharmaceutical Cocrystals: New Solid Phase Modification Approaches for the Formulation of APIs. **Pharmaceutics**, v. 10, n. 18, p. 1–30, 25 jan. 2018.

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, 3 out. 2018.

LIN, S.-Y. An Overview of Famotidine Polymorphs: Solid-State Characteristics, Thermodynamics, Polymorphic Transformation and Quality Control. **Pharmaceutical Research**, v. 31, n. 7, p. 1619–1631, 1 jul. 2014.

PROHENS, R. et al. Polymorphism of Cocrystals: The Promiscuous Behavior of Agomelatine. **Crystal Growth & Design**, v. 16, n. 2, p. 1063–1070, 3 fev. 2016.

SCORZA, A. V.; LAPPIN, M. R. Metronidazole for the treatment of feline giardiasis. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 6, n. 3, p. 157–160, 24 jun. 2004.

SHAIKH, R. et al. Pharmaceutical Cocrystal Drug Products: An Outlook on Product Development. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 39, n. 12, p. 1033–1048, dez. 2018.

STEED, J. W. The role of co-crystals in pharmaceutical design. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 34, n. 3, p. 185–193, mar. 2013.

THAKRAL, N. K. et al. Applications of Powder X-Ray Diffraction in Small Molecule Pharmaceuticals: Achievements and Aspirations. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 107, n. 12, p. 2969–2982, dez. 2018.

THAKURIA, R.; THAKUR, T. S. Crystal Polymorphism in Pharmaceutical Science. In: **Comprehensive Supramolecular Chemistry II**. [s.l.] Elsevier, 2017. p. 283–309.

VAN DUONG, T. et al. Polymorphism of Indomethacin in Semicrystalline Dispersions: Formation, Transformation, and Segregation. **Molecular Pharmaceutics**, v. 15, n. 3, p. 1037–1051, 5 mar. 2018.

WILLIAMS, H. D. et al. Strategies to Address Low Drug Solubility in Discovery and Development. **Pharmacological Reviews**, v. 65, n. 1, p. 315–499, 3 fev. 2013.

ZHOU, Y. et al. The Effects of Polymorphism on Physicochemical Properties and Pharmacodynamics of Solid Drugs. **Current Pharmaceutical Design**, v. 24, n. 21, p. 2375–2382, 15 out. 2018.

APÊNDICE A – Lista de agentes coformadores utilizados

Lista de coformadores usados, sem sucesso, em diferentes razões estequiométricas, utilizando-se o método de evaporação lenta, a fim de se obter cocristais de BZMD.

AGENTES COFORMADORES UTILIZADOS	
4-Aminobenzoic acid (ABA)	Natriumhydrogencarbonate (NHC)
Acetamide (ACE)	Niacinamide (NCN)
Acetylsalicylic acid (AAS)	Nicotinamida+Isonicotinamida
Adipic acid (APA)	Nicotinic acid (NAC)
Betaine (BTN)	Oxalic acid (OXA)
D-(+)Galactose (DGT)	Pamoic acid (PMA)
DL-Glutamic acid monohydrate (GAC)	p-Coumaric acid (CMC)
DL-Malic acid (MAL)	Phthalic acid (PAC)
Gallic acid (GAL)	Propyl 4- hydroxybenzoate (PHB)
Glucose (GLU)	Propyl gallate PPG)
Glutaric acid (GLT)	Pyridoxine (PRX)
Glycolic acid (GLY)	Sarcosine (SAR)
Isoniazid (INZ)	Sodium Bissulfate (SBF)
Isonicotinamide (INA)	Sodium L(-) glutamate monohydrate (SGM)
L(+)-Ascorbic acid (ASA)	Succinic acid (SAC)
L(+)-Tartaric acid (TAR ou TTA)	Sucrose (SUC)
L-Glutamic acid (GLA)	Sulfamic acid (SUF)
L-Methionine (LMN)	Taurine (TRN)
L-Proline (LPR)	Trietanolamina (TEA)
L-Threonine (LTN)	Umbelliferone (UBF)
L-Tyrosine (LTS)	Vanillic acid (VAC)
Mandelic acid (MAN)	Vanillin (VNL)
Methyl 3,4,5-trihydroxybenzoate (MTR ou MTB)	

APÊNDICE B - Crystalline structure of the marketed form of Rifampicin: a case of conformational and charge transfer polymorphism

Artigo publicado, em co-autoria, durante o período do mestrado.

Journal of Molecular Structure 1155 (2018) 260–266



Contents lists available at ScienceDirect

Journal of Molecular Structure

journal homepage: <http://www.elsevier.com/locate/molstruc>



Crystalline structure of the marketed form of Rifampicin: a case of conformational and charge transfer polymorphism



Luciana de Pinho Pessoa Nogueira^a, Yara S. de Oliveira^b, Jéssica de C. Fonseca^b,
Wendell S. Costa^b, Fernanda N. Raffin^a, Javier Ellena^c, Alejandro Pedro Ayala^{d,*}

^a Department of Pharmacy, Federal University of Rio Grande Do Norte, Natal, RN, Brazil

^b Department of Pharmacy, Federal University of Ceará, Fortaleza, CE, Brazil

^c São Carlos Institute of Physics, University of São Paulo, São Carlos, SP, Brazil

^d Department of Physics, Federal University of Ceará, Fortaleza, CE, Brazil

ARTICLE INFO

Article history:

Received 28 July 2017

Received in revised form

23 October 2017

Accepted 24 October 2017

Available online 26 October 2017

Keywords:

Rifampicin

Conformational polymorphism

Crystalline structure

Zwitterion

Charge transfer

ABSTRACT

Rifampicin is a semi-synthetic drug derived from rifamycin B, and currently integrates the fixed dose combination tablet formulations used in the treatment of tuberculosis. It is also used in the leprosy polychemotherapy and prophylaxis, which are diseases classified as neglected according to the World Health Organization. Rifampicin is a polymorphic drug and its desirable polymorphic form is labeled as II, being the main goal of this study the elucidation of its crystalline structure. Polymorph II is characterized by two molecules with different conformations in the asymmetric unit and the following lattice parameters: $a = 14.0760(10) \text{ \AA}$, $b = 17.5450(10) \text{ \AA}$, $c = 17.5270(10) \text{ \AA}$, $\beta = 92.15^\circ$. Differently to the previously reported structures, a charge transference from the hydroxyl group of the naphthoquinone of one conformer to the nitrogen of the piperazine group of the second conformer was observed. The relevance of the knowledge of this crystalline structure, which is the preferred polymorph for pharmaceutical formulations, was evidenced by analyzing raw materials with polymorphic mixtures. Thus, the results presented in this contribution close an old information gap allowing the complete solid-state characterization of rifampicin.

© 2017 Elsevier B.V. All rights reserved.